



Influência do exercício físico e do Dermatan Sulfato no remodelamento vascular após lesão arterial em camundongos fêmeas

Autores/as:

Mayra Gabriella Simplício Bomfim, IB, UNICAMP

Prof.^a Dr.^a Cristina Pontes Vicente, IB, UNICAMP

Palavras-Chave: Remodelamento Vascular, Exercício Físico, Dermatan Sulfato.

INTRODUÇÃO:

O processo de remodelamento vascular, decorrente de lesões na parede do vaso sanguíneo, leva a uma série de alterações estruturais e funcionais, sendo importante em processos patológicos¹. Em resposta às lesões e ao aumento do fluxo sanguíneo no interior de vasos, o remodelamento pode se desenvolver aumentando ou diminuindo o diâmetro do vaso sanguíneo². Esse processo envolve células endoteliais (CE), células musculares lisas vasculares (CMLV), células inflamatórias e a matriz extracelular (MEC), composta por fibras elásticas e colágeno, que exerce um papel essencial para a homeostase, resistência mecânica dos vasos sanguíneos e modula o comportamento celular^{2,3}.

As células inflamatórias favorecem a formação de trombo, em contrapartida, as células endoteliais e progenitoras endoteliais (CPE) promovem o reparo e re-endotelização do tecido vascular, alterando a atividade de células inflamatórias e metaloproteinasas (MMPs), sendo essas responsáveis por remodelar e rearranjar a matriz extracelular, desta forma, elas exercem um papel essencial na regulação de processos biológicos, tal como a manutenção da integridade vascular e da sinalização do fator de crescimento^{2, 4, 5}.

As alterações morfofuncionais decorrentes desses processos, podem levar ao desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs). O aumento no índice de doenças cardiovasculares ocorre principalmente devido ao estilo de vida pessoal, tendo como principais fatores o tabagismo, consumo de álcool, alimentação não-saudável e sedentarismo⁶. Estudos

anteriores realizados em nosso laboratório com camundongos machos indicam que a prática do exercício físico reduz a formação do trombo, tendo resultados ainda melhores quando associados a administração do dermatan sulfato (DS), glicosaminoglicano com potencial antitrombótico. Em complemento, nosso estudo busca analisar a capacidade regenerativa do tecido vascular em animais do sexo feminino, submetidas ao exercício físico e tratadas com dermatan sulfato, a fim de entender os efeitos dos tratamentos tanto individualmente quanto de forma combinada.

METODOLOGIA:

Para tal, os animais foram submetidos ao exercício físico, corrida em esteira (30 minutos/dias - 12m/min) por 28 dias, sendo 14 dias antes da lesão arterial na carótida e 14 dias após a lesão, tratados ou não com DS, por injeção intravenosa na veia da cauda, com 10mg/ml, 10 min, 12, 24 e 48 horas depois da lesão. Após este tempo os animais foram sacrificados, e a carótida lesionada foi retirada e utilizada para diferentes análises histológicas, como descrito a seguir.

RESULTADOS:

Para a análise da regeneração vascular os vasos foram emblocados em OCT e cortados em secções de 10 µm ao longo do vaso, e os cortes corados com hematoxilina e eosina para análise da presença de neointima no lúmen do vaso (Figura 1). Para a confirmação da presença de células musculares no lúmen do vaso, os cortes selecionados foram analisados por imunohistoquímica, utilizando o anticorpo anti alfa actina de células musculares lisas. Para a análise da re-endotelização os cortes foram analisados com o anticorpo anti CD31 para a verificação da presença de células endoteliais (Figura 2). Por fim, a análise da presença de células inflamatórias foi feita utilizando o anticorpo anti CD68, um marcador de macrófagos (Figura 3).

CONCLUSÃO:

Pudemos observar que o exercício, o DS e a associação dos dois foram capazes de diminuir a formação de neointima no interior do vaso, e que a neointima é principalmente formada de células musculares lisas. A análise da presença de células CD31 positivas, mostrando a re-endotelização,

também indicou que o exercício físico e o DS aumentam a presença destas células na parede do vaso sanguíneo e nas regiões de canalização da neointima. Além disso pudemos observar que 14 dias após a lesão não foram detectadas células inflamatórias em quantidades significativas em nenhum dos tratamentos, o que pode ser indicativo de que o processo inflamatório está relacionado aos momentos iniciais após a lesão e, como as análises foram feitas 14 dias após a lesão, essas células não foram observadas. Portanto, o exercício físico sozinho ou associado ao dermatan sulfato, pode auxiliar significativamente na regeneração vascular após a lesão, podendo então ser indicados para o tratamento de doenças cardiovasculares.

FIGURAS:

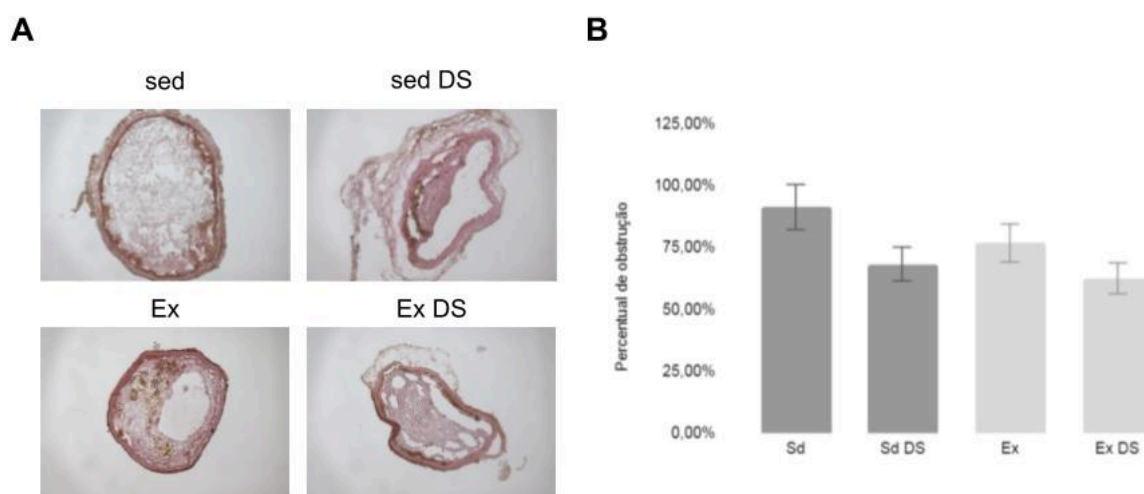


Figura 1. A análise de neointima de vasos corados com hematoxilina e eosina. (A) Sed - Sedentário, animais não tratados nem exercitados, sed DS - animais sedentários e tratados com DS 10mg/ml após 10 min, 12, 24 e 48 horas da lesão, Ex - exercitados por 14 dias, submetidos a lesão arterial, e exercitados por mais 14 dias, ex DS - animais exercitados por 14 dias, lesionados, e exercitados e tratados com DS após 10 min, 12, 24 e 48 horas da lesão. (B) Após a seleção dos cortes, foi feita a análise da percentagem de neointima no lúmen do vaso utilizando-se o programa Image J.

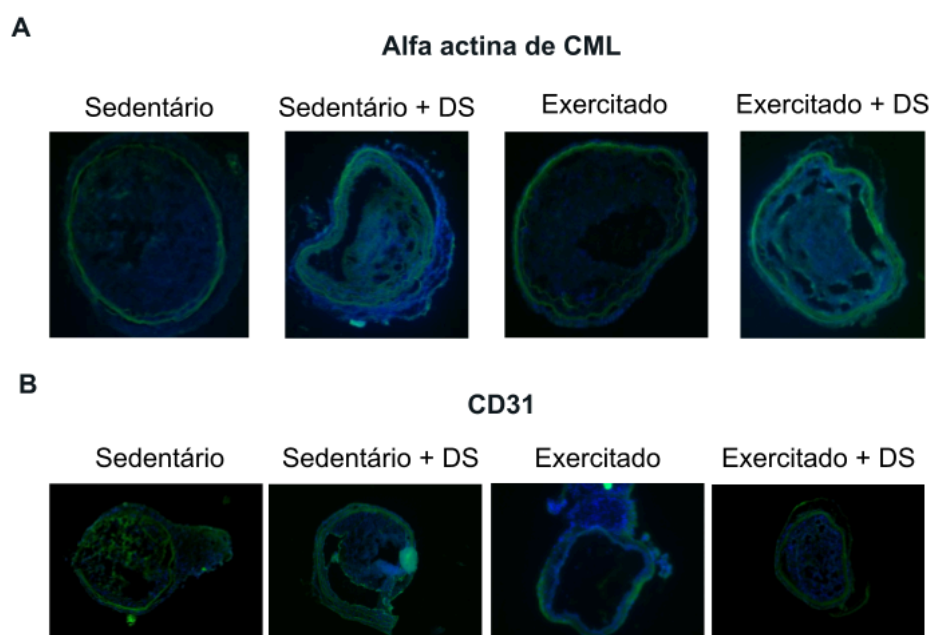


Figura 2. Presença de células musculares lisas e de células endoteliais em vasos lesionados. (A) Os vasos foram tratados com anticorpo anti alfa actina de células musculares lisas, e foi utilizado o anticorpo secundário anti RAT marcado com FITC, os núcleos foram contra corados com DAPI. (B) Os vasos foram tratados com anticorpo anti CD31, para células endoteliais, e marcados com anticorpo secundário anti - RAT FITC, os núcleos foram contra corados com DAPI. Grupos: Sed - Sedentário, animais não tratados nem exercitados. Sed DS - animais sedentários e tratados com DS 10mg/ml após 10 min, 12, 24 e 48 horas da lesão. Ex - exercitados por 14 dias, submetidos a lesão arterial, e exercitados por mais 14 dias. Ex DS - animais exercitados por 14 dias, lesionados, e exercitados e tratados com DS após 10 min, 12, 24 e 48 horas da lesão.

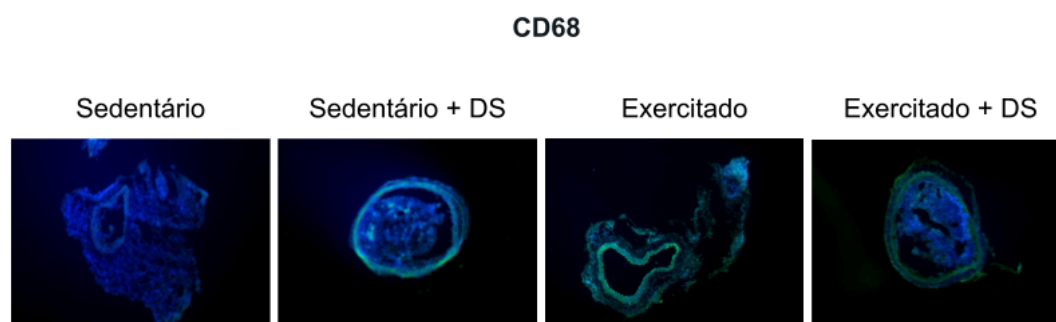




Figura 3. Presença de macrófagos nos vasos lesionados. Os vasos foram tratados com anticorpo anti-CD68, para células inflamatórias, principalmente macrófagos, e foi utilizado o anticorpo secundário anti RAT marcado com FITC, os núcleos foram contra corados com DAPI. Grupos: Sed - Sedentário, animais não tratados nem exercitados. Sed DS - animais sedentários e tratados com DS 10mg/ml após 10 min, 12, 24 e 48 horas da lesão. Ex - exercitados por 14 dias, submetidos a lesão arterial, e exercitados por mais 14 dias. Ex DS - animais exercitados por 14 dias, lesionados, e exercitados e tratados com DS após 10 min, 12, 24 e 48 horas da lesão.

BIBLIOGRAFIA:

1. MÉNDEZ-BARBERO, Nerea; GUTIÉRREZ-MUÑOZ, Carmen; BLANCO-COLIO, Luis. Cellular Crosstalk between Endothelial and Smooth Muscle Cells in Vascular Wall Remodeling. *International Journal Of Molecular Sciences*, [S.L.], v. 22, n. 14, p. 7284, 6 jul. 2021. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms22147284>.
2. ZENG, Xinyi; YANG, Yan. Molecular Mechanisms Underlying Vascular Remodeling in Hypertension. *Reviews In Cardiovascular Medicine*, [S.L.], v. 25, n. 2, p. 1-14, 20 fev. 2024. IMR Press. <http://dx.doi.org/10.31083/j.rcm2502072>.
3. KULKARNI, Rohan; ANDRASKA, Elizabeth; MCENANEY, Ryan. Structural Remodeling of the Extracellular Matrix in Arteriogenesis: a review. *Frontiers In Cardiovascular Medicine*, [S.L.], v. 8, 5 nov. 2021. Frontiers Media SA. <http://dx.doi.org/10.3389/fcvm.2021.761007>.
4. LIBBY, Peter. Inflammation in atherosclerosis. *Nature*, [S.L.], v. 420, n. 6917, p. 868-874, dez. 2002. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/nature01323>.
5. TERRA, Maiara Ferreira. Estudo dos mecanismos envolvidos no efeito do exercício físico na trombose e inflamação após lesão arterial em camundongos ateroscleróticos. 2018. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia Celular e Estrutural, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2018.
6. World Health Organization (WHO). Cardiovascular diseases (CVDs). 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)). Acesso em: 25 set. 2023.