

RESUMO

Tibério IFLC. *Neuropeptídeos e óxido nítrico: modulação da resposta inflamatória pulmonar*. [tese livre-docência]. São Paulo, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2005. 270p.

Introdução: Embora estudos prévios sugerem o que o óxido nítrico e neuropeptídeos possam contribuir para a modulação de diferentes aspectos da inflamação alérgica crônica pulmonar, sua importância fisiopatológica na asma ainda não está totalmente estabelecida. **Objetivos:** 1. Avaliar em cobaias os efeitos da ação da liberação aguda de neuropeptídeos endógenos pelo estímulo às terminações nervosas sensitivas sensíveis à capsaicina (CAP), da infusão dos agonistas substância P e neurocinina A e de seus antagonistas de receptores (ARs) SR140333 e SR48968 (respectivamente, para os receptores NK₁ e NK₂) no recrutamento eosinofílico pulmonar. 2. Avaliar em cobaias com inflamação alérgica pulmonar os seguintes efeitos: 2A. Da depleção dos neuropeptídeos na expressão da óxido nítrico sintase induzida em células inflamatórias; 2B. Da depleção dos neuropeptídeos na expressão da óxido nítrico sintase neuronal em células inflamatórias; 2C. Da inibição aguda e crônica da produção NO pelo tratamento com L-NAME (falso substrato para as óxido nítrico sintases) nas alterações funcionais, inflamatórias e de remodelamento pulmonar; 2.D. Do tratamento com L-NAME e 1400W (inibidor específico de iNOS) nas alterações funcionais, inflamatórias e de remodelamento pulmonar. **Métodos:** 1. Cobaias anestesiadas receberam: 1A. Capsaicina (34nmol/kg i.c.) e avaliadas após: 30 minutos (CAP30); 2 horas (CAP2H); 6 horas (CAP6H) e 24 horas (CAP24H) após infusão de capsaicina. O grupo controle recebeu veículo de capsaicina (VE); 1B. SR140333 (300 nmol/kg i.c. grupo NK1CAP), SR48968 (100 nmol/kg, grupo NK2CAP) ou a associação dos dois antagonistas (grupo NK1NK2CAP) (n=8 para cada grupo). Após 30 minutos as cobaias foram anestesiadas, traqueostomizadas, ventiladas mecanicamente e receberam capsaicina IC (34nmol/kg) e obtidas a resistência e elastância do sistema respiratório (Ers e Rrs). 3. SP (1 nmol/kg), NKA (1 nmol/kg) ou NaCl 0,9% (1 ml/kg) (n=8 para cada grupo) e realizadas as medidas de A mecânica pulmonar foi obtida antes e 1 e 30 minutos após a infusão destes peptídeos. 2. A depleção de neuropeptídeos foi realizada através do pré-tratamento com capsaicina (grupos CAP). As cobaias receberam inalações 2x/semana/4semanas com doses crescentes de ovoalbumina (OVA) ou soro fisiológico (SF) durante 15 minutos ou até que ocorresse desconforto respiratório. Após 24 horas da 4ª inalação foi iniciado o tratamento diário com L-NAME na água de beber (60mg/Kg/dia/animal). Animais controles foram tratados com veículo. Outro grupo de animais (OVA ou SF) receberam tratamento com 1400W (2mg/Kg/dia/animal i.p.) ou veículo que se iniciou 30 minutos antes da 7ª inalação até o dia da mecânica pulmonar. Após 72 horas da última inalação, os animais foram anestesiados e ventilados mecanicamente e o NO foi coletado com balão de *Mylar* por 5 minutos. O tratamento agudo com L-NAME foi feito 10 minutos antes do desafio antigênico. Obtiveram-se os valores basais de Ers e Rrs e a resposta máxima após o desafio com aerossol

de OVA ou SF. Ao final de todos os experimentos os pulmões foram retirados e analisados por morfometria para a caracterização da resposta inflamatória e do remodelamento brônquico. **Resultados:** 1. O aumento na Rrs após a capsaicina foi atenuado pelo NK2AR e pela associação de NK1NK2AR ($p < 0,001$). O aumento da Ers foi atenuado com o uso de NK1NK2AR ($p < 0,001$). Nos alvéolos houve um aumento nos eosinófilos após 30 minutos da infusão de CAP ($p < 0,001$) e foi atenuado após 24 horas. O pré-tratamento com NK1AR, NK2AR, e NK1NK2AR diminuiu os eosinófilos nos alvéolos ($p < 0,001$). SP induziu a um aumento de eosinófilos nos alvéolos ($p < 0,001$), embora a NKA também possa também contribuir para esta resposta. Nas vias aéreas observou-se um aumento de eosinófilos a partir de 30 minutos ($p = 0,006$) até 24 horas após a infusão de CAP. Notou-se um influxo predominante de células ao redor das vias aéreas após a infusão de CAP e de SP. O pré-tratamento com NK1AR e NK1NK2AR reduziu os eosinófilos nas vias aéreas ($p < 0,001$). 2. Independentemente da sensibilização o pré-tratamento com capsaicina atenuou os valores basais de Ers e Rrs o que se correlacionou positivamente com o aumento na expressão de nNOS em mononucleares brônquicos. Os animais sensibilizados apresentaram aumento de NO exalado, intensa broncoconstrição, edema peribrônquico, infiltrado inflamatório eosinofílico e mononuclear, aumento da expressão de iNOS e nNOS em eosinófilos e mononucleares, aumento do colágeno e de fibras elásticas na parede ($P < 0,05$). Nos animais sensibilizados, o pré tratamento com CAP atenuou a resposta máxima de Rrs e Ers, os mononucleares e eosinófilos brônquicos ($P < 0,05$), exceto os eosinófilos iNOS positivos. O tratamento agudo com L-NAME potencializou a resposta de aumento de Ers após desafio, restaurou a resposta de mecânica pulmonar previamente atenuada pela CAP e reduziu os mononucleares (LMN) e os eosinófilos brônquicos, incluindo as células que expressavam iNOS ($P < 0,05$). O tratamento crônico com L-NAME aumentou os valores basais de Rrs e reduziu os de Ers ($P < 0,05$) e potencializou a resposta de aumento de Rrs após desafio ($P = 0,01$), reduziu o edema peribrônquico e os mononucleares ($P < 0,01$) e aumentou o colágeno brônquico ($P < 0,05$). O tratamento com 1400W nos animais sensibilizados atenuou a resposta de Rrs após desafio ($P < 0,01$), reduziu os mononucleares e os eosinófilos ($P < 0,01$) além da deposição de colágeno e de fibras elásticas na parede brônquica ($P < 0,001$). **Conclusões:** Os neuropeptídeos são broncoconstritores fisiológicos e a SP e a NKA contribuem para o desenvolvimento da inflamação eosinofílica. Além disto, aumentam o número de mononucleares-iNOS e reduzem os nNOS-positivos. O NO produzido via nNOS gera broncodilatação, reduz o colágeno, o edema peribrônquico e predominantemente o infiltrado mononuclear. O NO produzido via iNOS contribue para a broncoconstrição, potencializa a inflamação eosinofílica e mononuclear e a deposição de colágeno e fibras elásticas em brônquios. O NO reverte as alterações da mecânica basal e da resposta máxima após desafio antigênico desencadeadas pelos neuropeptídeos.