



XVI Reunião da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação

“HEMORREOLOGIA, MICROCIRCULAÇÃO E *STRESS* OXIDATIVO”

26 de Novembro de 2005

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

09:30 – **Sessão de Abertura**

(Prof.^a Doutora **Carlota Saldanha**/Lisboa)

Mesa Redonda – Moderador Prof. Doutor **Braz Nogueira**

09:40 – **Stress Oxidativo: considerações gerais**

(Dr. **Paulo Filipe**/Lisboa)

09:55 – **Stress oxidativo vascular e Biorreactividade do NO**

(Prof. Doutor **Luz Rodrigues**/Lisboa)

10:10 – **Disfunção endotelial na HTA**

(Dr. **António Pedro Machado**/Lisboa)

10:25 – **NO e acidente vascular cerebral**

(Prof. Doutor **Victor Oliveira**/Lisboa)

10:40 – **Coffee-Break** (Patrocínio Tecnifar)

Mesa Redonda – Moderador Prof. Doutor **Frederico Teixeira**

11:00 – **Stress oxidativo na tolerância aos nitratos:
mecanismos vasculares/plaquetares**

(Dr. **Flávio Reis**/Coimbra)

11:15 – **Stress oxidativo na diabetes: o papel do exercício
físico**

(Dra. **Edite Lemos**/Coimbra)

11:30 – **Factores moduladores da microcirculação**

(Dr. **Henrique Sobral do Rosário**/Lisboa)

11:45 – **Lesão eritrocitária em situações de stress oxidativo**

(Prof.^a Doutora **Alice Santos Silva**/Porto)

12:00 – **Stress oxidativo na pré-eclampsia**

(Prof. Doutor **Luís Belo**/Porto)

12:15 – **Stress oxidativo na evolução da doença psoriática**

(Prof.^a. Doutora **Petronila Rocha Pereira**/Covilhã)

12:30 – **Entrega de louvores e encerramento da reunião**

(Prof. Doutor **Martins e Silva**/Lisboa)

Almoço de encerramento (Patrocínio Tecnifar)



MONÓXIDO DE AZOTO E ACIDENTE VASCULAR CEREBRAL

Vicor Oliveira*

* Doutorado em Medicina (Neurologia) pela Faculdade de Medicina de Lisboa. Professor Auxiliar de Neurologia. Chefe de Serviço Hospitalar Serviço de Neurologia do Hospital de Santa Maria. Director do Laboratório de Hemodinâmica Cerebral do Hospital Santa Maria.

O papel do Monóxido de azoto (NO) como modulador do processo isquémico cerebral, tem merecido um largo debate e mantém-se em grande medida controverso.

No decurso da isquémia cerebral verifica-se um processo inflamatório traduzido pela chegada de leucócitos à zona afectada. Estes leucócitos induzem a libertação de NO, cuja concentração está relacionada com o volume da lesão e com o facto de haver ou não reperfusão. O papel do NO pode assim, ser utilizado como medida da gravidade da lesão.

Por outro lado existe também evidência de que o NO possa ter um papel neurotóxico ou neuroprotector consoante a fase de evolução da lesão isquémica cerebral.

Sabe-se que (1) a modulação de citocinas pró-inflamatórias que são um mediador inflamatório poderoso, produzidas por AVC isquémico, estavam relacionadas com o volume do enfarte. Assim: os enfartes mais

volumosos estavam associados com elevações intra-tecais de NO mais tardias, enquanto que as respostas mais precoces se relacionavam com enfartes mais pequenos, o que sugere um efeito neurotóxico do NO.

Num estudo publicado recentemente (2), verificou-se que a hipoxia induzida *in vitro* em modelo de vasos animais, se conseguia uma menor perturbação da barreira hematoencefálica se se inibisse a síntese de NO.

A evidencia actual (3) sugere que o NO pode ter acções distintas conforme a fase da lesão isquémica cerebral: A libertação de NO a partir do NO endotelial (eNO) é protectora, sobretudo por permitir uma vasodilatação. Mas após a instalação da isquémia o NO produzido por sobre-estimulação de NO e posteriormente pela expressão “de novo” de NO, contribui para a lesão cerebral.

A compreensão mais aprofundada deste processo poderá levar utilização



de fármacos com acção terapêutica no acidente vascular (4), quer inibindo ou estimulando a produção de NO, antevendo-se uma possível utilidade sobre a penumbra isquémica. No entanto, no momento actual não existem quaisquer terapêuticas disponíveis

BIBLIOGRAFIA

- 1) Intrathecal release of nitric oxide and its relation to final brain damage in patients with stroke. Tarkowski E; Ringqvist A; Rosenberg L; Jensen C; Ekholm S; Wennmalm; Cerebrovasc Dis (2000); 10:200-206.
- 2) Nitric Oxide mediates hypoxia-induced changes in paracellular permeability of cerebral microvasculature. Mark KS; Burroughs AR; Brown RC; Huber JD; Davis TP Am J Physiology Heart Circ Physiol (2004); 288:H174-80.
- 3) Role of nitric oxide after brain ischaemia. Moro MA; Cardenas A, Hurtado O; Leza JC; Lizasoain I. Cell Calcium (2004); 36: 265-75.
- 4) The potential of nitric oxide therapeutics in stroke. Wilmot MR; Bath PM Expert Opin Investig Drugs (2003); 12: 455-70.



STRESSE OXIDATIVO NA TOLERÂNCIA AOS NITRATOS: MECANISMOS VASCULARES/PLAQUETARES

*Flávio Reis¹, Edite Teixeira de Lemos^{1,2}, Petronila Rocha-Pereira^{3,4},
Alice Santos-Silva,⁴ Nuno Piloto¹, Sofia Baptista¹, Carlos Costa-Almeida,⁵
Frederico Teixeira¹*

¹ Unidade de Terapêutica, Instituto de Farmacologia e Terapêutica Experimental e

⁵ Instituto de Fisiologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra;

² ESAV, bolsheiro PRODEP no IFTE, Fac. Medicina UC;

³ Departamento de Química, Universidade da Beira Interior, Covilhã;

⁴ Faculdade de Farmácia e Instituto de Biologia Molecular e Celular, Universidade do Porto.

A descoberta do papel do monóxido de azoto (NO) em inúmeros mecanismos celulares relacionados com os sistemas cardiovascular (CV), nervoso, inflamatório ou imunológico, bem como das implicações resultantes da sua deficiente síntese e/ou actuação na fisiopatologia de algumas doenças, designadamente do foro CV, despertou o interesse na utilização de compostos ou fármacos com propriedades de dadores de NO.

De entre os vários tipos de compostos com estas características, os nitratos orgânicos são os mais conhecidos e os há mais tempo utilizados na prática clínica, designadamente para o tratamento da angina de peito. O principal mecanismo de acção subjacente aos efeitos terapêuticos dos compostos desta família, cujos mais conhecidos

são o gliceril trinitrato (GTN), o pentaeritritol tetranitrato (PETN), o dinitrato de isossorbido (IsDn) e seus metabolitos 5-mononitrato de isossorbido (Is-5-Mn) e 2-mononitrato de isossorbido (Is-2-Mn), é a libertação do NO e a subsequente geração de GMPc, o qual vai despoletar a vasodilatação e a inibição da actividade plaquetar. Todavia, não obstante a importância terapêutica dos nitratos orgânicos, a sua aplicação clínica pode estar comprometida pelo desenvolvimento de tolerância. As bases bioquímicas deste efeito continuam em discussão, mas um dos mecanismos sugeridos é a formação de espécies reactivas de oxigénio ou nitrogénio (ROS e RNS, respectivamente) que, por si sós, têm efeitos deletérios variados, designadamente sobre a funcionalidade vascular e plaquetar.



No presente trabalho apresenta-se uma revisão sumária desta temática e, paralelamente, um exemplo prático da administração de um nitrato orgânico, o Is-5-Mn, com o objectivo de prevenção/tratamento da HTA induzida pelo ciclosporina (CsA) que se sabe estar associada a uma atenuação/difusão da via NO-GMPc, dando particular ênfase às alterações vasculares e plaquetares encontradas. Para tal, foi avaliada a administração simultânea do nitrato (em dose bidiária assimétrica) com a CsA em duas situações distintas: antes do tratamento com CsA (preventivamente) e após as alterações induzidas pelo imunossupressor estarem presentes (tratamento curativo/regressivo).

Os resultados obtidos demonstraram que a administração do Is-5-Mn a título preventivo permitiu prevenir o desenvolvimento de HTA e a maioria das alterações vasculares e plaquetares a ela subjacentes. Contrariamente, no tratamento curativo com Is-5-Mn verificou-se a ineficácia de regressão ou atenuação do aumento das pressões

arteriais e, simultaneamente, constatou-se ainda um agravamento da funcionalidade vascular e plaquetar. Esta clara dicotomia de efeitos levantou a hipótese da formação de espécies reactivas, designadamente de peroxinitrito, quando o nitrato era fornecido após a CsA. As observações, naquelas circunstâncias, do aumento da peroxidação lipídica e da inequívoca presença de 3-nitrotirosina (um indicador da formação de peroxinitrito), associados a evidentes alterações morfológicas vasculares e plaquetares, vieram reforçar aquela suposição.

Em conclusão, este exemplo experimental com o Is-5-Mn parece confirmar a formação de espécies reactivas e o consequente stresse oxidativo como mecanismos associados ao desenvolvimento de tolerância aos nitratos, quando a administração destes e o ambiente celular envolvente o propiciem, o que aconselha a uma cuidada avaliação dos seus efeitos e uma redobrada atenção na sua aplicação na prática clínica.



STRESSE OXIDATIVO NA DIABETES: O PAPEL DO EXERCÍCIO FÍSICO

*Edite Lemos¹, Flávio Reis², Sofia Baptista², Nuno Piloto²,
Petronila Rocha-Pereira^{3,4}, Alice Santos Silva⁴, Natércia Teixeira⁴,
Frederico Teixeira²*

¹ Prof. Coordenador da ESAV, bolseiro PRODEP no Instituto de Farmacologia e Terapêutica Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Portugal

² Unidade de Terapêutica, Instituto de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

³ Departamento de Química, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal

⁴ Faculdade de Farmácia e Instituto de Biologia Molecular e Celular, Universidade do Porto, Portugal

O stresse oxidativo aparece associado a vários processos patogénicos, nomeadamente à diabetes tipo2 (DM2) e suas complicações micro e macrovasculares. Subsistem, no entanto, dúvidas quanto à natureza, magnitude e mecanismos do stresse oxidativo nas complicações diabéticas. Tudo indica que existem diversos mecanismos interligados capazes não só de aumentar a produção de espécies reactivas de oxigénio e de nitrogénio como também de diminuir a protecção antioxidante nos diabéticos.

A prática regular de exercício físico apresenta comprovados benefícios para a saúde, constituindo uma ferramenta

terapêutica importante no que diz respeito à prevenção e/ou tratamento da diabetes e desde que seja adaptado de forma a que possa contribuir para a diminuição do stresse oxidativo. De facto, o exercício físico, quando praticado de forma aguda, aumenta o stresse oxidativo, ao passo que, quando é praticado de forma regular e continuada (treino), tende a diminuí-lo.

Neste trabalho efectua-se uma revisão acerca dos mecanismos associados ao stresse oxidativo na diabetes e sua importância nas suas complicações, bem como dos efeitos da prática do exercício físico agudo e crónico nesta patologia.



REGULAÇÃO DA MICROCIRCULAÇÃO

Henrique Sobral do Rosário

Instituto de Biopatologia Química-Faculdade de Medicina de Lisboa e
Unidade de Biopatologia Vascular-Instituto de Medicina Molecular; Lisboa,
Portugal

A microcirculação é o território do sistema vascular responsável pelas trocas metabólicas e nutricionais com os órgãos e tecidos. Englobando as arteríolas terminais, os capilares e as vénulas, o fluxo sanguíneo microvascular é sujeito a apertados processos de modulação que englobam todos os seus componentes acima descritos.

Assim, serão referidos os mecanismos de regulação da função microvascular, sendo abordados os mecanismos dependente da regulação vaso-

génica endógena, da resposta inflamatória e da reologia sanguínea e a sua importância relativa.

Para terminar, serão brevemente discutidos dois conceitos que ilustram a forma como os processos reguladores da função microvascular podem estar alterados, e assim participar, na fisiopatologia de doenças cardiovasculares. Estes conceitos fisiopatológicos são o fenómeno de não-refluxo (“no-reflow phenomenon”) e a alteração funcional da microcirculação na presença de doença aterosclerótica macrovascular.

LESÃO ERITROCITÁRIA EM SITUAÇÕES DE STRESSE OXIDATIVO

Alice Santos Silva^{ab}, Elisabeth Castro^{ab}, Petronila Rocha Pereira^{bc}, Irene Rebelo^{ab}, Cristina Catarino^{ab}, Luís Belo^{ab}, Natércia Teixeira^{ab}, Frederico Teixeira^d, Alexandre Quintanilha^{bc}

^a Serviço Bioquímica, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto;

^b Instituto de Biologia Molecular e Celular, Universidade do Porto;

^{bc} Departamento de Química, Universidade da Beira Interior;

^d Unidade Terapêutica, Instituto de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Faculdade Medicina, Universidade de Coimbra;

^e Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto



O glóbulo vermelho (GV) é uma célula particularmente sensível a agressões oxidativas e proteolíticas, por ter uma reduzida capacidade biosintética que o impede de substituir ou reparar as modificações ocorridas nas suas proteínas. Ao longo da sua vida o GV sofre e acumula lesões decorrentes de um processo de senescência natural ou de agressões físicas e químicas.

A proteína banda 3, uma proteína transmembranar do GV, parece marcar a célula para a morte, traduzindo para o exterior qualquer modificação bioquímica que ocorra no interior do GV. Esta proteína encontra-se distribuída uniformemente pela membrana e liga-se a auto-anticorpos naturais anti-banda 3 plasmáticos através de ligações fracas. Em caso de falência dos mecanismos de defesa antioxidante, decorrente de um processo de senescência normal ou imposto por uma situação de stresse oxidativo, a

hemoglobina é oxidada ligando-se ao domínio citoplasmático da banda 3, promovendo a sua agregação e a ligação dos anticorpos anti-banda 3 através de ligações covalentes, que em conjunto com o complemento medeiam o reconhecimento e remoção de GV senescentes ou lesados, pelos macrófagos.

Processos inflamatórios de origem fisiológica, como o exercício físico intenso e a gravidez, ou de origem patológica, como as doenças cardiovasculares e a psoríase, cursam habitualmente com uma leucocitose do tipo neutrofílico e com uma redução no número de GVs circulantes. Esta associação sugere que a exposição de GV a metabólitos de oxigénio e a proteases, ambos produzidos por leucócitos activados, pode determinar o desenvolvimento de stresse oxidativo na célula, com acumulação de lesões oxidativas e/ou proteolíticas determi-



nantes de envelhecimento acelerado e remoção prematura dos GVs lesados.

Na procura de novos marcadores de risco, temos avaliado o eritrócito

como um marcador cumulativo de stresse oxidativo em diferentes processos inflamatórios associados ao desenvolvimento de stresse oxidativo.



STRESSE OXIDATIVO NA PRÉ-ECLAMPSIA

*Belo L^{1,2}, Santos-Silva A^{1,2}, Castro EMB^{1,2}, Pereira-Leite L³, Caslake M⁴,
Quintanilha A², Rebelo I^{1,2}*

Universidade do Porto, Portugal

¹ Serviço de Bioquímica, Faculdade de Farmácia;

² Instituto de Biologia Molecular e Celular;

³ Serviço de Obstetrícia e Ginecologia, Hospital de S. João;
University of Glasgow, UK;

⁴ Department of Vascular Biochemistry, Royal Infirmary

A pré-eclampsia (PE) é uma perturbação hipertensiva característica da gravidez humana, e, apesar da sua origem ser desconhecida, pensa-se que certas formas de dislipidémia bem como leucócitos activados poderão contribuir para o desenvolvimento de stresse oxidativo e disfunção vascular observados nesta síndrome.

O objectivo deste estudo foi o de avaliar e comparar mulheres grávidas normais ($n = 67$) e pré-eclâmplicas ($n = 51$) no terceiro trimestre de gestação. O estudo laboratorial englobou a avaliação da activação dos neutrófilos -determinada através da quantificação dos níveis plasmáticos de elástase e lactoferrina - e do perfil lipídico e lipoproteico tradicional, juntamente com a quantificação do diâmetro das LDL e da concentração das LDL oxidadas.

Encontrámos, com significado estatístico, em mulheres com PE: 1) níveis séricos mais baixos de HDL-colesterol e apolipoproteína (apo) A-I, o maior constituinte proteico das HDL, 2) uma redução no diâmetro médio das LDL, 3) concentrações mais elevadas de triglicédeos e de elástase e 4) uma correlação inversa entre os níveis de apo A-I e ambos os marcadores de activação neutrofílica.

Em conclusão, a resposta inflamatória associada à PE parece estar aumentada comparativamente à da gravidez normal e níveis reduzidos de HDL poderão estar na base de quadros inflamatórios mais pronunciados. Mais ainda, a inflamação observada na PE poderá estar intimamente ligada ao desenvolvimento de stresse oxidativo e disfunção vascular.



STRESS OXIDATIVO NA EVOLUÇÃO DA DOENÇA PSORIÁTICA

Petronila Rocha Pereira^{ac}, Alice Santos Silva^{bc}, Irene Rebelo^{bc}, Américo Figueiredo^d, Alexandre Quintanilha^{ce}, Frederico Teixeira^f

^a Departamento de Química, Universidade da Beira Interior;

^b Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto;

^c Instituto de Biologia Molecular e Celular (IBMC), Universidade do Porto; ^dServiço de Dermatologia, Hospitais da Universidade de Coimbra;

^e Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto; ^fInstituto de Farmacologia e Terapêutica Experimental, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra

A psoríase é uma doença dermatológica, de carácter inflamatório e recorrente que afecta 2 a 3% da população mundial. A etiologia é controversa, destacando-se, todavia, a importância da resposta inflamatória e do *stress* oxidativo na sua evolução. Associa frequentemente dislipidemia e uma elevada prevalência de eventos cardiovasculares.

Foram estudados 70 doentes, com psoríase vulgar em placas, apresentando cerca de metade a forma moderada e os restantes a forma grave da doença. Os estudos analíticos incluíram a avaliação do perfil lipídico, de marcadores inflamatórios e de *stress* oxidativo plasmático e eritrocitário.

Os resultados sugerem que a psoríase é um estado inflamatório no qual os neutrófilos parecem desempenhar um papel importante, contribuindo para

o desenvolvimento de *stress* oxidativo e proteolítico, quer a nível plasmático, quer a nível eritrocitário. Os eritrócitos, em número mais reduzido nos doentes, apresentam diversas alterações, nomeadamente uma redução na fluidez da membrana e na capacidade antioxidante, denotando um processo de lesão e/ou envelhecimento acentuado, que parece estar correlacionado com o processo de activação neutrofílica. As lesões nos eritrócitos e a activação neutrofílica parecem aumentar de acordo com a gravidade da doença.

O perfil lipídico dos doentes apresentou modificações significativas de risco aterogénico, que se acentuam na forma grave da doença. Observou-se também o desenvolvimento de *stress* oxidativo nestes doentes, traduzido num desequilíbrio entre oxidantes e antioxidantes. A activação de neutró-

filos no sangue periférico pode favorecer a aterogénese, promovendo a oxidação das lipoproteínas de baixa densidade.

Na psoríase, o aumento de leucócitos circulantes, de capacidade de deformabilidade reduzida, associado ao aumento de eritrócitos com uma reduzida capacidade de deforma-

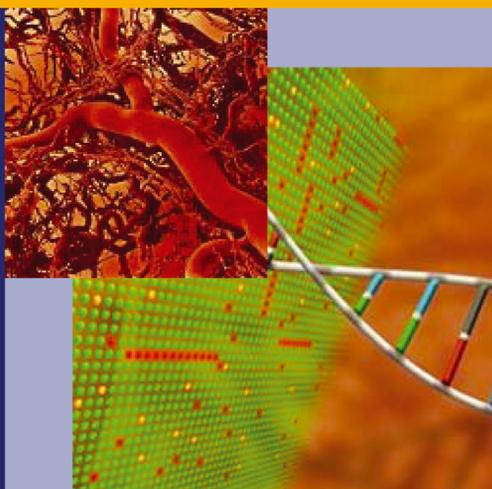
bilidade, e, ainda, a dislipidemia, contribuem certamente para um aumento da viscosidade sanguínea e para o desenvolvimento de alterações hemorreológicas, que se acentuam na forma grave da doença. Esta combinação, poderá, pois, explicar a prevalência de eventos cardiovasculares nestes doentes.



Faculdade de Medicina de Lisboa
Instituto de Formação Avançada
Gabinete de Formação Contínua



Curso Pós-Graduado
de Actualização



**BIOENGENHARIA
DE TECIDOS E
REOLOGIA**

6º Curso Avançado em
Bioquímica Aplicada

27 de Janeiro de 2006

Temas das Sessões

- Bioterapia: da engenharia ao doente.
- Mecanobiologia do condrócito.
- Os transportadores de oxigénio de nova geração.
- Novas metodologias moleculares de visualização em modo multifotónico.
- Expansão e diferenciação *ex vivo* de células estaminais hematopoiéticas humanas.
- Células estaminais: do embrião ao cérebro.
- Metaloproteinases e resposta tecidual a matrizes artificiais em bioengenharia vascular.

Destinatários

Investigadores e Docentes da FMUL e de outras Instituições Universitárias ou de Investigação Científica

Local

Edifício Egas Moniz da F.M.L.

Organização

Instituto de Biopatologia Química

Patrocínio Científico

- Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa (FMUL)
- Université Henri Poincaré (Nancy; França)
- Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação (SPHM)
- Instituto de Medicina Molecular (IMM)



Patrocínio Institucional

- Serviços Culturais da Embaixada de França
- Fundação Merck Sharp & Dohme
- Fundação para a Ciência e Tecnologia



Secretariado

Faculdade de Medicina de Lisboa – Instituto de Formação Avançada – Gabinete de Formação Contínua
Av. Prof. Egas Moniz, 1649-028 Lisboa - Telefone: 21 798 51 49 - Fax: 21 798 51 50
Endereço: www.fmul-ifa.org / E-mail: gfc.ifa@fm.ul.pt



APOIOS RECEBIDOS

A SPHM agradece reconhecida os apoios recebidos das seguintes entidades:

Laboratórios Medinfar, SA

Fundação para a Ciência e Tecnologia

Tecnifar, SA

Publicações Ciência e Vida

A Direcção da Sociedade Portuguesa de Hemorreologia e Microcirculação vem oficialmente agradecer à Agência Abreu, SA, a prestimosa colaboração que ao longo dos anos tem prestado à nossa Sociedade

Esta publicação é distribuída a todos os membros da
SOCIEDADE PORTUGUESA DE
TROMBOSE E HEMOSTASE

