

Propriedades Elétricas de Cardiomiócitos Isolados em um Modelo Animal em Ratos com Deficiência de Tiamina

Electrical Properties of Isolated Cardiomyocytes in a Rat Model of Thiamine Deficiency

Artur Santos-Miranda², Jader Santos Cruz², Danilo Roman-Campos¹

Universidade Federal de São Paulo¹, São Paulo, SP; Universidade Federal de Minas Gerais², Minas Gerais, MG - Brasil

Resumo

Na sociedade moderna, a deficiência de tiamina (DT) ainda é uma condição médica importante ligada à função cardíaca alterada. Há relatos contraditórios sobre o impacto da DT sobre a fisiologia do coração, especialmente no contexto da excitabilidade cardíaca. A fim de resolver essa questão em particular, nós utilizamos de um modelo de DT para investigar as propriedades elétricas de cardiomiócitos isolados das diferentes sub-regiões do miocárdio de ratos, epicárdio e endocárdio, por meio da técnica de "patch clamp". Nenhum dos dois tipos de célula estudados apresentou diferenças significativas na morfologia do potencial de ação e corrente transitória rápida de saída de potássio. Com base em nossos resultados, podemos concluir que a DT não induz grande remodelamento elétrico em miócitos cardíacos isolados tanto nas células do endocárdio quanto nas do epicárdio.

Introdução

A tiamina é um importante cofator envolvido em reações bioquímicas diversas. A sua privação gera alterações significativas na fisiologia, especialmente em neurônios e tecido cardíaco¹. No mundo industrializado, a deficiência de tiamina (DT) está particularmente associada ao consumo crônico de álcool e administração de diuréticos de alça, como a furosemida¹. Em ambos os casos, foi relatado algum grau de remodelamento cardíaco, tal como a insuficiência cardíaca de alto débito, a manifestação clínica mais comum da DT². Em alguns casos, os pacientes com DT podem desenvolver insuficiência cardíaca em associação com remodelamento elétrico do coração^{2, 3}. Baseado em dados prévios da literatura e usando modelos animais, nosso grupo e outros determinaram o remodelamento elétrico dos cardiomiócitos. No entanto, há resultados conflitantes na literatura¹. No presente estudo, determinamos se a DT leva ao remodelamento elétrico de miócitos isolados do endocárdio (ENDO) e do epicárdio (EPI) de ratos.

Palavras-chave

Miócitos Cardíacos, Estimulação Elétrica, Deficiência de Tiamina/fisiopatologia, Potenciais de Ação, Ratos, Insuficiência Cardíaca.

Correspondência: Danilo Roman Campos •

Rua Botucatu 862, Edifício de Ciências Biomédicas. Vila Clementino.

CEP 04023-062, São Paulo, SP – Brasil

Email: drcampos@unifesp.br; drcbio@gmail.com

Artigo recebido em 10/10/2014; revisado em 24/12/2014, aceito em 24/12/2014.

DOI: 10.5935/abc.20150010

Métodos

Grupo Experimental

Ratos machos Wistar (250 g) foram alimentados com uma dieta controle (contendo tiamina) ou uma dieta livre de tiamina durante 35 dias, tal como descrito anteriormente pelo nosso grupo^{4,6}.

Isolamento celular

Células do ENDO e EPI do ventrículo esquerdo de ratos do grupo controle pareados por idade e ratos com DT foram enzimaticamente dissociadas como relatado anteriormente⁴.

Registros Eletrofisiológicos

Todos os registros foram obtidos utilizando métodos e soluções como descrito anteriormente⁵. As células foram mantidas em um potencial de holding de -80 mV. Os potenciais de ação (PA) foram induzidos por pulsos curtos (3-5 ms) de corrente de 1nA a 1 Hz de frequência durante 3 minutos. Durante os registros das correntes de potássio, as células foram perfundidas com uma solução de Tyrode modificada, substituindo NaCl por N-metyl-D-glucamina (NMDG) (para abolir a corrente de sódio), e 100 μ M de CdCl₂ (para bloquear a corrente de cálcio tipo L). Um potencial de junção de -20 mV foi medido e deve ser aplicado a todos os potenciais testados.

Análise estatística

Todos os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média. Para a análise estatística, utilizou-se o teste One-way anova, seguido pelo teste post-hoc de Tukey. $P < 0,05$ foi estabelecido como nível de significância.

Resultados

No presente estudo, foram avaliadas as propriedades elétricas dos miócitos isolados das células do ENDO e EPI. Os nossos resultados mostraram que o miócito controle apresenta maior duração do potencial de ação (DPA) em células do ENDO quando comparadas com as células do EPI (Figura 1). Esse fenômeno está associado à maior corrente de potássio de saída presentes nas células do EPI quando comparada com as células do ENDO (Figura 2), corroborando dados anteriores da literatura. Para nossa surpresa, a DT teve um impacto não significativo sobre as propriedades elétricas dos cardiomiócitos isolados. Quando comparado o tempo necessário para 90% da

repolarização (TR) do PA das células de EPI CTR com EPI DT, esse foi de $26,33 \pm 1,56$ ms, $n = 26$ vs. $30,35 \pm 2,49$ ms, $n = 22$, respectivamente. As células do ENDO apresentaram resultados semelhantes. Por exemplo, o TR a 90% foi $38,93 \pm 2,96$ ms, $n = 18$ vs. $46,40 \pm 6,11$ ms, $n = 20$ para células CTR vs. com DT (Figura 1). Em concordância com esses resultados, o pico de corrente de saída e de entrada de potássio foi semelhante, ao comparar EPI CT ao EPI DT. Por exemplo, a $+80$ mV foi (A/F) $23,01 \pm 1,77$, $n = 18$, e $20,62 \pm 1,50$, $n = 15$, respectivamente. Perfil semelhante foi observado para as células do ENDO (Figura 2). Por fim, em conformidade com resultados anteriores, os miócitos com DT apresentam capacitâncias menores quando comparados com as células CTR (dados não mostrados).

Discussão

Em estudos anteriores, utilizando um modelo animal com ratos, o nosso grupo mostrou que a DT é capaz de induzir a disfunção da capacidade contrátil dos cardiomiócitos⁷. Tais mudanças foram atribuídas à alterações no manejo intracelular de cálcio, com redução do conteúdo de cálcio no retículo sarcoplasmático⁸. Além disso, observou-se um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio

(ROS), que podem ter contribuído para a redução da massa cardíaca observada nesse modelo⁴. Juntos, esses resultados são capazes de explicar a redução da função cardíaca e dos miócitos durante a DT.

No contexto da alteração elétrica, é mais difícil obter uma ideia mais conclusiva. Há muitos relatos na literatura que mostram diferentes alterações no eletrocardiograma de humanos e animais durante a DT, incluindo taquicardia, elevação e depressão do segmento ST, morfologia alterada da onda T com prolongamento do intervalo QT, acompanhadas de bloqueio AV e prolongamento do QRS^{2, 9}. No contexto dos modelos animais, parece que os cardiomiócitos de ratos jovens são mais propensos a desenvolver distúrbios elétricos quando comparados a ratos adultos (os últimos foram utilizados no presente estudo)¹.

No entanto, é intrigante que a DT não seja capaz de induzir um remodelamento elétrico significativo em cardiomiócitos, especialmente no contexto do aumento da produção de ROS⁴. Sabe-se que as ROS são capazes de reduzir a corrente de potássio de saída em miócitos, devido à expressão reduzida de $Kv_{3,4}$, que é responsável pela corrente transitória de saída de potássio¹⁰. Assim, é possível especular que existem sistemas endógenos e/ou fatores do envelhecimento que são moduladores da remodelamento elétrico de miócitos na presença de DT.

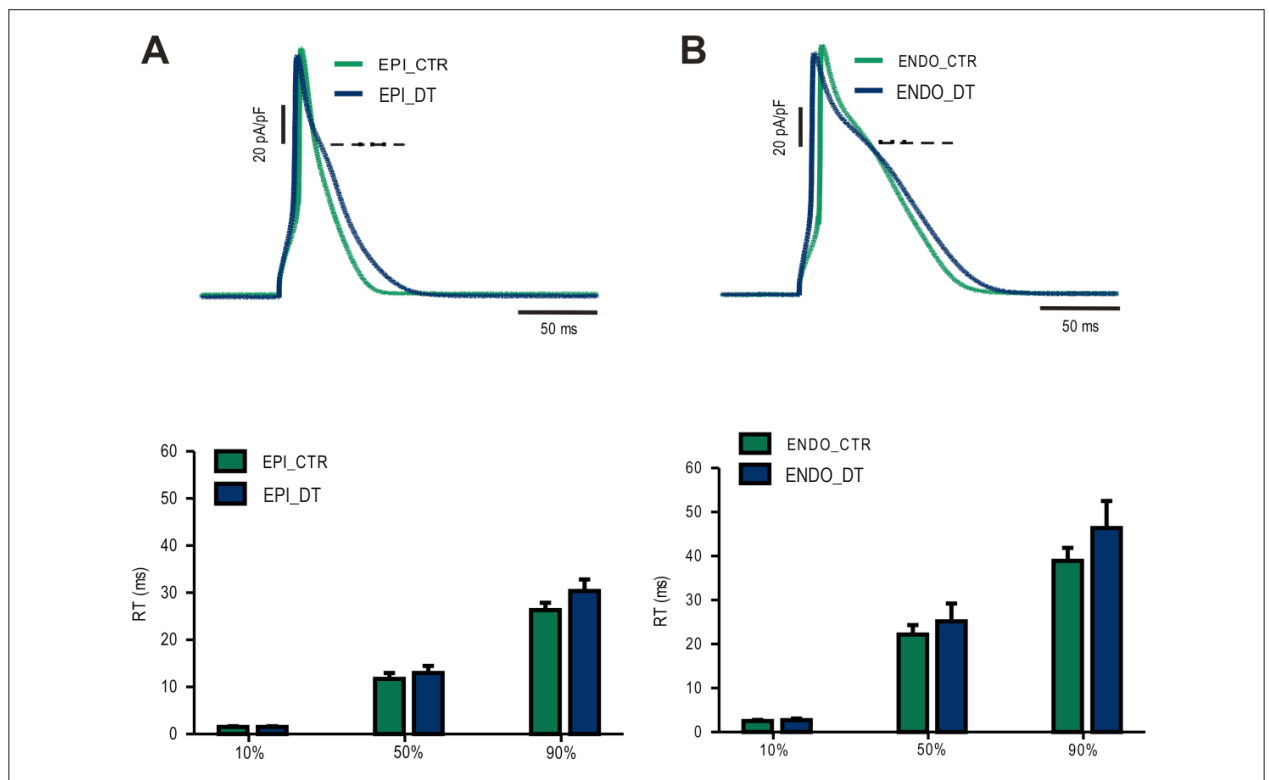


Figura 1 – Potenciais de ação em miócitos cardíacos isolados. Os painéis superiores mostram os registros representativos para (A) células do epicárdio (EPI) (à esquerda) e (B) células do endocárdio (ENDO) (à direita), considerando-se os grupos controle (CT) (linha verde) e de deficiência de tiamina (DT) (linha azul). Os painéis inferiores mostram o tempo médio requerido para que ocorra a repolarização do potencial de ação em diferentes estágios, 10%, 50% e 90% da repolarização, nos grupos controle (barras verdes) e de DT (barras azuis) para EPI-CT ($n = 26$), EPI-DT ($n = 22$) (à esquerda) e ENDO-CT ($n = 18$), ENDO-DT ($n = 20$) (à direita).

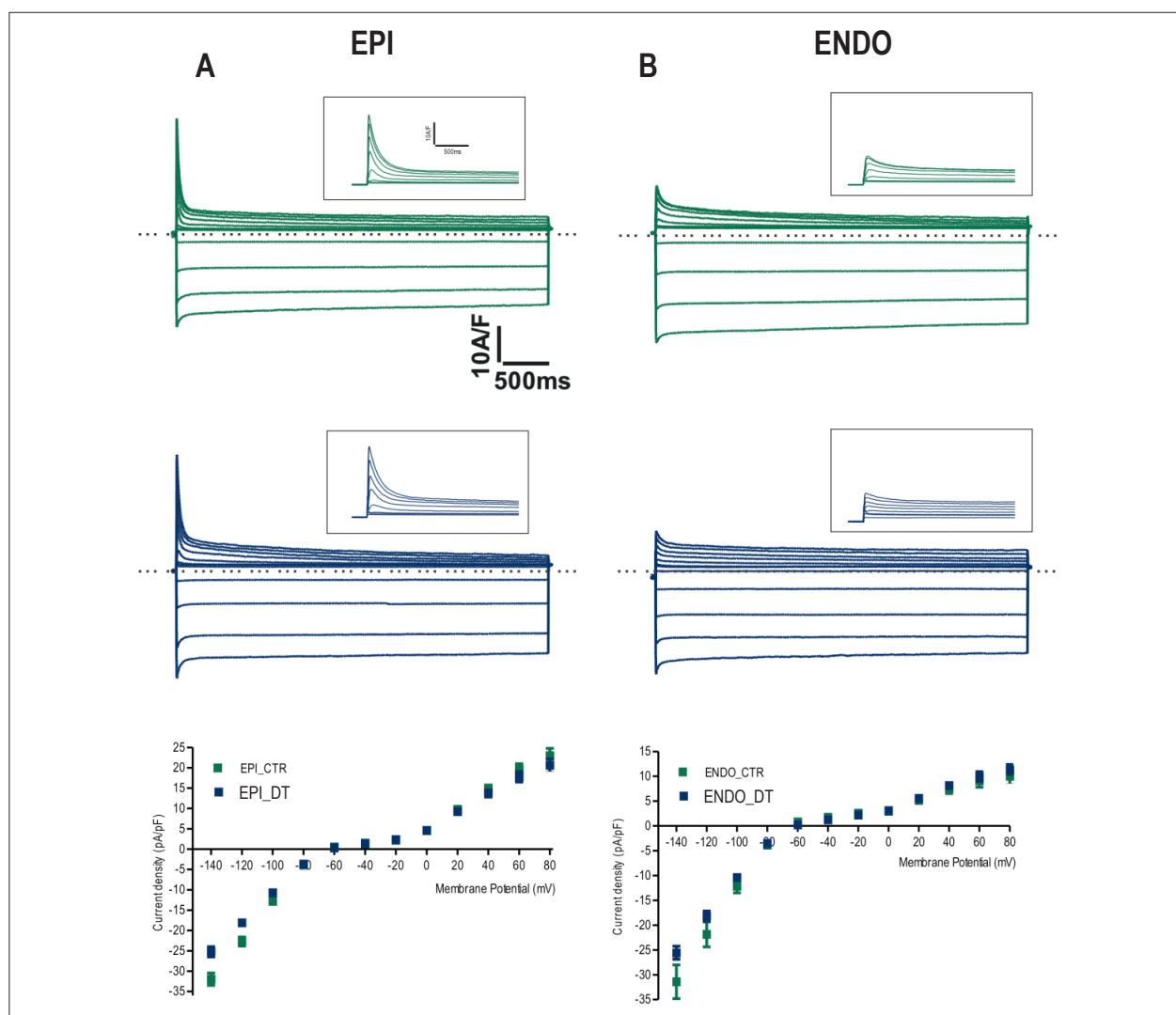


Figura 2 – Corrente de potássio. As correntes foram obtidas aplicando-se pulsos quadrados que variaram entre -140 a +80 mV, com duração de 4s e com incrementos de 20mV entre eles, a partir de um potencial de holding de -70mV e com intervalos de 15s entre um pulso e outro. Os painéis superior (CTR) e do meio (DT) mostram registros representativos para (A) células do epicárdio (EPI) e (B) células do endocárdio (ENDO). As inserções representam os 500 ms iniciais dos registros. Os painéis inferiores representam a corrente x voltagem para a corrente máxima de potássio. Os quadrados verdes e azuis representam os grupos CTR e DT, para as células do EPI (A) e ENDO (B).

Conclusão

A deficiência de tiamina não desencadeia mudanças significativas nas propriedades elétricas de miócitos cardíacos isolados tanto nas células do endocárdio quanto nas células do epicárdio. Este estudo foi financiado pela FAPEMIG, CNPq e CAPES.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Santos-Miranda A, Cruz JS, Roman-Campos D. Obtenção de dados: Santos-Miranda A. Análise e interpretação dos dados: Santos-Miranda A, Roman-Campos D. Análise estatística: Santos-Miranda A. Obtenção de financiamento: Cruz JS, Roman-Campos D. Redação do manuscrito: Santos-Miranda A,

Cruz JS, Roman-Campos D. Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Santos-Miranda A, Roman-Campos D.

Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de financiamento

O presente estudo foi financiado por CNPq, Capes e FAPEMIG.

Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.

Referências

1. Roman-Campos D, Cruz JS. Current aspects of thiamine deficiency on heart function. *Life Sci.*2014;98(1):1-5.
2. Kawano H, Koide Y, Toda G, Yano K. ST-segment elevation of electrocardiogram in a patient with Shoshin beriberi. *Intern Med.*2005;44(6):578-85.
3. Loma-Osorio P, Penafiel P, Doltra A, Sionis A, Bosch X. Shoshin beriberi mimicking a high-risk non-ST-segment elevation acute coronary syndrome with cardiogenic shock: when the arteries are not guilty. *J Emerg Med.*2011;41(4):e73-7.
4. Gioda CR, de Oliveira Barreto T, Primola-Gomes TN, de Lima DC, Campos PP, Capettini L dos S, et al. Cardiac oxidative stress is involved in heart failure induced by thiamine deprivation in rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*2010;298(6):H2039-45.
5. Roman-Campos D, Campos AC, Gioda CR, Campos PP, Medeiros MA, Cruz JS. Cardiac structural changes and electrical remodeling in a thiamine-deficiency model in rats. *Life Sci.*2009;84(23-24):817-24.
6. Oliveira FA, Galan DT, Ribeiro AM, Santos Cruz J. Thiamine deficiency during pregnancy leads to cerebellar neuronal death in rat offspring: role of voltage-dependent K⁺ channels. *Brain Res.*2007;1134(1):79-86.
7. Gioda CR, Roman-Campos D, Carneiro-Junior MA, da Silva KA, de Souza MO, Mendes LJ, et al. Impaired cellular contractile function in thiamine-deficient rat cardiomyocytes. *Eur J Heart Fail.* 2009;11(12):1126-8.
8. Oliveira FA, Guatimosim S, Castro CH, Galan DT, Lauton-Santos S, Ribeiro AM, et al. Abolition of reperfusion-induced arrhythmias in hearts from thiamine-deficient rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.*2007;293(1):H394-401.
9. Rapuzzi G, Rindi G. Influence of increasing heart rate on the alterations of the cardiac ventricular fibre-cells action potentials induced by thiamine deficiency. *Q J Exp Physiol Cogn Med Sci.*1967;52(3):277-84.
10. Zhou C, Ziegler C, Birder LA, Stewart AF, Levitan ES. Angiotensin II and stretch activate NADPH oxidase to destabilize cardiac Kv4.3 channel mRNA. *Circ Res.*2006;98(8):1040-7.