

## Regulação Autonômica das Propriedades Mecânicas em Bioprótese Valvar Porcina

*Autonomic Regulation of Mechanical Properties in Porcine Mitral Valve Cusps*

Xiang Hu, Qiang Zhao, Xiaofeng Ye

Department of Cardiac Surgery, Rui Jin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200025, PRC

### Resumo

**Fundamento:** A presença de nervos nas válvulas cardíacas foi demonstrada pela primeira vez há décadas e identificadas em subpopulações: simpáticas e parassimpáticas, e, portanto, é esperado que as válvulas sejam grandemente afetadas pelos nervos autônomos. Entretanto, poucos estudos têm se concentrado na regulação de válvulas cardíacas pelo sistema nervoso autônomo.

**Objetivo:** Buscamos identificar o papel do sistema nervoso autônomo na regulação das propriedades mecânicas dos tecidos de válvulas mitrais porcinas.

**Métodos:** As propriedades mecânicas dos folhetos de válvulas mitrais porcinas foram avaliados em resposta à norepinefrina (NE) e acetilcolina (ACH), os principais neurotransmissores. Ao mesmo tempo, fentolamina (FENT), metoprolol (Metop), atropina (Atrop) e desnudamento endotelial foram adicionados ao sistema reativo.

**Resultados:** Sob condições fisiológicas, a rigidez não foi afetada pelo desnudamento endotelial ( $p > 0,05$ ). A NE significativamente aumentou a rigidez valvar por aumento de 10 vezes na concentração ( $10^{-6}$  vs  $10^{-7}$ ,  $p < 0,05$ ;  $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ ,  $p < 0,05$ ). Essa resposta foi amenizada por FENT, Metop ou desnudamento endotelial ( $p < 0,05$ ); entretanto, manteve-se aumentada de maneira significativa quando comparada aos Controles ( $p < 0,05$ ). A ACH causou uma diminuição na rigidez acompanhada por um aumento em sua concentração (alteração significativa na rigidez por aumento de 10 vezes na concentração de ACH,  $10^{-6}$  vs Controle,  $p < 0,05$ ;  $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ ,  $p < 0,05$ ), que foi revertida pelo desnudamento endotelial e Atrop ( $p > 0,05$  vs Controle).

**Conclusão:** Esses achados ressaltam o papel do sistema nervoso autônomo na regulação das propriedades mecânicas das cúspides de válvula mitral porcina, o que reforça a importância do estado nervoso autônomo no funcionamento ideal da válvula. (Arq Bras Cardiol 2012;98(4):321-328)

**Palavras-chave:** Valva mitral, vias autônomas, bioprótese, sistema nervoso autônomo.

### Abstract

**Background:** The presence of nerves in heart valves was first depicted decades ago and identified into subpopulations: sympathetic, parasympathetic. So valves are expected to be greatly affected by the autonomic nerves. However, few studies have focused on the regulation of heart valves by the autonomic nervous system.

**Objective:** We sought to identify the role of the autonomic nervous system in the regulation of the mechanical properties of porcine mitral valve tissues.

**Methods:** Mechanical properties of porcine mitral valve leaflets were evaluated in response to norepinephrine (NE) and acetylcholine (ACH), the main neurotransmitters. At the same time, phentolamine (Phent), metoprolol (Metop), atropine (Atrop) and endothelial denudation were added to the reactive system.

**Results:** Under physiological conditions, the stiffness was not affected by endothelial denudation ( $p > 0.05$ ). NE elevated the valve stiffness significantly per 10-fold increase in concentration ( $10^{-6}$  vs  $10^{-7}$ ,  $p < 0.05$ ;  $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ ,  $p < 0.05$ ). This response was mitigated by Phent, Metop or endothelial denudation ( $p < 0.05$ ), however, it was still increased significantly when compared to Controls ( $p < 0.05$ ). ACH caused a decrease in stiffness accompanied by an increase in its concentration (significant change in stiffness per 10-fold increase in ACH concentration,  $10^{-6}$  vs Control,  $p < 0.05$ ;  $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ ,  $p < 0.05$ ), which were reversed by endothelial denudation and Atrop ( $p > 0.05$  vs Control).

**Conclusion:** These findings highlight the role of the autonomic nervous system in the regulation of the mechanical properties of porcine mitral valve cusps, which underline the importance of autonomic nervous status for optimal valve function. (Arq Bras Cardiol 2012;98(4):321-328)

**Keywords:** Mitral valve; autonomic pathways; bioprosthesis; autonomic nervous system.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Qiang Zhao •

Department of Cardiac Surgery, Rui Jin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200025, PRC

E-mail: zq11607@rjh.com.cn

Artigo recebido em 01/09/10; revisado recebido em 01/11/10; aceito em 23/11/10.

## Introdução

A função das válvulas cardíacas é bastante complicada, pois os movimentos passivos da válvula não levam em consideração sua capacidade de se adaptar ao ambiente hemodinâmico e humoral. Isso é exemplificado pela presença de nervos nas válvulas cardíacas, demonstrada pela primeira vez há décadas e identificadas em subpopulações: simpáticas, parassimpáticas, sensoriais e marcadores colinérgicos nervosos<sup>1,2</sup>. A arritmia cardíaca é frequentemente detectada em pacientes com doenças cardíacas, incluindo as coronárias e valvares. Tônus autônomo inadequado, a suposta etiologia, é considerado prevalente na maioria das doenças cardíacas, então é esperado que as válvulas sejam grandemente afetadas pelos nervos autônomos. Entretanto, poucas investigações têm se concentrado na regulação de válvulas cardíacas pelo sistema nervoso autônomo. Estudos recentes indicaram que a adição de norepinefrina (NE) e acetilcolina (ACH) produziu aumentos dose-dependentes na contratilidade da válvula mitral e relaxamento do tecido da válvula aórtica, em um modelo *ex vivo*, respectivamente<sup>3,4</sup>. O papel funcional dos neurotransmissores sobre as propriedades mecânicas do tecido das cúspides permanece indeterminado. Isso poderia ser vital, considerando que a válvula é submetida a altas forças mecânicas em cada ciclo cardíaco. O entendimento das propriedades mecânicas valvares é crucial para a abordagem de uma cada vez mais prevalente entidade de doença valvar cardíaca, ainda mais quando se considera o aumento da expectativa de vida na população geral e a melhora na sobrevivência de longo prazo de pacientes com doença valvar cardíaca, submetidos à cirurgia de substituição de válvula cardíaca alogênica. O foco desse estudo é principalmente em válvulas mitrales, pois das quatro válvulas cardíacas, a mitral é a mais comumente afetada em processos patológicos que requerem intervenção cirúrgica.

Nossa hipótese é que, sob condições fisiológicas, a rigidez do tecido da válvula mitral (módulo de elasticidade) varia em resposta a agentes nervosos autônomos através do endotélio valvar e respectivos receptores, e por conseguinte, o tônus do folheto e a função da válvula são modulados. Os objetivos do estudo são avaliar as alterações neurotransmissor-dependentes nas propriedades mecânicas da válvula mitral.

## Métodos

### Isolamento de tecido

Corações porcinos (20 a 24 meses de idade) foram obtidos de um matadouro (FuXing Meats, Xangai, China). As cúspides mitrales (folheto anterior ou posterior, randomicamente), sem evidência visível de lesões, foram imersas imediatamente em solução-tampão de Krebs gelada e analisadas em até 24 horas após o sacrifício dos animais. As amostras foram inicialmente preparadas, eliminado-se todas as cordas tendíneas e divididas em tiras retangulares idênticas de 15 x 10 mm do ventre de cada cúspide em direção radial e circunferencial. A direção circunferencial foi definida como paralela à borda livre e a direção radial, como da borda livre à membrana basal da válvula mitral. As tiras radiais e circunferenciais foram analisadas separadamente. Os cortes foram designados para

diferentes grupos, de acordo com os neurotransmissores utilizados ao acaso: norepinefrina (NE) ( $10^{-7}$  -  $10^{-4}$  M; n = 10; SIGMA), acetilcolina (ACH) ( $10^{-6}$  -  $10^{-4}$  M; n = 10; SIGMA) e Controles normais (n = 10). A fim de identificar a localização e mecanismo dos neuroagentes envolvidos na rigidez, tiras submetidas a desnudamento endotelial, que foi obtido mecanicamente com a utilização de um raspador celular, também foram empregadas (grupo com desnudamento endotelial, n = 10). Cada corte de tecido foi exposto somente a um único neurotransmissor para evitar interações entre os vários agentes e a solução seriada foi substituída por uma nova de cada vez, no intuito de garantir a concentração. Procedimentos envolvendo animais e seu cuidado foram aprovados pelo Comitê de Cuidados e Uso de Animais da Faculdade de Medicina da Shanghai Jiao Tong University.

### Papel dos receptores dos neurotransmissores

Para avaliar a contribuição dos receptores dos neurotransmissores nas mudanças das propriedades mecânicas dos tecidos, as tiras foram pré-incubadas por 1 hora com fentolamina (FENT, um inibidor não-seletivo  $\alpha$ -adrenoceptor, SIGMA), prazosina (Praz, um inibidor seletivo  $\alpha_1$ -adrenoceptor, SIGMA), metoprolol (Metop, um inibidor seletivo  $\beta_1$ -adrenoceptor, SIGMA), propranolol (Propr, um inibidor não-seletivo  $\beta$ -adrenoceptor, SIGMA) e atropina (Atrop, um inibidor do receptor colinérgico M, SIGMA), antes do teste.

### Protocolo experimental

Após serem grampeados em ambas as extremidades com grampos de aço inoxidável forrados com papel abrasivo, as amostras foram montadas em um dispositivo de teste mecânico modificado (modelo 8511; Instron, Canton, Mass) em um banho de solução de Krebs a 37°C e continuamente submetidos a 95% O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>. O pH das soluções foi estabilizado entre 7,35 e 7,45. Transdutores de força para medida de tensão foram ligados ao longo dos eixos para monitorar em tempo real as alterações na tensão nas direções radial e circunferencial, respectivamente.

### Medidas de rigidez tecidual (módulo de elasticidade)

Os grampos foram colocados inicialmente 1 a 2 cm mais próximos para enrugar levemente o tecido e assegurar ausência de pré-carga. As amostras foram então pré-condicionadas por carga e descarga contínuas a 4 mm/s a uma carga pré-determinada (entre 200 e 400 g) por 20 ciclos para permitir que a resposta de tensão-deformação da válvula pudesse ser repetida. Outros três ciclos de medidas de tensão-deformação foram então registrados para os eixos radial e circunferencial (grupo basal). O tecido foi então submetido a concentrações progressivamente mais altas de neurotransmissores e respectivos bloqueadores de receptor. Três ciclos adicionais de tensão versus deformação foram registrados (grupo de tratamento). Cada amostra serviu como seu próprio controle e foi utilizada apenas uma vez. A rigidez das amostras foi calculada a partir do gradiente da porção linear da curva de tensão-deformação (Fig. 1). Nesse manuscrito, os termos rigidez, módulo e módulo de elasticidade são utilizados de forma intercambiável.

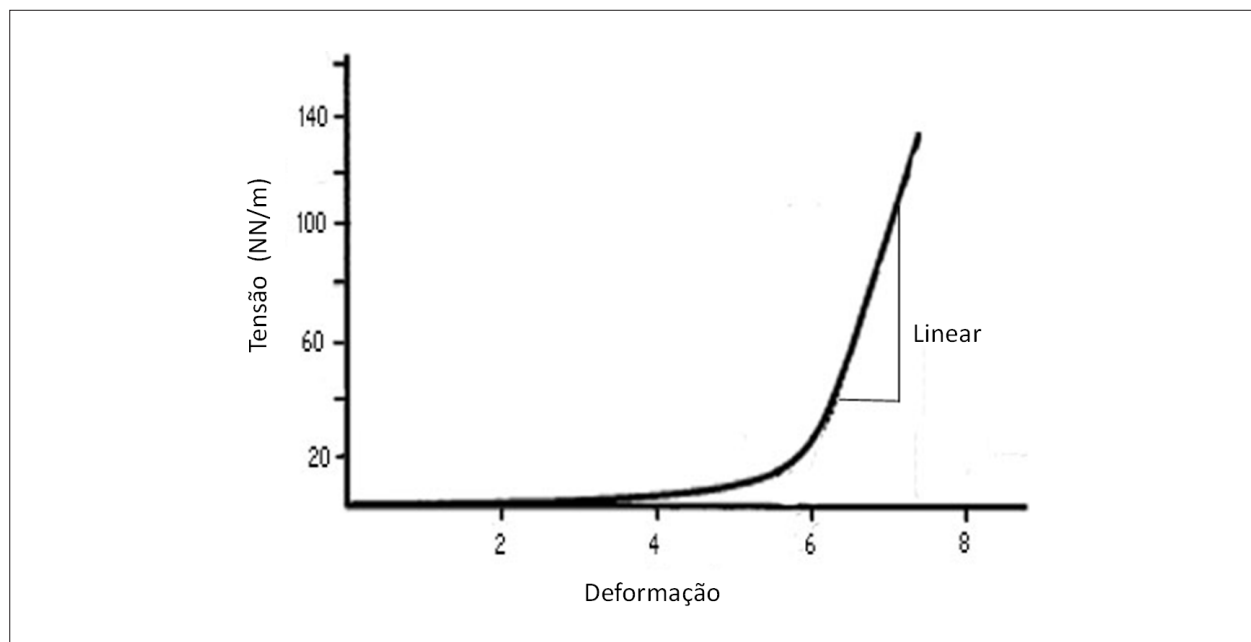


Fig. 1 - Típica curva tensão-deformação mostrando como as propriedades mecânicas são calculadas. A rigidez é computada como a inclinação do intervalo linear.

### Análise dos dados

Os dados são expressos como média  $\pm$  DP. As comparações das propriedades mecânicas entre tecidos normais e tratados foram realizadas através de teste *t* de Student bilateral para duas amostras independentes ou teste ANOVA one-way para grupos múltiplos. Todos os valores de  $p < 0,05$  foram considerados significantes. As análises estatísticas foram realizadas com o software SPSS versão 13.0 (SPSS Institute).

## Resultados

### Dados basais de rigidez em ambos os eixos

A rigidez basal foi avaliada nos grupos iniciais: controles normais e folhetos após desnudamento endotelial. A rigidez nos controles não foi afetada pelo desnudamento (Controle vs Desnudamento; Circunferencial:  $5,08 \pm 0,41$  vs  $4,71 \pm 0,64$ ,  $p > 0,05$ ; Radial:  $2,40 \pm 0,10$  vs  $2,18 \pm 0,41$ ,  $p > 0,05$ ). Além disso, não houve diferença significativa entre os eixos radial e circunferencial dentro do grupo em conformidade com a anisotropia desse tecido (Circunferencial vs Radial; Controle:  $5,08 \pm 0,41$  vs  $2,40 \pm 0,10$ ,  $p < 0,05$ ; Desnudamento:  $4,71 \pm 0,64$  vs  $2,18 \pm 0,41$ ,  $p < 0,05$ ). Ver Tabela 1.

Tabela 1 - Dados basais de rigidez em ambos os eixos

	Circunferencial	Radial
Controle normal (n = 10)	$5,08 \pm 0,41^*$	$2,40 \pm 0,10$
Sem endotélio (n = 10)	$4,71 \pm 0,64^{\#}$	$2,18 \pm 0,41$

\* valor denota significância em relação ao eixo Radial em controle normal,  $p < 0,05$ ;  $\#$  valor denota significância em relação ao eixo Radial em folhetos sem endotélio,  $p < 0,05$ .

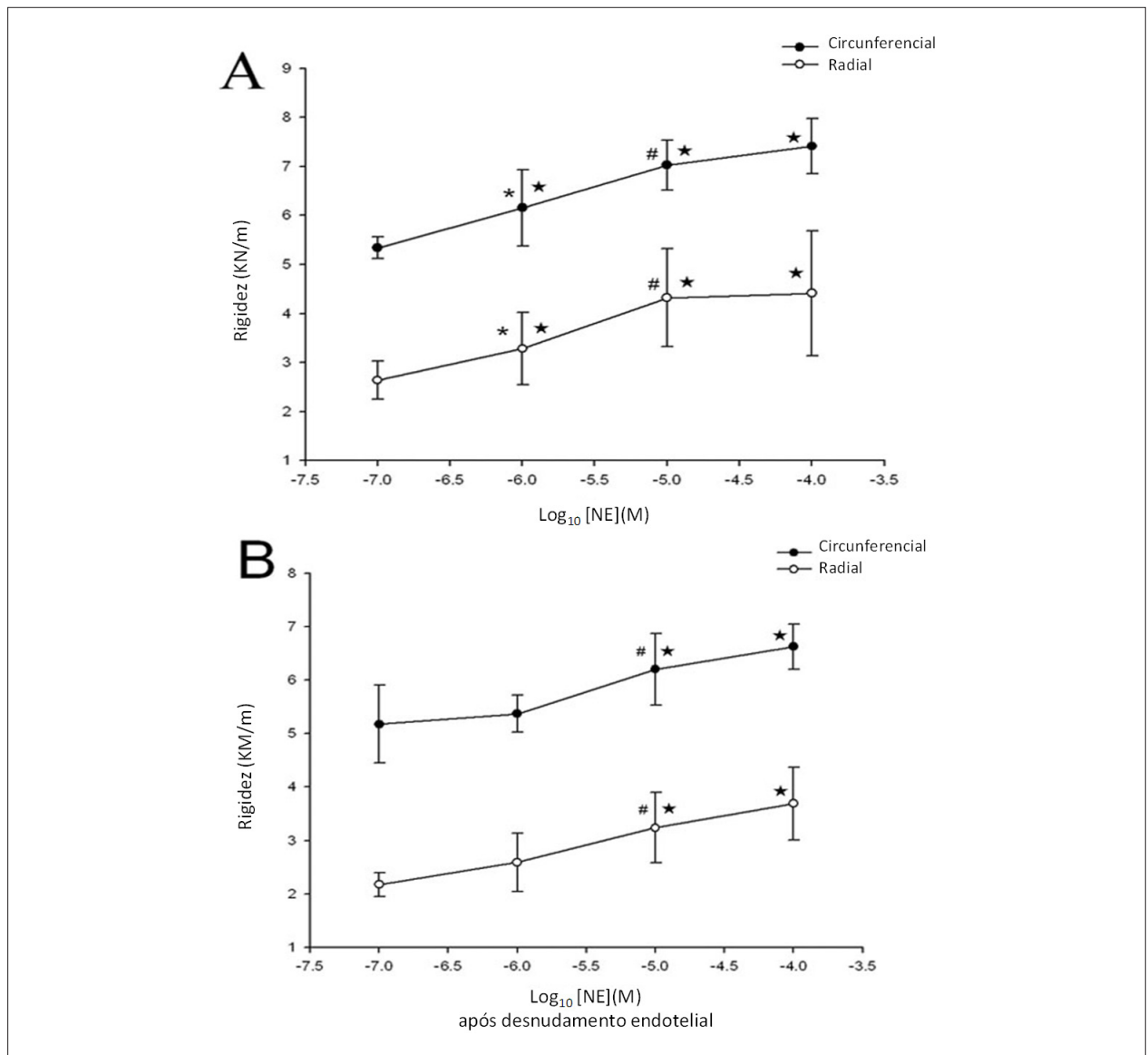
### Regulação simpática da alteração em rigidez tecidual

Quando submetidos à NE em concentração de gradiente, as válvulas apresentaram aumento na rigidez de forma concentração-dependente (Fig. 2A). A NE aumentou a rigidez valvar por aumento de 10 vezes na concentração ( $10^{-6}$  vs  $10^{-7}$ : Circunferencial:  $6,15 \pm 0,78$  vs  $5,34 \pm 0,23$ , Radial:  $3,28 \pm 0,74$  vs  $2,64 \pm 0,39$ ,  $p < 0,05$ ;  $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ : Circunferencial:  $7,03 \pm 0,51$  vs  $6,15 \pm 0,78$ , Radial:  $4,32 \pm 0,99$  vs  $3,28 \pm 0,74$ ,  $p < 0,05$ ), atingindo o platô concentração-efeito no final ( $10^{-4}$  vs  $10^{-5}$ ,  $p > 0,05$ ).

Entretanto, o desnudamento endotelial diminuiu a capacidade da NE em aumentar a rigidez (Fig. 2B), mantendo a NE de alta dose ( $10^{-5}$ ) significativa quando comparada aos grupos de menor dose ( $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ : Circunferencial:  $6,20 \pm 0,67$  vs  $5,37 \pm 0,35$ , Radial:  $3,24 \pm 0,66$  vs  $2,59 \pm 0,55$ ,  $p < 0,05$ ) com o efeito platô sem alterações.

De forma similar, quando a FENT estava presente no banho do órgão, havia uma tendência à diminuição da rigidez da cúspide após a adição de NE de resposta máxima (FENT vs  $10^{-5}$ ; Circunferencial:  $5,96 \pm 1,06$  vs  $7,03 \pm 0,51$ , Radial:  $3,14 \pm 0,64$  vs  $4,32 \pm 0,99$ ,  $p < 0,05$ ), ainda significativa em comparação com os Controles (FENT vs controle; Circunferencial:  $5,96 \pm 1,06$  vs  $5,08 \pm 0,41$ , Radial:  $3,14 \pm 0,64$  vs  $2,40 \pm 0,10$ ,  $p < 0,05$ ), ver Figura 3A. Entretanto, essa resposta não ocorreu na presença de Praz ou FENT, isoladamente.

Finalmente, após incubação das cúspides com Metop, a adição de NE resultou em uma diferença significativa na rigidez da cúspide em comparação com NE isoladamente (Metop vs NE; Circunferencial:  $5,67 \pm 0,73$  vs  $7,03 \pm 0,51$ , Radial:  $3,09 \pm 0,68$  vs  $4,32 \pm 0,99$ ,  $p < 0,05$ ). Entretanto, comparações diretas de alterações após Metop e NE versus controles ainda eram estatisticamente significantes ( $p < 0,05$ ).



**Fig. 2** - Curvas de concentração-resposta à NE. Alterações concentração-dependentes em rigidez (média  $\pm$  DP) de espécimes de válvulas mitrais porcinas em resposta à (A) norepinefrina (NE) isoladamente e (B) NE + desnudamento endotelial nas direções radial e circunferencial, respectivamente. \*  $p < 0,05$  vs Controle, \*  $p < 0,05$  vs  $10^7$ , #  $p < 0,05$  vs  $10^6$  (mol/l).

Ver Figura 3B. A rigidez não foi afetada pela adição isolada de Propr ou Metop.

#### Contribuição vagal para rigidez tecidual

A rigidez das cúspides mitrais diminuiu significativamente em resposta ao aumento das concentrações de ACH (significante alteração em rigidez por aumento de 10 vezes na concentração de ACH,  $10^{-5}$  vs  $10^{-6}$ ; Circunferencial:  $3,40 \pm 1,10$  vs  $4,35 \pm 0,76$ , Radial:  $1,05 \pm 0,38$  vs  $1,80 \pm 0,79$ ,  $p < 0,05$ ). O grupo com escala mais baixa ( $10^{-6}$  mol/l) ainda exibiu um efeito significativo na diminuição do módulo quando comparados com Controles (Circunferencial:  $4,35 \pm 0,76$  vs  $5,08 \pm 0,41$ , Radial:  $1,80 \pm 0,79$  vs  $2,40 \pm 0,10$ ,  $p < 0,05$  vs controle) com o efeito platô na concentração de  $10^{-5}$  mol/l ( $10^{-5}$  vs  $10^{-4}$ ,  $p > 0,05$ ). Ver Figura 4.

Quando as amostras de válvulas foram pré-incubadas em Atrop ou sofreram desnudamento endotelial por meios mecânicos, a resposta à ACHO foi completamente revogada ( $p > 0,05$  vs controle) (Figura 5).

#### Discussão

Empreendemos os melhores esforços para criar um ambiente interno quase-natural, no qual a válvula mitral se encontra e que é mediado pelo sistema nervoso autônomo (SNA). Os principais achados desse estudo são que, sob condições fisiológicas, os nervos autônomos (simpático e vago) modulam de forma significativa as propriedades mecânicas das cúspides mitrais porcinas, através de neurotransmissores liberados pelas extremidades nervosas. A rigidez das válvulas mitrais era significativamente diminuída em resposta ao

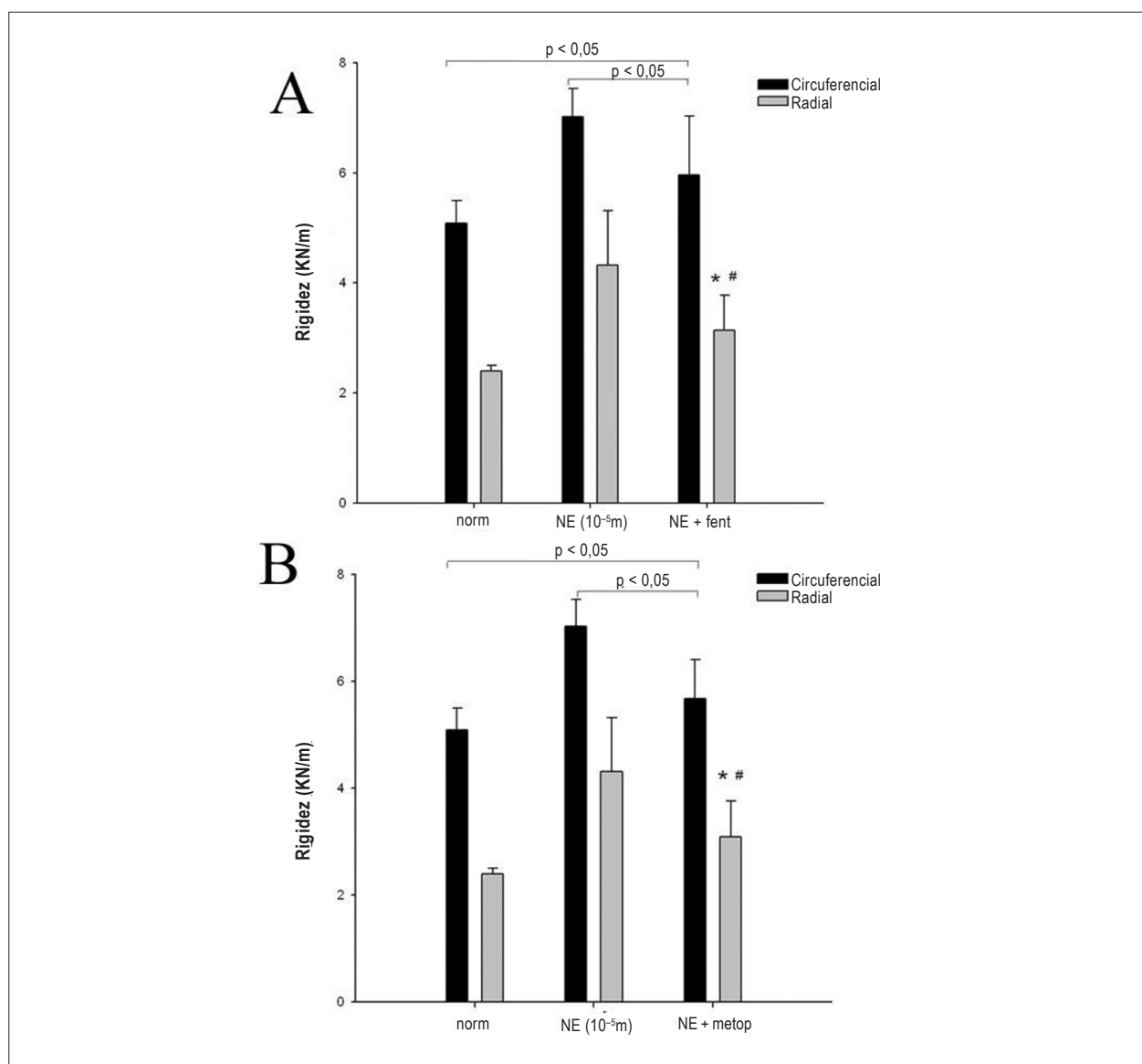


Fig. 3 - Papel dos adrenoceptores na regulação da rigidez. A alteração na rigidez máxima responsiva à NE na presença de (A) fentolamina (Fent) e (B) metoprolol (Metop). \*  $p < 0,05$  vs controle (radial), #  $p < 0,05$  vs NE ( $10^{-5}$  M, radial).

aumento das concentrações de ACH de forma concentração-dependente, e ao contrário, elevada pela NE de forma dose-dependente. Ao mesmo tempo observamos que o endotélio valvar,  $\alpha/\beta$  adrenoceptor e receptor colinérgico tinham um papel fundamental na regulação das propriedades mecânicas.

Tem sido proposto que disfunções do sistema nervoso autônomo prevalecem na grande maioria dos pacientes com doenças cardíacas. Essa proposta é baseada, em sua maior parte, nos resultados de diversos estudos de variabilidade de frequência cardíaca e alguns sintomas de disautonomia, tais como síncope reflexa, ansiedade, sofrimento psicológico, palpitações, e assim por diante. Foi observado que as válvulas mitrais são moduladas pelo SNA em relação à função e responderam ativamente, diferentemente dos folhetos passivos propulidos apenas pela pressão transvalvar.

Entretanto, poucos detalhes do processo são conhecidos, de forma que esse estudo foi realizado com o objetivo de identificar o papel dos nervos autônomos na regulação das propriedades mecânicas da válvula mitral porcina.

A extremidade nervosa autônoma libera várias substâncias bioativas *in vivo*, especialmente NE e ACH, exercendo reações muito complicadas no tecido e órgão alvo. Além disso, a ACH é um relaxante celular de músculo liso específico em tecido valvar e os receptores muscarínicos da ACH (M2) tem sido considerados como sendo funcionais, enquanto os outros subtipos aparentemente não tem um efeito fisiológico<sup>5</sup>. Foi demonstrado que a ACH induz relaxamento do tecido valvar aórtico em um modelo *ex vivo*<sup>4</sup>. Em nosso estudo, o uso de ACH exógena serviu para demonstrar o efeito desse peptídeo na avaliação de sua capacidade sobre a rigidez

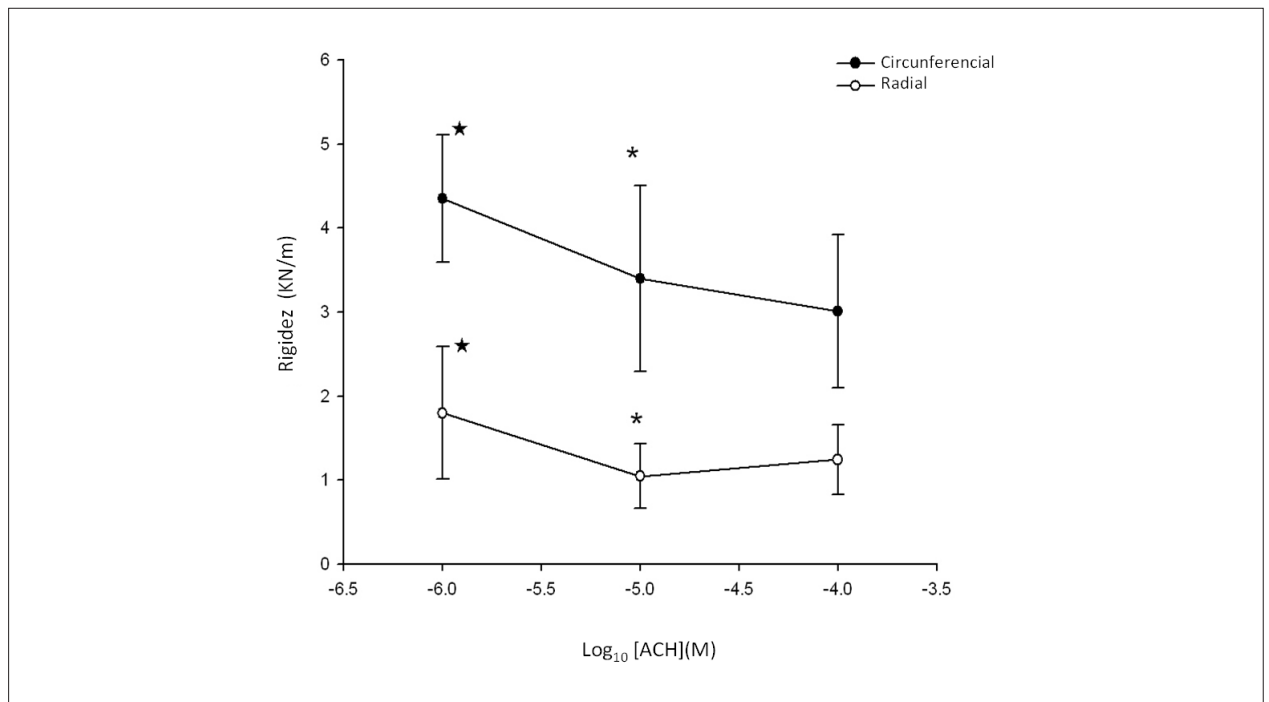


Fig. 4 - Curvas de concentração-resposta à ACH. Alterações concentração-dependentes em rigidez (média  $\pm$  DP) de espécimes de válvula mitral porcina em resposta à acetilcolina (ACH) nas direções radial e circunferencial, respectivamente. \*  $p < 0,05$  vs Controle, \*  $p < 0,05$  vs  $10^6$ .

valvar mitral. Observou-se que sob as presentes condições experimentais, a ACH diminuiu a rigidez de forma concentração-dependente, como esperado. Além disso, parece que a ACH pode induzir relaxamento do tecido da válvula mitral, resultando em rigidez diminuída através do M2, como demonstrado após a adição de Atrop, quando as respostas da ACH foram completamente revogadas. Para entender especificamente o efeito da estimulação da ACH nas válvulas, Ohashi e cols.<sup>6</sup> mostraram que a ACH produzia transitória e então sustentada hiperpolarização da membrana em endotélio valvar de aorta de coelho; e a descontinuação da ACH causou uma despolarização transitória. Esses mecanismos contribuem para a liberação de fatores vasoativos endotélio-dependentes, tais como NO<sup>7,8</sup> em válvulas mitrais caninas e porcinas. Esse pode ser um dos mecanismos da ACH para mediar a rigidez. A NE pode causar uma potente contração de células de músculo liso, através da estimulação específica de subtipos de receptor em válvula aórtica equina<sup>9,10</sup>. Há mais subtipos de adrenoreceptores conhecidos, que tem sido encontrados em tecido valvar de coração humano: adrenoreceptores  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  e  $\beta 2$ <sup>10,11</sup>. Williams TH e cols.<sup>3</sup> relataram que válvulas mitrais de ratos tinham mostrado movimentos espontâneos similares à contrações, localizados no folheto em si, imediatamente após ser dissecado do coração, e que foram aumentados com a adição de NE de forma dose-dependente. De outra forma, a fim de examinar as respostas das cúspides aos neuromoduladores *ex vivo* e determinar os receptores específicos envolvidos na mediação desses efeitos, cúspides de válvulas aórticas porcinas, montadas axialmente em uma câmara de órgãos, contraíram de forma significativa em resposta ao aumento das concentrações de

$\alpha$ -adrenoreceptores agonistas, como indicado pela ausência de qualquer resposta após a adição de ioimbina, um  $\alpha 2$ -adrenoreceptor antagonista, mas não após a adição de prazosina, um inibidor de  $\alpha 1$ -adrenoreceptores em válvulas aórticas equina<sup>9</sup>. Em nosso experimenta, observamos a resposta valvar à NE na rigidez, que pode ser mitigada pelo inibidor não-seletivo  $\alpha$ -adrenoreceptor FENT, não pela prazosina. Esses resultados confirmaram os relatos anteriores e sugeriram que o adrenoreceptor  $\beta 1$  pode ter tido um papel na modulação da rigidez. Parece que as alterações na rigidez consistentemente se correlacionaram com a resposta de relaxamento ou contração do tecido porcino aos mediadores. Sendo assim, obviamente, é provável que o estado do SNA influencie a função de longo prazo e a flexibilidade das válvulas devido à rapidez da abertura e fechamento valvar e disautonomia, particularmente doença cardíaca valvar concomitante, parece ser não-insignificante.

Estudos recentes tem indicado que as células endoteliais de válvulas aórticas porcinas apresentam características celulares e moleculares específicas que tem um papel fundamental na regulação do tônus valvar cardíaco<sup>12,13</sup>. Foi relatado que o endotélio valvar exercia seu efeito através da modulação da rigidez da cúspide valvar aórtica humana à diferentes mediadores: ON e ET-1<sup>14</sup>. Apesar disso, o papel fisiológico do SNA no endotélio valvar cardíaco ainda não tinha sido adequadamente definido. Com base nos desfechos do presente estudo, foi aparentemente observado que a rigidez alterada pela ACH foi completamente dependente do endotélio valvar, enquanto a rigidez alterada pela NE foi parcialmente dependente do endotélio valvar e outros mecanismos podem estar envolvidos. Essas respostas podem ser obtidas pela distribuição dos respectivos receptores.



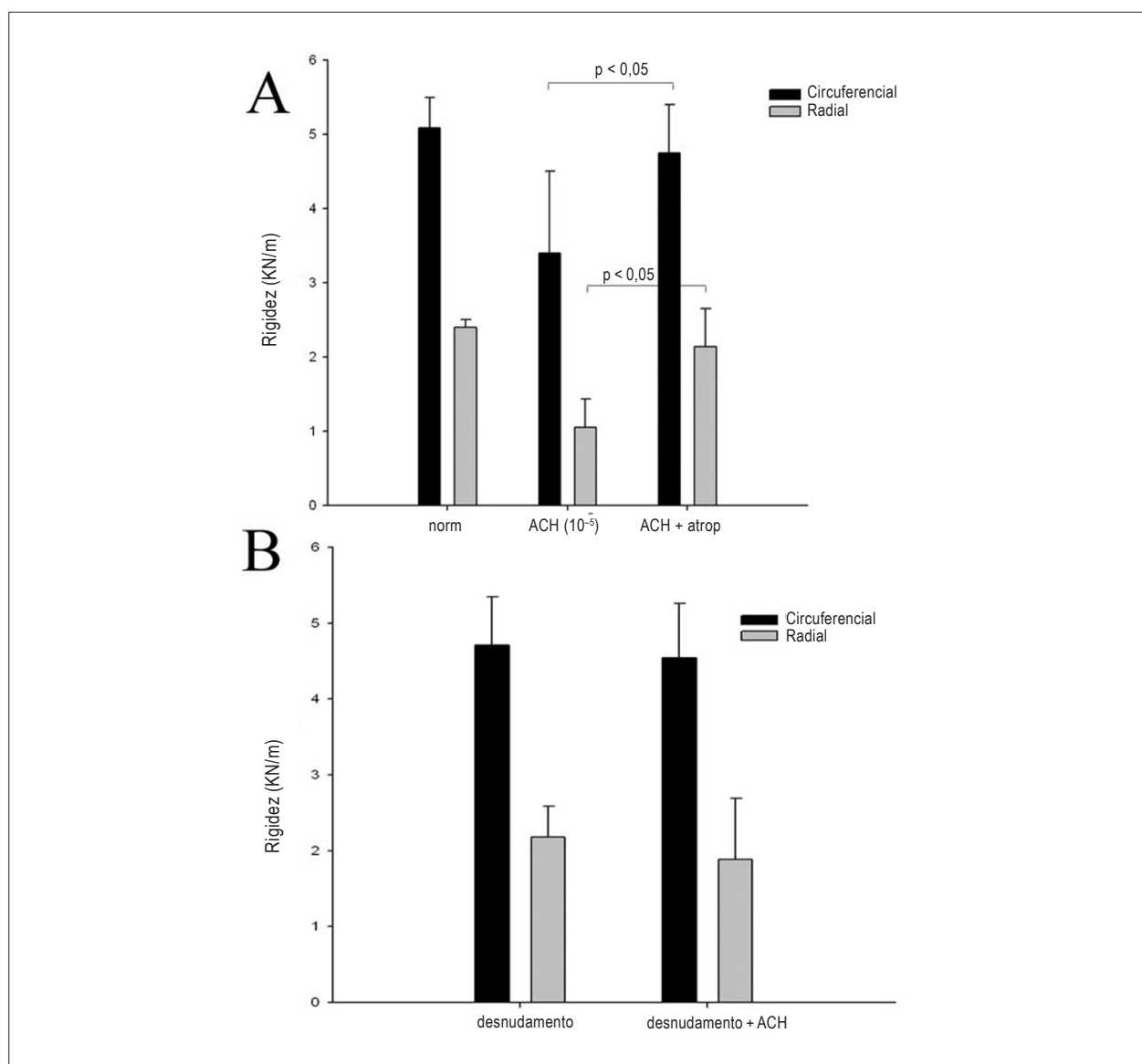


Fig. 5 - Papel do receptor colinérgico e endotélio valvar na regulação da rigidez. A alteração na rigidez máxima responsiva à ACH na presença de (A) atropina (Atrop) e (B) desnudamento endotelial.

Os achados de Pompilio e cols.<sup>4</sup> em válvulas pulmonares e aórticas porcinas podem ajudar a apreciar essa reação. O efeito da ACH, induzindo relaxamento do tecido da válvula aórtica, estava ausente quando endotélio foi removido mecanicamente, enfatizando o papel essencial do endotélio e receptores M2 (mencionados anteriormente). As alterações nas propriedades mecânicas do tecido valvar em resposta à diferentes mediadores podem ser explicadas pela presença de miofibroblastos e células de músculo liso nas válvulas humanas<sup>15</sup>. O endotélio valvar porcino sozinho não pode facilitar anatomicamente as populações de células intersticiais na rigidez, como demonstrado pela ausência de alteração na rigidez valvar após o desnudamento endotelial por meio mecânico. Entretanto, a reação cruzada entre os miofibroblastos intersticiais e endoteliais e as células

de músculo liso foi sugerida por esse estudo, através da observação que o desnudamento endotelial diminuiu a capacidade da NE em aumentar a rigidez, somente mantendo a NE de alta dose (10<sup>-5</sup>) significante quando comparada aos grupos de menor dose. Esse pode ser o meio através do qual o endotélio da válvula mitral regula as propriedades mecânicas das cúspides de válvulas porcinas. Sendo assim, a estrutura e função únicas das células endoteliais valvares deveriam ser enfatizadas.

Esse é um estudo *ex vivo*, e os valores reais do meio-ambiente geral, os sinais neurócrinos, endócrinos, parácrinos podem diferir daqueles *in vivo*. A configuração experimental aguda não leva em consideração os efeitos tróficos de longo prazo desses neurotransmissores ou sua capacidade de modular a matriz extracelular em

seres humanos<sup>16</sup>. Estudos adicionais são necessários para avaliar quaisquer outros parâmetros biológicos envolvidos na resposta à estímulos nervosos autônomos, bem como as diferenças responsivas entre populações de células endoteliais e intersticiais.

### Implicação clínica

É provável que alterações nas respostas mecânicas das válvulas cardíacas com vias autonômicas nervo-dependentes sejam significantes na patofisiologia da doença valvar. Tem sido demonstrado que os arcos reflexos parassimpáticos e simpáticos diferiam com o envelhecimento, incluindo aumento nos níveis de NE circulante na linha basal e em resposta à estresse, diminuição na concentração de catecolamina em coração de rato senescente, aumento na síntese e na degradação de enzimas para catecolaminas<sup>17</sup>. Houve um aumento na prevalência de disfunção valvar cardíaca com o envelhecimento e estão geralmente associadas a mudanças no SNA nas estruturas valvares e sistema circulatório. De forma similar, bioválvulas cardíacas, consideradas superiores à mecânicas em relação ao desempenho hemodinâmico e biocompatibilidade (complicações tromboembólicas mínimas, sem necessidade de anti-coagulação), apresentam, entretanto, durabilidade limitada, resultante de deterioração e disfunção valvar desconhecida. De acordo com esse estudo, o aumento da prevalência de disfunção valvar com o envelhecimento e a limitada longevidade da bioválvula pode ter uma correlação íntima e significativa com o desequilíbrio ou falta de modulação nervosa autônoma. Finalmente, novas estratégias

diagnósticas e terapêuticas podem emergir como ligações de vias anteriormente desconhecidas e revelar novos alvos de intervenção ao longo desses circuitos biológicos emergentes.

### Conclusões

Em conclusão, esse estudo demonstrou que as propriedades mecânicas das cúspides da válvula mitral são ativamente reguladas através de vias autonômicas nervo-dependentes. Os nervos autônomos (simpático e vago) exercem seus efeitos através da modulação da rigidez das cúspides através dos receptores  $\alpha_2$ ,  $\beta_1$  e M2 na endotélio da válvula, além das células intersticiais. Estamos gratos por esses achados ajudarem na compreensão da patofisiologia valvar e estabelecer um mapa das respostas adaptativas das propriedades mecânicas das válvulas para futuras válvulas cardíacas biológicas.

### Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

### Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

### Vinculação Acadêmica

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

### Referências

1. Voloshchenko AA. Afferent innervation of atrioventricular valve. *Fed Proc Transl Suppl.* 1965;24(4):571-4.
2. Williams TH. Mitral and tricuspid valve innervation. *Br Heart J.* 1964;26:105-15.
3. Williams TH, Jew JY. Is the mitral valve passive flap theory overstated? An active valve is hypothesized. *Med Hypotheses.* 2004;62(4):605-11.
4. Pompilio G, Rossoni G, Sala A, Polvani GL, Berti F, Dainese L, et al. Endothelial-dependent dynamic and antithrombotic properties of porcine aortic and pulmonary valves. *Ann Thorac Surg.* 1998;65(4):986-92.
5. van Zwieten PA, Doods HN. Muscarinic receptors and drugs in cardiovascular medicine. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1995;9(1):159-67.
6. Ohashi M, Satoh K, Itoh T. Acetylcholine-induced membrane potential changes in endothelial cells of rabbit aortic valve. *Br J Pharmacol.* 1999;126(1):19-26.
7. Ku DD, Nelson JM, Caulfield JB, Winn MJ. Release of endothelium-derived relaxing factors from canine cardiac valves. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1990;16(2):212-8.
8. Siney L, Lewis MJ. Nitric oxide release from porcine mitral valves. *Cardiovasc Res.* 1993;27(9):1657-61.
9. Bowen IM, Marr CM, Chester AH, Wheeler-Jones CP, Elliott J. In vitro contraction of the equine aortic valve. *J Heart Valve Dis.* 2004;13(4):593-9.
10. Chester AH, Misfeld M, Yacoub MH. Receptor-mediated contraction of aortic valve leaflets. *J Heart Valve Dis.* 2000;9(2):250-4.
11. Osman L, Chester AH, Sarathchandra P, Latif N, Meng W, Taylor PM, et al. A novel role of the sympatho-adrenergic system in regulating valve calcification. *Circulation.* 2007;116(11 Suppl):I282-7.
12. Butcher JT, Penrod AM, Garcia AJ, Nerem RM. Unique morphology and focal adhesion development of valvular endothelial cells in static and fluid flow environments. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(8):1429-34.
13. Butcher JT, Tressel S, Johnson T, Turner D, Sorescu G, Jo H, et al. Transcriptional profiles of valvular and vascular endothelial cells reveal phenotypic differences: influence of shear stress. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(1):69-77.
14. El-Hamamsy I, Balachandran K, Yacoub MH, Stevens LM, Sarathchandra P, Taylor PM, et al. Endothelium-dependent regulation of the mechanical properties of aortic valve cusps. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(16):1448-55.
15. Roy A, Brand NJ, Yacoub MH. Molecular characterization of interstitial cells isolated from human heart valves. *J Heart Valve Dis.* 2000;9(3):459-64.
16. Hafizi S, Taylor PM, Chester AH, Allen SP, Yacoub MH. Mitogenic and secretory responses of human valve interstitial cells to vasoactive agents. *J Heart Valve Dis.* 2000;9(3):454-8.
17. Jew JY, Williams TH. Innervation of the mitral valve is strikingly depleted with age. *Anat Rec.* 1999;255(3):252-60.