

29254

MODELO EXPERIMENTAL DE ENFISEMA PULMONAR EM CAMUNDONGOS C57BL/6

Letícia da Silveira Gross, Cristiana Palma Kuhl, Tuane Nerissa Alves Garcez, Alessandra Bileski Magrisso, Paula Barros Terraciano, Rosana Martins dos Santos, Amarílio Vieira de Macedo Neto. **Orientador:** Elizabeth Obino Cirne Lima

Unidade/Serviço: Centro de Pesquisa Experimental

O enfisema pulmonar é caracterizado por limitação crônica de fluxo aéreo persistente e diversas alterações patológicas nos pulmões. Histologicamente, pode-se definir a doença por aumento permanente dos espaços aéreos distais até os bronquíolos terminais, acompanhado por destruição de suas paredes, sem fibrose óbvia. É uma doença progressiva e irreversível pela falta de regeneração espontânea do tecido pulmonar adulto. O objetivo foi padronizar um modelo murino de enfisema pulmonar para futuras pesquisas terapêuticas. O projeto foi aprovado pelo CEUA-HCPA sob o número 13-0086. Para a indução do enfisema foram utilizados 30 camundongos C57BL/6, fêmeas, com 8 semanas, pesando entre 19 e 20 g, divididos em 4 grupos. O grupo Controle (C; n=8) recebeu 50 μ l de solução salina e os grupos Enfisema 1 (E1; n=8), 2 (E15; n=7), e 3 (E2; n=7) receberam, respectivamente, doses de elastase 0,1U, 0,15U e 0,2U diluídas em 50 μ l de solução salina. Foram feitas quatro instilações intratraqueais com intervalo de uma semana. Para a realização das instilações os animais foram anestesiados com Isoflurano e receberam 5mg/kg de tramadol por via intraperitoneal. A exposição da traquéia foi feita através de uma incisão longitudinal de \pm 0,5 cm na porção medial da região cervical. Uma semana após a última instilação, os animais foram eutanasiados por sobredose de cetamina e xilazina, os pulmões foram insuflados, retirados e armazenados em formalina tamponada 10%, para as análises histológicas. Cortes histológicos de 3 μ m de espessura, corados com hematoxilina e eosina (HE), foram realizados e analisados em microscopia óptica com aumento de 400x. A comprovação da padronização do enfisema foi feita através da análise do diâmetro alveolar médio, utilizando um retículo contendo um sistema de referência de 100 pontos e cinquenta linhas (de comprimento conhecido), com auxílio do programa ImageJ. O número de interceptos foram contados em 20 campos aleatórios, sendo $L_m = \frac{\sum \text{comprimento dos seguimentos}}{\text{numero de interceptos}}$ (1250 μ m)/numero de interceptos. Para análise estatística foi utilizado teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste Dumm. O diâmetro alveolar médio foi de 20,38 μ m (17,43 μ m -24,54 μ m) no grupo controle, 24,57 μ m (20,50 μ m -28,65 μ m) no grupo E1, 30,21 μ m (26,65 μ m - 43,13 μ m) no grupo E15 e 49,49 μ m (31,67 μ m -57,71 μ m) no grupo E2, havendo diferença estatística entre os grupos C e E15 ($p=0,028$), C e E2 ($p=0,001$) e E1 e E2($p=0,017$). Observa-se, portanto que o diâmetro alveolar médio aumenta proporcionalmente com o aumento da dose de elastase utilizada. Os dados mostram que a dose utilizada no grupo E1 (4 x 0,1U) não foi suficiente para causar a doenças nos animais. Já os grupos E15 e E2 apresentam diâmetro alveolar médio aumentado e com diferença estatística em relação ao grupo C, demonstrando que os animais apresentavam enfisema pulmonar. Concluímos que para indução de enfisema em camundongos C57BL/6 é necessário utilizar doses de elastase de no mínimo 4 x 0,15U.