

AValiação de Protocolos de Descelularização de Pulmões de Ratos Wistars por Perfusão Alternada

Congresso Online Brasileiro de Medicina, 2ª edição, de 28/03/2022 a 31/03/2022
ISBN dos Anais: 978-65-81152-56-7

JÚNIOR; Leandro Norberto da Silva ¹, PEREIRA; Bianca de Oliveira Horvath ², ALMEIDA; Gustavo Henrique Doná Rodrigues ³, ARAUJO; Michelle Silva ⁴, CARREIRA; Ana Cláudia Oliveira ⁵, MIGLINO; Maria Angelica ⁶

RESUMO

As doenças respiratórias estão entre as principais causas de mortes globais. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é a terceira maior causa de mortes mundiais, responsável por 6% do total de mortes. Mesmo com o aumento anual do número de transplantes de pulmão, cada vez mais pacientes são adicionados à fila de espera do que são transplantados, o que gera um desequilíbrio entre a oferta de órgãos doados e a demanda de doadores. A Bioengenharia pulmonar é uma ferramenta terapêutica em potencial na obtenção de pulmões funcionais para transplante em pacientes com doenças pulmonares crônicas terminais. Embora a Bioengenharia apresente uma abordagem médica regenerativa para os diferentes órgãos e tecidos, ela tem sido aplicada em menor escala para os pulmões, com poucos relatos de tentativas preliminares. A Bioengenharia pulmonar é particularmente difícil dada à variedade de células envolvidas, a complexidade estrutural da árvore brônquica e do circuito de circulação pulmonar e do envolvimento de estímulos mecânicos associados à respiração. No entanto, muitos obstáculos técnicos permanecem para se alcançar um pulmão reconstruído viável para transplante. A incapacidade de re-endotelizar eficientemente a vasculatura pulmonar com um endotélio funcional parece ser a principal causa de insucesso dos transplantes pulmonares com pulmões recelularizados até o momento. Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi desenvolver um protocolo eficiente de descclularização de pulmões de ratos wistars. Para isso os objetivos específicos se dividiram em: promover a descclularização de pulmões de ratos, utilizando protocolos adaptados da literatura, em perfusão alternada entre a via traqueal e arterial; promover a recelularização de fragmentos de *scaffolds* pulmonares descclularizados com cultivo de fibroblastos murinos. Este projeto foi devidamente submetido e aprovado pelas comissões de ética em uso de animais das instituições envolvidas. Os pulmões foram coletados e submetidos ao processo de descclularização, utilizando 5 diferentes protocolos, em seguida foram analisados por microscopia eletrônica de varredura, microscopia de luz, quantificação de DNA genômico e fluorescência de

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, silvajunior@usp.br
² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, horvath@usp.br
³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, gustavohdra@usp.br
⁴ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, msa.vet@usp.br
⁵ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, ancoc@iq.usp.br
⁶ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, miglino@usp.br

núcleos por DAPI. Ao final da descelularização e análises, fragmentos de 0,125cm³ do melhor protocolo foram submetidos a recelularização com fibroblastos murinos (3T3) por 7 dias, visando avaliar a citotoxicidade e a capacidade do *scaffold* de fornecer um ambiente propício para a adesão e proliferação celular. O protocolo utilizando SDS 0,5% + Triton X-100 0,5% forneceu um *scaffold* acelular e estruturado, de acordo com os resultados histológicos, quantitativos e de conformidade tridimensional observado com a técnica de microscopia eletrônica de varredura. Quando fragmentado e submetido ao cultivo com células 3T3 por 7 dias, os *scaffolds* gerados por este protocolo, forneceram substrato favorável para a adesão e desenvolvimento celular, as células conseguiram aderir à camada superficial, bem como, permear no *scaffold*, isso foi observado por técnicas histológicas, microscopia eletrônica de varredura e fluorescência de núcleos por DAPI. Os resultados obtidos contribuíram para o conhecimento científico da bioengenharia pulmonar, contribuindo a curto e médio prazo para o desenvolvimento e aperfeiçoamento de novas ferramentas terapêuticas na Medicina Regenerativa, especialmente na área da Fisiologia Respiratória.

PALAVRAS-CHAVE: Matriz Extracelular, Scaffolds, Bioengenharia, Medicina Regenerativa

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP , silvajunior@usp.br
² Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, horvath@usp.br
³ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, gustavohdra@usp.br
⁴ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, msa.vet@usp.br
⁵ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, ancoc@iq.usp.br
⁶ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP - FMVZ-USP, miglino@usp.br