

Padronização de um Modelo Murino de Indução de Resposta Pulmonar Alérgica por Exposição a um Extrato de Ácaro

Bárbara Feijó Wunsch, Paulo Márcio Condessa Pitrez

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Instituto de Pesquisas Biomédicas da PUCRS, Laboratório de Respirologia Pediátrica.

Resumo

A asma é uma doença crônica alérgica caracterizada por inflamação e obstrução das vias aéreas inferiores, com hiperresponsividade brônquica e hipersecreção de muco. Os camundongos, modelo animal amplamente utilizado em pesquisa sobre asma, não desenvolvem asma espontaneamente, sendo necessário que seja induzida através de alérgenos específicos, como a ovalbumina (OVA). Entretanto algumas críticas têm sido feitas quanto ao uso desta proteína, por não ser um alérgeno natural em humanos além de não nos permitir reproduzir modelos crônicos de asma, pois, os animais desenvolvem tolerância quando expostos continuamente a OVA. Os ácaros da poeira doméstica são uma das principais fontes de alérgenos e um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças alérgicas. Este estudo tem como objetivo padronizar um modelo experimental agudo e crônico de asma por exposição intranasal a um extrato de ácaro. Os ácaros foram macerados em nitrogênio líquido e posteriormente deslipidado em éter etílico por 3 horas. O éter foi removido e o extrato foi ressuspensionado em DPBS, sendo utilizado apenas o sobrenadante. Foram utilizados 34 camundongos BALB/c divididos em quatro grupos. O extrato de ácaro foi administrado por via intranasal (15 µL) na dose de 34,5 µg por animal, por 10 dias consecutivos para o protocolo agudo e 1 vez ao dia 5 dias por semana, durante 6 semanas para o protocolo crônico. Os controles negativos, agudo e crônico, seguiram o mesmo protocolo, porém receberam apenas DPBS por via intranasal. Os animais foram sacrificados com uma dose letal de anestésico e o lavado broncoalveolar (LBA) foi coletado através instilação de 1 mL de DPBS para a contagem total e diferencial de células, e o tecido pulmonar retirado para análise histológica. Nos animais submetidos ao protocolo agudo com extrato de ácaro verificamos um aumento significativo na contagem total de células ($P<0,001$) e também na contagem absoluta de neutrófilos ($P<0,001$), eosinófilos ($P<0,001$), linfócitos ($P<0,001$) e macrófagos ($P<0,001$) e na análise histológica observamos um aumento do infiltrado inflamatório peribrônquico. Ao analisarmos os resultados do protocolo crônico de exposição ao extrato de ácaro, observamos um aumento significativo na contagem total de células no LBA ($P<0,01$), bem como um aumento na contagem absoluta de neutrófilos ($P<0,001$), eosinófilos ($P<0,05$), linfócitos ($P<0,01$) e macrófagos ($P<0,001$), além da presença de infiltrado inflamatório peribrônquico. O extrato de ácaro padronizado pelo nosso grupo de pesquisa foi capaz de desenvolver doença pulmonar alérgica em um modelo murino utilizando um protocolo de exposição agudo e crônico.

Palavras-chave: asma, ovalbumina, extrato de ácaro, exposição aguda e crônica