

EFEITOS BIOLÓGICOS DO ESTIRAMENTO CÍCLICO MECÂNICO SOB CÉLULAS EPITELIAIS ALVEOLARES PRIMÁRIAS ORIUNDAS DE RATOS JOVENS E IDOSOS

Sabrina Sodré de Souza Serra; Letícia Almeida da Silva-Moura; Iris Krause Contreras; Marianna Ribeiro Cabral; Eliza de Oliveira Pinto Paulino; Johnatas Dutra Silva; Fernanda Ferreira Cruz; Pedro Leme Silva;

Laboratório de Investigação Pulmonar, IBCCF, UFRJ;

Autor principal: Sabrina Sodré de Souza Serra

A ventilação mecânica (VM) é a principal terapia de suporte utilizada em pacientes com insuficiência respiratória. No entanto, as forças biomecânicas geradas pela VM podem causar danos ao pulmão, os quais configuram a Lesão Pulmonar Induzida pela Ventilação (VILI). O estiramento mecânico cíclico in vitro das células epiteliais alveolares é capaz de simular os padrões da VM e o estresse mecânico ao qual as células são submetidas in vivo. Ademais, a maior parte dos pacientes que requerem VM são idosos. Logo, o envelhecimento pode estar associado ao aumento da susceptibilidade e gravidade da VILI, além de uma maior taxa de mortalidade. Contudo, a maioria dos estudos pré-clínicos sobre VILI representa apenas a população jovem e poucos estudam os efeitos biológicos da VM em células de animais idosos. Assim, este estudo tem como objetivo caracterizar a senescência celular e comparar os efeitos do estiramento cíclico mecânico em células alveolares primárias oriundas de ratos jovens e idosos. Para tal, células alveolares foram extraídas do pulmão de ratos Wistar machos (CEUA 031/21) jovens (2-3 meses) e idosos (20-22 meses). A senescência celular foi avaliada por meio de ensaio colorimétrico e citometria de fluxo para detecção da beta-galactosidase associada à senescência (SA- β -gal), além da análise da expressão dos marcadores p16, p21 e p53 por RT-PCR. Após a validação de senescência, as células foram submetidas a um ensaio de estiramento cíclico mecânico de 22% de amplitude por 4 horas, frequência de 0,25 Hz. Células alveolares na condição estática serviram como controle. A viabilidade celular foi avaliada por meio dos ensaios de LDH e MTT. As alterações dos filamentos de actina no citoesqueleto foram avaliadas por imunofluorescência através da marcação com faloidina. A expressão dos marcadores de senescência p16 e p53 e a expressão da proteína SA- β -gal foram mais elevadas em células obtidas de ratos idosos do que de ratos jovens ($p=0,008$, $p=0,039$ e $p=0,034$; respectivamente). Os níveis de LDH foram mais elevados em células submetidas ao estiramento, tanto no grupo jovem (Abs, Absorbância [A490-A680] $0,15\pm0,08$) quanto no grupo idoso (Abs, $0,13\pm0,06$), em comparação com os respectivos grupos em condições estáticas (Abs, $0,08\pm0,06$ e $0,06\pm0,04$). Há uma tendência à redução na intensidade dos filamentos de actina em células alveolares de animais idosos submetidos a estiramento cíclico, em comparação com o mesmo grupo sob condição estática ($p=0,052$), além de alterações na orientação desses filamentos. Os resultados indicam que as células alveolares de animais idosos apresentam maior expressão de marcadores de senescência do que as de animais jovens. Células alveolares de animais jovens e idosos submetidas ao estiramento mecânico cíclico são mais suscetíveis à citotoxicidade do que os grupos em condições estáticas. Por fim, sob estiramento cíclico, as células alveolares idosas apresentam alterações nos filamentos de

actina, o que pode refletir sua fragilidade e pode explicar susceptibilidade e gravidade da VILI na condição idosa.

Palavras-chave: Envelhecimento, Estiramento cíclico mecânico, Lesão Pulmonar Induzida pela Ventilação, Células epiteliais alveolares, Ventilação mecânica.

