

IMPLANTAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DE MODELO EXPERIMENTAL DE ATEROEMBOLISMO – ANÁLISE HISTOLÓGICA

Gabriela Bataglini Araújo (PIBIC/FA/UEM), Luiz Eduardo Bersani Amado,
Bruno Ambrósio da Rocha, Roberto Kenji Nakamura Cuman, Ciomar
Aparecida Bersani Amado, e-mail: cabamado@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/
Departamento de Farmacologia e Terapêutica - Maringá-PR.

Ciência Biológicas/Farmacologia

Palavras-chave: doença renal crônica; embolismo arterial, histologia.

Resumo

O objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações histológicas renais decorrentes da insuficiência renal induzida por embolismo arterial em ratos. Os rins utilizados foram previamente coletados durante a padronização do modelo de ateroembolismo em ratos: Grupo 1) animais normais, Grupo 2, 3, 4) animais submetidos ao procedimento de ateroembolismo renal mantidos por períodos de tempo diferente (30, 60 e 90 dias, respectivamente) após o procedimento operatório. O tecido renal de cada animal foi fixado com solução de formalina 10 %. Subsequentemente, os tecidos foram desidratados, por aumento da concentração de solução etanol (70-100 %), impregnados em parafina líquida e incluídos em blocos de parafina. A seguir, o material foi seccionado em micrótomo na espessura de 5 μ m, corado com hematoxilina/eosina para avaliação morfológica do tecido em microscópio óptico. Os resultados mostraram que o tecido renal dos ratos submetidos ao ateroembolismo renal apresentaram alterações glomerulares (dilatação da cápsula de Bowman, colapso capilar e diminuição da celularidade), tubulares (degeneração e necrose) e intersticiais (infiltrado de células inflamatórias) progressivas de acordo com os períodos de tempo avaliados (30, 60 e 90 dias).

Introdução

O ateroembolismo é uma doença multissistêmica que afeta diversos órgãos como: pele, rins, trato gastrointestinal e sistema nervoso central. Em 25% dos casos podem ocorrer de forma espontânea, mas, na maioria das vezes, é uma consequência da complicação de procedimentos endovasculares e/ou terapia anticoagulante ou trombolítica. Neste caso, êmbolos de colesterol podem se deslocar de uma placa aterosclerótica erodida de uma grande artéria (em geral a aorta) e ocluir pequenas artérias

e arteríolas em diferentes órgãos, ocasionando infarto isquêmico (DUMMER et al., 2010 ; RIELLA, 2010)

A doença renal ateroembólica (DRAE) é definida como uma insuficiência renal secundária à oclusão das artérias e arteríolas renais, por êmbolos de colesterol, que se depositam na forma de cristais. A incidência exata da DRAE não é conhecida, pois muitos casos não são diagnosticados ou são identificados pós-morte. O cenário clínico é variável, desde um quadro subclínico até uma doença fatal (DUMMER et al., 2010; RIELLA, 2010; SOLÍS et al., 2010)

Resultados anteriores mostraram um aumento dos níveis séricos da creatinina e ureia e uma hipertrofia renal nos animais submetidos ao ateroembolismo renal. Adicionalmente, a concentração de proteínas na urina de 24 h também estava bastante elevada. Estes resultados apontaram para uma alteração da função renal nestes animais, indicando lesão renal. Neste contexto, era importante realizar uma avaliação *in situ* dos rins dos animais submetidos ao modelo experimental de ateroembolismo renal. Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar as alterações histológicas renais decorrentes da insuficiência renal induzida por embolismo arterial em ratos

Materiais e métodos

Os rins utilizados foram coletados durante a padronização do modelo de ateroembolismo em ratos: Grupo 1) animais normais, Grupo 2, 3, 4) animais submetidos ao procedimento de ateroembolismo renal mantidos por períodos de tempo diferente (30, 60 e 90 dias, respectivamente) após o procedimento operatório. O projeto foi aprovado pelo Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA) sob o parecer n.º 1994250515.

Análise morfológica do rim de animais submetidos à insuficiência renal por ateroembolismo pela técnica de coloração hematoxilina/eosina

Os rins de animais normais e de animais submetidos ao procedimento de ateroembolismo nos diferentes períodos de tempo (30, 60 e 90 dias) foram fixados com solução de formalina 10 %. Subsequentemente, as amostras foram desidratadas aumentando a concentração da solução de etanol (70-100 %), impregnadas em parafina líquida e incluídas em blocos de parafina os quais foram seccionados em micrótomo na espessura de 5 µm. Secções do tecido foram coradas com hematoxilina/eosina para avaliação histológica do tecido utilizando microscópio óptico.

A avaliação morfológica do tecido renal foi realizada por escore histológico. Foram analisados aleatoriamente 20 glomérulos (10 corticais e 10 medulares), totalizando 300 glomérulos por grupo experimental, avaliando a área da cápsula de Bowman, as alças capilares e a celularidade. Também foram analisados, aleatoriamente 20 túbulos renais (10 túbulos contorcidos proximais e 10 túbulos contorcidos distais), totalizando 300 túbulos por grupo experimental, avaliando a degeneração e a necrose

tubular. Adicionalmente, o interstício renal também foi analisado quanto ao infiltrado de células inflamatórias. Todas estas análises foram avaliadas adotando tabela de escore sendo: 0 = nenhuma alteração; 1 = leve alteração; 2 = moderada alteração e 4 = intensa alteração. Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média dos escores obtidos na análise morfológica do tecido renal.

Resultados e Discussão

Os dados da análise histológica das amostras de rins (coradas com hematoxilina/eosina - HE) dos grupos de animais normais e animais submetidos ao processo de ateroembolismo renal, nos diferentes períodos tempos (30, 60 e 90 dias), estão representadas na tabela 01. Os rins dos animais normais, nos diferentes períodos de tempos, estavam com arquitetura preservada e glomérulos íntegros (cápsula de Bowman, alças capilares e celularidade preservados). Adicionalmente, não apresentavam de alterações tubulares e de infiltrado inflamatório no interstício.

Por outro lado, os rins de animais submetidos ao ateroembolismo renal apresentaram lesões glomerulares (dilatação da cápsula de Bowman, colapso capilar e redução da celularidade) com evolução progressiva nos períodos de tempo de 30 e 60 dias; as quais permaneceram mantidas entre os períodos 60 e 90 dias. Nestes animais foram evidenciadas alterações tubulares com degeneração e necrose tubular progressiva nos períodos de tempo avaliados (30; 60 e 90 dias). Também foi observado intenso processo inflamatório com significativa infiltração de células inflamatórias no interstício dos rins de animais submetidos ao ateroembolismo renal.

Tabela 01. Análise morfológica dos rins de animais normais e submetidos ao ateroembolismo renal nos diferentes períodos de tempos avaliados (30, 60 e 90 dias). Os dados foram expressos como média $\pm$ erro padrão da média dos escores obtidos na análise morfológica do tecido renal.

Área renal	Alterações renais	30 DIAS		60 DIAS		90 DIAS	
		N	O	N	O	N	O
Glomérulo	Dilatado	0,00 $\pm$ 0,0	2,36 $\pm$ 0,1	0,33 $\pm$ 0,1	2,66 $\pm$ 0,1	0,22 $\pm$ 0,1	2,26 $\pm$ 0,2
	Alças capilares	0,83 $\pm$ 0,2	1,72 $\pm$ 0,3	0,61 $\pm$ 0,2	2,90 $\pm$ 0,1	1,78 $\pm$ 0,4	2,66 $\pm$ 0,2
	Celularidade	0,00 $\pm$ 0,0	2,54 $\pm$ 0,3	0,00 $\pm$ 0,0	2,44 $\pm$ 0,2	0,00 $\pm$ 0,1	2,40 $\pm$ 0,2
Túbulos	Degeneração celular e Necrose	0,17 $\pm$ 0,2	1,09 $\pm$ 0,3	0,05 $\pm$ 0,1	2,33 $\pm$ 0,2	0,66 $\pm$ 0,2	3,00 $\pm$ 0,0
Interstício	Células Inflamatórias	0,16 $\pm$ 0,2	1,90 $\pm$ 0,2	0,16 $\pm$ 0,2	1,88 $\pm$ 0,1	0,22 $\pm$ 0,1	3,00 $\pm$ 0,0

N = grupo normal; O = grupo submetido ao ateroembolismo renal. Escore histológico: 0 = nenhuma alteração; 1 = leve alteração; 2 = moderada alteração e 3 = intensa alteração.

Conclusão

O presente estudo mostrou que o modelo experimental de Insuficiência Renal Crônica induzida por ateroembolismo renal provoca

alterações histológicas glomerulares, tubulares e intersticiais de maneira progressiva mimetizando achados clínicos da doença.

Agradecimento

Os autores agradecem ao CNPq - Fundação Araucária - UEM pelo apoio financeiro.

Referências

DUMMER C.D.; VERONESE F.J.V.; PIANA M. Doença renal ateroembólica: uma causa de insuficiência renal aguda pouco explorada. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 56, p. 493-516, 2010.

KIMURA M.; SUZUKI T.; HISHIDA A. A Rat Model of Progressive Chronic Renal Failure Produced by Microembolism. **American Journal of Pathology**, v. 155, p. 1371–1380, 1999.

RIELLA M.C.. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos**. 5. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koorgan, 2010.