

IMPLANTAÇÃO E PADRONIZAÇÃO DE MODELO EXPERIMENTAL DE ATEROEMBOLISMO

Giovana Alves Santos (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 a presença de colágeno total no tecido renal de ratos submetidos ao ateroembolismo por injeção de micro esferas. Os rins utilizados foram coletados previamente no momento da padronização do modelo de ateroembolismo: 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 μm e corado com Mallory-Azan para identificação do colágeno total. Para realizar a análise morfométrica dos rins, foram capturadas imagens aleatórias de cada lâmina/animal em objetiva de 20X utilizando microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus, Tóquio, Japão). O sistema de análises de imagens (Image Pró Plus[®] 4.5 – Media Cybernetics, Inc.) foi utilizado para auxílio de todas as análises morfométricas dos rins. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média em micrômetros quadrados (μm^2). Os dados mostraram que ocorreu uma produção aumentada de colágeno total no tecido renal de ratos submetidos ao ateroembolismo, sugerindo um processo de fibrogênese que pode evoluir para um quadro de Insuficiência Renal Crônica.

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; VERONESE; PIANA, 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; VERONESE; PIANA, 2010; RIELLA, 2010; SOLÍS et al., 2010).

Resultados preliminares da implantação e padronização do modelo mostraram aumento da concentração sérica de creatinina e ureia e uma hipertrofia dos rins durante a evolução do processo. Adicionalmente, a avaliação *in situ* do tecido renal por coloração de hematoxilina/eosina evidenciou diversas alterações na estrutura renal como acúmulo intracelular de proteínas e necrose. Neste contexto, o objetivo do presente projeto foi padronizar o método de coloração histológica Mallory-Azan para quantificar o depósito de colágeno total no tecido renal dos ratos submetidos ao processo de ateroembolismo renal.

A continuação do presente estudo se justifica, pois os resultados obtidos pelo nosso grupo evidenciaram o comprometimento da função e da estrutura renal nos grupos de animais submetidos ao ateroembolismo renal. Associado a isto, com a progressão da doença, ocorre o aparecimento de tecido fibrótico o qual contribui para o desenvolvimento da insuficiência renal crônica. Desta maneira, a padronização de técnicas de coloração que evidencie o aparecimento de colágeno e fibrose poderá ser útil para melhor compreensão da fisiopatologia desta doença como também, no desenvolvimento de esquemas terapêuticos específicos para o tratamento doença renal ateroembólica.

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.

As secções de tecido embebidas em parafina foram utilizadas para obtenção de cortes transversais semi-seriados de 5- μ m. A técnica de coloração realizada foi: Mallory-Azan. Os cortes corados com Tricômico de Mallory-Azan foram utilizados para a identificação do colágeno total. Para realizar a análise morfométrica dos rins, foram capturadas 60 imagens aleatórias de

cada lâmina/animal (totalizando 300 imagens/grupo) em objetiva de 20X utilizando microscópio óptico Olympus BX41 (Olympus, Tóquio, Japão). O sistema de análises de imagens (Image Pró Plus[®] 4.5 – Media Cybernetics, Inc.) foi utilizado para auxílio de todas as análises morfológicas dos rins. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média em micrômetros quadrados (μm^2).

Resultados e Discussão

A avaliação histológica do tecido renal de ratos submetidos ao ateroembolismo mostrou intensa deposição do colágeno total no tecido renal, em todos os períodos (30, 60 e 90 dias) quando comparado aos ratos do grupo Controle (normal). Como observado este aumento do colágeno ocorreu de modo tempo dependente entre os períodos de 30 e 60 dias, mantendo-se constante entre os períodos de 60 e 90 dias, o que sugere um processo de fibrogênese (MULLER; STRUTZ, 2000). Diante deste resultado podemos sugerir que a produção aumentada de colágeno pode evoluir para um quadro de fibrose e consequentemente contribuir para o aparecimento da Insuficiência Renal Crônica.

Conclusão

O presente estudo mostrou que o modelo experimental de Insuficiência Renal Crônica induzida por ateroembolismo renal provoca um aumento significativo do colágeno total de maneira progressiva mimetizando achados clínicos da doença.

Agradecimento

Agradecemos 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. **The American Journal of Pathology**. v. 155, p. 1371–1380, 1999.

MÜLLER G.A.; STRUTZ, M.Z. The importance of tubulointerstitial damage in progressive. **Nephrology Dialysis Transplantation** 15, 76-77, 2000.

RIELLA, M.C. **Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos** / **Miguel Carlos Riella** – 5ed – Rio de Janeiro: Guanabara Koorgan 2010; p.511-513.

SOLÍS E. G; et al. Atheroembolic renal disease: analysis of clinical andtherapeutic factors that influence its progression. **Nefrologia**. v. 30, p. 317-323, 2010.