

# ACHADOS HISTOLÓGICOS DE RINS DE CUTIAS COM NEFROPATIA CRÔNICA INDUZIDA TRATADAS E NÃO TRATADAS COM CÉLULAS-TRONCO: ESTUDO QUALITATIVO

*Pollyanna Barros Ibiapina (Bolsista do PIBIC/CNPq), Maria Acelina Martins de Carvalho (Colaboradora, Depto de Morfofisiologia Veterinária), Rosa Maria Cabral (Orientadora, Depto de Clínica e Cirurgia Veterinária - UFPI)*

## INTRODUÇÃO

A insuficiência renal crônica (IRC) é causada por diabetes *mellitus*, glomerulonefrite crônica, hipertensão arterial, pielonefrite, injúrias renais crônicas e rins policísticos. No Brasil o número de doentes que necessitam de transplante renal é maior do que o número de doadores do órgão. Os tratamentos disponíveis são a hemodiálise e o transplante renal. Portanto, é necessário buscar-se soluções alternativas para tratar estes pacientes. Com o avanço nas pesquisas sobre terapia celular, aumentam as expectativas para pacientes de doenças crônicas, pois as células-tronco são células capazes de se multiplicarem e se diferenciarem em outros tecidos, promovendo restauração (BARREIRA et al, 2009). Várias especialidades médicas já usam células-tronco da medula óssea para reparar lesões, como as cardíacas isquêmicas (BRANCO et al, 2009); lesões do parênquima pulmonar causados por sulfato de bleomicina e tratadas com células-tronco obtidas da placenta de roedores (CARGNONI et al, 2009), lesões do tecido pulmonar provocado por radiação (KURSOVA et al 2009) e, na ortopedia, estudos promissores sobre condrogênese (KOGA et al, 2008). Há também relatos da eficácia entre transplantes autólogos e heterólogos de células-tronco para reparar defeitos ósseos em coelhos (NIEMEYER et al 2009). Na nefrologia, já compararam a habilidade de reparação renal das células-tronco em doenças agudas e crônicas (IMAI et al, 2009; CHHABRA & BRAYMAN, 2009), além do potencial regenerador destas células em lesões de ureteres (BARREIRA et al, 2009). A indução da IRC pode ser realizada através da utilização de contraste radiológico (ULTRAMARI, 2006), remoção cirúrgica de fragmento renal (COSTA, 2009) e utilização de fármacos nefrotóxicos como os aminoglicosídeos (OLIVEIRA, 2006). O modelo experimental escolhido é a cutia, roedor da Ordem Rodentia, Gênero *Dasyprocta* (DEUTSCH & PUGLIA, 1990). O protocolo de indução de IRC nesta pesquisa é através do uso de sulfato de gentamicina. O objetivo deste estudo é avaliar as alterações histológicas dos rins de cutias portadoras de IRC, tratadas e não tratadas com células-tronco de medula óssea.

## METODOLOGIA

Estudo aprovado no SISBIO (nº 19060-1) e Comitê de Ética e Experimentação Animal UFPI (nº 006-09). Foram utilizadas 10 cutias provenientes do Núcleo de Estudos, Preservação e Produção de Animais Silvestres - NEPPAS (IBAMA/PI nº 02/08 – 618), do centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí – UFPI.

Dez cutias machos, adultas e híidas, com peso de 2,0 a 2,4kg foram divididos em dois grupos de cinco animais cada, grupos controle e tratado, respectivamente. Receberam aplicações de gentamicina pela via subcutânea na dose de 10mg/Kg, divididas em duas aplicações semanais durante 4 meses. Previamente, coletadas amostras séricas dos animais para dosagens de uréia, creatinina e TGP, além de realização de ultrassonografia renal para comprovar a higidez dos rins dos animais. Estes exames foram repetidos mensalmente. Após a comprovação da doença nos animais dos dois grupos, os animais do grupo tratado foram submetidos à coleta de medula óssea, seguida de separação ( gradiente de densidade, FicollPaque®) e marcação das células mononucleares da medula óssea (marcador celular, Hoechst®). Imediatamente a separação e marcação das CMMO, as mesmas foram infundidas nestes animais por via venosa. Após 21 da infusão das CMMO, os dez animais foram eutanasiados e coletados fragmentos de seus rins. Os cortes foram obtidos de fragmentos de 0,5 cm x 0,5 cm, fixados em solução de paraformaldeído e a inclusão em Paraplast®. Obtidas secções dos fragmentos em Micrótopo (Bright – M3500) de 5 mm e coradas em Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricromo de Masson (TM). As análises histológicas foram feitas em microscopia de luz, e os resultados registrados em fotomicroscópio.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

O protocolo escolhido para induzir IRC mostrou-se efetivo ao observarmos lesões no parênquima renal dos animais semelhantes às lesões de pacientes humanos portadores de doença renal crônica. Os exames bioquímicos utilizados para determinação da higidez do sistema renal são as dosagens séricas de uréia, creatina, TGP e de alguns eletrólitos, além dos níveis de proteína total sérica. As alterações destes parâmetros muitas vezes só são flagradas em estágios terminais da doença, sendo, portanto, mensurados com o intuito de acompanhar a evolução da doença. As avaliações bioquímicas somadas aos achados nas provas histológicas caracterizaram a doença renal pretendida em todas as cutias deste experimento. Os resultados de uréia, creatinina e TGP apresentaram alterações discretas indicando sinais de injúria renal. Magnasco et. al (2008) em estudo de indução de doença renal utilizando adriamicina em roedores constatou que mesmo após o uso do fármaco os animais não tiveram seus valores de uréia, creatinina e proteinúria alterados significativamente, e ainda, que os animais que receberam células-tronco anteriormente a indução da injúria com adriamicina, não alteraram seus valores séricos de uréia e creatina. Isso corrobora nossos resultados, quando verificamos discretas alterações durante a indução da doença e após a infusão celular. As ultrassonografias apontaram mudança da arquitetura renal, com perda progressiva da relação cortico-medular, sugerindo lesão renal, alteração esta presente em todos os animais. As imagens ultrassonográficas dos rins dos animais dos dois grupos foram semelhantes. Em relação às provas histológicas, no grupo tratado, os cortes corados com HE evidenciaram áreas de proliferação de células tubulares em reparação, necrose tubular e congestão de capilares mesangiais, nefrose tubular e túbulos com degeneração nuclear. As colorações de TM indicam a presença de hemácias em túbulos e líquido proteinúrico na luz tubular, discreta área de fibrose peritubular, congestão capilar e discreta massa de fibrina em espaço urinário. No grupo não tratado, lâminas coradas com HE evidenciaram a presença de necrose tubular, destruição glomerular; infiltrado inflamatório

mononuclear difuso, vários fibroblastos e células tubulares com nucléolos evidentes; infiltrado inflamatório em túbulo intersticial, vários fibroblastos e macrófagos. Ainda neste grupo, os achados histológicos de TM são indicativos de destruição tubular em região medular com deposição irregular de colágeno; congestão de capilares glomerulares e presença de corpúsculo renal; deposição colagênica em região medular (fibrose). Pesquisas com modelos murinos para indução de doença renal e testes com terapia celular tem mostrado diferentes resultados, muitos deles controversos em relação à viabilidade e competência das células-tronco em promover reparação do parênquima renal injuriado. Em ratos, após indução da IRC, células-tronco coletadas da medula óssea não apresentaram crescimento in vitro, levando-os a sugerir que estas células em ratos com IRC, não teriam potencial regenerativo para os rins (DREWA et. al 2008). No entanto, diversos pesquisadores afirmam o potencial terapêutico das células-tronco da medula óssea, sobretudo das células mesenquimais, relatando o potencial regenerativo e propriedades imunomoduladoras das mesmas, através da observação da inibição de processos inflamatórios nos locais de injúria, bem a reparação de áreas agredidas (MCTAGGART; ATKINSON, 2007). Esta constatação corrobora os achados histológicos deste trabalho, ao verificarmos que os animais não tratados com células-tronco, apresentaram em seus tecidos renais, lesões inflamatórias importantes, destruição da arquitetura glomerular e áreas com deposição colagênica expressiva, indicando áreas de fibrose e, ao examinarmos os tecidos renais dos animais do grupo tratado com células-tronco, houve uma clara atenuação e inibição da progressão das injúrias, nos permitindo sugerir a ação benéfica do transplante autólogo realizado neste grupo.

## **CONCLUSÃO**

A cutia mostrou-se modelo experimental satisfatório para estudo de IRC, apresentando lesões renais semelhantes às encontradas em humanos portadores de IRC. A infusão autóloga de células-tronco realizada pode ser responsável pela atenuação das lesões encontradas no parênquima renal dos animais do grupo tratado, quando comparadas com o grupo dos animais não tratados.

## **APOIO**

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq; Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

BARREIRA A. L; TAKIYA C M, CASTIGLIONE R C, GUTIERREZ T M, BARBOS C M.L, ORNELLAS D S., VERDOORN K S, PASCARELLI B M, BOROJEVIC R, EINICKER-LAMAS M, LEITE JR M. MORALES M M, VIEYRA A. Bone Marrow Mononuclear Cells Attenuate Interstitial Fibrosis and Stimulate the Repair of Tubular Epithelial Cells after Unilateral Ureteral Obstruction. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 24, p. 585-594, 2009.

BRANCO, E. R., CABRAL, R., SARMENTO, C A. P., GREGORES, G. B., STOPIGLIA, A. J., MAIORKA, P. C, LEMOS, P. A., CAMPOS, C., TAKIMURA, C., RAMIRES, J.A.F. Myocardial Homing after intrapericardial infusion of Bone Marrow Cells. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.93, p.e50 - e53, 2009.

CARGONI, A.;GIBELLI, L.; TOSINI, A.; SIGNORONI, P. B.; NASSUATO, C.; ARIENTI, D.; LOMBARDI, G.; ALBERTINI, A.; WENGLER, G. S.; PAROLINI, O. Transplantation of allogeneic and xenogeneic placenta-derived cells reduces bleomycin-induced lung fibrosis. **Cells transplant**. 18(4): 405-22, 2009.

CHHABRA, P.; BRAYMAN, K. L. The use of stem cells in kidney disease. **Curr Opin Organ Transplant**, 14(1):72-8, 2009.

COSTA, A. F. N. da et al. Modelo cirúrgico de insuficiência renal crônica: estudo em coelhos. **Rev. Col. Bras. Cir.** [online]., vol.36, n.1, pp. 78-84, 2009.

DEUTSCH, L. A.; PUGLIA, L. R. R. **Os animais silvestres: proteção, doenças e manejo**. 2ª ed. São Paulo: Globo, p. 51-60, 1990.

DREWA T, JOACHIMIAK R, KAZNICA A, FLISINSKI M, BRYMORA A, MANITIUS J. Bone marrow progenitors from animals with chronic renal failure lack capacity of in vitro proliferation. **Transplant Proc**, v.40(5):1668-73, 2008.

IMAI, N.; KAUR, T.; ROSENBERG, M. E.; GUPTA, S. Cellular therapy diseases. **Semin Dial**. 22(6):629-35, 2009.

KOGA, H.; MUNETA, T.; NAGASE, T.; NIMURA, A.; JU, Y. J.; MOCHIZUKI, T.; SEYKA, L.; Comparison of mesenchymal tissues-derived stem cells for in vivo chondrogenesis: suitable conditions for cell therapy of cartilage defects in rabbit. **Cell Tissue Res**. 333:207-215, 2008.

KURSOVA L.V.; KONOPLYANNIKOV A. G.; PASOV V. V.; IVANOVA I. N.; POLUEKTOVA M. V.; KONOPLYANNIKOVA O. A. Possibilities for the use of autologous mesenchymal stem cells in the therapy of radiation-induced lung injuries. **Bull exp. Boil. Med.** Apr; 147(4):542-6, 2009.

MAGNASCO A, CORSELLI M, BERTELLI R, IBATICI A, PERESI M, GAGGERO G, CAPIELLO V, CHIAVARINA B, MATTIOLI G, GUSMANO R, RAVETTI JL, FRASSONI F, GHIGGERI GM. Mesenchymal stem cells protective effect in adriamycin model of nephropathy. **Cell Transplant**.v17(10-11):1157-67, 2008.

MCTAGGART SJ AND ATKINSON K. Mesenchymal stem cells: Immunobiology and therapeutic potential in kidney disease. **Nephrology** v.12:44–52, 2007.

NIEMEYER, P.; SZALAY, K.; LUGINBÜHL, R.; SÜDKAMP, N. P. ; KASTEN, P. Transplantation of human mesenchymal stem cells in a non-autogenous setting for bone regeneration in a rabbit critical-size defect model. **Acta Biomaterialia** V. 6, p. 900-908, 2009.

OLIVEIRA, J. F. P; CIPULLO, J. P; BURDMANN, E. A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. **Rev Bras Cir Cardiovasc** [online]. vol.21, n.4, pp. 444-452, 2006.

ULTRAMARI, F. T. et al. Contrast media-induced nephropathy following diagnostic and therapeutic cardiac catheterization. **Arq. Bras. Cardiol.** [online]. vol.87, n.3, pp. 378-390, 2006.

Palavras-chave: Insuficiência renal crônica. Cutia. Células-tronco.