



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM SANIDADE E REPRODUÇÃO ANIMAL  
NuPCelt- NÚCLEO DE PESQUISA E MORFOLOGIA COM CÉLULAS TRONCO**

**ROBSON DOS ANJOS HONORATO**

**OBLITERAÇÃO SANGUÍNEA RENAL TRANSITÓRIA COMO ALTERNATIVA AO  
ESTUDO DA SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSÃO  
RENAL EM MODELO ANIMAL**

**TERESINA – 2017**

ROBSON DOS ANJOS HONORATO

**OBLITERAÇÃO SANGUÍNEA RENAL TRANSITÓRIA COMO ALTERNATIVA AO  
ESTUDO DA SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSÃO RENAL EM MODELO  
ANIMAL**

TERESINA/PI  
2017

ROBSON DOS ANJOS HONORATO

**OBLITERAÇÃO SANGUÍNEA RENAL TRANSITÓRIA COMO ALTERNATIVA AO  
ESTUDO DA SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSÃO RENAL EM MODELO  
ANIMAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Piauí para a obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

**Área de Concentração:** Sanidade e Reprodução Animal.

**Orientador:** Prof<sup>a</sup>. Matheus Levi Tajra Feitosa, Dr.

FICHA CATALOGRÁFICA  
Universidade Federal do Piauí Biblioteca Setorial do  
Centro de Ciências Agrárias  
Serviço de Processamento Técnico

**H774o** Honorato, Robson dos Anjos

Obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da síndrome de isquemia-reperusão renal em modelo animal. /

Robson dos Anjos Honorato - 2017.

41 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Teresina, 2017.

Orientação: Prof. Dr. Matheus Levi Tajar Feitosa

1. Catetos 2. Nefropatia 3. Isquemia-reperusão 4. Modelo animal I. Título

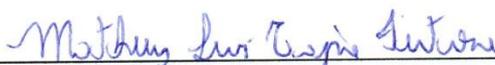


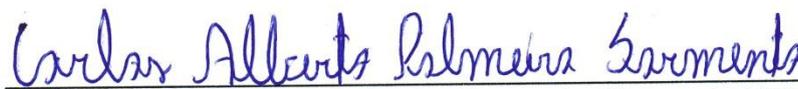
**OBLITERAÇÃO SANGUÍNEA RENAL TRANSITÓRIA COMO  
ALTERNATIVA AO ESTUDO DA SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSÃO  
RENAL EM MODELO ANIMAL**

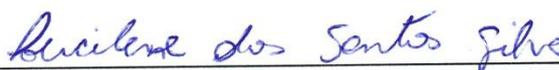
**ROBSON DOS ANJOS HONORATO**

Dissertação aprovada em: 26/10/2017

Banca Examinadora:

  
Prof. Dr. Matheus Levi Tajra Feitosa (Presidente) / UEMA

  
Prof. Dr. Carlos Alberto Palmeira Sarmento (Externo) / FPD

  
Profa. Dra. Lucilene dos Santos Silva (Interna) / Bolsista/CAPES/UFPI

Aos meus pais, José Reginaldo Honorato e Maria da  
Conceição dos Anjos Sousa, e ao meu companheiro e melhor  
amigo, meu cão Áthila.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pela vida, pela conquista que me proporcionou e por se mostrar sempre tão presente nos momentos em que mais precisei e por nunca ter me abandonado.

Aos meus pais e meu irmão, meu porto seguro, meus maiores professores e exemplos na escola da vida, pelo extraordinário exemplo de amor, luta, dedicação e determinação. Amo vocês !

A Universidade Federal do Piauí pelo acolhimento e momentos que guardarei eternamente.

Ao meu orientador, Matheus Levi Tajra Feitosa, que além de um amigo e companheiro, teve toda a paciência para me ensinar, o dom de explicar e estar na docência, além de não desistir em nenhum momento para a concretização dessa etapa.

A todos os professores, pela contribuição na minha formação, especialmente à professora Maria Acelina Martins de Carvalho.

Aos meus amigos de sempre e exemplos de dedicação, os Sennins Lendários, Júnior Mário Baltazar, Emanuel Felipe, Bruno Pajeú e Luciana Pereira.

A minha namorada Nathália Borges e sua família, especialmente aos senhores Arlindo e Susana Angelim, aos senhores José Baltazar e Antonieta Borges, Renato Borges, Ricardo Borges e José Neto, pois sem eles tudo seria mais difícil, com certeza estas pessoas foram um dos principais pilares para esta conquista.

Aos membros da banca da minha dissertação, os doutores Lucilene dos Santos Silva e Carlos Alberto Palmeira Sarmiento por dedicarem um pouco do seu tempo a correção deste trabalho.

E a todos aqueles que passaram na minha vida com sorrisos e palavras que me deram coragem e determinação para que essa etapa fosse concluída.

**SÚMARIO**

LISTA DE FIGURAS .....	x
LISTA DE QUADROS .....	xi
RESUMO .....	xii
ABSTRACT .....	xiii
INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	14
2.1 Síndrome de Isquemia Reperusão (SIR) .....	14
2.2 Síndrome de Isquemia Reperusão Renal.....	18
2.3 Modelos Animais .....	20
3 CAPITULO I.....	23
Obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da síndrome de isquemia-reperusão renal em modelo animal.....	1
RESUMO.....	23
ABSTRACT: .....	23
INTRODUÇÃO .....	24
MATERIAL E MÉTODOS .....	24
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
CONCLUSÃO .....	30
REFERÊNCIAS.....	30

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** Mecanismo proposto para geração de radicais livres de oxigênio após períodos de isquemia e reperfusão..... 16
- FIGURA 2** Cateto (*Tayassu tajacu*) mantido em anestesia inalatória no Centro Cirúrgico do HVU, UFPI. B- Exposição do rim esquerdo por laparotomia no flanco esquerdo com afastamento dos músculos oblíquo externo, oblíquo interno, transverso e peritônio. C- Oclusão da artéria renal. D – Cateto (*Tayassu tajacu*) mantido sob obliteração transitória (60min) da artéria renal. E- Realização de curativo pós-cirúrgico. F – Cateto (*Tayassu tajacu*) retornando da anestesia em piquete isolado..... 7
- FIGURA 3** Avaliação ultrassonográfica do rim de cateto (*Tayassu tajacu*) antes e após indução da síndrome isquemia-reperfusão renal. A – Rim de aspectos ultrassonográficos normais. B – Áreas de ecogenicidade alteradas e perda da relação córtico-medular..... 9
- FIGURA 4** Fotomicrografia de rim de catetos (*Tayassu tajacu*) submetidos a oclusão temporária da artéria renal (modelo de isquemia reperfusão renal). Material eosinofílico proteináceo no espaço urinário (setas). H-E .20x..... 10
- FIGURA 5** Fotomicrografia de rim de catetos (*Tayassu tajacu*) submetidos a oclusão temporária da artéria renal (modelo de isquemia reperfusão renal). Degeneração hialina (setas pretas). Necrose tubular (1) com tubulorrexia (seta vermelha), picnose difusa e desprendimento de células para o lúmen tubular. H-E.40x..... 10

**LISTA DE QUADROS**

<b>QUADRO 1</b>	Alterações histopatológicas renais em catetos ( <i>Tayassu tajacu</i> ) submetidos a indução da síndrome isquemia-reperfusão renal.....	11
-----------------	---	----

## RESUMO

**HONORATO, R. A. OBLITERAÇÃO SANGUÍNEA RENAL TRANSITÓRIA COMO ALTERNATIVA AO ESTUDO DA SÍNDROME DE ISQUEMIA-REPERFUSÃO RENAL EM MODELO ANIMAL.** 2017. 42f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) -

Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

As doenças renais isquêmicas apresentam alta mortalidade e morbidade, caracterizando-se como um dos mais importantes mecanismos ligados à perda irreversível da função renal. Atualmente, diversos modelos cirúrgicos são estudados com a finalidade de mimetizar os danos ocasionados pelas lesões isquêmicas e, assim, se obter maiores informações a respeito de suas características fisiopatológicas. Nesse contexto, a utilização de modelos animais que possuam semelhanças biológicas e anatomo-fisiológicas com a espécie humana, capazes de subsidiar pesquisas de interesse biológico e médico, vêm ganhando cada vez mais força. Com isso, o objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do método de obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da SIR renal em catetos (*Tayassu tajacu*), tendo em vista a provável similaridade morfofisiológica desta espécie com os humanos, uma vez que a mesma apresenta proximidade filogenética com o suíno doméstico. Foram utilizados oito animais, os quais foram submetidos a procedimento cirúrgico para indução de nefropatia isquêmica mediante clampeamento dos vasos renais com pinça vascular por 60 minutos. Foram colhidas amostras para mensuração sérica de ureia, creatinina e relação proteína / creatinina urinária – UPC, além de avaliação ultrassonográfica renal, ambos antes da indução e no 10º e 20º dias pós-indução, e coleta de material para exames histopatológicos. A análise estatística procede-se mediante os testes de Shapiro-Wilk, análise de variância (Teste F), Tukey HSD e Kruskal Wallis, com nível de significância de 5,0%. Os resultados demonstraram diferença nos níveis de resistividade renal entre os momentos avaliados, aumento de ecogenicidade renal com perda da relação córtico-medular e presença de discretas alterações glomerulares e várias alterações túbulointersticiais na análise bioquímica. Concluiu-se que o cateto caracteriza-se como um bom modelo experimental para estudos de nefropatias isquêmicas induzidas, contudo faz-se necessário a padronização de seus parâmetros bioquímicos renais, sorológicos e urinários em regime nutricional idêntico, haja visto a grande variabilidade de tais dados dentro da espécie.

## ABSTRACT

**HONORATO, R. A. TRANSIENT RENAL BLOOD OBLITERATION AS AN ALTERNATIVE TO THE STUDY OF RENAL ISCHEMIA-REPERFUSION SYNDROME IN AN ANIMAL MODEL.** 2017. 48f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal do Piauí, Teresina, 2017.

Ischemic renal diseases present high mortality and morbidity, characterizing as one of the most important mechanisms linked to the irreversible loss of renal function. Currently, several surgical models are studied in order to mimic the damage caused by ischemic lesions and, thus, to obtain more information about their pathophysiological characteristics. In this context, the use of animal models that have biological and anatomical-physiological similarities with the human species, able to support researches of biological and medical interest, have been gaining strength. The objective of this study was to evaluate the viability of the transient renal blood obliteration method as an alternative to the study of renal SIR in hounds (*Tayassu tajacu*), considering the probable morphological physiological similarity of this species to humans, since the same phylogenetic proximity to the domestic swine. Eight animals were used, which were submitted to a surgical procedure to induce ischemic nephropathy by clamping the renal vessels with vascular clamp for 60 minutes. Samples were collected for serum urea, creatinine and urinary protein / creatinine ratio (UPC), in addition to renal ultrasonographic evaluation, both before induction and on the 10th and 20th postoperative days, and collection of material for biochemical examination. Statistical analysis was carried out using the Shapiro-Wilk tests, analysis of variance (Test F), Tukey HSD and Kruskal Wallis, with a significance level of 5.0%. The results showed a difference in the renal resistivity levels between the evaluated moments, an increase in renal echogenicity with loss of the cortico-spinal relationship and the presence of discrete glomerular alterations and several tubulointerstitial alterations in the histopathological analysis. It was concluded that the catheter is a good experimental model for studies of induced ischemic nephropathies, but it is necessary to standardize its renal, serological and urinary biochemical parameters in the same nutritional regimen, given the great variability of such data within the species.

Esta dissertação apresenta a seguinte estrutura formal: Uma Introdução, revisão de literatura e um Capítulo I contendo o artigo intitulado “**Obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da síndrome de isquemia-reperfusão renal em modelo animal**”, a ser encaminhado para publicação no periódico **Revista Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**. O artigo foi estruturado de acordo com as normas técnicas da mesma.

## **1 INTRODUÇÃO**

As doenças renais isquêmicas apresentam alta mortalidade, morbidade e podem levar a perda irreversível da função renal. Sua fisiopatologia é complexa e envolve as interações do complexo imunológico-celular-hormonal, levando a danos celulares múltiplos, tornando inviável qualquer tipo de terapia convencional, sendo o transplante o método mais eficaz para o reestabelecimento do paciente renal. No entanto, o transplante renal ainda apresenta dificuldades diversas, tais como rejeições (síndrome do enxerto-hospedeiro), sobrevida diminuída do órgão transplantado e um número muito reduzido de doações (MOON *et al.*, 2016).

Segundo dados do Registro Brasileiro de Transplantes de Órgãos (RBTO, 2016), até março de 2016 haviam 19.805 pessoas na lista de espera para rins. No período de janeiro a março do mesmo ano, 1.928 pacientes ingressaram na lista de espera por um transplante renal, enquanto que apenas 1287 transplantes foram realizados. Sendo assim, o número de doações abrangeu somente 6% da lista de espera e correspondeu a apenas 66% do número de novos pacientes, o que reforça cada vez mais a necessidade de formas alternativas de tratamento para as doenças que cursam com perda irreversível da função renal.

No transplante renal, o rim doado, até sua implantação efetiva no receptor, sofre uma série de agressões denominadas de injúria-reperfusão (PERES *et al.*, 2005). A lesão de reperfusão é um termo usado para descrever alterações funcionais e estruturais que se tornam aparentes durante o reestabelecimento do fluxo sanguíneo após um período de isquemia (EVORA *et al.*, 1996). A injúria causada por isquemia-reperfusão caracteriza-se como uma importante limitação no contexto da transplantação de órgãos, sendo uma complexa síndrome que envolve vasoconstrição renal, dano tubular e glomerular, denominada Síndrome de isquemia-reperfusão (SIR) (PERES *et al.*, 2005).

A SIR é um fenômeno complexo que contribui com 60-70% da morbidade e mortalidade relacionadas à lesão renal aguda presentes em várias situações clínicas, como por exemplo, os transplantes renais (YAMAKI *et al.*, 2016). Os efeitos deletérios da SIR renal são alvos de diversos estudos sobre terapias alternativas com uso de medicamentos como a clorpromazina, verapamil, alopurinol, octreotida, óleo de copaíba, vitaminas C, D e E e ciclosporina A, porém sem resultados satisfatórios (SHIH *et al.*, 1988; 1,2 YAMAKI *et al.*, 2012).

Atualmente vários fatores estão implicados na fisiopatologia da SIR, podendo se dividir didaticamente em dois paradigmas: imunológico e hemodinâmico. O primeiro e mais recente, envolve as células do sistema imunológico, sobretudo as células T, possuindo papel fundamental na lesão. O segundo é classicamente descrito como a privação de oxigênio pela produção de radicais livres de oxigênio após a reperfusão e pela interrupção do fluxo sanguíneo, que envolve diversos sistemas hormonais (MOURA *et al.*, 2015)

Embora a introdução de melhores soluções de preservação na prática clínica venha reduzindo a severidade das lesões isquêmicas, a SIR ainda permanece como um dos maiores problemas no transplante de órgãos sólidos (PERCÁRIO *et al.*, 2010). Tal fato incita a necessidade de realização de experimentos para obtenção de modelos alternativos que possam subsidiar formas de mitigar as lesões e consequentes mortes por falência renal.

A instituição de modelos biológicos para testes recebe atenção crescente, já que se buscam modelos próximos à biologia e fisiologia humana (KONOPKA *et al.*, 2007). Alguns modelos experimentais utilizam intervenções cirúrgicas no intuito de causar Insuficiência Renal Crônica (IRC). Em ratos se encontra extensa literatura sobre o assunto, além de trabalhos com a utilização de coelhos, modelos murinos entre outros (Da COSTA *et al.*, 2009; SANTOS, 2011). Nesse contexto, o suíno é um modelo muito utilizado para estudos de doenças humanas, pois apresenta várias características biológicas, anatômicas, fisiológicas e nutricionais semelhantes ao homem. Os suínos domésticos e o *minipig* são modelos relevantes em muitos campos da pesquisa médica (LUNNEY, 2007), no entanto possuem algumas limitações, principalmente no que diz respeito ao tamanho (suínos domésticos) e custos (*minipig*).

O estudo com animais silvestres acerca da insuficiência renal induzida é de extrema relevância para obtenção de novos modelos animais experimentais que possibilitem sua utilização em pesquisas para se testar novos protocolos para a terapia das lesões renais, por motivo de serem espécies de grande resistência e adaptáveis em cativeiro.

O cateto (*Tayassu tajacu*), espécie silvestre, pertencente à família Tayassuidae, apresenta proximidade filogenética com o suíno doméstico, e, considerando a similaridade morfofisiológica deste último com os humanos, poderá representar um meio alternativo para estudos. Seu peso reduzido, com indivíduos adultos pesando aproximadamente 25 quilogramas, reflete em economia do ponto de vista da alimentação do animal, bem como de gastos com anestésicos, drogas anti-inflamatórias e antibióticas. Ressalta-se ainda, pesquisas iniciais sobre a introdução de novos modelos suídeos como o cateto (*Tayassu tajacu*), tayassuídeo que representou um bom modelo para nefropatia isquêmica induzida por clampeamento parcial da artéria renal, apresentando grande resistência, de fácil adaptação em cativeiro, com tamanho e peso corporal favoráveis à manipulação e de baixo custo de manutenção, quando comparado a outros modelos suídeos (BEZERRA *et al.*, 2014).

Desta forma, em virtude da necessidade da criação de novos modelos animais que atendam à necessidade dos pesquisadores na mimetização da doença renal, e em particular as lesões renais causadas na SIR, somado ao fato do cateto (*Tayassu tajacu*) possuir características favoráveis que norteiam sua utilização como modelo animal para estudo de nefropatias induzidas, este trabalho propõe a realização de obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da SIR renal em catetos (*Tayassu tajacu*).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Síndrome de Isquemia Reperusão (SIR)

A isquemia pode ser definida como uma situação de fluxo sanguíneo arterial insuficiente às necessidades metabólicas teciduais (CUNHA & BANDEIRA, 2007), acarretando em redução ou ausência da oferta de oxigênio e substratos ao tecido e excesso de metabólitos (FRANCISCO NETO *et al.*, 2005). Ela leva à obstrução do fluxo sanguíneo para os tecidos periféricos, o que é conhecido como fenômeno da não reperusão. O tempo de isquemia a qual um tecido é submetido é inversamente proporcional à sua sobrevivência e à probabilidade de reversão do quadro desfavorável, tornando a viabilidade dos tecidos após uma agressão cirúrgica com consequente isquemia tecidual, um grande desafio para os cirurgiões. (SILVA JR. *et al.*, 2002).

Quando o fluxo sanguíneo tecidual sofre interrupção, um série de processos enzimáticos e metabólicos são afetados. As reservas de ATP são esgotadas, ocorre acúmulo de lactato, a célula se torna acidótica e proteases intracelulares são ativadas. Além disso, a elevação da permeabilidade capilar ocasiona edema tissular (OGAWA *et al.*, 1992; EVORA *et al.*, 1996). As principais consequências da isquemia ocorrem em território arteríolo-capilar e, caso essa isquemia persista, podem surgir as primeiras áreas de necrose capilar e tecidual (MOSCARDINI *et al.*, 2010).

Reperusão é o termo utilizado para definir o reestabelecimento do fluxo sanguíneo a um tecido após um período de isquemia. A lesão por reperusão é um termo usado para descrever as alterações estruturais e funcionais que emergem durante o reestabelecimento do fluxo posterior a um período isquêmico. Essa reestabilização pode acarretar em diversos efeitos deletérios, como acentuado edema celular, conhecido como *cell swelling*, restauração desuniforme do fluxo para todas as porções do tecido e necrose celular. Essa restauração desordenada do fluxo sanguíneo tecidual é conhecida como fenômeno do não refluxo (*no reflow phenomenon*), o qual resulta de um círculo vicioso de disfunção endotelial vascular, diminuição de perfusão local, mais edema celular etc (EVORA *et al.*, 1996).

Apesar da revascularização sanguínea ser algo essencial à prevenção de uma possível irreversibilidade de lesão celular em um órgão isquêmico, a reperusão pode agravar lesões oriundas da fase isquêmica isolada. Sabe-se que as consequências da isquemia, nos mais variados tecidos, depende da sua duração e que muitas das lesões se desenvolvem durante o estágio de reoxigenação que ocorre com a reperusão sanguínea (AALTO & RAIVIO, 1993;

BEELGHITI *et al.*, 1996). Com isso, o dano celular induzido após a reperfusão de um tecido previamente isquêmico é denominado lesão de isquemia-reperfusão (MIGUEL *et al.*, 2012).

Dependendo do tempo de isquemia e conseqüente hipóxia, os danos teciduais podem ou não serem reversíveis. Assim como o tipo celular também influencia na gravidade da lesão, haja visto que, por exemplo, células musculares e de tecido nervoso periférico são menos resistentes à um mesmo período de isquemia do que células dérmicas. Pensando nisso, Kerrigan e Daniel (1982) *apud* CAMPOS & YOSHIDA (2004), definiram o chamado período crítico de isquemia, que seria o tempo máximo que um tecido pode tolerar uma isquemia e ainda permanecer viável. Com isso, o tempo de isquemia parece ser a variável de proteção mais óbvia, onde quanto menor o tempo, menor o dano (BERNARDI, 2007), ou seja, quanto maior o tempo de isquemia, pior o prognóstico (CUNHA & BANDEIRA, 2007),

A síndrome hipóxico-isquêmica é uma doença multissistêmica, cuja fisiopatologia se baseia na lesão celular ocasionada pela falta de produção de ATP decorrente de isquemia, seguida de lesão por acúmulo de substâncias oxidantes decorrentes da reperfusão (PROCIANOY & SILVEIRA, 2001).

As lesões por isquemia e reperfusão culminam em diversos efeitos deletérios para os mais variados órgãos. Para reverter o estado isquêmico, há necessidade de restauração do fluxo sanguíneo, porém de forma contraditória, a reperfusão é a principal responsável pelas principais lesões celulares em órgãos que sofreram isquemia, uma vez que o afluxo de oxigênio durante a reperfusão acarretaria uma série de alterações bioquímicas, inflamatórias e celulares mediadas, em sua grande maioria, pela formação de radicais livres de oxigênio (CAMPO & IOSHIDA, 2004; YAMAKI *et al.*, 2012).

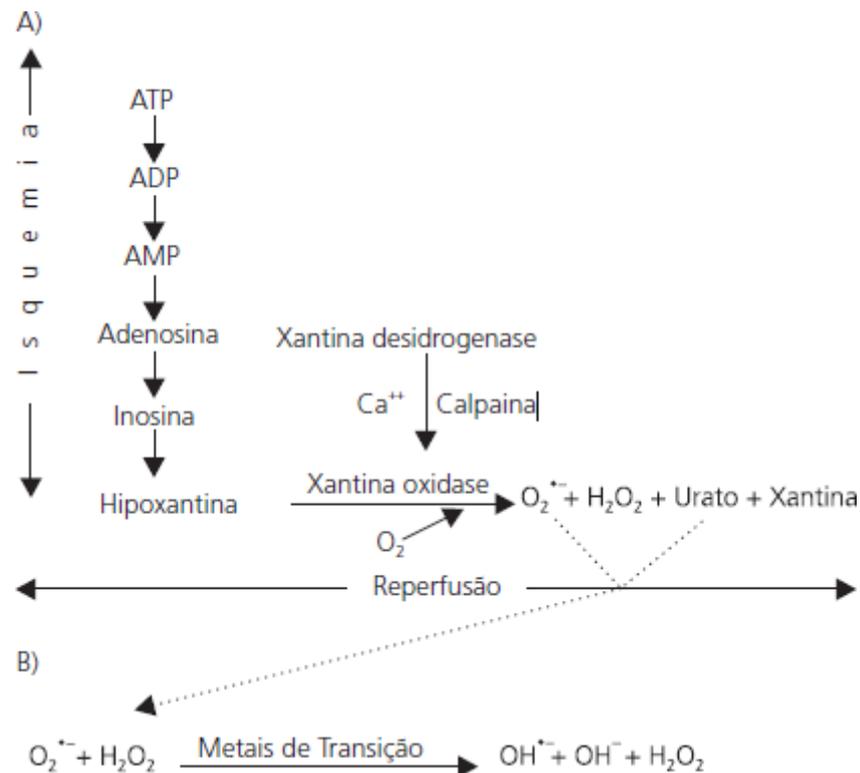
Os distúrbios metabólicos durante a isquemia ou hipóxia tissular são muito bem fundamentados, todavia as evidências clínicas e experimentais demonstram que os principais eventos que geram disfunções celulares e teciduais relacionam-se com a subsequente reperfusão (EVORA *et al.*, 1996). Silva Jr. *et al* (2002) cita que as alterações histológicas de um tecido intestinal submetido a isquemia durante três horas, seguido de um período de reperfusão de uma hora, são mais graves do que as lesões histológicas induzidas por quatro horas seguidas de isquemia.

O tempo de isquemia e a intensidade dessa reoxigenação irão determinar o grau da lesão, com comprometimento, principalmente, da membrana celular. Contudo, efeitos nocivos podem surgir ao nível dos ácidos nucléicos, bem como de proteínas e outros constituintes celulares (WALLIWELL *et al.*, 1999; PERCARIO *et al.*, 2010). Além disso, a tolerância de cada tecido a isquemia possui caráter variável e multifatorial, uma vez que depende do tempo

de isquemia, necessidades metabólicas tissulares, aporte circulatório contralateral e fatores humorais. Com isto, fica improvável a delimitação de um período exato para que cada tecido tenha sua integridade comprometida de forma irreversível diante um período isquêmico (FRANCISCO NETO *et al.*, 2005; MORCARDINI *et al.*, 2010)

A injúria por isquemia-reperfusão é uma importante limitação no contexto da transplantação de órgãos. Existem vários mecanismos propostos para explicar a lesão secundária à SIR: liberação de Espécies reativas de oxigênio (ERO) durante a reoxigenação tecidual; acumulação leucocitária; e subsequente liberação de ERO adicionais e enzimas líticas (PERES *et al.*, 2005; PERCÁRIO *et al.*, 2010). Essas ERO, como o superóxido e seus metabólitos, possuem papel importante na homeostase vascular, bem como estão envolvidos em diversos processos sinalizadores, além de acarretarem, quando da sua produção incontrolada, em comprometimento da função endotelial com conseqüente disfunção vascular (PERES *et al.*, 2005)

A SIR é um mecanismo importante de dano oxidativo, onde a hipóxia cria condições ideais à uma produção de radicais livres pós-reoxigenação. Esse mecanismo tem início com a instalação de um processo de isquemia, com suspensão da fosforilação oxidativa e uma conseqüente diminuição à níveis mínimos de Adenosina Trifosfato (ATP). Frente a esta condição, a fim de manter o metabolismo basal celular, o ATP de reserva é degradado em Adenosina Difosfato (ADP) e Adenosina Monofosfato (AMP). Este último, por sua vez, se transforma em adenosina, inosina e hipoxantina. Como os nucleotídeos (ATP, ADP e AMP) possuem a característica de serem impermeáveis as células, enquanto os nucleosídeos (adenosina e inosina) e a base hipoxantina são permeáveis, estes últimos acabam por saírem da célula e esgotarem suas reservas. Sendo assim, no período de reoxigenação durante a reperfusão, a depleção celular dessas últimas substâncias impede que ocorra o processo de ressíntese de ATP (PERCÁRIO *et al.*, 2010). Tal mecanismo está descrito na figura 1.



**Figura 1 – Mecanismo proposto para geração de radicais livres de oxigênio após períodos de isquemia e reperfusão**

**Fonte: SILVA Jr. et al. (2002)**

Paralelamente a esse mecanismo bioquímico, existe um sistema enzimático composto por xantina-desidrogenase e xantina-oxidase. Durante a isquemia ocorre uma descompartmentalização do cálcio ( $Ca^{++}$ ) intracelular que acarreta em ativação de proteases, as quais convertem a xantina-desidrogenase em xantina-oxigenase. Esta última enzima, já no processo de reperfusão, converte a hipoxantina em ácido úrico, gerando radicais ânion superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) e o superóxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) (PERCÁRIO *et al.*, 2010). Por sua vez, esses últimos se combinam na reação de Haber-Weiss para produzirem o radical livre hidroxila ( $OH^{\bullet}$ ), o que potencializa o efeito nocivo oxidativo, haja visto que esse radical é, aproximadamente, um milhão de vezes mais reativo que os seus precursores (PERCÁRIO, 2000; SILVA Jr. *et al.*, 2002;).

Após a reoxigenação, a produção de radicais livres de oxigênio acarreta o surgimento de uma cascata de respostas celulares deletérias que precedem a inflamação, morte celular e, por último, falência do órgão (FONDEVILA *et al.*, 2003). Em condições fisiológicas normais, os efeitos tóxicos das EROs podem ser acautelados por enzimas antioxidantes, como por exemplo, a glutathiona peroxidase (GPx), o superóxido dismutase (SOD), e catalases, além de

outros antioxidantes não enzimáticos. Contudo, caso haja aumento excessivo na produção de EROs, o estresse oxidativo pode culminar em efeitos deletérios para a função e integridade estrutural dos tecidos biológicos (SILVA Jr. *et al.*, 2002; MIGUEL *et al.*, 2012).

## 2.2 Síndrome de Isquemia Reperusão Renal

Isquemia seguida de reperusão, pode ser considerada como um evento comum a diversas alterações relacionadas à prática clínico-cirúrgica, sendo amplamente reconhecida como um importante fator no surgimento de danos e consequências deletérias aos órgãos e tecidos (SILVA, 2015). No contexto renal, a isquemia está presente em diferentes situações como em cirurgias renais, vasculares e, principalmente, no transplante renal (MENEZES *et al.*, 2010; ROSO, 2011). Além disso, a isquemia renal é, juntamente aos agentes nefrotóxicos, a principal causa de lesão renal aguda. Nos casos de isquemia, a bomba ATPase Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> sofre alteração em seu funcionamento em decorrência da falta de ATP, promovendo a entrada de cálcio nas células tubulares com conseqüente apoptose e necrose tubular aguda (BRAGATO *et al.*, 2015).

Na medicina, inúmeras situações da prática clínica urológica convergem para a problemática da isquemia e reperusão renal, sendo o transplante renal, notadamente, a ocorrência mais comum deste tipo de lesão no cotidiano da urologia. A insuficiência renal aguda (IRA) alberga na lesão de isquemia e reperusão o seu principal fator etiológico, sendo caracterizada por aumento abrupto dos níveis séricos dos metabólitos renais ureia e creatinina (PERCÁRIO *et al.*, 2010). Em humanos adultos, a lesão renal aguda de etiologia isquêmica é a forma mais comum de doença renal intrínseca, estando associada a alta morbidade e mortalidade (MOURA *et al.*, 2015).

De acordo com ANDRADE *et al.*, (2004), dentre as possíveis etiologias para a IRA, a necrose tubular aguda é responsável por 62% dos casos, e destes, 72% são de causas isquêmicas e 28% de causas tóxicas. O mesmo autor cita, ainda, estudos que mostram as maiores causas de IRA no Brasil (sepse, hipovolemia, insuficiência cardíaca descompensada, drogas com potencial nefrotóxico, traumatismo cirúrgico e hipotensão) e, de forma geral, existe grande ocorrência de associação de mais de um desses fatores, sendo que a maior parte incorre em hipoperfusão renal.

A isquemia causa uma diminuição na oferta de oxigênio ao órgão, levando a alterações no metabolismo dos nucleotídeos, com redução de ATP, o qual é produzido pela fosforilação oxidativa mitocondrial, via ciclo de Krebs, e por glicose, processo anaeróbico com produção

de lactato. A queda nos níveis de ATP ocorre devido um desequilíbrio entre sua contínua utilização e sua regeneração através da fosforilação oxidativa. As células tubulares proximais possuem uma reduzida capacidade glicolítica, sendo mais susceptíveis à privação de ATP, quando comparadas as células do túbulo distal e da alça ascendente de Henle. Além disso, a isquemia induz uma expressão de moléculas de adesão epitelial, produção de citocinas e fator de necrose tumoral (TNF), possibilitando a translocação do epitélio por leucócitos, com invasão do parênquima renal (PERES *et al.*, 2005)

A isquemia, por si só, é bastante lesiva, contudo a reperfusão do tecido isquêmico pode acarretar uma série de complicações, as quais podem elevar os danos teciduais e, em associação às complicações sistêmicas, colocar a vida do paciente em risco (CALVERT *et al.*, 2003). Visando a proteção desses efeitos teciduais deletérios, além de diversas terapias medicamentosas a base, por exemplo, de clopromazina, verapamil e alopurinol (SHIH *et al.*, 1988; 1,2 YAMAKI *et al.*, 2012), técnicas como o pré-condicionamento e pós-condicionamento isquêmico, que consistem em alguns ciclos de isquemia e reperfusão intercalados antes ou após o período principal da isquemia renal. Tais procedimentos já foram utilizados com sucesso em órgãos como fígado, intestino e miocárdio (YAMAKI *et al.*, 2012), além da utilização na isquemia cerebral (CAMPOS & YOSHIDA, 2004).

O exato mecanismo responsável pelos benefícios das técnicas de pré e pós-condicionamento isquêmico são ainda pouco compreendidos, porém, sabe-se que seus efeitos são mediados por meio de canais de potássio, modulado por mecanismos neuronais e humorais ligados diretamente ao momento de aplicação do condicionamento. Quando realizado imediatamente após o isquêmico, a via neuronal predomina via ação parassimpática, enquanto a via humoral predomina nos casos de condicionamentos um pouco mais tardios (YAMAKI *et al.*, 2016).

Do ponto de vista fisiopatológico, a doença isquêmica do túbulo renal era considerada como um produto da hipóxia tissular. Ao se perceber que, com a restabilização do fornecimento de oxigênio a um tecido lesado, não acontecia o restabelecimento imediato da filtração glomerular, pesquisas passaram a demonstrar dois importantes conceitos: em primeiro lugar, a reperfusão após um período de isquemia é parte da fisiopatogenia da lesão, mediante a geração de EROs, com modificações no ambiente celular dos túbulos renais; e, em segundo lugar, se faz necessário um determinado tempo para que haja a recuperação da estrutura tubular. Sendo assim, a Lesão de Isquemia e Reperfusão (LIR) tornou-se o principal mecanismo fisiopatogênico da Lesão Renal Aguda (LRA), com a participação de diversos sistemas hormonais (MOURA *et al.*, 2015).

### 2.3. Modelos animais

Nas últimas décadas, a procura do entendimento de fatores etiológicos, mecanismos fisiológicos e tratamentos das mais diversas doenças têm levado ao desenvolvimento e busca por inúmeros modelos animais (MONTEIRO *et al.*, 2009). A escolha de um modelo animal é imprescindível para uma obtenção de dados experimentais confiáveis, devendo obedecer o protocolo experimental, com espécies disponibilizadas com qualidade adequada e no menor número possível (FERREIRA *et al.*, 2005).

Para ser considerado um modelo animal eficaz, é necessário que o mesmo permita a investigação de um processo patológico espontâneo ou induzido e se assemelhar em um ou mais aspectos ao fenômeno/doença em seres humanos (FAGUNDES & TAHA, 2004). Levando em consideração que essa instituição de modelos biológicos busca alcançar modelos cada vez mais próximos à biologia e fisiologia humanas (KONOPKA *et al.*, 2007), O suíno, por apresentar várias características biológicas, anatômo-fisiológicas e nutricionais semelhantes ao homem, é um dos modelos mais utilizados para estudos de doenças humanas, ficando atrás apenas dos ratos e ovelhas. (MONTEIRO *et al.*, 2009). No entanto suídeos comuns acabam acarretando valores altos para experimentação científica, tendo em vista sua manutenção, custo de medicamentos utilizados por uso de doses elevadas (LUNNEY, 2007). Outro modelo suídeo com grande utilização em vários campos de pesquisas biomédicas consiste no mini pig, mais fácil de manter em condições controladas que o suíno doméstico, contudo, de maior valor para sua aquisição (VODIČKA *et al.*, 2005).

Do ponto de vista renal, a indução de nefropatia em modelos experimentais é de suma importância e de grande evidencia, principalmente após os avanços científicos relacionados a novos tratamentos para reparação tecidual (ABTO, 2013). Para a indução da lesão renal em animais utilizam-se diversos modelos, dentre eles estão: a administração de drogas nefrotóxicas, como aminoglicosídeos, tetraciclinas, anfotericina B; a utilização de substâncias endógenas e exógenas, como nitrato de urânio e etilenoglicol. Pode-se provocar sepse no animal; induzir uma hipoperfusão pelo sistema de isquemia-reperfusão, por clampeamento da artéria renal e após um período de tempo libera-se o fluxo para a perfusão tecidual; e ainda o sistema de isquemia sem perfusão, consistindo na obliteração parcial ou total da artéria renal, com conseqüente necrose tubular aguda seguida de insuficiência renal (BELLOMO *et al.*, 2004; KONOPKA *et al.*, 2007; FORRESTER, 2008; SINGH, 2012).

Diversos modelos animais vêm sendo propostos para o estudo das lesões renais, contudo, o rato é o modelo mais estudado, encontrando-se, com frequência, vasta literatura sobre o tema, principalmente os estudos com utilização de nefrectomias parciais, com predominância das exéreses de 4/5 ou 5/6 e da obstrução uretral. Entretanto, tanto o rato como o camundongo são modelos animais que trazem importantes limitações no contexto das avaliações renais, uma vez que, devido seu diminuto tamanho, existem limitações quanto aos exames laboratoriais, decorrente do limitado volume sanguíneo possível de ser coletado dos animais, assim como dificuldades em padronizar e fazer avaliações de imagem. Outro modelo animal bastante utilizado é o coelho, que por sua vez, possui melhor perspectiva para elaboração de modelos experimentais que visam a injúria renal, uma vez possuem, em comparação com ratos e camundongos, tamanho, volemia e características morfofuncionais maiores e mais acessíveis (Da COSTA *et al.*, 2009).

Visando a minimização dos problemas advindos da utilização dos mais variados modelos animais, o cateto (*Tayassu tajacu*), conhecido como caititu, porco do mato ou pecaris espécie silvestre, pertencente à família Tayassuidae, possui similaridade filogenética com o suíno doméstico e, levando em consideração a similaridade morfofisiológica deste último com os seres humanos, sua rústicidade, resistencia e adaptação em cativeiro, o cateto se mostra como um potencial modelo alternativo para estudos de reparação tecidual renal. (BEZERRA *et al.*, 2014). Seu comprimento corporal varia de 75 a 100 cm e o peso corporal de 14 a 30 kg. São animais onívoros, adaptáveis a diversos tipos de alimentos em cativeiro, os itens alimentares mais utilizados são milho, mandioca, abóbora, cana de açúcar, ração balanceada para suíno ou equino (14% de proteína bruta) banana e pasto (cana, capim elefante, braquiária e pé de milho) em quantidades específicas para cada espécie (BARRETO & HERNADEZ, 1997; COSTA & PAULA, 2005; DORANDEU *et al.*, 2007).

Ademais, os catetos apresentam valores de referência para hemograma, urinálise (LOCHMILLER & GRANT, 1984), bioquímica sérica (LOCHMILLER & GRANT, 1984; SCHETTINI *et al.*, 2005; SEIXAS *et al.*, 2009), e padrão ultrassonográfico renal (PEIXOTO *et al.*, 2012). Além disso, o conhecimento sobre o padrão anatômico vascular renal da espécie fornece subsídios à técnica cirúrgica, possibilitando a correta identificação e dissecação dos vasos do pedículo renal para uma subsequente oclusão parcial da artéria renal. Segundo MACHADO *et al.* (2000), os rins do cateto (*Tayassu tajacu*) possuem vascularização renal definida em artérias renais principais, as quais se ramificam em artérias setoriais, e o rim esquerdo possui artérias setoriais triplas, com predominância da artéria ventrocaudal. Com relação a artéria renal, esta se apresenta sempre de forma única, assim como na Queixada

(*Tayassu pecari*) (Romagnolli *et al.*, 2003), javali (*Sus scrofa*) (CARVALHO *et al.*, 2006), mamíferos pertencentes à superfamília *Suidoidae* e suíno doméstico (ROMAGNOLLI *et al.*, 2010).

## 1 CAPÍTULO I –

Obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da síndrome de isquemia-reperusão renal em modelo animal

[Transient renal blood obliteration as an alternative to the study of renal ischemia-reperfusion syndrome in an animal model]

R.A. Honorato<sup>1\*</sup>, M.L.T. Feitosa<sup>1</sup>, L.S. Silva<sup>1</sup>, N.M.Argôlo Neto<sup>1</sup>, F.R.J. Alves<sup>1</sup>, D.O. Bezerra<sup>1</sup>, M.A.M. Carvalho<sup>1</sup>, C.B. Brasileiro<sup>1</sup> <sup>1</sup>Universidade Federal do Piauí – Teresina, PI  
\*Autor para correspondência: honorato.ra@gmail.com

### RESUMO

Este trabalho visa avaliar a viabilidade do método de obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da SIR renal em catetos (*Tayassu tajacu*), tendo em vista a provável similaridade morfofisiológica desta espécie com os humanos, uma vez que a mesma apresenta proximidade filogenética com o suíno doméstico. Foram utilizados oito animais, os quais foram submetidos a procedimento cirúrgico para indução de nefropatia isquêmica mediante clampeamento dos vasos renais com pinça vascular por 60 minutos. Foram colhidas amostras para mensuração sérica de ureia, creatinina e relação proteína / creatinina urinária – UPC, além de avaliação ultrassonográfica renal, ambos antes da indução e no 10<sup>o</sup> e 20<sup>o</sup> dias pós-indução, e coleta de material para exames histopatológicos. Os resultados demonstraram diferença nos níveis de resistividade renal entre os momentos avaliados, aumento de ecogenicidade renal com perda da relação córtico-medular e presença de discretas alterações glomerulares e várias alterações túbulointersticiais na análise histopatológica. Concluiu-se que o cateto caracteriza-se como um bom modelo experimental para estudos de nefropatias isquêmicas induzidas, contudo faz-se necessário a padronização de seus parâmetros bioquímicos renais, sorológicos e urinários em regime nutricional idêntico, haja visto a grande variabilidade de tais dados dentro da espécie. Palavras-chave: catetos; nefropatias; isquemia-reperusão; modelo animal.

### ABSTRACT

The work aims at evaluating the viability of the transient renal blood obliteration method as an alternative to the study of renal CRS in *Tayassu tajacu*, considering the probable morphological and physiological similarity of this species to humans, since it presents phylogenetic proximity with domestic swine. Eight animals were used, which were submitted to a surgical procedure to induce ischemic nephropathy by clamping the renal vessels with

vascular clamp for 60 minutes. Samples were collected for serum urea, creatinine and urinary protein / creatinine ratio (UPC), in addition to renal ultrasonographic evaluation, both before induction and on the 10th and 20th postoperative days, and collection of material for histopathological examination. The results showed a difference in the renal resistivity levels between the evaluated moments, an increase of renal echogenicity with loss of the cortico- spinal relation and presence of discrete glomerular alterations and several tubulointerstitial alterations in the histopathological analysis. It was concluded that the catheter is a good experimental model for studies of induced ischemic nephropathies, but it is necessary to standardize its renal, serological and urinary biochemical parameters in the same nutritional regimen, given the great variability of such data within the species.

Keywords: cathets; nephropathy; ischemia-reperfusion; animal model

## INTRODUÇÃO

As doenças renais isquêmicas apresentam alta mortalidade, morbidade e podem levar a perda irreversível da função renal. Sua fisiopatologia é complexa e envolve as interações do complexo imunológico-celular-hormonal, levando a danos celulares múltiplos, tornando inviável qualquer tipo de terapia convencional, sendo o transplante o método mais eficaz para o reestabelecimento do paciente renal. No entanto, o transplante renal ainda apresenta dificuldades diversas, tais como rejeições (síndrome do enxerto-hospedeiro), sobrevida diminuída do órgão transplantado e um número muito reduzido de doações (MOON et al., 2016).

A SIR é um fenômeno complexo que contribui com 60-70% da morbidade e mortalidade relacionadas à lesão renal aguda presentes em várias situações clínicas, como por exemplo, os transplantes renais (YAMAKI et al., 2016). Os efeitos deletérios da SIR renal são alvos de diversos estudos sobre terapias alternativas com uso de medicamentos como a clorpromazina, verapamil, alopurinol, octreotida, óleo de copaíba, vitaminas C, D e E e ciclosporina A, porém sem resultados satisfatórios (SHIH et al., 1988; 1,2 YAMAKI et al., 2012).

A indução de nefropatia em modelos experimentais é de suma importância e de grande evidência, principalmente após os avanços científicos relacionados a novos tratamentos para reparação tecidual (ABTO, 2013). Para a indução da lesão renal em animais utilizam-se diversos modelos, dentre eles estão: a administração de drogas nefrotóxicas, como

aminoglicosídeos, tetraciclina, anfotericina B; a utilização de substâncias endógenas e exógenas, como nitrato de urânio e etilenoglicol. Pode-se provocar sepse no animal; induzir uma hipoperfusão pelo sistema de isquemia-reperfusão, por clampeamento da artéria renal e após um período de tempo libera-se o fluxo para a perfusão tecidual; e ainda o sistema de isquemia sem perfusão, consistindo na obliteração parcial ou total da artéria renal, com consequente necrose tubular aguda seguida de insuficiência renal (BELLOMO et al., 2004; KONOPKA et al., 2007; FORRESTER, 2008; SINGH, 2012).

O cateto (*Tayassu tajacu*), espécie silvestre, pertencente à família *Tayassuidae*, apresenta proximidade filogenética com o suíno doméstico, e, considerando a similaridade morfofisiológica deste último com os humanos, poderá representar um meio alternativo para estudos. Seu peso reduzido, com indivíduos adultos pesando aproximadamente 25 quilogramas, reflete em economia do ponto de vista da alimentação do animal, bem como de gastos com anestésicos, drogas anti-inflamatórias e antibióticas. Ressalta-se ainda, pesquisas iniciais sobre a introdução de novos modelos suídeos como o cateto (*Tayassu tajacu*), tayassuídeo que representou um bom modelo para nefropatia isquêmica induzida por clampeamento parcial da artéria renal, apresentando grande resistência, de fácil adaptação em cativeiro, com tamanho e peso corporal favoráveis à manipulação e de baixo custo de manutenção, quando comparado a outros modelos suídeos (BEZERRA et al., 2014).

Desta forma, em virtude da necessidade da criação de novos modelos animais que atendam à necessidade dos pesquisadores na mimetização da doença renal, e em particular as lesões renais causadas na SIR, somado ao fato do cateto (*Tayassu tajacu*) possuir características favoráveis que norteiam sua utilização como modelo animal para estudo de nefropatias induzidas, este trabalho propõe a realização de obliteração sanguínea renal transitória como alternativa ao estudo da SIR renal em catetos (*Tayassu tajacu*).

## MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi realizado utilizando-se catetos (*Tayassu tajacu*), machos, criados no Núcleo de Estudos e Preservação de Animais Silvestres – NEPPAS (Registro no Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, IBAMA, nº 02/08-618) da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

Os protocolos utilizados neste experimento foram autorizados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal do Piauí – CEEA da UFPI – (CEEA

processo nº 041/11) e pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO (processo nº 33058).

Após avaliação física, os animais considerados clinicamente saudáveis, que apresentaram normorexia, normodipsia, normoúria, normoquezia e ausência de lesões cutâneas, foram identificados, pesados, mantidos no NEPPAS, em baias individuais, higienizadas diariamente, alimentados com ração comercial (proteína bruta mínima- 16%, extrato etéreo-3,03%, matéria fibrosa-5,5%, matéria mineral 7,5%, cálcio – 1,3% e fósforo – 0,7%), além de milho, frutas, tubérculos e água ad libitum. O peso dos catetos variou entre 12 e 15 kg.

Foram utilizados oito catetos (*Tayassu tajacu*), sendo induzida a nefropatia isquêmica em todos. A avaliação dos parâmetros renais foi realizada mediante exames hematológicos, urinálise, ultrassonografia e Doppler vascular antes da indução (M1 – Momento 1), e repetida com 10 dias (M2 – Momento 2) e 20 dias (M3 – Momento 3) após a indução. Os catetos foram submetidos à isquemia renal por obliteração total transitória da artéria renal mediante clampamento, que durou 60 minutos e, após 21 dias, foi realizada a nefrectomia total unilateral esquerda de todos os animais para avaliação histopatológica.

Em todos os procedimentos os animais foram contidos quimicamente com dosagens referentes ao suíno doméstico. Após jejum de sólidos de 24 horas e líquido de 12 horas, sempre pela manhã, com uma associação de 15 mg/Kg de cloridrato de quetamina (Dopalen®) associado a 1 mg/Kg de maleato de midazolam (Dormire®) utilizando-se dardo projetado por zarabatana pneumática (DistInject®).

Para realização dos procedimentos cirúrgicos, após a contenção química, os animais foram transportados para o centro cirúrgico do Hospital Veterinário Universitário (HVU) do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, onde tiveram a veia cefálica canulada com cateter 20G e foram mantidos com infusão de solução de Ringer com lactato. Foram induzidos à anestesia geral inalatória com 5 mg/kg de propofol (Propovan®), intubados com sonda endotraqueal 7.5 e mantidos sob anestesia inalatória com isoflurano (Isoflurane®) diluído em O<sub>2</sub> a 100%. Durante todo o trans-operatório os animais foram monitorados mediante monitor cardíaco e oximetria de pulso.

A avaliação morfológica renal bilateral foi feita por equipamento de ultrassonografia Chison Q6, sonda microconvexa 6-8 MHz e sonda 10-12 MHz. Foram mensurados os valores do tamanho renal, comprimento e diâmetro, descrição morfológica e padrões de ecogenicidade. Na avaliação de Doppler vascular foram observados valores de velocidade de

fluxo e índice de resistividade. O exame foi realizado novamente no décimo e vigésimo dias após a indução da lesão renal.

Procedeu-se, também, a coleta de urina por cistocentese guiada por ultrassonografia, para realização da urinálise em Refratômetro Quimis, fita de urinálise Uriquest Plus Vet da Labtest e refratômetro de mão Q667-5, além da relação proteína/creatinina urinária (UPC). Foram avaliados os aspectos físicos, químicos e de sedimento da urina, além de outros achados de urinálise.

Para verificação da função renal dos animais foram coletados 5ml de sangue periférico por punção da veia cefálica com seringa estéril de 10 mL acoplada a agulha 23G. O sangue foi centrifugado a 3000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos para retirada do soro e assim proceder a dosagem bioquímica sérica (Doles modelo D-250) de ureia e creatinina.

O modelo de isquemia utilizado para induzir lesão renal se deu pelo clampamento da artéria renal. Após tricotomia da região abdominal e antisepsia da pele, com Clorexidine 2% e Álcool,

os catetos foram submetidos à laparotomia pelo flanco esquerdo. A pele foi incisada no sentido dorsoventral e os músculos oblíquo externo, oblíquo interno e transversos foram separados. A fáscia transversa e o peritônio também foram incisados, e, com auxílio de afastadores de Farebeuf, o rim esquerdo foi visualizado, identificando-se o pedículo renal. A artéria renal esquerda foi dissecada e isolada com o auxílio de fio mononylon 0, para posterior obliteração total mediante clampeamento com pinça vascular por 60 minutos. Seguiu-se então a laparorráfia, com a musculatura aproximada por pontos Sultan separados, com fio de Nylon 3-0 e a dermorrafia por pontos simples separados com fio de Nylon 3-0 (Figura 1)

Os animais foram submetidos à terapia pós-operatória com benzilpenicilina benzantina (Bepeben®) 40.000 UI, flunixin meglumine (Banamine®), dipirona sódica (Algivet®) 2mg/kg, cloridrato de tramadol (Tramadon®) 25mg/kg, doses utilizadas em suínos domésticos. Para o tratamento tópico da ferida cirúrgica foi utilizada pomada cicatrizante a base de alantoína (Alantol®).

Para realização da nefrectomia total, o protocolo anestésico e o acesso cirúrgico ao rim esquerdo mediante laparotomia transcorreram conforme descrito nesta metodologia para a técnica de obliteração sanguínea transitória da artéria renal. O pedículo renal foi identificado e dissecado para a separação da artéria, veia renal e ureter, uma dupla ligadura destes elementos foi então realizada, seccionando-os entre as duas ligaduras e posteriormente retirando o rim. A laparorráfia, curativo e terapia pós-operatória foram realizadas conforme a metodologia descrita.

Para avaliação histopatológica, coletou-se fragmentos do córtex e medula renal com 5 mm de espessura dos rins lesionados, fixados em Bouin por 24h, seguindo com o seu processamento e inclusão em parafina, segundo técnica e rotina do Laboratório de Patologia Animal da UFPI. Foram preparados cortes de 5µm de espessura, corados com Hematoxilina-eosina, Tricrômio de Masson para coloração de tecido conjuntivo fibroso, PAS (Ácido Periódico de Schiff) e PAMS (Ácido Periódico Prata-Metamina) para avaliação de membranas basais celulares.

Para avaliação estatística os dados foram expressos através da média, desvio padrão, mediana e limite inferior e superior. Em seguida, realizou-se uma análise de distribuição dos valores (normalidade) pelo teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, as variáveis que apresentaram distribuição normal foram submetidas à análise de variância (Teste F) e, para a comparação entre os momentos, empregou-se o teste de Tukey HSD. A variável que não apresentou distribuição normal foi submetida ao teste de Kruskal Wallis para comparação dos valores medianos (SAMPALHO, 1998). O programa IBM SPSS Statistics 23.0 foi utilizado para a execução dos cálculos estatísticos e o nível de significância adotado foi de 5,0%.

Figura 2. A – Cateto (*Tayassu tajacu*) mantido em anestesia inalatória no Centro Cirúrgico do HVU, UFPI. B- Exposição do rim esquerdo por laparotomia no flanco esquerdo com afastamento dos músculos oblíquo externo, oblíquo interno, transversos e peritônio. C- Oclusão da artéria renal. D – Cateto (*Tayassu tajacu*) mantido sob obliteração transitória (60min) da artéria renal. E- Realização de curativo pós-cirúrgico. F – Cateto (*Tayassu tajacu*) retornando da anestesia em piquete isolado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A indução do modelo animal de isquemia-reperfusão transcorreu sem maiores percalços. A cicatrização total da ferida cirúrgica se deu aos 10 dias de pós-operatório. Os catetos demonstraram ótima resistência após os procedimentos cirúrgicos, não apresentando alterações nos parâmetros fisiológicos e/ou sem sinais clínicos de insuficiência renal, tais como poliúria, polidipsia ou mesmo emagrecimento, corroborando com Bezerra et al. (2014), que demonstrou a viabilidade dessa espécie como modelo experimental para indução de isquemia-reperfusão. O local escolhido para punção venosa e coleta de amostras sanguíneas em catetos é a veia cava anterior LOCHMILLER et al. (1984). Já GALVEZ et al. (2004) utilizou a veia safena. Ambos diferenciam-se do que foi realizado neste trabalho, onde se coletou material

sanguíneo da veia cefálica. Contudo, APARÍCIO (2004) elegeu as veias cefálica e safena para tal procedimento e ALMEIDA et al. (2011) apenas a veia cefálica.

As dosagens séricas de ureia e creatinina não apresentaram alterações significativas entre os diferentes momentos avaliados. No entanto, esse fato não exclui a presença de lesão renal, já que a azotemia renal é detectada quando mais de 75% dos glomérulos estão afetados (WAKI et al., 2010). O sumário de urina também não apresentou alterações significativas, entretanto, é importante ressaltar que a indução da lesão foi unilateral, de modo que a integridade da função renal pode ser mantida pelo rim contralateral.

Estudos demonstram que a razão proteinúria/creatininúria (relação proteína / creatinina urinária – UPC), em amostra isolada tem sido considerado o método recomendado para a investigação diagnóstica e para o acompanhamento dos pacientes com doença renal, por ser menos sujeito a erros de coleta e correlacionar-se de forma importante com a medida em 24 horas, principalmente quando é utilizada a primeira amostra da manhã. (ALVES, 2004). Essa UPC é particularmente útil em medicina veterinária, tendo em vista a dificuldade em se conseguir uma urina de 24 horas em animais. Em nosso estudo observamos grandes oscilações nas análises de UPC nos tempos estudados e não foram observadas diferenças estatísticas, provavelmente, também, pela indução da lesão ter sido unilateral, onde o rim contralateral íntegro manteve a função renal normal. Outra possibilidade é a interferência do sedimento urinário nessa análise, uma vez que nos catetos sempre foi visto uma quantidade expressiva de sedimento na urina.

A avaliação ultrassonográfica nos períodos analisados evidenciou uma maior presença de áreas hiperecogênicas quando comparadas as imagens obtidas no dia zero (Figura 2).

Figura 3. Avaliação ultrassonográfica do rim de cateto (*Tayassu tajacu*) antes e após indução da síndrome isquemia-reperfusão renal. A – Rim de aspectos ultrassonográficos normais. B – Áreas de ecogenicidade alteradas e perda da relação córtico-medular.

De acordo com SANTOS et al (2013), alterações de ecogenicidade são frequentes nas lesões tubulares agudas, podendo ocorrer tanto um aumento, como uma diminuição da ecogenicidade. Para BRAGATO et al (2015), o aumento da ecogenicidade pode ocorrer em decorrência à esclerose ou fibrose desenvolvidas nas doenças renais crônicas, ou por infiltrado celular e presença de cilindros proteináceos ou celulares e debris celulares nos túbulos renais nos casos de nefrite glomerular e intersticial aguda, necrose ou nefrose tubular aguda.

A análise histopatológica evidenciou discretas alterações glomerulares e várias alterações

túbulointersticiais (Quadro 01). As alterações glomerulares foram caracterizadas apenas por espessamento da cápsula urinária em intensidade mínima em em 50% dos animais (02/04) e evidência de material proteináceo moderado no espaço urinário em 25% (Figura 2).

Quanto às alterações tubulointersticiais, estavam presentes em 100% dos casos nas regiões cortical e medular, porém predominando na região cortical, variando sua intensidade de mínima à severa: Todas as lesões estão descritas no quadro 1. com predominância de degeneração e necrose tubular (Figura 3), ectasia tubular e presença de cilindros nos túbulos renais. No entanto apenas necrose tubular foi estatisticamente significativa. Nefrite intersticial também foi evidenciada, enquanto fibrose intersticial não foi observada.

Quadro 01. Alterações histopatológicas renais em catetos (*Tayassu tajacu*) submetidos a indução da síndrome isquemia-reperfusão renal

Alterações histopatológicas    Intensidade e distribuição

Animais controles

1.0. Glomerulares

Espessamento de cápsula urinária

Material proteináceo no espaço urinário    Focal mínimo (1) e multifocal mínimo (1)

Multifocal moderado (1)

2.0. Tubulares

Degeneração vacuolar Multifocal moderada (2)    mínima    (2);    multifocal

Degeneração pigmentar    Focal mínima (1); focal leve (2)

Degeneração hialina    Multifocal leve (2)

Necrose tubular    Multifocal    moderada    (1);    multifocal severa (3)

Ectasia tubular Multifocal leve (4)

Cilindros hialinos    Multifocais    mínimos    (2);    multifocais leves (2)

Cilindros hemáticos    Focal mínimo (1)

Cilindros granulares    Multifocais leves (1); moderados (3)

Tubulorrexia Focal mínima (1); multifocal leve (1)

### 3.0. Intersticiais

Hiperemia Focal mínima (1); multifocal mínima (1)

Hemorragia Focalmente extensa intensa (1)

Edema Ausente

Infiltrado inflamatório histiolinfocitário Infiltrado inflamatório histiolinfocitário moderado (2)

Fibrose intersticial Ausente

O tipo de degeneração predominante nesse estudo foi degeneração vacuolar (hidrópica), observada nas células epiteliais tubulares (moderada em 50%). Essa lesão é caracterizada por acúmulo de água no citoplasma e, com isso, presença de vacúolos intracitoplasmáticos nas células que ficam com aspecto volumoso e pálidas e núcleo deslocado para periferia. É uma lesão imediata após agressão e é reversível, portanto, não produz transtornos funcionais graves se retirada a causa inicial (MONTENEGRO & FRANCO, 2008). No entanto, em lesões mais graves geralmente progride para morte celular (PIRES et al., 2004).

Autores afirmam que o mecanismo de lesão de isquemia-reperfusão é bastante complexo e envolve a produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), inflamação, apoptose e necrose, tendo como consequência principal a necrose tubular aguda pós- isquêmica (SCHROPPEL & LEGENDRE, 2014; KEZIC et al., 2016). Nossos resultados demonstraram que, após 21 dias de indução da lesão, a necrose tubular foi significativa, com

evidente acidofilia citoplasmática, picnose, cariólise e células se desprendendo, formando restos celulares intraluminais.

Ectasia tubular ocorreu em intensidade mínima a leve em ambos os grupos, esta alteração comumente está associada à fibrose intersticial. Curiosamente nesse estudo, fibrose intersticial não foi evidente. Essa alteração resulta do acúmulo de colágeno e moléculas relacionadas no interstício renal (FARRIS & COLVIN, 2012), sendo que a fibrogênese renal se desenvolve num mecanismo complexo que envolve, entre outros fatores: a secreção de quimiocinas; infiltração de células mononucleares; ativação e proliferação de fibroblastos com liberação de citocinas profibrogênicas; e por fim, cessação do estímulo inflamatório primário (STRUZ & NEILSON, 2003). Além disso, segundo FARRIS & ALPERS (2014) é importante avaliar a composição de uma matriz fibrótica, pois seus componentes podem determinar a susceptibilidade de uma matriz sofrer degradação por proteases e, possivelmente, sofrer regressão, e pode levar ao acúmulo ou ativação de citocinas e de fatores de crescimento que medeiam a fibrose intersticial. Um outro fator importante no que se refere a fibrose, é que células residentes ou infiltrativas podem ser determinantes no curso da mesma. Por exemplo, alguns monócitos / macrófagos são heterogêneos, apresentando uma variedade de fenótipos, podendo desenvolver um papel preferencialmente pró-fibrótico (ANDERS & RYU, 2011), enquanto outras classes podem realmente atenuar a fibrose (SEMEDO et al., 2010).

Uma outra alteração evidenciada em nossos resultados, foi a presença de cilindros em túbulos renais, cilindros hialinos, hemáticos e granulares, sendo que os cilindros hialinos e granulares, embora sem diferença estatística estavam mais intensos (Figura 3). Esse achado confirma proteinúria nesses animais, mesmo que esta não tenha sido evidenciada pelo resultados de UPC. Pois de acordo com GRAUER (2011) a presença de cilindros hialinos também é indicativa de proteinúria, que em condições patológicas, pode ser devido a danos nos glomérulos e nas células epiteliais tubulares, onde normalmente ocorreria reabsorção. Além de cilindros, a evidência de material proteináceo no espaço urinário, de degeneração e necrose tubular e de outras alterações tubulointersticiais mínimas como tubulorrexia; hemorragia, hiperemia e edema intersticial, confirmam os danos ao tecido renal em nossos catetos. Segundo YAMAKI et al. (2012) o grande

responsável pelas principais lesões nas células do órgão isquemiado e a reperfusão. Seguindo esse raciocínio, KEZIC et al. (2016) afirmam que os fenômenos da reperfusão consistem em eventos que "paradoxalmente" continuam a danificar o tecido, apesar da circulação estabelecida e do suprimento de oxigênio para o tecido que anteriormente estava sob isquemia. Assim, após a lesão, um processo de

reparação envolvendo proliferação celular deve ocorrer para recuperar a função renal (BANAEI, 2015).

## CONCLUSÃO

Conclui-se que o cateto é um modelo animal valioso para a pesquisa científica à nível de nefropatias isquêmicas, em virtude de suas características próximas as do suíno doméstico e a espécie demonstrar ótima resistência após os procedimentos cirúrgicos e fácil manejo.

## AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Piauí pela possibilidade de realização da pesquisa, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro para realização do projeto, ao Núcleo Integrado de Morfologia e Pesquisa com Células-tronco (NUPCelt – UFPI) pelo suporte físico e tecnológico e ao Hospital Veterinário Universitário Médico Veterinário Jeremias Pereira da Silva – UVU/UFPI pela disponibilização do centro cirúrgico para realização dos procedimentos cirúrgicos durante a pesquisa.

## REFERÊNCIA

AALTO, T. K.; RAIVIO, K. Nucleotide Depletion Due to Reactive Oxygen Metabolites in Endothelial Cells: Effects of Antioxidants and 3-Aminobenzamide. *PEDIATRIC RESEARCH*, Vol. 34. No. 5. 1993

ALMEIDA, A. M. B.; NOGUEIRA FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C.; MUNHOZ, A. D. Aspectos hematológicos de catetos (Tayassu tajacu) mantidos em cativeiro. *Pesq. Vet. Bras.* 31(2):173-177, fevereiro 2011

ALVES, M. A. R. Diagnóstico de Doença Renal Crônica: Avaliação de Proteinúria e Sedimento Urinário *J Bras Nefrol* v. 26 – n, n.3 - Supl. 1, 2004.

ANDERS H.J, RYU M. Renal microenvironments and macrophage phenotypes determine progression or resolution of renal inflammation and fibrosis. *Kidney Int* 2011; 80: 915–925.

Andrade, S. C.; Dezoti, C.; Shibuya, C. A.; Watanabe, M.; Vattimo, M. F. F; Insuficiência Renal Aguda Isquêmica: Efeitos Comparativos do Alopurinol e N-Acetilcisteína como antioxidantes; *J Bras Nefrol*- Volume XXVI, 70-75 – 2004.

Aparício P.M.G. 2004. Fisiología reproductiva y desarrollo de métodos diagnósticos del estado reproductivo de La hembra de pecari de collar (Tayassu tajacu Linnaeus, 1758) de la Amazônia.

Tese de Doutorado em Sanidade Animal, Facultat de Veterinària, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona. 146p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE TRANSPLANTE DE ÓRGÃOS (ABTO). Dados numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: janeiro / setembro – 2013. Registro Brasileiro de Transplantes. Ano XIX. 2013

BANAEI, S. Novel role of microRNAs in renal ischemia reperfusion injury. *Renal failure*, v. 37, n. 7, p. 1073-1079, 2015.

Barreto GR, Hernandez OE, Ojasti J. Diet of peccaries (*Tayassu tajacu* and *Tayassu pecari*) in dry forest of Venezuela. *J. Zool.*, v. 241, p.279-284, 1997.

Belghiti, J.; Noun,R.; Zante, E.; Ballet, T.; Sauvanet, A.; Portal Triad Clamping or Hepatic Vascular Exclusion for Major Liver Resection A Controlled Study; *Annals Of Surgery*. Vol. 224,155-161, 1996.

Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute renal failure – definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical Care*, 2004, 8(4).

BERNARDI, R. M. Papel do estresse oxidativo no desenvolvimento da insuficiência renal isquêmica: possibilidade terapêutica do uso de antioxidantes. (DISSERTAÇÃO) – mestrado em Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense, Criciúma, SC, 2007.

Bezerra, D. O.;Feitosa, M. L. T.; Almeida, H. M.; Costa, F. A. L.; Braga, J. F. V.; Souza, F.A. L.; Alves, F.R.; Pessoa, G.T.; Carvalho, M. A. M.; Collared Pecary (*tayassu tajacu*) as a new model of renal ischemic injury inducedby clamping the renal artery. *Acta Cirúrgica Brasileira* - Vol. 29 (9) - 560-572, 2014.

Bragato, N.; Fioravanti, M. C. S.; Braga. L. G.; ,REIS, D. C.; Borges, N. C. LESÃO RENAL TUBULAR AGUDA EM CÃES E GATOS: FISIOPATOGENIA E DIAGNÓSTICO ULTRASSONOGRÁFICO. *ENCICLOPÉDIA BIOSFERA*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p. 2015.

Calvert J.W., Zhou C., Nanda A. & Zhang J.H. 2003. Effect of hyperbaric oxygen on apoptosis in neonatal hypoxia-ischemia rat model. *J. Appl. Physiol.* 95(5):2072-80.

Campos, E. B. P.; Yoshida, W. B.; O Papel Dos Radicais Livres Na Fisiopatologia Da Isquemia E Reperusão Em Retalhos Cutâneos: Modelos Experimentais E Estratégias De Tratamento; *J Vasc Br* ;357-366, 2004.

Carvalho MAM, Miglino MA, Machado GV, Júnior AANM, Vale EF, Azevedo LM. Segmentação anatomo-cirúrgica arterial do rim de javali (*Sus scrofa*) adulto. *Revista Biotemas*, 2006, 19 (4).

Cunha, M. S.; Bandeira, N. G.; Isquemia E Reperusão De Tecidos. *Rev. Soc. Bras. Cir. Plást.* 170-175, 2007.

Da Costa, A. F. N.; Pereira, L. P. M.; Ferreira, M. L.; Silva, P. C.; Chagar, V. L. A.; Schanaider, A.; Modelo cirúrgico de insuficiência renal crônica. Estudo em coelhos. Rev. Col. Bras. Cir.; 36(1): 078-084, 2009.

diagnosticadas com piometra antes e após tratamento com ovariosalpingohisterectomia. Pesquisa Veterinária Brasileira, Rio de Janeiro; v. 33, n. 5, p. 635-642, 2013.

Dorandeu F, Baille V, Mikler J, Testylier G, Lallement G, Sawyer T, Carpentier P. Protective effects of S (+) ketamine and atropine against lethality and brain damage during soman- induced status epilepticus in guinea-pigs. Toxicology 2007, 234, 185-193.

Evora, P. R. B.; Pearson, P. J.; Seccombe, J. F.; Schaf, H. V.; Lesão de Isquemia-Reperusão. Aspectos Fisiopatológicos e a Importância da Função Endotelial; Arq Bras Cardiol, 239- 2455, 1996.

Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. Acta Cirúrgica Brasileira 2004, 19 (1):59-65.

FARRIS, A. B; ALPERS, C. E. What is the best way to measure renal fibrosis?: A pathologist's perspective. Kidney Int Suppl. 4(1): 9–15, 2014.

Ferreira LM, Hochman B, Barbosa MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. FONDEVILA, C.; BUSUTTIL, R. W.; KUPIEC-WEGLINSKI, J. W. Hepatic

FORRESTER, S.D. Nefropatias e Ureteropatias. In BIRCHARD, S. J.; SHERDING, R. G. Manual Saunders – Clínica de Pequenos Animais. 3ª ed., São Paulo: Editora Roca, p. 1001, 2008.

Francisco Neto, A.; Silva, J. C. C. B.; Fagundes, D. J.; Percário, S.; Novo, N. F.; Juliano, Y.; Neto, A. A. M.; Estudo Das Alterações Oxidativas, Da Capacidade Antioxidante Total Edo Óxido Nítrico, Em Ratos Submetidos À Isquemia E Reperusão De Membros Posteriores; Acta Cirúrgica Brasileira - Vol 20,134-139, 2005.

Galvez C.H., Montoya G.E., Nofre Sanchez P., Schettini Z.L. & Mendoza B.P. 2004. Sanidad em el manejo del sajino (Tayassu tajacu) en el trópico. VI Congresso International sobre Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonia y Lationamerica, 5-10 septiembre, Iquitos, Peru, p.38. (Resumo)

GRAUER G,F. Proteinuria: measurement and interpretation. Top Companion Anim Med. 26(3):121-7. 2011.

Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 3rd ed. Oxford: Clarendon Press; 1999.

ischemia/reperfusion injury: a fresh look. Experimental and molecular pathology, New York, v. 2, n. 74, p. 86-93, 2003.

J.C.F.; PRESTES, N.C. Ultrassonografia Doppler na avaliação renal de cadelas KEZIC, A. et al. Mitochondria-Targeted Antioxidants: Future Perspectives in Kidney Ischemia Reperfusion Injury. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, v. 2016, 12p. 2016.

Konopka, C. L.; Jurach, A.; Wender, O.C.B.; Experimental model for the study of chronic renal ischemia in rats. Morphologic, histological and ultra-structural analysis. *Acta Cirúrgica Brasileira* - Vol 22 (1) - 12-21, 2007.

Lesões Da Síndrome De Isquemia E Reperfusão Renal Em Ratos; *Rev. Col. Bras. Cir.*, 529- 533, 2012.

Lochmiller RL, Grant WE. Serum chemistry of collared peccary (*Tayassu tajacu*). *Journal Wildlife Disease* 1984, 20(2):134-140.

LUNNEY, J. K. Advances in swine biomedical model genomics. *Int J Biol Sci*, v. 3, 179–184p, 2007.

Machado GV, Cavalcante Filho MF, Miglino MA., Carvalho MAM, Santos TC, Lesnau GG. Comportamento anatômico das artérias renais em catetos (*Tayassu tajacu* Linnaeus,1758). *Veterinária notícia* 2000, 6(1).

Menezes, L. B.; Fioravanti, M. C. S.; Silva, M. S. B. Franco, L. G.; Sales, T. P.; . Andrascko, M. M.; Veado, J. C.; Araújo, E. G.; Avaliação Do Efeito Da Clorpromazina Sobre A Função

Renal De Cães Submetidos À Isquemia E Reperfusão; *Pesq. Vet. Bras.* Vol. 30-108-114, fevereiro 2010.

Miguel, M. P.; Menezes, L. B.; Araújo, E. G.; Fisiopatologia Do Estresse Oxidativo Após Isquemia E Reperfusão Cerebral E Potencial Neuroproteção Do Pequi (*Caryocar brasiliense*); *Enciclopedia Biosera, Centro Científico Conhecer, Goiânia*, v.8, n.15; p. 1 9 6 0, 2012.

Monteiro R, Brandau R, Gomes WJ, Braile. DM, Tendências em experimentação animal. *Revista Brasileira Cirurgia Cardiovascular* 2009, 24(4): 506-513.

MONTENEGRO, M. R., FRANCO, M.; *Patologia: Procesos gerais* 4ª ed, Ed Atheneu, 2008.

MOON, K. H. et al. Kidney diseases and tissue engineering. *Methods*, v. 99, p. 112-119, 2016.

Moscardini, F.; Barbosa, E. H.; Garcia, E. F.; Borges, A. P. O.; Bachur, J. A.; Quemelo, P. R. V. Effects of kinesiotherapy in ischemic lesion and reperfusion in rats. *Acta Ortop Bras.* [online]. 2012;20(3): 131-5. Available from URL: <http://www.scielo.br/aob>.

Moura, L. R. R.; Junior, M. S. D.; Matos, A. C. C.; Silva, A. P.; Lesão De Isquemia E Reperfusão No Transplante Renal: Paradigmas Hemodinâmico E Imunológico; *Einstein.*,129- 135, 2015.

OGAWA, S.; KOGA, S.; KUWABARA, K.; BRETT, J.; MORROW, B.; MORRIS, S. A.; BILEZIKIAN, J.

P.; SILVERSTEIN, S. C.; STERN, D. Hypoxia-induced increased permeability of endothelial monolayers occurs through lowering of cellular cAMP levels. *American Journal of Physiology – Cell Physiology* Published 1 March 1992 Vol. 262 no. 3, C546-C554 DOI:

Peixoto GCX, Oliveira IRS , Alves ND, Oliveira MF, Silva AR. Abdominal Exploration in

- Captive Collared Peccaries (*Tayassu tajacu*) by Ultrasonography. *Anat. Histol. Embryol* 2012, 41: 256–261.
- PERCARIO, S. Prevenção do estresse oxidativo na síndrome de isquemia e reperfusão renal em ratos com suplementação nutricional com antioxidantes. *Rev. Nutr., Campinas*, 23(2):259-267, mar./abr., 2010
- Percário, S.; Prevenção Do Estresse Oxidativo Na Síndrome De Isquemia E Reperfusão Renal Em Ratos Com Suplementação Nutricional Com Antioxidantes; *Revista De Nutrição*, Vol. 23;259-267, 2010.
- Peres, L. A. B.; Mocelin, A. J.; Delfino, V. D. A.; Injúria da Isquemia/Reperfusão: Implicações no transplante renal. *Paraná Bras Nefrol- Volume XXVII - nº 4 – 2005*.
- PIRES, M. A; TRAVASSOS, F. S.; GÄRTNER, F. *Atlas de Patologia Veterinária*. Ed. Lidel, Lisboa, 2004
- Procianoy, R. S.; Silveira, R. C.; Síndrome hipóxico-isquêmica; *Jornal de Pediatria - Vol. 77, 64-70, 2001*.
- Quemelo, P. R. V.; Effects Of Kinesiotherapy In Ischemic Lesion ratos com o CAPE (caffeic acid phenethyl ester). Tese em Anestesiologia, Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP, 2011
- REGISTRO BRASILEIRO DE TRANSPLANTES DE ÓRGÃOS (RBTO). 2014.
- Renal Em Ratos Com Suplementação Nutricional Com Antioxidantes; *Revista De Nutrição*, Vol. 23;259-267, 2010.
- Romagnolli P, Machado GV, Miglino MA. Segmentos arteriais dos rins de queixadas (*Tayassu pecari*, Linnaeus, 1795). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 2003,40 (supl):205-212.
- Romagnolli P, Reolon J, Gomes JO, Motter SA, Masseto A, Rodrigues FB, Furlan MM. Caracterização vascular dos setores e segmentos arteriais renais de suínos. *Arq. Ciênc. Vet. Zool*, 2010, UNIPAR, Umuarama, 13(2): 93-97.
- ROSO, N. C. Estudo da proteção renal durante a isquemia e reperfusão em SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998. 221p.
- SANTOS, O. M.; CATRÉ, D.; CABRITA, A.; LOPES, M. F.; lesão renal aguda em modelo murino de isquemia e reperfusão hepática sob expansão de volume plasmático. (DISSERTAÇÃO) - Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, 2011
- SANTOS, R.V. MERLINE, M.B.; SOUZA, L.P.; MACHADO, V.M.V.; PANTOJA, SCHROPPEL, B.; LEGENDRE, C. Delayed kidney graft function: from mechanism to

translation. *Kidney international*, v. 86, n. 2, p. 251-258, 2014.

Schettini, Z, Li E., Gálvez C, Montoya G, Sánchez P. Perfil bioquímico sanguíneo hepático y renal en el sajino (*Tayassu tajacu*) criado en cautiverio en la amazonía peruana. *Revista de Investigaciones Veterinaria del Perú*. 2005, 16 (2): 175-179.

Seixas LS, Seixas LHC, Pereira, NF, Souza AMC, Meneses CCG, Moraes RBS, Kuroda DJS, Lima MJFM, Figueiredo ACA, Pereira MAMK, Alves RN, Dias Neto RF, Andrade RKG, Bastos ACF, Cardoso ENL, Andrade GS, Oliveira KA, Reis ACC, Lacreta Junior ER, Branco FCM, Oliveira BMA. Serum Biochemical Profile (Kidney and Liver) of *Tayassu tajacu*

(Linnaeus 1758) Kept in Captivity in Pará State, Brazil. Serum Biochemical – WSAVA, 2009.

SEMEDO P, DONIZETTI-OLIVEIRA C, BURGOS-SILVA M ET AL. Bone marrow mononuclear cells attenuate fibrosis development after severe acute kidney injury. *Lab Invest*; 90: 685–695, 2010

SHIH, W. et al. Effects of cyclosporin A on the development of immune-mediated interstitial nephritis. *Kidney Int.*, v.33, n. 6, 1113-1118, 1988

Silva Junior, O.C.; Centurion, S.; Pacheco, E. G.; Briotti, J. L.; Oliveira, A. F.; Sasso, K. D.; Aspectos Básicos Da Lesão De Esquemia E Reperfusão E Do Pré-condicionamento Isquêmico. *Acta Cirúrgica Brasileira - Vol 17 (Suplemento 3)*, 96-100, 2002.

SILVA, T. B. CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA RENAL PRODUZIDA POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO, EM *Rattus norvegicus* WISTAR. (TESE), Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2015

SINGH, A.P. Animal models of acute renal failure. *Pharmacological Reports*, v. 64, p. 31- 44, 2012.

STRUTZ F, NEILSON E. G. New insights into mechanisms of fibrosis in immune renal injury. *Springer Semin Immunopathol*. 24(4):459-76.2003.

VODIČKA P, SMETANA K, DVOŘÁNKOVÁ B, EMERICK T, XU YZ, OUREDNIK J, MOTLÍK J. The miniature pig as an animal model in biomedical research. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2005, 1049(1), 161-171.

WAKI MF., MARTORELLI CR., MOSKO PE., KOGIKA MM. Classificação em estágios da doença renal crônica em cães e gatos: abordagem clínica, laboratorial e terapêutica. *Ciência Rural*, 2010, 40, 2226-22

YAMAKI, I. N.; PONTES, R. V. S.; COSTA, F. L. S.; YAMAKI, V. N.; TEIXEIRA, R. K. C.; R YASOJIMA, E. Y.; BRITO, M. V. H.; Síndrome De Isquemia E Reperfusão Renal: Efeito Da Lidocaína E Do Pós-condicionamento Local; *Rev. Col. Bras. Cir.*, 348-353, 2016.

YAMAKI, V. N.; GONÇALVES, T. B.; COELHO, J. V. B.; PONTES, R. V. S.; COSTA, F. L. S.; BRITO, M. V. H.; Efeito Protetor Do Pré-condicionamento Isquêmico Remoto Nas Lesões Da Síndrome De Isquemia E Reperfusão Renal Em Ratos; *Rev. Col. Bras. Cir.*, 529- 533, 2012.

