



## EXPLANTES HEPÁTICOS COMO MODELOS EXPERIMENTAIS PARA AVALIAR HEPATOTOXICIDADE

Weinert, N.C.<sup>1</sup>; Suhett, W. G.<sup>2</sup>; Gerez, J. R.<sup>1</sup>; Maidana, L.G.<sup>1</sup>; Bracarense, A.P.F.L.<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. \* e-mail:anapaula@uel.br  
<sup>2</sup>Departamento de Clínica Veterinária, Universidade de Londrina, Paraná, Brasil.

### Saúde Única

**Palavras-chave:** lesão, função, micotoxinas

### Introdução

Por apresentarem características semelhantes aos seres humanos, cada vez mais os suínos têm sido empregados como modelos animais em estudos laboratoriais. Estas similaridades são observadas em diversos sistemas orgânicos, sendo os sistemas gastrointestinal, cardiovascular e pulmonar os mais utilizados em pesquisas laboratoriais (GUILLOTEAU et al., 2010). Outros órgãos como a pele, o fígado e a vesícula biliar dos suínos também são utilizados em modelos experimentais para seres humanos (SWINDLE e SMITH, 1998).

Embora apresente pequenas diferenças morfológicas, o fígado dos suínos tem um metabolismo semelhante ao dos humanos (SWINDLE e SMITH, 1998). Trabalhos relacionados à hemodinâmica hepática, metabolismo da glicose, lactato e glicerol foram desenvolvidos e validados em suínos (DROUGAS et al., 1996).

### Relato de caso

A doença hepática em animais pode progredir rapidamente para a insuficiência, apesar da grande capacidade regenerativa do fígado. Assim, a avaliação precoce deste órgão possibilita maiores alternativas para iniciar a terapêutica necessária tanto em animais como em humanos hepatopatas. Atualmente, as micotoxinas representam um risco de contaminação ambiental, acarretando sérios prejuízos à saúde animal e conseqüentemente a saúde humana, principalmente causando hepatopatias. Essas toxinas podem estar presentes em diferentes tipos de alimentos, que constituem a principal fonte de exposição. As exposições podem ser monitoradas através do uso de biomarcadores, que elucidam a relação causa/efeito e dose/efeito na avaliação de risco à saúde para fins de diagnóstico clínico e laboratorial.

De acordo com Sabino (1996), os alimentos estão sujeitos à contaminação por substâncias altamente tóxicas, cuja ingestão é capaz de causar sérios transtornos no organismo do homem e dos animais. Entre as diversas substâncias capazes de



provocar danos à saúde estão as micotoxinas, que são produzidas em condições favoráveis e representam relevante perigo ao ser humano.

A avaliação da exposição às micotoxinas constitui um importante aspecto para a saúde pública, tendo em vista a possibilidade de prevenir ou minimizar a incidência de doenças decorrentes da sua interação com o organismo.

Em busca de alternativa à experimentação *in vivo*, desde a década de 30 estudos buscam desenvolver técnicas substitutivas *ex vivo*, entre estas podemos destacar o cultivo de explantes que é uma técnica ainda em aprimoramento, mas eficaz em pesquisas laboratoriais que se caracteriza pelo cultivo de fragmentos de órgãos colhidos por biópsia e incubados em situações que mimetizam as condições do organismo vivo (FELL e ROBISON, 1930; BANSAL et al., 2009; RANDALL; TURTON; FOSTER, 2011).

Assim, a caracterização precoce das lesões hepáticas e distúrbios funcionais utilizando um modelo *ex vivo*, será realizada com a associação entre o uso de biomarcadores hepáticos e caracterização da lesão histológica. Os explantes serão colhidos de fígados de suínos em fase de terminação. Os explantes serão incubados com meio de cultura (controle), meio com micotoxinas (fumonisina e desonivalenol), meio com ácido fítico e meio com paracetamol, durante quatro horas. Os biomarcadores hepáticos (fosfatase alcalina, gama-glutamilttransferase, alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, albumina e proteína sérica total) serão avaliados a partir do sobrenadante nos tempos T1/2h, T1h, T2h, T3h e T4h. Posteriormente, os explantes serão fixados e submetidos ao processamento histológico para avaliação do escore lesional.

Os critérios a serem avaliados são desorganização trabecular, degeneração citoplasmática, degeneração nuclear, infiltrado inflamatório, megalocitose celular, apoptose e necrose. O critério de degeneração citoplasmática e nuclear, por apresentar um fator importante no desenvolvimento da lesão quando presente terá a nota multiplicada por dois, o critério necrose por ser o estágio mais avançado da lesão quando presente será multiplicado por três. Após a avaliação dos critérios estabelecidos será realizado a soma de todas as pontuações de forma a obter um escore de lesão, possibilitando comparação entre os grupos experimentais.

A utilização de explantes constitui uma técnica promissora, porém apresenta algumas limitações como o tempo de incubação do tecido, viabilidade celular e manutenção das condições existentes *in vivo*, portanto boa parte dos estudos com o modelo de explante busca aprimorar as técnicas de forma a superar as limitações contribuindo em diversos ramos da ciência, com utilização de diferentes tecidos (BASSO e BRACARENSE, 2013).

Entre as vantagens da técnica destaca-se que a mesma permite a redução no número de animais utilizados em experimentação laboratorial, uma vez que são produzidos inúmeros explantes a partir de um único doador, conseguindo assim um maior controle ambiental para experimentação *in vitro*, quando comparado com o modelo *in vivo*. Outra possibilidade é a aplicação de doses definidas das substâncias



de interesse diretamente no órgão alvo, comparando amostras tratadas e controles provenientes de um único doador, conseguindo assim produzir resultados mais fidedignos (KOLF-CLAUW et al., 2009; RANDALL; TURTON; FOSTER, 2011).

O modelo ainda possibilita a avaliação da morfologia dos órgãos analisados, bem como a dosagem de hormônios e mensuração da produção de proteínas (BASHA; BAZER; ROBERTS, 1979; KOLF-CLAUW et al., 2009). Sendo que o maior interesse de desenvolvimento do modelo é atender os requisitos éticos e legais presentes na normatização (decreto 93.933 aprovado em 1987) do Conselho Nacional de Saúde determina que todo estudo deve ser planejado de maneira a obter o máximo de informações utilizando-se o menor número de animais (BASSO e BRACARENSE, 2013).

### Referências

BANSAL, D.; AVE, P.; KERNEIS, S.; FRILEUX, P.; BOCHE, O.; BAGLIN, A. C.; DUBOST, G.; LEGUERN, A. S.; PREVOST, M. C.; BRACHA, R.; MIRELMAN, D.; GUILLE, N. N.; LABRUYE, R.E. An *ex-vivo* human intestinal model to study *Entamoeba histolytica* pathogenesis. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, New York, v. 3, n. 11, p. 1-11, 2009.

BASHA, S. M. M.; BAZER, W. F.; ROBERTS, M. R. The secretion of a uterine specific, purple phosphatase by cultured explants of porcine endometrium dependency upon the state of pregnancy of the donor animal. **Biology of Reproduction**, Florida, v. 20, n. 3, p. 431-441, 1979.

BASSO, K.M.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; Tissue explants: a model rediscovered in animal experiments. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3951-3958, 2013.

DROUGAS, J. G.; BERNARD, S. E.; WRIGHT, J. K.; SIKA, M.; LOPEZ, R. R.; STOKES, K. A.; WILLIAMS, P. E.; PINSON, C. W. A model for the extended studies of hepatic hemodynamics and metabolism in swine. **Laboratory Animal Science**, Braga, v. 46, n. 6, p. 648- 655, 1996.

GUILLOTEAU, P.; ZABIELSKI, R.; HAMMON, H. M.; METGES, C. C. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? **Nutrition Research Reviews**, Germany, v. 23, n. 1, p. 4-22, 2010.

RANDALL, K. J.; TURTON, J.; FOSTER, J. R. Explant culture of gastrointestinal tissue: a review of methods and applications. **Cell Biology and Toxicology**, London, v. 27, n. 4, p. 267-284, 2011.

SWINDLE, M. M.; SMITH, A. C. Comparative and physiology of the pig. **Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science**, Escandinávia, v. 25, p. 11-21, 1998. Supplement 1.