

Artigo original

Modelos Experimentais de Doenças Pulmonares Fibrosantes

Experimental Models of Fibrotic Lung Diseases

Rosa M. Cabral¹

RESUMO

As doenças pulmonares intersticiais fibrosantes são enfermidades graves e de etiologia pouco conhecida. A necessidade de encontrar modelos experimentais que possam reproduzir essas doenças pulmonares desde os estágios iniciais até as fases avançadas levou pesquisadores a testar inúmeros modelos biológicos para esse fim. Diferentes modelos experimentais são usados para o estudo de doenças pulmonares, como murinos, suínos, em coelhos e em primatas não humanos. O objetivo da presente revisão foi apresentar os modelos experimentais mais utilizados.

Atualmente, os modelos experimentais mais utilizados para o estudo das afecções pulmonares agudas e crônicas são os pequenos roedores e os miniporcos. Elaborar modelos experimentais significa enfrentar dificuldades relacionadas às diferenças fisiológicas, anatômicas e mecânicas dos sistemas orgânicos entre humanos e a espécie eleita. A relação custo-benefício baseia-se na facilidade para se reproduzir a doença pretendida, os custos do biotério e a semelhança entre os achados clínico-histopatológicos do modelo experimental com humanos.

Sendo assim, não existe modelo experimental perfeito, mas modelos adequados para proceder à investigação científica almejada.

Descritores: Doenças pulmonares intersticiais; Modelos animais; Fibrose pulmonar.

ABSTRACT

The etiology of fibrosing interstitial lung diseases and serious illnesses is poorly understood. The need to find experimental models that can reproduce lung disease from the early stages to the advanced stages as led many researchers to test a variety of biological models. Various experimental models involving mice, pigs, rabbits and non-human primates are used in the study of lung diseases. The aim of this review is to present the most widely used of such experimental models.

Currently, the models most widely used for the study of acute and chronic lung diseases are those involving small rodents and mini-pigs. In developing experimental models, one encounters difficulties related to the physiological, anatomical, and mechanical differences between humans and the species chosen, in terms of the organ systems, and the cost-benefit ratio is based on the facility in reproducing the disease in question, the animal facility costs, and the similarity between the clinical/pathological results obtained with the experimental model and those observed in humans.

There is no perfect experimental model. However, there are models that are appropriate for investigating the condition under study.

Keywords: Lung diseases, interstitial; Models, animal; Pulmonary fibrosis.

1. Instituto de Saúde e Produção Animal, Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém (PA) Brasil.
Não há qualquer conflito de interesse entre os autores.

Endereço para correspondência: Rosa M. Cabral. Avenida Conselheiro Furtado, 3536B, apto. 1503, CEP 66073-160, Belém, PA, Brasil. Tel. 55 91 8248-0101.
E-mail: cabralrm.ufra@gmail.com.

INTRODUÇÃO

As doenças pulmonares intersticiais fibrosantes, como a fibrose pulmonar idiopática (FPI) e a pneumonia intersticial, pertencem a um grupo de doenças intersticiais pulmonares de etiologia muitas vezes desconhecida, com sinais clínicos e sintomas graves, não neoplásicas, e que induzem o parênquima pulmonar a diferentes padrões inflamatórios e fibrose (1,2).

A FPI caracteriza-se por ser uma forma específica de pneumonia, de caráter crônico, mais incidente, e que apresenta fibrose intersticial progressiva de causa desconhecida. Ocorre principalmente em adultos mais velhos e está limitada aos pulmões. A FPI causa uma progressiva deterioração da função pulmonar e dispneia e é usualmente associada a um prognóstico ruim.

O parênquima pulmonar dos portadores de pneumonia intersticial e FPI apresenta inicialmente áreas inflamatórias não uniformes, destruição vascular, sítios de lesões infiltradas permeadas por tecido pulmonar saudável e progressiva fibrose intersticial (3). O infiltrado celular é normalmente composto por macrófagos, linfócitos, células plasmáticas e cicatrização colagênica (4,5).

Depois de diagnosticados, os portadores de FPI têm sobrevida estimada em 3-5 anos, e, com a evolução da doença, há uma acentuada piora dos sintomas e da qualidade de vida. A TCAR é uma importante ferramenta diagnóstica para as doenças pulmonares, sobretudo para as enfermidades intersticiais, além de subsidiar o prognóstico e o acompanhamento da evolução da doença. A TCAR deve ser realizada periodicamente, proporcionando o estadiamento dessas doenças (6,7).

Na última década, vários protocolos farmacológicos (e diferentes modalidades ventilatórias) foram propostos para o tratamento das doenças pulmonares intersticiais; porém, o uso de corticosteroides, além de oxigenoterapia, nas fases avançadas da enfermidade ainda é o usual. No entanto, a administração de corticosteroides, em muitos casos, é pouco efetiva (2,8). Além disso, quando é necessário instituir suporte ventilatório, o desafio torna-se ainda maior, pois muitas vezes a modalidade ventilatória escolhida mostra-se ineficaz e lesiva (8,9).

MODELOS EXPERIMENTAIS

Há algumas décadas tem-se tentado reproduzir as doenças pulmonares intersticiais em modelos experimentais, sobretudo a FPI, e, para alcançar esse objetivo, várias espécies animais foram utilizadas.

O grande desafio dos pesquisadores é produzir um modelo experimental que reproduza os padrões histológicos típicos de injúria pulmonar semelhante às encontradas em humanos portadores de fibrose pulmonar.

Além da elaboração de modelos experimentais adequados, há a constante preocupação dos pesquisadores em relação ao tipo de população celular pre-

sente nos locais de injúria e o comportamento dessa população na tentativa de reparar ou substituir o tecido injuriado (10,11).

A espécie mais utilizada para a indução de doenças pulmonares fibrosantes são os roedores (12,13), mas há relatos na literatura do uso de coelhos, primatas não humanos e suínos (6,14,15).

O sulfato de bleomicina ainda é bastante utilizado como estratégia para induzir lesões fibróticas pulmonares, independentemente da metodologia empregada, ou seja, a dose, a via de infusão e a frequência de administração do fármaco têm variado sobremaneira, mas sempre com o objetivo de aumentar o tempo de exposição do agente no organismo animal (16,17).

Diferentes protocolos de indução de fibrose pulmonar já foram testados, como a infusão de bleomicina em dose única por via intratraqueal em lobo pulmonar esquerdo de suínos, produzindo lesões intersticiais com distribuição aleatória e histologicamente semelhante às lesões vistas em humanos (6); outros protocolos de indução de fibrose pulmonar foram realizados utilizando doses seriadas de bleomicina por via intratraqueal, via subcutânea e via intraperitoneal em roedores (18), dentre outros. A infusão de dose única de bleomicina intratraqueal associada à ventilação controlada a volume e o aporte de oxigênio a 100% foi utilizada em um recente estudo com miniporcões, apresentando resultados satisfatórios para a indução de fibrose pulmonar (16).

Além da bleomicina, outros protocolos de indução de fibrose pulmonar já foram descritos, como a exposição à radiação em modelo murino e em miniporcões (19), exposição à sílica (20) e a administração intratraqueal de paraquat em roedores (21).

Estudos mais recentes, que têm como objetivo o uso da terapia celular (utilização de células-tronco) no intuito de esclarecer a ação dessas células no tecido pulmonar injuriado, por ação de mecanismos parácrinos ou quimiotáticos (22,23), utilizam largamente os roedores como modelos experimentais para induzir danos no parênquima pulmonar e, em seguida, submetê-los a diferentes protocolos de infusão celular (24,25).

Com relação aos primatas não humanos, uma forte legislação amparada pelos comitês de bioética limita drasticamente o uso desses animais. Outros modelos já testados, como em coelhos, são amplamente utilizados em pesquisas nas áreas de oftalmologia, dermatologia, cirurgia plástica e engenharia de tecidos, dentre outras.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de o modelo murino ser o mais utilizado para a indução de doenças pulmonares fibrosantes, é necessário considerar que esse não é o modelo ideal quando se considera as diferenças relativas à fisiologia respiratória e arquitetura pulmonar dessas espécies

quando comparadas às do homem. No entanto, os padrões histológicos de lesões pulmonares induzidas foram mimetizados (26). O fácil e prático manejo desses animais, associado ao custo dos biotérios, favorece as pesquisas com esse tipo de modelo.

A espécie suína apresenta vantagens sobre os roedores quando se objetiva estudar doenças pulmonares agudas (27) e crônicas (19), ventilação mecânica

e modalidades ventilatórias (28,29), assim como ferramentas de avaliação e desempenho pulmonar (30). Isso se deve às semelhanças de fisiologia respiratória e arquitetura pulmonar entre as espécies suína e humana. Com relação à manutenção e ao manejo desses animais, o custo é maior e há a necessidade de profissionais treinados, o que normalmente desencoraja a larga utilização dessa espécie.

REFERÊNCIAS

- Gross TJ, Hunninghake GW. Idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med*. 2001, 345:517–524.
- Cottin V, Capron F, Grenier P, Cordier JF. Idiopathic interstitial pneumonias; International multidisciplinary consensus classification by the American Thoracic Society and the European Respiratory Society. Clinico-pathological entities and diagnosis. *Rev Mal Respir*. 2004, 21:299–318.
- Coletta ENAM, Pereira CAC, Ferreira RG, Rubin AS, Vilella LS, Malheiros T, et al. Histological features and survival in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Pneumol*. 2003, 29:371–378.
- Parra ER, David YR, Costa LRS, Ab'saber A, Sousa R, Kairalla RA, et al. Heterogeneous remodeling of lung vessels in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung*. 2005, 183:291–230.
- Moodley YP, Caterina P, Scaffidi AK, Misso NL, Papadimitriou JM, McAnulty RJ, et al. Comparison of the morphological and biochemical changes in normal human lung fibroblasts and fibroblasts derived from lungs of patients with idiopathic pulmonary fibrosis during FasL-induced apoptosis. *J Pathol*. 2004, 202:486–495.
- Balazs G, Noma S, Khan A, Eacobacci T, Herman PG. Bleomycin- induced fibrosis in pigs: Evaluation with CT. *Radiology*. 1994, 191:269–272.
- Lynch DA, Godwin JD, Safrin S, Starko KM, Hormel P, Brown KK. High-resolution computed tomography in idiopathic pulmonary fibrosis: Diagnosis and prognosis. *Am J Resp Critical Care Med*. 2005, 172:488–493.
- Raghu G, Collard H R, Egan J J, Martinez F J, Behr J, Brown K K, et al. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Evidence-based Guidelines for Diagnosis and Management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2011, 183:788–824.
- Ferreira JC, Bensenor FEM, Rocha MJJ, Salge JM, RS Harris, Malhotra A. A sigmoidal fit for pressure-volume curves of idiopathic pulmonary fibrosis patients on mechanical ventilation: clinical implications. *Clinical Science*. 2011, 66(7):1157–1163.
- Khubchandani KR, Snyder JM. Surfactant protein A (SP-A): The alveolus and beyond. *Faseb J*. 2001, 15:59–69.
- Kotton DN, Fine A. Lung stem cells. *Cell Tissue Res*. 2008, 331:45–56.
- Manoury B, Nenau S, Leclerc O, Guenon I, Boichot E, Planquois JM. The absence of reactive oxygen species production protects mice against bleomycin-induced pulmonary fibrosis. *Respir Res*. 2005, 6:1465–9921.
- Bogatkevich GS, Ludwicka-Bradley A, Nietert PJ, Akter T, Ryn Jv, Silver RM. Anti-inflammatory and anti-fibrotic effects of the oral direct thrombin inhibitor dabigatran etexilate in a murine model of interstitial lung disease. *Arthritis Rheum*. 2011, 63(5): 1416–1425.
- Berend N, Feldsien D, Cederbaums D, Cherniack RM. Structure- function correlation of early stages of lung injury induced by intratracheal bleomycin in the rabbit. *Am Rev Resp Dis*. 1985, 132:582– 589.
- McCullough B, Collins JF, Johanson WG, Grover FL. Bleomycin- induced diffuse interstitial pulmonary fibrosis in baboons. *J Clin Invest*. 1978, 61:79–88.
- Kasper M, Bierhaus A, Whyte A, Binns RM, Schuh D, Muller M. Expression of CD454 isoforms during bleomycin-or radiationinduced pulmonary fibrosis in rats and minipigs. *Histochem Cell Biol*. 1996, 105:221–230.
- Moeller A, Askl K, Warburton D, Gauldie J, Kolb M. The Bleomycin animal model: A useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? *Int J Biochem Cell Biol*. 2007, 40:362–382.
- Degryse AL, Lawson WE. Progress toward improving animal models for IPF. *Am J Med Sci*. 2011, 341(6): 444–449.
- Cabral RM, Branco E, Rizzo MS, Ferreira GJ, Gregores GB, Samoto VY, et al. Cell Therapy for Fibrotic Interstitial Pulmonary Disease: Experimental Study. *Microscopy Research and Technique*. 2011, 74:957–962.
- Barbarin V, Nihoul A, Misson P, Arras M, Delos M, Leclercq I et al. The role of pro- and anti-inflammatory responses in silica induced lung fibrosis. *Respir Res*. 2005, 6:112.
- Zhi QM, Yang LT, Sun HC. Protective Effect of Ambroxol against Paraquat-induced Pulmonary Fibrosis in Rats. *Intern Med*. 2011, 50: 1879–1887.
- Hashimoto N, Jin H, Liu T, Chensue SW, Phan SH. Bone marrow- derived progenitor cells in pulmonary fibrosis. *J Clin Invest*. 2004, 113:243–252.
- Kotton DN, Summer R, Fine A. Lung stem cells: New paradigms. *Exp Hematol*. 2004, 32:340–343.
- Dooner M, Cerny J, Colvin G, Demers D, Pimentel J, Greer D, et al. Homing and conversion of murine hematopoietic stem cells to lung. *Blood Cells Mol Dis*. 2004, 32:47–55.
- Rojas M, Xu J, Woods CR, Mora AL, Spears W, Roman J, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung. *Am J Resp Cell Mol Biol*. 2005, 33:145–152.
- Grande NR, Peaõ MND, As CM, Aguas AP. Lung fibrosis induced by Bleomycin: Structural changes and overview of recent advances. *Scan Microsc*. 1998, 12:487–494.
- Wang HM, Bodenstern M, Duenges B, Ganatti S, Boehme Y, Ning B, et al. Ventilator-Associated Lung Injury Superposed to Oleic Acid Infusion or Surfactant Depletion: Histopathological Characteristics of Two

- Porcine Models of Acute Lung Injury. *Eur Surg Res.* 2010, 45:121–133.
28. Turner DA, Adams DF, Gentile MA, Williford L, Quick GA, Smith PB, et al. Bias flow does not affect ventilation during high-frequency oscillatory ventilation in a pediatric animal model of acute lung injury. *Pediatr Crit Care Med.* 2012, 13(2):e108-12.
 29. Kredel M, Muellenbach RM, Johannes A, Brederlau J, Roewer N, Wunder C. Hepatic effects of lung-protective pressure-controlled ventilation and a combination of high-frequency oscillatory ventilation and extracorporeal lung assist in experimental lung injury. *Med Sci Monit.* 2011, 17(10): 275-281.
 30. Muders T, Luepschen H, Zinserling J, Greschus S, Fimmers R, Guenther U, et al. Tidal recruitment assessed by electrical impedance tomography and computed tomography in a porcine model of lung injury. *Crit Care Med.* 2012, 40(3):903-911.