



ESTUDIO DE LAS LESIONES “BACKGROUND” DESCRIPTAS EN RIÑONES DE ANIMALES DE LABORATORIO DEL CENTRO DE MEDICINA COMPARADA.

Imanol Sánchez Córdoba

Centro de Medicina Comparada (CMC), Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet-Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL) / Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Esperanza, Santa Fe, Argentina.

Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

Directora: Dra. Sacco, Sofía Clara. / Codirector: Dr. Belotti, Eduardo M.

Área: Ciencias de la Salud

Palabras claves: Riñón, lesiones background, animales de laboratorio.

INTRODUCCIÓN

El Centro de Medicina Comparada del Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (CMC-ICIVET Litoral) en la Facultad de Ciencias Veterinarias, realiza estudios de alta complejidad *in vivo* e *in vitro* en respuesta a las solicitudes de los comitentes (empresas o instituciones públicas y privadas), cumpliendo con los requisitos de los organismos regulatorios bajo normativas nacionales e internacionales para el registro de fármacos, biofármacos, químicos y agroquímicos. Muchos de los ensayos que se efectúan durante el desarrollo de fármacos y sustancias químicas se realizan en animales de laboratorio y especialmente en roedores y conejos (Dutta y Sengupta, 2016). El análisis histopatológico de la frecuencia y naturaleza de las lesiones inducidas por el fármaco en evaluación es muchas veces la última fase en los estudios preclínicos que se llevan adelante en animales de laboratorio. Se han desarrollado modelos en numerosas especies para el desarrollo de fármacos destinados a uso humano, entre ellas, el animal de laboratorio más ampliamente usado a nivel mundial en la actualidad, tanto en investigación biomédica como en los estudios preclínicos, es el ratón, y en menor proporción la rata (Zuñiga y col. 2011), así como conejos, cobayos, cerdos y primates no humanos. Las lesiones “background” o de fondo (incidentales o espontáneas) son hallazgos

Título del proyecto: “Desarrollo de una formulación en base a extractos vegetales para contribuir al proceso de reparación cicatrizal luego de intervenciones quirúrgicas o de heridas traumáticas”

Instrumento: PDS CIN-CONICET IP266.

Año convocatoria: 2015

Organismo financiador: CIN-CONICET

Director: Dr. Hugo Ortega

patológicos que generalmente representan un cambio en la morfología del tejido fuera del rango de variación normal para una especie o cepa en particular (Long y Hardisty, 2012). Los cambios “background” pueden ser congénitos o hereditarios, variaciones normales de los hallazgos que son exclusivos de la histología de una especie animal, relacionados con traumas o el envejecimiento normal, o cambios fisiológicos (McInnes, 2012; McInnes y Scudamore, 2014). Los cambios “background” pueden ser confundidos durante la evaluación histopatológica con lesiones producidas por sustancias evaluadas en ensayos de toxicidad y preclínicos (McInnes y Scudamore, 2014). El riñón es uno de los tejidos más importantes examinados durante el desarrollo de numerosos fármacos. Debido a su rol fundamental en la filtración, el metabolismo y la excreción de compuestos, este órgano es muy susceptible a lesiones inducidas por la sustancia de ensayo. El riñón presenta una amplia gama de lesiones “background” de aparición espontánea y no relacionadas a tratamientos, por ejemplo, la nefropatía crónica progresiva

(NCP), es una enfermedad relacionada con la avanzada edad en roedores. Tanto la NCP como otros hallazgos “background” pueden verse exacerbados por la administración de químicos y ser un factor de confusión en la interpretación de los hallazgos histopatológicos principalmente en estudios de tóxicos y carcinógenos renales. Resulta un punto crítico en la evaluación de lesiones renales que los patólogos que trabajan en toxicopatología comprendan las relaciones entre la ubicación anatómica de los distintos segmentos de la nefrona y el sistema de conductos colectores, ya que algunos productos químicos tienen una afinidad selectiva para la nefrona o un segmento de conductos en particular (Seely y Brix, 2014). Por otra parte, el conocimiento de las lesiones “background” propias de la especie y cepa con la cual se trabaja permitirá obtener resultados histopatológicos confiables y una interpretación correcta del efecto de la sustancia de ensayo sobre este órgano.

OBJETIVOS

- ✓ Determinar las lesiones “background” en riñones de ratas Wistar CmedC, ratones Balb/c CmedC y conejos neozelandeses del CMC-ICIVET Litoral.

METODOLOGÍA

Se realizó un estudio retrospectivo transversal de las lesiones “background” en riñones de ratas Wistar CmedC, ratones Balb/c CmedC y conejos neozelandeses del CMC-ICIVET Litoral, en un período comprendido entre enero de 2016 y diciembre de 2018. Los animales incluidos en este análisis provinieron de monitoreos sanitarios y se encontraban sanos (sin signos clínicos) y otros presentaron signos clínicos espontáneos (sin ningún tipo de tratamiento) que se asociaron a enfermedades incidentales. También se incluyeron animales utilizados en ensayos y que fueron grupos controles y no recibieron ningún tratamiento o fueron tratados con solución estéril de cloruro de sodio al 0,9% (p/v) o un excipiente considerado inocuo. El trabajo con animales se llevó adelante siguiendo guías internacionales de cuidado y uso de animales de laboratorio, según procedimientos operativos estandarizados (POEs), aprobados por el Comité de Ética y Seguridad de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional del Litoral (FCV-UNL). Se realizaron necropsias completas y toma de muestras de riñones en formol bufferado al 10%. Se procesaron en el área de histopatología del CMC mediante inclusión en parafina, cortes seriados de 4 micras de espesor con micrótopo (Leica RM 2245) y coloración con Hematoxilina y Eosina (Biopur) y la posterior evaluación microscópica. Se analizaron 77 informes histopatológicos de los cuales 53 fueron de ratas, 19 de ratones y 5 de conejos. Los animales se clasificaron en grupos etarios de acuerdo a los criterios descriptos a continuación: las ratas se consideraron “jóvenes” entre los 22 a 62 días de edad, “adultos” de 63 a 100 días de edad, y de “edad avanzada” a mayores de 100 días de edad; los ratones se clasificaron como “jóvenes” entre los 29 a 89 días de edad, “adultos” de 90 a 539 días de edad y de “edad avanzada” a mayores de 539 días de edad; los conejos se categorizaron en “neonatos” de 1 a 28 días de edad y “jóvenes” de 29 a 299 días de edad. Se realizó una revisión bibliográfica de las lesiones background frecuentes en riñones de ratas, ratones y conejos (Bartholod y col., 2016; McInnes, 2017), se analizaron los informes histopatológicos y se confeccionó un archivo en Microsoft Excel y posteriormente se analizaron los datos.

RESULTADOS / CONCLUSIONES

Tabla 1. Lesiones “background” diagnosticadas por histopatología en riñones de ratas wistar/CmedC.

"Background"	Riñones	Sexo		Edad		
		Total (n:53)	Macho (n: 36)	Hembra (n: 17)	Jóvenes (n: 8)	Adultos (n: 41)
Degeneración tubular	49%(26)	44%(16)	59%(10)	75%(6)	49%(20)	0% (0)
Cilindros hialinos	19%(10)	28%(10)	0%(0)	50%(4)	10%(4)	50%(2)
Hiperplasia de células mesangiales	2%(1)	3%(1)	0%(0)	12%(1)	0%(0)	0%(0)
Dilatación tubular	2%(1)	3%(1)	0%(0)	12%(1)	0%(0)	0%(0)
Necrosis	19%(10)	25%(9)	6%(1)	25%(2)	19%(8)	0%(0)
Infiltrado de células inflamatorias	2%(1)	0%(0)	6%(1)	0%(0)	0%(0)	25%(1)
Hemorragia	2%(1)	0%(0)	6%(1)	0%(0)	0%(0)	25%(1)
Pigmentos	2%(1)	0%(0)	6%(1)	0%(0)	0%(0)	25%(1)
Engrosamiento membrana basal glomerular	4%(2)	5%(2)	0%(0)	0%(0)	5%(2)	0%(0)
Gotas hialinas	9%(5)	14%(5)	0%(0)	0%(0)	12%(5)	0%(0)
Túbulos corticales basófilos	4%(2)	5%(2)	0%(0)	0%(0)	5%(2)	0%(0)
Glomerulonefritis	2%(1)	3%(1)	0%(0)	0%(0)	0%(0)	25%(1)
Sin lesiones	6%(3)	0%(0)	18%(3)	0%(0)	7%(3)	0%(0)

Los valores se encuentran expresados en porcentaje (%) y número de riñones con lesión (n).

Tabla 2. Lesiones "background" diagnosticadas por histopatología en riñones de ratones Balb/CmedC.

"Background"	Riñones	Sexo		Edad		
		Total (n:19)	Machos (n: 8)	Hembra (n: 11)	Jóvenes (n: 2)	Adultos (n: 17)
Degeneración tubular	26%(5)	12%(1)	36%(4)	50%(1)	23%(4)	0%(0)
Vacuolización citoplasmática	21%(4)	12%(1)	9%(1)	50%(1)	6%(1)	0%(0)
Necrosis	5%(1)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Infiltrado de células inflamatorias	10%(2)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Pigmentos	5%(1)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Nefroblastematosi	5%(1)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Glomerulonefritis	10%(2)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Hiperplasia tubular	10%(2)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Regeneración tubular	5%(1)	0%(0)	9%(1)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Túbulos hialinos	5%(1)	12%(1)	0%(0)	0%(0)	6%(1)	0%(0)
Sin lesiones	16%(3)	12%(1)	18%(2)	0%(0)	18%(3)	0%(0)

Los valores se encuentran expresados en porcentaje (%) y número de riñones con lesión (n)

Tabla 3. Lesiones “background” diagnosticadas por histopatología en riñones de conejos Neozelandeses.

“Background”	Riñones	Sexo		Edad		
		Total (n:5)	Macho (n: 5)	Hembra (n: 0)	Jóvenes (n: 1)	Adultos (n:4)
Degeneración tubular	60%(3)	60%(3)	0%(0)	0%(0)	75%(3)	0%(0)
Vacuolización citoplasmática	20%(1)	20%(1)	0%(0)	100%(1)	0%(0)	0%(0)
Infiltrado de células inflamatorias	20%(1)	20%(1)	0%(0)	0%(0)	25%(1)	0%(0)
Glomerulonefritis	20%(1)	20%(1)	0%(0)	0%(0)	25%(1)	0%(0)
Hiperplasia tubular	20%(1)	20%(1)	0%(0)	100%(1)	0%(0)	0%(0)
Regeneración tubular	20%(1)	20%(1)	0%(0)	0%(0)	25%(1)	0%(0)
Mineralización	40%(2)	40%(2)	0%(0)	0%(0)	50%(2)	0%(0)
Sin lesiones	0%(0)	0%(0)	0%(0)	0%(0)	0%(0)	0%(0)

Los valores se encuentran expresados en porcentaje (%) y número de riñones con lesión (n)

En función a los resultados obtenidos se puede concluir que la presentación de lesiones “background” en los riñones de todas las especies evaluadas fue relativamente frecuente; las lesiones diagnosticadas y porcentaje de aparición de las mismas se encuentra expresado en las tablas 1, 2 y 3. Se observó que en los riñones de ratas la presentación de lesiones “background” fue de un 98% (52/53), en ratones un 84% (16/19) y en conejos el 100% (5/5), y solamente un bajo número de animales no mostró ningún hallazgo, en ratas un 2% (1/53), en ratones un 16% (3/19) y en conejos un 0% (0/5). Este estudio permitió establecer una sólida base para el diagnóstico de lesiones en los riñones de animales del CMC. Además, aporta una herramienta fundamental en la interpretación de las lesiones observadas en los estudios no clínicos y preclínicos, permitiendo la diferenciación entre lesiones verdaderas asociadas a la sustancia en evaluación y lesiones “background”. Esta información permitirá obtener resultados confiables y reproducibles en los estudios de lesiones histopatológicas, reducir el número de animales utilizados y de ensayos necesarios, contemplando los aspectos éticos, y al mismo tiempo, disminuir los recursos utilizados y por lo tanto los costos del desarrollo numerosos compuestos.

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

- Barthold S.W., Griffey S.M., Percy D.H.**, 2016. Pathology of laboratory rodents and rabbits, 4th Edition. ISBN: 978-1-118-82424-5 March 2016 Wiley-Blackwell
- Dutta S., & Sengupta P.**, 2016. Men and mice: relating their ages. *Life Sciences*, 152, 244-248
- Long G.G. & Hardisty J.F.**, 2012. Regulatory forum opinion piece. *Toxicol Pathol*, 40(7), 1079-1081.
- McInnes, E.F.**, 2012. Preface. In: McInnes, E.F. (ed.). Background lesions in laboratory animals, Saunders Elsevier, Edinburgh, pp. vii
- McInnes E.F. & Scudamore C.L.**, 2014. Review of approaches to the recording of background lesions in toxicologic pathology studies in rats. *Toxicology Letters*, 229(1), 134-143.
- McInnes E.F.**, 2017. Pathology for toxicologists: principles and practices of laboratory animal pathology for study personnel. Wiley-Blackwel.

Seely J.C. & Brix A. Kidney–Introduction. In: Cesta MF, Herbert RA, Brix A, Malarkey DE, Sills RC (Eds.), National toxicology program nonneoplastic lesion atlas. Available: <https://ntp.niehs.nih.gov/nnl/urinary/kidney/index.htm>

Zuñiga J.M., Orellana M.J.M., & Tur M.J.A., 2011. Ciencia y tecnología del animal de laboratorio. ISBN: 978-84-8138-930-2. Editorial: Universidad Alcalá de Henares. 910.