

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE  
PORTO ALEGRE – UFCSPA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA**

**Kelli Gavazzoni**

**Achados histopatológicos do efeito  
da Alamandina no tecido renal em  
modelo experimental de fibrose  
pulmonar**

**UFCSPA**

**Universidade Federal de Ciências da Saúde  
de Porto Alegre**

**Porto Alegre  
2024**

**Kelli Gavazzoni**

# **Achados histopatológicos do efeito da Alamandina no tecido renal em modelo experimental de fibrose pulmonar**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre como requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Eliane Dallegrave  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Katya Vianna Rigatto

**Porto Alegre  
2024**

## Catalogação na Publicação

Gavazzoni, Kelli Achados histopatológicos do efeito da Alamandina no tecido renal em modelo experimental de fibrose pulmonar / Kelli Gavazzoni. -- 2024.

47 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2024.

Orientador(a): Eliane Dallegrave ;  
coorientador(a):  
Katya Rigatto.

1. Histopatologia. 2. Alamandina.  
3. Rim. 4.  
Nefrotoxicidade. I. Título.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, aos meus protetores espirituais, que sempre presentes me dão força e discernimento, e a mim pela resiliência.

Sou grata à Profª Drª. Eliane Dallegrave pela oportunidade de orientação e ensinamentos.

À Profª. Drª. Katya Rigatto, pela coorientação, confiança e colaboração na construção deste trabalho.

Agradeço com carinho a Profª. Drª. Angélica Bertagnolli, pelo apoio, ensinamentos histopatológicos e me socorrer quando mais precisei.

A minha mãe, mesmo com tantas dificuldades que a vida nos impõe, está sempre presente em cada conquista.

Agradeço ao Giuliano Guimarães do laboratório de ensino em Patologia da UFCSPA, pela ajuda e conversas agradáveis.

À Dra. Renata Fernandes pelo auxílio neste trabalho, que é fruto do seu doutorado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre pela excelência.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da Bolsa de Mestrado, apoio fundamental para o desenvolvimento deste estudo.

Agradeço a todos os animais, pois nos ensinam a sermos melhores!

Dedico também a todos os animais que de forma direta ou indiretamente se  
doam para um Bem Maior!

*“Aproveitem o tempo para aprender com os animais a pureza do sentir!”*

Veludo

## RESUMO

**Introdução:** A doença renal aguda e crônica é um dos problemas mundiais que vem crescendo nas últimas décadas. A toxicidade vascular sustentada com lesão endotelial e apoptose ocasiona lesões renais com acúmulo de tecido fibrótico e perda ou agravamento da função renal. Uma vez que a filtração, secreção e reabsorção renal são dependentes da vasculatura, qualquer fármaco que apresenta efeitos relacionados aos vasos tem grande potencial de influenciar a sua função. Para minimizar os efeitos adversos sobre o sistema renal, foram estudados os possíveis efeitos da Alamandina, um novo e importante peptídeo contra-regulatório do sistema renina-angiotensina, recentemente identificada e caracterizada, nos rins de ratos. **Objetivos:** Avaliar o efeito da Alamandina no tecido renal de ratos em modelo experimental de fibrose pulmonar induzida por Bleomicina. **Materiais e Métodos:** Foram utilizados 20 ratos Wistar alocados aleatoriamente em 4 grupos (N=5/grupo): Controle (CO), tratados com Alamandina (ALA), tratados com Bleomicina (BLM) e tratados com Bleomicina e Alamandina (BLM + ALA). Os animais pertencentes aos grupos BLM e BLM + ALA, foram anestesiados e tratados por via oral com 2.5 mg/kg de BLM no 1º dia. Os animais dos grupos ALA e BLM + ALA receberam Alamandina (Sigma Aldrich, St Louis, MO, EUA) via minibombas osmóticas (OM; Alzet 2004) por via subcutânea, introduzida no mesmo dia, na dose de 50 µg/kg, fornecendo 0,25 µl/hora, por 14 dias. **Resultados:** Achados histopatológicos estavam presentes em todos os grupos experimentais, exceto nos ratos controle. As principais alterações glomerulares compreenderam aumento de volume corpuscular, redução de espaço Bowman com lobulação acentuada do tufo glomerular, sinéquia, atrofia e septação do tufo glomerular. O epitélio tubular proximal renal apresentou atrofia, perda da borda em escova e presença de cilindros protéicos no lúmen tubular. Os túbulos contorcidos distais apresentam dilatação, hipertrofia e necrose celular. **Conclusão:** As alterações apresentadas em glomérulos e túbulos renais evidenciaram que a Alamandina, isolada ou concomitante com Bleomicina, alteram essas estruturas, o que pode comprometer a função renal.

**Palavras-chave:** Alamandina, Bleomicina, glomérulos, nefrotoxicidade, túbulos renais

## ABSTRACT

**Introduction:** Acute and chronic kidney disease is an important public health problem that has been growing in recent decades. Sustained vascular toxicity with endothelial damage and apoptosis causes kidney injuries with accumulation of fibrotic tissue and loss or worsening of kidney function. Since filtration, secretion and renal reabsorption are dependent on the vasculature, any drug that has effects related to vessels has great potential to influence its function. To minimize adverse effects on the renal system, the possible effects of Alamandine, a new and important counter-regulatory peptide of the renin-angiotensin system, recently identified and characterized, were studied on the kidneys of rats. **Aim of study:** Evaluate the effect of Alamandine on the renal tissue of rats in an experimental model of pulmonary fibrosis induced by Bleomycin. **Materials and Methods:** We used 20 Wistar rats randomly allocated into 4 groups (N=5/group): Control (CO), treated with Alamandine (ALA), treated with Bleomycin (BLM) and treated with Bleomycin and Alamandine (BLM + ALA). Animals belonging to the BLM and BLM + ALA groups were anesthetized and treated orally with 2.5 mg/kg of BLM on the 1st day. Animals in the ALA groups received Alamandine (Sigma Aldrich, St Louis, MO, USA) via osmotic minipumps (OM; Alzet 2004) subcutaneously, introduced on the same day of induction, at a dose of 50 µg/kg, providing 0.25 µl/hour, for 14 days. **Results:** Histopathological findings were present in all experimental groups, except in control rats. The main glomerular changes included an increase in corpuscular volume, reduction of Bowman space with accentuated lobulation of the glomerular tuft, synechia, glomerular tuft atrophy, and glomerular tuft septation. The renal proximal tubular epithelium showed atrophy, loss of the brush border and presence of protein casts in the lumen. The distal convoluted tubules show dilation, hypertrophy and cellular necrosis. **Conclusion:** Bleomycin did not cause fibrosis in renal tissue. The changes presented in glomeruli and renal tubules showed that Alamandine, alone or concomitantly with Bleomycin, alters these structures and can compromise renal function.

**Keywords:** Alamandine; Bleomycin; glomerulus, nephrotoxicity, renal tubules

**Lista de Abreviaturas**

ALA	Alamandina
Ang A	Angiotensina A
Ang I	Angiotensina I
Ang II	Angiotensina II
Ang III	Angiotensina III
Ang IV	Angiotensina IV
Ang-(1-7)	Angiotensina 1-7
Ang-(1-9)	Angiotensina 1-9
AT1	Receptor de Angiotensina II do tipo 1
AT2	Receptor de Angiotensina II do tipo 2
ECA	Enzima conversora de Angiotensina
ECA2	Enzima conversora de Angiotensina Tipo 2
EGF	Fator de crescimento epidermal
FGF	Fator de crescimento fibroblasto
GBM	Membrana basal glomerular
GN	Glomerulonefrite
MEC	Matriz extracelular
MMP-2	Matriz Metaloproteinase 2
MMP-9	Matriz Metaloproteinase 9
MRGD	Mas-related G protein-coupled receptor member D
NEP	Endopeptidase Neutra
SRA	Sistema Renina Angiotensina
TGF- $\beta$	Fator de Crescimento Transformador – $\beta$
$\alpha$ -SMA	$\alpha$ -Actina de músculo liso, do inglês: Alpha-smooth muscle actin

**Lista de Figuras**

Figura 1: Secções de rim.....	12
Figura 2: Representação esquemática de glomérulo .....	13
Figura 3: Micrografia óptica de glomérulo, túbulos proximais e distais.....	14
Figura 4: Fibrose intersticial em rim.....	15
Figura 5: Sistema Renina-Angiotensina.....	18

**Lista de Quadro**

Quadro 1: Resumo das principais patologias e alterações renais .....	21
--	----

## SUMÁRIO

<b>1. REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>11</b>
1.1. Introdução.....	11
1.2. Histopatologia renal .....	11
1.3 Fibrose renal e processo fibrótico .....	16
1.4 Sistema renina angiotensina.....	17
1.5 Atividades da Alamandina .....	19
<b>2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>22</b>
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>29</b>
<b>4. MANUSCRITO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS.....</b>	<b>30</b>
<b>5. CONCLUSÕES .....</b>	<b>52</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>53</b>
<b>7. ANEXOS .....</b>	<b>54</b>
6.1. Parecer do Comitê de Ética da UFCSPA.....	54

## 1. REFERENCIAL TEÓRICO

### 1.1 INTRODUÇÃO

As doenças renais são um dos problemas de saúde mundiais que vem crescendo nas últimas décadas. Com o advento da medicina de precisão, novas terapias farmacológicas e melhorias nos cuidados de suporte têm surgido, bem como as alterações renais têm sido cada vez mais diagnosticadas <sup>1</sup>.

O rim tem a capacidade de se regenerar após isquemia-reperfusão e lesões tóxicas <sup>2</sup>. Entretanto, em alguns casos, ocorre acúmulo de tecido fibrótico e perda da função renal. Como consequência, há alterações hemodinâmicas sistêmicas, devido à redução da taxa de filtração glomerular e/ou do débito urinário, redução da excreção de compostos nitrogenados, aumento da sobrecarga de fluídos corporais, nefrotoxicidade por alterações no microambiente renal por causa da alta atividade metabólica, distúrbios acidobásicos, os quais favorecem a formação de cristais intrarrenais <sup>3,4</sup>.

Em lesão vascular do tipo I, as toxicidades vasculares com lesão endotelial e apoptose podem ser ocasionadas por tratamentos com agentes quimioterápicos <sup>3,5</sup>. Uma vez que a filtração, secreção e reabsorção renal são dependentes da vasculatura, qualquer fármaco que apresentar efeitos relacionados aos vasos tem grande potencial de influenciar a função renal <sup>2</sup>.

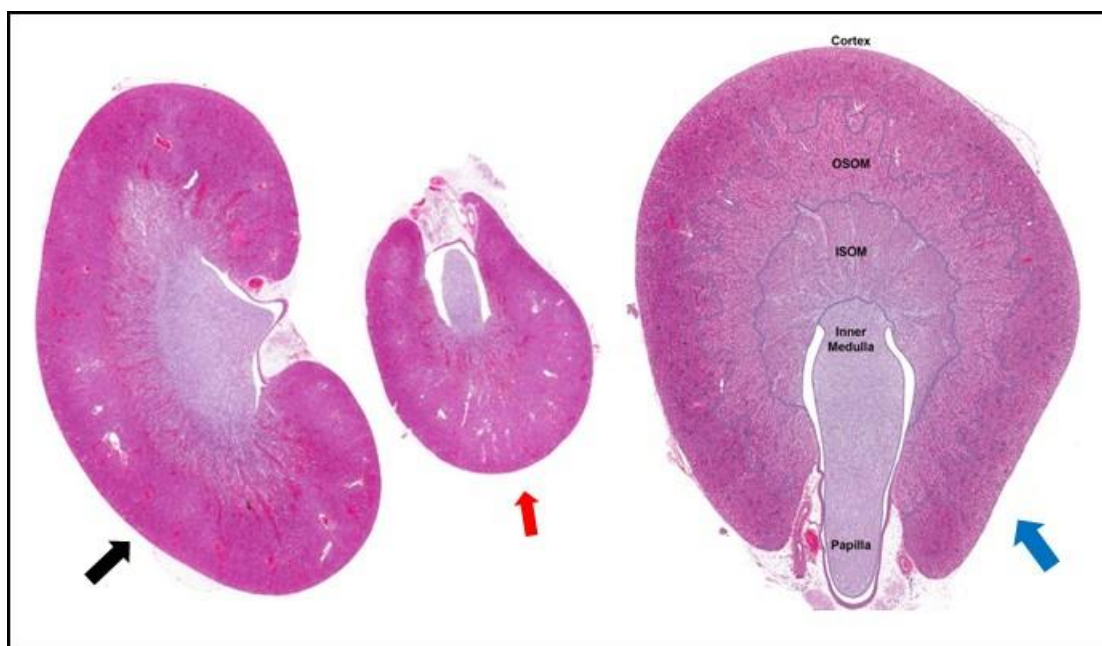
A Alamandina (ALA), um peptídeo protetor do sistema renina-angiotensina, recentemente descoberto, possui funções essenciais em algumas situações fisiopatológicas <sup>6</sup>. Estudos anteriores demonstraram que a ALA está menos concentrada no plasma de pacientes com fibrose pulmonar idiopática. Esse dado demonstra que esse peptídeo possui uma representação importante como possível terapia em outras situações em que possa ocorrer processo fibrótico tecidual <sup>7,8</sup>.

### 1.2 HISTOPATOLOGIA RENAL

A avaliação histológica de diferentes órgãos é importante para que haja o reconhecimento das estruturas e das características morfológicas que compõem os tecidos dos animais. A partir das características individuais de cada ser, existem técnicas mais adequadas que podem ser adaptadas para entender, avaliar e inter-

relacionar de maneira dinâmica os vários sistemas<sup>9</sup>. Os protocolos desses procedimentos vão variar de acordo com o tipo da espécie e do material biológico retirado de um organismo<sup>9,10</sup>.

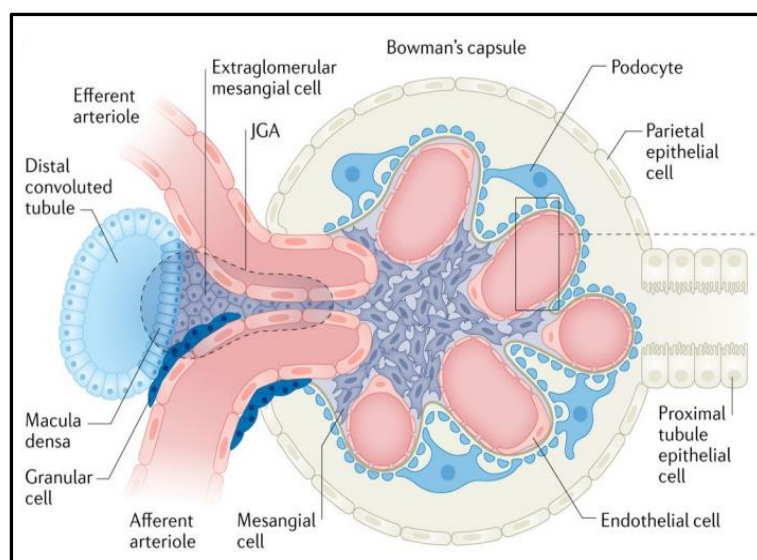
Nos rins os pontos de referência macroscópicos são: o córtex, a medula, a papila renal e a pelve renal (Figura 1). A medula é subdividida em pontos de referência indistintos: a faixa externa da medula externa (OSOM), a faixa interna da medula externa (ISOM) e a medula interna (Figura 1)<sup>11</sup>. A avaliação histológica pode ser realizada por meio da microscópica óptica, microscopia eletrônica e imunofluorescência. Podem ser visualizadas as estruturas que compõem o néfron (corpúsculo renal ou glomérulo, túbulo contorcido proximal, alça de Henle e túbulo contorcido distal), ducto coletor, o interstício e vasos sanguíneos<sup>9,10</sup>.



**Figura 1.** Rim esquerdo de rato seccionado longitudinalmente (seta preta) e rim direito seccionado transversalmente (seta vermelha). Regiões demarcadas do rim: córtex, faixa externa da medula externa (OSOM), faixa interna da medula externa (ISOM), medula interna, papila e pelve renal (seta azul). Fonte: Adaptado de Sands *et al.*, 2005<sup>11</sup>.

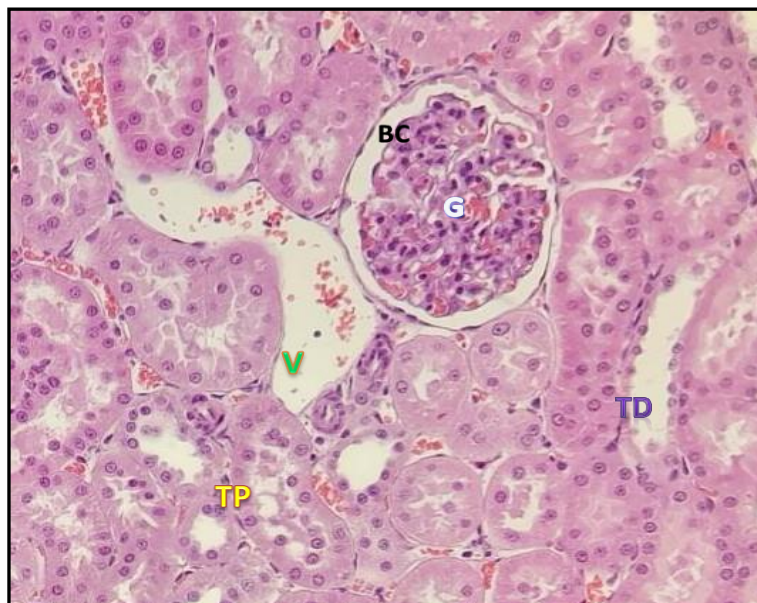
Os rins são altamente vascularizados e têm uma estrutura bastante complexa. A unidade funcional do rim, o néfron, é composta por duas partes estruturais e funcionalmente distintas, o glomérulo, que constitui aproximadamente 5% do parênquima cortical renal e os túbulos proximal, distal e alça de Henle<sup>12,13</sup>. O glomérulo (Figura 2) é formado por micro vasos que atuam como um filtro,

permitindo a passagem de pequenas moléculas como água, açúcares, eletrólitos e proteínas pequenas, enquanto retém proteínas e células de alto peso molecular na circulação. Estão presentes nos glomérulos maduros células epiteliais parietais, que formam a cápsula de Bowman; os podócitos, células altamente diferenciadas, que revestem parte externa dos capilares glomerulares e ficam voltados para o ultrafiltrado e a cápsula de Bowman; células endoteliais fenestradas, que estão em contato direto com sangue e as células mesangiais, os quais sustentam as alças capilares <sup>13</sup>.



**Figura 2.** Representação esquemática do glomérulo, demonstrando as células e estruturas que o compõem; o túbulo contorcido proximal e distal; o aparelho justaglomerular; artérias aferentes e eferentes. Fonte: Valverde *et al.* 2022 <sup>14</sup>.

Os túbulos renais (Figura 3) constituem a maior parte do parênquima renal e são distribuídos em vários segmentos. Cada um é revestido por diferentes subtipos de células epiteliais tubulares responsáveis por funções específicas na reabsorção, secreção e metabolismo de eletrólitos e água <sup>15</sup>. Assim como os glomérulos, os túbulos são circundados e sustentados pelo interstício renal composto por matriz extracelular, capilares peritubulares e células intersticiais como as células dendríticas, macrófagos e fibroblastos residentes no córtex e na medula renal <sup>16,17</sup>.



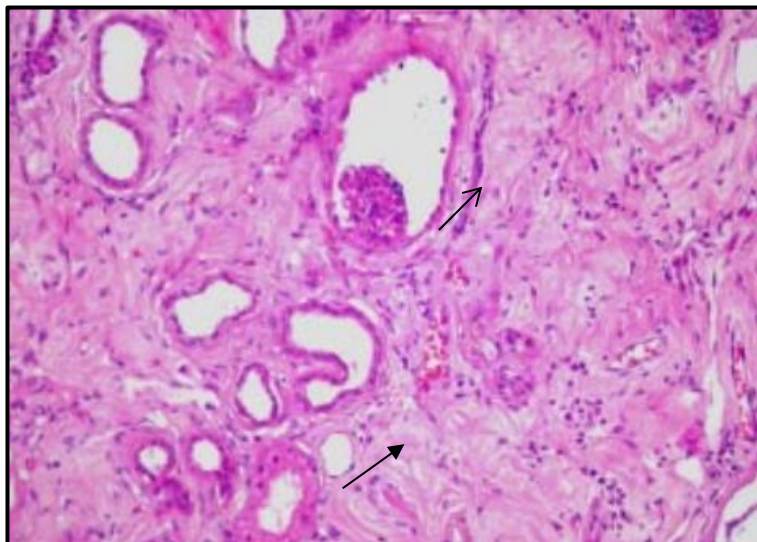
**Figura 3.** HE. Obj 10x. Rato. (b) Micrografia óptica. Glomérulo (G) em maior aumento. (BC) camada parietal da cápsula de Bowman, circundando os túbulos contorcidos proximais (TP), túbulos contorcidos distais (TD) e vaso sanguíneo (V). Fonte: imagem original do próprio autor.

Os achados histológicos renais são variados, podendo ser de lesões subjacentes ou não. Os distúrbios renais (Quadro 1) podem surgir de uma ampla gama de causas patológicas, muitas das quais são comuns em outros sistemas orgânicos, por exemplo, infecções, tumores, reações medicamentosas, alterações vasculares<sup>18</sup>. Contudo, é importante para o patologista o histórico clínico do paciente para obter um melhor direcionamento do diagnóstico<sup>9,10</sup>.

A doença renal crônica, independente da causa, é caracterizada pela perda progressiva e irreversível de néfrons, redução na capacidade regenerativa renal, danos microvasculares, alterações metabólicas, estresse oxidativo, inflamação, podendo ou não haver formação de fibrose<sup>19,20</sup>. Já a lesão renal aguda (LRA), de fisiopatologia complexa, é descrita como uma rápida diminuição da taxa de filtração glomerular, sendo as causas principais: sepse, isquemia e nefrotoxicidade, cursando danos nos diferentes segmentos do néfron<sup>21</sup>.

A presença de fibrose (Figura 4) no compartimento glomerular e tubulointersticial está relacionada ao declínio da função renal em todas as formas progressivas de doenças glomerulares, sendo ela diabética ou não, podendo levar

à doença renal ao estágio terminal <sup>22</sup>. Nas doenças fibróticas, ocorre a ativação ou proliferação de miofibroblastos, degradação defeituosa ou produção excessiva de MEC, induzidas pela presença reguladora de fatores profibróticos <sup>23</sup>.



**Figura 4.** HE. Obj. 20x. Acentuada fibrose intersticial em rim de cão. Fonte: Hunning *et al*, 2018 <sup>24</sup>.

A inflamação renal é uma resposta protetora a uma variedade de lesões do organismo na tentativa de eliminar a causa e promover o reparo. Porém, quando a inflamação é contínua, independentemente da etiologia, ocorre a lesão renal por progressão de tecido fibrótico. Além disso, fatores não imunes, incluindo espécies reativas de oxigênio, produtos de glicação e condições como hipertensão, hipóxia, hiperglicemia e proteinúria, implicam na formação da fibrose também. No entanto, os mecanismos subjacentes a essa progressão não são completamente compreendidos, com isso faltam terapias antifibróticas eficazes <sup>22</sup>.

Muitas doenças renais afetam principalmente um tipo específico de célula ou compartimento do rim: córtex, medula e pelve. A fibrose afeta os três compartimentos. Além disso, em cada compartimento as membranas basais podem sofrer espessamento fibrótico proeminente <sup>15,17</sup>. Nos estágios iniciais de doenças, a formação de fibrose pode ser encontrada apenas no compartimento afetado. Isso fornece uma dica útil para identificar a causa subjacente e estabelecer o diagnóstico. Entretanto, em estágios avançados de doenças renais, todos os compartimentos são afetados pela fibrose <sup>13,17</sup>.

### 1.3 FIBROSE RENAL E O PROCESSO FIBRÓTICO

A fibrose de órgãos é um resultado patológico comum de várias condições que resultam em lesão tecidual crônica. É definida como uma deposição excessiva de componentes da matrix extracelular (MEC) e colágeno <sup>25</sup>, que se rompe e substitui o parênquima funcional levando a falência de órgãos <sup>26</sup>. É desencadeada e modulada pelo *cross-talk* de uma infinidade de tipos de células, em particular células epiteliais, endoteliais e inflamatórias, desenvolvendo e sustentando a fibrose, além de células mesenquimais como fibroblastos, pericitos e miofibroblastos <sup>27,28</sup>.

Uma variedade de estímulos prejudiciais, como trauma, infecção, desarranjo metabólico, inflamação, autoimunidade, intoxicação, podem, portanto, induzir vias moleculares iniciando e conduzindo a fibrose <sup>29</sup>. Diabetes e hipertensão levam a doenças renais progressivas com fibrose agravadas pelo envelhecimento<sup>16</sup>, bem como anomalias genéticas e infecções virais como: imunodeficiência humana, parvovírus, citomegalovírus, Epstein-Barr <sup>30</sup>.

O papel fisiopatológico da fibrose nos rins não é completamente compreendido <sup>32</sup>. Em alguns casos, a fibrose pode atuar sob a forma de proteção, em situações que haja destruição proeminente do parênquima renal, como por exemplo, pielonefrite ou infarto renal. Nessas condições, a fibrose forma uma cicatriz que sustenta a integridade do tecido renal remanescente <sup>26,29</sup>. Por outro lado, a fibrose intersticial difusa, causada por diferentes tipos de lesão tecidual, danifica a microarquitetura renal normal do tecido <sup>12,32</sup>, interferindo na sua função, podendo se tornar irreversível <sup>15</sup>. Sendo assim, o potencial regenerativo do rim é limitado, principalmente no que se refere à estrutura glomerular <sup>12,33</sup>.

A fibrose renal não é um processo único, mas um termo que resume vários processos fibróticos em compartimentos renais específicos, com particular destaque para a composição celular e molecular <sup>26</sup>. Para projetar, desenvolver e traduzir novos tratamentos antifibróticos são necessários mais estudos relacionados para atender às necessidades clínicas específicas.

No processo fibrótico, as células mesangiais e os fibroblastos, respondem similarmente a estímulos pró-fibróticos, diferenciando-se em miofibroblastos que

produzem fibronectina, lamininas, colágeno tipo I, III e IV <sup>34</sup>. Os podócitos e células epiteliais tubulares podem sofrer transição epitélio-mesenquimal, cujas células perdem marcadores de diferenciação epitelial como a E-caderina e citoqueratina, adquirindo proteínas específicas de células produtoras de MEC como a  $\alpha$ -actina de músculo liso ( $\alpha$ -SMA) <sup>34-37</sup>. As vias de regulação do processo se dão por citocinas, hormônios e outras moléculas, sendo os fatores de crescimento como TGF- $\beta$ , EGF e FGF-2 os mais importantes. As enzimas de degradação da MEC no rim mais importantes são as MMP-2, produzidas por fibroblastos, células epiteliais, células mesangiais, e a MMP-9, produzida pelas células epiteliais glomerulares e células mesangiais <sup>34,35,37,38</sup>.

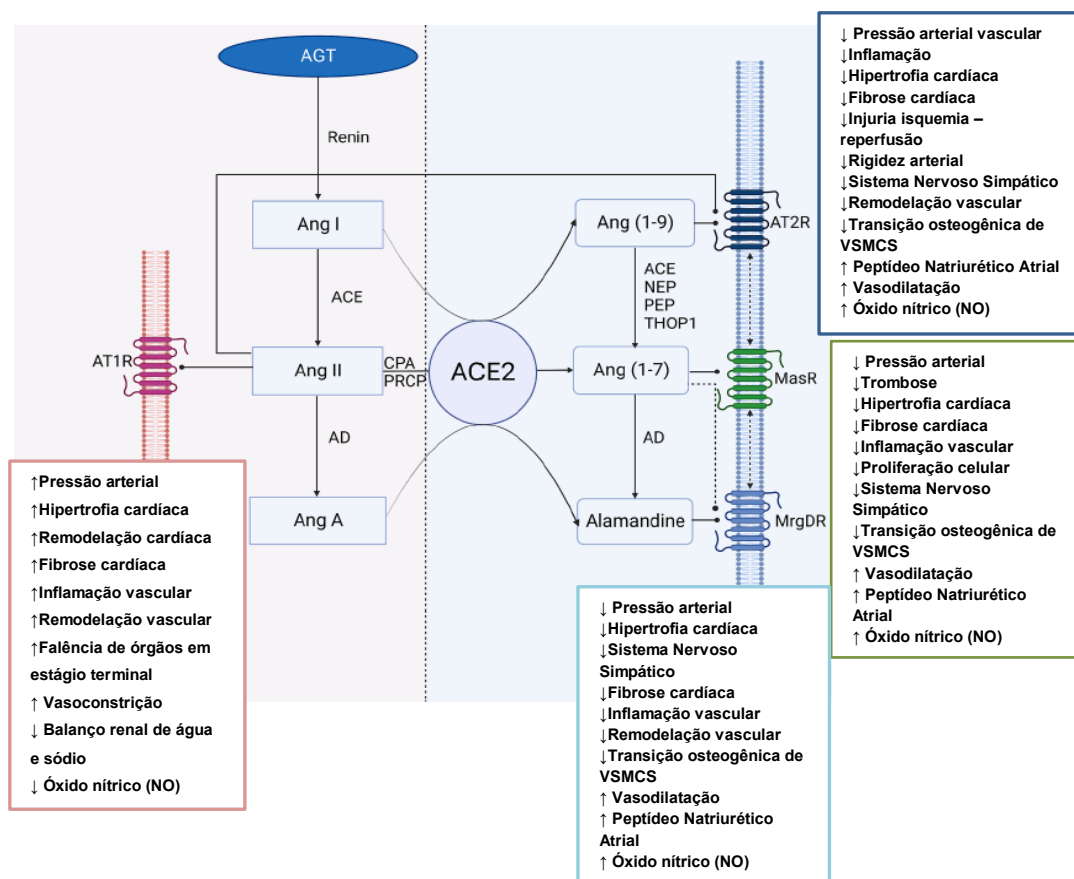
#### 1.4 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA

O sistema renina-angiotensina (SRA) é um sistema hormonal vastamente estudado. No SRA, o angiotensinogênio é sintetizado no fígado e convertido no decapeptídeo inativo Ang I pela ação da renina, uma enzima produzida pelas células justaglomerulares do rim, sendo regulada pelo grau de estiramento da arteríola aferente em resposta à hipotensão glomerular e liberada na corrente sanguínea <sup>40-42</sup>. A secreção da renina pode ser estimulada por diversos fatores, incluindo o aumento da atividade do sistema nervoso simpático, a diminuição do fluxo sanguíneo renal e/ou reabsorção de sódio no túbulo contorcido distal <sup>43,44</sup>, além da redução da pressão arterial <sup>43</sup>.

A enzima conversora da Ang I (ECA), presente na superfície luminal das células endoteliais, forma a Ang II na circulação e nos tecidos com sua identificação molecular a partir de dois receptores, AT1 e AT2 <sup>42</sup>. As vias pró-fibróticas são estimuladas preferencialmente pela ativação do receptor AT1 <sup>40</sup>.

Com os avanços recentes na compreensão do SRA foi incluída a descoberta de sistemas locais funcionais (Figura 5), bem como de novos peptídeos biologicamente ativos, receptores específicos adicionais, vias alternativas de geração de peptídeos de angiotensina, novas funções para enzimas e componentes precursores <sup>44,45</sup>. Dentre esses avanços, está a identificação do heptapeptídeo angiotensina 1-7 [Ang-(1-7)] e a ECA2, uma enzima homóloga da

ECA responsável pela conversão da Ang II em Ang-(1-7) <sup>45,46</sup> e do receptor Mas acoplado à proteína G, o qual medeia os principais efeitos de Ang-(1-7) <sup>46</sup>.



**Figura 5.** Sistema Renina-Angiotensina, clássico (E) e contra-regulador (D). Angiotensinogênio (AGT), renina (renin), angiotensina I (Ang I), enzima conversora de angiotensina (ACE), aspartato descarboxilase (AD), angiotensina II (Ang II), enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), carboxipeptidase A (CPA), prolil carboxipeptidase (PRCP), angiotensina A (Ang A), receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1R), angiotensina 1-9 [Ang (1-9)], angiotensina 1-7 [Ang (1-7)], Alamandina (Alamandine), endopeptidase neutra (NEP), prolil endopeptidase (PEP), tiocianato oligopeptidase (THOP1), receptor de angiotensina II tipo 2 (AT2R), receptor Mas (MasR), receptor acoplado à proteína G relacionado ao Mas membro D (MrgD). Fonte: Adaptado de Chen *et al.*, 2023 <sup>36</sup>.

Jankowski e cols. (2007) <sup>47</sup> identificaram um novo octapeptídeo vasoconstritor derivado da Ang no plasma humano e o denominou Ang A, onde A significa alanina. A sequência de aminoácidos desse peptídeo (Ala–Arg–Val–Tyr–Ile–His–Pro–Phe) difere da Ang II apenas em um aminoácido: alanina (Ala) em vez de aspartato (Asp).

Em 2013, pesquisadores brasileiros identificaram e caracterizaram um novo heptapeptídeo endógeno, a Alamandina (ALA) de sequência: Ala-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro, no tecido cardíaco de ratos, camundongos e no plasma humano. A ALA é

gerada pela hidrólise catalítica do octapeptídeo Ang A pela ECA2 ou por meio de uma reação de descarboxilação do Ang-(1-7). Entre a família de receptores Mrg, o Mrg tipo D (MrgD) foi identificado como o sítio de ligação para ALA <sup>6,48,49</sup>.

Os receptores MrgD são expressos principalmente na raiz dorsal e nos gânglios sensoriais. Nos testículos, bexiga urinária, artéria e útero há expressão moderada, enquanto no cerebelo, trato gastrointestinal, tecido adiposo branco e marrom está levemente expresso <sup>50</sup>.

### 1.5 ATIVIDADES DA ALAMANDINA

A ALA possui propriedades semelhantes à de outro peptídeo já conhecido, a Ang-(1-7). Ela produz efeitos antifibróticos, inibindo a formação de tecido conjuntivo <sup>35</sup>, além do efeito pressórico, capacidade antioxidante e anti-inflamatória <sup>6</sup>. Huang *et al.* (2020) <sup>42</sup> e Silva *et al.* (2017) <sup>53</sup>, demonstraram em seus estudos a capacidade antifibrótica no tecido hepático pela administração de ALA, o qual mudou o equilíbrio do SRA a favor do eixo da ECA2, reduzindo o estresse oxidativo e a produção de colágeno.

Em estudo experimental, Fernandes e cols. (2021) <sup>54</sup> demonstraram que a administração de ALA atenuou o desenvolvimento da fibrose, reduziu a elastância pulmonar e preservou o ganho de peso nos animais com fibrose pulmonar, sem afetar o controle autonômico da pressão arterial e frequência cardíaca. Sipriani *et al.* (2019) <sup>7</sup> demonstraram que, em comparação com grupo controle, a concentração plasmática de ALA era 3,65 vezes menor em pacientes com fibrose pulmonar.

Há evidências que a concentração plasmática de ALA está elevada em nefropatas, sugerindo que ela pode participar em condições patológicas possivelmente de forma compensatória <sup>6</sup>. Gong e cols. (2022) <sup>55</sup> realizaram um estudo que consistia na dieta rica em sal ofertada para ratos, para induzir fibrose no tecido renal. Após a administração de ALA, houve diminuição de tecido fibrótico e diminuição da apoptose de células epiteliais tubulares por via atenuante relacionada ao estresse oxidativo induzido pelo sal. Esses resultados indicaram que a ALA pode aliviar a disfunção renal induzida pela alta ingestão de sal.

Como a obesidade está associada a um risco aumentado de *Diabetes mellitus*, hipertensão e disfunção renal <sup>50</sup>, Uchiyama e cols. (2017) <sup>50</sup> investigaram os efeitos diretos da Ang-(1-7) e ALA na expressão e secreção de leptina extraída de tecido adiposo perirrenal e adipócitos isolados de ratos machos Wistar. Os resultados desse estudo demonstraram que a Ang-(1-7) aumentou a expressão e secreção da leptina dose-dependente, tanto no tecido adiposo quanto em adipócitos isolados, enquanto a ALA, administrada em doses baixas (5,76 µg/kg), reduziram tanto a secreção quanto a expressão da leptina *in vivo*, além de diminuir a expressão de mRNA da leptina no tecido adiposo dependente de tempo.

Por possuir efeitos semelhantes a Ang-(1-7), já foi demonstrado que a ALA pode proteger contra a nefrotoxicidade induzida por doxorubicina <sup>52,53</sup>. Muitos estudos experimentais e clínicos destacaram o papel protetor da Ang-(1-7) na hemodinâmica e funções renais em diferentes condições <sup>56,57</sup>. Contudo, nenhum estudo demonstrou os possíveis efeitos da ALA no tecido renal e em possível nefrotoxicidade frente à administração de bleomicina, foco deste estudo.

**Quadro 1.** Resumo das principais patologias e alterações renais.

Rim	Patologia	Principais características patológicas
Distúrbios Glomerulares	Rim em estágio final	Glomérulos esclerosados, túbulos atrofícos, fibrose intersticial.
	Proliferativo difuso agudo Glomerulonefrite (GN)	Glomérulos hiper celulares aumentados, infiltração de neutrófilos, alças capilares obstruídas.
	GN necrosante	Necrose do tufo glomerular, segmentar ou não, e pode estar associada com formação crescente.
	GN proliferativa mesangial	Mesângio expandido com células mesangiais aumentadas.
	GN membranoproliferativo (mesangiocapilar)	Glomérulos hiper celulares e hiperlobulares, membrana basal glomerular (GBM) de contorno duplo.
	Nefropatia membranosa	GBM espessada.
	Glomeruloesclerose segmentar e focal	Idiopática ou secundária a necrose segmentar ou perda de néfrons. Segmento de tufo pode ser substituído por fibrose. Hialinose, deposição de proteínas plasmáticas, formando uma massa eosinofílica branda.
	Doença de alteração mínima	Microscopia óptica normal e imunofluorescência, processos podocitários “fundidos” na microscopia eletrônica.
	Nefropatia diabética	Glomeruloesclerose difusa e nodular, arteríolas hialinizadas, gotas capsulares, cápsulas de fibrina, GBM espessado.
	Amiloidose renal	Deposição de proteína fibrilar insolúvel no glomérulo e nas paredes dos vasos.
Distúrbios intersticiais	Pielonefrite aguda	Infiltração do interstício e túbulos por polimorfos neutrófilos. Pode formar abscessos e pionefrose.
	Necrose tubular aguda	Túbulos renais dilatados com epitélio “simplificado” achatado, vacuolização e fragmentação do citoplasma das células tubulares.
	Nefrite túbulo-intersticial aguda	Muitas vezes devido à hipersensibilidade a medicamentos. Edema intersticial com eosinófilos e células mononucleares. Inflamação tubular focal.
	Necrose papilar renal	Necrose coagulativa na ponta da papila. Preservação de contornos dos túbulos papilares e ductos coletores. Inflamação neutrofílica. Calcificação. Isquemia, muitas vezes associada à infecção do parênquima urinário e pélvico; obstrução do trato urinário inferior, infecção de nefropatia diabética e nefropatia por analgésicos. A perda de muitas papilas, leva ao quadro de leão renal aguda.
Distúrbios vasculares	Hipertensão essencial	Artérias hipertrofiadas com espessamento fibroelástico da íntima, glomérulos esclerosados.
	Hipertensão acelerada	Necrose fibrinóide das arteríolas, espessamento da íntima em “casca de cebola” das artérias de médio e grande calibre, trombose vascular, isquemia aguda dos glomérulos.

Fonte: Adaptado de O'Dowd *et al.*, 2020<sup>18</sup>.

## 1. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DO REFERENCIAL TEÓRICO

1. Meraz-Munoz A, Langote A, Jhaveri KD, Izzedine H, Gudsoorkar PA. Acute Kidney Injury in the Patient with Cancer. *Diagnostics Journal (Basel, Switzerland)*. 2021;4(11): 611. doi:10.3390/diagnostics11040611
2. Izzedine H, Perazella MA. Anticancer Drug-Induced Acute Kidney Injury. *Kidney International Reports*. 2017; 4(2):504-514. doi:10.1016/j.ekir.2017.02.008
3. Herrmann J. Tyrosine Kinase Inhibitors and Vascular Toxicity: Impetus for a Classification System? *Current Oncology Reports*. 2016;18(6):33. doi: 10.1007/s11912-016-0514-0.
4. Cleto-Yamane TL, Gomes CLR, Suassuna JS, Nogueira PK. Acute kidney injury epidemiology in pediatrics. *Journal Brazilian Nephrology*. 2019;41(2):275-283. doi: 10.1590/2175-8239-JBN-2018-0127.
5. Azambuja E, Fleck JF, Batista RG, Menna Barreto SS. Bleomycin lung toxicity: who are the patients with increased risk? *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics Journal*. 2005;18(5):363-6. doi: 10.1016/j.pupt.2005.01.007.
6. Lautner RQ, Villela DC, Fraga-Silva RA, Silva N, *et al*. Discovery and characterization of alamandine: A novel component of the renin-angiotensin system. *Circulation Research* [Internet]. 2013;112(8):1104-11. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301077.
7. Sipriani TS, Santos RAS, Rigatto K. The Renin-Angiotensin System: Alamandine is reduced in patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Journal of Cardiology and Cardiovascular Medicine*. 2019;4(3):210–5. doi:10.29328/journal.jccm.1001070
8. Raupp D, Fernandes RS, Antunes KH, Perin FA, *et al*. Impact of angiotensin II type 1 and G-protein-coupled Mas receptor expression on the pulmonary performance of patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Peptides Journal*. 2020;133. doi:10.1016/j.peptides.2020.170384
9. Souza DS, Medrado L, Gitirana LB. Histologia. In: Molinário E. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde. 2 ed. Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, p 43-88, 2010.

10. Nascimento JC, Cruz IS, Côrtes PR, Maleck M. Histological processing: adapted techniques for rat tissues. *Revista de Saúde*. 2020;11(1):25-2.
11. Sands JM, Verlander JW. Anatomy and physiology of the kidneys. In: *Toxicology of the Kidney*, 3rd ed. Boca Raton, FL, CR Press. 2005, p. 3-56.
12. Hewitson TD. Renal tubulointerstitial fibrosis: common but never simple. *American Journal of Physiology*. 2009;296(6):F1239-44. doi:10.1152/ajprenal.90521.2008.
13. Bartlett CS, Jeansson M, Quaggin SE. Vascular growth factors and glomerular disease. *Annual Review Physiology*. 2016;78:437-61. doi: 10.1146/annurev-physiol-021115-105412.
14. Valverde MG, Mille LS, Figler KP, Cervantes E, *et al*. Biomimetic models of the glomerulus. *Nature Review Nephrology*. 2022;18(4):241-257. doi:10.1038/s41581-021-00528-x.
15. Ferenbach DA, Bonventre JV. Kidney tubules: intertubular, vascular, and glomerular crosstalk. *Current Opinion Nephrology Hypertension*. 2016; 25(3):194-202. doi: 10.1097/MNH.0000000000000218
16. Zeisberg M, Soubasakos MA, Kalluri R. Animal models of renal fibrosis. *Methods in Molecular Medicine*. 2005;117:261-72. doi: 10.1385/1-59259-940-0:261.
17. Zeisberg EM, Potenta SE, Sugimoto H, Zeisberg M, *et al*. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. *Journal of the American Society in Nephrology*. 2008;19(12):2282-87.
18. O'Dowd G, Bell S, Wright S. *Wheater's Pathology, a text, atlas and review of histopathology*. 6 ed. Elsevier. 2020.
19. Babickova, J, Klinkhammer BM, Buhl EM, Djudjaj S, *et al*. Regardless of etiology, progressive renal disease causes ultrastructural and functional alterations of peritubular capillaries. *Kidney International Journal*. 2017;91;70-85. doi: 10.1016/j.kint.2016.07.038
20. Zeisberg M, Kalluri R. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. Common and organ-specific mechanisms associated with tissue fibrosis. *American Journal Physiology, Cell Physiology*. 2012;304; C216-C225. doi: 10.1152/ajpcell.00328.2012

21. Kwiatkowska E, Domanski L, Dzieziejko V, Kajdy A, *et al.* The Mechanism of Drug Nephrotoxicity and the Methods for Preventing Kidney Damage. *International Journal Molecular Science*. 2021;22;6109. doi.org/10.3390/ijms22116109
22. Meng X-M, Nikolic-Paterson DJ, Lan HY. Inflammatory processes in renal fibrosis. *Nature Review Nephrology*. 2014;10;493-503. doi: 10.1038/nrneph.2014.114
23. Ruiz-Ortega M, Mateos-Rayego S, Lamas S, Ortiz A, *et al.* Targeting the progression of chronic kidney disease. *Nature Reviews, Nephrology*. 2020;16(5):269-288. doi.org/10.1038/s41581-019-0248-y
24. Hünning, PS, Aguiar J, Lacerda L, Sonne L, *et al.* Renal dysplasia in a dog. *Acta Scientiae Veterinariae*. 2018;37(1):73-77. doi:10.22456/1679-9216.16192
25. Parola M, Pinzani M. Pathophysiology of Organ and Tissue Fibrosis. *Molecular Aspects of Medicine Journal*. 2019;65(1). doi:10.1016/j.mam.2019.02.001.
26. Sonja D, Boor P. Cellular and molecular mechanisms of kidney fibrosis. *Molecular Aspects of Medicine Journal*. 2019;65:16-36.doi: 10.1016/j.mam.2018.06.002.
27. Duffield JS. Cellular and molecular mechanisms in kidney fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2014;(6):2299-306. doi: 10.1172/JCI72267.
28. Dimke H, Sparks MA, Thomson BR, Frische S, *et al.* Tubulovascular crosstalk by vascular endothelial growth factor a maintains peritubular microvasculature in kidney. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2015;26(5):1027-38. doi: 10.1681/ASN.2014010060.
29. Rockey DC, Bell PD, Hill JA. Fibrosis—a common pathway to organ injury and failure. *The New England Journal of Medicine*. 2015;372(12):1138-49. doi:10.1056/NEJMra1300575.
30. Endlich K, Kliewe F, Endlich N. Stressed podocytes-mechanical forces, sensors, signaling and response. *Pflügers Archiv*. 2017;469(7):937-49. doi: 10.1007/s00424-017-2025-8.
31. Soderland P, Lovekar S, Weiner DE, Brooks DR, *et al.* Chronic kidney disease associated with environmental toxins and exposures. *Advances in*

- Chronic Kidney Disease Journal*. 2010;17(3):254-64.  
doi:10.1053/j.ackd.2010.03.011.
32. Klinkhammer BM, Goldschmeding R, Floege J, Boor P. Treatment of renal fibrosis-turning challenges into opportunities. *Advances in Chronic Kidney Disease Journal*. 2017;24(2):117-129. doi:10.1053/j.ackd.2016.11.002.
33. Hewitson TD. Fibrosis in the kidney: is a problem shared a problem halved? *Fibrogenesis Tissue Repair*. 2012;5(S1). doi: 10.1186/1755-1536-5-S1-S14
34. Barnes JL, Gorin Y. Myofibroblast Differentiation During Fibrosis: Role of NAD(P)H Oxidases. *Kidney International Journal*. 2011; 79(9):944-956.  
doi:10.1038/ki.2010.516
35. Herrera J, Henke CA, Bitterman PB. Extracellular matrix as a driver of progressive fibrosis. *Journal of Clinical Investigation*. 2018;128(1):45–53.  
doi: 10.1172/JCI93557.
36. Chen H, Peng J, Wang T, Wen J, *et al*. Counter-regulatory renin-angiotensin system in hypertension: Review and update in the era of COVID-19 pandemic. *Biochemical Pharmacology Journal*. 2023; 208:115370. doi:10.1016/j.bcp.2022.115370.
37. Silva ACS, Silveira KD, Ferreira AJ, Teixeira MM. ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis. *British Journal of Pharmacology*. 2013;169(3):477-492. doi:10.1111/bph.12159.
38. Goumenos DS, Tsakas S, El Nahas AM, Alexandri S, *et al*. Transforming growth factor-beta1 in kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. *Nephrology Dialysis Transplant*. 2002;17(12):2145-52. doi: 10.1093/ndt/17.12.2145.
39. Lopez-Guisa JM, Cai X, Collins SJ, Yamaguchi I, *et al*. Mannose receptor 2 attenuates renal fibrosis. *Journal of American Society of Nephrology*. 2012;23(2):236-51. doi:10.1681/ASN.2011030310.
40. Cristina A, Martins M, Simões e Silva AC, Teixeira MM. ACE inhibition, ACE2 and angiotensin-(1-7) axis in kidney and cardiac inflammation and fibrosis. *Pharmacology Research*. 2016;107:154-162.  
doi.org/10.1016/j.phrs.2016.03.018.

41. Bitker L, Burrell LM. Classic and Nonclassic Renin-Angiotensin Systems in the Critically Ill. *Critical Care Clinic*. 2019;35(2):213-227. doi:10.1016/j.ccc.2018.11.002.
42. Silva ACS, Miranda AS, Rocha NP, Teixeira AL. Renin angiotensin system in liver diseases: Friend or foe? *World Journal Gastroenterology*. 2017;23(19):3396-3406. doi: 10.3748/wjg.v23.i19.3396.
43. Miller AJ, Arnold AC. The renin-angiotensin system in cardiovascular autonomic control: recent developments and clinical implications. *Clinical Autonomic Research*. 2019;29(2):231-243. doi.org/10.1007/s10286-018-0572-5
44. Silva ACS, Flynn JT. The renin-angiotensin-aldosterone system in 2011: role in hypertension and chronic kidney disease. *Pediatric Nephrology Journal*. 2012;27(10):1835-1845 doi: 10.1007/s00467-011-2002-y
45. Santos RA, Ferreira AJ, Simões e Silva AC. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin (1-7)-Mas axis. *Experimental Physiology*. 2008;93(5):519-27. doi:10.1113/expphysiol.2008.042002
46. Santos RAS, Silva ACS, Maric C, Silva DR, et al. Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proceeding National Academic of Sciences*. 2003;100(14): 8258-8263 doi: 10.1073/pnas.1432869100:
47. Jankowski V, Vanholder R, van der Giet M, Tölle M, et al. Mass-spectrometric identification of a novel angiotensin peptide in human plasma. *Arteriosclerosis Thrombosis Vascular Biology*. 2007;27(2):297–302. doi: 10.1161/01.ATV.0000253889.09765.
48. Mendoza-Torres E, Oyarzún A, Mondaca Ruff D, Azocar A, et al. ACE2 and vasoactive peptides: Novel players in cardiovascular/renal remodeling and hypertension. *Therapeutic Advances in Cardiovascular Disease*. 2015; 9(4):217-37. doi: 10.1177/1753944715597623.
49. Hrenak J, Paulis L, Simko F. Angiotensin A/Alamandine/MrgD axis: another clue to understanding cardiovascular pathophysiology. *International Journal Molecular of Sciences*. 2016;17(7):1098. doi: 10.3390/ijms17071098.

50. Uchiyama T, Okajima F, Mogi C, Tobo A, *et al.* Alamandine reduces leptin expression through the c-*Src*/p38 MAP kinase pathway in adipose tissue. *PLoS ONE*. 2017;12(6): e0178769. doi.org/10.1371/journal.pone.0178769
51. Sands JM, Verlander JW. Anatomy and physiology of the kidneys. In: *Toxicology of the Kidney*, 3rd ed. Boca Raton, FL, CR Press. 2005, p. 3-56.
52. Hekmat AS, Chenari A, Alipanah H, Javanmardi K. Protective effect of alamandine on doxorubicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacology and Toxicology Journal*. 2021;22(1):31. doi: 0.1186/s40360-021-00494-x.
53. Rafiee Z, Moaiedi MZ, Gorji AV, Mansouri E. p-Coumaric Acid Mitigates Doxorubicin-Induced Nephrotoxicity Through Suppression of Oxidative Stress, Inflammation and Apoptosis. *Archives of Medical Research*. 2020; 51(1):32-40. doi:1016/j.arcmed.2019.12.004
54. Fernandes RS, Dias HB, Jaques WS, Becker T, *et al.* Assessment of Alamandine in Pulmonary Fibrosis and Respiratory Mechanics in Rodents. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*.2021;18. doi.org/10.1155/2021/9975315
55. Gong J, Shen Y, Li P, Zhao K, *et al.* Superoxide anions mediate the effects of angiotensin (1-7) analog, alamandine, on blood pressure and sympathetic activity in the paraventricular nucleus. *Peptides*. 2019;118. doi.org/10.1016/j.peptides.2019.170101
56. Qaradakhi T, Apostolopoulos V, Zulli A. Angiotensin (1-7) and Alamandine: Similarities and differences. *Pharmacological Research*. 2016;111:820-826. doi:10.1016/j.phrs. 2016.07.025.
57. Nematbakhsh M. Renoprotective impact of angiotensin 1–7: Is it certain? *Nephropathology Journal*. 2019;8(1): e01. doi: 10.15171/jnp.2019.01

### **3. OBJETIVOS**

#### **GERAL:**

Avaliar o efeito da Alamandina no tecido renal de ratos em modelo experimental de fibrose pulmonar induzida por Bleomicina.

#### **ESPECÍFICOS:**

Descrever os achados histopatológicos do tecido renal dos ratos Wistar machos tratados com Bleomicina, Alamandina e em co-terapia. Será realizado o preparo das lâminas histológicas e, por meio de coloração hematoxilina-eosina e tricrômico de azan, serão avaliadas as seguintes estruturas: glomérulo, túbulo contorcido proximal, túbulo contorcido distal e interstício, referente a cada grupo experimental.

#### 4. MANUSCRITO CIENTÍFICO REDIGIDO EM INGLÊS

##### **Histopathological findings of the effect of Alamandine on the renal tissue of rats with pulmonary fibrosis**

<sup>1</sup>Kelli Gavazzoni, <sup>3</sup>Angélica C Bertagnolli, <sup>2</sup>Renata Fernandes, <sup>2</sup>Katya V Rigatto, and <sup>1,2</sup>Eliane Dallegrave

<sup>1</sup>Graduation Program in Pathology, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (KG, KVR, RF, ED), Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>2</sup>Graduation Program in Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (KG, KVR, RF, ED), Porto Alegre, RS, Brazil

<sup>3</sup>Department of Agriculture, Livestock and Rural Development, Desidério Finamor Veterinary Research Institute (ACB), Eldorado do Sul, RS, Brazil

##### ORCID

Kelli: <https://orcid.org/0009-0006-0611-4983>

Angélica: <https://orcid.org/0000-0002-4956-2085>

Katya: <https://orcid.org/0000-0001-7773-2902>

Eliane: <https://orcid.org/0000-0001-6586-2080>

Corresponding authors: Department of Pharmacosciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre (UFCSPA); Rua Sarmento Leite 245, 90050-170, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil; +555133038794; [elianedal@ufcspa.edu.br](mailto:elianedal@ufcspa.edu.br) and [kelligavazzoni@gmail.com](mailto:kelligavazzoni@gmail.com)

## 5. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo evidenciaram que a Alamandina isolada ou juntamente com Bleomicina ocasionaram alterações nas estruturas glomerulares e túbulos renais. Apesar de a Bleomicina ter efeito em ocasionar fibrose nos pulmões, nos rins não houve formação de fibrose, porém causou danos degenerativos no tufo glomerular e necrose de células nos túbulos contorcidos distais significativos. Já a Alamandina mostrou alterações significativas nos glomérulos, como aumento de volume corpuscular, atrofia e sinéquia. Enquanto os túbulos contorcidos proximais apresentaram atrofia, presença de cilindros protéicos e perda da borda em escova. Já os túbulos contorcidos distais demonstraram dilatação, hipertrofia e necrose. Estes achados indicam que a administração da Alamandina é capaz de alterar as estruturas funcionais dos rins e, possivelmente, gerar alterações funcionais no sistema como um todo.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

É importante destacar que este estudo é o primeiro a fornecer dados sobre alterações renais referentes ao peptídeo Alamandina em modelo de fibrose pulmonar ocasionada pela Bleomicina, evidenciando os efeitos resultantes nas estruturas renais, os quais são fundamentais para a manutenção de órgãos vitais. Destaca-se que os achados deste estudo podem ser utilizados para pesquisas futuras que avaliem o potencial da Alamandina em protocolos terapêuticos, incluindo potenciais efeitos adversos em órgão não alvo. Possíveis limitações podem estar relacionadas ao tamanho amostral e avaliação em um único sexo e espécie. Fica evidente que investigações mais abrangentes e precisas são essenciais. Contudo, este estudo representa um avanço importante na pesquisa básica de alterações que surgem nos rins ainda que não completamente compreendidas.

## 7. ANEXOS

### 6.1. Parecer do Comitê de Ética da UFCSPA



**COMISSÃO CIENTÍFICA E COMISSÃO DE PESQUISA E ÉTICA EM SAÚDE**

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA  
UFCSPA**

A Comissão de Ética no uso de Animais, analisou o Projeto:

**Projeto:** 17-207

**Versão do Projeto:**

**Versão do TCLE:**

**Pesquisadores:**

KATYA VIANNA RIGATTO

GUILHERME WATTE

FERNANDA BORDIGNON NUNES

JARBAS RODRIGUES DE OLIVEIRA

FABÍOLA ADELIA PERIN

**Título:** ANÁLISE TRANSLACIONAL DA PARTICIPAÇÃO DO SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA E DE CITOCINAS INFLAMATÓRIA NA FIBROSE PULMONAR.

Este projeto foi aprovado em seus aspectos éticos e metodológicos. Todo e qualquer alteração do projeto, assim com eventos adversos graves, deverão ser comunicados a esta CEUA.

Porto Alegre, 16 de abril de 2018.