

DINÂMICA DA EXCREÇÃO RENAL DOS IONS Na^+ E K^+ , RELACIONADA AO EDEMA RENAL, COMPORTAMENTO DA PRESSÃO ARTERIAL E RESPOSTAS AO USO DE AGENTE DIURÉTICO NA EVOLUÇÃO DA NEFROPATIA INDUZIDA PELA DOXORRUBICINA EM RATOS.

Ulisses R. Santos^(1,*), Adrielly K. C. Araújo⁽¹⁾, Adriana S. Santos⁽²⁾, Marcelo H. F. Ottoni⁽²⁾, Daniel Almeida Freitas⁽²⁾, Milena C. Silva⁽¹⁾, Naila S. Cunha⁽¹⁾, Gustavo O. Félix⁽¹⁾, Dirceu de S. Melo⁽³⁾, Valéria G. Almeida⁽⁴⁾, Ana C. Simões e Silva⁽⁵⁾, Gustavo E. B. Alvim de Melo⁽⁴⁾, Wagner de F. Pereira⁽⁶⁾.

1. Estudantes de I.C da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, da UFVJM.
2. Estudantes de Mestrado da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, da UFVJM.
3. Estudante de Doutorado da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, da UFVJM.
4. Pesquisadores da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde, da UFVJM.
5. Pesquisadora da Faculdade de Medicina, da UFMG.
6. FCBS-UFVJM / Departamento de Ciências Básicas/Orientador.

Resumo:

A Síndrome Nefrótica (SN) é a glomerulopatia mais comum em crianças, sendo caracterizada por proteinúria maciça, hipoalbuminemia, hiperlipidemia e edema generalizado. Apesar dos avanços científicos a fisiopatologia dessa doença ainda não está bem definida. O modelo experimental de indução da SN pelo fármaco Doxorubicina tem sido bem aceito e amplamente utilizado.

A proteinúria é suficiente para o diagnóstico da SN. Nos pacientes com SN, o edema generalizado apresenta-se com consistência mole e depressível, sendo mais acentuado nas regiões periorbitárias e nas porções declives do corpo.

Considerando-se que o edema tecidual é uma manifestação comum, tanto nos pacientes quanto em modelos experimentais de SN, procurou-se avaliar a dinâmica de excreção renal dos íons sódio e potássio, a evolução do edema e da disfunção renal, bem como, o comportamento da pressão arterial em modelo experimental de SN após o tratamento com agente diurético.

Autorização legal: Estudo aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA-UFVJM), registro 029/2014.

Palavras-chave: Síndrome Nefrótica, Modelo Experimental, Edema Renal.

Apoio financeiro: FAPEMIG (CBB - APQ-01219-14)

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UFVJM

Introdução:

A Síndrome Nefrótica (SN) caracteriza-se por proteinúria maciça, hipoalbuminemia, hiperlipidemia e edema generalizado, pode ser provocada por lesão renal primária, Síndrome Nefrótica Idiopática (SNI), ou estar associada às doenças sistêmicas. É a glomerulopatia mais comum em crianças, contudo, apesar dos avanços científicos sua fisiopatologia permanece desconhecida. O modelo animal de SN induzida pelo quimioterápico Doxorubicina, antibiótico antracíclico, tem servido bem aos propósitos investigativos desta doença, já que induz alterações bioquímicas, corporais e histológicas semelhante à nefropatia humana.

A proteinúria, especialmente de albumina, acima de 3,0 a 3,5 g/dia é suficiente para o diagnóstico da SN. Inicialmente, percebe-se um desarranjo nas paredes dos capilares glomerulares, devido especialmente à lesão dos podócitos, resultando em aumento da permeabilidade às proteínas plasmáticas. A proteinúria intensa acarreta depleção sérica de albumina, além da capacidade de reposição hepática, com conseqüente hipoalbuminemia e inversão na relação albumina-globulina no plasma.

Nos pacientes com SN, o edema generalizado apresenta-se caracteristicamente mole e depressível, sendo mais acentuado nas regiões periorbitárias e nas porções declives do corpo. Ocorre devido à perda da pressão coloidosmótica do sangue, o que provoca acúmulo de líquido nos tecidos intersticiais.

A hiperlipidemia presente nesses indivíduos ainda não tem uma etiologia definida. O tratamento da SN objetiva preservar a função renal, prevenir infecções e minimizar as complicações relacionadas ao próprio tratamento. Durante a terapia, podem

ser prescritos corticosteróides, agentes imunossupressores ou antineoplásicos, diuréticos e dieta hipossódica, com potássio liberal. A dieta visa estimular o mecanismo de bomba de sódio/potássio, ajudando na eliminação do sódio e redução do edema.

De acordo com revisão histórica realizada por Abrantes et al., em 2004, o uso de diuréticos foi suspenso na década de 60, pelo risco de induzir hipovolemia nos pacientes em tratamento. Assim, considerando-se que o edema tecidual é uma manifestação comum, tanto nos pacientes quanto em modelos experimentais de SN, procurou-se avaliar a dinâmica de excreção renal dos íons sódio e potássio, a evolução do edema e da disfunção renal, bem como, o comportamento da pressão arterial em ratos com SN induzida pela Doxorubicina, após o tratamento com agente diurético.

Metodologia:

Para o presente estudo foram utilizados Ratos *Wistar* machos, com peso entre 300 e 420 gramas. Os animais ficaram acondicionados em caixas plásticas, mantidas em ambiente apropriado, com ventilação satisfatória, ciclo claro-escuro de 12h, temperatura controlada e recebendo dieta padrão (ração) e água.

Os animais foram divididos em 3 grupos: Grupo DOXO (n=3) - ratos que receberam injeções endovenosas de Doxorubicina e não receberam tratamento posterior; Grupo DOXO-F (n=3) - ratos que receberam injeções endovenosas de Doxorubicina e foram tratados a partir do 7º dia pós injeção, com o diurético Furosemida e Grupo CON (n=3) - ratos que receberam injeção endovenosa de salina e também não receberam tratamento posterior. As injeções de Doxorubicina (7.5 mg/kg) foram aplicadas na veia caudal, em dose única. Animais do Grupo DOXO-F receberam o diurético Furosemida (3,0 mg/Kg) diariamente por gavagem, a partir do 7º dia após a injeção da Doxorubicina. Animais dos demais grupos receberam salina por gavagem, nas mesmas condições do grupo DOXO-F.

Amostras urinárias de 24 horas foram coletadas, em gaiolas metabólicas, nos tempos T-0, T-7, T-14, T-21 e T-28 dias, congeladas (-30°C) e posteriormente analisadas. Para as dosagens de Na⁺ e K⁺ utilizou-se Fotômetro de Chamas (DM-62, Digimed – Digicrom analítica Ltda, São Paulo). As análises Bioquímicas de albumina e creatinina foram realizadas em analisador Bioquímico automático, destinado a este fim.

A pressão arterial média (PAm) de

cada animal também foi avaliada nos tempos T-0, T-7, T-14, T-21 e T-28 dias pelo método de Pletismografia de Cauda (PowerLab/400 (ADInstruments, Austrália).

No 28º dia todos os animais foram eutanasiados. Após anestesia (Ketamina – 70 mg/Kg e Xylasina 10 mg/Kg), realizou-se laparotomia e toracotomia. A coleta de sangue ocorreu por punção cardíaca e, em seguida, os animais foram perfundidos com solução salina até o clareamento dos órgãos. Após o clareamento os rins foram removidos e imediatamente pesados, o rim esquerdo foi imediatamente armazenado (-30º) para posterior análise do teor de líquido tecidual e o rim direito foi preparado (soluções fixadoras) para análises histológicas. Para a avaliação do conteúdo líquido tecidual, os rins esquerdos foram desidratados, durante 48 horas à 60°C, em estufa de circulação de ar aberta. O percentual de água foi calculado pela diferença de massas entre o rim recém-removido e o mesmo órgão após a desidratação.

Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística descritiva simples, seguida de teste T e ANOVA para a devida confrontação entre as médias dos três grupos (DOXO, DOXO-F e CON). Quando necessário, foi empregado testes não paramétricos (Wilcoxon ou Kruskal-wallis) para comparação entre os subgrupos.

Resultados e Discussão:

Os animais com nefropatia apresentaram redução da massa corporal ao longo da evolução da doença renal, conforme também foi evidenciado por Pereira (2013). Essa redução ocorreu tanto nos animais do grupo não tratado (DOXO) quanto no grupo tratado com Furosemida (DOXO-F), em relação aos animais do grupo Controle (CON).

As excreções renais de Sódio (Na⁺) nos animais dos grupos DOXO e DOXO-F, apresentaram-se reduzidas em relação ao grupo CON ao longo de todo o período investigado. Contudo, a partir do 14º dia, ocorreu ligeiro aumento na excreção de Sódio no grupo DOXO-F, se comparado ao grupo DOXO, o que pode ter contribuído para a redução do edema renal neste primeiro grupo. Segundo Vande Walle e Doncherwolcke (2001) e também Rondon-Berrios e colaboradores (2011) o edema na SN está relacionado à maior retenção renal de sódio.

Em relação ao Potássio (K⁺), ocorreu aumento da excreção desse íon no grupo DOX-F quando comparado aos demais grupos, o que também era previsto devido ao mecanismo de ação da Furosemida (Martell, Longo e Seriani, 2008).

Conforme esperado, a massa renal dos animais do grupo DOXO apresentou aumento em relação ao grupo CON, o que corrobora o estudo de Pereira (2013). O tratamento com a Furosemida promoveu ligeira redução na massa renal nos animais do grupo DOXO-F, sugerindo assim, uma possível redução na intensidade do edema tecidual. De acordo com Deschenes, Feraille e Doucet (2003) os diuréticos que impedem a retenção renal de sódio continuam a ser a pedra angular do tratamento do edema nefrótico. Após a desidratação dos rins, os animais do grupo DOXO continuaram apresentando maior massa renal em relação aos outros grupos, sugerindo assim a presença de maior quantidade de tecido, o que pode ser justificado pela característica fibrosante da lesão, conforme evidenciado nos estudos de Lee e Harris (2011) e Pereira (2013). Interessantemente o grupo DOXO-F evidenciou menor massa renal desidratada, em comparação ao grupo DOXO, o que poderia sugerir um fator de proteção da Furosemida contra o fibrosamento tecidual.

Durante a evolução da nefropatia, neste modelo experimental, foi observado somente um momento de alteração na pressão arterial média (PAm). Animais do grupo DOXO apresentaram ligeiro aumento da PAm no 7º dia após a indução da nefropatia. Sabendo-se da importância dos rins para a homeostasia da pressão arterial e considerando-se que a nefropatia induzida pela doxorrubicina promove fibrose e hialinização progressivas do tecido renal, mais estudos serão desenvolvidos no sentido de analisar o comportamento da PAm neste modelo experimental.

Conclusões:

A excreção renal de Sódio e Potássio está reduzida na nefropatia experimental induzida pela Doxorrubicina. O tratamento com o diurético Furosemida aumentou a excreção desses íons e reduziu a intensidade do edema renal. Interessantemente, o tratamento com a Furosemida também reduziu o peso do rim desidratado, sugerindo assim, uma possível função protetora do fármaco contra os mecanismos de fibrosamento renal, próprios desse modelo experimental. Apesar das características fibrosantes progressivas, típicas desta doença, não foram observadas alterações na pressão arterial média nas fases tardias da lesão renal, o que precisa ser mais investigado.

Referências bibliográficas:

Pereira, W.F. **Análises bioquímicas, biométricas, histológicas e imunológicas em ratos com nefropatia induzida pela doxorrubicina.** 01 de Março 2013. 164f. Tese – Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG 01/03/2013.

Deschenes G., Feraille, E., Doucet Alain. **Mechanisms of oedema in nephrotic syndrome: old theories and new ideas.** Nephrol Dial Transplant. 2003; 18:454-456.

Vande Walle, J. G. J., Doncherwolcke, R. A. **Pathogenesis of edema formation in the nephrotic syndrome.** Pediatric Nephrology. 2001; 16(3): 283-293.

Rondon-Berrios, H. **New insights into the pathophysiology of oedema in nephrotic syndrome.** Revista Nefrología. Official Publication of the Spanish Nephrology Society. 2011; 31(2):148-54.

Martell, A., Longo, M. A. T., Seriani, C. **Aspectos clínicos e mecanismo de ação das principais classes farmacológicas usadas no tratamento da hipertensão arterial sistêmica.** Estudos de Biologia. 2008; 30(70/71/72):149-56.

Lee, VW. S, Harris, D. CH. **Adriamycin nephropathy: a model of focal segmental glomerulosclerosis** Nephrology. 2011; 16:30-38.