AVALIAÇÃO DE LESÃO RENAL AGUDA APÓS ISQUEMIA DE AORTA INFRARRENAL: COMPARAÇÃO REPERFUSÃO TOTAL, USO DE ALOPURINOL E REPERFUSÃO FRACIONADA

Luana Lopes (BIC/CnPQ), Adriana Fatima Menegat Schuinski (Orientadora), e-mail: luana-lopes@outlook.com.br.
Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Medicina.
Área: 4.01.01.00-2 Clínica Médica; Sub-área: 4.01.01.13-4 Nefrologia.

Palavras-chave Traumatismo por Reperfusão, Estresse Oxidativo, Antioxidantes.

Resumo
OBJETIVO: Avaliar lesão renal aguda após isquemia de aorta infrarrenal e ação do Alopurinol e da Reperfusão Repetida na redução de danos pós processo de isquemia/reperfusão. **MÉTODOS:** Utilizados 25 ratos Wistar divididos em: controle (C), Reperfusão Única (RU), Alopurinol e Reperfusão Única (ARU), Reperfusão Repetida (RR), Alopurinol e Reperfusão Repetida (ARR). Todos passaram por laparotomia e isquemia de aorta infrarrenal por 2h (exceto C). A administração de alopurinol nos grupos correspondentes ocorreu 1h antes da isquemia, a reperfusão repetida foi realizada mediante 3 ciclos, de 2min, de isquemia e reperfusão, intercalados. **RESULTADOS**: Todos com $p<0,05$. Os grupos com alopurinol e/ou RR tiveram redução do lactato; RR e ARR tiveram menor desgaste da capacidade antioxidante total; RU apresentou aumento de creatinina; RR apresentou necrose, e ARU apresentou redução em relação ao mesmo; RU mostrou aumento de alteração do ápice das células tubulares, enquanto ARU apresentou redução; RR, ARU e ARR apresentaram congestão glomerular; RR, ARU e ARR apresentaram dilatação dos túbulos renais.

Introdução

A redução do fluxo sanguíneo (isquemia) tem papel fundamental em muitas situações clínicas perioperatórias, mas traz diversos malefícios aos tecidos acometidos (KUMAR et al., 2010). Porém, a reperfusão, processo que deveria reverter o quadro isquêmico, por si só, é capaz de agravar o dano celular. Isso acontece porque a chegada do oxigênio forma espécies reativas do mesmo (ERO) e está associada à intensa participação de neutrófilos, os quais ampliam a resposta inflamatória. Os dois maiores desafios no controle da injúria renal aguda são o processo inflamatório e o estresse oxidativo (ASHTIYANI et al., 2013). Sendo assim, o processo de isquemia e reperfusão da aorta infrarrenal, por meio de processos fisiopatológicos proinflamatórios, pode aumentar as taxas de falência renal aguda e também aumentar a taxa de mortalidade em pacientes com doença renal já estabelecida (LIN et al., 2014).

Sendo o alopurinol e seu metabólito principal, a aloxantina, inibidores competitivo e não competitivo, respectivamente, da enzima xantina-oxidase, ele representa uma possibilidade terapêutica para a redução dos danos secundários à I/R, através da diminuição da produção de espécies reativas de oxigênio. Pode reduzir a lesão renal aguda ocasionada pelo processo de I/R, já que no rim duas importantes enzimas oxidativas são responsáveis pela geração de superóxido: a xantina oxidase (XO) e a nicotinamida adenina dinucleotídio fosfato (NADPH) oxidase (YOUNG et al., 2007). Considerando o aparecimento precoce de ERO na

lesão renal, aventa-se que estes oxirradicais estão diretamente relacionados à gênese da insuficiência deste órgão (FERRO et al., 2010).

Materiais e Métodos

Foram utilizados 25 ratos da raça Wistar foram separados em 5 grupos: controle - SHAM (C), reperfusão única (RU), reperfusão repetida (RR), alopurinol (A), alopurinol e reperfusão repetida (ARR). Todos os ratos foram anestesiados com 75 mg/Kg de Cetamina e 10 mg/Kg de Xilasina via intraperitoneal, com redoses a cada 30 min.. Os animais foram submetidos a lapatoromia com exposição da cavidade abdominal com as alças intestinais tracionadas para fora dessa cavidade. No grupo controle foi realizada a dissecção da artéria aorta, com os animais permanecendo em plano cirúrgico por duas horas. No grupo isquemia e reperfusão foi realizada a estenose da aorta por meio de clampes permanecendo em plano cirúrgico por duas horas. Com o grupo reperfusão fracionada foi realizada a estenose da aorta por duas horas com posterior três ciclos de estenose e reperfusão (2 minutos cada estenose e cada reperfusão). Os ratos do grupo alopurinol receberam, por gavagem com sonda rígida, dose de 100mg/kg de alopurinol uma hora antes do procedimento cirúrgico e depois submetidos ao mesmo procedimento de estenose e reperfusão. E o grupo alopurinol e reperfusão fracionada também recebeu por por gavagem com sonda rígida, dose de 100mg/kg de alopurinol uma hora antes do procedimento cirúrgico, e, depois, foram submetidos ao mesmo procedimento de estenose e reperfusão, sendo a última fracionada em três ciclos de estenose e reperfusão. Após as 72 horas todos os ratos foram anestesiados e foi realizada a punção de carótida para coleta de sangue. O sangue foi coletado até os animais morrerem por exsanguinação (sob anestesia). Todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais da UEPG, **019/2013**

O lactato foi dosado através do kit Lactato (Kovalent do Brasil Ltda., São Gonçalo – RJ), no equipamento Selectra Júnior automatizado. O método é UV enzimático utilizando Lactato Desidrogenase (LDH). A capacidade antioxidante total (CAT) foi mensurada através do método baseado no 2,2"–azinobis (3–etilbenzotiazolina–6–ácido sulfônico (ABTS).O resultado será expresso como porcentagem de radical capturado. A análise histológica foi realizada no Laboratório de Patologia Médica da cidade de Ponta Grossa/PR e na UEPG.

Resultados e Discussão

As reservas de ATP são rapidamente depletadas e há acúmulo de lactato; assim, a célula torna-se acidótica e são ativadas proteases intracelulares que causam a lise celular (EVORA et al., 1996). Portanto, espera-se um aumento dos níveis séricos de lactato nos animais submetidos à isquemia seguida de reperfusão comparados ao grupo C, e uma depleção dos mesmos níveis dos grupos submetidos a condicionamento com Alopurinol e/ou Reperfusão Repetida. Fato que pode ser comprovado por nosso experimento conforme FIGURA 1A.

A Capacidade antioxidante total (CAT) está relacionada a uma forma de defesa fisiológica do organismo frente a espécies reativas do oxigênio. Sendo assim, uma diminuição dos níveis de CAT sugere uma maior gama de formação de oxirradicais (NETO et al., 2005). Nossos resultados comprovaram tal afirmação, de forma que os grupos condicionados RR e ARR apresentaram maior CAT em relação ao grupo RU, uma vez que seus valores se aproximaram do fisiológico quando comparados ao grupo C.

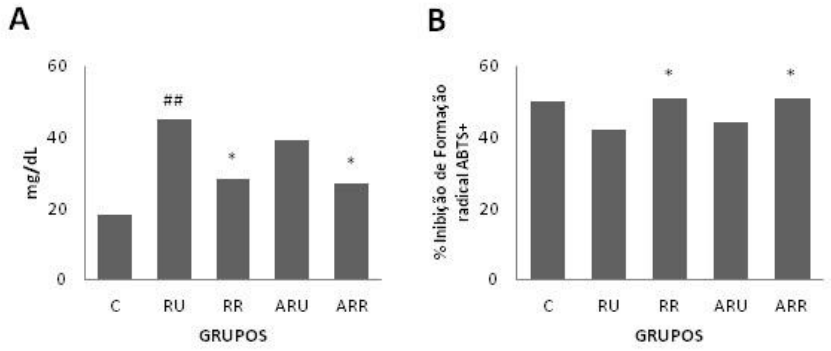


FIGURA 1. -. Avaliação de marcadores bioquímicos. A – Dosagem de lactato. B – CAT. C: controle SHAM; RU: Reperfusão única; RR: Reperfusão Repetida; ARU: Alopurinol e Reperfusão Única; ARR: Alopurinol e Reperfusão Repetida. * *P*< 0,05 em relação ao grupo relação ao grupo reperfusão única. ## p<0,05 em relação ao grupo C.

A creatinina é um resíduo metabólico, gerado durante a contração muscular, está presente em todos os fluidos corporais e é filtrada livremente pelos glomérulos, sem que ocorra reabsorção significativa. Sua importância clínica está relacionada principalmente na mensuração da função renal. Afecções que causam danos aos rins tendem a cursar com aumento da creatinina, como mostrou nosso experimento conforme FIGURA 2.

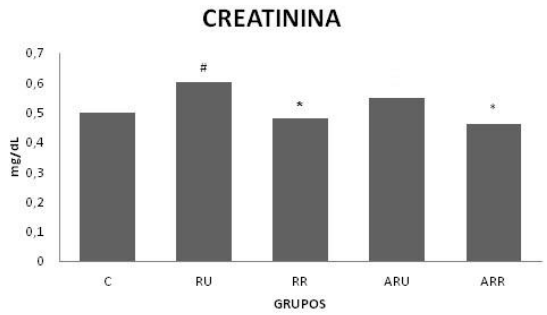


FIGURA 2. -. Avaliação de Creatinina. C: controle SHAM; RU: Reperfusão única; RR: Reperfusão Repetida; ARU: Alopurinol e Reperfusão Única; ARR: Alopurinol e Reperfusão Repetida. * p< 0,05 em relação ao grupo relação ao grupo reperfusão única. # p<0,05 em relação ao grupo C.

As alterações morfológicas que predizem a necrose isquêmica de células tubulares renais começam a aparecer após 30 minutos de isquemia e com mais de uma hora de reperfusão (RACHMAT et al., 2013). O fato é que quando ocorre a reperfusão as lesões são exacerbadas pelo aporte de oxigênio (FEITOSA et al., 2005). Este fato é confirmado por nosso modelo, uma vez que os animais do grupo RU obtiveram lesões com resultados estatisticamente significativos sobre os animais do grupo C, os quais não apresentaram lesões por não passarem pelo processo de isquemia da aorta infrarrenal. Tal resultado se compara ao encontrado por Feitosa et al (2005), em que houve alterações histológicas após lesão por isquemia/reperfusão em ratos submetidos a clampeamento de aorta infrarrenal. Os gráficos referentes a análise histológica podem ser observados na Figura 3.

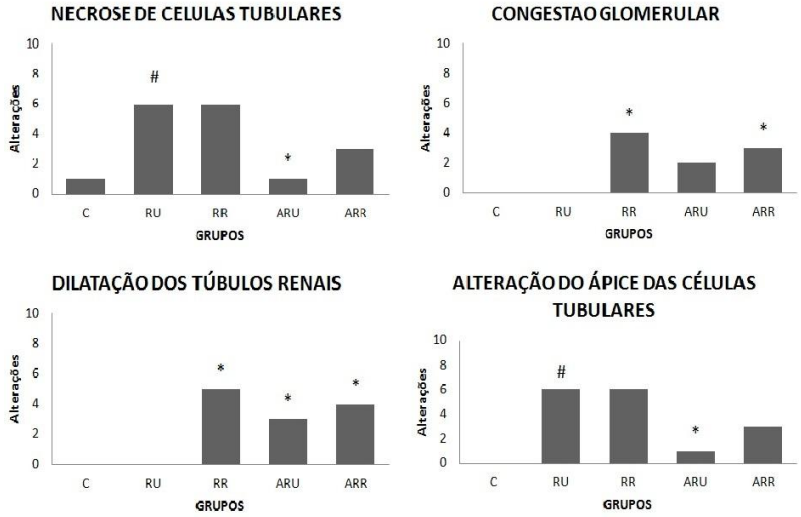


FIGURA 3. -. Análise histológica. C: controle SHAM; RU: Reperfusão única; RR: Reperfusão Repetida; ARU: Alopurinol e Reperfusão Única; ARR: Alopurinol e Reperfusão Repetida. * *p*< 0,05 em relação ao grupo reperfusão única. # p<0,05 em relação ao grupo C.

Conclusões

A oclusão da aorta infrarrenal em ratos está associada a modificações morfológicas renais. O Alopurinol apresentou resultados protetores em relação a lesões como necrose de células tubulares e alteração do ápice das células tubulares. E a Reperfusão Repetida apresentou efeitos protetores em relação a CAT, níveis de lactato e níveis de creatinina.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPQ pelo apoio e financiamento cedido. Agradeço a Deus por possibilitar a conclusão deste trabalho, a minha família e a meu namorado por todo apoio e suporte, e a minha orientadora de que sempre me guiou de forma brilhante.

Referências

1. ASHTIYANI, Saeed Changizi et al. *Rosa Canina* and Kidney Injury. **Iranian Journal of Kidney Diseases,** Arak - Iran, v. 7, n. 4, Jul 2013.
2. EVORA, Paulo Roberto et al. Lesão de isquemia-reperfusão. Aspectos fisiopatológicos e a importância da função endotelia**l. Arq Bras Cardiol**, Ribeirão Preto, v. 66, n. 4, Mai 1996.
3. FEITOSA, Ana Claudia et al. Estudo da Morfologia Renal. **Rev. Col. Bras. Cir**., São Paulo, v. 32, n. 4, Jul. / Ago. 2005
4. FERRO, Camila de Oliveira et al. A. Atividade da catalase no pulmão, rim e intestino delgado não isquemiado de ratos após reperfusão intestinal. **Rev. Col. Bras. Cir**., São Paulo, v. 37, n.1, Abril 2010
5. KUMAR, Vinay et al. Patologia: Bases patológicas das doenças. **Elsiever**, Rio de Janeiro, 8 ed., 2014.
6. LIN, Miao et al. The protective effect of baicalin against renal ischemia-reperfusion injury through inhibition of inflammation and apoptosis. **BMC Complementary and Alternative Medicine,** v. 19, n.14, Jan 2014.
7. YANG, Chih-Ching et al. Hypoxic preconditioning attenuates lipopolysaccharide-induced oxidative stress in rat kidneys. **J Physiol**, v. 1, n.582, Jul 2007.