

CARACTERIZAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL DE RATOS DAHL SENSÍVEIS E DAHL RESISTENTES E AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL EM RATOS DIABÉTICOS RESISTENTES AO CLORETO DE SÓDIO

Igor Gomes Silva (IC) e Vera de Moura Azevedo Farah (Orientadora)

Apoio: PIBIC Mackenzie

RESUMO

O diabetes *mellitus* (DM) é uma doença metabólica caracterizada pelo excesso da glicose no sangue, apresentando comprometimento na regulação da glicemia por ação da insulina. A doença renal crônica é uma importante causa de morte em populações, especialmente em indivíduos diabéticos, que apresentam risco aumentado em desenvolvimento da doença. Um modelo usado para o estudo de doenças com alterações cardiovasculares e doença renal crônica é a linhagem de ratos DAHL. Quando tratados com o fármaco estreptozotocina (STZ), esses animais apresentam um quadro semelhante a DM, condicionando estudos que se baseiem na relação da doença renal crônica a DM. Para o presente estudo foram utilizados 15 ratos Wistar DAHL, sal-sensível e sal-resistente, divididos em 3 grupos: Grupo sal-sensível controle (DSC), grupo sal-resistente controle (DRC) e grupo sal-resistente tratado com STZ (DRT). Após atingirem o peso, os animais foram acompanhados durante 21 dias e foram submetidos a gaiola metabólica, para coleta de urina e verificação do consumo de ração e água. Posteriormente, os ratos foram eutanasiados para coleta de tecidos e plasma sanguíneo. Os grupos DRC e DSC apresentaram diferenças significativas quanto ao nível de gorduras, peso dos órgãos em relação ao peso corporal e excreção de creatinina devido a sensibilidade ao sal do grupo DSC, que gerou alteração na função renal e indícios de doença renal crônica. A influência da DM induzida por STZ demonstra a relação que a diabetes tem com a doença renal crônica, já que os grupos DRC e DRT apresentaram diferenças significativas em todas as análises.

Palavras-chave: DAHL, Diabetes *Mellitus*, Doença Renal Crônica.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disease characterized by excess glucose in the blood, with involvement in the regulation of insulin action on glucose. Chronic renal disease is a major cause of death in people, especially in diabetic subjects who are at increased risk of developing the disease. A model used for the study of diseases with cardiovascular disorders and chronic kidney disease is DAHL rat strain. When treated with streptozotocin (STZ), these animals show a similar picture DM, conditioning studies that are based on the relationship of chronic kidney disease DM. For this study were used 15 Wistar DAHL, salt-sensitive and salt-resistant, divided into 3 groups: salt-sensitive control group (DSC), salt-resistant control (DRC)

and salt-resistant group treated with STZ (DRT). After reaching the weight, the animals were followed for 21 days and underwent metabolic cage for urine collection and verification of consumption of food and water. Subsequently, the rats were euthanized to collect tissue and blood plasma. The DRC and DSC groups showed significant differences in the level of fats, organ weights relative to body weight and creatinine excretion due to sensitivity DSC group of salt, which led to changes in kidney function and chronic kidney disease indications. The influence of DM induced by STZ demonstrates the relationship that has diabetes with chronic kidney disease, since DRC and DRT groups showed significant differences in all analyzes.

Keywords: DAHL, Diabetes *Mellitus*, Chronic Kidney Disease.

INTRODUÇÃO

O DM é um problema de saúde pública mundial. A Organização Mundial da Saúde fez uma projeção, sugerindo que o número de pessoas afetadas pela doença possa chegar a 300 milhões em 2025. No ano de 2000, o Brasil possuía cerca de 12 milhões de pessoas portadoras da doença e aproximadamente 50% delas, desconhecem sua condição mórbida (LERCO et al, 2003). Indivíduos diabéticos possuem hiperglicemia, devido a falha na produção da insulina, que é responsável pela ingestão da glicose nas células. Quando a insulina se encontra em níveis baixos, a taxa de glicose no sangue aumenta, pois não conseguem ingressar na célula pela falta da insulina causando hiperglicemia.

Estudos demonstram que o DM produz alterações em vários aparelhos e sistemas, sendo mais suscetíveis a complicações altamente incapacitantes como cegueira, doença renal crônica e doenças cardiovasculares, que causam grande dificuldade para a realização diária das atividades produtivas (PACE et al., 2003). O alto índice de mortalidade em decorrência de doenças cardiovasculares no mundo atual tem despertado um grande interesse de estudo entre os pesquisadores para investigar as causas e prevenção das mesmas. As doenças cardiovasculares apresentam fatores de risco como Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS), obesidade e nível de atividades físicas, sendo consideradas as principais causas de mortalidade (GONÇALVES et al., 2013).

Os rins são órgãos fundamentais para a manutenção da homeostase do corpo humano. Com a diminuição progressiva da função renal, há o comprometimento de todos os outros órgãos. A função renal é avaliada pela filtração glomerular e a sua diminuição é observada na doença renal crônica, associada a perda das funções regulatórias, excretórias e endócrinas do rim. Quando a filtração glomerular atinge valores inferiores a 15 mL/min/1,73m², estabelece-se falência funcional renal, ou seja, o estágio mais avançado de perda funcional progressiva observado pela doença (BASTOS et al., 2010).

O diabetes *mellitus* é considerada a causa mais comum da doença renal, sendo a maior parte das insuficiências renais causadas pela nefropatia diabética, que danifica os vasos sanguíneos dos rins, reduzindo a função renal.

O uso de animais ratos DAHL sensível e DAHL resistente vem sendo bastante usado como modelo de pesquisa experimental, e mostraram-se mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença renal crônica. Porém, há poucas pesquisas sobre estes animais, tanto em condições normais quanto a indução de diabetes mellitus por estreptozocina (STZ). Portanto o presente estudo tem como objetivo caracterizar a função renal de ratos DAHL sensível e DAHL resistente e avaliar a função renal em animais DAHL-resistentes ao sal, diabéticos induzidos com STZ.

REFERENCIAL TEÓRICO

O Diabetes *Mellitus* (DM) é um problema de saúde que tem aumentado exponencialmente no mundo todo. Tanto em estudos experimentais como em estudos clínicos tem-se observado alterações no controle autonômico cardiovascular assim como complicações crônicas micro e macrovasculares, resultando no alto nível de mortalidade e morbidade (FARAH et al., 2007). A DM é caracterizada pelo aumento da glicemia decorrente da regulação inadequada do metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos pelo hormônio pancreático insulina (LOBATO, 2014).

Os pacientes que possuem DM correm um grande risco de desenvolver doenças cardiovasculares e podem também desenvolver a nefropatia crônica. De fato, está bem estabelecido que a longo prazo a hiperglicemia pode causar danos renais como, por exemplo, na filtração glomerular, diurese osmótica e proteinúria (perda excessiva de proteínas através da urina). Interferindo na inervação renal, prejudicando a sensibilidade baroreflexa e a atividade nervosa simpática renal (SILVA et al., 2012).

A doença renal crônica, perda lenta do funcionamento dos rins, é caracterizada pela queda progressiva do ritmo da filtração glomerular e conseqüentemente perda das funções regulatórias, excretórias e endócrinas. Quando a queda dessa filtração atinge valores baixíssimos denomina-se falência funcional renal, comprometendo todos os órgãos do organismo (BASTOS et al., 2004).

O cloreto de sódio ofertado na dieta é um fator ambiental que tem sido pouco explorado no contexto da função renal dos diabéticos. Sabe-se que pacientes diabéticos são frequentemente sensíveis a dietas ricas em sal (LOTTENBERG et al., 2008; WEIR, 1998) e seu acréscimo pode predispor à complicações renais, acelerando as complicações microvasculares condizentes com o desenvolvimento da nefropatia diabética (JUNIA et al., 2008; SCHAAN et al., 2004; JANDELEIT-DAHME et al., 2002). Entretanto, pouco se conhece no diabetes experimental a influência da sensibilidade ao sódio no desenvolvimento das complicações renais.

Um modelo experimental bastante utilizado para avaliar a influência da sensibilidade ao sal no desenvolvimento das alterações fisiológicas é com a utilização de ratos sensíveis ao sal, onde a hipertensão é de origem genética, criado a partir de um endo-cruzamento de ratos Sprague-Dawley, baseado nos níveis pressóricos e sendo alimentados com uma dieta rica em sódio (NaCl a 8%), divididos em dois grupos. O de ratos DAHL sal-sensíveis (DS), que apresentaram uma hipertensão após a dieta hipersódica, e o de ratos DAHL sal-resistentes (DR), que mantiveram os níveis pressóricos dentro da normalidade submetidos à

mesma dieta hipersódica (JUNIOR et al., 2001). Assim sendo, os animais DAHL sal-sensíveis mostraram-se mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença renal crônica.

Experimentalmente, um modelo bastante utilizado para o estudo das complicações metabólicas e fisiológicas da DM é a administração endovenosa de Estreptozotocina (STZ) em roedores. Vários estudos, inclusive do nosso grupo, mostram as alterações cardiovasculares e renais decorrentes da destruição seletiva das células β -pancreáticas após a administração de STZ em diferentes tempos de avaliação (FIORINO et al., 2012; QUINTEIRO et al., 2014; MOSTARDA et al., 2013; DE ANGELIS et al., 2009). Animais diabéticos induzidos com STZ apresentam alterações mais comuns da diabetes descontrolada, desde hiperglicemia, hipoinsulinemia, glicosúria, polidipsia, poliúria e perda de peso (YAGIHASHI, 1995; JUNOD, 1969), até o aumento de estresse oxidativo, neuropatia, nefropatia e cardiopatia diabética (DALL'AGO et al., 1997; SCHAAN et al., 1997; JUNOD, 1969).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados para a realização dos experimentos 15 ratos machos Wistar DAHL, sal-sensível e sal-resistente, pesando inicialmente entre 200 e 250 gramas, com aproximadamente 40 dias de vida. Semanalmente, foram pesados - a partir do início do estudo até seu término - utilizando balança comercial para pequenos animais (KnWaagen) e identificados por marcação não agressiva. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada entre 22 e 25°C, ciclo claro-escuro (12 horas) durante 21 dias com livre acesso a água e alimentação no Biotério Central da Universidade Presbiteriana Mackenzie, localizado no subsolo do Ed. Amantino Vassão. Os procedimentos desenvolvidos estão na sua totalidade, condizentes às normas da Comissão de Pesquisa e Ética da Universidade Presbiteriana Mackenzie.

Os animais foram divididos em 3 grupos experimentais com 5 animais:

DAHL sal-sensível controle (DSC) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água. Sem tratamento.

DAHL sal-resistente controle (DRC) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água. Sem tratamento.

DAHL sal-resistente tratado (DRT) - Alimentados com ração industrial para ratos (Nuvilab) e água. Aplicando uma dose intravenosa de estreptozotocina (STZ).

INDUÇÃO AO DIABETE MELLITUS - ESTREPTOZOTOCINA (STZ)

O modelo do diabetes experimental consiste na destruição química seletiva das células β -pancreáticas por estreptozotocina (STZ). O diabetes foi induzido por uma única injeção

endovenosa (e.v.) de STZ (50 mg/Kg, e.v., Sigma Chemical Company, St. Louis, MO, EUA) na veia caudal (Rerup, 1970). A estreptozotocina foi dissolvida em tampão citrato (0,01M, pH 4,5) e injetada cerca de 5 minutos após a diluição. Os animais foram mantidos em jejum por 6 horas antes da indução. Ao final da indução do diabetes, os animais receberam uma solução de glicose (12,5 g/L) durante 24 horas na água de beber.

AVALIAÇÃO DA GLICEMIA

As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas 3 dias após a indução do diabetes usando Accu-CheckAdvantageBlood Glucose Monitor (Roche Diagnostic Corporation, Indianapolis, IN). Para tanto, foi coletada uma amostra de sangue (100 μ l) da veia caudal dos diferentes grupos experimentais após jejum de 4 horas.

AVALIAÇÃO EM GAIOLA METABÓLICA

Para as avaliações de ingesta hídrica, consumo de ração e do volume de urina produzidos em 24 horas, todos os grupos experimentais foram submetidos à gaiola metabólica. Os animais foram colocados individualmente em gaiolas metabólicas (Tecniplast) durante um período de adaptação de 48 horas, e posteriormente por mais 24 horas para a coleta da urina e avaliação do volume urinário.

O consumo de água também foi quantificado, verificando-se o volume antes e após o período de 24 horas na gaiola metabólica e calculando-se a diferença. O mesmo procedimento foi realizado para o consumo de ração. A urina foi coletada, centrifugada a 4°C, 5000rpm, por 10 minutos e armazenada a -20 Celsius para posteriores análises bioquímicas.

EUTANÁSIA

Ao final do protocolo experimental foi realizada a eutanásia, livre de dor e sofrimento, através de injeção intraperitoneal de Quetamina (90mg/kg) e Xilazina (10 mg/kg). O sangue total foi coletado em tubos específicos para obtenção de soro e após sua coleta foram imediatamente centrifugadas a 4°C, 12000 rpm por 10 minutos. O soro foi coletado e armazenado em freezer -20° Celsius. Os tecidos foram removidos cautelosamente e pesados em balança digital analítica.

ANÁLISE BIOQUÍMICA

As amostras de sangue e urina coletadas ao final do protocolo foram utilizadas para dosagem de colesterol total, triglicérides, VLDL, LDL, HDL, creatinina, sódio, potássio, cloreto e osmolaridade. A determinação de colesterol total, triglicérides, VLDL, LDL, HDL e creatinina foi realizada por métodos calorimétricos enzimáticos comerciais (Labtest, BR). A

osmolaridade das amostras foi avaliada em osmômetro de pressão de vapor da Advanced Instruments (Needham Heights, MA).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi feita utilizando o software STATISTIC 6.0. Os resultados foram apresentados como média $\pm$ EPM e foram estatisticamente analisados por Teste T de *Students* para amostras não pareadas. Consideraremos significativamente diferente somente quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO DO PRIMEIRO OBJETIVO

Será feita a comparação de cada uma das análises, entre o grupo DAHL Resistente Controle (DRC) e o grupo DAHL Sensível Controle (DSC).

Os resultados dos experimentos serão apresentados de acordo com a média aritmética $\pm$ erros-padrão da média dos valores individuais de peso corporal, glicemia, gaiola metabólica, relação dos órgãos com peso corporal, creatinina do soro e urina, perfil lipídico, e osmolaridade. Os gráficos e/ou tabelas foram construídos de acordo com esses valores e os dados que tiveram significância estatística serão indicados.

PESO

Os animais do grupo DAHL Resistente Controle (DRC) e DAHL Sensível Controle (DSC) não apresentaram diferença significativa no ganho de peso quando comparados, aumentando seus pesos corporais durante os 21 dias do protocolo experimental. O peso corporal inicial e o peso corporal final médio dos animais está representado no Gráfico 1. Por serem grupos controles, sem tratamento com algum tipo de droga, esse resultado é algo esperado. Mesmo sendo um grupo resistente e outro grupo sensível, essa pequena variação de pesos não foi relevante para apresentar qualquer tipo de diferença significativa no ganho de peso destes animais.

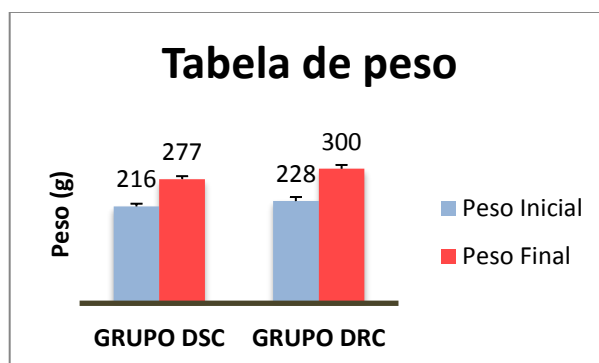


Gráfico 1: Resultados de peso inicial e peso final. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

GLICEMIA

A taxa de glicose encontrada nos grupos DRC e DSC estava dentro dos padrões normais, não demonstrando diferença significativa entre as glicemias obtidas dos dois grupos no período de 21 dias de protocolo experimental. O valor médio da glicemia dos grupos DRC e DSC estão representados no gráfico 2. Da mesma forma que o ganho corporal desses dois grupos não sofreu nenhuma diferença, o mesmo acontece com a glicemia. Esses grupos são tidos como controle e portanto, apresentam todos os padrões que grupos controles devem apresentar, já que não foram tratados com nenhuma droga, seus níveis de glicemia estão normais.

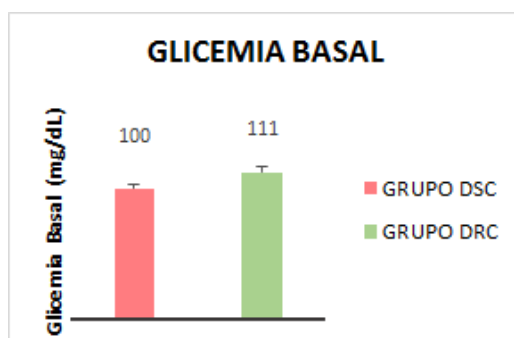


Gráfico 2: Resultados do teste glicêmico. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

GAIOLA METABÓLICA

O consumo de ração e volume urinário dos animais dos grupos DSC e DRC estão bem próximos e, apesar do consumo hídrico do grupo DSC estar um pouco maior em relação ao grupo DRC, não há diferença significativa ($p > 0,05$). O valor médio dos consumos e da urina produzida estão representados no gráfico 3. O consumo hídrico do grupo DSC se mostrou maior, talvez pela sensibilidade ao sal, e por isso estes animais consumiram mais água do que os animais do grupo DRC.

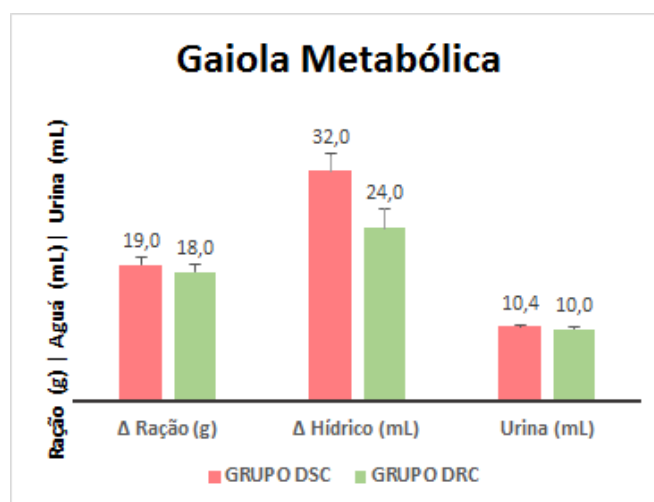


Gráfico 3: Resultados do consumo de ração, consumo hídrico e volume urinário. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

RELAÇÃO DO PESO DOS ORGÃOS COM O PESO CORPORAL

O grupo DSC, quando comparado ao grupo DRC, não apresentou diferença significativa quanto ao coração e ventrículo esquerdo, mas quanto ao fígado, rim esquerdo e direito, mostrou-se uma diferença significativa ($p < 0,05$). O valor médio da relação de órgão por peso corporal está representado na tabela 1. Os animais do grupo DSC são sensíveis ao cloreto de sódio, essa sensibilidade gera alterações cardiovasculares, levando a hipertensão e causando um aumento de tamanho dos rins esquerdo e direito na tentativa de regulação da pressão. Assim sendo, ocorreu uma alteração na atividade renal.

	Coração (mg/g)	Ventrículo Esq. (mg/g)	Rim Esq. (mg/g)	Rim Dir. (mg/g)	Fígado (mg/g)
DRC	3,00 $\pm$ 0,06	1,97 $\pm$ 0,24	3,63 $\pm$ 0,06	3,60 $\pm$ 0,06	37,95 $\pm$ 1,03
DSC	2,94 $\pm$ 0,07	2,10 $\pm$ 0,03	4,38 $\pm$ 0,14*	4,40 $\pm$ 0,16*	42,78 $\pm$ 0,52*

Tabela 1: Resultados da relação do coração, ventrículo esquerdo, rim esquerdo, rim direito e fígado com o peso corporal do animal. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

CREATININA

Quando comparamos os grupos DRC e DSC, podemos observar que houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) quanto aos níveis de creatinina na urina e, apesar de dos níveis de creatinina no soro estarem alterados, não houve diferença significativa ($p > 0,05$). O

valor médio da creatinina do soro e urina se encontram no gráfico 4. A creatina fosfato é uma proteína que atua no funcionamento dos músculos, a quebra desta proteína traz como produto a creatinina. Quando os rins não estão funcionando corretamente a filtragem de creatinina é comprometida, fazendo com que ela não seja excretada normalmente e diminuindo sua concentração na urina.

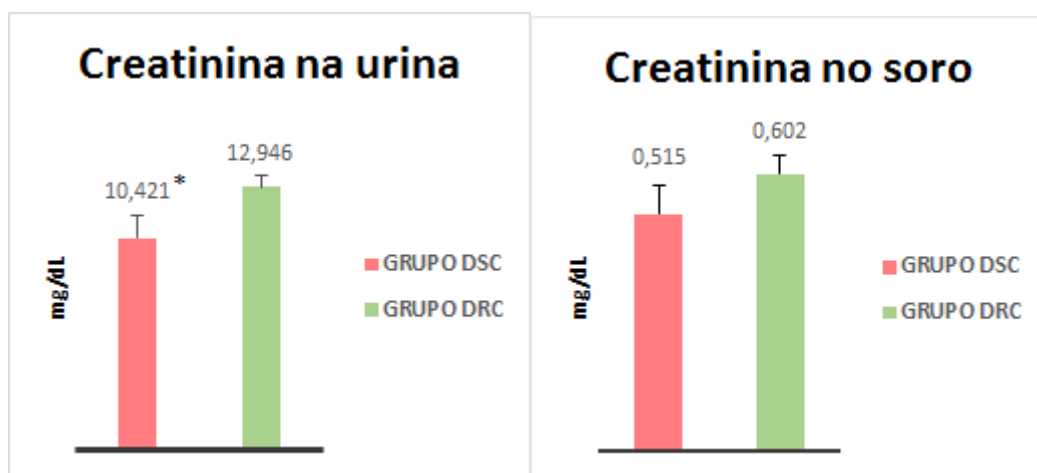


Gráfico 4: Resultados da creatinina na urina e soro. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

PERFIL LIPÍDICO

O perfil lipídico do grupo DSC comparado com o grupo DRC apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$), onde o Colesterol total e HDL (Lipoproteína de Alta Densidade) mostraram-se elevados e com VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade) diminuído, caracterizando a dislipidemia, fator que induz a síndrome metabólica. O valor médio do perfil lipídico está representado na tabela 2. A produção desregulada de colesterol pode obstruir a parede do vaso sanguíneo, denominada aterosclerose que é uma das doenças que vem causando mortalidade no país (LEHNINGER, 2006).

	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)
DRC	49,1 $\pm$ 5,4	71,6 $\pm$ 3,8	13,6 $\pm$ 1,1	9,8 $\pm$ 1,1	47,2 $\pm$ 3,4
DSC	54,9 $\pm$ 4,3	93,7 $\pm$ 2,8*	9,3 $\pm$ 0,9*	11,0 $\pm$ 0,9	73,0 $\pm$ 2,6*

Tabela 2: Resultados de perfil lipídico, com triglicérides, colesterol total, VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade), LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) e HDL (Lipoproteína de Alta Densidade).

Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

OSMOLARIDADE

Quando comparado os grupos DRC e DSC, os valores de osmolaridade do soro e urina se mostraram levemente alterados, mas sem diferença significativa ($p > 0,05$). O valor médio da osmolaridade do soro e urina se encontram no gráfico 5. Ambos os grupos são controles, por este motivo não haveria diferença significativa entre eles. Conforme é descrito na literatura, o resultado de ambos os grupos foi o esperado.

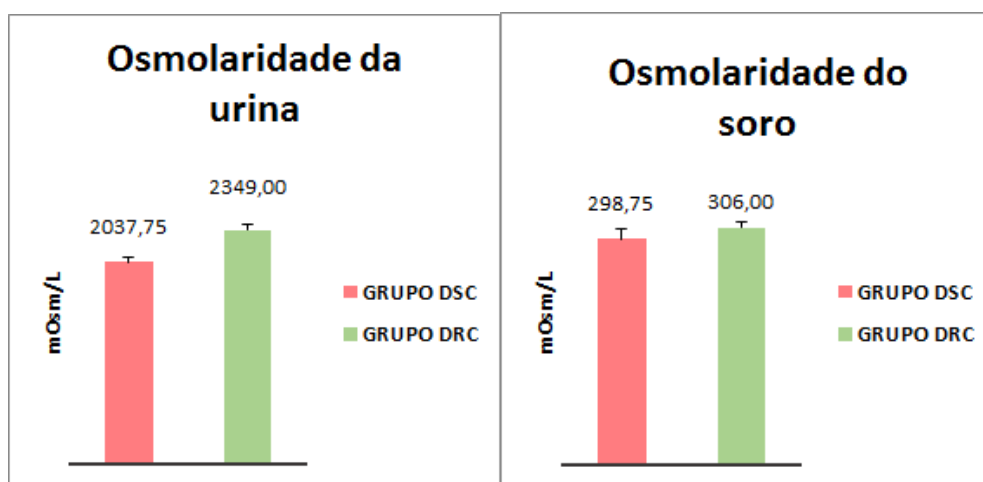


Gráfico 5: Resultados da osmolaridade da urina e soro. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DSC = DAHL-Sensível Controle. * $p < 0,05$ vs. DRC.

RESULTADOS E DISCUSSÃO DO SEGUNDO OBJETIVO

Será feita uma comparação entre o grupo DAHL Resistente Controle (DRC) e o grupo DAHL Resistente Tratado (DRT).

Os resultados dos experimentos serão apresentados de acordo com a média aritmética $\pm$ erros-padrão da média dos valores individuais de peso corporal, glicemia, gaiola metabólica, relação dos órgãos com peso corporal, creatinina do soro e urina, perfil lipídico, e osmolaridade. Os gráficos e/ou tabelas foram construídos de acordo com esses valores e os dados que tiveram significância estatística serão indicados.

PESO

Os animais do grupo DAHL Resistente Controle (DRC) e DAHL Resistente Tratado (DRT) apresentaram diferença significativa no ganho de peso corporal quando comparados, resultado que era esperado, onde o grupo tratado teve uma perda significativa de peso corporal durante os 21 dias de protocolo experimental, diferentemente do grupo controle, que

teve um aumento de peso. O peso corporal inicial e peso corporal final médio dos animais está representado no gráfico 6. Com a administração de STZ é induzido um quadro semelhante à diabetes mellitus, destruindo as células β -pancreáticas responsáveis pela produção de insulina e, assim, a glicose proveniente da alimentação se encontra em maior quantidade na corrente sanguínea do que inserida nas células, causando a perda significativa de peso corporal dos animais tratados, devido alta metabolização da gordura corporal, que se encontra em elevadas quantidades na corrente sanguínea em forma de colesterol, triglicérides e fosfolipídeos (MOSHIDES, 1988), e essa deposição de gorduras em veias e vasos, aumenta as chances de desenvolver doenças vasculares em diabéticos (KANNEI & MC GEE, 1979).

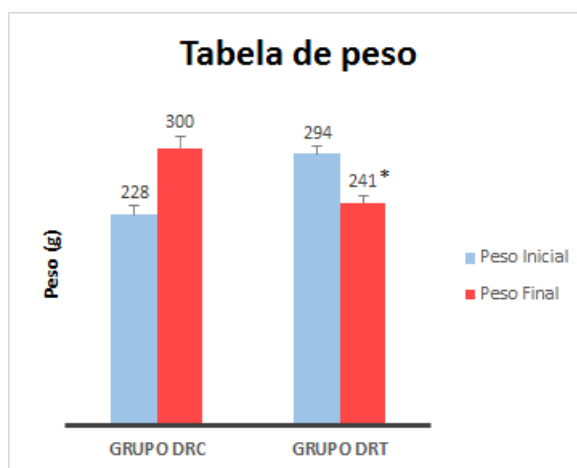


Gráfico 6: Resultados de peso inicial e peso final. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

GLICEMIA

A taxa de glicose encontrada no grupo DRT estava elevada quando comparada ao grupo DRC, apresentando hiperglicemia e diferença significativa ($p < 0,05$) entre a glicemia obtida dos dois grupos no período de 21 dias de protocolo experimental. O valor médio da glicemia dos grupos DRC e DRT estão representados no gráfico 7. Os resultados obtidos são coerentes com o que se encontra em literatura (SCHAAN, 1997; DALLAGO 1997; JUNOD, 1969) já que a ação do STZ, um agente citotóxico seletivo para as células β -pancreáticas que são responsáveis pela produção de insulina. Uma vez que essas células são destruídas, ocorre um aumento de glicemia na corrente sanguínea, caracterizando um quadro semelhante a diabetes mellitus tipo 1.

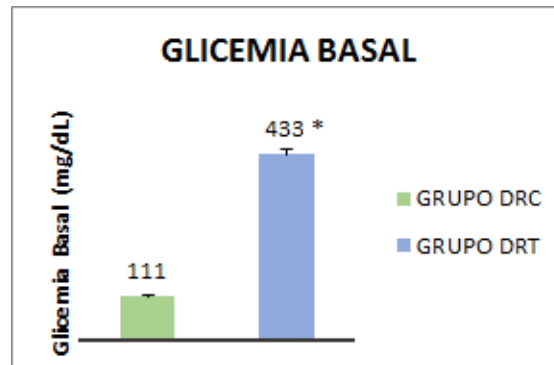


Gráfico 7: Resultados do teste glicêmico. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

GAIOLA METABÓLICA

Os grupos DRC e DRT quando comparados, apresentaram uma diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao consumo de ração, consumo hídrico e volume urinário, podendo indicar uma ação da hiperglicemia, mostrando uma relação da ingesta hídrica e perda urinária (AGUIAR, 2011). O valor médio dos consumos e do volume urinário estão representados no gráfico 8. Esse resultado já era esperado em animais com diabetes experimental induzido por STZ, apresentando sintomas característicos da doença como aumento de volume urinário, polifagia (fome excessiva) e polidipsia (sede excessiva). Confirmando assim o que se conhece na literatura. Tais alterações puderam ser notadas 5 dias após a administração de STZ (MAEDA et al, 1995).

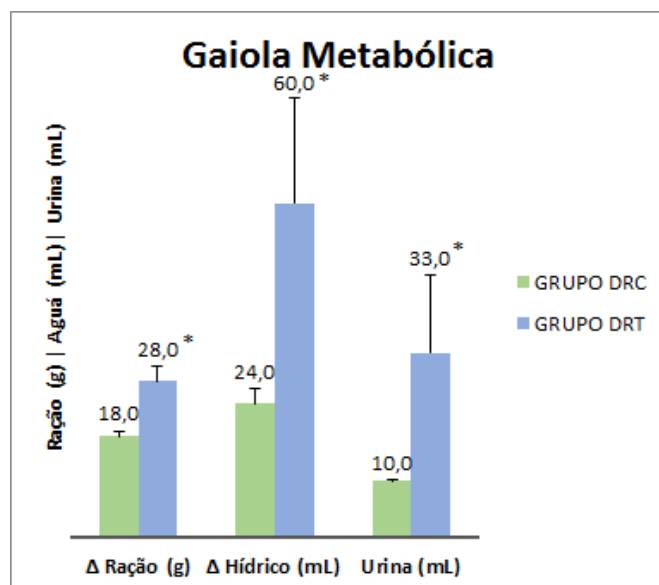


Gráfico 8: Resultados do consumo de ração, consumo hídrico e volume urinário. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

RELAÇÃO DOS ÓRGÃOS COM O PESO CORPORAL DO ANIMAL

O grupo DRT quando comparado ao grupo DRC apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) com todos os órgãos. O valor médio da relação de órgão por peso corporal está representado na tabela 3. A hipertrofia miocárdica já era um resultado esperado, é descrito na literatura em animais diabéticos, sendo uma anormalidade bastante comum decorrente das anormalidades metabólicas como hiperlipidemia e hiperglicemia. (OKOSHI et al, 2007). A hipertrofia dos rins pode ser um fator de compensação, já que eles foram lesionados, ocorreu um aumento em seu volume, com o intuito de compensar a filtração desregulada. Devido a diabetes mellitus o tamanho do fígado aumentou, elevando a produção de gorduras e depósitos dela.

	Coração (mg/g)	Ventrículo Esq. (mg/g)	Rim Esq. (mg/g)	Rim Dir. (mg/g)	Fígado (mg/g)
DRC	3,00 ± 0,06	1,97 ± 0,24	3,63 ± 0,06	3,60 ± 0,06	37,95 ± 1,03
DRT	3,76 ± 0,22*	2,52 ± 0,19*	4,41 ± 0,13*	4,38 ± 0,12*	48,07 ± 1,62*

Tabela 3: Resultados da relação do coração, ventrículo esquerdo, rim esquerdo, rim direito e fígado com o peso corporal do animal. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

CREATININA

Quando comparamos os grupos DRC e DRT, podemos observar que houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) quanto aos níveis de creatinina na urina e no soro. O valor médio da creatinina do soro e urina se encontram no gráfico 9. A creatina fosfato é uma proteína que atua no funcionamento dos músculos, a quebra desta proteína traz como produto a creatinina. Quando o nível de creatinina no soro é encontrado em maior concentração no soro do que em condições normais, podem indicar lesão nos rins, insuficiência renal e desidratação (PINTO et al, 2012). Além disso, quando os rins não estão funcionando corretamente a filtragem de creatinina é comprometida, ou seja, a creatinina produzida não será excretada e acumulando-se no soro.

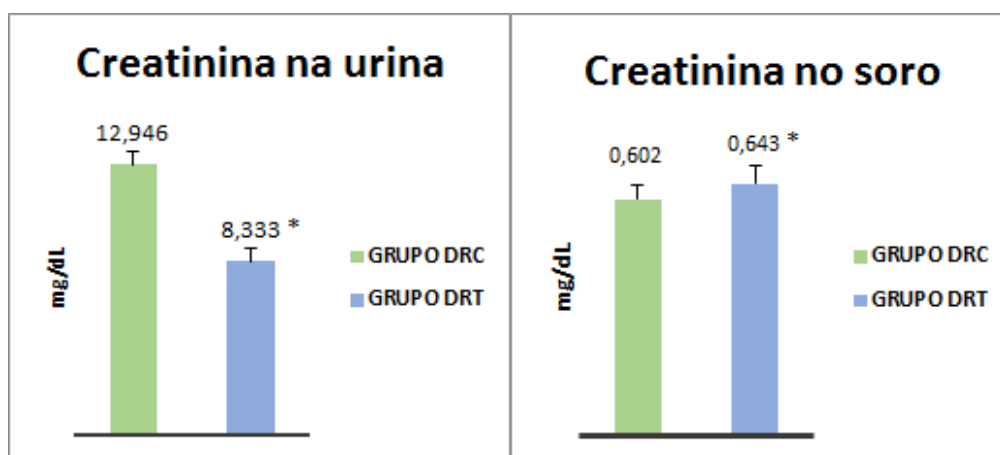


Gráfico 9: Resultados da creatinina na urina e soro. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

PERFIL LIPÍDICO

O perfil lipídico do grupo DRT comparado com o grupo DRC apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$), onde os triglicérides, VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade), LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) e HDL (Lipoproteína de Alta Densidade) mostraram-se elevados e com colesterol total diminuído, caracterizando também a dislipidemia que é a elevação das taxas de lipídios e de lipoproteínas na corrente sanguínea, outro fator que induz a síndrome metabólica. O valor médio do perfil lipídico está representado na tabela 4.

Esse perfil lipídico evidencia uma ação lipogênica, que causa no fígado estímulos de produção de triglicerídeos e sua liberação na corrente sanguínea. Sabe-se que a dislipidemia está associada ao diagnóstico da hiperglicemia, e as lipoproteínas tem como função facilitar o metabolismo lipídico e transportar estes na circulação sanguínea (PEREIRA, 2011).

	Triglicérides (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)	VLDL (mg/dL)	LDL (mg/dL)	HDL (mg/dL)
DRC	49,1 $\pm$ 5,4	71,6 $\pm$ 3,8	13,6 $\pm$ 1,1	9,8 $\pm$ 1,1	47,2 $\pm$ 3,4
DRT	103,6 $\pm$ 13,9*	62,8 $\pm$ 3,5*	16,4 $\pm$ 1,9*	20,7 $\pm$ 2,8*	29,1 $\pm$ 4,5*

Tabela 4: Resultados de perfil lipídico, com triglicérides, colesterol total, VLDL (Lipoproteína de Muito Baixa Densidade), LDL (Lipoproteína de Baixa Densidade) e HDL (Lipoproteína de Alta Densidade). Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

OSMOLARIDADE

Comparando o grupo DRT com o grupo DRC, os resultados mostraram diferenças significativas ($p < 0,05$) quanto ao nível de osmolaridade do soro, que se mostrou maior no grupo DRT e osmolaridade da urina, que se mostrou menor no grupo DRT. O valor médio da osmolaridade do soro e urina se encontram no gráfico 10. Como é descrito na literatura, essa queda na osmolaridade da urina já era um resultado esperado, pois ela se encontra bastante diluída, devido à alta ingestão hídrica dos animais. A osmolaridade do soro aumentou no grupo DRT devido a hiperglicemia causada pela diabetes mellitus, ou seja, os altos níveis de glicose circulantes na corrente sanguínea, faz com que a água passe do meio intracelular para o extracelular, a fim de manter o equilíbrio osmótico. A desidratação intracelular é percebida pelos osmorreceptores cerebrais, desencadeando polidipsia (LERCO et al, 2003).

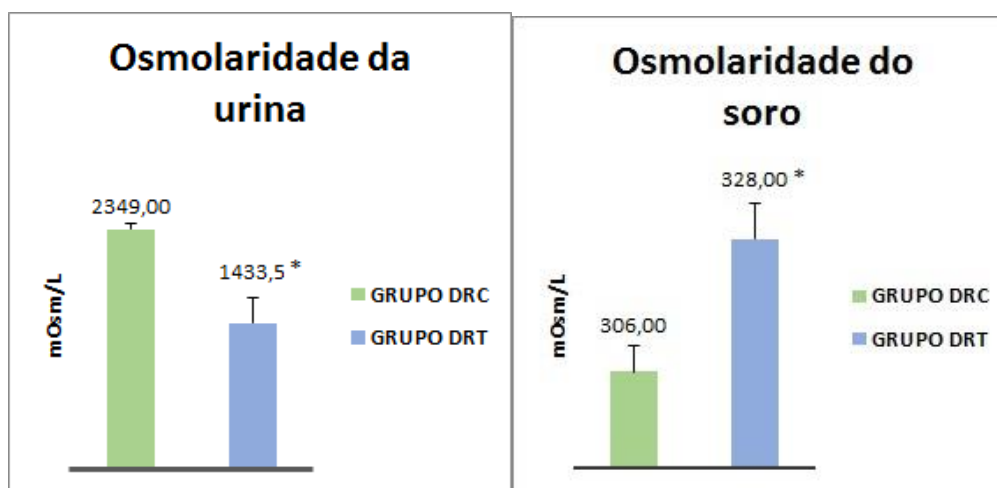


Gráfico 10: Resultados da osmolaridade da urina e soro. Os resultados estão representados no formato média $\pm$ erro padrão da média (EPM), onde DRC = DAHL-Resistente Controle e DRT = DAHL-Resistente Tratado. * $p < 0,05$ vs. DRC.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O objetivo do trabalho era caracterizar a função renal em ratos DAHL sensível e DAHL resistente, e os resultados foram o esperado, mostrando uma alteração da função renal e indícios da doença renal crônica nos animais DAHL sensíveis e avaliar a função renal em ratos DAHL resistentes diabéticos, obtendo o resultado esperado, onde houve também alterações na função renal, dando origem a insuficiência renal. Para este trabalho foram usados 5 animais para cada grupo experimental, alguns dados obtidos não mostraram diferenças significativas, talvez com o aumento do “n” experimental, possa se obter um resultado mais próximo da literatura e mostrar diferenças significativas em pesquisas posteriores.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, J. P. *Influência dos barorreceptores na evolução da cardiomiopatia e da nefropatia diabética em ratos*. São Paulo, 2011.
- BASTOS, M. G.; et al *Doença Renal Crônica: Problemas e Soluções*. J Bras Nefrol. v. 26, n.4, 2004.
- BASTOS, M. G.; et al. *Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável*. Rev Assoc Med Bras. v. 56, n. 2, p. 248-53, 2010.
- DALL'AGO, P.; et al. *Baroreflex and chemoreflex dysfunction in strptozotocin-diabetic rats*. Braz. J. Med. Biol. Res. v. 30, p. 119-24, 1997.
- DE ANGELIS, K.; et al. *Diabetes and cardiovascular autonomic dysfunction: application of animal models*. Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical. V. 145, p. 3–10, January 28, 2009.
- FARAH, V. M. A.; et al. *Autonomic modulation of arterial pressure and heart rate variability in hypert ensive diabetic rats*. Clinics. v.62, n. 4, p. 82. 2007
- FIORINO, P.; et al. *The effects of green tea consumption on cardiometabolic alterations induced by experimental diabetes*. Experimental Diabetes Reasearch. 2012.
- GONÇALVES, A. L. F.; et al. *Nível de atividade física e prevalência de fatores de risco cardiovasculares de participantes do projeto de extensão interdisciplinar*. Colloquium Vitae. v. 5, n. 2, p. 119-126, 2013.
- JUNIOR, R. F.; et al. *Modelos de hipertensão arterial*. Revista Brasileira de Hipertensão. v.8, p. 19-29, 2001.
- JUNOD, A.; et al. *Diabetogenicaction of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response*. J ClinInvest. v. 48, n. 11, p. 2129-39, 1969.
- KANNEL, W. B.; et al. *Diabetes and Cardiovascular DiseaseThe Framingham Study*. JAMA. v. 241, n. 19, p. 2035-2038, 1979.
- LEHNINGER, A.L. *Princípios de Bioquímica*. 4ª Ed. SP: Sarvier, 2006.
- LERCO, M. M.; et al. *Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial*. Acta Cirúrgica Brasileira. v. 18, n. 2, 2003.

LOBATO, R. V. *Efeitos metabólicos da ingestão de β -glucanos em ratos com Diabetes Mellitus tipo 1 induzidos por estreptozotocina*. 110 f. (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal de Lavras. Belo Horizonte, Minas Gerais. 2014.

MAEDA, C. Y.; et al. *Streptozotocin diabetes modifies arterial pressure and baroreflex sensitivity in rats*. v.28, n.4, p. 497-501, 1995.

MOSTARDA, C. T.; et al. *Low intensity resistance training improves systolic function and cardiovascular autonomic control in diabetic rats*. Journal of Diabetes and Its Complications. v. 28, p. 273–278, May–June, 2014.

OKOSHI, K. et al. *Miocardioptia Diabética*. Arq. Bras Endocrinol Metab. v. 51, n. 2, 2007.

PACE, A. E.; et al. *O conhecimento dos familiares acerca da problemática do portador de diabetes mellitus*. Revista Latino-americana Enfermagem. v. 11 n. 3, p 312-9, 2003.

PEREIRA, R. *A relação entre Dislipidemia e Diabetes Mellitus tipo 2*. Cadernos UniFOA. n. 17, 2011.

PINTO, C. F.; et al. *A sepse como causa de lesão renal aguda: modelo experimental*. Rev. esc. enferm. USP. v. 46 n. spe, 2012.

QUINTEIRO, H.; et al. *Aerobic exercise training promotes additional cardiac benefits better than resistance exercise training in postmenopausal rats with diabetes*. Menopause. 2014.

SCHAAN, B.D.; et al. *Time course of changes in heart rate and blood pressure variability in streptozotocin induced diabetic rats treated with insulin*. Braz J. Med Biol Res. v. 30, n. 9, p.1081-6, 1997.

SILVA, K. A. S.; et al. *Previous Exercise Training Has a Beneficial Effect on Renal and Cardiovascular Function in a Model of Diabetes*. Plos One. v. 7, 2012.

CONTATOS: igsw Woody@hotmail.com e vera.farah@mackenzie.br