

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEFROLOGIA

O RATO COM DIABETES MELLITUS NÃO-TRATADO

UM NOVO MODELO PARA ESTUDO DA INSUFICIÊNCIA
RENAL AGUDA INDUZIDA POR DROGAS

Ruth Teresa Bier

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Nefrologia
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre, 1984

O RATO COM DIABETES MELLITUS NÃO-TRATADO: UM NOVO
MODELO PARA ESTUDO DA INSUFICIÊNCIA
RENAL AGUDA INDUZIDA POR DROGAS

Ruth Teresa Bier

AGRADECIMENTOS

À Comissão Coordenadora do Curso de Pós-Graduação em Nefrologia da UFRGS, em especial aos Drs. Cesar Costa, Alberto Rosa e Jaime Kopstein, pelo apoio e pela compreensão dispensada, responsáveis pela realização deste trabalho.

Ao Dr. Carlos A. Vaamonde, Professor de Medicina da Escola de Medicina da Universidade de Miami e Chefe da Nefrologia do Miami Veterans Administration Medical Center, preceptor e professor orientador, por seus ensinamentos e entusiasmo no desenvolvimento e na consecução da pesquisa.

Ao Dr. Victoriano Pardo, Professor de Patologia da Escola de Medicina da Universidade de Miami, por seu valioso auxílio nos aspectos patológicos do trabalho.

A toda equipe técnica dos laboratórios de pesquisa nefrológica do Dr. C.A. Vaamonde, pela eficiente colaboração.

Agradece-se também o apoio financeiro do Governo do Estado do Rio Grande do Sul; da CAPES; da APLUB, Rio Grande do Sul; da Escola de Medicina da Universidade de Miami e Research Service of the Miami Veterans Administration Medical Center, Miami, USA.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	VI
LISTA DE FIGURAS	VII
LISTA DE ABREVIATURAS.	VIII
RESUMO	IX
ABSTRACT	XII
1 INTRODUÇÃO.	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	8
2.1 NEFROTOXICIDADE DA GENTAMICINA.	9
2.1.1 Patogênese da nefrotoxicidade da gentamicina	11
2.1.2 Alterações ao nível do nefrônio	13
2.1.3 Alterações ao nível celular	13
2.2 NEFROTOXICIDADE DO MEIO DE CONTRASTE.	19
2.3 NEFROTOXICIDADE DO CISPLATINUM.	21
2.4 PREVENÇÃO DA IRA EXPERIMENTAL EM VÁRIOS MODELOS ANIMAIS	22
2.5 PREVENÇÃO DA IRA INDUZIDA PELA GENTAMICINA EM MODELOS ANIMAIS	25
3 MATERIAIS E MÉTODOS	31
3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS	32
3.2 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS.	33
3.2.1 Experimentos 1 e 2.	33
3.2.2 Experimento 3	34

3.2.3	Experimento 4	35
3.2.4	Experimento 5	36
3.2.5	Experimento 6	37
3.2.6	Experimento 7	38
3.3	MÉTODOS	39
3.3.1	Determinações químicas.	39
3.3.2	Estudos morfológicos.	41
3.3.3	Determinações teciduais	42
3.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA	42
4	RESULTADOS.	44
4.1	EXPERIMENTO 1 - EFEITO DA DOSE MACIÇA DE GENTAMICINA NA SOBREVIDA	45
4.2	EXPERIMENTO 2 - EFEITO DO DESAPARECIMENTO DO ESTADO DIABÉTICO NA SOBREVIDA	48
4.3	EXPERIMENTO 3 - INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DO DIABETES NA PROTEÇÃO CONTRA A NEFROTOXICIDADE DA GENTAMICINA.	48
4.4	EXPERIMENTO 4 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE CISPLATINUM.	50
4.5	EXPERIMENTO 5 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DO URÂNIO NITRATO	50
4.6	EXPERIMENTO 6 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE MEIO DE CONTRASTE I.	53
4.7	EXPERIMENTO 7 - INFLUÊNCIA DA IDADE E DESIDRATAÇÃO II.	57
4.8	PATOLOGIA	59
5	DISCUSSÃO	64
5.1	FILTRAÇÃO GLOMERULAR.	69
5.2	DIURESE OSMÓTICA.	71
5.3	SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA	72
5.4	PROSTAGLANDINAS	73
5.5	ASPECTOS METABÓLICOS DO DIABETES EXPERIMENTAL..	74
6	CONCLUSÕES.	76
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	79

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEFROLOGIA

O RATO COM DIABETES MELLITUS NÃO-TRATADO: UM NOVO
MODELO PARA ESTUDO DA INSUFICIÊNCIA
RENAL AGUDA INDUZIDA POR DROGAS

por

Ruth Teresa Bier

Orientador

Prof. Dr. Jaime Kopstein

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Nefrologia
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul



Bib. Fac. Med. UFRGS

T-0030

O rato com diabetes mellitus n

Porto Alegre, 1984



LISTA DE TABELAS

Tabela I	Proteção completa contra a nefrotoxicidade da gentamicina no rato diabético não-tratado (adaptado de Teixeira et alii)	29
Tabela II	Sobrevida após a administração de dose maciça de gentamicina e efeito do desaparecimento do diabetes sobre a proteção.	46
Tabela III	Efeito da duração do diabetes sobre a proteção contra a nefrotoxicidade da gentamicina.	49
Tabela IV	Efeito do uranil nitrato sobre a função renal de ratos diabéticos e controle	52
Tabela V	Efeito do meio de contraste I - dados do período basal.	54
Tabela VI	Dados do período basal em ratos diabéticos velhos e efeito da desidratação II	56
Tabela VII	Modificações no Ccr (%) após o período de desidratação e após administração do meio de contraste II.	60
Tabela VIII	Escore de lesões patológicas II.	63

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Aspectos de microscopia de luz em rato-controle e rato diabético que receberam 200 mg/kg/peso de gentamicina durante 11 dias	47
Figura 2	Efeito do Platinum sobre o clearance da creatinina endógena em ratos-controle e diabéticos. .	51
Figura 3	Efeito do Renografin sobre o Ccr em ratos jovens, não-hidropênicos, diabéticos e controles. . . .	55
Figura 4	Efeito da desidratação sobre os valores basais de ratos velhos, diabéticos e controles	58
Figura 5	Efeito do Renografin sobre o Ccr em ratos velhos, hidropênicos, diabéticos e controles.	61

LISTA DE ABREVIATURAS

IRA	Insuficiência renal aguda
SD	Sprague-Dawley
DM	Diabetes mellitus
C	Controles
SNH	Streptozotocin não-hiperglicêmico

RESUMO

Apesar de várias décadas de pesquisa, a fisiopatologia da insuficiência renal aguda (IRA) não está totalmente esclarecida e continua sendo objeto de intensa investigação científica. Na atualidade, cerca de 25-50% de todos os casos de IRA estão associados a nefrotoxicidade por drogas que usualmente compõem o arsenal terapêutico e diagnóstico.

Dentre estas, destacam-se os antibióticos aminoglicosídeos, em especial a gentamicina, pelo uso clínico frequente e associação com o desenvolvimento de IRA no homem.

Nos animais, a gentamicina tem sido estudada exaustivamente como protótipo deste grupo de drogas e como modelo nefrotóxico de IRA.

Estudos elaborados com a finalidade de elucidar a patogênese e a prevenção da IRA induzida por nefrotoxinas têm utilizado uma variedade de modelos animais e de manobras experimentais. Muitas das últimas incluem o uso de diurese osmótica e aquosa, diuréticos e manipulações experimentais ou farmacológicas do sistema renina-angiotensina e prostaglandinas. Quanto à proteção, os resultados têm-se mostrado variáveis.

Recentemente, demonstrou-se que ratos diabéticos poliúricos não-tratados apresentam proteção completa, morfológica e funcional, contra a IRA induzida pela gentamicina, e concluiu-se que tal proteção relaciona-se em parte com a diurese osmótica característica dos animais poliúricos diabéticos não-tratados, e que também estava associada à menor acumulação renal de gentamicina.

Nos estudos apresentados, estendem-se essas observações e demonstra-se que o rato com diabetes não-tratado exibe proteção completa, morfológica e funcional, contra a IRA induzida pela gentamicina em doses altas (70 mg/Kg/peso/dia) e moderadas (40 mg/Kg/peso/dia). Apresenta também menor toxicidade em resposta a doses maciças (200 mg/Kg/peso/dia).

Apesar da proteção depender do estado diabético (Exp. 2), ocorreu independentemente de sua duração (Exp. 3) e foi associada à menor acumulação cortical renal de gentamicina (Exp. 1, 2 e 3), confirmando os estudos anteriores.

Ao testarem-se outras nefrotoxinas, observou-se que os ratos diabéticos exibiram uma proteção completa, morfológica e funcional, contra a nefrotoxicidade induzida pelo cisplatino. Observou-se ainda que o estado diabético não preveniu, mas proporcionou uma melhora da nefrotoxicidade induzida pelo uranil nitrato.

Também se constatou que, a despeito das manobras utilizadas, ratos diabéticos jovens e velhos, hidropênicos e não-hidropênicos, não exibiram IRA induzida pela administração de meio de contraste radiológico.

Neste experimento, os ratos-controle não diabéticos, também não exibiram IRA induzida pela injeção do meio de contraste, concluindo-se que o rato Sprague-Dawley, normal ou com diabetes não-tratado, não é o modelo apropriado para estudar a nefrotoxicidade do meio de contraste.

Os mecanismos envolvidos, seja na proteção, seja na melhora observada contra IRA induzida pelas nefrotoxinas utilizadas, permanecem por ser esclarecidos.

Entretanto, importantes características do estado diabético podem ser responsáveis pela proteção exibida por estes animais frente a diferentes nefrotoxinas:

- 1 - alto índice de filtração glomerular;
- 2 - diurese osmótica;
- 3 - supressão do sistema renina-angiotensina;
- 4 - prostaglandinas;
- 5 - alterações dos fosfolipídeos renais, considerados receptores de membrana ao nível do "brush-border" do túbulo proximal para muitas drogas, como a gentamicina.

Dessa forma o rato com DM não-tratado apresenta uma série de características que, em conjunto ou separadamente, podem ter atuado como mecanismos protetores contra a IRA induzida pelas diversas nefrotoxinas.

O rato com DM não-tratado, portanto é um modelo útil para o estudo da indução e prevenção da nefrotoxicidade induzida por drogas.

ABSTRACT

Despite several decades of research the pathophysiology of acute renal failure is still uncertain and under continuous investigation.

Presently about 25-50% of all cases of ARF are associated with nephrotoxicity of common therapeutic and diagnostic drugs.

Of all the drugs the aminoglycosides have emerged as very important, particularly gentamicin by its therapeutic use and association with the development of ARF in man. In animals, gentamicin has been extensively studied as a prototype of this group of drugs and as a model of nephrotoxic acute renal failure.

Studies designed to elucidate the pathogenesis and prevention of nephrotoxic-induced ARF have utilized a variety of animal models and experimental maneuvers. Many of the latter include the use of solute and water diuresis, diuretics, experimental or pharmacologic manipulations of the renin-angiotensin system and prostaglandins. The results have been of variable protection.

Recently, the polyuric rat with untreated diabetes mellitus have demonstrated complete functional and morphologic protection against gentamicin - induced ARF. It was concluded that the protection observed was related in part to the osmotic diuresis characteristic of the untreated polyuric diabetic animal and was also associated with a lower renal accumulation of gentamicin.

In the present studies those observations were extended and the rat with untreated diabetes mellitus exhibited a complete morphologic and functional protection against the ARF induced by moderate (40 mg/kg/BW/day) and high (70 mg/kg/BW/day) doses of gentamicin. Also exhibited diminished toxicity at massive dosage (200 mg/kg/BW/day).

Although the protection depended on the diabetic state (Exp. 2) it was independent of its duration (Exp. 3) and was associated with a lower renal cortical accumulation of gentamicin (Exp. 1, 2, 3) as observed in the previous studies.

When other nephrotoxic drugs were tested the diabetic rats exhibited complete functional and morphologic protection, from platinum - induced nephrotoxicity.

The diabetic state has not protected, but ameliorated the ARF induced by uranyl nitrate, an established model of ARF.

It was also observed that despite the utilized maneuvers, young and old diabetic rats, hydropenic and non-hydropenic, have not exhibited the ARF induced by administration

of contrast media.

In this experiment control non-diabetic rats also have not exhibited ARF - induced by the injection of contrast media, and it was concluded that the Sprague-Dawley rat is not the appropriate model for the study of contrast media nephrotoxicity.

The mechanism(s) of the observed protection or amelioration against the nephrotoxin - induced ARF remains to be elucidated.

However the diabetic state presents important characteristics that could be responsible for the provided protection from various nephrotoxins:

- 1) High ultrafiltration rate
- 2) Osmotic diuresis
- 3) Suppression of the renin-angiotensin system
- 4) Prostaglandins
- 5) Alterations of renal phospholipids - reputed receptor or binding site for gentamicin and other drugs in the brush border membrane of the proximal tubule.

Thus, the rat with untreated diabetes mellitus presents several characteristics that together or isolated have been operative as protective mechanisms against the ARF induced by different nephrotoxins.

Therefore the untreated rat with streptozotocin - induced diabetes mellitus is a useful model for study of the induction of and preventive mechanisms from drug - induced nephrotoxicity.

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, tem-se evidenciado que agentes terapêuticos e diagnósticos de uso comum são capazes de produzir insuficiência renal aguda (insuficiência renal aguda induzida por droga ou nefrotóxica), trazendo conseqüentemente limitações às suas aplicações clínicas.

O progresso da medicina na última década - em termos de quimioterapia e cirurgia de neoplasias malignas, transplante de órgãos, diagnóstico e terapia de doenças que deprimem o sistema imunológico - tem sido responsável, em parte, por uma crescente incidência das infecções causadas pelas múltiplas bactérias aeróbicas gram-negativas e resistentes aos antibióticos.

Os antibióticos aminoglicosídeos emergiram como o melhor tratamento de escolha para esses pacientes criticamente enfermos, que, no passado, certamente não sobreviveriam.

O uso de antibióticos aminoglicosídeos em muitos centros médicos, como nos Estados Unidos, ocupa o segundo lugar em ordem de frequência, somente sendo ultrapassado pelas penicilinas ou cefalosporinas.

Apesar do desenvolvimento de novos agentes aminoglicosídeos com ampla atividade antibacteriana, o maior problema em relação ao seu uso terapêutico tem sido a sua nefrotoxicidade.

dade em potencial. Em variados graus, todos os antibióticos aminoglicosídeos possuem efeito tóxico potencial sobre os rins e sobre o oitavo nervo craniano.

De todos os aminoglicosídeos, a gentamicina é frequentemente associada ao desenvolvimento da insuficiência renal aguda (IRA) no homem. Nos animais, a gentamicina tem sido exaustivamente estudada como um protótipo deste grupo de drogas e como um modelo nefrotóxico de IRA.

Obteve-se grande progresso no entendimento da IRA causada pela gentamicina, entretanto, assim como em outros modelos experimentais de IRA, a sua exata fisiopatologia permanece ainda desconhecida.

Apesar de várias décadas de pesquisa, a fisiopatologia da IRA em geral permanece ainda incerta e persiste, sendo um desafio aos investigadores. Observações, no homem e nos animais, têm fundamentado a elaboração de várias teorias patogênicas sobre a IRA:

- 1) Retrodifusão do filtrado glomerular;
- 2) Obstrução tubular;
- 3) Fatores vasculares;
- 4) Alteração da permeabilidade glomerular.

Na IRA nefrotóxica, os mecanismos responsáveis pela indução da insuficiência renal podem diferir - quer na predominância, quer na ordem cronológica de aparecimento - daqueles presentes na IRA do tipo isquêmico.

Manobras para prevenir o desenvolvimento da IRA têm sido usadas em vários modelos experimentais, com o objetivo de elucidar os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pela iniciação e manutenção da IRA.

A análise das medidas que protegem animais experimentais do desenvolvimento da IRA tem sido de extrema utilidade para estudar a patogênese desta entidade.

Ao usar medidas preventivas para este propósito, pressupõe-se que a manobra protetora bloqueia ou altera o processo patogênico que, se não fosse impedido, levaria à IRA. Esta conduta pode então oferecer algumas conclusões em relação à patogênese de um modelo particular de IRA.

Recentemente, demonstrou-se¹ que o rato com diabetes mellitus não-tratado apresenta uma proteção completa contra a IRA induzida pela gentamicina.

O rato com diabetes mellitus não-tratado revelou-se, pois, um modelo experimental promissor para o estudo de proteção contra a IRA.

Assim sendo, os experimentos relatados nesta pesquisa objetivam testar o modelo de proteção do rato com diabetes mellitus não-tratado nas seguintes condições:

- a) usando doses maciças de gentamicina;
- b) utilizando a cura espontânea do diabetes mellitus;
- c) variando a duração do estado diabético;

- d) utilizando outros agentes nefrotóxicos conhecidos, como o cisplatinum, o uranil nitrato e o meio de contraste radiológico.

A importância de tal pesquisa reside na possibilidade de avaliar o valor do modelo experimental (rato com diabetes mellitus não-tratado), para o estudo de nefrotoxicidade induzida por drogas. Os aspectos testados foram os seguintes:

- a) Resistência à dose maciça de gentamicina no rato diabético (Experimento 1).

Ao revelar-se maior resistência nos ratos diabéticos do que nos controles, reforçam-se as teorias correntes de transporte de gentamicina através do túbulo renal (ligação da gentamicina ao receptor localizado no bordo em escova do túbulo proximal).

- b) Resistência à administração de gentamicina em animais diabéticos que perderam espontaneamente tal estado (Experimento 2). Se estes animais evidenciarem nefrotoxicidade, favorece-se a influência direta do estado diabético na proteção demonstrada.

- c) Influência da duração do diabetes na proteção contra a nefrotoxicidade da gentamicina (Exp. 3). Em estudos anteriores, os ratos protegidos eram diabéticos 4 a 6 meses antes da administração de gentamicina. É concebível que alterações anatômicas sutis, determinadas pela presença do diabetes de curta dura-

ção, sejam necessárias para conferir proteção. Contrariamente, se fatores metabólicos ou da hemodinâmica renal forem os responsáveis pela proteção, espera-se que sejam operativos logo após a indução do estado diabético.

- d) Resistência do rato diabético a conhecidos agentes nefrotóxicos, como o cisplatinum, agente antineoplásico de largo uso (Experimento 4); uranyl nitrate, droga experimental bastante utilizada para produzir IRA (Experimento 5), contraste radiológico, agente diagnóstico nefrotóxico (Experimentos 6 e 7).

O cisplatinum (CIS - diaminodicloroplatinum) é um agente antineoplásico clinicamente importante. Possui significativa atividade contra neoplasias testiculares e tumores da cabeça e do pescoço. Um dos maiores fatores limitantes do seu uso clínico é a nefrotoxicidade.

O uranyl nitrate é droga utilizada em pesquisa e constitui-se num modelo experimental estabelecido de IRA.

O uso de contraste radiológico pode induzir o desenvolvimento de IRA. A exata incidência da nefrotoxicidade desta droga é difícil de estabelecer, mas, atualmente, vem sendo relatado um número crescente de casos.

O fato de estes três agentes serem causadores de nefrotoxicidade, embora por diferentes mecanismos, revela o interesse em avaliar seu potencial nefrotóxico num modelo animal

que apresente resistência a outro agente nefrotóxico, no caso, a gentamicina, que age por diferentes mecanismos patogênicos.

Acredita-se também que tais estudos possibilitem a ampliação do conhecimento dos mecanismos de proteção evidenciados pelo rato diabético não-tratado contra as nefrotoxinas em geral.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Nefrotoxicidade da gentamicina*

2.2 *Nefrotoxicidade do meio de contraste*

2.3 *Nefrotoxicidade do cisplatinum*

2.4 *Prevenção da IRA experimental em vários modelos animais*

2.5 *Prevenção da IRA induzida pela gentamicina em modelos animais*

Uma revisão da patogênese da IRA está além dos objetivos desta dissertação, pois que o trabalho apresentado envolve um modelo original de proteção contra os efeitos nefrotóxicos de agentes conhecidos. Dessa forma, a revisão da literatura relaciona-se com:

- 1) Prevenção da IRA experimental em vários modelos animais;
- 2) Prevenção da IRA induzida pela gentamicina em modelos animais.

Esta revisão será precedida por uma descrição dos efeitos da gentamicina, do cisplatino e do meio de contraste, sobre o rim, e seus possíveis mecanismos nefrotóxicos.

2.1 NEFROTOXICIDADE DA GENTAMICINA

A incidência de nefrotoxicidade relacionada à gentamicina parece ter aumentado nos últimos anos.

Em 1969, a incidência relatada era de 2-3%, enquanto que em 1979 foi estimada em 16-25%². Tal aumento pode estar relacionado a muitos fatores, entre eles, o acréscimo na dose recomendada de gentamicina, o número crescente de pacientes ido-

soos que recebem a droga e os critérios mais rígidos para diagnóstico de disfunção renal induzida pela gentamicina.

A lesão renal induzida pela gentamicina é observada menos frequentemente em recém-nascidos e crianças do que em adultos, mas pode ocorrer se a terapia é prolongada. Diferenças na sensibilidade celular à gentamicina, relacionadas com a idade, podem explicar a aparente maior incidência de nefrotoxicidade em adultos.

Existe um espectro de anormalidades renais observado com o uso dos aminoglicosídeos. A apresentação clínica mais aparente é a da IRA não-oligúrica; no entanto, a variável oligúrica também é observada.

A redução inicial da capacidade de concentração urinária, seguida pela queda da filtração glomerular, é responsável pela apresentação mais comum desta variedade. Usualmente, o início da insuficiência renal é gradual e guarda uma relação temporal com a administração da droga. Ocasionalmente, a insuficiência renal é mais insidiosa e torna-se clinicamente aparente alguns dias após o término da terapia. A evolução clínica pode ser prolongada, particularmente no idoso. Quase que invariavelmente, é um tipo de lesão reversível. A sobrevivência do paciente, como em outras formas de IRA, depende das circunstâncias nas quais a IRA se desenvolveu (cirurgia, trauma, sépsis, grande queimado, nefrotoxicidade simples, etc). Em alguns pacientes, o tratamento com diálise pode ser necessário.

Existem evidências clínicas e experimentais de lesão

do túbulo proximal: enzimúria, proteinúria, aminoacidúria, glicosúria e alterações eletrolíticas.^{3,4,5} Hipocalcemia, hipomagnesemia e hipocalemia têm sido descritas no homem e nos animais experimentais.^{6,7,8}

Assim como nas outras formas de IRA, há fatores predisponentes para a nefrotoxicidade da gentamicina. Entre eles, parecem importantes a idade avançada,⁹ a doença renal preexistente¹⁰ e a depleção de volume.¹¹ A desidratação e a contração do espaço extracelular aumentam o risco de lesão renal.

A administração de aminoglicosídeos em combinação com outras drogas potencialmente nefrotóxicas é comum e tem resultado em toxicidade clínica e experimental. As drogas comumente envolvidas incluem os meios de contraste radiográfico, o agente anestésico metoxifluorane,¹² a furosemida,¹³ outros aminoglicosídeos e outros antibióticos, particularmente as cefalotinas e as meticilinas.^{14,15}

Mais recentemente, a associação de gentamicina-cefalotina com o agente quimioterápico cisplatina tem sido responsável pela ocorrência de severa nefrotoxicidade.¹⁶

2.1.1 Patogênese da nefrotoxicidade da gentamicina

O rim é a principal rota de eliminação dos antibióticos aminoglicosídeos; a gentamicina é excretada por filtração glomerular e, subsequentemente, reabsorvida no tubo proximal. No homem, 20% da gentamicina liga-se às proteínas plasmáticas.



Todos os aminoglicosídeos (com exceção da estreptomina) são concentrados no córtex renal de 10-30 vezes a sua concentração plasmática.^{17,18} Este aspecto poder ser significativo para a toxicidade, uma vez que outros antibióticos (ampicilina, carbenicilina, cefalotina) concentram-se na medula e papila, ao invés de no córtex, seguindo o gradiente de concentração córtico-papilar. É concebível, portanto, que a acumulação de gentamicina numa fração subcelular do córtex renal seja um fator crítico para o desenvolvimento de nefrotoxicidade.

No homem e nos animais, observam-se lesões estruturais nas células epiteliais do túbulo proximal após a administração de aminoglicosídeos. Pela microscopia ótica, constata-se necrose celular predominando na "pars recta" e no túbulo contornado proximal; pela microscopia eletrônica verificam-se lisossomas alterados, chamados citosegrosso-somas.^{19,20} Tais lisossomas contêm inclusões negras em camadas, denominadas corpos mielóides.

Estudos auto-radiográficos têm demonstrado que a gentamicina se liga inicialmente ao bordo em escova das células do túbulo proximal; sofre um processo de endocitose com formação de vesículas apicais e estas, subsequentemente, são sequestradas nos lisossomas.²¹ O processo induz à formação dos corpos mielóides e a alterações no metabolismo dos lisossomas.

Várias teorias têm procurado explicar, em diferentes níveis, a patogênese da IRA causada pela gentamicina. Basicamente, elas estão divididas em dois grupos: um deles tem seu principal enfoque nos determinantes da IRA, ao nível do nefrô-

nio, e o outro enfatiza os mecanismos de origem celular como determinantes da nefrotoxicidade.

2.1.2 Alterações ao nível do nefrônio

Modificações do fluxo plasmático renal e redução no coeficiente de ultrafiltração capilar glomerular (Kf) têm sido observadas em estudos experimentais, sendo primariamente responsabilizadas pela diminuição da ultrafiltração glomerular.^{22,23}

Os mecanismos mediando estas alterações hemodinâmicas podem envolver a liberação local de angiotensina II.²⁴ Entretanto, é duvidoso que estas alterações glomerulares possam explicar inteiramente a quase completa cessação da ultrafiltração glomerular que ocorre nos estágios tardios da nefrotoxicidade da gentamicina.

Doses tóxicas e não-tóxicas da gentamicina produzem estas modificações glomerulares e, portanto, é possível que elas apenas representem um efeito máximo em resposta à administração da droga e a uma toxicidade leve e precoce.

Estudos recentes de micropuntura e microperfusão enfatizam que a obstrução tubular, representada pela descamação das células necróticas dos túbulos lesados, é um determinante da IRA nefrotóxica dos aminoglicosídeos.²⁵

2.1.3 Alterações ao nível celular

O resultado final do desenvolvimento da IRA, quer do

tipo isquêmico, quer do nefrotóxico, é a lesão da célula tubular. Se não houver lesão da célula renal, os vários fatores patogênicos responsáveis, em nível do nefrônio, pela falha de excreção do rim, não entram em operação. Ultimamente, o entendimento da patogênese da necrose tubular aguda reside na compreensão das alterações bioquímicas responsáveis pela perda de integridade da célula renal. Existem evidências crescentes de que os aminoglicosídeos e outras nefrotoxinas exerçam seus efeitos deletérios primariamente em nível das membranas celulares.

Tanto as membranas plasmáticas, quanto as das organelas intracelulares são locais potenciais de toxicidade, pelas suas características de transporte. As células do túbulo renal têm suas membranas especialmente suscetíveis ao insulto tóxico; como o túbulo renal reabsorve avidamente sal e água, as substâncias são concentradas na luz tubular e, assim, expõem as membranas luminares das células tubulares renais a concentrações potencialmente tóxicas.

A ligação dos aminoglicosídeos com a superfície celular se dá através de receptores específicos de membrana.²⁶ O receptor para a gentamicina é um fosfolípídeo.²⁷ A ligação entre a gentamicina e o fosfolípídeo é feita através da interação de cargas elétricas: catiônica, polibásica da gentamicina, e aniônica, ácida, dos fosfolípídeos.²⁸ Os fosfolípídeos, além de suas funções estruturais nas membranas celulares, são importantes reguladores da permeabilidade da membrana e das interações hormônio-receptor.^{29,30}

Assim, a reação inicial entre os aminoglicosídeos e os fosfolipídeos da membrana plasmática pode ser determinante da patogênese da nefrotoxicidade, através de alterações na estrutura e na função da membrana plasmática. Alterações no metabolismo dos fosfolipídeos em vigência de IRA nefrotóxica têm sido estudadas. Já está também demonstrado o aumento do conteúdo total de fosfolipídeos em culturas de fibroblastos expostas cronicamente à gentamicina.³¹

Kaloyanides e colaboradores encontraram também aumento dos fosfolipídeos no rato tratado com gentamicina, e a fração mais aumentada era a do fosfatidilinositol.³²

É possível que o aumento seletivo dos níveis de fosfatidilinositol seja reflexo das suas funções no transporte de membrana, na interação hormônio-receptor e um marcador de alterações no metabolismo dos fosfolipídeos da membrana, uma vez que estas alterações ocorrem também em outros modelos experimentais nefrotóxicos de IRA, como o glicerol e o cloreto de mercúrio.³³

Os fosfolipídeos são também criticamente importantes para a atividade da Na-K-ATPase que regula o gradiente de cátions através das membranas celulares.³⁴ Estudos "in vivo" e "in vitro" têm demonstrado declínios significativos da atividade renal desta enzima.^{35,36,37} Como resultado das alterações na atividade da Na-K-ATPase, ocorre perda dos íons intracelulares pelo rim, com diminuição do conteúdo renal cortical destes íons.^{37,38} Hipocalcemia,⁶ hipomagnesemia^{6,7} e hipocalemia^{6,8} são observadas clínica e experimentalmente.

A atividade de outra enzima, a adenilato ciclase tam-

bém é inibida pela gentamicina.³⁹ Esta inibição se dá por uma ação direta dos aminoglicosídeos ou através de deslocamento dos íons Ca^{++} e Mg^{++} das membranas com cargas negativas, pelos aminoglicosídeos policatiônicos. A interação dos aminoglicosídeos com os íons Ca^{++} e Mg^{++} é importante, pois pode afetar funções celulares onde estes íons entram como co-fatores.

Existem muitas evidências de que o bloqueio neuromuscular produzido pelos aminoglicosídeos é resultado do deslocamento do Ca ligado à membrana, acabando por inibir a liberação de acetilcolina prejunctional⁴⁰ e diminuir a sensibilidade da placa motora à ação despolarizante da acetilcolina.⁴¹

Assim, os aminoglicosídeos, ao se ligarem nos fosfolipídeos da membrana, provocam modificações no conteúdo renal de fosfolipídeos e alterações específicas na permeabilidade e no transporte da membrana. Como consequência, podem surgir modificações intracelulares que afetam os processos metabólicos intracelulares e a função das organelas.

Nas mitocôndrias, têm sido descritas, "in vivo", alterações, como diminuição e desacoplamento da fosforilação oxidativa.²⁸ "In vitro", a gentamicina aumenta o estado basal da respiração celular, diminui o estado máximo e pode desacoplar a fosforilação oxidativa.²⁸

Os efeitos agudos da gentamicina, "in vitro", sobre a respiração mitocondrial cortical renal são secundários a uma interação competitiva entre a gentamicina e o Mg^{++} , ao nível da membrana mitocondrial interna, por um número limitado de espa-

ços onde o Mg^{++} controla a permeabilidade da membrana aos íons Na^+ e K^+ .^{42,43} Assim, a gentamicina compete com o Mg^{++} , não limitando da mesma maneira a permeabilidade ao Na^+ e K^+ . Como resultado, há aumento da permeabilidade aos íons catiônicos, que se traduz por inchamento das mitocôndrias, observado experimentalmente.^{42,43} Por outro lado, a gentamicina age aditivamente com o Mg^{++} , limitando o transporte de cálcio para a mitocôndria.⁴⁴

A integridade da fosforilação oxidativa mitocondrial é essencial para a manutenção de uma normal função tubular renal. É interessante, portanto, o estudo das alterações das funções mitocondriais induzidas pelos aminoglicosídeos, não somente porque o comprometimento da energética celular pode levar à deterioração estrutural das células, mas também porque pode, por mecanismos indiretos, ser responsável por alterações hormonais que irão agir em nível da hemodinâmica glomerular, ocasionando a IRA.

Os lisossomas são importantes organelas intracelulares que regulam o "turnover" das macromoléculas celulares, a fagocitose de organelas alteradas e o armazenamento de materiais não-degradáveis. Mais de oitenta enzimas que degradam proteínas, lipídeos, carboidratos e ácidos nucleicos são sequestrados de seus substratos potenciais dentro dos lisossomas.

Estudos morfológicos e auto-radiográficos têm evidenciado que há um grande aumento em tamanho e número dos lisossomas, após a administração de aminoglicosídeos, e que estes são sequestrados nos lisossomas, ocasionando a formação dos corpos

mielóides.²¹

Experimentalmente, tem sido relatada diminuição da atividade da esfingomielinase lisossomial em fibroblastos expostos a aminoglicosídeos, em cultura de tecido.³¹ Este efeito foi acompanhado de fosfolipidose generalizada e formação de corpos mielóides nos fibroblastos. Alterações da membrana dos lisossomas ocorrem também precocemente na nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos, sendo observado aumento na excreção urinária, de uma variedade de enzimas lisossomiais em vários modelos experimentais.^{45,46}

Todas estas observações levaram alguns investigadores a postular que os aminoglicosídeos, induzindo (1) uma disfunção enzimática lisossomial, com prejuízo dos processos digestivos e resultante depleção de substratos celulares críticos; (2) a instabilidade da membrana lisossomial, com liberação das enzimas sequestradas no citossol e digestão dos componentes citossólicos e organelas, levam finalmente ao desarranjo celular irreversível, com morte celular.

As alterações anteriormente descritas, em nível celular, reforçam a tese de que a nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos deriva, em grande parte, de sua habilidade em alterar a estrutura e função das membranas. A nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos tem sido associada a alterações em múltiplas funções de membrana celular, incluindo plasmática, mitocondrial interna e membranas lisossomiais.

Se uma dessas interações membrana-toxina é a respon-

sável pelo desenvolvimento da IRA, ainda não está esclarecido; entretanto, certamente todas estão interrelacionadas com a patogênese da lesão celular induzida pelos aminoglicosídeos.

2.2 NEFROTOXICIDADE DO MEIO DE CONTRASTE

Nos últimos anos, a IRA tem sido reconhecida como uma crescente complicação do uso endovenoso de contraste radiográfico.

A disfunção renal pode ocorrer após a administração de, virtualmente, qualquer agente de contraste intravascular tendo sido relatada após urografia, angiografia, colecistografia com múltiplas doses e, mais recentemente, após tomografia, computarizada, com administração intravenosa de radiocontraste.

A incidência desta nefrotoxicidade, na população em geral, tem variado de 0 a 12%, dependendo das características das populações analisadas.^{46,47} Estudos prospectivos recentes revelam uma incidência de 5% na população hospitalizada em geral⁴⁸; e uma incidência baixa, de 0,6 a 2%, nas populações sem doença renal preexistente.^{48,49} Vários fatores predisponentes têm sido identificados; os mais significantes são a doença renal preexistente^{50,51,52} e o diabetes mellitus.^{51,52,53,54}

Dos mais de 250 casos publicados de nefrotoxicidade, do meio de contraste, mais de 90% envolvem pacientes com insuficiência renal, e mais de 50%, pacientes com diabetes mellitus.

Desidratação, mieloma múltiplo, doença vascular, ida-

de acima de 60 anos, grandes ou múltiplas doses de meio de contraste, hipoalbuminemia, proteinúria acima de 1g/24h e disfunção hepática são considerados fatores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade do meio de contraste.

Tal como outras nefropatias tóxicas, a patogênese da nefrotoxicidade do meio de contraste não é claramente compreendida. Vários mecanismos têm sido propostos.

A nefrotoxicidade pode ser então resultante de um efeito tóxico direto sobre o rim; de uma isquemia renal provocada pelo efeito direto do contraste hipertônico na vasculatura renal ou pela aglutinação e crenação das hemácias, aumentando a viscosidade do sangue.^{55,56,57}

Além dessas causas, a obstrução intratubular pelas proteínas urinárias (mieloma, Tamm Horsfall),^{58,59,60} pelo oxalato⁶¹ e pelo ácido úrico⁶² também tem sido sugerida como fator patogênético importante.

A IRA secundária ao meio de contraste tem um bom prognóstico, em geral, mas alguns pacientes podem desenvolver insuficiência renal crônica.

Acredita-se que a proteção da IRA, naqueles pacientes diabéticos de alto risco (idosos com doença renal), pode ser obtida pela administração de manitol imediatamente após a infusão do contraste, seguido de adequada hidratação.⁶³ A hidratação prévia e posterior aos procedimentos radiológicos parece representar um mecanismo de proteção-chave, mesmo nesses pacientes de alto risco.

2.3 NEFROTOXICIDADE DO CISPLATINUM

Cisplatinum (Cis-diamminedichloroplatinum II, CIS-DDP), é um composto de platina, inorgânico, ativo contra tumores, incluindo testiculares, ovarianos, da bexiga e carcinomas da cabeça e pescoço.

A maior limitação de seu uso clínico é a nefrotoxicidade, a que está associado.

A necrose tubular aguda, dependendo da dose utilizada, tem sido relatada. De particular importância para a toxicidade parece ser a associação do cisplatinum com gentamicina e cefalotina. Quatro pacientes tratados com essa combinação desenvolveram severa necrose tubular aguda que ocorreu em alguns dias ou em duas semanas após a terapia, persistindo até a morte.¹⁶ Déficit renal crônico também tem sido verificado em pacientes sob tratamento com cis-DDP e acompanhados até dois anos.⁶⁴ Os níveis de creatinina plasmática podem não estar elevados, a despeito da queda da filtração glomerular, devido ao severo estado de emaciamento desses pacientes.

O mecanismo da lesão renal do Cis-DDP não é conhecido. O cisplatinum se acumula no córtex renal (mitocôndria e citosol) e tem sido sugerido que sua toxicidade seria mediada pela acumulação celular e subsequente conversão a um metabólito ($PtCl_4$) que causa lesão tecidual ao reagir com grupos SH.

Recentemente, Safirstein e colaboradores confirmaram os resultados aqui referidos, de que ratos com diabetes mellitus não-tratado induzido por streptozotocina são protegidos da

nefrotoxicidade do platinum. Esses autores também encontraram um conteúdo renal de cisplatinum 38% menor nos ratos diabéticos por streptozotocina do que nos ratos-controle e sugeriram que outros efeitos da streptozotocina sobre a função celular, além do efeito diabético, podem estar envolvidos na proteção observada.⁶⁵

2.4 PREVENÇÃO DA IRA EXPERIMENTAL EM VÁRIOS MODELOS ANIMAIS

Expansão aguda do compartimento extracelular,⁶⁶ vasodilatadores renais,⁶⁷ indução de hipertonicidade do compartimento extracelular⁶⁸ e diurese osmótica,^{69,70,71} constituem-se em manobras úteis de proteção contra IRA experimental em vários modelos animais.

Agentes diuréticos também têm demonstrado efeitos protetores. O manitol, utilizado com salina, protegeu ratos contra a IRA induzida por glicerol,⁷² enquanto que a furosemida preveniu a IRA induzida pela metemoglobina em cães.⁷³

A furosemida, clorotiazida, acetazolamida, triantereno, e altas doses de ácido etacrínico protegeram ratos privados de sal e ratos desidratados contra a IRA induzida pela metemoglobina-ferrocianeto.⁷⁴ A diurese produzida pela furosemida preveniu a IRA secundária à obstrução tubular que se segue após altas doses de ácido fólico.^{75,76} Entretanto, doses baixas e altas de furosemida não tiveram nenhum efeito no desenvolvimento da IRA secundária ao cloreto de mercúrio.⁷⁷

A administração crônica de salina protegeu ratos con-

tra a IRA induzida pela HgCl_2 ,^{7,8} dicromato,^{7,9} uranil nitrato^{8,0} e glicerol.^{8,1} A administração de salina por tempo prolongado é, conhecidamente, uma manobra capaz de suprimir o conteúdo cortical de renina. Conseqüentemente, tem sido postulado um papel relevante para o conteúdo intra-renal de renina na patogênese, da IRA experimental.

A ingesta de KCL na dieta, por duas semanas, resulta num grau intermediário de supressão do conteúdo renal de renina e num grau intermediário de proteção contra a IRA induzida por HgCl_2 no rato.^{8,2}

Recentemente, tem-se demonstrado, entretanto, que a depleção cortical renal de renina não é necessária para proteger contra a IRA induzida pela mioglobínúria aguda e pelo uranil nitrato, e que a proteção presente se correlaciona com o estado de excreção de sódio, no momento do insulto.^{8,3}

Thiel e colaboradores^{7,0} demonstraram proteção contra a IRA induzida por glicerol também na ausência de supressão da renina cortical. Esses investigadores propuseram que a proteção observada fosse considerada como resultado do alto fluxo urinário. As manobras consideradas protetoras, neste estudo, entretanto, eram associadas com natriurese. Além disso, um fluxo urinário ainda mais alto do que o observado em animais sob ingesta crônica de salina não protege animais que ingerem soluções glicosadas^{7,0} ou ratos com diabetes insípido experimental.^{8,6,8,4} Os resultados de três estudos, utilizando diferentes nefrotóxicos (glicerol, uranil nitrato e HgCl_2), sugerem que o estado de excreção de cloreto de sódio é provavelmente o maior de-

terminante da susceptibilidade dos animais para desenvolver IRA experimental.^{80, 82, 85}

Recentemente, foi relatado que as prostaglandinas parecem ser as mediadoras da proteção contra a IRA experimental conferida por transplantes de medula renal.⁸⁶ A liberação de prostaglandinas pode ser responsável pela proteção exercida pela sobrecarga com salina, bem como pelos diuréticos. Tem sido demonstrado que a furosemida e o ácido etacrínico ocasionam liberação de prostaglandina e aumento do fluxo sanguíneo renal.⁸⁷

A inibição da síntese das prostaglandinas pela indometacina, por outro lado, agrava a IRA induzida pelo glicerol.⁸⁶

Deve-se aqui enfatizar que, em todos os estudos que demonstram com sucesso proteção contra a IRA induzida por drogas, a função renal se manteve preservada, mas estava associada a graus variados de anormalidade tubulares ou a franca necrose tubular aguda.

Saliente-se que os modelos experimentais utilizados nos estudos citados diferem muito entre si, o que dificulta a determinação da relevância individual de cada manobra experimental e sua relação com a lesão patogenética da IRA.

Apesar disso, os modelos experimentais podem ser úteis no entendimento dos modelos nefrotóxicos apresentados no presente estudo.

2.5 - PREVENÇÃO DA IRA INDUZIDA PELA GENTAMICINA EM MODELOS ANIMAIS

Os estudos experimentais sobre a proteção contra IRA induzida pela gentamicina são poucos e de resultados não-exitosa.

Bennett e colaboradores¹¹ não observaram proteção contra a nefrotoxicidade da gentamicina em ratos Fischer 344 que receberam uma dieta com maior teor de NaCl.

Evan e colaboradores⁸⁹ detectaram anormalidades glomerulares em rins de ratos que receberam gentamicina da dose de 20mg/Kg/dia, durante 4 semanas, sob dois níveis de ingestão de sódio: dieta regular para ratos e dieta com 8% de sal. As modificações morfológicas foram descritas como distintamente menos severas no grupo com teor alto de sódio, e isto ocorreu a despeito da ausência de azotemia em ambos os grupos. Os autores concluíram que a lesão glomerular era influenciada pelo balanço de sódio.⁸⁹

O uso de diuréticos como agentes protetores tem sido controverso, com alguns efeitos benéficos registrados por Petersen e colaboradores, no camundongo,⁹⁰ em oposição ao aumento de nefrotoxicidade observado por Adelman e colaboradores no cão.⁹¹

Tem sido relatado o agravamento da nefrotoxicidade da gentamicina pela acidose metabólica.^{92,93} Entretanto, a proteção conferida pela alcalinização é duvidosa.

Constata-se melhora na nefrotoxicidade e diminuição do conteúdo cortical renal de gentamicina quando se administra

bicarbonato de sódio concomitantemente com gentamicina⁹⁴. Em contraste, quando se substituiu a água dos animais por NaHCO_3 , a 1% antes e durante a administração de gentamicina, na dose de 40mg/Kg/dia, durante 14 dias, não houve melhora da nefrotoxicidade ou de acumulação cortical renal de gentamicina. Mais importante: houve a formação de calcificações renais.⁹³

Da mesma maneira, a administração de probenescide não protegeu ratos contra a nefrotoxicidade da gentamicina.⁹⁵

Whelton e colaboradores,⁹⁶ numa série de estudos, avaliaram a influência do estado de hidratação e pH urinário, na concentração de gentamicina do córtex renal, da medula e papila de 28 cães submetidos à administração da droga. Os estudos demonstraram que o estado de hidratação e pH da urina não influenciam significativamente a distribuição intra-renal característica da gentamicina. Em outras palavras, não existe uma "lavagem" da gentamicina do parênquima renal durante a diurese aquosa. A função renal, entretanto, não foi avaliada neste estudo.⁹⁶

O efeito de soluções comerciais de aminoácidos foi investigado no rato Fischer 344, tratado com gentamicina (40mg/Kg/dia) por Whelton e colaboradores.⁹⁷ Os animais que foram infundidos com a solução apresentaram maior deterioração da função renal, alta morbidade e necrose tubular mais severa.⁹⁷

Nefrectomia unilateral realizada 6 dias antes da administração de gentamicina resultou em menor nefrotoxicidade do que em ratos intatos identicamente tratados.⁹⁸ Quando a nefrectomia era feita 2 dias antes da administração de gentamicina ,

não se observava nenhum efeito protetor.

Furuno e colaboradores,⁹⁹ recentemente, identificaram o efeito protetor de um monossacarídeo D-glucarato sobre a nefrotoxicidade da gentamicina. Foi também constatado um efeito protetor, porém menor, com os ácidos sacárico, hexaurônico e hexaldônico.⁹⁹

Medidas da filtração glomerular total e isolada (GFR, SNGFR), do fluxo plasmático glomerular e do coeficiente de filtração Kf em ratos tratados com gentamicina e cronicamente mantidos, seja com salina isotônica, ao invés de água, ou captopril oral, mostraram menor declínio da filtração glomerular total e isolada em ambos os grupos: salina e captopril.²⁴ Os efeitos da gentamicina sobre o SNGFR, fluxo sanguíneo renal e Kf foram claramente abolidos pelo captopril. Entretanto, não foi detectada proteção morfológica, e a lesão tubular proximal foi similar em todos os grupos.²⁴

A administração simultânea de cefalótina sódica (500 mg/Kg/dia), com quantidades equimoleculares de paraaminoipurato ou NaCl, a ratos que recebiam 10-100 mg/Kg/dia de gentamicina, resultou em modesta melhora da insuficiência renal. A adição de cefalotina trouxe significativa redução da necrose tubular, não observada com paraaminoipurato ou NaCl sozinhos.¹⁰⁰

Foi relatado o agravamento da insuficiência renal quando gentamicina 40mg/Kg/dia e indometacina 5mg/Kg/dia foram administradas simultaneamente a ratos.^{101,102}

A diurese osmótica induzida pelo isosorbide não pro-

tegeu nem melhorou a nefrotoxicidade da gentamicina em ratos que receberam 30, 60, 120, 160mg/Kg de gentamicina durante dez dias. Não se constataram diferenças na acumulação cortical de gentamicina, das diferentes doses, entre os animais submetidos ou não à diurese. Não houve registro de proteção morfológica; na verdade, com a dose de 120mg/Kg, a incidência e a severidade das lesões renais foi maior nos animais submetidos à diurese. Em complementação, a diurese osmótica não preveniu nem reduziu significativamente o grau de enzimúria, que foi maior nos animais sob diurese.¹⁰³

Demonstrou-se, em trabalho recente, que o diabetes mellitus não-tratado confere uma proteção completa contra a IRA induzida pela gentamicina. A administração de 40mg/Kg peso corporal/dia durante 14 dias, em ratos-controle, resultou no desenvolvimento de IRA, lisozimúria severa e necrose tubular aguda, enquanto que ratos com diabetes mellitus induzido experimentalmente, igualmente tratados, exibiram completa proteção morfológica e funcional (Tabela I).

Quando ratos DM receberam dose maior de gentamicina, (70 mg/Kg peso corporal/dia/14 dias), também demonstraram proteção completa (Tabela I). Ratos com diabete insípido hereditário, tratados com o mesmo regime de gentamicina, tiveram melhora na IRA e necrose tubular aguda focal, quando comparados com ratos-controle Brattleboro.

Conclui-se, destes estudos, que a proteção obtida contra a gentamicina estava relacionada em parte com a excreção aumentada de solutos, característica dos animais poliúricos dia-

TABELA I

PROTEÇÃO COMPLETA CONTRA A NEFROTOXICIDADE DA GENTAMICINA NO RATO
DIABÉTICO NÃO-TRATADO (ADAPTADO DE TEIXEIRA ET ALII)*

	CONTROLE (C) (9)	P DMvsC	DIABÉTICO (DM) (10)	P DDAvsDM	DIABÉTICO-DOSE ALTA (DDA) (6)
Basal					
Glucose plasmática (mg/100 ml)	126 ± 5	<0.001	615 ± 23	n.s.	605 ± 29**
Volume urinário (ml/dia)	11 ± 1	<0.001	109 ± 9	0.05	142 ± 12**
Clearance da creatinina (ml/min)	1.6 ± 0.2	<0.001	2.3 ± 0.2	n.s.	2.2 ± 0.2*
Após gentamicina*					
Máxima modificação no clea- rance da creatinina (%)	↓ 85 ± 6	<0.001	↑ 33 ± 5	n.s.	↓ 25 ± 8**
Pico de lisoziimúria (µg/dia)	5211 ± 1549	<0.001	0	n.s.	0**
Gentamicina no rim (µg/g tecido úmido)	405 ± 34	<0.01	251 ± 26	n.s.	306 ± 36

* Ratos-controle e diabéticos receberam gentamicina na dose de 40 mg/kg peso/dia durante 14 dias; ratos diabéticos-dose alta receberam 70 mg/kg peso/dia de gentamicina durante 14 dias.

** p < 0.001 diabético-dose alta vs controle;

* p < 0.05 diabético-dose alta vs controle.

béticos não-tratados e, também, que a proteção estava associada a uma menor acumulação de gentamicina no córtex renal.¹

Tem-se também demonstrado que estes ratos diabéticos protegidos precocemente, após o início da administração de gentamicina (pelo 3º dia), possuem uma acumulação de gentamicina, no córtex renal, expressivamente menor do que os controles! Isto corre num prazo de tempo em que os ratos-controle não manifestam ainda comprometimento da função renal ou aparecimento de lisozimúria.

Estas observações sugeriram que fatores que diminuem a acumulação cortical renal de gentamicina, ao início de sua administração, foram responsáveis em parte pela proteção obtida nos ratos diabéticos contra a gentamicina.¹

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 *Animais experimentais*

3.2 *Protocolos experimentais*

3.3 *Métodos*

3.4 *Análise estatística*

3.1 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Estudaram-se ratas fêmeas Sprague-Dawley, pesando 200-300 g, divididas em dois grupos emparelhados por idade: controles (C) e diabéticos não-tratados (DM). O diabetes mellitus foi induzido por injeção endovenosa de Streptozotocina (50-60 mg/kg/peso, 4-6 meses antes dos estudos para os experimentos nº 1 e nº 2, e 5 semanas antes do experimento nº 3, conforme descrito por Junod e colaboradores.¹⁰⁴

O estado diabético foi definido por persistente elevação da glicose plasmática (>500 mg/dl), persistente glicosúria +++ a ++++ e poliúria acentuada (>70 ml/dia). Estes animais também exibiam outras características da doença, como: menor peso corporal do que seus controles, por idade, presença de cataratas e diminuição de depósitos de gordura.

Na ocasião dos experimentos 1 e 2, as ratas DM apresentavam diabetes durante 4-6 meses e tinham de 8-12 meses de idade. No experimento 3, as ratas DM apresentavam iguais características de estado diabético e, por ocasião do estudo, tinham 11,5 semanas de idades e seu diabetes estava presente há somente 5 semanas. Nos experimentos 4 e 5, as ratas DM apresentavam diabetes durante 4-6 meses e tinham de 8-12 meses de idade.

3.2 PROTOCOLOS EXPERIMENTAIS

3.2.1 Experimentos 1 e 2

As ratas-controle e as ratas com DM, com diabetes de 58 semanas de duração, receberam, durante 11 dias, uma dose maciça de 200 mg/kg/peso/dia de gentamicina subcutânea, dividida em duas doses iguais.

Tal experimento foi delineado para testar a proteção e a sobrevivência após uma dose maciça de gentamicina. Além disso, também foram estudados 3 animais injetados com Streptozotocina e que espontaneamente perderam seu estado diabético (glicose plasmática menor que 200 mg/dl). Estes animais serviram ao propósito de estudar o efeito do desaparecimento do estado diabético, além de constituírem um outro grupo-controle.

Assim, subdividiu-se o grupo de ratas com DM em: DM e streptozotocina não-hiperglicêmico (SNH).

As ratas foram estudadas num protocolo do tipo sobrevivência. Todos os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais durante o período experimental de 11 dias. Alimentaram-se com ração regular para ratos e recebiam água "ad libitum". O peso corporal e amostras de sangue da veia da cola foram obtidos imediatamente antes da administração da primeira dose de gentamicina, e nos dias 2, 4, 7, 9 e 11 do período experimental nas ratas que sobreviveram. As amostras de urina, colhidas nos mesmos dias, foram analisadas para lisozimúria.

Os animais que sobreviveram tiveram os rins removidos

ao final do experimento, para determinação do conteúdo renal de gentamicina e avaliação morfológica. Daqueles que não sobreviveram, os rins foram removidos logo após a morte.

3.2.2 Experimento 3

As ratas-controle e as DM, com diabetes de 5 semanas de duração, receberam uma dose "standard" de gentamicina (40mg/kg peso/dia) durante 14 dias.

Delineou-se este experimento para avaliar a proteção conferida pelo estado diabético de curta duração (5 semanas). Todos os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais e possuíam livre acesso à água e ração regular para ratos.

Após um período de adaptação inicial, de 3 dias, seguiu-se um período basal de 2 dias e um período experimental de 14 dias durante o qual todos os animais receberam 40 mg/kg peso/dia de gentamicina subcutânea, divididos em duas doses iguais.

Obtiveram-se amostras de sangue da veia da cola e coleção de urina de 24 horas durante o período basal e nos dias 4, 7, 11 e 14 do período experimental. Fizeram-se as seguintes determinações: hematócrito, nitrogênio uréico, glicose, creatinina, sódio, potássio e osmolalidade.

Mediram-se, na urina de 24 horas, osmolalidade, glicose, creatinina, sódio, potássio e concentração de lisozima. O peso corporal foi medido nos mesmos dias e calculados, pelas

equações usuais, depuração de creatinina endógena e clearance osmolar.

No 15º dia, sob anestesia leve com Inactin, os rins foram perfundidos, "in situ", com Ringer até o branqueamento do parênquima renal. Um rim era então removido, para determinação da gentamicina tecidual, e o outro rim, fixado, "in situ", com solução de Karnovsky durante 3-4 min; prepararam-se fragmentos de tecido para microscopia de luz e eletrônica.

3.2.3 Experimento 4

As ratas-controle e as ratas com DM receberam uma dose única, intraperitoneal, de 4 mg/kg peso de cisplatinum.

Este experimento foi delineado para avaliar a proteção conferida pelo estado diabético contra a IRA induzida por cisplatinum.

Após os períodos de adaptação inicial, de 3 dias, e o período basal, de 2 dias, administrou-se cisplatinum em todos os animais, que foram então observados por mais 6 dias.

Obtiveram-se amostras de sangue da veia da cola e coleção de urina de 24 horas durante o período basal e nos dias 1, 2, 4 e 6 do período experimental.

Determinaram-se hematócrito, nitrogênio uréico, glicose, creatinina, sódio, potássio e osmolalidade.

Volume urinário, osmolalidade, glicose, creatinina,

sódio, potássio e concentração de lisozima foram medidos na urina de 24 horas. Mediu-se o peso corporal nos mesmos dias e calcularam-se, pelas equações usuais, depuração de creatinina e clearance osmolar.

No 6º dia, sob anestesia leve, com Inactin, ambos os rins foram perfundidos, "in situ", com Ringer até o branqueamento do parênquima renal. Os rins eram então fixados, "in situ", com solução de Karnovsky, durante 3-4 min, e fragmentos de tecido preparados para microscopia de luz e eletrônica.

3.2.4 Experimento 5

As ratas-controle e as ratas com DM receberam uma dose única, intraperitoneal, de 2 mg/kg peso de uranil nitrato.

Este experimento foi delineado para avaliar a proteção conferida pelo estado diabético contra a IRA induzida pelo uranil nitrato.

Mantidos todos os animais em gaiolas metabólicas individuais, tinham livre acesso à água e ração regular para ratos.

Após um período de adaptação inicial, de 3 dias, seguido de um período basal, de 2 dias, todos os animais receberam uma dose intraperitoneal única de uranil nitrato e foram observados por mais sete dias.

Obtiveram-se amostras de sangue da veia da cola e coleção de urina de 24 horas durante o período basal e nos dias

1, 2, 4 e 7 do período experimental.

Determinaram-se: hematócrito, nitrogênio uréico, glicose, creatinina, sódio, potássio e osmolalidade.

Mediram-se, na urina de 24 horas, volume, osmolalidade, glicose, creatinina, sódio, potássio e concentração de lisozima. Nos mesmos dias, mediu-se o peso corporal e calcularam-se, pelas equações usuais, depuração de creatinina endógena e clearance osmolar.

No 7º dia, sob anestesia leve com Inactin, os rins foram perfundidos, "in situ", com Ringer até o branqueamento do parênquima renal. Os rins foram então fixados, "in situ", com solução de Karnovsky, durante 3-4 min, e fragmentos de tecido preparados para microscopia de luz.

3.2.5 Experimento 6

Estudaram-se as ratas-controle e ratas com DM, normalmente hidratadas. Todos os animais tinham 6 meses de idade e diabetes por quatro meses, quando do estudo.

Mantidos todos os animais em gaiolas metabólicas individuais, tinham livre acesso à água e ração. O protocolo experimental consistiu de um dia basal (dia 0), imediatamente seguido pela injeção endovenosa, na veia da cola, de Renografin, na dose de 5 ml/kg. Dois animais, em cada grupo, foram injetados com uma dose maior, de 12.5 ml/kg.

Obtiveram-se amostras de sangue da veia da cola e co-

leção de urina de 24 horas durante o período basal e, diariamente, durante os 4 dias do período experimental. Hematócrito, nitrogênio uréico, glicose, creatinina, sódio, potássio e osmolaridade foram os elementos determinados.

Mediram-se, na urina de 24 horas, osmolaridade, glicose, creatinina, sódio, potássio e concentração de lisozima. Mediu-se o peso corporal, nos mesmos dias, e depuração de creatinina endógena e clearance osmolar foram calculados por equações usuais.

No 4º dia, sob anestesia leve com Inactin, os rins foram perfundidos, "in situ", com Ringer até o branqueamento do parênquima renal. Os rins foram então fixados, "in situ", com solução de Karnowsky, durante 3-4 min, e fragmentos de tecido preparados para microscopia de luz.

O experimento acima exposto foi delineado para testar o efeito do contraste radiológico sobre a função renal de ratos normais e ratos diabéticos normalmente hidratados.

3.2.6 Experimento 7

Para testar a possibilidade de que a idade e a desidratação representem fatores de risco no desenvolvimento de IRA induzida por meio de contraste, delineou-se mais um experimento.

Estudou-se a função renal em ratas com DM (induzido por Streptozotocina, 65 mg/kg, 17 meses antes) da espécie Spr-

gue-Dawley, com 19 meses de idade, e em ratas-controle da mesma espécie, emparelhados por sexo e idade.

Os animais foram desidratados durante 24 horas, antes da injeção intravenosa única de methylglucaminediatrizoate (Renografin 76%), na dose de 5 ml/ kg.

Os demais aspectos do protocolo coincidem com os já citados no experimento nº 6.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Determinações químicas

Determinou-se, pela técnica "standard" do Autoanalyzer Technicon, nitrogênio uréico, glicose plasmática e creatinina urinária (nos animais não-glicosúricos).

Creatinina plasmática e urinária (nos animais glicosúricos) foram determinadas pelo método de Hare,¹⁰⁵ usando-se um espectrofotômetro Beckman, modelo 35. Em virtude da possibilidade de interferência de altas concentrações de glicose,¹⁰⁶ examinou-se este aspecto.

Nenhuma interferência no plasma foi detectada com os níveis de glicose encontrados neste estudo (menos de 1000 mg/100 ml). Urinas com altas concentrações de glicose (4-12 g/100 ml) mostraram uma leve tendência (<5%) de fornecer leituras de creatinina mais altas.

O cálculo da depuração da creatinina endógena no ra-

to não-anestesiado, combinando as técnicas de Hare para a creatinina do plasma e urina ou a técnica de Hare¹⁰⁸ para creatinina plasmática e a técnica do "autoanalyzer" para a creatinina urinária, tem fornecido excelentes resultados neste laboratório (Vaamonde C.A.; Kelly J., observações não publicadas).

Quando comparado com o método da inulina C¹⁴ carbóxil, medido simultaneamente, as relações entre clearance da creatinina/clearance da inulina foram as seguintes: clearance da creatinina (plasma Hare, urina Hare)/C¹⁴ clearance inulina: 1.03 ± 0.04 (n=29); clearance da creatinina (plasma Hare/urina autoanalyzer)/C¹⁴ clearance da inulina: 1.09 ± 0.04 (n=37).

Determinaram-se sódio e potássio no fotômetro de chama IL e osmolalidade no osmômetro Fiske. Hematócrito foi medido em triplicata, com uma centrífuga microcopilar da International Equipment Co.

Mediu-se a lisozimúria, marcador urinário de lesão tubular, pela técnica de difusão radial (Hallstad Laboratories, Chaska, MN) e os resultados foram expressos em $\mu\text{g}/24$ horas. Níveis não-detectáveis de lisozima urinária com o método empregado neste estudo foram menores que $4.3 \mu\text{g}/\text{dl}$.

As amostras de urina dos animais poliúricos foram concentradas com linfoigel para confirmar a ausência de lisozimúria. Determinou-se a glicose urinária através do "analyzer" Beckman para glicose, o qual utiliza o método da glicose oxidase.

3.3.2 Estudos morfológicos

No último dia do período experimental, sob anestesia leve com Inactin (Promonta, Hamburg, Germany), a aorta abdominal foi exposta cirurgicamente e canulada retrogradamente. Clampeada acima das artérias renais após ter iniciado a perfusão com Ringer oxigenado e a abertura da veia cava inferior; os rins foram perfundidos para eliminação do sangue até o branqueamento do parênquima. Em seguida, ligou-se o pedículo renal direito e removeu-se o rim para determinação de gentamicina tecidual. A perfusão de fixação do outro rim foi iniciada com 100 ml de fixativo de Karnowsky a uma pressão de 140 mmHg e 30°C de temperatura. O rim foi removido e cortado em fatias, então imersas em fixativo de Karnowsky, por 12 horas no mínimo, a 40°C. Processaram-se alguns cortes para microscopia de luz, que foram embebidos em butoxyethanolglycol-methacrylate (Polysciences, Warrington, Pa.), seccionados no micrótomo Sorvall JB-4, seções de 2-3 micron, e corados com hematoxilina-eosina e ácido periódico de Schiff.

Para microscopia eletrônica, os fragmentos de tecido foram lavados com "buffer" de fosfato a 0.1% e sacarose, e cortados em peças de 1 mm³ de dimensão. Realizou-se a pós-fixação com tetróxido de ósmio a 2% em "buffer" de fosfato a 0.1%. Após a desidratação, numa série gradual de álcoois e óxido de propileno, embeberam-se os blocos de tecido em Epon. Seções semi-finas foram coradas com azul toluidina e seções ultrafinas foram coradas com uranil acetato e citrato de chumbo.

A avaliação quantitativa dos estudos morfológicos foi feita pelo patologista (Dr. V. Pardo) sem conhecimento prévio da origem do rim, utilizando lâminas codificadas.

3.3.3 Determinações teciduais

Removeu-se uma cunha de córtex renal e medula que, pesada, homogeneizada em 0.2 M tris-buffer, foi colocada em banho-maria a 56°C, durante 30 min. O tecido homogeneizado foi removido do banho e centrifugado por 10 min, a 2000 RPM; o sobrenadante foi separado e guardado a 4°C para análise posterior. Mediu-se o conteúdo renal de gentamicina em duplicata pelo ensaio enzimático radioquímico (¹⁴C gentamicin, P.L. Biochemicals, Inc., Milwaukee, WI) e os resultados foram expressos em µg/g de tecido renal úmido. Os estudos de reduplicação mostraram uma variação de 3.0 a 3.9% entre as amostras.

A recuperação de gentamicina do tecido renal foi de 91 ± 1 (SE)% (n=20), sem diferenças entre controles e diabéticos. Determinou-se o peso do rim após a remoção da gordura e secagem leve em papel absorvente. O conteúdo de água no tecido renal foi determinado, secando-se um fragmento representativo de tecido renal até se obter um peso constante em dessecador térmico.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As técnicas "standard" paramétricas e não-paramétricas (Mann-Whitney test),^{107,108} são responsáveis pela análise es-

tatística de dados emparelhados e não-emparelhados.

Um valor de p maior que 0.05 foi considerado estatisticamente não-significativo (NS). Todos os dados se apresentam como média \pm SE.

4 RESULTADOS

- 4.1 Experimento 1 - Efeito da dose maciça da gentamicina na sobrevida
- 4.2 Experimento 2 - Efeito do desaparecimento do estado diabético na sobrevida
- 4.3 Experimento 3 - Influência da duração do diabetes na proteção contra a nefrotoxicidade da gentamicina
- 4.4 Experimento 4 - Efeito da administração de cisplatinum
- 4.5 Experimento 5 - Efeito da administração do uranil nitrato
- 4.6 Experimento 6 - Efeito da administração de meio de contraste I
- 4.7 Experimento 7 - Influência da idade e desidratação II
- 4.8 Patologia

4.1 EXPERIMENTO 1 - EFEITO DA DOSE MACIÇA DE GENTAMICINA NA SOBREVIDA

A Tabela II ilustra a sobrevivida de ratos que receberam gentamicina na dose de 200 mg/kg/peso, durante 11 dias.

Todos as quatro ratas DM estavam vivas ao final do experimento, enquanto, de forma contrastante, as ratas-controle não sobreviveram além do 6º dia.

As ratas-controle mostraram lisozimúria maciça, que apareceu já no 1º dia, enquanto os animais DM apresentaram ausência de lisozimúria ou um grau mínimo dela. Nas ratas DM, entretanto, a creatinina sérica aumentou do valor médio basal de 0.34 ± 0.01 para 1.1 ± 0.5 mg/dl, no 11º dia, e o conteúdo renal de gentamicina foi significativamente menor do que nos ratos-controle.

Na Figura 1, é possível apreciar que, após a administração de uma dose maciça de gentamicina, a rata-controle apresentou uma destruição completa das estrutura tubulares; já as lesões de necrose tubular aguda foram consideravelmente menores na rata diabética.

TABELA II

SOBREVIDA APÓS ADMINISTRAÇÃO DE DOSE MACIÇA DE GENTAMICINA E
EFEITO DO DESAPARECIMENTO DO DIABETES SOBRE A PROTEÇÃO

DIAS	NÚMERO DE ANIMAIS VIVOS APÓS GENTAMICINA (200 mg/kg/dia)												GENTAMICINA NO RIM (µg/g tecido úmido)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
Controles	3	3	3	3	2	2	1	0	0	0	0	0	0	849 ± 58 p<0.005
Diabetes Mellitus	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	261 ± 55 p<0.005
Streptozotocin Não-hiperglicêmicos*	3	3	3	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	625 ± 32*

* Estes animais desenvolveram diabetes após administração de streptozotocin, entretanto na ocasião do estudo não mais apresentavam hiperglicemia (glicose sanguínea < 200 mg/dl) ou poliúria.

* p < 0.05 vs ratos-controle.

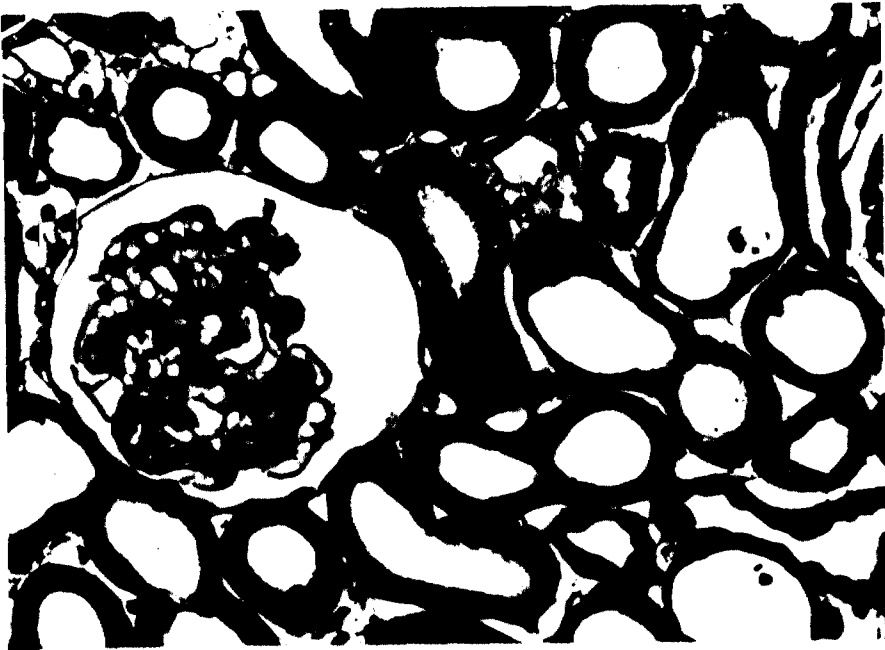
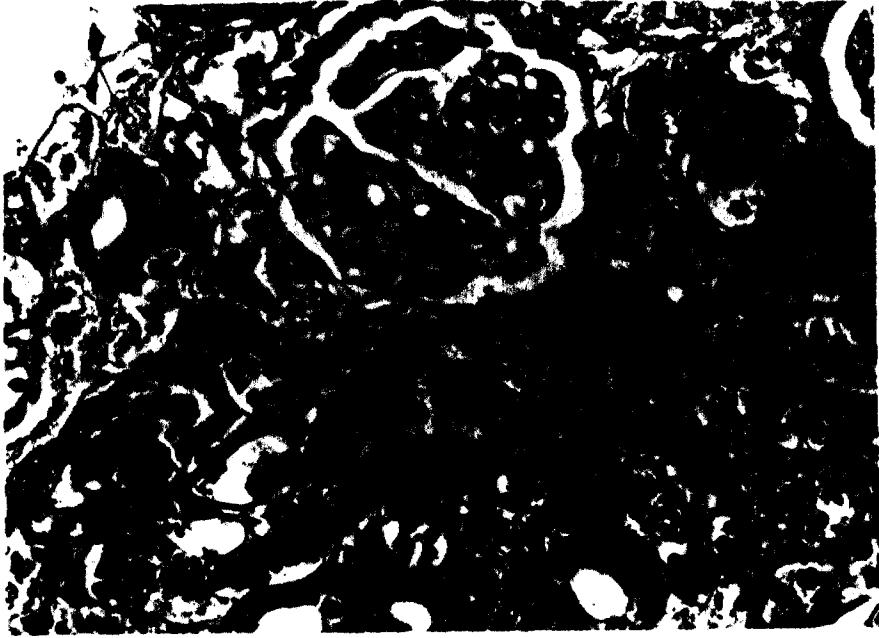


Figura 1 - Aspectos de microscopia de luz em rato-controle e rato diabético que receberam 200mg/Kg peso de gentamicina durante 11 dias.

Acima (Controle) - O glomérulo está cercado por extensas áreas de necrose celular com resíduos celulares na luz do túbulo proximal. Este rato morreu no 6º dia do estudo.

Abaixo (Diabético) - As lesões da necrose tubular aguda são consistentemente menores em número e severidade. Este animal foi sacrificado no 12º dia do estudo. Magnificação X 500.

4.2 EXPERIMENTO 2 - EFEITO DO DESAPARECIMENTO DO ESTADO DIABÉTICO NA SOBREVIDA

Os três animais injetados com streptozotocina e que espontaneamente perderam seu estado diabético (a glicose sanguínea era menor do que 200 mg/dl e os animais não eram poliúricos na ocasião do estudo) morreram antes do 5º dia de tratamento com dose maciça de gentamicina e apresentaram extensas lesões de necrose tubular (não-mostrada) (Tabela II).

O seu conteúdo renal de gentamicina foi menor do que aquele dos animais-controle e significativamente maior do que o conteúdo das ratas DM.

4.3 EXPERIMENTO 3 - INFLUÊNCIA DA DURAÇÃO DO DIABETES NA PROTEÇÃO CONTRA A NEFROTOXICIDADE DA GENTAMICINA

Em estudos anteriores,¹ o diabetes esteve presente numa média de 5 meses antes da administração de gentamicina. No presente estudo, as ratas DM apresentavam diabetes por somente 5 semanas. As ratas-controle e as ratas DM foram injetadas com 40 mg/kg/dia de gentamicina por 14 dias. Os animais-controle desenvolveram IRA não-oligúrica, lisozimúria e necrose tubular aguda focal (Tabela III). Em contraste, as ratas DM com diabetes de curta duração exibiram proteção completa, morfológica e funcional, contra a gentamicina.

TABELA III

EFEITO DA DURAÇÃO DO DIABETES SOBRE A PROTEÇÃO CONTRA A NEFROTOXICIDADE DA GENTAMICINA*

	DIA	CREATININA PLASMÁTICA (mg/dl)	CLEARANCE CREATININA (ml/min)	VOLUME URINÁRIO (ml/dia)	LISOZIMÚRIA (μ g/dia)
Diabetes Mellitus (=5)	Basal	0.25 \pm 0.01	2.1 \pm 0.1	92 \pm 10**	0
	4	0.26 \pm 0.01	2.2 \pm 0.1	83 \pm 10**	0
	7	0.25 \pm 0.01**	2.5 \pm 0.1**	91 \pm 10**	0*
	11	0.28 \pm 0.01**	2.9 \pm 0.1**	93 \pm 5***	0*
	14	0.30 \pm 0.01**	2.2 \pm 0.1**	120 \pm 10**	0*
Controles (=5)	Basal	0.28 \pm 0.03	1.7 \pm 0.2	11 \pm 1	0
	4	0.29 \pm 0.02	1.8 \pm 0.1	12 \pm 2	0
	7	0.58 \pm 0.06	0.9 \pm 0.1	20 \pm 4	537 \pm 198
	11	1.12 \pm 0.20	0.5 \pm 0.2	21 \pm 4	1987 \pm 448
	14	0.67 \pm 0.07	0.7 \pm 0.1	31 \pm 5	653 \pm 384

* Os ratos diabéticos apresentavam diabetes por 5 semanas na ocasião do estudo. Animais-
controle e diabéticos receberam gentamicina 40 mg/kg peso/dia durante 14 dias.

* (p < 0.01 DM vs C |MANN-WHITNEY TEST|);

** (p < 0.001 DM vs C).

4.4 EXPERIMENTO 4 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE CISPLATINUM

A Figura 2 ilustra as modificações no clearance da creatinina (Ccr), após a injeção única intraperitoneal de 6mg/kg de cisplatinum nas ratas-controle e DM.

Após a administração de cisplatinum, as ratas-controle mostraram rápida e acentuada queda no clearance da creatinina, alcançando o máximo de 89% no 4º dia. Não foi detectada lisozimúria e as ratas-controle exibiram uma modesta glicosúria após a administração de cisplatinum.¹⁰⁹ Extensas lesões de necrose focal, dilatação tubular e obstrução, assim como infiltrado intersticial estavam presentes nos túbulos proximais obtidos de ratos-controle.

Em contraste, as ratas DM mostraram clearance de creatinina normal, ausência de lisozimúria e estruturas tubulares proximais normais, incluindo preservação do bordo em escova da membrana.¹⁰⁹

4.5 EXPERIMENTO 5 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DO URANIL NITRATO

As modificações na concentração da creatinina sérica, observadas nas ratas-controle e DM, após a administração intraperitoneal de uma dose única de 2 mg/kg peso de uranil nitrato, são mostradas na Tabela IV.

Dois entre os dez animais-controle morreram antes do

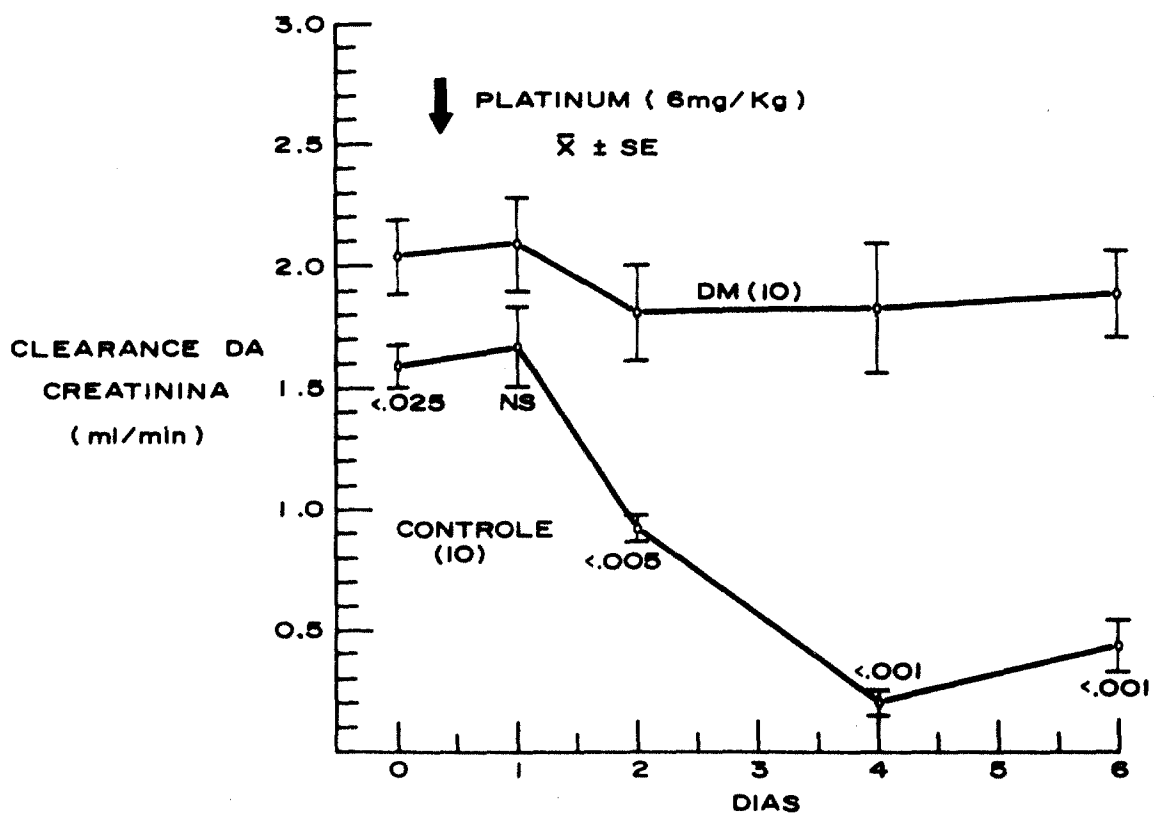


FIGURA 2. Efeito do Platinum sobre o clearance da creatinina endógena em ratos controle e diabéticos. Todos os animais receberam uma dose única de 6mg/Kg peso de Platinum, administrada ao início do 1º dia do estudo.

TABELA IV
EFEÍTO DO URANIL NITRATO SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE
RATOS DIABÉTICOS E CONTROLE

CREATININA SÉRICA (mg/dl)			
	CONTROLE	P	DIABÉTICOS
Basal	0.33 ± 0.02 (10)	<0.01	0.27 ± 0.02 (10)
Dia 1	Dose única de uranil nitrato, 2mg/kg peso		:
Dia 2	1.53 ± 0.15 (10)* <0.01	<0.001	0.38 ± 0.02 (10)* <0.01
Dia 4	3.33 ± 0.33 (10)* n.s.	<0.001	1.01 ± 0.15 (10)* n.s.
Dia 7	3.32 ± 0.81 (8)*	<0.1	1.51 ± 0.23 (10)*

* P < 0.01 ou maior comparado ao basal.

4º dia, e os animais remanescentes estavam oligúricos e azotêmicos no 7º dia do estudo.

O máximo declínio do clearance da creatinina alcançou os 95%, a partir de um valor basal de 1.8 ± 0.1 até 0.1 ± 0.05 ml/min ($p < 0.001$).

Nas ratas DM, a julgar pela elevação da creatinina sérica e queda no clearance da creatinina (de 2.1 ± 0.2 para 0.5 ± 0.1 ml/min $p < 0.005$), houve melhora da nefrotoxicidade induzida pelo uranil nitrato.

No 2º dia, a lisozimúria esteve presente em nove das dez ratas-controle, ao passo que foi não-detectável em todos os animais DM.

No 4º dia, entretanto, a lisozimúria esteve presente em seis das dez ratas DM. A necrose tubular aguda estava presente em ambos os grupos.

4.6 EXPERIMENTO 6 - EFEITO DA ADMINISTRAÇÃO DE MEIO DE CONTRASTE I

A Figura 3 mostra o efeito do meio de contraste sobre a função renal nas ratas DM e ratas-controle Sprague-Dawley. Estes animais tinham 5 a 6 meses de idade por ocasião do estudo e diabetes por 4 meses antes da administração do meio de contraste; além disso, eram normalmente hidratados.

No período basal (Tabela V), as ratas DM pesaram menos (193 ± 11 vs 284 ± 11), tinham acentuada hiperglicemia (615

TABELA V

EFEITO DO MEIO DE CONTRASTE I - DADOS DO PERÍODO BASAL

n=	CONTROLE 6	P	DM 6
Peso (g)	284 ± 11	0.001	193 ± 11
Volume urinário (ml/dia)	21 ± 4	0.001	134 ± 10
Clearance da creatinina (ml/min)	1.6 ± 0.05	0.001	2.8 ± 0.2
Nitrogênio uréico (mg/dl)	18 ± 0.6	0.005	44 ± 7
Glucose (mg/dl)	75 ± 7	0.001	615 ± 69
Hct (%)	48 ± 1	0.01	52 ± 1
Na (mEq/l)	142 ± 1	0.05	138 ± 2
K (mEq/l)	4.8 ± 0.2	NS	4.7 ± 0.4
Glicosúria	Negativa		++++
Proteinúria (mg/dia)	2 ± 1	0.005	26 ± 4

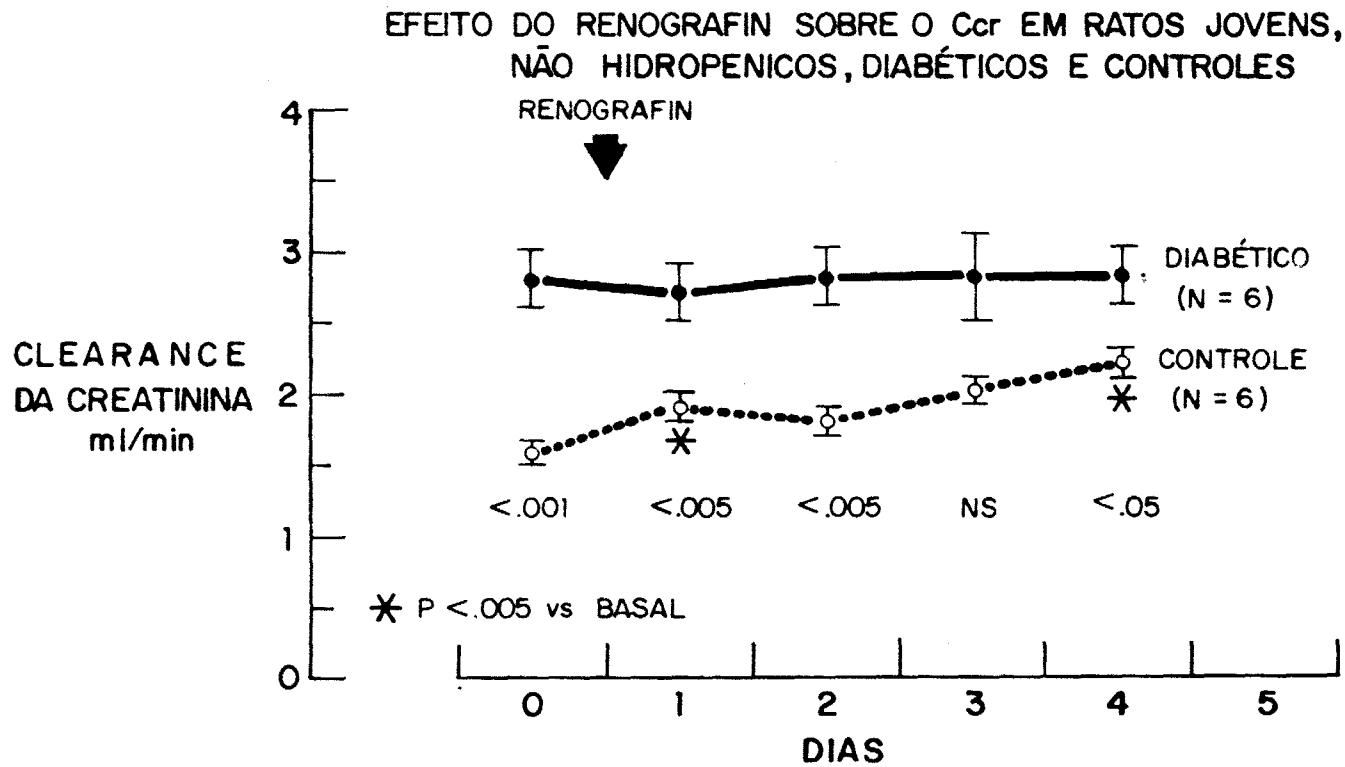


Fig. 3

± 69 vs $75 \pm \text{mg/dl}$), glicosúria (++++), poliúria (134 ± 10 vs 21 ± 4 ml/dia), proteinúria (26 ± 4 vs 2 ± 1 mg/dia) e clearance da creatinina endógena maior que as ratas-controle; valores de $p < 0.001$.

Conforme pode ser observado na Figura 3, não houve modificações na função renal, tanto das ratas DM como das controle. Entretanto, durante todo o estudo, as ratas diabéticas apresentaram um clearance de creatinina persistentemente mais elevado que os animais-controle.

4.7 EXPERIMENTO 7 - INFLUÊNCIA DA IDADE E DESIDRATAÇÃO II

As diferenças no clearance da creatinina, previamente observadas entre os grupos nas ratas jovens não-hidropênicas (DM 2.8 ± 0.2 ml/min vs C 1.6 ± 0.05 ml/min; $p < 0.001$), não estavam presentes nas ratas diabéticas velhas (2.9 ± 0.2) ou controles (2.8 ± 0.2), antes da desidratação. A proteinúria nas ratas DM velhas foi maior (54 ± 9 mg/dia) do que nas DM jovens (26 ± 4 mg/dia; $p < 0.01$) e do que nos animais-controle (C jovens, 2 ± 1 ; C velhos, 9 ± 3 mg/dia; $p < 0.01$) Tabela VI.

O período de desidratação resultou em diminuição do volume urinário e em aumento na osmolalidade urinária, em ambos os grupos.

A Tabela VI e Figura 4 mostram os efeitos da desidratação em alguns dos parâmetros estudados. O clearance da crea-

TABELA VI
 DADOS DO PERÍODO BASAL EM RATOS DIABÉTICOS VELHOS
 E EFEITO DA DESIDRATAÇÃO II

	n=	Δ	CONTROLE 9	P	DM 8	Δ
Peso (g)	B		370 ± 23	<0.005	257 ± 18	0%
	D	0%	NS 371 ± 23		NS 256 ± 18	
Volume urinário (ml/dia)	B		18 ± 3	<0.05	60 ± 15	↓68%
	D	↓61%	<0.01 7 ± 1		<0.01 19 ± 4	
Hct (%)	B		48 ± 1	NS	52 ± 3	↑4%
	D	↓2%	NS 47 ± 1		NS 54 ± 2	
Clearance da creatinina (ml/min)	B		2.8 ± 0.2	NS	2.9 ± 0.2	
	D		<0.1 2.2 ± 0.1		<0.001 1.7 ± 0.2	
Clearance da creatinina (%)	BvsD		-14 ± 5	<0.005	-40 ± 5	
Osmolalidade urinária (mOsm/kg)	B		1149 ± 97	NS	1046 ± 64	↑47%
	D	↑57%	<0.001 1803 ± 100		<0.001 1533 ± 101	
Proteinúria (mg/dia)	B		9 ± 3	<0.005	54 ± 9	
	D		NS 9 ± 4		NS 50 ± 10	

B - antes da desidratação

D - após desidratação

EFEITO DA DESIDRATAÇÃO SOBRE OS VALORES BASAIS DE RATOS VELHOS DIABÉTICOS E CONTROLES

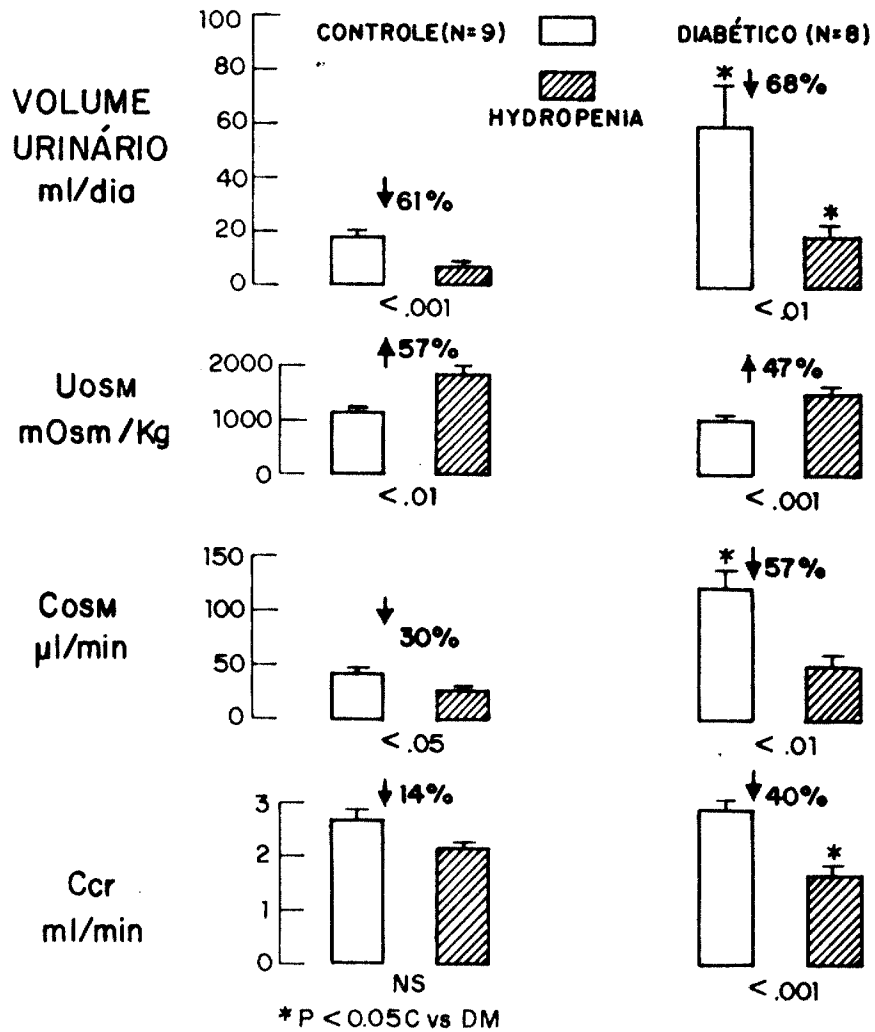


Fig. 4

tinina diminuiu $40 \pm 5\%$ ($p < 0.001$) nas ratas DM e somente $14 \pm 5\%$ nos controles (NS), em decorrência da desidratação.

A Tabela VII e Figura 5 mostram as modificações no clearance da creatinina após o período de desidratação e após a administração do meio de contraste. Conforme foi observado, a desidratação afeta o clearance da creatinina mais significativamente nas ratas DM do que nos controles. As ratas DM rapidamente se recuperaram da desidratação, normalizando os valores do clearance.

Deve-se observar entretanto que, apesar desta recuperação significativa após a desidratação, o clearance da creatinina permaneceu, após a administração do meio de contraste, significativamente menor do que o valor basal não-hidropênico.

As ratas-controle, bem como as ratas DM, não evidenciaram IRA induzida pelo meio de contraste.

A proteinúria aumentou nas ratas diabéticas após o meio de contraste, enquanto a lisozimúria permaneceu não-detectável em ambos os grupos durante todo o estudo.

4.8 PATOLOGIA

Não foram observadas evidências histológicas de anormalidades tubulares em ambos os grupos. Nas ratas DM, entretanto, havia um aumento da matriz mesangial (Escore 0-3; DM 2 (2-2) vs controles 0.64 (0-1.5) $p < 0.05$, Rank test) e leve proliferação celular mesangial (Escore 0-3; DM 0.88 (0-2) vs controles

TABELA VII

MODIFICAÇÕES NO Ccr APÓS O PERÍODO DE DESIDRATAÇÃO (ml/min)
E APÓS ADMINISTRAÇÃO DO MEIO DE CONTRASTE (%) II

	DESIDRATAÇÃO (ml/min)	MEIO DE CONTRASTE (% ALTERAÇÃO APÓS DESIDRATAÇÃO)		
		DIA 1	DIA 2	DIA 3
DM (n=8)	1.7 ± 0.2	↑43 ± 19*	↑36 ± 15*	↑34 ± 14*
p	<0.025	<0.05	<0.05	NS
C (n=9)	2.4 ± 0.1	↓ 6 ± 5	↓ 5 ± 9	↑ 9 ± 7

* p < 0.05 vs Desidratação

NS = não-significante

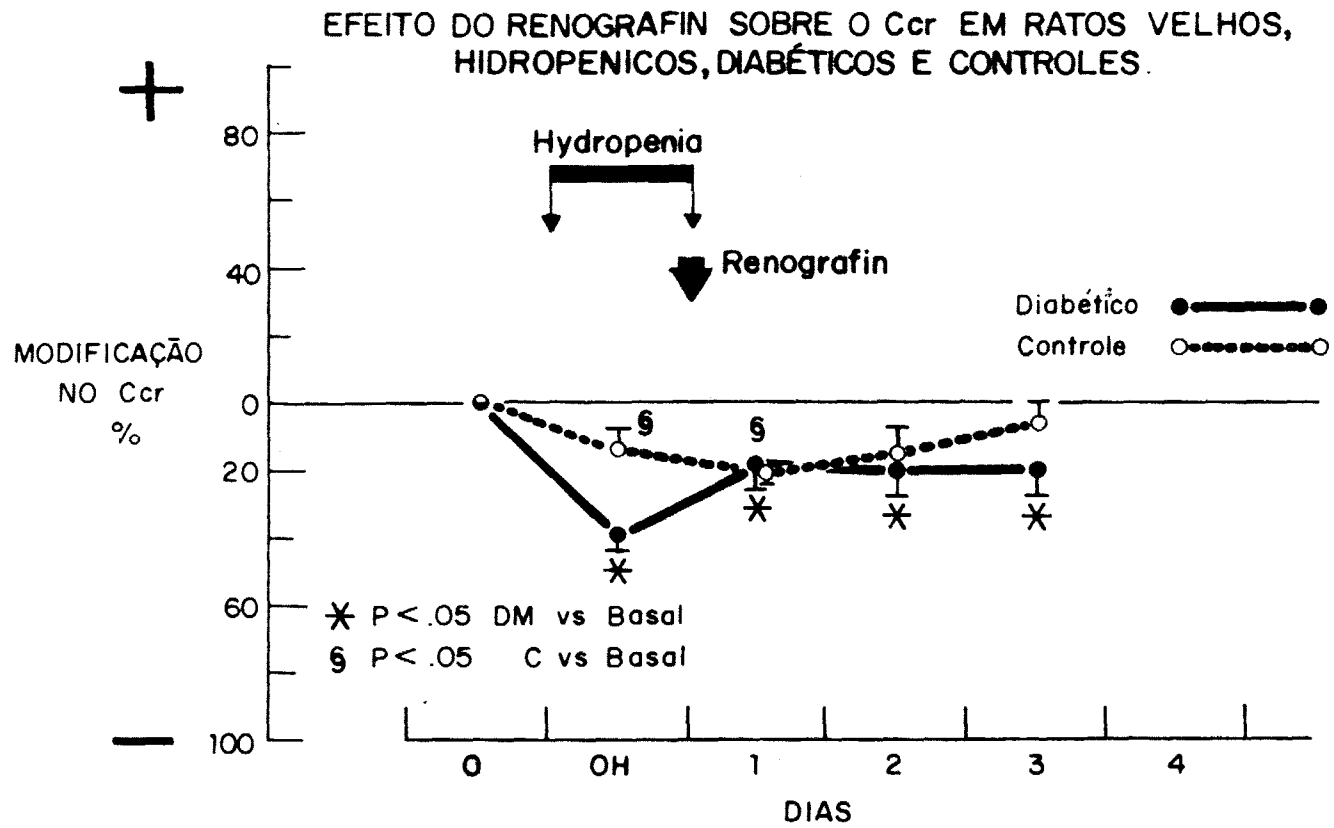


Fig. 5

0, $p > 0.05 = NS$ (Tabela VIII).

Estes achados são compatíveis com as lesões morfológicas características do diabetes em ratos velhos, relatadas por Maurer e colaboradores.¹¹⁰

TABELA VIII
 ESCORE DE LESÕES PATOLÓGICAS II

RATOS Nº	NECROSE TUBULAR (0-4)	↑MATRIZ MENSAGIAL (0-3)	↑PROLIFERAÇÃO MENSAGIAL (0-3)
Ratos-controle (N=9)			
313	0	1.5	0
304	0	2	0
395	0	0.5	0
404	0	0.5	0
405	0	0.25	0
410	0	0.25	0
415	0	0.25	0
416	0	0.5	0
417	0	0	0
\bar{X}	0	0.64	0
Ratos diabéticos (N=8)			
263	0	2	0
264	0	2	1.5
269	0	2	1.0
252	0	2	0
291	0	2	1.5
363	0	2	0
392	0	2	2
282	0	2	1
\bar{X}	0	2	0.88
DMvsC	NS	p < 0.05	NS

5 DISCUSSÃO

5.1 *Filtração glomerular*

5.2 *Diurese osmótica*

5.3 *Sistema renina angiotensina*

5.4 *Prostaglandinas*

5.5 *Aspectos metabólicos do diabetes experimental*

A IRA continua sendo um fascinante problema e um constante desafio para os investigadores.

Apesar de sua patogênese ainda permanecer um mistério, já se obtiveram grandes progressos no sentido de evitar seu desenvolvimento.

Assim, a IRA causada por colapso circulatório pode ser evitada graças aos melhores cuidados pós-operatórios, hidratação correta, diuréticos osmóticos e dopamina.

Na atualidade, cerca de 25-50% de todos os casos de IRA estão associados à nefrotoxicidade de drogas que usualmente compõem o arsenal terapêutico e diagnóstico de que se dispõe. Por esta razão, é de grande interesse o estudo dessas formas de IRA secundária a nefrotoxinas, o entendimento de sua fisiopatogenia e a busca de sua prevenção.

Neste trabalho, essas nefrotoxinas estão representadas pela gentamicina, cisplatino e contraste radiológico, drogas que possuem significativo uso clínico e associação com IRA; inclui-se também o urânio nitrato, que representa uma nefrotoxina de uso experimental bastante estudada.

Estudos elaborados com a finalidade de elucidar a patogênese e a prevenção da IRA induzida por nefrotoxinas têm u-

tilizado uma variedade de modelos animais e de manobras experimentais. Muitas das últimas incluem o uso de diurese osmótica e aquosa, diuréticos e manipulações experimentais ou farmacológicas do sistema renina-angiotensina e prostaglandinas. Os resultados têm sido de pequena ou nenhuma proteção.

Tem sido, entretanto, relatada proteção parcial ou alguma melhora mensurável da IRA, com persistência das lesões morfológicas de necrose tubular aguda.^{59,70,81,83}

As tentativas de proteger animais contra o desenvolvimento da IRA induzida pela gentamicina, utilizando hidratação,¹² ingesta aumentada de sódio,¹¹ diuréticos⁹¹ e alcalinização,⁹⁴ têm resultado em pequena ou nenhuma proteção. A preservação da função renal, com persistência da lesão tubular, foi recentemente demonstrada no rato tratado com gentamicina e com administração concomitante de salina e captopril ou somente captopril.²⁴

Demonstrou-se previamente a proteção completa, morfológica e funcional, contra a IRA induzida pela gentamicina nos ratos diabéticos poliúricos não-tratados e sugeriu-se que fatores responsáveis por uma precoce menor acumulação de gentamicina no córtex renal poderiam ser, em parte, responsáveis pela proteção.¹

Nos atuais experimentos, estendem-se as observações e demonstra-se que o rato com diabetes não-tratado exhibe proteção completa, morfológica e funcional, contra a IRA induzida pela gentamicina em doses altas (70 mg/kg peso/dia) e moderadas (40

mg/kg peso/dia). Apresenta também menor toxicidade em resposta a doses maciças (200 mg/kg peso/dia). Apesar da proteção depender do estado diabético (Exp. 2), ocorreu independentemente da duração deste (Exp. 3) e foi associada a uma menor acumulação cortical renal de gentamicina (Exp. 1, 2 e 3), confirmando os estudos anteriores.

O(s) mecanismo(s) da proteção observado(s) contra a IRA induzida pela gentamicina permanece(m) ainda não elucidado(s). A diurese osmótica, entretanto, parece haver conferido proteção.¹ Em adição, as perturbações metabólicas do diabetes podem ter determinado menor captação renal de gentamicina e, assim, contribuído para a proteção.

Em relato recente, constatou-se que o conteúdo renal de fosfatidilinositol diminuiu em ratos diabéticos, após o tratamento com gentamicina.¹¹¹ Uma vez que este fosfolípídeo da membrana é considerado o receptor celular ou "binding site" para a gentamicina no "brush-border" da membrana do túbulo proximal, postula-se que a diminuição da interação entre a gentamicina e o receptor pode, em parte, explicar a proteção, observada em ratos diabéticos, contra a nefrotoxicidade induzida pela gentamicina.¹¹¹

Ao testarem-se outras nefrotoxinas, observou-se que as ratas diabéticas exibiram proteção completa, morfológica e funcional, contra a nefrotoxicidade induzida pelo cisplatino; constatou-se ainda que o estado diabético não preveniu, mas proporcionou a melhora da nefrotoxicidade induzida pelo urânio ni-

trato.

Ficou evidente também que, a despeito das manobras utilizadas, as ratas diabéticas jovens e velhas, hidropênicas e não-hidropênicas, não exibiram IRA induzida pela administração de meio de contraste. Neste experimento, concluiu-se que o rato com diabetes mellitus não-tratado e o rato-controle não-diabético não exibem uma maior sensibilidade aos efeitos nefrotóxicos do meio de contraste, sob as condições experimentais estudadas (desidratação e idade avançada).

Portanto, pode-se concluir que a injeção de meio de contraste, nas doses utilizadas, não induziu a IRA nas ratas hidropênicas diabéticas e seus controles. A idade não influenciou os efeitos nefrotóxicos do meio de contraste nos animais DM ou controles.

Assim, parece apropriado concluir que o rato Sprague-Dawley, com diabetes induzido por Streptozotocina, não é o modelo apropriado para estudar a nefrotoxicidade dos meios de contraste relacionada ao diabetes.

Estudos correntes indicam que dois mecanismos estão envolvidos na patogênese da IRA induzida pelo cisplatinum. Existe, primariamente, uma diminuição da filtração glomerular, seja causada pela diminuição do fluxo plasmático renal, seja pela diminuição da permeabilidade glomerular. Além disso, a retrodifusão do filtrado glomerular também parece estar significativamente envolvida na patogênese desta forma de IRA.¹¹²

A IRA induzida pelo uranil nitrato é um modelo expe-

rimental bastante estudado, e os mecanismos envolvidos na sua fisiopatogenia são: as alterações da hemodinâmica renal com diminuição da filtração glomerular de todo o rim, do nefrônio e diminuição do Kf. Estas alterações seriam mediadas pelo sistema renina angiotensina e por outros hormônios renais vasoativos, sendo compatíveis com um mecanismo de controle túbulo glomerular ("tubular glomerular feed back").¹¹³

Os mecanismos envolvidos, seja na proteção, seja na melhora observada contra a IRA induzida pelo cisplatinum ou uranil nitrato, não podem ser esclarecidos pelo presente estudo. Dados preliminares em estudos recentes de Safirstein e colaboradores⁶⁵ confirmaram os resultados desta pesquisa e demonstraram uma menor acumulação de platinum no tecido renal dos ratos diabéticos.

Pode-se considerar, entretanto, uma série de características do rato com diabetes não-tratado e que podem ser responsáveis pela proteção exibida por esses animais frente a diferentes nefrotoxinas.

5.1 FILTRAÇÃO GLOMERULAR

Estudos clínicos e experimentais sobre diabetes mellitus demonstram que há um aumento dos rins nas fases precoces.^{114,115} Este aumento em peso pode ser um efeito metabólico, uma vez que é reversível pela instituição de terapia com insulina.^{114,115} Além disso, a hiperglicemia aguda, em ratos normais, causa aumento de 25% na filtração glomerular.¹¹⁶

No homem, o diabetes está associado inicialmente a aumento da filtração glomerular.¹¹⁴ O mecanismo responsável por estas modificações de hemodinâmica glomerular secundárias à hiperglicemia é desconhecido. Entretanto, Hostetter e colaboradores demonstraram que uma moderada hiperglicemia (375mg/dl) causa redução na resistência das arteríolas aferente e eferente, levando a aumento do fluxo plasmático e a aumento da filtração glomerular do nefrônio isolado.¹¹⁷

No presente estudo, os rins das ratas diabéticas são significativamente maiores que seus controles (DM 1.78 ± 0.05 g (Irim) vs 1.48 ± 0.13 g $p < 0.05$). Também a depuração da creatinina endógena foi, em média, 44% maior nos animais diabéticos do que nos controles.

É possível, então, que o alto índice de filtração glomerular exerça um papel protetor ao facilitar a eliminação das drogas, aumentando sua velocidade de excreção e reduzindo o tempo de exposição do nefrônio às toxinas.

Saliente-se que as ratas diabéticas que receberam dose maior de gentamicina (70 mg/kg peso/dia) apresentaram proteção idêntica à daquelas que receberam dose menor do mesmo produto (40 mg/kg peso/dia). Cabe registrar ainda que, em alguns animais-controle o índice de filtração glomerular no período basal era idêntico ao das ratas diabéticas. Não foi suficiente, porém, para protegê-las, uma vez que se tornaram nefrotóxicas após a administração de gentamicina. Nessas considerações, a filtração glomerular sozinha parece não ter sido responsável pela proteção.

5.2 DIURESE OSMÔTICA

A diurese osmótica é importante na prevenção de muitas formas experimentais de IRA.

Em observações anteriores, verificou-se que a diurese osmótica dos ratos diabéticos apresentava boa correlação com a proteção exibida contra a nefrotoxicidade da gentamicina.¹

A magnitude da natriurese protetora observada em animais que ingeriram salina, ao invés de água, em vários modelos nefrotóxicos, como glicerol, uranil nitrato e cloreto de mercúrio, é da ordem de 3-6 mEq/dia/100 g de peso,^{70,81,83} contrastando com a excreção de sódio das ratas DM que é, na média, 2-4 vezes menor: 1.4 mEq/dia/100 g de peso.

Uma vez que glicose e sódio são os principais solutos excretados pelo rato diabético, concluiu-se, em trabalho anterior, que a melhor correlação com a proteção é encontrada para o clearance osmolar, seguida da excreção de sódio, excreção de glicose e fluxo urinário.¹ Então, é possível que a diurese osmótica do rato DM, caracterizada pelo alto fluxo urinário (>75 ml/dia), grande excreção de glicose (3-9 g/dia) e modesta natriurese (1.4 mEq/dia), possa ter exercido papel protetor contra a nefrotoxicidade das diferentes drogas utilizadas neste estudo.

Entretanto, trabalhos recentes do laboratório do Dr. C. A. Vaamonde demonstraram que a excreção aumentada de solutos (glicosúria) pode não ser responsável pela proteção observada nos ratos diabéticos.

Ratos não-diabéticos que exibiram diurese osmótica (glicose), induzida pelo bloqueio do transporte tubular da glicose com phlorizin (inibidor competitivo da absorção de glicose), não foram protegidos dos efeitos nefrotóxicos da gentamicina.¹¹⁸ Além disso, ratos diabéticos com glicosúria similar mostraram proteção completa.¹¹⁸ Os autores dos experimentos concluíram que a filtração glomerular, o fluxo urinário e a excreção de solutos ou glicose não podem explicar a proteção contra a gentamicina obtida pelo estado diabético.

5.3 SISTEMA RENINA ANGIOTENSINA

No rato com diabetes experimental, a hiperglicemia produz hiperosmolalidade extracelular, com subsequente expansão do volume extracelular e supressão da liberação de renina.^{119,120}

Apesar da demonstração de que a atenuação da severidade da IRA experimental independe da atividade do sistema renina angiotensina,^{83,121} é possível que o estado de supressão deste sistema, como ocorre no diabetes experimental,^{119,120} possa ter influenciado a proteção contra a nefrotoxicidade de todas as drogas aqui utilizadas.

Na verdade, Shor e colaboradores,²⁴ recentemente, sugeriram que as modificações na ultrafiltração glomerular induzida pela gentamicina eram mediadas pelo sistema renina angiotensina. De maneira semelhante, o sistema renina angiotensina também estaria envolvido nas modificações da hemodinâmica glomerular presentes na IRA induzida pelo cisplatinum ou uranil ni-

trato.^{112,113}

Logo, a supressão do sistema renina angiotensina que ocorre no diabetes experimental pode ter sido em parte responsável pela proteção ou melhora na severidade da IRA induzida pelas diferentes nefrotoxinas estudadas.

5.4 PROSTAGLANDINAS

Em crianças com diabetes mellitus, observou-se aumento da síntese das prostaglandinas.¹²² Se é possível extrapolar este fato para o rato com DM experimental, é também possível especular sobre a contribuição de uma atividade aumentada das prostaglandinas na manutenção da hemodinâmica glomerular nos animais submetidos a nefrotoxicidade.

Esta especulação é consistente, dadas as observações experimentais e clínicas recentes de que a inibição das prostaglandinas com indometacina podem levar à IRA ou agravar a nefrotoxicidade de drogas como a gentamicina.^{101,102}

Por outro lado, recentemente demonstrou-se que ratos diabéticos apresentam um "déficit de prostaglandinas renais";¹²³ também Vaamonde e colaboradores observaram, recentemente, que o tratamento dos ratos diabéticos com indometacina não influencia o efeito protetor do diabetes sobre a nefrotoxicidade da gentamicina.¹²⁴ Tais observações incompatibilizam o possível efeito protetor das prostaglandinas sobre a nefrotoxicidade da gentamicina, no rato diabético.

5.5 ASPECTOS METABÓLICOS DO DIABETES EXPERIMENTAL

É possível que as alterações metabólicas induzidas pelo diabetes em nível celular possam desempenhar algum papel na proteção exibida pelos animais DM.

Alterações no metabolismo dos fosfolipídeos vêm sendo descritas no diabetes experimental.^{125,126} Os fosfolipídeos renais têm sido considerados receptores de membrana em nível do "brush-border" do túbulo proximal para muitas drogas como a gentamicina,^{27,32} podendo também estarem envolvidos na permeabilidade celular. Em consequência, é concebível que uma alteração nos fosfolipídeos renais, como ocorre no rato diabético,¹¹ possa ter influenciado a absorção das drogas e resultado em proteção.

Dessa forma, o rato com DM não-tratado apresenta uma série de características que, em conjunto ou separadamente, podem ter atuado como mecanismos protetores contra a IRA induzida pelas diferentes nefrotoxinas.

O rato com DM não-tratado, portanto, parece um modelo útil para o estudo da indução e prevenção da IRA causada por nefrotoxicidade.

No caso dos fosfolipídeos renais envolvidos no transporte tubular de gentamicina, por exemplo,^{27,32} as observações feitas permitem testar a hipótese fisiológica e fisiopatológica em modelo animal, onde a toxicidade da gentamicina é prevenida.

Kaloyanides e Vaamonde¹¹¹ sugerem que a resistência à gentamicina, observada nos ratos diabéticos, pode ser devida a uma diminuição de receptores para aminoglicosídeos no bordo em escova das células do túbulo proximal e, subsequentemente, menor acumulação cortical e menor toxicidade.

Ampliando estas considerações, pode-se admitir que a proteção observada nos ratos diabéticos contra várias nefrotoxinas pode estar relacionada a fatores determinados pelos fosfolipídeos renais, em nível de receptores de membrana e regulação da permeabilidade celular.

6 CONCLUSÕES

- 6.1 O rato com diabetes mellitus não-tratado apresenta completa proteção morfológica e funcional contra a IRA induzida pela gentamicina em doses médias e altas. Apresenta também menor toxicidade em resposta a doses maciças.
- 6.2 A proteção exibida depende do estado diabético, mas é independente da duração do mesmo.
- 6.3 A proteção foi associada a uma menor acumulação cortical renal da gentamicina.
- 6.4 O rato com diabetes mellitus não-tratado apresenta proteção completa, morfológica e funcional, contra a IRA induzida pelo cisplatinum.
- 6.5 O rato com diabetes mellitus não-tratado apresenta melhora na severidade da IRA induzida pelo uranil-nitrato.
- 6.6 Os ratos com diabetes mellitus não-tratados, jovens ou velhos, hidratados ou hidropênicos, não apresentaram IRA secundária à administração de contraste radiológico e podem não ser o modelo apropriado para estudo da nefrotoxicidade do contraste radiológico.

- 6.7 Os ratos-controle SD não apresentaram IRA secundária a administração de contraste radiológico e podem não ser o modelo apropriado para estudo da nefrotoxicidade do contraste radiológico.
- 6.8 A diurese osmótica dos ratos DM parece ser responsável, em parte, pela proteção observada. O grau de excreção de sódio observado nos animais DM é, no entanto, 2-4 vezes inferior ao que tem sido demonstrado em outros estudos de proteção parcial contra outras nefrotoxinas, sugerindo que a excreção aumentada de glicose também pode estar envolvida. Estudos recentes, entretanto, sugerem, ao menos para a gentamicina, a importância de outros mecanismos.
- 6.9 Outros fatores, relacionados ao estado diabético em si, podem estar envolvidos nos mecanismos de proteção (fosfolípídeo cortical renal, metabolismo dos lisossomas, etc.)
- 6.10 O rato com diabetes mellitus não-tratado, induzido pela streptozotocina, é modelo útil para estudar a indução e mecanismos de prevenção da nefrotoxicidade induzida por drogas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - TEIXEIRA, R.B. et alii. Complete protection from gentamicin-induced acute renal failure (G-ARF) in the untreated streptozotocin diabetic rat. *Kidney Int.*, 21, 600-12, 1982.
- 2 - CRONIN, R.E. Aminoglycoside nephrotoxicity: clinical considerations. *Symposia in acute renal failure due to common pharmacological agents. 11th Annual Meeting American Society of Nephrology.* Boston, Mass., Nov. 21, 1979.
- 3 - KALOYANIDES, G.J. & PASTORIZA-MUÑOZ, E. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int.*, 18:571, 1980.
- 4 - PLUMMER, D.T. & NGAHA, E.O. Urinary enzymes as an index of kidney damage by toxic compounds. In: _____. *Nephrotoxicity.* New York, Masson, p. 175-91.
- 5 - CRONIN, R.E. et alii. Natural history of aminoglycoside nephrotoxicity in the dog. *J. Lab. Clin. Med.*, 95:463, 1980.
- 6 - HOLMES, A.M.; HESLING, C.M.; WILSON, T.M. Drug-induced secondary hyperaldosteronism in patients with pulmonary tuberculosis. *Quart. J. Med.*, 39:299, 1970.
- 7 - PATEL, R. & SAVAGE, A. Symptomatic hypomagnesemia associated with gentamicin therapy. *Nephron*, 23:50, 1979.
- 8 - CRONIN, R.E. Aminoglycoside nephrotoxicity: pathogenesis and prevention. *Clin. Nephrol.*, 11:251, 1979.
- 9 - LANE, A.Z.; WRIGHT, G.E.; BLAIR, D.C. Ototoxicity and nephrotoxicity of amikacin. *Am. J. Med.*, 62:911, 1977.

- 10 - RUDHARDT, M. & FABRE, J. Behavior of amikacin in renal parenchyma of normal rats and of rats with acute obstructive renal insufficiency. *Nephron*, 24:287, 1979.
- 11 - BENNETT, W.M. et alii. Effect of sodium intake on gentamicin nephrotoxicity in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 151:736, 1976.
- 12 - BARR, G.A. et alii. An animal model for combined methoxyflurane and gentamicin nephrotoxicity. *Br. J. Anaesthes.*, 45:306, 1973.
- 13 - NOEL, P. & LEVY, V.G. Toxicité rénale de l'association gentamicine-furosémide. Une observation. *Nouv. Presse Méd.*, 7:351, 1978.
- 14 - CABANILLAS, F.; BURGOS, R.C.; RODRIGUEZ, C. Nephrotoxicity of combined cephalotin-gentamicin regimen. *Arch. Intern. Med.*, 135:850, 1975.
- 15 - YUER, L. et alii. La néphrotoxicité de l'association méthicilline-gentamycine. *Sem. Hôp. Paris*, 52:1903, 1976.
- 16 - GONZALEZ-VITALE, J.C. et alii. Acute renal failure after Cis-Dichlorodiammineplatinum (II) and gentamicin-cephalothin therapies. *Cancer Treat. Rep.*, 62:693, 1978.
- 17 - WHELTON, A. & WALKER, W.G. Intrarenal antibiotic distribution in health and disease. *Kidney Int.*, 6:131, 1974.
- 18 - EDWARDS, C.O. et alii. Concentrations of gentamicin and amikacin in human kidneys. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 9:925, 1976.
- 19 - HOUGHTON, D.C. et alii. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.*, 82:589, 1976.
- 20 - LUFT, F.C. et alii. Experimental aminoglycoside nephrotoxicity. *J. Lab. Clin. Med.*, 86:213, 1975.

- 21 - SILVERBLATT, F.J. & KUEHN, C. Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubular cell. *Kidney Int.*, 15:355, 1979.
- 22 - BAYLIS, C.; RENNKE, H.R.; BRENNER, B.M. Mechanism of the defect in glomerular ultrafiltration associated with gentamicin administration. *Kidney Int.*, 12:344, 1977.
- 23 - BAYLIS, C. The mechanisms of the decline in glomerular filtration rate in gentamicin-induced acute renal failure in the rat. *J. Antimicrob. Chemoth.*, 6:381, 1980.
- 24 - SCHOR, N. et alii. Pathophysiology of altered glomerular function in aminoglycoside-treated rats. *Kidney Int.*, 19:288, 1981.
- 25 - NEUGARTEN, J.; AYNEDJIAN, H.S.; BANK, N. The role of intratubular obstruction in gentamicin nephrotoxicity. *Proc. Am. Soc. Neph.*, 14:95A, 1981.
- 26 - JUST, M. & HABERMANN, E. The renal handling of polybasic drugs: 2. In vitro studies with brush border and lysosomal preparations. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, 300:67, 1977.
- 27 - KNAUSS, T.C.; WEINBERG, J.M.; HUMES, H.D. Alterations in renal cortical phospholipid (PL) content and metabolism in gentamicin (G) nephrotoxicity. *Clin. Res.*, 29:468A, 1981.
- 28 - HUMES, H.D.; WEINBERG, J.M.; KNAUSS, T.C. Clinical and pathophysiologic aspects of aminoglycoside nephrotoxicity. *Am. J. of Kidney Dis.*, 2, 1:5-29, July, 1982.
- 29 - GREEN, D.E.; FRY, M.; BLONDIN, G.A. Phospholipids as the molecular instruments of ion and solute transport in biological membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 77:257-61, 1980.
- 30 - HIROTA, F.; AXELROD, J. Phospholipid methylation and bio-

- logical signal transmission. *Science*, 209:1082-90, 1980.
- 31 - AUBERT-TULKENS, G.; VAN HOOF, F.; TULKENS P. Gentamicin-induced lysosomal phospholipidosis in cultural rat fibroblasts. *Lab. Invest.*, 40:481, 1979.
- 32 - FELDMAN, S. et alii. Aminoglycosides induce a renal phospholipidosis in the rat. *Clin. Res.*, 28:656A, 1980.
- 33 - KNAUSS, T.C.; WEINBERG, J.M.; HUMES, H.D. Renal cortical phospholipid levels in HgCl₂ and glycerol acute renal failure. *Kidney Int.*, 21:219, 1982.
- 34 - DAHL, J.L. & HOKIN, L.E. The sodium-potassium adenosine triphosphatase. *Ann. Rev. Biochem.*, 44:327-56, 1974.
- 35 - LIPSKY, J.J. & LIETMAN, P.S. Neomycin inhibition of adenosine triphosphatase: Evidence for a neomycin-phospholipid interaction. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 18:532-5, 1980.
- 36 - WILLIAMS, P.D.; HOLOHAM, P.D.; ROSS, C.R. Gentamicin nephrotoxicity. I. Acute biochemical correlates in rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 61:234-42, 1981.
- 37 - CRONIN, R. et alii. Renal cortex ion composition and Na-K-ATPase activity in early gentamicin nephrotoxicity. *Am. J. Physiol.*, 242:F477-F483, 1982.
- 38 - WEINBERG, J.M.; HARDING, P.G.; HUMES, H.D. Tissue and mitochondrial cation content in gentamicin nephrotoxicity. *Abstracts of the 8th Int. Cong. Neph.*, Athens, 1981, p. 200.
- 39 - HUMES, H.D. & WEINBERG, J.M. Importance of membrane bound calcium on the hydroosmotic water flow response to ADH in toad urinary bladder. *Clin. Res.*, 28:449A, 1980.
- 40 - VITAL-BRASIL, O. & PRADO-FRANCESCHI, J. The nature of the neuromuscular block produced by neomycin and gentamicin. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.*, 179:78-85, 1969.

- 41 - PITTINGER, C. & ADAMSON, R. Antibiotic blockage of neuromuscular function. *Ann. Rev. Pharmacol.*, 12:169-84, 1972.
- 42 - WEINBERG, J.M. & HUMES, H.D. Mechanisms of gentamicin-induced dysfunction of renal cortical mitochondria. I. Effects on mitochondrial respiration. *Arch. Biochem. Biophys.*, 205:222-31, 1980.
- 43 - WEINBERG, J.M.; HARDING, P.G.; HUMES, H.D. Mechanisms of gentamicin-induced dysfunction of renal cortical mitochondria. II. Effects on mitochondrial monovalent cation transport. *Arch. Biochem. Biophys.*, 205:232-9, 1980.
- 44 - SASTRASINH, M.; WEINBERG, J.M.; HUMES, H.D. Effect of gentamicin on calcium uptake by renal mitochondria. *Life Sci.*, 26:2309-15, 1982.
- 45 - PATEL, V. et alii. Enzymuria in gentamicin-induced kidney damage. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 7:364-9, 1975.
- 46 - EISENBERG, R.L.; BANK, W.D.; HEDGLOCK, M.W. Renal failure after major angiography. *Am. J. Med.*, 68:43-6, 1980.
- 47 - SWARTZ, R.D. et alii. Renal failure following major angiography. *Am. J. Med.*, 65:31-45, 1978.
- 48 - VAN ZEE, B.E. et alii. Renal injury associated with intravenous pyelography in nondiabetic and diabetic patients. *Ann. Intern. Med.*, 89:51-4, 1978.
- 49 - D'ELIA, J. et alii. Acute renal failure following angiography. Prospective study of 150 patients, preliminary results. *Proc. Clin. Dial. Transplant. Forum*, 8:123-4, 1978.
- 50 - MYERS, G.H. & WITTEN, D.M. Acute renal failure after excretory urography in multiple myeloma. *Am. J. Roentg.*, 133:583-8, 1971.

- 51 - DIAZ-BUXO, J.A. et alii. Acute renal failure after excretory urography in diabetic patients. *Ann. Intern. Med.*, 83:155-8, 1975.
- 52 - ANSARI, Z. & BALDWIN, D.S. Acute renal failure due to radiocontrast agents. *Nephron*, 17:28-40, 1976.
- 53 - HARKONEN, S. & KJELLSTRAND, C. Exacerbation of diabetic renal failure following intravenous pyelography. *Am. J. Med.*, 63:939-46, 1977.
- 54 - PILLAY, U.K.G. et alii. Acute renal failure following intravenous urography in patients with long standing diabetes mellitus and azotemia. *Radiology*, 95:633-6, 1970.
- 55 - TADAVARTHY, S.M.; CASTANEDA, W.; AMPLATZ, K. Redistribution of renal blood flow caused by contrast media. *Radiology*, 122:343-8, 1977.
- 56 - TALNER, L.B. & DAVIDSON, A.J. Renal hemodynamic effects of contrast media. *Investive Radiol.*, 3:310-7, 1968.
- 57 - DEAN, R.E.; ANDREW, J.H.; READ, R.C. The red cell factor in renal damage from angiographic media. *J. Am. Med. Ass.*, 187:27-31, 1964.
- 58 - MYDRE, J.R.; BRODWELL, E.G.; KNUDSON, S.B. Acute renal failure following IVP in cases of myelomatosis. *Acta Med. Scand.*, 156:263-6, 1956.
- 59 - LEUCUTIA, T. Multiple myeloma and intravenous pyelography (Editorial). *Am. J. Roentg. Rad. Ther. Nucl. Med.*, 85:187-9, 1961.
- 50 - BERDON, W.E. et alii. Tamm-Horsfall proteinuria: Its relationship to prolonged nephrogram in infants and children and to renal failure following intravenous urography in adults with multiple myeloma. *Radiology*, 92:714-22, 1969.

- 61 - GELMAN, L.M.; ROWE, J.W.; COGGINS, C.H. Effects of an angiographic contrast agent on renal function. *Cardiovasc. Med.*, 4:313-20, 1979.
- 62 - POSTELTHWAITE, A.E. & KELLEY, W.N. Uricosuric effect of radiocontrast agents. *Ann. Intern. Med.*, 74:845-52, 1971.
- 63 - ANTO, H.R. et alii. Mannitol prevention of acute renal failure associated with infusion intravenous pyelography. *Clin. Res.*, 27:407A, 1979.
- 64 - DENTINO, M. et alii. Long term effect of Cis-diamminedichlorideplatinum (CDDP) on renal function and structure in man. *Cancer*, 41:1274, 1978.
- 65 - SAFIRSTEIN, R. & McEVOY, R.C. Mechanisms of streptozotocin protection from cisplatin nephrotoxicity. *Clin. Research*, 31:440A, 1983.
- 66 - WILSON, D.R. et alii. The role of the concentration mechanism in the development of acute renal failure: micro-puncture studies using diabetes insipidus rats. *Nephron*, 6:128, 1969.
- 67 - FUNG, H. & THOMSON, A. Noradrenalin-induced acute renal failure in the dog: a reproducible experimental model. *Clin. Res.*, 19:808, 1971.
- 68 - FLORES, J. et alii. The role of cell swelling in ischemic renal damage and the protective effect of hypertonic solute. *J. Clin. Invest.*, 51:118, 1972.
- 69 - TESCHAN, P.E. & LAWSON, N.L. Studies in acute renal failure. Prevention by osmotic diuresis, and observations on the effect of plasma and extracellular volume expansion. *Nephron*, 3:1, 1966.

- 70 - THIEL, G. et alii. Protection of rat kidneys against HgCl_2 - induced acute renal failure by induction of high urine flow without renin suppression. *Kidney Int.*, 10: 5191, 1976.
- 71 - SCHRIER, R.W. et alii. Role of solute excretion in prevention of norepinephrine-induced acute renal failure. *Yale J. Biol. Med.*, 51:355, 1978.
- 72 - WILSON, D.R. et alii. Glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat: III. Micropuncture study of the effects of mannitol and isotonic saline on individual nephron function. *Nephron*, 4:337, 1967.
- 73 - MONTOREANO, R. et alii. Prevention of the initial oliguria of acute renal failure by the administration of furosemide. *Postgrad. Med. J.*, 47 Suppl: 7, 1971.
- 74 - CIRKSENA, W.J. et alii. Pathogenetic studies in a model of pigment nephropathy in the rat. In:—, *Pathogenesis and clinical findings with renal failure*. Stuttgart, Gessler U, Schroder K, Weidinger H, George Theime Verlag, 1971. p. 105.
- 75 - BIRBAUMER, A. et alii. Tubular obstruction in the pathogenesis of folic acid induced (ARF): Clearance studies. *Kidney Int.*, 3:274, 1973.
- 76 - HUGUENIN, M. et alii. Tubular obstruction in the pathogenesis of folic acid (FA) induced acute renal failure (ARF); proximal passage times and intratubular pressure. *Kidney Int.*, 3:274, 1973.
- 77 - UFFERMAN, C. et alii. Effects of furosemide on low-dose mercuric chloride acute renal failure in the rat. *Kidney Int.*, 8:362, 1975.
- 78 - DIBONA, G.F. et alii. Maintenance of renal function in salt loaded rats despite severe tubular necrosis induced by HgCl_2 . *Nephron*, 8:205, 1971.

- 79 - HENRY, L.N.; LANE, C.E.; KASHGARIAN, M. Micropuncture studies of the pathophysiology of acute renal failure in the rat. *Lab. Invest.*, 19:309, 1968.
- 80 - RYAN, E. et alii. Uranyl nitrate induced acute renal failure in the rat: Effect of varying doses and saline loading. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 143:289, 1973.
- 81 - McDONALD, F.D. et alii. The prevention of acute renal failure in the rat by long-term saline loading: a possible role of the renin-angiotensin axis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 131:610, 1969.
- 82 - FLAMENBAUM, W. et alii. Effect of potassium on the renin-angiotensin system and HgCl_2 - induced acute renal failure. *Am. J. Physiol.*, 224:305, 1973.
- 83 - BIDANI, A.; CHURCHILL, P.; FLEISCHMANN, L. Sodium-chloride-induced protection in nephrotoxic acute renal failure: Independence from renin. *Kid. Int.*, 16:481, 1979.
- 84 - KONRADS, A. et alii. Glycerol-induced acute renal failure in Battleboro rats with hypothalamic diabetes insipidus. *Clin. Sci.*, 56:133, 1979.
- 85 - THIEL, G. et alii. Glycerol induced hemoglobinuric acute renal failure in the rat. II The experimental model, predisposing factors, and pathophysiologic features. *Nephron*, 4:276, 1967.
- 86 - HELD, E.; WEBER, P.; ZATSKOWSKI, I. Experimental oliguric acute renal failure: protective effects of renomedullary autotransplants. *Klin. Wochenschr.*, 53:46, 1975.
- 87 - WILLIAMSON, H.E. MARCHAND, G.R.; BOURLAND, W.A.. Release of prostaglandin E (PGE) by furosemide (F) and ethacrynic acid (EA) as the mechanism of the increase in renal blood flow (RBF) by these agents. *Kidney Int.*, 6:113A, 1974.

- 88 - TORRES, V.E. et alii. Indomethacin enhancement of glycerol-induced acute renal failure in rabbits. *Kidney Int.*, 7:170, 1975.
- 89 - EVAN, A.P. et alii. Gentamicin (G) induced glomerular injury. *International Congress of Chemotherapy*. Boston, Amer. Soc. Microbiology, 1-5 Oct. 1979.
- 90 - PETERSEN, J.; WHITING, P.H.; SIMPSON, J.G. Protective effect of diuretics in gentamicin induced nephrotoxicity. *Kidney Int.*, 16:235A, 1979.
- 91 - ADELMAN, R.D. et alii. Furosemide enhancement of experimental gentamicin nephrotoxicity: Comparison of functional and morphological changes with activities of urinary enzymes. *J. Inf. Dis.*, 140:342, 1979.
- 92 - HSU, C.H. et alii. Potentiation of gentamicin nephrotoxicity by metabolic acidosis. *Proc. Soc. Exp. Biol.*, 146:894, 1974.
- 93 - ELLIOT, W.C. et alii. Effect of sodium bicarbonate and ammonium chloride ingestion in experimental gentamicin nephrotoxicity in the rat. *Res. Comm. Chem. Path. Pharm.*, 28:483, 1980.
- 94 - CHIU, P.J.S. et alii. Renal uptake and nephrotoxicity of gentamicin during urinary alkalinization in rats. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, 6:317, 1979.
- 95 - GILBERT, D.N. Comparative nephrotoxicity of gentamicin and tobramycin. In: _____. *Assessment of aminoglycoside toxicity. symposium*, sponsored by E. Lilly, Bürgenstock, 1977. p. 8-13.
- 96 - WHELTON, A. Intrarenal antimicrobial distribution modula-

- ting factors, therapeutic and toxicologic implications. In: _____. *Nephrotoxicity*. New York, Masson, 1978. p. 95-126.
- 97 - WHELTON, A. et alii. Hyperalimentation reduces cortical uptake of aminoglycosides but increases aminoglycoside nephrotoxicity. *Kidney Int.*, 16:778A, 1979.
- 98 - ELLIOTT, W.C. et alii. Effect of compensatory renal hypertrophy on experimental gentamicin (G) nephrotoxicity. *Clin. Res.*, 28:62A, 1980.
- 99 - FURUNO, K. et alii. Effect of D-glucarates on basic antibiotic-induced renal damage in rats. *J. Antib.*, 29:187, 1976.
- 100 - SUGARMAN, A.; BROWN, R.S.; ROSEN, S. Gentamicin nephrotoxicity and the beneficial effect of simultaneous administration of cephalothin or other sodium salts. *Kidney Int.*, 10:566A, 1976.
- 101 - SUGARMAN, A. & BROWN, R.S. Indomethacin enhancement of renal failure induced by ischemia or a nephrotoxin in the rat. *Kidney Int.*, 10:566A, 1976.
- 102 - HIGA, E.M.S. et alii. Prostaglandin inhibition in the gentamicin and tobramycin nephrotoxicity. *Clin. Research*, 30:450A, 1982.
- 103 - NEWMAN, R.A. et alii. Effect of osmotic diuresis on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Arch. Toxicol.*, 45:213, 1980.
- 104 - JUNOD, A. et alii. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J. Clin. Invest.*, 48:2129, 1969.
- 105 - HARE, R.S. Endogenous creatinine in serum and urine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 74:148, 1950.
- 106 - HUDSON, H. & RAPAPORT, A. Estimation of creatinine by the

- Jaffe reaction. A comparison of three methods. *Clin. Chemistry*, 14:222, 1968.
- 107 - SNEDECOR, G.W. & COCHRAN, W.G. *Statistical methods*. 6.ed. Ames, Iowa, Iowa State University Press, 1967.
- 108 - SIEGEL, S. *Non-parametric statistics for the behavioral sciences*. New York, McGraw-Hill, 1956, p. 116.
- 109 - MORALES, J. et alii. Complete protection from cis-platinum-induced acute renal failure (Pt-ARF) in the untreated streptozotocin-induced diabetes mellitus (DM) rat. *Clin. Res.*, 28, 895A, 1980.
- 110 - MAUER, S.M. et alii. Studies of diabetic nephropathy in animals and man. *Diabetes*, 25 (Suppl 2):850, 1976.
- 111 - KALOYANIDES, G.J. et alii. Decreased renal cortical phosphatidylinositol (PI) mediates protection against gentamicin (G) - induced acute renal failure (ARF) in diabetic (D) rats. In: _____. *Congress Nephrology*. Athens, (EX-020), p. 125.
- 112 - KAUFMAN, J.; CHOPRA, S.; FLAMENBAUM, W. Cis-diamminedichloroplatinum-induced acute renal failure in acute renal failure. In: _____. ELIAHOU, H.E. ed. *Proceedings of the Tel-Aviv Satellite simposium to the 8th meeting of the International Society of Nephrology*. London, John Libbey, 1981. p. 69-71.
- 113 - FLAMENBAUM, W.; HAMBURGER, R.; KAUFMAN, J. Distal tubule Na^+ and juxtaglomerular apparatus renin activity in uranyl nitrate induced acute renal failure in the rat. *Pflügers Arch.*, 364:209-15, 1976.
- 114 - MOGENSEN, C.E. & ANDERSON, M.J.F. Increased kidney size and glomerular filtration rate in untreated juvenile diabetes: normalization by insulin treatment. *Diabetologia*, 11:221-4, 1975.

- 115 - SEYER-HANSEN, K. Renal hypertrophy in streptozotocin-diabetic rats. *Clin. Sci. Mol. Med.*, 51:551-5, 1975.
- 116 - TUCKER, B.J. et alii. Mechanism of diuresis with modest acute hyperglycemia. *Clin. Res.*, 478A, 1981.
- 117 - HOSTETTER, T.H.; TROY, J.L.; BRENNER, B.M. Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int.*, 19:410-5, 1981.
- 118 - GOUVEA, W. et alii. Enhanced solute excretion fails to protect against acute renal failure in the phlorizin treated rat. *Kid. Int.*, 21:217A, 1982.
- 119 - CHRISTLIEB, A.R. Renin, angiotensin, and norepinephrine in alloxan diabetics. *Diabetes*, 23:962, 1974.
- 120 - CHRISTLIEB, A.R. & LONG, R. Renin-angiotensin system in phlorhizin compared with alloxan diabetes in the rat. *Diabetes*, 28:106, 1979.
- 121 - BIDANI, A.K. et alii. Natriuresis-induced protection in acute myohemoglobinuric renal failure without renal cortical renin content depletion in the rat. *Nephron*, 22:529, 1978.
- 122 - CHASE, H.P.; WILLIAMS, R.L.; DUPONT, J. Increased prostaglandin synthesis in childhood diabetes mellitus. *Pediatrics*, 94:185, 1979.
- 123 - HOULT, J.R.S. & MOORE, P.K. Prostaglandin synthesis and inactivation in kidneys and lungs of rats with experimental diabetes. *Clin. Sci.*, 59:63-6, 1980.
- 124 - VAAMONDE, C.A. et alii. The protection afforded to diabetic rats against gentamicin induced acute renal failure is not mediated by prostaglandins. *Kid. Int.*, 23:208, 1983.
- 125 - DAUGHADAY, W.H. & LARNER, J. Renal excretion of inositol by normal and diabetic rats. *J. Clin. Invest.*, 33:1075, 1954.

- 126 - HAUSER, G. Energy-and sodium-dependent uptake of inositol by kidney cortex slices. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 19:696, 1965.

19585

BIER, RUTH TERESA

O RATO COM DIABETES MELLITUS
NAO-TRATADO

DISSERT.

616.61

B588R

1984

MED

1995/61954-2

1987/05/27

LEITOR

tr/cula

UFRGS

19585

BIER, RUTH TERESA

O RATO COM DIABETES MELLITUS
NAO-TRATADO

DISSERT.

616.61

B588R

1984

MED

1995/61954-2

1987/05/27