



Efeitos do Tratamento Crônico com Sinvastatina na Função Renal de Ratos Submetidos a um Modelo Experimental de Doença Renal Crônica

Effects of Chronic Treatment with Sinvastatin on Renal Function in Rats Subjected to an Experimental Model of Chronic Kidney Disease

André Luiz Rios dos Santos¹,
Nilo César do Vale Baracho².

¹ Acadêmico do 6º ano de Medicina da FMIT.
² Farmacêutico-bioquímico. Doutor em Fisiologia e Farmacologia. Professor Titular de Farmacologia e Bioquímica, Faculdade de Medicina de Itajubá, MG

Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Itajubá – Fmit

Recebido em junho de 2014
Aceito em junho de 2014

Correspondência:

André Luiz Rios dos Santos
Rua Monsenhor José Paulino, 368. Apto 01
Centro Pouso Alegre/MG.
CEP: 37550-000.
E-mail: andre_luiz_rios@hotmail.com

RESUMO

Objetivos: Avaliar os efeitos do tratamento crônico com sinvastatina na função renal de ratos submetidos a um modelo experimental de doença renal crônica. **Metodologia:** Foram utilizados 30 ratos, machos, adultos jovens, da linhagem *Wistar*, com peso entre 200 e 250 g e idade entre 60 e 90 dias. Os animais foram divididos aleatoriamente em 3 grupos com 10 ratos cada. Foi realizada a cirurgia seguindo o modelo experimental de doença renal crônica moderada (DRC-M) baseado na metodologia descrita por Ormrod & Miller, 1980. Após os procedimentos cirúrgicos, os animais receberam os referidos tratamentos, por um período de duas semanas: Grupo 1 - Animais com DRC-M tratados com água destilada VO (Gavagem) (n=10). Grupo 2 - Animais com DRC-M tratados com 5mg/Kg de sinvastatina VO (n=10). Grupo 3 - Animais com DRC-M tratados com 10mg/Kg de sinvastatina VO (n=10). **Resultados:** A indução de DRC-M não produziu alterações significativas sobre o débito urinário, ingesta hídrica, ingesta alimentar e parâmetros da função renal estudados, quando comparados o grupo controle com sinvastatina 5mg/Kg ou com sinvastatina 10mg/Kg ou quando comparados os grupos sinvastatinas entre si. **Conclusão:** Esses dados demonstram que o tratamento com sinvastatina, independente da dosagem do trabalho, não produziu melhora da função renal de ratos submetidos a um modelo experimental de Doença Renal Crônica Moderada (DRC-M).

Palavras-chave: doença renal crônica, sinvastatina, experimentos com ratos

ABSTRACT

Objectives: To evaluate the effects of chronic treatment with sinvastatin on renal function in rats subjected to an experimental model of chronic renal disease. **Methods:** 30 male rats were young adults, the *Wistar* strain, weighing between 200 and 250 g and aged between 60 and 90 days were used. The animals were randomly divided into 3 groups with 10 rats in each. Surgery was performed following the experimental moderate chronic (CKD-M) model of kidney disease based on the methodology described by Miller & Ormrod, 1980. After the surgical procedures, animals receive these treatments for a period of two weeks: Group 1 - animals with CKD-M with distilled water and treated orally (gavage) (n = 10). Group 2 - animals with CKD-M and treated with sinvastatin 5mg/kg orally (n = 10). Group 3- animals with CKD-M and sinvastatin treated with 10mg/kg orally (n = 10). **Results:** Induction of CKD-M produced no significant change on urine output, fluid intake, food intake and renal function parameters studied when comparing the control group with sinvastatin or sinvastatin 5mg/kg or 10mg/kg when comparing groups sinvastatin to each other. **Conclusion:** These data demonstrate that treatment with sinvastatin dosage independent from the work produced no improvement in renal function in rats subjected to an experimental model of Moderate Chronic Kidney Disease (CKD-M).

Keywords: Chronic Kidney Disease, sinvastatin, experiments with rats.

INTRODUÇÃO

A insuficiência renal crônica (IRC) é o resultado de lesões irreversíveis provocadas por uma ou por várias doenças que tornam os rins incapazes de realizar totalmente ou parcialmente suas funções.^{1,2}

A doença renal crônica (DRC) geralmente ocorre nos dois rins, sendo raro acometer apenas um. Muitas vezes, progride e evolui devido à falta de informação, desconhecimento e descuido dos pacientes.^{3,4}

Várias evidências clínicas e epidemiológicas mostram uma associação de vários fatores responsáveis pela instalação e progressão da doença. Esses fatores podem ter causa específica ou favorecerem o aparecimento de doença renal crônica na ausência de uma causa estabelecida.⁵

A DRC pode ter caráter familiar, implicando em uma predisposição genética ou ser secundária a outras doenças, tais como, hipertensão, diabetes e hiperlipidemias. Vale ressaltar que a obesidade, o fumo, o uso crônico de algumas drogas, como o paracetamol, anti-inflamatórios não esteroidais e cafeína e o baixo peso ao nascimento também estão relacionados com o aumento da chance de desenvolver DRC.⁶⁻⁸

Fatores não variáveis incluem genética, raça, idade e sexo, com uma maior evidência de progressão da DRC em idosos, pacientes do sexo masculino e raça negra. Dos fatores variáveis, a presença de

hipertensão é considerada um dos mais importantes. Além disso, o diabetes mellitus de ambos os tipos, sobretudo se mal controlado, acelera a progressão da nefropatia diabética, levando à doença renal terminal.^{9,10}

Com a lesão inicial, ocorre perda de néfrons e os remanescentes tornam-se hipertróficos e hiperfiltrantes, a fim de manter a homeostase do organismo. Essas alterações levam à produção de citocinas, fatores de crescimento e hormônios, que são responsáveis pelo processo de proliferação celular, pelo recrutamento de células inflamatórias, pela proliferação de colágeno e fibrose. A produção contínua de fibrose glomerular e intersticial acaba por determinar perda progressiva dos néfrons e da filtração glomerular.¹¹

Os néfrons remanescentes aumentam a excreção fracional de muitos solutos, mantendo constante o balanço de sódio, potássio e água, até fases avançadas de insuficiência renal crônica. O tempo que a lesão renal leva para evoluir até insuficiência renal crônica terminal é bastante variável, dependendo da etiologia da lesão renal, aspectos raciais, imunitários, estado hipertensivo, sobrecarga proteica, etc.¹²

A sinvastatina é um fármaco pertencente à classe química das estatinas, prescrito no tratamento das dislipidemias, tendo como objetivo a redução dos níveis de colesterol e lipídios no sangue.^{13,14}

Através do seu metabólito ativo, o beta-hidroxiácido, inibe específica e

competitivamente a HMG-CoA redutase, enzima que catalisa a conversão da HMG-CoA em mevalonato que é uma passagem precoce e limitante na biossíntese do colesterol.

Desta forma, a sinvastatina é utilizada para reduzir os níveis plasmáticos elevados de colesterol total, LDL-colesterol, apolipoproteína B e triglicerídeos em pacientes com hipercolesterolemia primária e hipercolesterolemia familiar heterozigótica, quando a resposta à dieta e a outras medidas não medicamentosas, isoladamente, tenham sido inadequadas. Adicionalmente, eleva de forma moderada o HDL-colesterol, reduzindo, portanto, as relações LDL/HDL e colesterol total/HDL. Retarda a progressão da aterosclerose coronariana, incluindo a redução do desenvolvimento de novas lesões e de novas oclusões em pacientes com doenças coronarianas.¹⁵⁻¹⁹

A sinvastatina também é indicada para reduzir o risco de morte por doença coronariana e de infarto do miocárdio não fatal, reduzir o risco de acidente vascular cerebral (AVC) e de ataques isquêmicos transitórios (AIT) e para reduzir o risco de realização de procedimentos de revascularização de miocárdio.²⁰

Os dados sobre os efeitos da sinvastatina e de outras estatinas sobre os rins são escassos na literatura. No entanto, existem evidências de estudos clínicos com sinvastatinas sugerindo uma ação protetora dessas drogas na progressão da doença renal crônica.²¹

Desta forma, o referido projeto busca, através de uma metodologia bem padronizada, elucidar os possíveis benefícios da administração desse fármaco em animais submetidos a um modelo experimental de doença renal crônica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi Aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt) sob o protocolo número 05/11 e obedeceu à Lei Federal 11.794 e às orientações do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Trabalho realizado através de pesquisa experimental com animais e pesquisa laboratorial, onde o material biológico utilizado foi o sangue.

Foram utilizados ratos machos, adultos jovens, da linhagem *Wistar*, com peso variando entre 200 e 250 g e com idade entre 60 e 90 dias, oriundos do biotério da Faculdade de Medicina de Itajubá. Os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas, passando por ciclo claro-escuro de 12 horas. Foram randomizados em grupos de 10 ratos por grupo (n=10), cujo número foi obtido após análise da literatura.^{22,23} Todos os animais passaram por um período de adaptação que consistiu na permanência mínima de 3 dias em cada ambiente, antes de iniciar os procedimentos experimentais.

Foram excluídos os animais que não se enquadraram nos quesitos

determinados ou que morreram durante a experimentação.

O modelo experimental de doença renal crônica desenvolvido neste estudo baseou-se na metodologia descrita por Ormrod & Miller (1980),²⁴ cujo objetivo para o projeto foi induzir doença renal moderada, baseado nos níveis de uréia plasmática.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados após anestesia por via intraperitoneal (I.P) com solução de Ketamina (50mg/Kg)/Xylazina (25mg/Kg). Após a anestesia foram realizados os procedimentos cirúrgicos descritos abaixo:

Após tricotomia e assepsia adequadas, foi feita uma incisão no flanco direito, exposição do rim direito com dissecção da gordura aderente e cápsula renal, sendo preservada a glândula suprarrenal. Em seguida, foram removidos os pólos superior e inferior do rim esquerdo, sendo retirado também 1/3 do tecido cortical remanescente na porção lateral externa do rim esquerdo. Esta técnica preserva 40% do tecido renal. Terminado este procedimento a incisão foi suturada. Sete dias após este procedimento, o animal foi novamente submetido ao mesmo procedimento anestésico, seguido de uma incisão no flanco esquerdo e após ligadura da artéria renal esquerda, veia renal esquerda e ureter esquerdo, o rim esquerdo foi retirado. Foi preservada a glândula suprarrenal esquerda. Terminado este procedimento a incisão foi suturada. A

segunda cirurgia foi considerada como o dia zero.²⁵

Imediatamente após a recuperação da anestesia, com objetivo de produzir analgesia no pós-operatório, os animais receberam paracetamol (80mg/Kg) (V.O), uma vez ao dia, durante três dias.

Após os procedimentos cirúrgicos, os animais foram randomizados em três grupos experimentais distintos, com 10 animais por grupo (n=10). Os ratos foram acondicionados em gaiolas metabólicas individuais, com água e ração “*ad libitum*” e receberam os referidos tratamentos descritos abaixo, por um período de duas semanas (quatorze dias).²⁶

Grupo 1: Animais com DRC-M e tratados com água destilada VO (Gavagem). (n=10)

Grupo 2: Animais com DRC-M e tratados com 5mg/Kg de sinvastatina VO (Gavagem). (n=10)

Grupo 3: Animais com DRC-M e tratados com 10mg/Kg de sinvastatina VO (Gavagem). (n=10)

O débito urinário dos animais foi mensurado diariamente e amostras de urina foram coletadas nos dias 4, 9 e 14.

Foram avaliados os seguintes parâmetros: peso final, ingesta hídrica, ingesta alimentar, fluxo urinário, proteinúria de 24 horas, creatinina urinária e plasmática, ureia plasmática, osmolaridade urinária e plasmática, pH urinário, clearance de creatinina, clearance de água livre e clearance osmolar.

Os dados foram expressos como média \pm erro padrão da média ou mediana, quando apropriado. Foi testada a distribuição normal das variáveis pelo teste de normalidade Anderson-Darling. Os resultados que apresentaram distribuição normal foram comparados por análise de variância, seguida pelo teste de Student Newman-Keuls. Os dados não paramétricos foram comparados por meio do Kruskal-Wallis seguido pelo teste de Dunns. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas com o valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

O débito urinário dos grupos controle, sinvastatina 5mg/Kg e sinvastatina 10mg/Kg estão mostrados na Figura 1.

O grupo controle, quando comparado aos grupos que fizeram o uso da sinvastatina, tanto na quantidade de 5mg/Kg, quanto de 10mg/Kg não mostrou diferença significativa quanto ao débito urinário ($p > 0,05$), assim como, quando comparados entre si os grupos submetidos ao uso de sinvastatina, em ambas as dosagens, também não apresentaram diferenças significativas quanto ao débito ($p > 0,05$).

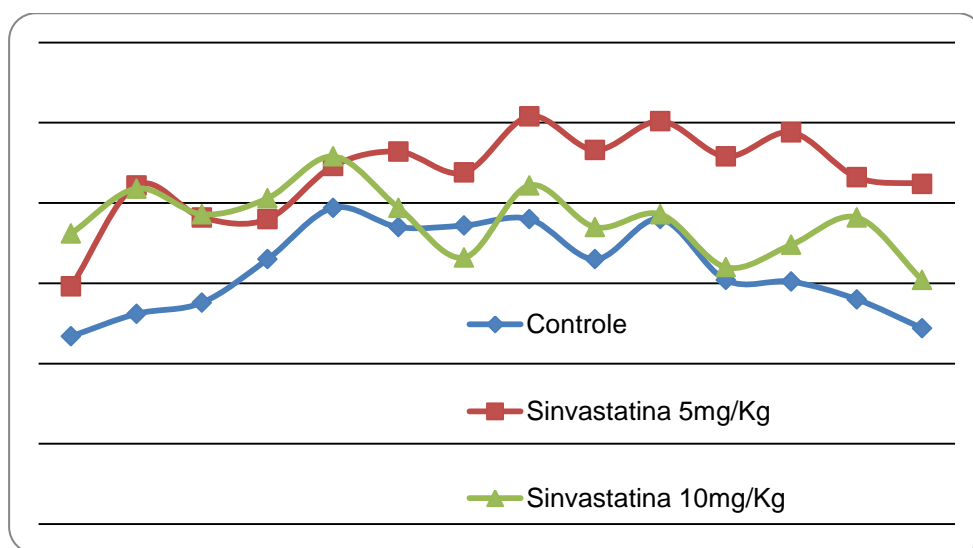


Figura 1 - Débito Urinário (mL/24h) dos grupos controle, sinvastatina 5mg/Kg e sinvastatina 10mg/Kg, durante 14 dias após a cirurgia.

Os dois grupos de tratamento com sinvastatina não apresentaram diferença significativa entre si, quando estudadas a ingesta alimentar e ingesta hídrica. Ambos os grupos, quando comparados

individualmente com o controle, também não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$), conforme mostrado nas Figuras 2 e 3.

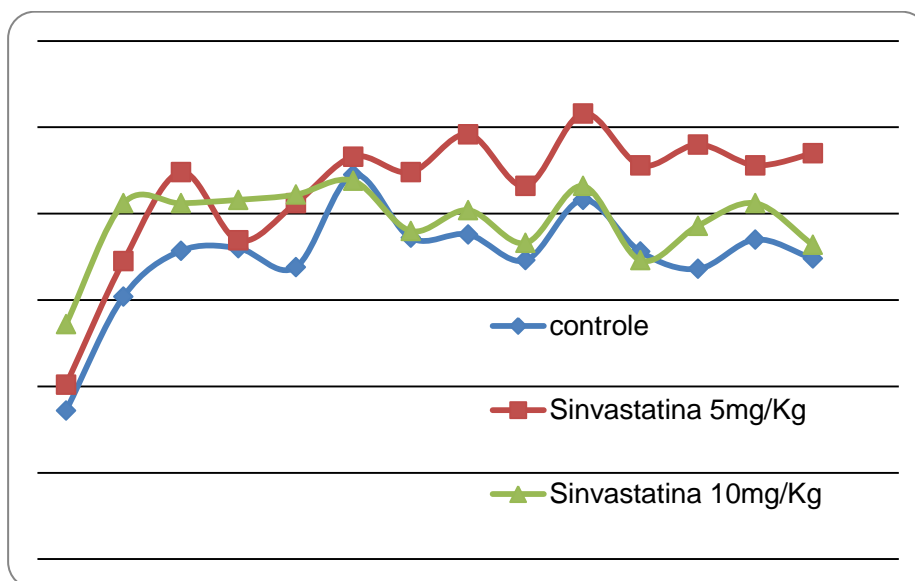


Figura 2 - Ingesta Hídrica (mL/24h) dos grupos controle, simvastatina 5mg/Kg e simvastatina 10mg/Kg, durante 14 dias após a cirurgia.

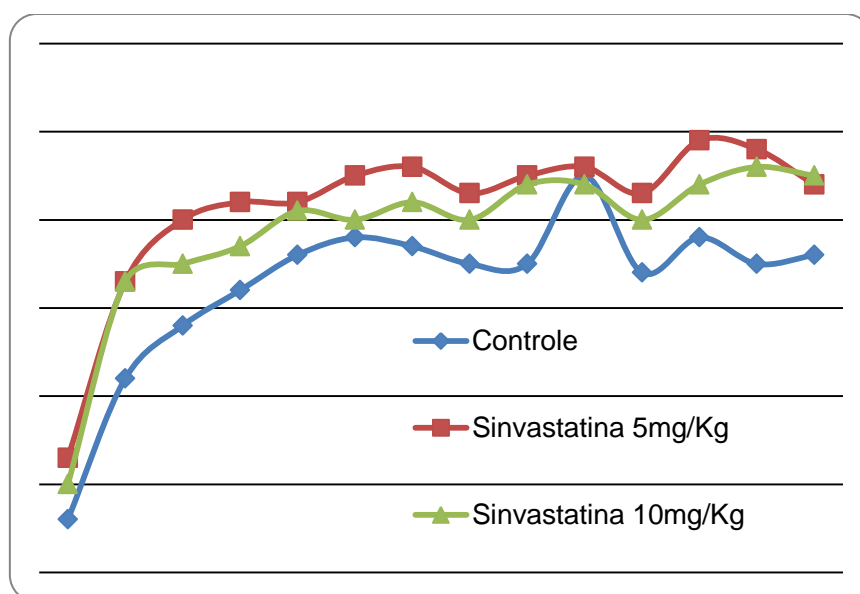


Figura 3 - Ingesta alimentar (mg/24h) dos grupos controle, simvastatina 5mg/Kg e simvastatina 10mg/Kg, durante 14 dias após a cirurgia.

Em relação aos parâmetros bioquímicos da função renal, os resultados dos grupos controle, simvastatina 5mg/Kg e simvastatina 10mg/Kg são apresentados na tabela 1.

No estudo comparativo do grupo controle com os grupos simvastatina, não se encontrou diferença significativa entre eles.

Do mesmo modo, quando comparados os grupos simvastatina entre si, fazendo a análise sobre os parâmetros bioquímicos da função renal, não foram encontradas diferenças significativas entre eles ($p > 0,05$).

Tabela 1 - Parâmetros bioquímicos da função renal dos grupos controle, sinvastatina 5mg/Kg e sinvastatina 10mg/Kg, durante 14 dias após cirurgia.

	Controle	Sinvastatina 5mg/Kg	Sinvastatina 10mg/Kg	p<0,05
Ureia Sérica (mg/dL)	6.5 ± 1.23	6.5 ± 0.79	6.8 ± 1.36	0.54
Clearence de creatinina (mL/min)	0.05 ± 0.07	0.07 ± 0.05	0.09 ± 0.06	0.40
Proteína total sérica (g/dL)	5.0 ± 2.47	6.2 ± 1.34	5.8 ± 1.29	0.47
Albumina sérica (g/dL)	2.4 ± 1.00	2.35 ± 0.36	2.6 ± 0.15	0.35

DISCUSSÃO

Nesse estudo procurou-se avaliar os efeitos do tratamento crônico com sinvastatina na função renal de ratos submetidos a um modelo experimental de doença renal crônica.

Embora seja amplamente descrito na literatura o uso do modelo experimental de doença renal crônica grave 5/6, o presente estudo optou pelo o uso da nefrectomia ¾, uma vez que o modelo nefrectomia 5/6 é um estágio de doença renal crônica muito parecido com de humanos, onde os pacientes já estão em tratamento dialítico, o que dificultaria a observação dos parâmetros bioquímicos da função renal com o respectivo tratamento farmacológico usado nesse estudo. Além disso, o modelo de doença renal crônica moderada induzida pela nefrectomia ¾ é muito pouco explorado, sendo escassos os estudos que utilizam esse modelo para testar este tratamento farmacológico para doença renal crônica.²⁴

Os resultados adquiridos mostraram que o tratamento com sinvastatina 5mg/Kg e sinvastatina 10mg/Kg não reverteram a poliúria e polidipsia produzidas pela indução de doença renal crônica moderada. Sabe-se que a poliúria e polidipsia presentes nesse modelo experimental de doença renal crônica podem ser atribuídas a alterações nos mecanismos de concentração da urina, e a incapacidade de reabsorção de água no ducto coletor.²⁵

Como já sabido, existem evidências de estudos clínicos com sinvastatinas sugerindo uma ação protetora dessas drogas na progressão da doença renal crônica, dificultando assim a evolução dessa doença.²⁵ Porém, no presente estudo não houve uma melhora da função renal dos ratos submetidos a doença renal crônica moderada, provavelmente pelo fato do presente trabalho ter utilizado metodologias e dosagens das drogas diferentes das utilizadas em outros trabalhos publicados na literatura.¹⁸

No trabalho desenvolvido por Marcelino AR (2014), a metodologia utilizada pelos autores foi idêntica ao presente estudo, sendo os ratos submetidos à nefrectomia $\frac{3}{4}$; porém, as drogas utilizadas foram diferentes, como o alisquireno, que proporcionou no estudo uma diminuição dos níveis de IL-1, β e IL-6, diminuindo então citocinas inflamatórias.²⁸ Conclui-se então que o estudo de Marcelino foi eficaz para normalizar a função renal de ratos com doença renal crônica moderada, diferentemente do atual trabalho, que utilizou a mesma metodologia, baseada na metodologia de Ornord & Miller, para submeter os ratos a um modelo

REFERÊNCIAS

1. Yach D, Hawkes C, Gould CL, Hofman KJ. The global burden of chronic diseases: overcoming impediments to prevention and control. *JAMA*. 2004;291:2616-22.
2. Lessa I. Doenças crônicas não transmissíveis no Brasil: um desafio para a complexa tarefa da vigilância. *Cienc Saúde Colet*. 2004;9(4):931-43.
3. Kiberd BA, Clase CM. Cumulative risk for developing end-stage renal disease in the US population. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:1635-44.
4. Locatelli F, Pozzoni P, Tentori F, Del Vecchio L. Epidemiology of cardiovascular risk in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;7:2-9.
5. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, *et al*. Kidney disease as risk factor for development of cardiovascular disease. A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical, Cardiology, Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2003;108:2154-74.
6. Lopes LMV. Detecção de doenças renais: estudo populacional em um bairro da cidade de Recife-PE [Tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo- Escola Paulista de Medicina; 2001.
7. Passos VM, Barreto SM, Lima-Costa MF, Detection of renal dysfunction based on serum creatinine levels in a Brazilian community: Bambuí health and aging study. *Braz J Med Biol Res*. 2003;36:393-401.
8. Romão Jr JE: Diretrizes brasileiras da doença renal crônica. Doença renal crônica: definição, epidemiologia e classificação. *J Bras Nefrol*. 2004;26(3):4-5.
9. Chadban S, Briganti E, Kerr P, Dunstan DW, Welborn TA, Zimmet PZ, *et al*. Prevalence of kidney damage in Australian adults: The AusDiab Kidney Study. *J Am Soc Nephrol*. 2003; 14:131-8.
10. Swedko PJ, Clark HD, Paramsothy K, Akbari A. Serum creatinine is an experimental de doença renal, mas que usou a sinvastatina como droga de escolha, não tendo sido observada melhora na função renal, mesmo quando se estudou os parâmetros da função renal individualizados.²⁴

CONCLUSÕES

Conclui-se nesse estudo que o tratamento com sinvastatina, independente da dosagem do trabalho, não produziu melhora da função renal de ratos submetidos a um modelo experimental de Doença Renal Crônica Moderada (DRC-M).

- inadequate screening test for renal failure in elderly patients. *Arch Inter Med.* 2003;163:356-60.
11. Viktorsdottir O, Palsson R, Adresdottir MB, Asperlund T, Gudnason V, Indridason OS. Prevalence of chronic kidney disease based on estimated glomerular filtration rate and proteinuria in Iceland adults. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:1799-807.
 12. Pinto PS, Silva FJ, Munch ECSM, Chaoubah A, Bastos RV, Andrade LCF, *et al.* Inadequabilidade da creatinina sérica na identificação precoce da disfunção glomerular. *J Bras Nefrol.* 2004;26(4):196-201.
 13. Inoue TM, Anbinder AL, Balducci I, Carvalho YR. Influência da simvastatina, administrada por via subcutânea, na reparação óssea em tibia de rato. *RPG Rev Pós-Grad.* 2003;10(2):113-9.
 14. Junqueira JC, Mancini MN, Carvalho Y, Anbinder AL, Balducci I, Rocha RF. Effects of simvastatin on bone regeneration in the mandibles of ovariectomized rats and on blood cholesterol level. *J Oral Sci.* 2002;44(3/4):117-24.
 15. Lacroix AZ, Cauley JA, Pettinger M, Hsia J, Bauer DC, McGowan J, *et al.* Statin use, clinical fracture, and bone density in postmenopausal women: results from the women's health initiative observational study. *Ann Intern Med.* 2003;139(2):97-104.
 16. Lane N, Armitage CG, Loomer P, Hsieh S, Majumdar S, Wang HY, *et al.* Bisphosphonate therapy improves the outcome of conventional periodontal treatment: results of a 12-month, randomized, placebo-controlled study. *J Periodontol.* 2005;76(7):1113-22.
 17. Mundy G, Garret R, Harris S, Chan J, Chen D, Rossini G, *et al.* Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science.* 1999;286(5446):1946-9.
 18. Skoglund B, Forslund C, Aspenberg P. Simvastatin improves fracture healing in mice. *J Bone Miner Res.* 2002;17(11):2004-8.
 19. Von Stechow D, Fish S, Yahalom D, Bab I, Chorev M, Muller R, *et al.* Does simvastatin stimulate bone formation in vivo? *BMC Musculoskelet Disord.* 2003;4:8.
 20. Tarkowski A, Carlsten H, Herlitz H, Westberg G. Differential effects of captopril and enalapril, two angiotensin converting enzyme inhibitors, on immune reactivity in experimental lupus disease. *Agents Actions.* 1990;31(1-2):96-101.
 21. Hsia J, Morse M, Levin V. Effect of simvastatin on bone markers in osteopenic women: a placebo-controlled, dose-ranging trial. *BMC Musculo skelet Disord.* 2002;3:7.
 22. De Albuquerque DA, Saxena V, Adams De Boivin GP, Brunner HI, Witte DP, Singh RR, *et al.* An ACE inhibitor reduces Th2 cytokines and TGF-beta1 and TGF-beta2 isoforms in murine lupus nephritis. *Kidney Int.* 2004;65(3):846-59.
 23. Perez De Lema G, De Wit C, Cohen CD, Nieto E, Molina A, Banas, *et al.* Angiotensin inhibition reduces glomerular damage and renal chemokine expression in MRL/lpr mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 307(1):275-81.
 24. Ormrod D, Miller T. Experimental uremia: Description of a model producing varying degrees of estable uremia. *Nephron.* 1980;26:249-54.
 25. Slot C. Plasma creatinine determination. A new and specific Jaffe reaction method. *Scand J Clin Lab Invest.* 1965;17(4):381-7.
 26. Balgley BM, Wang W, De Voe DL, Lee CS. Mass spectrometry-based tissue proteomics for cancer biomarker discovery. *Personalized Med.* 2007;4:45-58.
 27. Reddy GT, Kumar TM, Veena. Formulation and evaluation of alendronate sodium gel for the treatment of bone resorptive lesions in periodontitis. *Drug Deliv.* 2005;12(4):217-22.
 28. Marcelino AR. Efeitos do Bloqueio do Sistema Renina-Angiotensina na Modulação da Resposta Imuno-Inflamatória em um Modelo Experimental de Doença Renal Crônica em Ratos [Trabalho de Conclusão de Curso]. Itajubá/MG: Faculdade de Medicina de Itajubá; 2014.

Correspondência: André Luiz Rios dos Santos Rua Monsenhor José Paulino, 368. Apto 01 Centro Pouso Alegre/MG. CEP: 37550-000. E-mail: andre_luiz_rios@hotmail.com