



## Influência do Tratamento Crônico com L-arginina na Função Renal de Ratos Submetidos a um Modelo Experimental de Doença Renal Crônica

*Influence of Chronic Treatment with L-arginine on Renal Function in Rats Subjected to an Experimental Model of Chronic Kidney Disease*

Letícia Pereira de Castro<sup>1</sup>,  
Niara da Cunha Borges<sup>1</sup>,  
Patrícia Benício Laira<sup>1</sup>,  
Nilo Cesar do Vale Baracho<sup>2</sup>.

1 Acadêmicos do 6º ano do curso de Medicina da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI). Itajubá/MG.

2 Farmacêutico-Bioquímico, Mestre em Fisiologia e Farmacologia e Doutor em Ciências da Saúde, Professor Adjunto de Farmacologia e Bioquímica da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMI) - Itajubá/MG.

### RESUMO

**Objetivo:** Investigar possíveis melhorias na função renal de ratos submetidos à insuficiência renal crônica e tratados com L-arginina. **Metodologia:** Foram utilizados 28 ratos divididos em 4 grupos: L1 - Controle (N=7): tratamento com água destilada; L2 - Uremia Moderada (N=7): suplementação com L-arginina (100mg/ kg), com nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral; L3 - Uremia Moderada (N=6): suplementação com L-arginina (200mg/kg) com nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral; L4 - Uremia Moderada (N=8): suplementação com L-arginina (500mg/kg) com nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral. **Resultados:** A administração contínua de L-arginina não produziu alterações significativas nas dosagens de creatinina, ureia e proteína total. Nas dosagens de glicemia L2 e albumina L2 houve pequenas alterações. Na ingestão hídrica foram encontradas alterações pontuais nos dias 6 e 8, apenas entre os grupos L2 e controle. Analisando a ingestão alimentar, houve apenas alterações significativas ( $p < 0,05$ ) pontuais, nos dias 5, 7 e 9 entre L2 e L1, quando comparados ao controle, respectivamente. Em relação ao débito urinário, existiu alteração significativa ( $p < 0,01$ ) entre L3 e controle. **Conclusão:** Foi observada que a suplementação de L-arginina não possui efeitos na insuficiência renal, não produz melhorias em ureia, creatinina, proteínas totais e débito urinário. Porém, produz alterações em glicemia e albumina, não encontrando um padrão dose resposta nas análises estatísticas.

**Palavras-chave:** L-arginina, Insuficiência Renal Crônica, Função Renal.

### ABSTRACT

**Objective:** To investigate possible improvements in renal function in rats undergoing chronic renal failure treated with L-arginine. **Methods:** 28 rats were divided into 4 groups: Control L1- (N=7): treatment with distilled water; L2 - Moderate Uremia (N=7): supplementation with L-arginine (100 mg/kg) with unilateral nephrectomy + nephrectomy  $\frac{3}{4}$  kidney against side; L3 - Moderate Uremia (N=6): supplementation with L-arginine (200 mg/kg) with unilateral nephrectomy + nephrectomy  $\frac{3}{4}$  kidney against side; L4 - Moderate Uremia (N=8): supplementation with L-arginine (500 mg/kg) with unilateral nephrectomy + nephrectomy  $\frac{3}{4}$  kidney against side. **Results:** Continuous administration of arginine L produced no significant change in creatinine dosage, urea and total protein. In glycemia L2 and L2 albumin there were minor changes. In fluid intake there were specific changes on days 6 and 8, only between L2 and control groups. Analyzing food intake, there were only significant changes ( $p < 0.05$ ) spot, on 5, 7 and 9 between L2 and L1 compared with the control, respectively. Regarding the urinary debit, there were significant change ( $p < 0.01$ ) between L3 and control. **Conclusion:** It was observed that L-arginine supplementation has no effect on renal failure, does not produce improvements in urea, creatinine, total protein and urinary debit. However, it produces changes in blood glucose and albumin, finding a standard dose response in statistical analysis.

**Keywords:** L-arginine, Chronic Renal Failure, Renal Function.

Recebido em novembro de 2014

Aceito em dezembro de 2014

### Correspondência:

Patrícia Benício Laira  
Rua dos Lobos, 291 Estiva  
Itanhandu-MG  
CEP: 37464-000  
Tel: (35) 9156-9245/ 3361-2781  
E-mail: [patricialaira@yahoo.com.br](mailto:patricialaira@yahoo.com.br)

## INTRODUÇÃO

A Doença Renal Crônica (DRC) é considerada problema de saúde pública em todo o mundo. No Brasil, a sua incidência e prevalência estão aumentando, sendo o prognóstico ruim e seu tratamento é bastante dispendioso.<sup>1</sup> O número projetado atualmente para pacientes em tratamento dialítico e com transplante renal no Brasil está próximo dos 120.000, a um custo de 1,4 bilhão de reais.<sup>2</sup>

As principais consequências em pacientes com DRC são as suas complicações, dentre elas: anemia, acidose metabólica, alteração do metabolismo mineral, desnutrição (todas decorrentes da perda da função renal) e óbito, principalmente por causas cardiovasculares.<sup>1</sup> Dentre os pacientes pertencentes ao grupo de risco para a DRC estão os hipertensos, diabéticos, idosos, portadores de doenças cardiovasculares, familiares de pacientes portadores da doença e pacientes usuários de medicamentos nefrotóxicos.<sup>3</sup>

Estudos indicam que o diagnóstico precoce é fundamental para retardar e atenuar as consequências da doença renal crônica. Dessa maneira, pode-se diminuir o aporte de indivíduos às terapias renais de substituição. Sendo assim, para evitar o transplante renal, medidas nefro e cardioprotetoras devem ser tomadas precocemente.<sup>4,5</sup> Atualmente, para o tratamento da DRC é necessário o reconhecimento dos diferentes aspectos que englobam a doença de base, sejam familiares, de estilo de vida ou genéticos. Também, torna-se importante reconhecer o estágio da doença, a velocidade da diminuição da filtração glomerular e identificação de complicações, tais como, as cardiovasculares.<sup>1,5</sup>

Grande quantidade de células utiliza a arginina para sintetizar o óxido nítrico (NO). As células endoteliais, na presença do oxigênio molecular e do terminal guanidino nitrogenado da L-arginina, produzem o radical livre gasoso NO e L-citrulina, em um processo catalisado pela enzima óxido nítrico-sintase.<sup>6,7</sup> O NO medeia vários fenômenos, como vaso relaxamento dependente do endotélio, citotoxicidade mediada por macrófagos, inibição da ativação, adesão e agregação plaquetária, relaxamento do corpo cavernoso peniano humano, regulação da pressão

sanguínea basal, depressão sináptica a longo prazo, potencialização da transmissão sináptica a longo prazo, da microcirculação medular e glomerular, dentre outros.<sup>6</sup>

Pesquisas mostraram que as enfermidades renais estão associadas ao estresse oxidativo, à diminuição da taxa de NO e ao aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO).<sup>8</sup> Em condições patológicas, tem-se a formação de ERO em maior quantidade que a taxa de NO, o que irá interferir na taxa de filtração glomerular,<sup>9</sup> uma vez que o NO auxilia nesse processo, devido à vasodilatação arteriolar e da microcirculação glomerular.<sup>8</sup>

Sendo assim, a suplementação com L-arginina, precursora do NO, surge como uma opção de tratamento, uma vez que tem sido relatado, tanto em animais quanto em humanos, que a infusão de L-arginina induz melhora significativa na vasodilatação dependente de endotélio.<sup>10</sup> Testes recentes verificaram que a possibilidade da suplementação oral de L-arginina através da dieta, pode restabelecer, ao menos em parte, a função endotelial.<sup>11</sup>

Dessa maneira, o presente estudo visou investigar possíveis melhorias na função renal em ratos submetidos a vários estágios de Insuficiência Renal Crônica tratados com L-arginina.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Sujeitos

O estudo foi realizado na sala de experimentação animal do Biotério, Laboratório de Bioquímica e Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina de Itajubá (FMIIt).

Esse estudo obedeceu à Lei Federal 6.638 e às orientações do Código Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), sendo analisado e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina de Itajubá em 15/02/2011, sob o protocolo nº 03/11.

Foram utilizados 28 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 divididos em 4 grupos experimentais distintos e foram acondicionados em gaiolas metabólicas

individuais, com água e ração “*ad libitum*” por um período de duas semanas (quatorze dias).<sup>13-16</sup>

A divisão dos animais em quatro grupos distintos ocorreu de acordo com o tipo de cirurgia realizada:

Grupo 1- Controle (N=7): Nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral e tratamento com água destilada, VO (Gavagem).

Grupo 2- Uremia Moderada (N=7): Nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral e suplementação com L-arginina na dose de 100mg/kg, VO (Gavagem).<sup>10</sup>

Grupo 3- Uremia Moderada (N=6): Nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral e suplementação com L-arginina na dose de 200mg/kg, VO (Gavagem).<sup>17</sup>

Grupo 4- Uremia Moderada (N=8): Nefrectomia unilateral + nefrectomia  $\frac{3}{4}$  do rim contra lateral e suplementação com L-arginina na dose de 500mg/kg, VO (Gavagem).<sup>18</sup>

### **Desenvolvimento do modelo experimental de doença renal crônica**

Foi induzida doença renal crônica grave baseada nos níveis de ureia plasmática.<sup>12</sup>

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados após anestesia por via intraperitoneal (I.P) com solução de Ketamina (50mg/Kg) e Xylazina (25mg/Kg).

Foram removidos os polos superior e inferior do rim direito, sendo retirado também 1/3 do tecido cortical remanescente na porção lateral externa do rim. Esta técnica preserva 40% do tecido renal. 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.

### **Tratamento e dosagens**

A L-Arginina foi administrada na forma de pó dissolvido em água, nas doses de 100, 200 e 500 mg/kg de peso do animal.<sup>10,17,18</sup>

O débito urinário dos animais foi mensurado diariamente e foram coletadas amostras de urina de 24 horas nos dias 04, 09 e 14. A amostra foi centrifugada (2000 rpm, 5

minutos) para posterior processamento e dosagem de creatinina, sódio e potássio.

Ao término do experimento, respeitando-se um período de jejum de 12 horas, os animais foram anestesiados com Ketamina (50mg/Kg) e Xylazina (25mg/Kg), por via intraperitoneal e submetidos à punção intracárdica aspirativa para eutanásia e coleta de amostras. O sangue colhido foi centrifugado em centrífuga clínica (Excelsa, Fanen) a 2000 rpm durante 10 minutos e o soro obtido (+/- 2mL/rato) foi guardado em tubos fechados em congelador (-4°C), para análises laboratoriais.

As amostras de soro armazenadas foram utilizadas para determinação dos seguintes parâmetros bioquímicos, utilizando espectrofotômetro (Quimis Q-108DRD): glicemia, creatinina, ureia, proteínas totais e albumina.

Para a determinação das concentrações foram utilizados os Kits da marca Labtest. Para dosagem sérica de glicose, utilizou-se o método enzimático, através da reação da glicose oxidase; para proteínas totais, utilizou-se a metodologia colorimétrico-biureto; para albumina, utilizou-se a metodologia colorimétrico-verde de bromocresol; a dosagem da ureia foi realizada através do método urease e da creatinina foi realizada pelo método fotocolorimétrico, baseado na reação da creatina com a solução de picrato em meio alcalino.

Para análise estatística, utilizou-se o programa BioEstat, versão 5.0. O teste t de Student foi utilizado entre duas populações independentes, para a comparação dos grupos em cada momento, com o cálculo da estatística p. Os dados obtidos também foram submetidos ao teste ANOVA, para verificação de discordância entre os 4 grupos. Nos casos de p menor que 0,05, a estatística foi considerada significativa.

### **RESULTADOS**

A administração contínua de L-arginina não produziu alterações significativas nas dosagens de creatinina, ureia e proteína total em nenhum dos grupos avaliados, quando comparados ao grupo controle, analisados pelos testes t de Student e ANOVA (Gráficos de 1 a 3).

## CREATININA

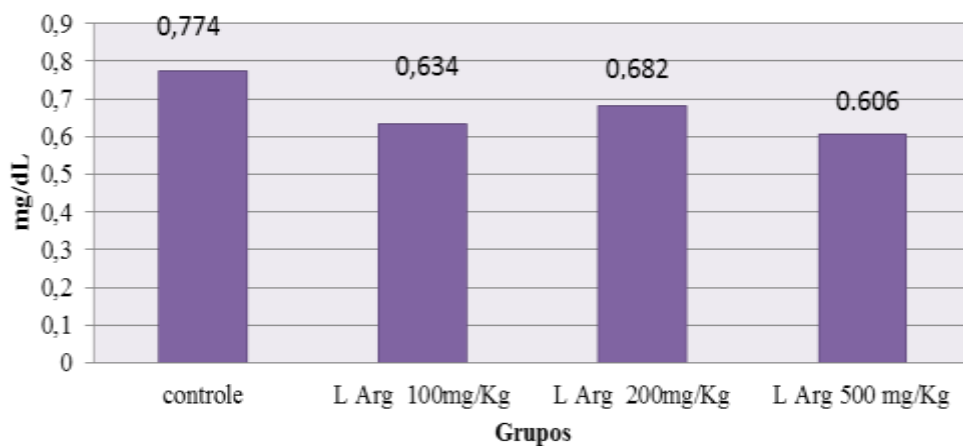


Gráfico 1 - Média dos valores de Creatinina dos grupos avaliados.

## PROTEÍNAS TOTAIS

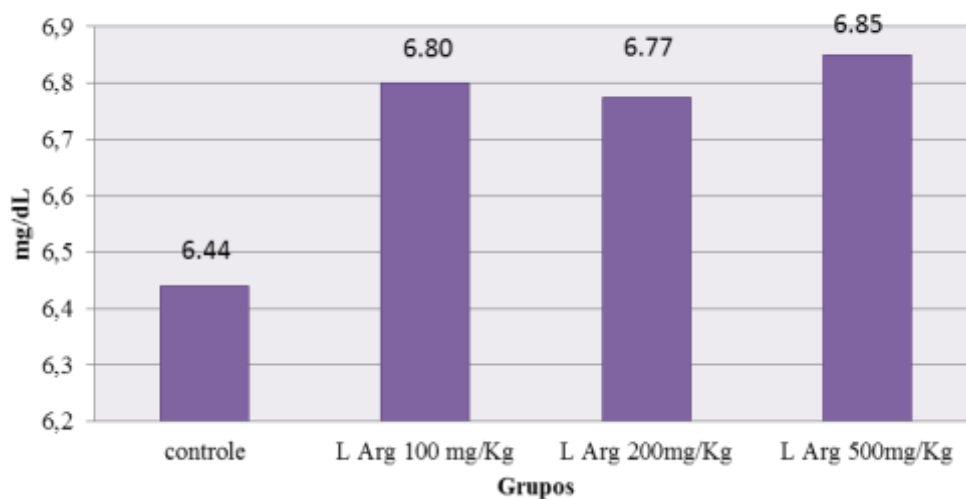


Gráfico 2 - Média dos valores de Proteínas dos grupos avaliados.

## UREIA

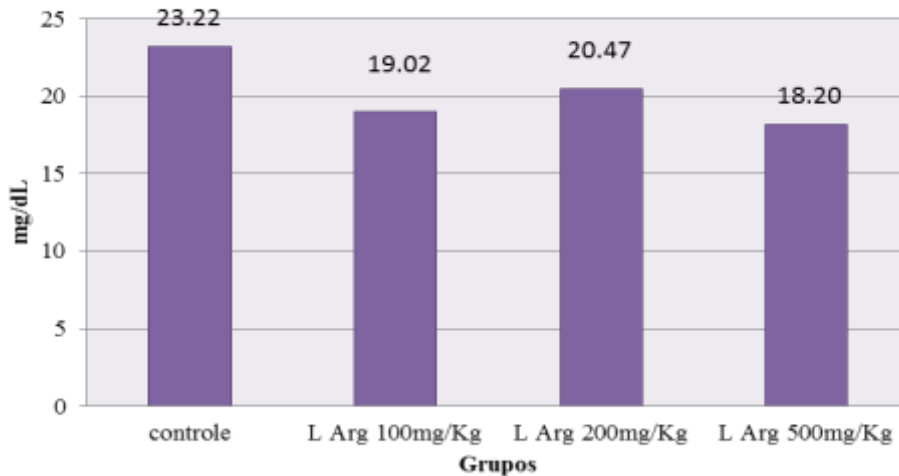


Gráfico 3 - Média dos valores de Ureia dos grupos avaliados

Nas dosagens de glicemia e albumina foram observadas discretas alterações. Em relação à glicemia, encontrou-se menor valor no grupo controle, do que nos grupos tratados com L-arginina: 100mg/Kg ( $p=0.0135$ ), L-arginina 200mg/Kg ( $p=0.0086$ ) e L-arginina 500mg/Kg ( $p<0,001$ ), no teste ANOVA (Gráfico 4). No

estudo da albumina, observou-se também menor albuminemia no grupo controle, comparado com os grupos L-arginina 100mg/Kg ( $p=0,0022$ ), L-arginina 200mg/Kg ( $p=0,0015$ ), e grupo L-arginina 500mg/Kg ( $p<0.001$ ), no teste ANOVA (Gráfico 5).

## GLICEMIA

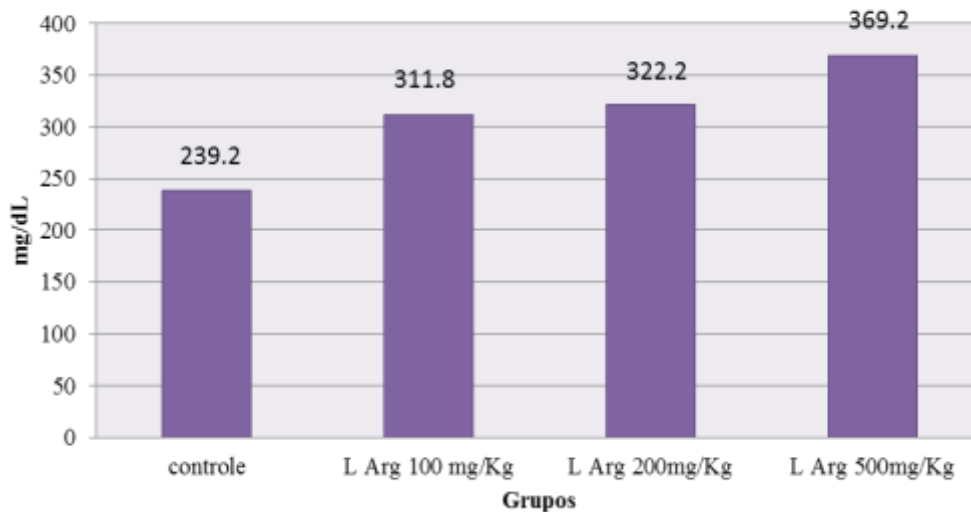


Gráfico 4 - Média dos valores de Glicemia nos diferentes grupos avaliados

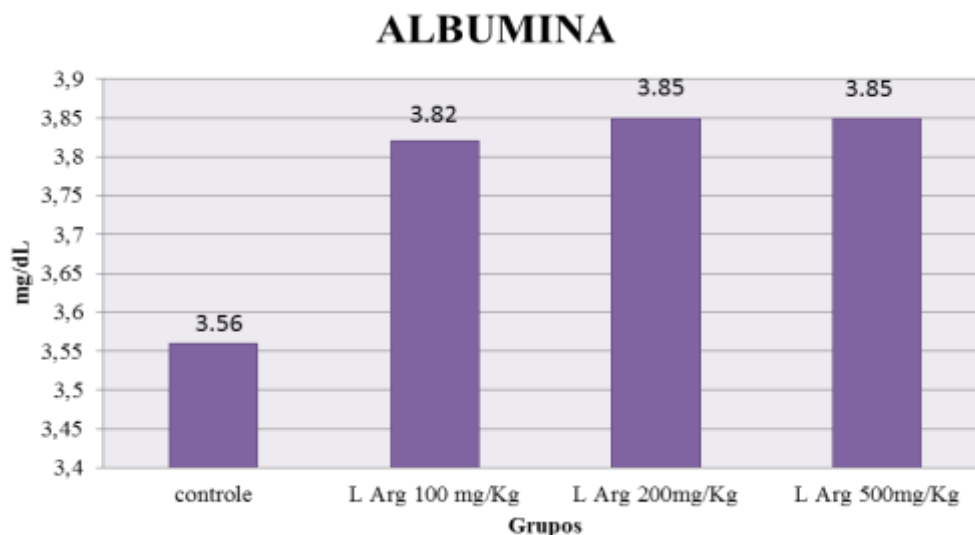


Gráfico 5 - Média dos valores de Albumina nos diferentes grupos avaliados.

Ao se avaliar a ingestão hídrica, foram encontradas alterações pontuais apenas nos dias

6 e 8 e apenas entre os grupos L2 (L-arginina 200mg/Kg) e Controle.

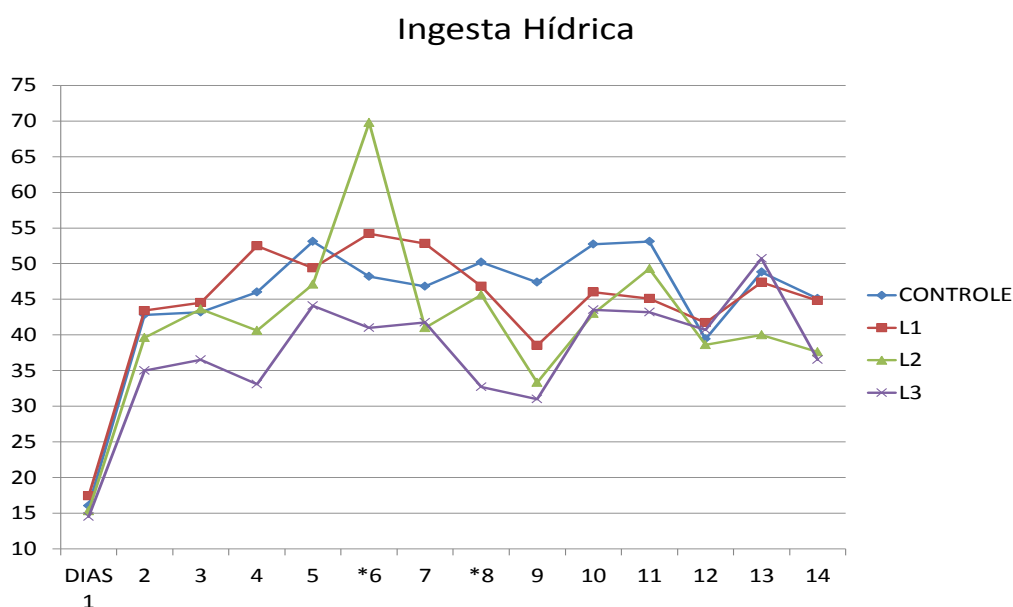


Gráfico 6 - Médias diárias da ingestão hídrica entre os grupos.

No que se refere à ingestão alimentar entre os grupos, houve apenas alterações significativas ( $p < 0,05$ ) pontuais, nos dias 5, 7 e

9 entre os grupos L2 (L-arginina 200mg/Kg) e L1 (L-arginina 200mg/Kg), quando comparados ao controle.

### Ingesta Alimentar

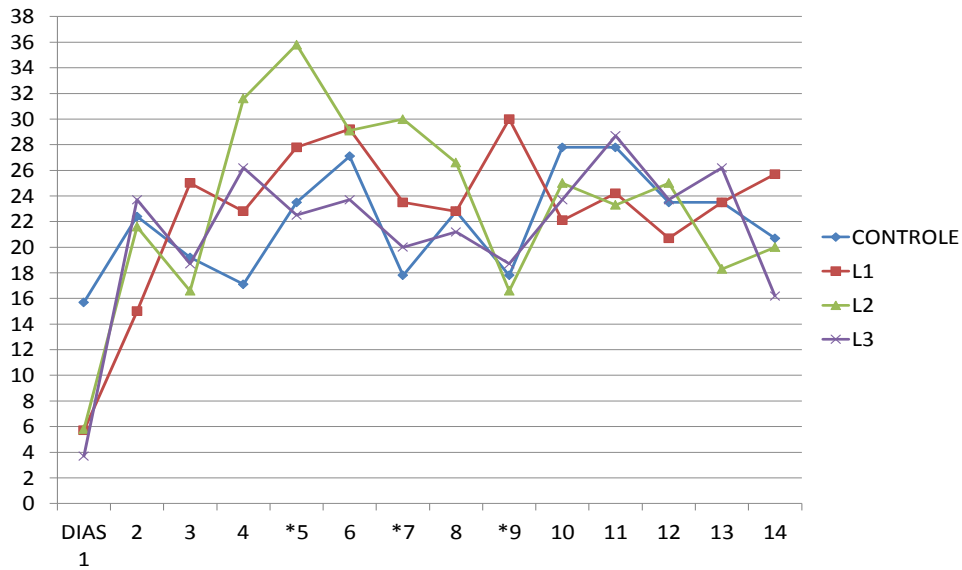


Gráfico 7- Médias diárias da ingesta alimentar entre os grupos.

Em relação ao débito urinário, quando comparados os grupos, houve apenas um dia, durante todo o tratamento em que existiu uma

alteração significativa ( $p < 0,01$ ) entres os grupos L3 (L-arginina 500mg/Kg) e controle.

### Débito Urinário

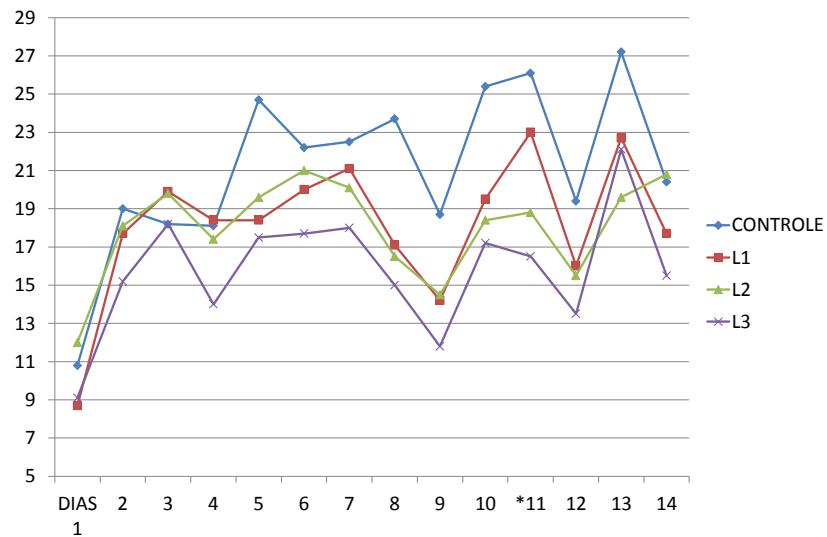


Gráfico 8 - Média diária do débito urinário entre os grupos.

## DISCUSSÃO

A arginina, presente na L-arginina é utilizada para produção de óxido nítrico (NO), que é responsável pela vasodilatação endotelial, diminuição da agregação plaquetária e regulação da pressão da microcirculação medular e glomerular.<sup>6,7</sup> Sabendo-se que o NO melhora a taxa de filtração glomerular pela sua ação vasodilatadora e diminuição do estresse oxidativo, e que em condições patológicas renais sua produção está diminuída, a suplementação de L-arginina, sua precursora, pode melhorar a função renal.<sup>8,9</sup>

O presente estudo mostrou que a suplementação de L-arginina em ratos induzidos a insuficiência renal moderada, não alterou de forma significativa os níveis séricos de creatinina, proteínas totais e ureia, bem como de outros parâmetros analisados, como ingesta hídrica e alimentar e débito urinário. Dessa maneira, em relação à doença renal crônica, é possível afirmar, diante dos resultados encontrados, que a L-arginina pode não atuar de maneira efetiva na doença renal crônica; no entanto, tal fato pode ter decorrido, pelo menos em parte, devido a dose usada de L-arginina não ter sido efetiva, pelo tempo do tratamento ou ainda pela gravidade da disfunção da doença renal provocada cirurgicamente, fatos que mostram a importância da realização de novos estudos, a fim de elucidarem melhor esses parâmetros.

## REFERÊNCIAS

1. Bastos MG, Bregman R, Kirsztajn GM. Doença renal crônica: frequente e grave, mas também prevenível e tratável. *Rev Assoc Med Bras.* 2010;56(2):248-53.
2. Sesso R, Lopes AA, Thomé AS, Bevilacqua JL, Romão Junior JE, Lugon JR. Relatório do Censo Brasileiro de Diálise 2008. *J Bras Nefrol.* 2008;30:233-8.

Em relação aos níveis séricos de glicose e albumina, pode-se constatar que a suplementação com L-arginina provocou a elevação nos níveis destes parâmetros, resultados estes não esperados, uma vez que, segundo a literatura, a L-arginina tem a capacidade de diminuir a glicose sanguínea por favorecer a utilização da mesma pelas células do organismo, além de promover a oxidação da glicose, diminuindo sua produção,<sup>19,20</sup> contraditório ao achado no estudo realizado, o que nos coloca diante da premissa de novos estudos, uma vez que na literatura não são relatados tais fatos, principalmente no que diz respeito à albumina.

## CONCLUSÃO

No presente estudo foi observado que a suplementação de L-arginina não possui efeitos na insuficiência renal, pois não produz melhorias em parâmetros analisados como ureia, creatinina, proteínas totais e débito urinário. A suplementação com L-arginina produz alterações em glicemia e albumina, mas não foi encontrado um padrão dose resposta nas análises estatísticas.

Para tanto, mais estudos se fazem necessários a respeito da suplementação da L-arginina na atuação do metabolismo, testando novas doses de L-arginina, maiores tempos de tratamento e vários níveis de doença renal.

3. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(Suppl 2):S1-46.
4. Sociedade Brasileira de Nefrologia. Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica. *J Bras Nefrol.* 2004;26(Sup11):S1-49.
5. Bastos RMR, Bastos MG, Ribeiro LC, Bastos RV, Teixeira MTB. Prevalência da



- doença renal crônica nos estágios 3, 4 e 5 em adultos. *Rev Assoc Med Bras.* 2009;55(1):40-4.
6. Cerqueira NF, Yoshida WB. Óxido nítrico: revisão. *Acta Cir Bras.* 2002;17(6):417-23.
  7. Kuo PC, Schroeder RA. The emerging multifaceted roles of nitric oxide. *Ann Surg.* 1995;221:220-35.
  8. Trujillo MCB, Tovar AP. Oxido nítrico: implicações fisiopatológicas. *Rev Col Anest.* 2008;36:45-52.
  9. Araujo M, Welch WJ. Oxydative stress and nitric oxide in Kidney function. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2006;15(1):72-7.
  10. Ramos L, Labat R, Carvalho FAS, Martin AB, Martins RABL. Efeito da administração oral de arginina sobre a pressão arterial e parâmetros cardíacos em ratos submetidos ao bloqueio crônico da síntese de óxido nítrico. *Rev Bras Med Esporte.* 2006;12(4):69-174.
  11. Drexler H, Zeiher AM, Meinzer K, Just H. Correction of endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolaemic patients by L-arginine. *Lancet.* 1991;338(8782-8783):1546-50.
  12. Ormrod D, Miller T. Experimental uremia: Description of a model producing varying degrees of estable uremia. *Nephron.* 1980;26:249-54.
  13. 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.
  14. Albuquerque DA, Saxena V, Boivin GPA, 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.
  15. Lema GP, Wit C, Cohen CD, Nieto E, Molina A, Banas B, *et al.* Angiotensin inhibition reduces glomerular damage and renal chemokine expression in MRL/lpr mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 307(1):275-81.
  16. Santos RA, Silva ACS, Maric C, Silva DM, Machado RP, Buhr I, *et al.* Angiotensin-(1-7) is an endogenous ligand for the G protein-coupled receptor Mas. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003; 100(14):8258-63.
  17. Santos CL, Marcellus HLP, Gomes AG, Lemos HP, Santos AA, Cunha FQ, *et al.* Sildenafil prevents indomethacin-induced gastropathy in rats: role of leukocyte adherence and gastric blood flow. *Br J Pharmacol.* 2005;146(4):481-6.
  18. Ohta F, Takagi T, Sato H, Ignarro LJ. Low-dose L-arginine administration increases microperfusion of hindlimb muscle without affecting blood pressure in rats. *PNAS.* 2007;104(4): 1407-11.
  19. Silva CPV, Priviero F, Davel AP, Delbin MA, Zanesco A. Avaliação da tolerância ao esforço físico, perfil lipídico e ganho de peso corporal em ratos treinados e suplementados com l-arginina [Internet]. UNICAMP [Acesso em: 2012 jul 17]. Disponível em: <http://www.prp.unicamp.br/pibic/congressos/xixcongresso/paineis/080933.pdf4>.
  20. Rocha LM, Pereira MVL. Use of nutritional supplements by subjects enrolled in physical fitness programs. *Rev Nutr.* 1998;11(1):76-8.

**Correspondência:** Patrícia Benício Laira. Rua dos Lobos, 291 Estiva. Itanhandu-MG. CEP: 37464-000  
Tel: (35) 9156-9245/ 3361-2781 E-mail: [patricialaira@yahoo.com.br](mailto:patricialaira@yahoo.com.br)