

CRISTIANO DIAS

**Rosiglitazone pode causar lesão tubular renal em ratos
normais mas não em ratos hipercolesterolêmicos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em ciências

Área de concentração: Nefrologia

Orientadora: Prof^a Dr^a Claudia Maria de Barros Helou

SÃO PAULO

2009

CRISTIANO DIAS

**Rosiglitazone pode causar lesão tubular renal em ratos
normais mas não em ratos hipercolesterolêmicos**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Mestre em ciências

Área de concentração: Nefrologia

Orientadora: Prof^a Dr^a Claudia Maria de Barros Helou

SÃO PAULO

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Dias, Cristiano

Rosiglitazone pode causar lesão tubular renal em ratos normais mas não em ratos hipercolesterolêmicos / Cristiano Dias. -- São Paulo, 2009.

...Dissertação(mestrado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Nefrologia.

Orientadora: Claudia Maria de Barros Helou.

Descritores: 1.Tiazolidinedionas/efeitos adversos 2.Taxa de filtração glomerular
3.Ratos Wistar 4.Hipercolesterolemia

USP/FM/SBD-380/09

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a todos que de alguma forma contribuíram para a sua elaboração.

Dedico também a meu filho, a minha mãe, a meus irmãos e a minha namorada, pelo apoio que sempre me deram para nunca desistir, mesmo nos momentos mais difíceis, pois, souberam me respeitar e valorizar, sem contar, pelas horas em que furtei-lhes a atenção para a dedicação à pesquisa e aos estudos, sem a qual não seria possível a conclusão de mais esse objetivo.

Aos membros da minha família que me apoiaram em todos os obstáculos.

A vocês o meu profundo respeito

AGRADECIMENTOS

Sobretudo, a Deus, Nosso Senhor, por ter me guiado e protegido sempre, dando-me forças para persistir e acreditar que posso, e posso porque tenho fé Nele.

Minha eterna gratidão a minha mãe e irmãos pelos valores morais que me fizeram conhecer, moldando meu caráter e minha personalidade, valores imprescindíveis para esta caminhada até aqui; a eles que sempre me apoiaram e incentivaram nesta longa escalada, sobrepondo-me aos percalços e obstáculos naturais de toda e qualquer evolução.

À Dr^a Claudia Maria de Barros Helou, pelo carinho, atenção, muitas vezes como uma mãe, pela oportunidade, pelas broncas e pela orientação e ensinamentos que levarei para resto da vida.

À Ms. Fabíola M. Oshiro, pela paciência, apoio técnico e os ensinamentos transmitidos de forma brilhante.

À Dr^a Maria Heloisa Massola Shimizu, pelo apoio técnico e ensinamentos.

À Cecília da Conceição Costa, pelo constante zelo dos animais do nosso laboratório, apoio técnico e pela sua amizade.

Aos colegas do Laboratório de Pesquisa Básica – LIM 12 – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Aos componentes dos Postos de Bombeiros de Taubaté.

E a todas as pessoas que sempre me apoiaram e incentivaram.

SUMÁRIO

Listas de tabelas

Lista de figuras

Lista de anexos

Lista de apêndices

Resumo

Abstract

| | | |
|------------|----------------------------------|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2 | OBJETIVO..... | 18 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 19 |
| 4 | ESTATÍSTICA | 26 |
| 5 | RESULTADOS | 27 |
| 5.1 | Fase I..... | 27 |
| 5.2 | Fase II..... | 32 |
| 5.3 | Fase III..... | 44 |
| 6 | DISCUSSÃO..... | 49 |
| 7 | CONCLUSÕES..... | 55 |
| 8 | ANEXOS..... | 57 |
| 9 | REFERÊNCIAS..... | 71 |
| 10 | APÊNDICES..... | 78 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| TABELA 1 - | Análise do ganho de peso, da ingestão de comida e do consumo de água | 27 |
| TABELA 2 - | Comparação dos parâmetros plasmáticos dos animais dos grupos C, RGL24, RGL48 e RGL72..... | 29 |
| TABELA 3 - | Comparação da função tubular dos animais dos grupos C, RGL24, RGL48 e RGL72..... | 30 |
| TABELA 4 - | Função renal em condição basal e durante a infusão de Ang II nos grupos NC e NC+RGL..... | 33 |
| TABELA 5 - | Comparação dos parâmetros plasmáticos dos grupos HC e HC+RGL..... | 36 |
| TABELA 6 - | Função renal em condição basal e durante a infusão de Ang II nos grupos HC e HC+RGL..... | 40 |
| TABELA 7 - | Pesos dos órgãos dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone..... | 44 |
| TABELA 8 - | Atividade da ATPase Total, da Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase e da ATPase Basal no rim dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone..... | 47 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 - Desenho do estudo..... | 22 |
| FIGURA 2 - Pressão Arterial dos animais no grupo C e RGL 24, RGL 48, RGL 72..... | 28 |
| FIGURA 3 - Clearance de inulina dos animais dos grupos C e RGL 24, RGL 48, RGL 72..... | 30 |
| FIGURA 4 - Função tubular dos animais dos grupos C e RGL 24, RGL 48, RGL 72..... | 31 |
| FIGURA 5 - Pressão Arterial dos animais NC tratados ou não com Rosiglitazone nas condições basal e durante a infusão de Ang II..... | 32 |
| FIGURA 6 - Clearance de inulina dos animais NC tratados ou não com Rosiglitazone na condição basal e durante a infusão de Ang II..... | 34 |
| FIGURA 7 - Função tubular dos animais NC tratados os não com Rosiglitazone..... | 35 |
| FIGURA 8 - Parâmetros Plasmáticos referentes ao Colesterol total (LDL, VLDL e HDL), triglicérides e glicose dos animais dos grupos NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone..... | 37 |
| FIGURA 9 - Pressão Arterial dos animais HC tratados ou não com Rosiglitazone na condição basal e durante a infusão de Ang II..... | 38 |
| FIGURA 10 - Clearance de inulina dos animais HC tratados ou não com Rosiglitazone nas condições basal e durante a infusão de Ang II..... | 39 |
| FIGURA 11 - Função tubular dos animais HC tratados ou não com Rosiglitazone..... | 41 |
| FIGURA 12 - Clearance de Inulina dos animais NC e HC tratados os não com Rosiglitazone..... | 42 |

| | |
|--|----|
| FIGURA 13 - Função tubular dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone submetidos ou não a ação do vasoconstritor (Ang II)..... | 43 |
| FIGURA 14 - Pesos dos órgãos dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone..... | 45 |
| FIGURA 15 - Atividade da ATPase Total, da Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase e da ATPase Basal no córtex e medula externa dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone..... | 48 |

LISTA DE ANEXOS

Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao:

| | | |
|----------------|--|----|
| ANEXO A | - Peso Inicial, final e variação de peso..... | 58 |
| ANEXO B | - Sódio, potássio e hematócrito..... | 59 |
| ANEXO C | - Colesterol total, triglicérides e glicose..... | 60 |
| ANEXO D | - LDL, HDL e VLDL-colesterol..... | 61 |
| ANEXO E | - Ingestão de sólidos e líquidos..... | 62 |
| ANEXO F | - Clearance de inulina nas condições basais e durante a infusão de Ang II..... | 63 |
| ANEXO G | - Pressão arterial na condição basal e durante a infusão de Ang II..... | 64 |
| ANEXO H | - Volume urinário na condição basal e durante a infusão de Ang II..... | 65 |
| ANEXO I | - Carga excretada de sódio nas condições basais e durante a infusão de Ang II..... | 66 |
| ANEXO J | - Carga excretada de potássio na condição basal e durante a infusão de Ang II..... | 67 |
| ANEXO K | - Peso dos órgãos..... | 68 |
| ANEXO L | - Atividade da ATPase Total, da Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase e da ATPase Basal no córtex..... | 69 |
| ANEXO M | - Atividade da ATPase Total, da Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase e da ATPase Basal na medula externa..... | 70 |

LISTA DE APÊNDICES

| | |
|--|----|
| APÊNDICE 1 - TABELA 1 - Dietas..... | 78 |
| APÊNDICE 2 - TABELA 2 - Solução de vitaminas..... | 78 |
| APÊNDICE 3 - TABELA 3 - Mistura de sais | 78 |

RESUMO

Cristiano Dias. Rosiglitazone pode causar lesão tubular renal em ratos normocolesterolêmicos mas não em ratos hipercolesterolêmicos [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009.

Introdução: Rosiglitazone (RGL) é um ligante dos receptores PPAR γ e vem sendo usada no tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2 e nas doenças inflamatórias. Mas, RGL pode reduzir a filtração glomerular (FG), a carga excretada de sódio na urina (UV_{Na}) e aumentar a expressão da Na^+,K^+ -ATPase na medula renal. Então, RGL pode causar edema e insuficiência cardíaca congestiva. Entretanto, não tem sido reportado se RGL pode induzir insuficiência renal aguda (IRA). **Objetivo:** Verificar se a redução da FG causada pelo tratamento com RGL predispõe à IRA em ratos. Avaliar em condições basais e de vasoconstrição renal e se há diferenças entre ratos normocolesterolêmicos (NC) e hipercolesterolêmicos (HC). **Métodos:** A FG foi medida pelo clearance de inulina no 8º dia em ratos (~200g) NC e HC tratados ou não com RGL (48 mg/kg/dieta) na situação basal e durante a infusão endovenosa de Ang II (40 ng/kg/min). Além disso, a atividade da Na^+,K^+ -ATPase foi avaliada em homogenato renal em outra série de animais. **Resultados:** Na situação basal, NC e HC apresentaram FG semelhante e o tratamento com RGL reduziu a FG apenas em NC de $0,78 \pm 0,03$ para $0,50 \pm 0,05^*$ ml/min/100g, $*p < 0,001$. Apesar da redução da FG, a UV_{Na} em NC+RGL não se modificou. Durante a infusão de Ang II, a FG de NC, HC e HC+RGL reduziu-se para o mesmo patamar de NC+RGL e um significativo aumento da UV_{Na} foi observada apenas em NC+RGL (NC= $3,32 \pm 0,88$; NC+RGL= $5,86 \pm 1,04^*$; HC= $2,63 \pm 0,43$ e HC+RGL= $2,23 \pm 0,39$ uEq/min, $*p < 0,01$). Além disso, RGL induziu aumento na atividade da Na^+,K^+ -ATPase em HC+RGL e não modificou em NC+RGL. Os valores expressos em $\mu M Pi/mg prote\acute{a}na.h^{-1}$ foram de 45 ± 7 em NC, 43 ± 5 em NC+RGL, 48 ± 7 em HC e $64 \pm 4^*$ em HC+RGL, $*p < 0,05$. Analisando todos os resultados em conjunto, a redução da FG associada com a alta natriurese e ausência da modulação da atividade da Na^+,K^+ -ATPase em NC+RGL sugerem lesão renal neste grupo. **Conclusão:** Os mecanismos de ação da RGL diferem de acordo com a condição metabólica. Então, RGL deve ser prescrita com cautela na ausência de hipercolesterolemia e requer a monitoração da função renal principalmente nas situações de vasoconstrição.

ABSTRACT

Cristiano Dias. Rosiglitazone may induce renal injury in normal rats but not in hypercholesterolemic rats [Dissertation]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (Brazil); 2009.

Introduction: Rosiglitazone (RGL) is a ligand for PPAR γ used to treat type 2 Diabetes Mellitus and inflammatory diseases. However, RGL can reduce the glomerular filtration rate (GFR), urinary sodium excretion (UV_{Na}) and increase the expression of Na⁺, K⁺-ATPase in renal medulla. Thus, RGL may induce edema and congestive heart failure. However, acute renal failure (ARF) provoked by RGL treatment has not been reported. **Aim:** To test whether reduced GFR by RGL may predispose to ARF at baseline and during a renal vasoconstriction state, and if the findings differ between normocholesterolemic (NC) and hypercholesterolemic (HC) rats. **Methods:** GFR was measured by inulin clearance on the 8th day in NC and HC rats (~200g) treated or not with RGL (48 mg/kg diet) at baseline and during intravenous infusion of Ang II (40 ng/kg/min). Furthermore, the Na⁺,K⁺-ATPase activity was determined in renal homogenates in other series of animals. **Results:** At baseline, NC and HC had similar GFR and the treatment with RGL reduced GFR only in NC from 0.78±0.03 to 0.50±0.05* ml/min/100g, *p<0.001. Although GFR was reduced, UV_{Na} was unchanged in NC+RGL. During Ang II infusion, GFR was significantly reduced in NC, HC and HC+RGL and it remained at the same reduced level in NC+RGL. At this time, when GFR was reduced the same range in all groups, a significant increment in UV_{Na} was only observed in NC+RGL (NC = 3.32±0.88; NC+RGL = 5.86±1.04*; HC = 2.63±0.43 and HC+RGL = 2.23±0.39 μ Eq/min, *p<0.01). Moreover, RGL induced an increase in the activity of Na⁺, K⁺-ATPase in HC+RGL, but it did not modify the activity of this enzyme in NC+RGL. The values expressed in μ M Pi/mg.protein.h⁻¹ were 45±7 in NC, 43±5 in NC+RGL, 48±7 in HC and 64±4* in HC+RGL, *p<0.05. Taken together, reduction in GFR associated with high natriuresis and without changes in the Na⁺, K⁺-ATPase activity in renal medulla of NC+RGL may suggest renal injury in this group. **Conclusion:** RGL may act distinctly in normocholesterolemia and in hypercholesterolemia. Thus, RGL may be prescribed with caution in absence of hypercholesterolemia and requires monitoring of renal function specially if a renal vasoconstriction state is associated.

1. INTRODUÇÃO

A Rosiglitazone é uma droga pertencente ao grupo das Thiazolidinedionas que age como ligante do receptor de ativação da proliferação peroxisomal do subtipo gama (PPAR γ). Por isso, a Rosiglitazone vem sendo utilizada no tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2 (1-4).

Os receptores PPAR γ encontram-se expressos nos adipócitos, no endotélio vascular, nos macrófagos, nas células pancreáticas do tipo beta, nas células mesangiais e nas células do ducto coletor (1-9). A ação do PPAR γ é na transcrição nuclear e pode ser tanto de ativação como de inibição. No mecanismo de ativação, a ação depende do DNA o que não ocorre no mecanismo de inibição. Entretanto, é necessária a presença de um ligante para que os mecanismos sejam acionados (1).

Na situação de ativação, o ligante ao se unir ao receptor PPAR γ recruta co-fatores e junto com o receptor retinóide X forma um heterodímero. Este por sua vez age na modulação da transcrição gênica e a sua principal ação são as relacionadas ao metabolismo lipídico e à diferenciação celular (1,2,6,7).

Na situação de inibição, a ação do PPAR γ é independente do DNA. Neste caso, o PPAR γ interfere de maneira negativa nas vias de sinalização de certos fatores como, por exemplo, a do fator nuclear – kappa B (NF- κ B) e de diferentes citocinas, moléculas de adesão e metaloproteinases (2,9).

Então, os agonistas PPAR γ vem sendo também prescritos no tratamento das doenças inflamatórias como a doença de Crohn, artrites e psoríases (10,11).

Entre as diversas ações da Rosiglitazone no tratamento do Diabetes Mellitus tipo 2 podemos citar a melhora da sensibilidade à insulina e da hipercolesterolemia e a redução da concentração dos ácidos graxos livres no plasma. Se por um lado, há melhora no controle glicêmico, por outro lado, observa-se ganho de peso corpóreo associado ao aumento do tecido adiposo no sub-cutâneo (1).

Existem várias teorias para explicar a melhora da sensibilidade à insulina, sendo a “hipótese do roubo do ácido graxo” a mais aceita. Esta hipótese baseia-se no fato das Thiazolidinedionas aumentarem a captação e a permanência dos ácidos graxos no tecido adiposo (1). Assim, a quantidade dos ácidos graxos é reduzida no plasma, ficando estes estocados no sub-cutâneo. Em consequência ao aumento do estoque dos ácidos graxos nos adipócitos, as células hepáticas e as da musculatura esquelética poupam-se dos efeitos lipotóxicos (9,12,13). Existem ainda outras explicações, como por exemplo, está relacionada a diminuição da síntese hepática de glicose. Esta diminuição estaria relacionada com a menor liberação de ácido graxo livre, do fator de necrose tumoral do tipo alfa (TNF α), da resistina e da leptina para a corrente sanguínea concomitante ao aumento da quantidade das adiponectinas plasmáticas (14). Então, a liberação da glicose no tecido músculo-esquelético estaria beneficiada, reduzindo, portanto, a produção de glicose hepática e aumentando os estoques de gordura no tecido adiposo (12).

O ganho do peso corpóreo induzido pelo uso das Thiazolidinedionas também pode ser devido ao aumento da volemia decorrente da retenção hídrica (11-13). Por isso, os efeitos colaterais como o aparecimento do edema e da insuficiência cardíaca congestiva (ICC) são observados em alguns pacientes (15-19). A expansão do volume extra-celular e o edema podem ser explicados pela redução na excreção de sódio devido ao aumento da reabsorção tubular de sódio associada ou não à redução da filtração glomerular (20).

Alguns autores têm proposto que a redução da filtração glomerular é devida a diminuição da pressão arterial sistêmica e outros pela ação vasodilatadora nas arteríolas glomerulares (21,22). Há estudos experimentais que demonstram que os ligantes PPAR γ tem ação direta na musculatura lisa dos vasos bloqueando a abertura dos canais cálcio voltagem dependente do tipo L (VOCC) (23-25). Estudos "in vitro" com células endoteliais sugerem que as Thiazolidinedionas podem interferir na liberação ou na ação do óxido nítrico (NO) (20,26). Entretanto, há controvérsias sobre a participação do NO na ação da vasodilatação exercida pelas Thiazolidinedionas (23,24).

Em todo caso, o risco de redução no suprimento sanguíneo às células epiteliais do néfron é pertinente, uma vez que poderá ocorrer a redução da pressão arterial sistêmica ou a vasodilatação das arteríolas glomerulares. Além disso, o risco de isquemia das células epiteliais renais aumenta se ocorrer alguma instabilidade hemodinâmica. Esta situação não é incomum ocorrer nos pacientes internados em condições críticas, como por exemplo,

na insuficiência cardíaca e no choque. Então, os pacientes com redução da filtração glomerular devido ao tratamento com Rosiglitazone podem ser acometidos de uma vasoconstrição renal mediada pela angiotensina II (Ang II). Convém lembrar que a Ang II é um importante agonista para o restabelecimento da hemodinâmica sistêmica nas situações de insuficiência cardíaca e choque (27). E, portanto, nestes casos o risco de insuficiência renal aguda (IRA) poderá ser grande se o indivíduo sob tratamento com Rosiglitazone apresentar redução da filtração glomerular.

Então, é interessante realizar estudo experimental com ratos a fim de se verificar se os animais que apresentam redução da filtração glomerular devido ao tratamento com Rosiglitazone apresentam predisposição à IRA em condição basal e de vasoconstrição renal mediada pela Ang II.

Considerando que as Thiazolidinedionas são indicadas no tratamento de pacientes com Diabetes Mellitus tipo 2 que cursam muitas vezes com hipercolesterolemia, é também interessante verificar se há mudanças na função renal de ratos hipercolesterolêmicos tratados com Rosiglitazone nas mesmas condições dos ratos normais.

2. OBJETIVO

Verificar se a redução da filtração glomerular causada pelo tratamento com Rosiglitazone predispõe à insuficiência renal aguda em ratos. Avaliar:

- em condição basal e de vasoconstrição renal;
- na situação de normocolesterolemia e hipercolesterolemia.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa de nossa instituição (CAPPesq) em 12 de julho de 2006, protocolo 562/06.

Foram utilizados ratos Wistar machos fornecidos pelo Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo e foram mantidos no Biotério do nosso Laboratório (LIM – 12) com livre acesso à água e à comida.

Os estudos foram divididos em Fases I, II e III, como segue:

Fase I - Estabelecer o modelo no qual a Rosiglitazone diminua a filtração glomerular sem repercutir na função tubular

Os animais foram colocados em gaiolas individuais e receberam dieta Normal (Apêndices 1, 2 e 3) produzida em nosso laboratório, acrescida de Maleato Rosiglitazone (Avandia, GlaxoSmithKline, gsk) nas dose de 24, 48 e 72 mg/kg de dieta (20,28).

A função renal foi avaliada no 8º dia através do estudo do clearance de inulina em animais anestesiados após jejum prévio de 12 horas.

Foram estudados os seguintes grupos:

1 – **Grupo Controle (C):** Os animais que foram alimentados com dieta normal.

2 – **Grupo Rosiglitazone 24 mg (RGL24):** Os animais que foram alimentados com dieta normal acrescida de 24 mg/kg de dieta de Rosiglitazone.

3 – **Grupo Rosiglitazone 48 mg (RGL48):** Os animais que foram alimentados com dieta normal acrescida de 48 mg/kg de dieta de Rosiglitazone.

4 – **Grupo Rosiglitazone 72 mg (RGL72):** Os animais que foram alimentados com dieta normal acrescida de 72 mg/kg de dieta de Rosiglitazone.

Fase II - Estudo da função renal em ratos normocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos tratados ou não com Rosiglitazone

Os animais foram colocados em gaiolas individuais e receberam dieta por 8 dias e agrupados da seguinte maneira:

1 – **Grupo Normocolesterolêmico (NC):** Animais alimentados com dieta normal.

2 – **Grupo NC tratados com Rosiglitazone (NC+RGL):** Animais alimentados com dieta normal acrescida de Rosiglitazone.

3 – **Grupo Hipercolesterolêmico (HC):** Animais alimentados com dieta enriquecida com 4% de Colesterol e 1% de Ácido Cólico e ajuste calórico semelhante à dieta normal (29-32).

4 – **Grupo HC tratados com Rosiglitazone (HC+RGL):** Animais alimentados com dieta enriquecida com 4% de Colesterol e 1% de Ácido

Cólico e ajuste calórico semelhante à dieta normal e tratados com Rosiglitazone.

A função renal foi avaliada no 8º dia através do estudo do clearance de inulina em animais anestesiados após jejum prévio de 12 horas. Foram realizados dois períodos de coleta de urina de no mínimo 30 minutos cada em condição basal. A seguir, infundia-se Ang II (40 ng/kg) na velocidade de 0,04 ml/min e dois novos períodos de no mínimo 20 minutos cada foram coletados (33).

Fase III - Estudos “*In Vitro*”

1 - Estudo do peso dos órgãos dos animais

No final dos experimentos do clearance de inulina os animais foram submetidos à eutanásia, com a administração endovenosa de anestésico em dose letal. A seguir, os rins, as adrenais e o coração foram retirados e pesados. Os valores foram expressos em g/kg corrigidos para 100 gramas de peso corpóreo, ou seja, em g/kg/100g.

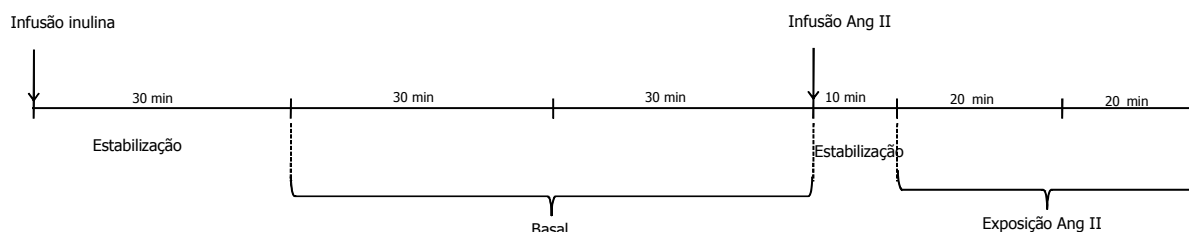
2 - Estudo da atividade da Na⁺,K⁺-ATPase no rim

Numa outra série de animais, a Na⁺,K⁺-ATPase foi determinada em homogenato do córtex e da medula externa dos rins dos animais NC, NC+RGL, HC e HC+RGL.

Clearance de Inulina

Os animais foram anestesiados com pentobarbital de sódio na dose de 50 mg/kg pela via intraperitoneal. Inicialmente, realizava-se a traqueotomia (cateter PE240) para evitar intercorrências ventilatórias. A seguir, foram cateterizadas as duas veias jugulares (cateter PE60) para a infusão de soluções, a artéria carótida (cateter PE50) para mensuração da pressão arterial sistêmica (PA) e a bexiga (cateter PE240) para as coletas urinárias. Uma vez finalizada a etapa cirúrgica, administrava-se o “priming” de inulina na dose 100mg/kg por uma das veias jugulares. A seguir, iniciava-se infusão contínua de inulina pela veia jugular na velocidade de 0,04 ml/min (Bomba Harvard Appataus, Mass, USA). Assim, a concentração plasmática desse marcador manteve-se estável durante todo o experimento. Após um período mínimo de 30 minutos de estabilização, duas coletas de urina eram feitas na condição basal por um período mínimo 30 minutos cada. Durante a infusão endovenosa contínua de Ang II pela outra veia jugular, realizavam-se mais duas coletas de urina com períodos mínimos de 20 minutos cada. A Figura 1 ilustra o protocolo.

Figura 1 - Desenho do estudo



A mensuração da pressão arterial média realizou-se no início e no final da coleta urina dos períodos basal e sob infusão de Ang II. Utilizou-se o medidor de pressão arterial em coluna de mercúrio.

As concentrações da inulina no plasma e na urina foram dosadas pelo método da Antrona (34). O clearance de inulina (C_{in}) foi calculado segundo a fórmula:

$$C_{in} = \frac{U_{in} \times V}{P_{in}}$$

onde:

U - é a concentração da inulina na urina expressos em mg/ml.

P - é a concentração da inulina no plasma expressos em mg/ml.

V - é o volume urinário expresso em ml/min.

Os resultados foram expressos em ml/min corrigidos para 100 gramas de peso corpóreo, ou seja, em ml/min/100g.

As concentrações de sódio e potássio também foram determinadas nas amostras de plasma e urina através da técnica de fotometria de chama (CELM-FC280).

As cargas excretadas (UV_x) de sódio, potássio foram calculadas segundo a fórmula:

$$UV_x = U_x \times V$$

onde:

U_x - é a concentração da substância na urina.

V - é o volume urinário.

Os resultados foram expressos em μ Eq/min.

O colesterol total, HDL-colesterol, triglicérides e glicose no plasma foram também analisados utilizando-se o método enzimático colorimétrico

(kit LABTEST), leitura no espectrofotômetro, CELM-FC280. O LDL-colesterol e o VLDL-colesterol foram determinados através das seguintes formulas:

- **LDL-colesterol** = colesterol total - (triglicérides/5+ HDL-colesterol)
- **VLDL-colesterol** = colesterol total - (LDL+HDL)

Determinação da Na⁺,K⁺-ATPase

Os animais eram anestesiados com Tiopental Sódico (CEME-Cristália) na dose de 50 mg/kg de peso pela via intraperitoneal e os rins eram retirados através da incisão mediana abdominal.

Os fragmentos córtex e da medula externa renal foram isolados através de microdissecção à 0°C. A seguir, os tecidos renais do córtex e da medula externa foram homogeneizados em solução contendo 0,25M de sacarose, 6mM de EDTA e 20mM de imidazole, acrescida de 2,4mM de deoxicolato de sódio na proporção 1:3, pH 6,8. Após a homogeneização com pestilo de Teflon, os produtos originados neste processo foram filtrados em dupla gaze para o ensaio da determinação da atividade da Na⁺,K⁺-ATPase.

A determinação da atividade da Na⁺,K⁺-ATPase foi medida pela capacidade desta enzima em hidrolisar o ATP com liberação de Pi (fósforo inorgânico). A atividade enzimática foi definida pela diferença da quantidade de Pi liberado em condições de estímulo em relação ao basal, corrigido pela quebra espontânea do ATP, pela concentração de proteína e pelo tempo de

incubação de uma hora. Assim, a atividade da Na^+, K^+ -ATPase foi expressa em $\mu\text{M Pi/mg proteína.h}^{-1}$ (35).

A atividade da Na^+, K^+ -ATPase foi então determinada ao se pipetar, em triplicata, 0,1 ml da solução filtrada produto homogeneizado em 0,4 ml da solução de incubação por 15 minutos a 37°C . A reação era interrompida pelo resfriamento das amostras em gelo triturado e por meio da adição de 0,1 ml de ácido tricloroacético a 30%. Imediatamente após, eram adicionados 0,9 ml de uma mistura contendo 10% de carvão ativado e 0,2% da solução de albumina. Os tubos foram centrifugados e os sobrenadantes transferidos para quantificar ^{32}P em um líquido de cintilação para contagem (Parkard).

A atividade da ATPase total foi determinada na presença de 5 mM KCl, 50 mM NaCl, 10 mM MgCl_2 , 100mM TRIS-HCl, 1 mM EGTA, 10 mM ATP (Sigma), e traços de ATP $\gamma[^{32}\text{P}]$ (Perkin Elmer), pH 7,4. A atividade da ATPase basal foi medida em solução de incubação similar à ATPase total, mas na ausência de KCl e NaCl e na presença de 1mM de ouabaína. A quebra espontânea do ATP foi medida em duplicata em soluções e em condições idênticas às realizadas para se medir a ATPase total e basal. Essas soluções não continham os produtos homogeneizados. Os valores médios das amostras foram calculados para obter um valor único para cada experimento. A proteína foi dosada de acordo com Lowry e colaboradores (36).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média e erro padrão (média \pm ep). A análise estatística foi feita através aplicação do teste *t* Student pareado, para a comparações entre condições basais e exposição à Ang II, e não pareado para comparações entre tratados ou não com Rosiglitazone. Para comparações entre mais de dois resultados de diferentes grupos, aplicou-se a análise de variância (ANOVA) seguida do pós-teste de Newman-Keuls. O nível de significância adotado foi o de 5%.

5. RESULTADOS

5.1 Fase I: Estabelecer o modelo no qual a Rosiglitazone diminua o clearance de inulina sem repercutir na função tubular

Os resultados referentes ao ganho de peso, a ingestão de comida e o consumo de água pelos animais estão demonstrados na Tabela 1. Observa-se que as diferentes doses de Rosiglitazone por 8 dias não modificaram esses parâmetros.

TABELA 1 – Análise do ganho de peso e a ingestão de comida e o consumo de água

| Grupos | C | RGL24 | RGL48 | RGL72 |
|------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Peso inicial (g) | 204,1±6,5 | 203,6±7,8 | 202±7,5 | 207,9±4,2 |
| Peso final (g) | 252,2±6,4 | 252,6±8,8 | 251,1±6,9 | 254±4,3 |
| Δ peso (g) | 48,1±6,2 | 49±3,6 | 49,1±7,1 | 46,1±7,3 |
| Comida (g/dia) | 24,4±1,7 | 27,91±2,8 | 21,48±1,8 | 20,12±1,2 |
| Água (ml/dia) | 22,95±2,3 | 27,25±1,2 | 21,59±2,5 | 26,92±5 |
| | (n = 12) | (n = 9) | (n = 10) | (n = 7) |

Valores expressos em média e erro padrão. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

Como ilustra a Figura 2, as diferentes doses de Rosiglitazone não modificaram os valores da PA. A PA no grupo C era de 126,5±3,7 e nos grupos RGL24, RGL48 e RGL72 eram respectivamente de 129,6±2,3; 130,3±3,3 e 132,1±2,4 mmHg.

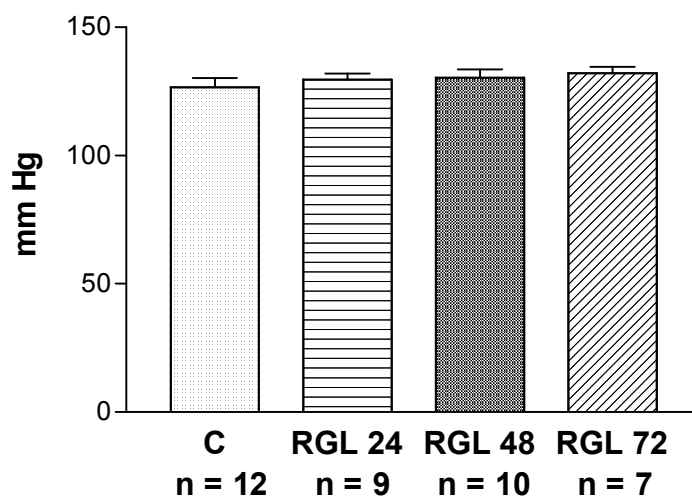


FIGURA 2 – Pressão Arterial dos animais do grupo C, RGL24, RGL48 e RGL72. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

A Tabela 2 mostra os resultados referentes à comparação da composição plasmática e o hematócrito dos animais. As diferentes doses de Rosiglitazone não apresentaram qualquer efeito significativo nesses parâmetros. Entretanto, observa-se uma redução no hematócrito no grupo RGL48.

TABELA 2 – Comparação da composição plasmática e o hematócrito

| Grupos | C | RGL24 | RGL48 | RGL72 |
|---------------------------------|-----------------|----------------|-----------------------|----------------|
| Na⁺ (meq/l) | 139±1,2 | 141±1,2 | 138±1,0 | 141±1,2 |
| K⁺ (meq/l) | 3,9±0,1 | 3,9±0,2 | 4,1±0,1 | 3,5±0,2 |
| Ht (%) | 40,6±1,0 | 43,4±1,5 | 36,5±1,5 ^a | 44±1,6 |
| Glicose (mg/dL) | 103±5,3 | 115±2,8 | 102±5,1 | 96±5,1 |
| Colesterol Total (mg/dL) | 91,4±4,6 | 65,8±9,1 | 75,8±9,1 | 70,8±12 |
| Triglicérides (mg/dL) | 97,2±15,3 | 75,1±12,1 | 82,5±10,2 | 86,1±14,1 |
| | (n = 12) | (n = 9) | (n = 10) | (n = 7) |

Valores expressos em média e erro padrão, ^ap<0,05 em relação aos demais grupos. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

Como ilustra a Figura 3, observa-se uma significativa redução no clearance de inulina no grupo RGL 48 em relação ao grupo C. Os valores encontrados foram de 0,50±0,05 no grupo RGL48 e 0,78±0,03 ml/min/100g no grupo C, p<0,01.

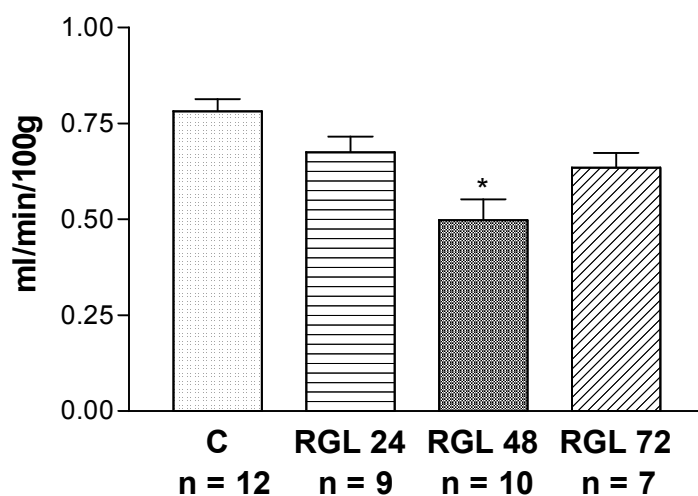


FIGURA 3 – Clearance de inulina dos animais dos grupos C, RGL24, RGL48 e RGL72. * $p < 0,001$ em relação a C. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

Quanto à função tubular, observa-se que RGL48 não apresentou diferenças significantes em relação ao grupo C, conforme demonstra a Tabela 3 e a Figura 4. No grupo RGL72 observa-se efeito significativo na função tubular quanto ao volume urinário e a carga excretada de sódio.

TABELA 3 – Comparação da função tubular dos animais dos grupos C, RGL24, RGL48 e RGL72

| Grupos | C (n=12) | RGL24 (n=9) | RGL48 (n=10) | RGL72 (n=7) |
|-----------------------------|-------------|----------------|-----------------|-----------------------|
| Vol Urin. (ml/min) | 7,3±0,7 | 8,8±0,8 | 9,9±1,7 | 18,0±4,7 ^a |
| UV _{Na+} (μEq/min) | 0,99±0,2 | 1,07±0,2 | 1,7±0,4 | 2,4±0,6 ^b |
| UV _{K+} (μEq/min) | 0,86±0,1 | 1,02±0,2 | 1,07±0,1 | 1,17±0,2 |

Valores expressos em média e erro padrão. ^a $p < 0,01$ versus demais grupos; ^b $p < 0,05$ versus C e RGL24. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

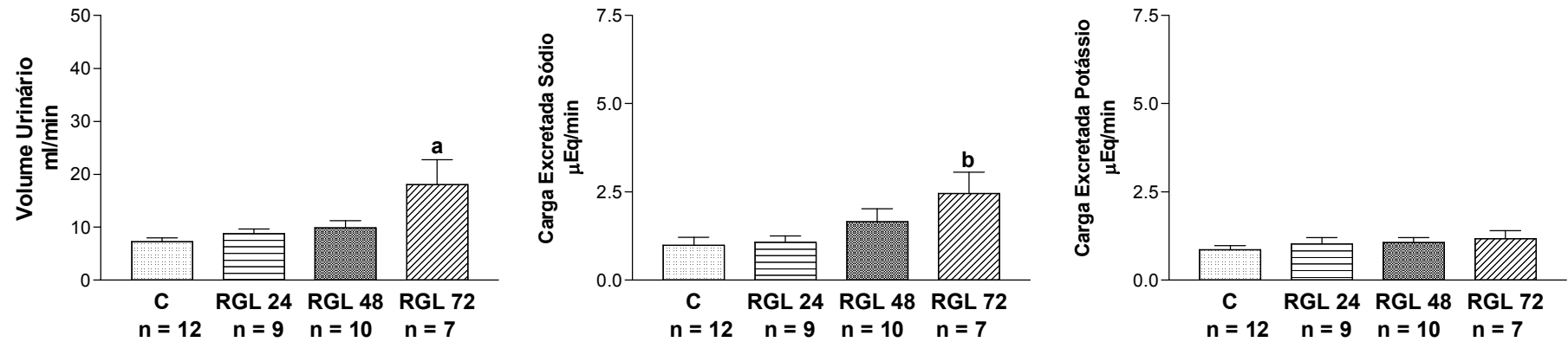


FIGURA 4 – Função tubular dos animais dos grupos C, RGL24, RGL48 e RGL72. ^a $p < 0,05$ versus os demais grupos; ^b $p < 0,05$ versus C e RGL24. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

5.2 Fase II: Estudo da função renal em ratos normocolesterolêmicos (NC) e hipercolesterolêmicos (HC) tratados ou não com Rosiglitazone

O protocolo escolhido para se verificar o efeito da Rosiglitazone em NC e HC foi a adição de 48 mg de Rosiglitazone por kg de dieta durante 8 dias, conforme os resultados já demonstrados nos estudos da FASE I. Como está ilustrado nas Figuras 2 e 3, este tratamento reduziu o clearance de inulina de maneira significativa e não alterou a função tubular.

A Tabela 4 mostra os resultados referentes à função renal do grupo NC e NC+RGL em condições basais e durante à infusão de Ang II.

Como ilustra a Figura 5, a infusão de Ang II elevou significativamente a PA no grupo NC e não alterou no grupo NC+RGL.

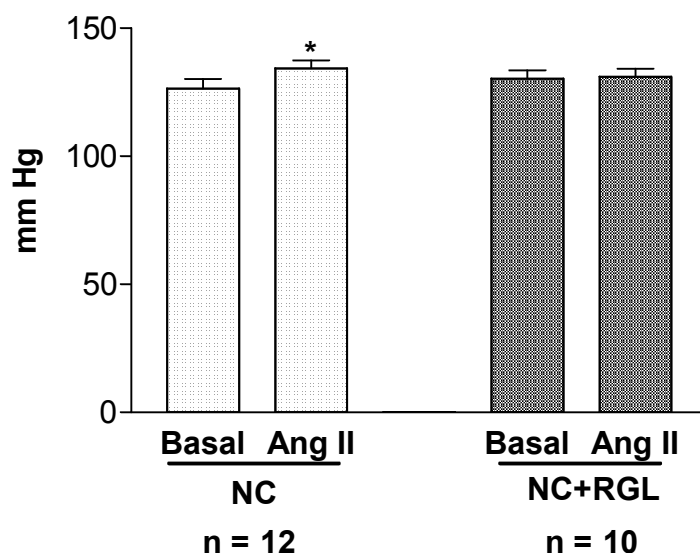


FIGURA 5 – Pressão arterial dos animais NC tratados ou não com Rosiglitazone na condição basal e durante a infusão de Ang II. * $p < 0,01$ em relação ao Basal. Avaliado por teste de Student de *t* pareado.

TABELA 4 – Função renal dos grupos NC e NC+RGL na condição basal e durante a infusão de Ang II

| | NC (n=12) | | NC+RGL (n=10) | |
|-------------------------------------|-----------|------------|------------------------|-------------------------|
| | Basal | Ang II | Basal | Ang II |
| PA (mmHg) | 126,4±3,8 | 134,3±3,1* | 130,3±3,3 | 131,1± 3,1 |
| C_{in} (ml/min/100g) | 0,78±0,1 | 0,62±0,1* | 0,50±0,2 ^{##} | 0,54±0,2 |
| Vol Urin (ml/min) | 7,32±2,3 | 15,8±4** | 9,38±4,3 | 36,19± 23,0* |
| UV_{Na+} (μEq/min) | 0,97±0,8 | 3,32±3,0* | 1,41±0,9 | 5,63± 3,4* |
| UV_{K+} (μEq/min) | 0,86±0,4 | 1,35±0,6** | 1,07±0,5 | 2,16± 0,9* [#] |

Valores expressos em média e erro padrão. *p<0,01; **p<0,05 teste de Student de t pareado, Basal versus Ang II. #p<0,05; ##p<0,0001 teste de Student de t nao pareado, NC versus NC+RGL.

Quanto ao clearance de inulina observou-se que a infusão de Ang II reduziu de maneira significativa este parâmetro no grupo NC. Entretanto, o clearance de inulina não se modificou durante a infusão de Ang II no grupo NC+RGL (Figura 6). Convém lembrar que o clearance de inulina já se encontrava reduzido nesse grupo na condição basal.

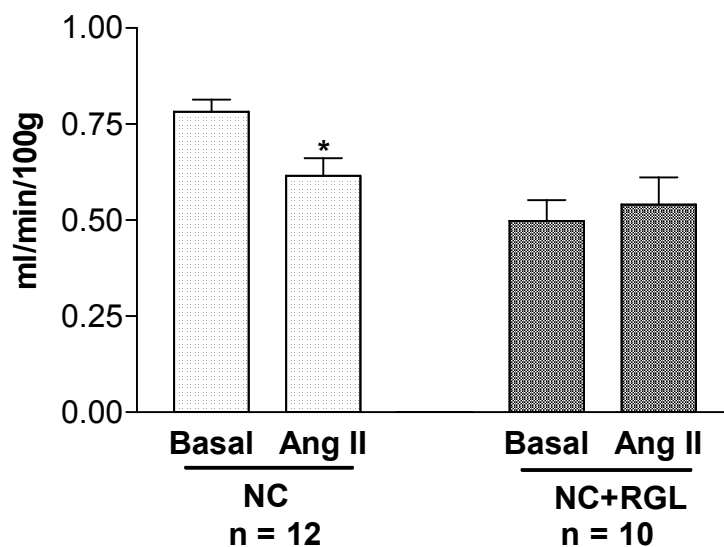


FIGURA 6 – Clearance de inulina dos animais NC tratados ou não com Rosiglitazone na condição basal e durante a infusão de Ang II. * $p < 0,01$ em relação ao Basal. Avaliado por teste de Student de *t* pareado.

Quanto à função tubular, observou-se que a infusão de Ang II aumentou o volume urinário e a carga excretada de sódio e potássio (Tabela 4). Entretanto, a diurese e a excreção dos eletrólitos foram significativamente mais intensa no grupo NC+RGL em relação ao NC (Figura 7).

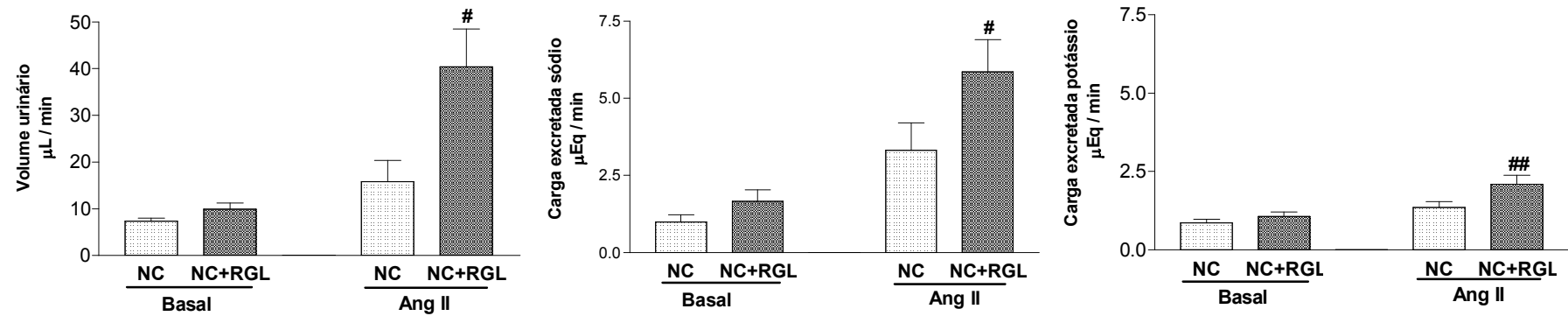


FIGURA 7 – Função tubular dos animais NC tratados os não com Rosiglitazone. # $p < 0,01$ e ## $p < 0,05$ NC versus NC+RGL. Avaliado por teste de *Student de t não pareado*.

Em relação aos ratos hipercolesterolêmicos, observou-se que o tratamento com Rosiglitazone reduziu de maneira significativa os valores da glicose sérica, colesterol total, HDL-colesterol e triglicérides (Tabela 5). A Figura 8 ilustra a composição plasmática dos ratos normocolesterolêmicos e hipercolesterolêmicos tratados ou não com Rosiglitazone.

TABELA 5 – Comparação da composição plasmática dos Grupos HC e HC+RGL

| | HC (n=13) | HC+RGL (n=9) |
|---------------------------------|------------|--------------------------|
| Peso Inicial (g) | 201,9±3,7 | 210±4,7 |
| Peso Final (g) | 225,4±3,3 | 222,1±11,1 |
| Δ peso (g) | 22,9±4,5 | 12,1±9,4 |
| Consumo comida (g) | 23,9±1,5 | 23,7±1,0 |
| Ingestão água (ml) | 33,5±2,9 | 30,2±2,5 |
| Na⁺ (meq/l) | 141,2±1,4 | 141,7±1,7 |
| K⁺ (meq/l) | 3,9±0,1 | 3,6±0,1 |
| Ht (%) | 38,7±0,7 | 37,2±0,6 |
| Glicose (mg/dL) | 114,3±3,0 | 96,5±4,7 [#] |
| Colesterol Total (mg/dL) | 242,8±13,1 | 187,0±20,7 ^{##} |
| HDL-colesterol (mg/dL) | 5,6±1,0 | 5,3±1,3 |
| LDL-colesterol (mg/dL) | 222,9±14,8 | 178,6±21,9 |
| VLDL-colesterol (mg/dL) | 13,5±1,2 | 8,5±1,21 ^{##} |
| Triglicérides (mg/dL) | 74,2±6,7 | 44,8±5,9 [#] |

Valores expressos em média e erro padrão. [#]p<0,01, ^{##}p<0,05 teste de Student de t não pareado HC versus HC+Ros.

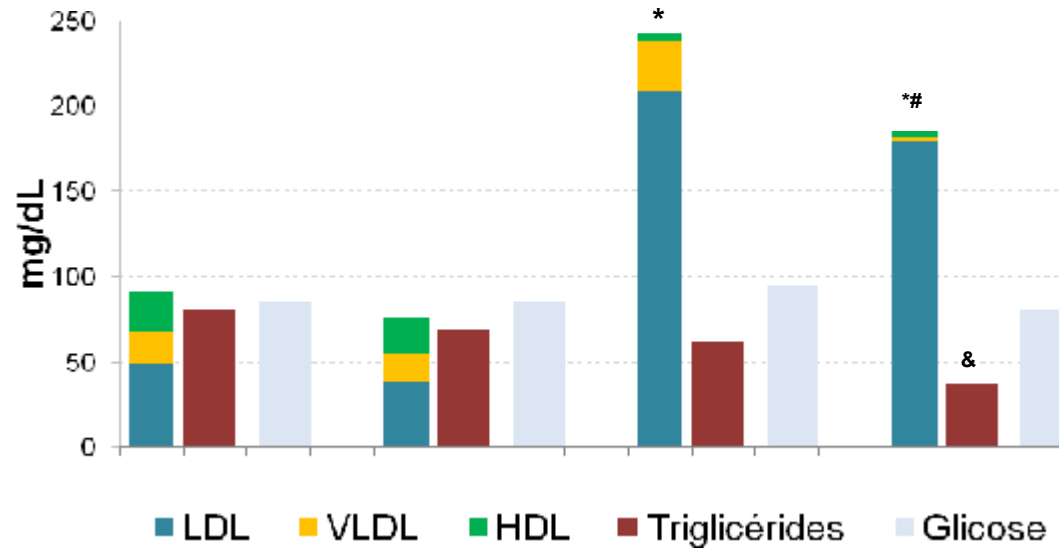


FIGURA 8 – Composição plasmática dos grupos NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone, referentes ao colesterol total demonstrado em suas frações (LDL, VLDL e HDL), triglicérides e glicose dos animais. * $p < 0,001$ versus NC e NC+RGL, # $p < 0,01$ versus HC, & $p < 0,001$ versus NC. Avaliados pelo ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

Os ratos hipercolesterolêmicos tratados ou não com Rosiglitazone não apresentaram diferenças estatísticas em relação à PA em condições basais quando comparados entre si ou em relação aos grupos NC e NC+RGL. A infusão de Ang II também não modificou a PA (Figura 9 e Tabela 6).

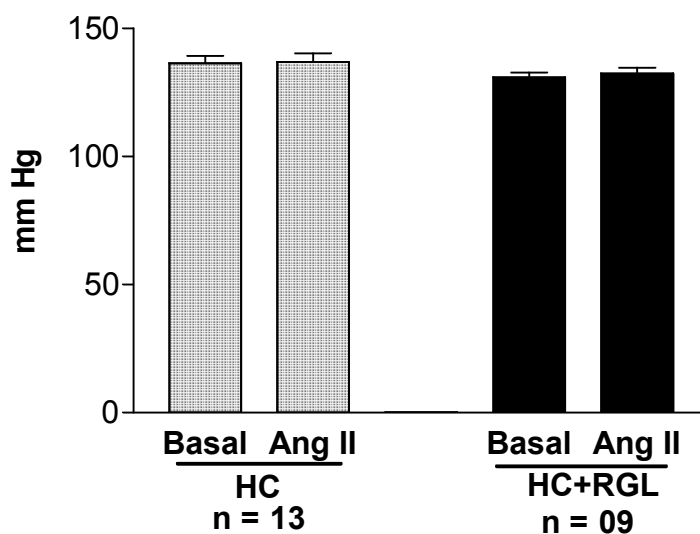


FIGURA 9 – Pressão arterial dos animais HC tratados ou não com Rosiglitazone na condição basal e durante a infusão de Ang II. Avaliados pelo teste *t de Student pareado*.

Os ratos hipercolesterolêmicos tratados ou não com Rosiglitazone apresentaram semelhante clearance de inulina em relação ao grupo NC. A infusão de Ang II reduziu de maneira significativa o clearance de inulina tanto dos ratos HC quanto dos HC+RGL (Figura 9). Esta redução foi semelhante à observada com o grupo NC.

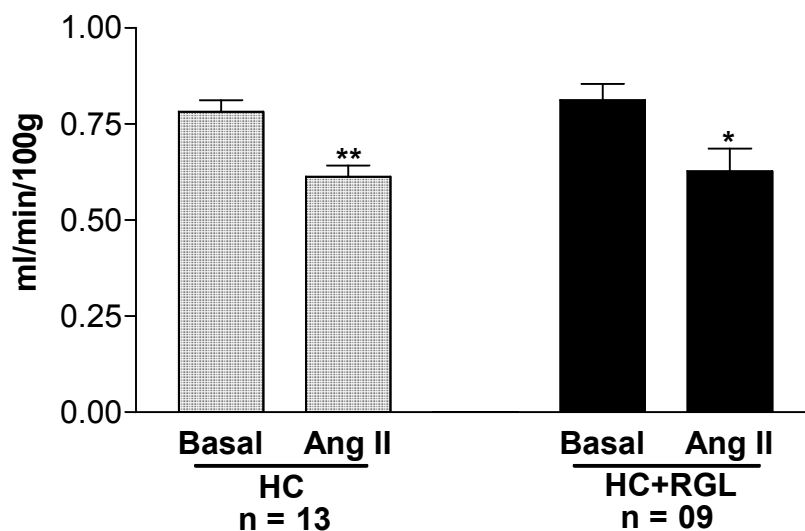


FIGURA 10 - Clearance de inulina dos animais HC tratados ou não com Rosiglitazone na condição basal e durante a infusão de Ang II. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ versus Basal. Avaliados pelo teste de Student de *t* pareado.

Quanto à função tubular, observou-se que a infusão de Ang II aumentou o volume urinário e a excreção dos eletrólitos tanto nos animais HC quanto HC+RGL (Tabela 6 e Figura 10)

TABELA 6 – Função renal dos grupos HC e HC+RGL em condição basal e durante a infusão de Ang II

| | HC (n=13) | | HC+RGL (n=9) | |
|-------------------------------------|-----------|------------|--------------|-----------|
| | Basal | Ang II | Basal | Ang II |
| PA (mmHg) | 137±2,8 | 137±3,4 | 131±1,0 | 132±2,3 |
| C_{in} (ml/min/100g) | 0,8± 0,0 | 0,6±0,0*** | 0,8±0,0 | 0,6±0,1* |
| Vol Urin (ml/min) | 11,5±1,6 | 18,5±3,4* | 7,2±0,7 | 13,1±2,1* |
| UV_{Na+} (μEq/min) | 1,4±0,2 | 2,6±0,4*** | 0,9±0,1 | 2,2±0,4* |
| UV_{K+} (μEq/min) | 0,9±0,1 | 1,5±0,4 | 0,7±0,1 | 1,0±0,1 |

Valores expressos em média e erro padrão. *p<0,05 ; ***p<0,001 teste de Student de t pareado, Basal versus Ang II

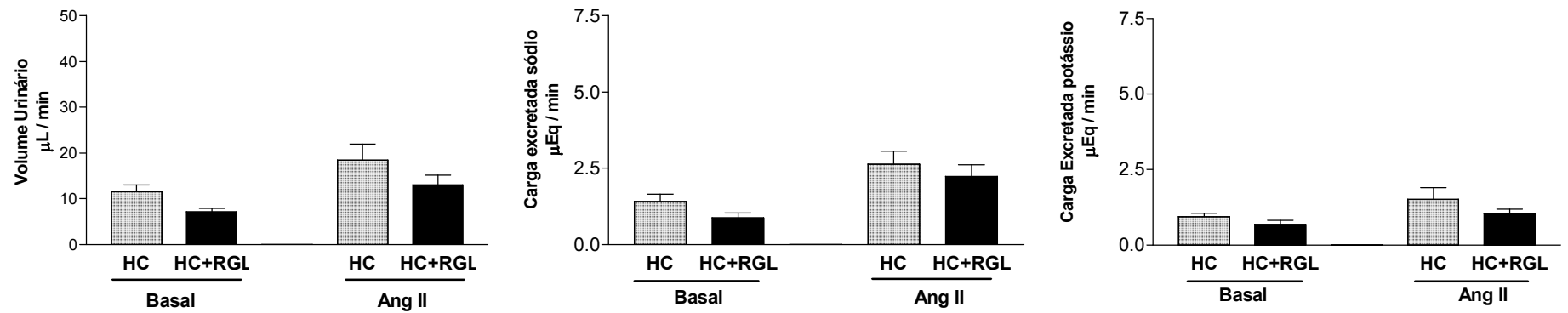


FIGURA 11 – Função tubular dos animais HC tratados os não com Rosiglitazone. Avaliado por teste de *Student de t não pareado*.

As Figuras 12 e 13 ilustram os resultados obtidos com os quatro grupos de animais estudados. Quando os animais foram submetidos ao tratamento com Rosiglitazone houve redução do clearance de inulina nos animais normocolesterolêmicos (NC+RGL) e não houve modificações desse parâmetro nos animais hipercolesterolêmicos (HC+RGL). Ao se infundir Ang II, todos os grupos apresentaram redução do clearance de inulina, exceto o grupo NC+RGL que já apresentava o clearance de inulina reduzido no período basal. Quanto à função tubular verificou-se que a infusão de Ang II aumentou de maneira significativa a diurese e a carga excretada de sódio dos animais NC+RGL. Esta observação não foi encontrada nos animais HC+RGL (Figura 13). Estes resultados mostram que o efeito tubular só é evidenciado nos ratos normocolesterolêmicos submetidos a tratamento com Rosiglitazone.

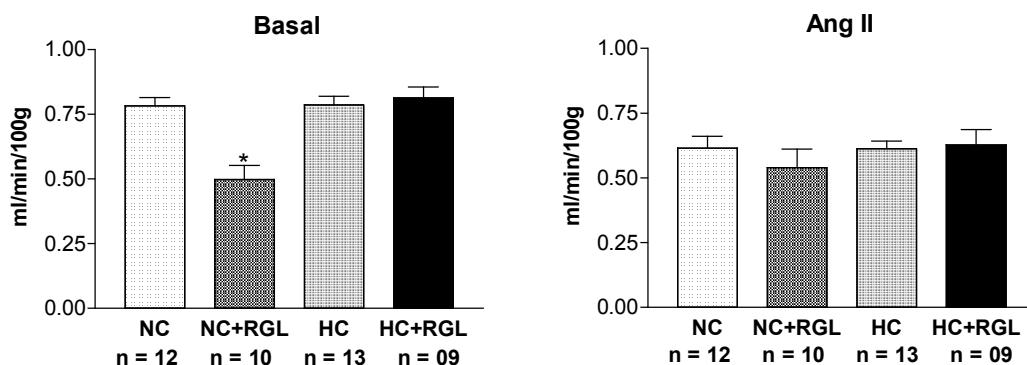


FIGURA 12 – Clearance de inulina dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone submetidos ou não a ação do vasoconstritor (Ang II). * $p < 0,001$ em relação aos demais grupos. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

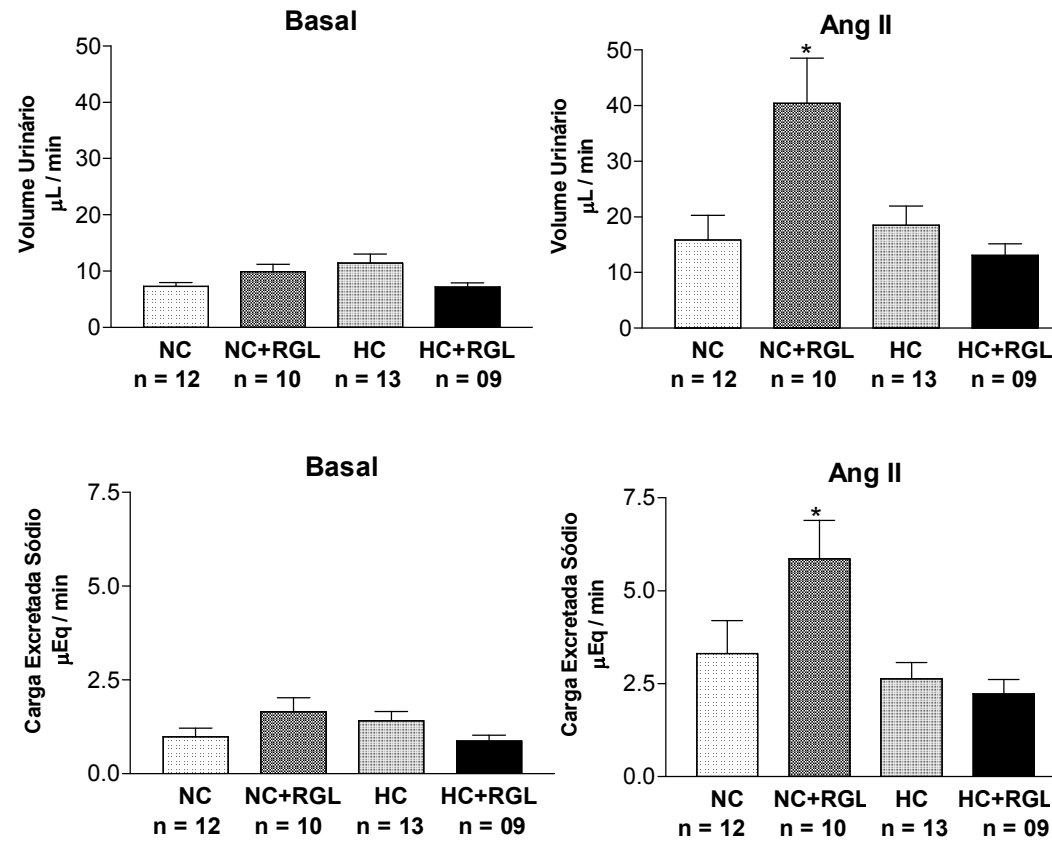


FIGURA 13 – Função tubular dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone submetidos ou não a ação do vasoconstritor (Ang II). * $p < 0,01$ em relação ao demais grupos. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

5.3 Fase III: Estudos “*In Vitro*”

1 - Peso dos órgãos dos animais

Após o término das coletas do clearance de inulina, os animais ainda sob anestesia eram submetidos a eutanásia e seus órgãos eram retirados para serem pesados. Na Tabela 7 e Figura 14, observa-se que o peso do coração, quando corrigido pelo peso corporal, dos ratos no grupo normal quando tratados com Rosiglitazone (NC+RGL) eram maiores em relação do grupo NC. Esta observação não ocorreu com o peso dos rins e das adrenais.

TABELA 7 – Pesos dos órgãos dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone

| | NC (n=06) | NC+RGL (n=10) | HC (n=06) | HC+RGL (n=05) |
|----------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|
| Coração(g/kg/100g) | 0,42±0,006 | 0,47±0,01* | 0,43±0,01 | 0,45±0,01 |
| Rins(g/kg/100g) | 0,40±0,01 | 0,39±0,01 | 0,42±0,01 | 0,44±0,02 |
| Adrenais(g/kg/100g) | 0,011±0,001 | 0,012±0,000 | 0,013±0,000 | 0,012±0,001 |

Valores expressos em média e erro padrão. *p<0,05 *versus* NC.

Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

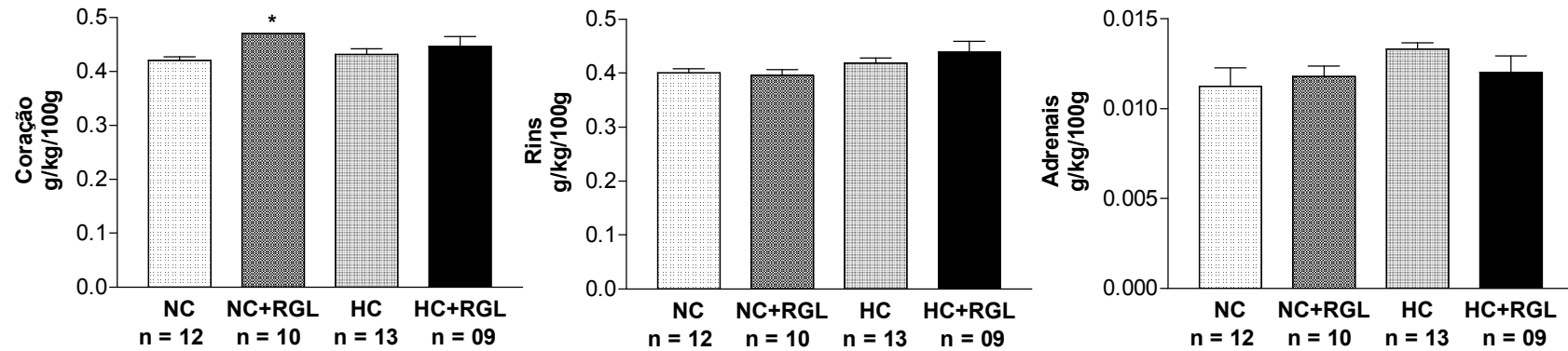


FIGURA 14 – Pesos dos órgãos dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone. * $p < 0,05$ versus NC. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

2- Estudos da atividade da ATPase Total, da Na⁺,K⁺-ATPase e da ATPase Basal no rim

A atividade da ATPase Total, da Na⁺,K⁺-ATPase e da ATPase Basal no córtex e na medula externa renal dos animais NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone estão demonstrados na Tabela 8 e ilustrados na Figura 15. Observou-se que no córtex renal, a atividade da Na⁺,K⁺-ATPase foi semelhante em todos os grupos. Entretanto, esta enzima teve a sua atividade significativamente aumentada na medula externa renal nos ratos hipercolesterolêmicos tratados com Rosiglitazone.

TABELA 8 – Atividade da ATPase Total, da Na⁺,K⁺-ATPase e da ATPase Basal no rim dos animais

| Grupos de animais | ATPase total ($\mu\text{M Pi/mg proteína.h}^{-1}$) | | Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase ($\mu\text{M Pi/mg proteína.h}^{-1}$) | | ATPase basal ($\mu\text{M Pi/mg proteína.h}^{-1}$) | |
|---------------------|---|------------|--|------------------------|---|------------|
| | Córtex | Medula | Córtex | Medula | Córtex | Medula |
| NC (n=06) | 39,22±3,98 | 63,86±8,21 | 21,12±2,90 | 45,35±6,57 | 18,10±2,58 | 18,51±2,81 |
| NC+RGL(n=10) | 46,27±2,67 | 71,92±6,53 | 20,22±1,92 | 42,75±5,44 | 26,05±2,20 | 29,16±3,11 |
| HC (n=06) | 40,95±2,10 | 76,95±3,68 | 18,46±3,51 | 48,10±6,82 | 22,46±2,40 | 28,84±4,41 |
| HC+RGL(n=09) | 45,58±3,5 | 88,43±7,01 | 25,53±2,54 | 64,10±4,1 ^a | 20,05±2,6 | 24,82±8,1 |

Valores expressos em média e erro padrão. ^ap<0,05 versus HC+RGL. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

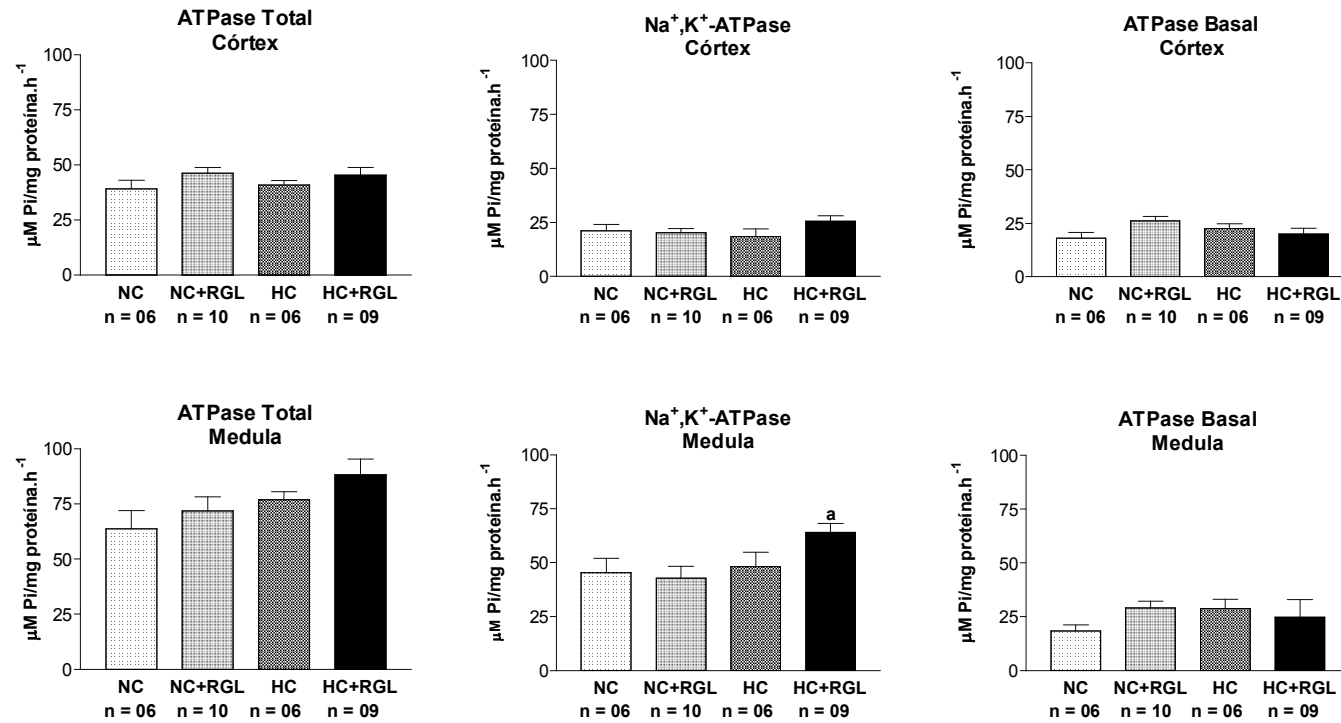


FIGURA 15 – Atividade da ATPase Total, da Na⁺,K⁺-ATPase e da ATPase Basal no córtex e na medula externa renal dos animais tratados ou não com Rosiglitazone. ^ap<0,05 versus NC+RGL. Avaliados por ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls.

6. DISCUSSÃO

Este estudo demonstrou que o tratamento com Rosiglitazone na dose de 48 mg/kg de dieta por 8 dias reduziu a filtração glomerular sem alterar a função tubular nos ratos normais na condição basal. Entretanto, esse mesmo tratamento não modificou a filtração glomerular nos ratos hipercolesterolêmicos nessa mesma condição. Além disso, se observou aumento na atividade da Na^+, K^+ -ATPase da medula externa dos rins dos ratos hipercolesterolêmicos o que não ocorreu com os ratos normais. Outra constatação foi de que a infusão aguda de um vasoconstritor potente, como a Angiotensina II, resultou em: 1) aumento significativo da pressão arterial sistêmica apenas nos ratos normais; 2) redução da filtração glomerular para o mesmo patamar em todos os animais; 3) efeito tubular caracterizado por aumento significativo da diurese e natriurese apenas nos ratos normais tratados com Rosiglitazone.

Estudo prévio demonstrou que a Rosiglitazone pode reduzir a filtração glomerular em ratos normais (20) e camundongos (55). O mecanismo provável para este efeito pode ser devido à ação vasodilatadora exercida pelas Thiazolidinedionas diretamente na parede vascular das arteríolas glomerulares (22) ou na redução da pressão arterial sistêmica (28, 37-39). Estudos *“in vitro”* com cultura de célula muscular lisa sugerem que os ligantes do $\text{PPAR}\gamma$ podem interferir na sinalização via cálcio, bloqueando a abertura dos canais VOCC do tipo L (23-25). Outros estudos sugerem que

as Thiazolidinedionas possuem ação nas células endoteliais (20,24,26,40) e que também haveria a participação do óxido nítrico através do aumento da expressão da enzima Oxido Nítrico Síntase (eNOS) (20). Entretanto, há divergências se o aumento do óxido nítrico é via eNOS (26,39). Além da inibição dos canais VOCC, das possíveis interferências do óxido nítrico, a reatividade vascular também é modificada pelas Thiazolidinedionas devido a melhora da sensibilidade à insulina que vem sendo apontada como fator vasorelaxante (28).

A redução da filtração glomerular causada pela ação vasodilatadora da Rosiglitazone quer seja por ação direta nas arteríolas glomerulares ou na redução da pressão arterial sistêmica ocasiona resposta imediata sobre o Sistema-Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA). Este uma vez acionado reduz a carga excretada de sódio (27). Assim, as Thiazolidinedionas podem causar edema e a insuficiência cardíaca congestiva (ICC) (11, 15-19) devido à retenção hidro-eletrolítica (12,13,21). Song J. e colaboradores (20) demonstraram em ratos normais tratados com Rosiglitazone na dose de 94 mg/kg de dieta por 3 dias a ocorrência do aumento da expressão dos transportadores tubulares renais de sódio associada à redução da filtração glomerular. Entretanto, não ficou evidente se o aumento da expressão dos transportadores foi conseqüente a uma modulação direta da Rosiglitazone nos transportadores tubulares renais ou seria uma resposta à interferência sistêmica exercida pela Rosiglitazone conseqüente à redução da filtração glomerular.

O presente estudo mostrou que os ratos normais tratados com Rosiglitazone na dose de 48 mg/kg de dieta por 8 dias apresentaram redução da filtração glomerular, não alteraram a função tubular e não mudaram os parâmetros referentes ao peso corpóreo e da pressão arterial sistêmica. Entretanto, se observou aumento do peso do coração. Como já foi referido anteriormente, o tratamento com Rosiglitazone não alterou a pressão arterial sistêmica apesar desta droga ter efeito vasodilatador. Considerando que a pressão arterial sistêmica é o produto do débito cardíaco multiplicado pela resistência periférica, a observação do aumento do peso do coração pode ser um sinal de insuficiência cardíaca devido a uma resposta compensatória do coração a possível modificação na resistência periférica. Estudos com ratos espontaneamente hipertensos e com cães tratados com Rosiglitazone mostraram presença de hipertrofia cardíaca e aumento da mortalidade pós-infarto (41-43). Como já foi referido acima, neste estudo foi encontrado aumento significativo do peso do coração nos ratos normais tratados com Rosiglitazone. Esta observação necessita de uma especial investigação funcional e histológica do sistema cardio-vascular para um melhor esclarecimento.

Estudos recentes demonstram que o ligante do PPAR γ pode também ter ação na regulação da inflamação e da resposta isquêmica (10). Por isso, as Thiazolidinedionas são também indicadas no tratamento das doenças inflamatórias crônicas (44,45), e estudadas nos modelos experimentais de infarto agudo do miocárdio (10) e da sepse (46,47). Vale lembrar que o risco de hipotensão nesses casos não é desprezível. Então, na tentativa do

restabelecimento da hemodinâmica sistêmica ocorre a liberação de vários agentes vasoconstritores entre eles a Ang II. Este agonista que tem papel importante no restabelecimento da hemodinâmica sistêmica causa vasoconstrição renal e também deflagra mecanismos de estresse oxidativo (27,48). Então, a prescrição da Rosiglitazone que pode reduzir a filtração glomerular poderá acarretar na instalação da IRA caso ocorra situação de vasoconstrição mediada por Ang II.

No presente estudo, os ratos normais tratados com Rosiglitazone que já apresentavam redução da filtração glomerular ao serem submetidos à vasoconstrição aguda através da infusão de Ang II mostraram aumento significativo da diurese e da natriurese.

Os rins são capazes de aumentar a excreção de sódio e água em decorrência da elevação da pressão arterial e este mecanismo recebe o nome de natriurese pressórica. No presente estudo, os ratos normais tratados com Rosiglitazone não apresentaram mudanças na pressão arterial sistêmica durante a infusão de Ang II. Portanto, os efeitos tubulares encontrados não podem ser atribuídos ao mecanismo da natriurese pressórica. Então, os efeitos tubulares associados à manutenção de uma filtração glomerular reduzida encontrados nos animais normais tratados com Rosiglitazone são sugestivos de lesão tubular e de provável instalação de IRA.

A Na^+, K^+ -ATPase é uma bomba que se localiza na membrana basal e tem como função básica manter baixa a concentração intracelular de Na^+ e alta a de K^+ . A atividade desta enzima é aumentada nos segmentos com

maior transporte de sódio. Portanto, a relação medula : córtex é de 2 a 3:1 nos rins de ratos (49). Na situação de isquemia renal, as células perdem a sua capacidade energética e, portanto, a atividade da Na^+, K^+ -ATPase se reduz de maneira drástica. Então, a relação da atividade da Na^+, K^+ -ATPase na medula em relação ao córtex tende a diminuir chegando a 1:1, ou seja, as células isquêmicas deixam de realizar o transporte (27). Song e colaboradores (20) demonstraram que o tratamento de ratos com Rosiglitazone na dose de 94 mg/kg de dieta por 3 dias aumentou a expressão da Na^+, K^+ -ATPase da medula renal o que justificaria a retenção de sódio. Entretanto, estes autores não mediram a atividade dessa enzima. No presente estudo, a atividade da Na^+, K^+ -ATPase não se modificou nos ratos normais tratados com Rosiglitazone na dose de 48 mg/kg de dieta por 8 dias, como também não apresentaram modificação na pressão arterial sistêmica. Então, é de se esperar que a ausência do aumento da atividade da Na^+, K^+ -ATPase seja um indício de lesão tubular e por isso foi observada a perda da capacidade de transporte tubular ao se infundir Ang II.

Outro dado interessante do nosso estudo refere-se ao grupo de ratos hipercolesterolêmicos. Estes animais apresentaram a função renal semelhante aos normais em condições basais, como já foi descrito anteriormente (50). O tratamento com Rosiglitazone reduziu de maneira significativa a concentração plasmática do colesterol total e dos triglicérides, aumentou a atividade da Na^+, K^+ -ATPase medular e não modificou a filtração glomerular na situação basal. A infusão aguda de Ang II reduziu a filtração glomerular a valores semelhantes ao dos outros grupos de animais

estudados. Mas, não se observou aumento significativo da natriurese e da diurese como ocorreu nos animais normais tratados com Rosiglitazone. Portanto, o mecanismo de ação da Rosiglitazone na situação de hipercolesterolemia difere ao da condição normal. Assim, os possíveis efeitos colaterais da Rosiglitazone podem não ocorrer na situação de hipercolesterolemia. Então, se justificam as conclusões dos estudos que apontam as Thiazolidinedionas como drogas benéficas à função renal, uma vez que se evidenciou melhora da hiperfiltração glomerular em ratos Sprague-Dawley com Diabetes Mellitus tipo I induzido (51), nos ratos obesos Zucker (52, 53) e na melhora da microalbuminúria nos pacientes com Diabetes Mellitus tipo II (54). Nestas situações, o mecanismo da ação da Rosiglitazone foi benéfica como também foi benéfico o tratamento com Rosiglitazone aos ratos hipercolesterolêmicos neste estudo. Então, o presente estudo sugere que deva ser realizado o controle da função renal nos indivíduos normocolesterolêmicos tratados com Rosiglitazone que tenham apresentado elevação da creatinina plasmática e principalmente se estes se encontram em situação de instabilidade hemodinâmica.

7. CONCLUSÕES

Em condições basais, o tratamento com Rosiglitazone na dose de 48 mg/kg de dieta por 8 dias:

✓ diminuiu os triglicérides e o colesterol total plasmáticos dos ratos hipercolesterolêmicos. A diminuição do colesterol total plasmático foi às custas da fração não-HDL-colesterol;

✓ não modificou o ganho de peso e a composição hidro-eletrolítica plasmática de nenhum grupo estudado (ratos normais e hipercolesterolêmicos);

✓ não alterou a pressão arterial sistêmica de nenhum grupo estudado (ratos normais e hipercolesterolêmicos);

✓ reduziu a filtração glomerular apenas dos ratos normais;

✓ não modificou a diurese e a excreção urinário de sódio de nenhum grupo estudado (ratos normais e hipercolesterolêmicos);

✓ induziu o aumento da atividade da Na^+, K^+ -ATPase da medular renal apenas dos ratos hipercolesterolêmicos.

Em condições de vasoconstrição renal aguda induzida pela Ang II observou-se:

✓ elevação da pressão arterial sistêmica apenas nos ratos normais sem o tratamento;

✓ redução da filtração glomerular para o mesmo patamar em todos os grupos de animais estudados (ratos normais e hipercolesterolêmicos);

✓ aumento significativo da diurese e da excreção urinária de sódio apenas nos animais normais tratados com Rosiglitazone.

Então, o presente estudo sugere que o mecanismo de ação da Rosiglitazone em condições normais é diferente ao da hipercolesterolemia porque:

➤ a atividade da Na^+, K^+ -ATPase da medular renal modificou-se apenas nos ratos hipercolesterolêmicos tratados com Rosiglitazone;

➤ a redução da filtração glomerular não se modificou nos ratos hipercolesterolêmicos tratados com Rosiglitazone em condições basais;

➤ a presença de um vasoconstritor renal potente não causou significativo aumento da diurese e natriurese nos ratos hipercolesterolêmicos tratados com Rosiglitazone em condições basais.

Portanto, o controle da função renal dos indivíduos normocolesterolêmicos sob tratamento com Rosiglitazone se faz necessário. Esta recomendação será mais apropriada se esses pacientes apresentarem instabilidade hemodinâmica, especialmente nas situações em que a Ang II está presente.

8. ANEXOS

Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao:

- ANEXO A** - Peso Inicial, final e variação de peso
- ANEXO B** - Sódio, potássio e hematócrito
- ANEXO C** - Colesterol total, triglicérides e glicose
- ANEXO D** - LDL, HDL e VLDL-colesterol
- ANEXO E** - Ingestão de sólidos e líquidos
- ANEXO F** - Clearance de inulina nas condições basais e durante a infusão de Ang II
- ANEXO G** - Pressão arterial na condição basal e durante a infusão de Ang II
- ANEXO H** - Volume urinário na condição basal e durante a infusão de Ang II
- ANEXO I** - Carga excretada de sódio nas condições basais e durante a infusão de Ang II
- ANEXO J** - Carga excretada de potássio na condição basal e durante a infusão de Ang II
- ANEXO K** - Peso dos órgãos
- ANEXO L** - Atividade da ATPase Total, da Na^+, K^+ -ATPase e da ATPase Basal no córtex
- ANEXO M** - Atividade da ATPase Total, da Na^+, K^+ -ATPase e da ATPase Basal na medula externa

ANEXO A – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao peso inicial, final e variação de peso

| | Peso inicial | | | | Peso final | | | | Variação peso | | | |
|-----------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 208,00 | 170,00 | 200,00 | 195,00 | 262,00 | 240,00 | 222,00 | 165,00 | 54,00 | 70,00 | 22,00 | -30,00 |
| 2 | 220,00 | 170,00 | 200,00 | 210,00 | 247,00 | 252,00 | 220,00 | 182,00 | 27,00 | 82,00 | 20,00 | -28,00 |
| 3 | | | 210,00 | | | | 227,00 | | | | 17,00 | |
| 4 | 190,00 | 205,00 | | | 262,00 | 263,00 | | | 72,00 | 58,00 | 18,00 | |
| 5 | 190,00 | | 215,00 | 205,00 | 288,00 | | 222,00 | 210,00 | 98,00 | | 7,00 | 5,00 |
| 6 | 220,00 | 215,00 | 220,00 | 205,00 | 270,00 | 279,00 | 251,00 | 208,00 | 50,00 | 64,00 | 31,00 | 3,00 |
| 7 | 216,00 | 225,00 | 200,00 | 220,00 | 235,00 | 263,00 | 210,00 | 242,00 | 19,00 | 38,00 | 10,00 | 22,00 |
| 8 | | 220,00 | 220,00 | | | 236,00 | 215,00 | | | 16,00 | -5,00 | |
| 9 | 200,00 | 220,00 | 210,00 | 190,00 | 245,00 | 285,00 | 212,00 | 234,00 | 45,00 | 65,00 | 2,00 | 44,00 |
| 10 | | 190,00 | 200,00 | 230,00 | | 232,00 | 220,00 | 242,00 | | 42,00 | 20,00 | 12,00 |
| 11 | 210,00 | 205,00 | 200,00 | 205,00 | 260,00 | 246,00 | 250,00 | 252,00 | 50,00 | 41,00 | 50,00 | 47,00 |
| 12 | | 200,00 | 190,00 | 230,00 | | 215,00 | 235,00 | 264,00 | | 15,00 | 45,00 | 34,00 |
| 13 | 175,00 | | 180,00 | | 207,00 | | 221,00 | | 32,00 | | 41,00 | |
| 14 | 180,00 | | 180,00 | | 235,00 | | 223,00 | | 55,00 | | 43,00 | |
| 15 | 230,00 | | | | 277,00 | | | | 47,00 | | | |
| 16 | 210,00 | | | | 238,00 | | | | 28,00 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=9 | n=12 | n=10 | n=13 | n=9 | n=12 | n=10 | n=13 | n=9 |
| M | 204,1 | 202,0 | 201,9 | 210,0 | 252,2 | 251,1 | 225,2 | 222,1 | 48,1 | 49,1 | 22,9 | 12,1 |
| DP | 17,2 | 19,9 | 13,2 | 14,1 | 22,1 | 21,7 | 12,9 | 33,2 | 21,6 | 22,5 | 16,9 | 28,1 |
| EP | 5,0 | 6,3 | 3,6 | 1,8 | 6,4 | 6,9 | 3,6 | 4,3 | 6,2 | 7,1 | 4,7 | 3,7 |

ANEXO B – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao sódio, potássio e hematócrito

| | Sódio | | | | Potássio | | | | Hematócrito | | | |
|-----------|--------------|---------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|-------------|---------------|--------------------|---------------|-------------|---------------|
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 140,00 | 137,00 | 150,50 | 149,50 | 4,40 | 4,20 | 4,10 | 3,25 | 42,30 | 35,72 | 38,10 | 40,62 |
| 2 | 136,00 | 134,00 | 144,00 | 147,50 | 4,50 | 3,90 | 4,15 | 2,95 | 43,00 | 40,00 | 41,93 | 37,50 |
| 3 | | | 140,50 | | | | 4,15 | | | | 35,92 | |
| 4 | 146,00 | 138,00 | | | 4,20 | 4,40 | | | 44,26 | 25,75 | 34,43 | |
| 5 | 139,00 | | 137,50 | 146,50 | 4,00 | | 3,75 | 3,85 | 39,70 | | 42,10 | 35,59 |
| 6 | 135,00 | 140,00 | 150,00 | 140,50 | 4,60 | 4,00 | 4,75 | 4,05 | 43,93 | 39,10 | 37,52 | 35,20 |
| 7 | 138,00 | 140,00 | 136,00 | 134,50 | 3,90 | 4,70 | 3,85 | 3,85 | 31,34 | 35,00 | 37,09 | 36,66 |
| 8 | | 140,00 | 139,00 | | | 3,80 | 3,25 | | | 38,98 | 42,18 | |
| 9 | 135,00 | 139,50 | 137,50 | 141,00 | 4,00 | 4,20 | 4,05 | 3,50 | 38,70 | 32,00 | 42,19 | 36,88 |
| 10 | | 132,00 | 144,00 | 137,50 | | 3,65 | 3,90 | 3,35 | | 40,00 | 37,87 | 38,70 |
| 11 | 135,50 | 141,50 | 145,00 | 141,50 | 3,55 | 3,75 | 4,20 | 4,10 | 40,98 | 42,18 | 35,89 | 37,70 |
| 12 | | 140,50 | 139,00 | 136,50 | | 4,00 | 3,55 | 3,40 | | 36,00 | 36,60 | 36,06 |
| 13 | 142,00 | | 135,00 | | 3,95 | | 3,80 | | 39,46 | | 40,00 | |
| 14 | 138,00 | | 138,00 | | 3,35 | | 3,60 | | 40,32 | | 40,00 | |
| 15 | 141,50 | | | | 3,60 | | | | 42,64 | | | |
| 16 | 148,00 | | | | 3,65 | | | | 40,00 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=9 | n=12 | n=10 | n=13 | n=9 | n=12 | n=10 | n=13 | n=9 |
| M | 139,5 | 138,3 | 141,2 | 141,7 | 4,0 | 4,1 | 3,9 | 3,6 | 40,6 | 36,5 | 38,7 | 37,2 |
| DP | 4,2 | 3,1 | 5,1 | 5,2 | 0,4 | 0,3 | 0,4 | 0,4 | 3,4 | 4,8 | 2,7 | 1,7 |
| EP | 1,2 | 1,0 | 1,4 | 0,7 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 1,0 | 1,5 | 0,7 | 0,2 |

ANEXO C – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao colesterol total, triglicérides e glicose

| | Colesterol total | | | | Triglicérides | | | | Glicose | | | |
|-----------|------------------|-------------|--------------|--------------|---------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 65,3 | 66,9 | 250,2 | 149,8 | 131,87 | 117,58 | 33,51 | 17,3 | 65,3 | 65,3 | 65,3 | 111,11 |
| 2 | 89,0 | 58,0 | 264,7 | 78,3 | 85,71 | 102,2 | 28,11 | 36,76 | 89,0 | 89,0 | 89,0 | 82,54 |
| 3 | | | 333,3 | | | | 97,30 | | | | | |
| 4 | 99,6 | 35,1 | | | 186,81 | 53,85 | | | 99,6 | 99,6 | 99,6 | |
| 5 | 113,5 | | 190,3 | 207,7 | 106,59 | | 70,27 | 32,43 | 113,5 | 113,5 | 113,5 | 118,52 |
| 6 | 89,0 | 80,0 | 326,6 | 196,1 | 151,65 | 136,26 | 90,81 | 44,32 | 89,0 | 89,0 | 89,0 | 111,64 |
| 7 | 92,2 | 58,0 | 259,9 | 230,9 | 36,26 | 78,02 | 78,92 | 36,76 | 92,2 | 92,2 | 92,2 | 99,47 |
| 8 | | 40,0 | 215,5 | | | 52,75 | 46,49 | | | | | |
| 9 | 108,6 | 102,9 | 220,3 | 195,2 | 56,04 | 87,91 | 80,00 | 72,43 | 108,6 | 108,6 | 108,6 | 85,71 |
| 10 | | 106,1 | 268,6 | 178,7 | | 81 | 107,03 | 37,84 | | | | 82,01 |
| 11 | 112,7 | 92,2 | 230,9 | 302,4 | 168,13 | 87,91 | 89,73 | 60,54 | 112,7 | 112,7 | 112,7 | 84,66 |
| 12 | | 118,4 | 195,2 | 144,0 | | 27,47 | 75,68 | 64,86 | | | | 92,59 |
| 13 | 74,3 | | 208,7 | | 35,16 | | 78,92 | | 74,3 | 74,3 | 74,3 | |
| 14 | 80,8 | | 192,3 | | 104,4 | | 87,57 | | 80,8 | 80,8 | 80,8 | |
| 15 | 100,4 | | | | 62,64 | | | | 100,4 | 100,4 | 100,4 | |
| 16 | 71,0 | | | | 41,76 | | | | 71,0 | 71,0 | 71,0 | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=08 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=12 | n=12 | n=09 |
| M | 91,4 | 75,8 | 242,8 | 187,0 | 97,3 | 82,5 | 74,2 | 44,8 | 91,4 | 91,4 | 91,4 | 96,5 |
| DP | 16,2 | 28,7 | 47,3 | 62,2 | 53,1 | 32,2 | 24,1 | 17,7 | 16,2 | 16,2 | 16,2 | 14,2 |
| EP | 4,7 | 9,1 | 13,1 | 20,7 | 15,3 | 10,2 | 6,7 | 5,9 | 4,7 | 4,7 | 4,7 | 4,7 |

ANEXO D – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao

LDL, HDL e VLDL-colesterol

| | LDL-colesterol | | | | HDL-colesterol | | | | VLDL-colesterol | | | |
|-----------|----------------|--------------|--------------|--------------|----------------|--------------|-------------|-------------|-----------------|--------------|--------------|-------------|
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 20,3 | 12,9 | 241,2 | 144,2 | 18,7 | 30,5 | 2,4 | 2,1 | 26,4 | 23,5 | 6,7 | 3,5 |
| 2 | 50,8 | 10,4 | 253,8 | 70,1 | 21,1 | 27,1 | 5,3 | 0,8 | 17,1 | 20,5 | 5,7 | 7,4 |
| 3 | | | 306,2 | | | 31,8 | 7,6 | 4,7 | | | 19,5 | |
| 4 | 43,8 | -7,5 | | | 18,4 | 12,9 | 8,9 | 7,6 | 37,4 | 10,8 | | |
| 5 | 73,7 | | 167,3 | 196,5 | 18,4 | 15,0 | 9,5 | 9,7 | 21,3 | | 14,1 | 6,5 |
| 6 | 28,9 | 39,9 | 298,9 | 179,6 | 29,7 | 22,1 | 2,6 | 9,5 | 30,3 | 27,2 | 18,2 | 8,9 |
| 7 | 64,7 | 27,4 | 241,5 | 213,8 | 20,3 | 17,6 | 8,7 | 6,8 | 7,3 | 15,6 | 15,8 | 7,4 |
| 8 | | 7,3 | 197,5 | | | 12,6 | | 1,3 | | 10,6 | 9,3 | |
| 9 | 73,9 | 67,6 | | 171,2 | 23,4 | 20,5 | | | 11,2 | 17,6 | | 14,5 |
| 10 | | 77,2 | | 164,3 | | 24,5 | | | | 16,3 | | 7,6 |
| 11 | 53,5 | 54,1 | 206,7 | 289,0 | 25,5 | | 6,3 | | 33,6 | 17,6 | | 12,1 |
| 12 | | 88,4 | 179,2 | | | | 0,8 | | | 5,5 | 9,7 | |
| 13 | 35,2 | | 189,0 | | 32,1 | | 3,9 | | 7,0 | | 18,9 | |
| 14 | 32,0 | | | | 27,9 | | | | 20,9 | | 17,5 | |
| 15 | 60,5 | | | | 27,4 | | | | 12,5 | | | |
| 16 | 44,0 | | 144,2 | | 18,7 | | | | 8,4 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=08 | n=12 | n=10 | n=10 | n=08 | n=12 | n=10 | n=10 | n=08 |
| M | 48,45 | 37,77 | 208,0 | 178,6 | 23,46 | 21,47 | 5,61 | 5,33 | 19,45 | 16,51 | 13,52 | 8,48 |
| DP | 17,57 | 32,88 | 66,25 | 62,06 | 4,91 | 6,99 | 3,08 | 3,62 | 10,62 | 6,43 | 5,27 | 3,42 |
| EP | 5,07 | 10,40 | 19,12 | 21,94 | 1,42 | 2,21 | 0,98 | 1,28 | 3,07 | 2,03 | 1,67 | 1,21 |

ANEXO E – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao consumo de comida e a ingestão de água

| | Consumo comida | | | | Ingestão água | | | |
|-----------|----------------|--------------|--------------|--------------|---------------|--------------|--------------|--------------|
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 34,25 | 21,25 | 20,00 | 25,00 | 37,58 | 20,87 | 20,00 | 23,75 |
| 2 | 19,37 | 18,50 | 17,50 | 28,12 | 14,62 | 17,62 | 23,50 | 16,37 |
| 3 | | | 28,12 | | | | 33,75 | |
| 4 | 30,13 | 19,75 | | | 28,87 | 20,75 | | |
| 5 | 23,12 | | 31,87 | 21,87 | 28,37 | | 24,25 | 30,62 |
| 6 | 23,12 | 24,62 | 29,37 | 26,62 | 16,00 | 37,00 | 33,50 | 33,25 |
| 7 | 17,12 | 18,50 | 21,25 | 26,87 | 19,12 | 18,33 | 34,75 | 31,25 |
| 8 | | 23,75 | 26,87 | | | 18,87 | 33,00 | |
| 9 | 20,14 | 32,75 | 21,87 | 22,50 | 20,00 | 28,37 | 37,12 | 38,50 |
| 10 | | 23,50 | 20,00 | 20,62 | | 28,30 | 47,00 | 23,87 |
| 11 | 30,00 | 21,50 | 21,87 | 23,10 | 12,50 | 17,62 | 47,87 | 39,60 |
| 12 | | 10,63 | | 18,80 | | 8,13 | | 34,40 |
| 13 | 14,30 | | | | 18,00 | | | |
| 14 | 25,00 | | | | 27,55 | | | |
| 15 | 25,75 | | | | 33,25 | | | |
| 16 | 30,50 | | | | 19,50 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 24,40 | 21,48 | 23,87 | 23,72 | 22,95 | 21,59 | 33,47 | 30,18 |
| DP | 6,05 | 5,62 | 4,79 | 3,13 | 7,93 | 7,89 | 9,26 | 7,57 |
| EP | 1,75 | 1,78 | 1,33 | 1,04 | 2,29 | 2,50 | 2,57 | 2,52 |

ANEXO F – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao clearance de inulina na condição basal e durante a infusão de Ang II

| | Clearance de inulina | | | | | | | |
|-----------|----------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Basal | | | | Ang II | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 0,90 | 0,79 | 0,65 | 0,73 | 0,84 | 0,70 | 0,70 | 0,52 |
| 2 | 0,73 | 0,42 | 0,65 | 0,97 | 0,62 | 0,99 | 0,66 | 0,92 |
| 3 | | | 0,58 | | | | 0,54 | |
| 4 | 0,58 | 0,33 | | | 0,28 | 0,27 | | |
| 5 | 0,87 | | 0,84 | 0,73 | 0,50 | | 0,52 | 0,73 |
| 6 | 0,78 | 0,41 | 0,77 | 0,59 | 0,71 | 0,53 | 0,43 | 0,48 |
| 7 | 0,69 | 0,27 | 0,91 | 0,71 | 0,47 | 0,46 | 0,66 | 0,86 |
| 8 | | 0,69 | 0,81 | | | 0,71 | 0,59 | |
| 9 | 0,95 | 0,48 | 0,71 | 0,89 | 0,58 | 0,20 | 0,54 | 0,55 |
| 10 | | 0,69 | 0,85 | 0,87 | | 0,46 | 0,63 | 0,38 |
| 11 | 0,74 | 0,40 | 0,72 | 0,90 | 0,83 | 0,53 | 0,52 | 0,64 |
| 12 | | 0,50 | 0,92 | 0,92 | | 0,55 | 0,62 | 0,56 |
| 13 | 0,73 | | 1,01 | | 0,53 | | 0,79 | |
| 14 | 0,90 | | 0,79 | | 0,70 | | 0,77 | |
| 15 | 0,69 | | | | 0,63 | | | |
| 16 | 0,83 | | | | 0,70 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 0,78 | 0,50 | 0,78 | 0,81 | 0,62 | 0,54 | 0,61 | 0,63 |
| DP | 0,11 | 0,17 | 0,12 | 0,13 | 0,16 | 0,23 | 0,10 | 0,18 |
| EP | 0,03 | 0,05 | 0,03 | 0,04 | 0,04 | 0,07 | 0,03 | 0,06 |

ANEXO G – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto a pressão arterial na condição basal e durante a infusão de Ang II

| | Pressão Arterial | | | | | | | |
|-----------|-------------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|---------------|
| | Basal | | | | Ang II | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 90,50 | 128,00 | 145,00 | 122,50 | 111,50 | 128,00 | 147,25 | 122,25 |
| 2 | 134,50 | 125,00 | 137,50 | 131,50 | 144,00 | 128,00 | 140,25 | 128,50 |
| 3 | | | 142,50 | | | | 143,00 | |
| 4 | 132,00 | 107,50 | | | 155,00 | 110,00 | | |
| 5 | 116,50 | | 125,00 | 133,50 | 127,50 | | 123,00 | 136,00 |
| 6 | 122,50 | 127,50 | 142,00 | 130,50 | 128,50 | 133,00 | 146,25 | 131,25 |
| 7 | 127,50 | 128,50 | 130,00 | 132,50 | 126,50 | 133,50 | 126,00 | 139,25 |
| 8 | | 133,50 | 156,00 | | | 137,00 | 161,75 | |
| 9 | 130,00 | 132,50 | 114,00 | 138,00 | 138,00 | 131,00 | 115,25 | 140,00 |
| 10 | | 149,50 | 128,50 | 136,50 | | 149,00 | 124,00 | 137,75 |
| 11 | 135,50 | 134,00 | 137,00 | 121,00 | 135,25 | 135,25 | 138,00 | 121,75 |
| 12 | | 136,50 | 142,50 | 132,25 | | 126,00 | 140,00 | 134,75 |
| 13 | 136,50 | | 137,00 | | 140,00 | | 134,00 | |
| 14 | 137,50 | | 137,00 | | 139,50 | | 140,75 | |
| 15 | 131,00 | | | | 137,75 | | | |
| 16 | 124,00 | | | | 128,25 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 126,5 | 130,3 | 136,5 | 130,9 | 134,3 | 131,1 | 136,9 | 132,4 |
| DP | 13,0 | 10,5 | 10,4 | 5,7 | 10,9 | 9,8 | 12,4 | 6,9 |
| EP | 3,7 | 3,3 | 2,9 | 1,9 | 3,1 | 3,1 | 3,4 | 2,3 |

ANEXO H – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao volume urinário na condição basal e durante a infusão de Ang II

| | Volume urinário | | | | | | | |
|-----------|-----------------|-------------|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Basal | | | | Ang II | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 9,82 | 11,68 | 8,63 | 5,24 | 10,28 | 48,35 | 11,50 | 6,53 |
| 2 | 4,83 | 4,43 | 5,27 | 5,30 | 5,92 | 50,45 | 10,13 | 10,73 |
| 3 | | | 3,17 | | | | 8,20 | |
| 4 | 10,15 | 10,78 | | | 11,65 | 11,95 | | |
| 5 | 11,95 | | 9,22 | 5,37 | 8,26 | | 12,38 | 19,60 |
| 6 | 6,73 | 17,60 | 19,63 | 12,03 | 13,05 | 58,48 | 14,75 | 4,57 |
| 7 | 7,13 | 11,93 | 11,73 | 5,94 | 10,25 | 73,13 | 25,23 | 21,35 |
| 8 | | 8,09 | 21,47 | | | 25,58 | 42,50 | |
| 9 | 7,38 | 3,59 | 17,72 | 7,25 | 14,03 | 6,74 | 31,03 | 12,73 |
| 10 | | 14,37 | 9,58 | 9,00 | | 78,65 | 7,57 | 7,65 |
| 11 | 5,53 | 7,30 | 9,87 | 7,73 | 16,18 | 36,40 | 7,53 | 19,93 |
| 12 | | 9,02 | 16,98 | 6,89 | | 14,63 | 41,03 | 14,45 |
| 13 | 5,03 | | 6,72 | | 6,40 | | 10,78 | |
| 14 | 6,60 | | 9,30 | | 11,53 | | 17,70 | |
| 15 | 7,98 | | | | 64,00 | | | |
| 16 | 4,70 | | | | 18,03 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 7,32 | 9,88 | 11,48 | 7,19 | 15,80 | 40,44 | 18,49 | 13,06 |
| DP | 2,31 | 4,32 | 5,70 | 2,22 | 15,60 | 25,53 | 12,46 | 6,23 |
| EP | 0,67 | 1,37 | 1,58 | 0,74 | 4,50 | 8,07 | 3,46 | 2,08 |

ANEXO I – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto a carga excretada de sódio na condição basal e durante a infusão de Ang II

| | Carga excretada de sódio | | | | | | | |
|-----------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Basal | | | | Ang II | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 0,89 | 2,22 | 0,73 | 0,18 | 0,70 | 10,05 | 1,44 | 0,62 |
| 2 | 0,55 | 0,55 | 0,71 | 0,74 | 0,82 | 7,56 | 1,53 | 2,09 |
| 3 | | | 0,29 | | | | 0,70 | |
| 4 | 1,29 | 0,65 | | | 2,02 | 1,22 | | |
| 5 | 3,37 | | 0,70 | 0,61 | 11,56 | | 2,41 | 1,43 |
| 6 | 0,89 | 3,28 | 1,88 | 1,61 | 1,51 | 10,62 | 1,55 | 0,53 |
| 7 | 0,71 | 1,77 | 2,01 | 0,70 | 1,57 | 4,75 | 5,18 | 3,66 |
| 8 | | 0,98 | 3,55 | | | 5,04 | 4,92 | |
| 9 | 0,55 | 0,28 | 2,36 | 1,43 | 3,67 | 1,43 | 4,86 | 2,95 |
| 10 | | 3,82 | 1,37 | 1,32 | | 7,88 | 1,44 | 2,31 |
| 11 | 0,79 | 1,67 | 0,68 | 0,50 | 3,87 | 6,65 | 1,19 | 3,28 |
| 12 | | 1,33 | 1,50 | 0,73 | | 3,39 | 2,84 | 3,20 |
| 13 | 0,64 | | 1,50 | | 1,18 | | 2,62 | |
| 14 | 0,82 | | 1,11 | | 3,01 | | 3,56 | |
| 15 | 0,79 | | | | 6,23 | | | |
| 16 | 0,63 | | | | 3,68 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 0,97 | 1,66 | 1,42 | 0,87 | 3,32 | 5,86 | 2,63 | 2,23 |
| DP | 0,77 | 1,17 | 0,89 | 0,48 | 3,06 | 3,28 | 1,55 | 1,16 |
| EP | 0,22 | 0,37 | 0,24 | 0,16 | 0,88 | 1,04 | 0,43 | 0,39 |

ANEXO J – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto a carga excretada de potássio na condição basal e durante a infusão de Ang II

| | Carga excretada de Potássio | | | | | | | |
|-----------|------------------------------------|---------------|-------------|---------------|---------------|---------------|-------------|---------------|
| | Basal | | | | Ang II | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 0,61 | 1,25 | 0,86 | 0,12 | 1,39 | 3,00 | 1,19 | 0,57 |
| 2 | 0,64 | 0,47 | 0,55 | 0,42 | 1,20 | 3,07 | 0,85 | 0,69 |
| 3 | | | 0,24 | | | | 0,70 | |
| 4 | 1,10 | 0,81 | | | 0,63 | 0,95 | | |
| 5 | 1,87 | | 1,10 | 0,49 | 2,07 | | 1,29 | 1,50 |
| 6 | 1,00 | 1,34 | 0,96 | 1,13 | 1,88 | 2,81 | 1,24 | 0,40 |
| 7 | 0,54 | 1,35 | 0,86 | 0,55 | 0,99 | 1,65 | 1,38 | 1,39 |
| 8 | | 0,95 | 0,74 | | | 1,84 | 0,74 | |
| 9 | 1,34 | 0,33 | 1,47 | 1,34 | 1,12 | 0,83 | 1,69 | 1,64 |
| 10 | | 0,97 | 1,33 | 0,87 | | 1,57 | 1,21 | 0,84 |
| 11 | 0,64 | 1,34 | 0,75 | 0,84 | 0,71 | 3,14 | 1,11 | 1,22 |
| 12 | | 1,84 | 1,86 | 0,47 | | 2,14 | 5,95 | 1,13 |
| 13 | 0,53 | | 0,49 | | 0,73 | | 0,43 | |
| 14 | 0,96 | | 0,95 | | 1,29 | | 1,96 | |
| 15 | 0,59 | | | | 2,88 | | | |
| 16 | 0,48 | | | | 1,32 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 0,9 | 1,1 | 0,9 | 0,7 | 1,4 | 2,1 | 1,5 | 1,0 |
| DP | 0,4 | 0,5 | 0,4 | 0,4 | 0,7 | 0,9 | 1,4 | 0,4 |
| EP | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,1 |

ANEXO K– Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto ao peso dos órgãos nos animais

| | Coração | | | | Rins | | | | Adrenais | | | |
|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 0,41 | 0,47 | 0,45 | 0,50 | 0,46 | 0,46 | 0,46 | 0,59 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| 2 | 0,40 | 0,53 | 0,40 | 0,42 | 0,45 | 0,43 | 0,37 | 0,40 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 3 | | | 0,40 | | | | 0,40 | | | | 0,01 | |
| 4 | 0,48 | 0,42 | | | 0,42 | 0,40 | | | 0,01 | 0,01 | | |
| 5 | 0,43 | | 0,39 | 0,42 | 0,38 | | 0,39 | 0,43 | 0,01 | | 0,01 | 0,01 |
| 6 | 0,43 | 0,50 | 0,35 | 0,40 | 0,37 | 0,37 | 0,34 | 0,42 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 7 | 0,41 | 0,41 | 0,44 | 0,39 | 0,38 | 0,40 | 0,45 | 0,44 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 8 | | 0,45 | 0,46 | | | 0,39 | 0,43 | | | 0,01 | 0,02 | |
| 9 | 0,41 | 0,52 | 0,51 | 0,55 | 0,38 | 0,40 | 0,43 | 0,44 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 10 | | 0,50 | 0,45 | 0,43 | | 0,42 | 0,47 | 0,39 | 0,00 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 11 | 0,42 | 0,50 | 0,43 | 0,49 | 0,39 | 0,37 | 0,42 | 0,40 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 12 | | 0,42 | 0,45 | 0,42 | | 0,34 | 0,45 | 0,46 | | 0,01 | 0,01 | 0,01 |
| 13 | 0,41 | | 0,44 | | 0,39 | | 0,42 | | 0,01 | | 0,02 | |
| 14 | 0,43 | | 0,44 | | 0,43 | | 0,42 | | 0,01 | | 0,01 | |
| 15 | 0,41 | | | | 0,38 | | | | 0,01 | | | |
| 16 | 0,42 | | | | 0,38 | | | | 0,01 | | | |
| | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 | n=12 | n=10 | n=13 | n=09 |
| M | 0,42 | 0,47 | 0,43 | 0,45 | 0,40 | 0,40 | 0,42 | 0,44 | 0,011 | 0,012 | 0,013 | 0,012 |
| DP | 0,02 | 0,05 | 0,04 | 0,05 | 0,03 | 0,03 | 0,04 | 0,06 | 0,004 | 0,002 | 0,001 | 0,003 |
| ep | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,01 | 0,01 | 0,01 | 0,02 | 0,001 | 0,001 | 0,000 | 0,001 |

ANEXO L – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto a atividade da ATPase Total, da Na⁺,K⁺-ATPase e da ATPase Basal no córtex

| | ATPase total | | | | Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase | | | | ATPase basal | | | |
|-----------|--------------|-------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | Córtex | | | | Córtex | | | | Córtex | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 49,6 | 49,6 | 43,5 | 45,7 | 29,7 | 30,1 | 21,7 | 21,5 | 19,9 | 19,4 | 21,8 | 24,2 |
| 2 | 21,7 | 32,3 | 43,4 | 44,1 | 9,2 | 18,2 | 19,0 | 20,8 | 12,5 | 14,1 | 24,3 | 23,3 |
| 3 | 40,8 | 52,1 | 45,9 | | 21,8 | 21,8 | 28,9 | | 19,0 | 30,3 | 17,1 | |
| 4 | 35,4 | 50,5 | 39,5 | 58,7 | 26,7 | 18,0 | 24,5 | 38,2 | 8,7 | 32,6 | 15,0 | 20,4 |
| 5 | 44,7 | 52,5 | 42,0 | 47,6 | 19,5 | 28,5 | 10,7 | 22,7 | 25,3 | 24,0 | 31,2 | 24,9 |
| 6 | 43,1 | 39,1 | 31,4 | 36,9 | 19,9 | 20,0 | 6,0 | 15,6 | 23,2 | 19,1 | 25,4 | 21,2 |
| 7 | | 55,6 | | 42,6 | | 22,0 | | 34,6 | | 33,6 | | 8,1 |
| 8 | | 52,0 | | 25,1 | | 20,0 | | 19,5 | | 32,0 | | 5,6 |
| 9 | | 46,1 | | 58,8 | | 14,2 | | 31,8 | | 31,9 | | 27,0 |
| 10 | | 33,0 | | 50,8 | | 9,5 | | 25,1 | | 23,5 | | 25,7 |
| | n=6 | n=10 | n=6 | n=5 | n=6 | n=10 | n=6 | n=9 | n=6 | n=10 | n=6 | n=9 |
| M | 39,2 | 46,3 | 41,0 | 45,6 | 21,1 | 20,2 | 18,4 | 25,5 | 18,1 | 26,0 | 22,4 | 20,0 |
| DP | 9,8 | 8,5 | 5,1 | 10,5 | 7,1 | 6,1 | 8,6 | 7,6 | 6,3 | 6,9 | 5,9 | 7,8 |
| EP | 3,9 | 2,7 | 2,1 | 3,5 | 2,9 | 1,9 | 3,5 | 2,5 | 2,6 | 2,2 | 2,4 | 2,6 |

ANEXO M – Valores individuais dos animais do grupo NC e HC tratados ou não com Rosiglitazone quanto a atividade da ATPase Total, da Na⁺,K⁺-ATPase e da ATPase Basal na medula externa

| | ATPase total | | | | Na ⁺ ,K ⁺ -ATPase | | | | ATPase basal | | | |
|-----------|--------------|-------------|-------------|-------------|---|-------------|-------------|-------------|--------------|-------------|-------------|-------------|
| | Medula | | | | Medula | | | | Medula | | | |
| | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL | NC | NC+RGL | HC | HC+RGL |
| 1 | 69,9 | 54,2 | 75,5 | 78,3 | 51,7 | 46,6 | 42,4 | 48,0 | 18,2 | 7,6 | 33,1 | 30,3 |
| 2 | 33,9 | 58,2 | 67,7 | 94,1 | 19,6 | 31,5 | 43,7 | 42,9 | 14,3 | 26,7 | 23,9 | 51,2 |
| 3 | 92,3 | 101,2 | 80,6 | 98,0 | 67,8 | 71,5 | 61,5 | | 24,4 | 29,7 | 19,2 | 38,9 |
| 4 | 51,0 | 56,9 | 89,2 | 114,4 | 44,0 | 33,5 | 73,4 | 73,1 | 7,0 | 23,4 | 15,8 | 41,4 |
| 5 | 61,5 | 51,8 | 82,8 | 97,1 | 38,0 | 19,6 | 41,5 | 64,0 | 23,6 | 32,2 | 41,2 | 33,1 |
| 6 | 74,5 | 51,0 | 66,0 | 86,8 | 50,9 | 17,7 | 26,1 | 58,2 | 23,6 | 33,2 | 39,9 | 28,7 |
| 7 | | 84,8 | | 56,1 | | 51,2 | | 67,0 | | 33,6 | | -10,9 |
| 8 | | 104,9 | | 46,6 | | 57,9 | | 78,2 | | 47,1 | | -31,6 |
| 9 | | 84,1 | | 101,0 | | 54,8 | | 70,0 | | 29,3 | | 31,0 |
| 10 | | 72,2 | | 111,8 | | 43,2 | | 75,6 | | 29,0 | | 36,2 |
| | n=6 | n=10 | n=6 | n=10 | n=6 | n=10 | n=6 | n=9 | n=6 | n=10 | n=6 | n=10 |
| M | 63,8 | 71,9 | 76,9 | 88,4 | 45,3 | 42,7 | 48,1 | 64,1 | 18,5 | 29,1 | 28,8 | 24,8 |
| DP | 20,1 | 20,6 | 9,0 | 22,3 | 16,1 | 17,2 | 16,7 | 12,2 | 6,9 | 9,8 | 10,8 | 25,6 |
| EP | 8,2 | 6,5 | 3,7 | 7,0 | 6,6 | 5,4 | 6,8 | 4,1 | 2,8 | 3,1 | 4,4 | 8,1 |

9. REFERÊNCIAS*

1. Yki-Järvinen H. Thiazolidinediones. *N Engl J Med.* 2004;351:1106-18.
2. Martens FM, Visseren FL, Lemay J, de Koning EJ, Rabelink TJ. Metabolic and additional vascular effects of thiazolidinediones. *Drugs.* 2002;62(10):1463-80.
3. Day C. Thiazolidinediones: a new class of antidiabetic drugs. *Diabet Med.* 1999;16(3):179-92.
4. Wilson TM, Lambert MH, Kliewer A. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma and metabolic disease. *Annu Rev Biochem.* 2001;70:341-367.
5. Dubois M, Pattou F, Kerr-Conte J, Gmyr V, Vandewalle B, Desreumaux P, Auwerx J, Schoonjans K, Lefebvre J. Expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR gamma) in normal human pancreatic islet cells. *Diabetologia.* 2000;43:1165-9.
6. Lehmann JM; Moore LB, Smith-Oliver TA, Wilkison WO, WillsonTM, Kliewer SA. An antidiabetic Thiazolidinedione is a High affinity ligand for Peroxisome Proliferador-activated receptor- γ (PPAR γ). *The Journal of Biological Chemistry.* 1995;270(22)12953-6.
7. Hauner H. the mode of action of thiazolidinedionas. *Diabetes Metab Res Rev.* 2002;18(2):S10-5.
8. Guan Y. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:2802-2815.
9. Chinetti G, Fruchart JC, Staels B. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): nuclear receptors at the crossroads

- between lipid metabolism and inflammation. *Inflamm Res.* 2000;49:497-505.
10. Abdelrahman M, Sivarajah A, Thiemermann C. Beneficial effects of PPAR-gamma ligands in ischemia-reperfusion injury, inflammation and shock. *Cardiovasc Res.* 2005;65(4):772-81.
 11. Home PD, Pocock SJ, Beck-Nielsen H, Gomis R, Hanefeld M, Jones NP, Komajda M, McMurray JJV. Rosiglitazone Evaluated for Cardiovascular Outcomes - An Interim Analysis. *N Engl J Med.* 2007;357:28-38.
 12. Elte JWF, Blicklé JF. Thiazolidinediones for the treatment of type 2 diabetes. *European Journal of Internal Medicine.* 2007;18:18-25.
 13. Jean-François Yale. Oral antihyperglycemic agents and renal disease: new agents, new concepts. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:S7-S10.
 14. Miyazaki Y, Mahankali A, Wajcberg E, Bajaj M, Mandarino LJ, Defronzo RA. Effect of pioglitazone on circulating adipocytokine levels and insulin sensitivity in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4312-9.
 15. Hollenberg NK. Considerations for management of fluid dynamic issues associated with thiazolidinediones. *Am J Med.* 2003;115 (18A):111S-15.
 16. Mudaliar S, Chang AR, Henry RR. Thiazolidinediones, peripheral edema, and type 2 diabetes: incidence, pathophysiology, and clinical implications. *Endocr Pract.* 2003;9(5):406-16.
 17. Asra Kermani, Abhimanyu Garg. Thiazolidinedione-Associated Congestive Heart Failure and Pulmonary Edema. *Mayo Clin Proc.* 2003;78:1088-91.
 18. Nesto, R W., Bell D., Bonow RO., Fonseca V, Grundy SM, Horton ES, Winter ME, Porte D, Semenkovich CF, Smith S, Young LH, Kahn R. Thiazolidinedione use, fluid retention, and congestive heart failure: a consensus statement from the

- american Heart Association and American Diabetes Association. *Circulation*. 2003;108:2941-8.
19. Lago RM, Singh PP, Nesto RW. Congestive heart failure and cardiovascular death in patients with prediabetes and type 2 diabetes given thiazolidinediones: a meta-analysis of randomised clinical trials. *Lancet*. 2007;370:1129–36.
 20. Song J, Knepper MA, Hu X, Verbalis JG, Ecelbarger CA. Rosiglitazone activates renal sodium- and water-reabsorptive pathways and lowers blood pressure in normal rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2004;308:426-433.
 21. Komers R, Vrána A. Thiazolidinediones – Tools for the Reserch of Metabolic Syndorme X. *Physiol Res*. 1998;47: 215-225. Arima S, Kohagura K, Takeuchi K, Taniyama Y, Sugawara A, Ikeda Y, Abe M, Omata K, Ito S. Biphasic Vasodilator Action of Troglitazone on the Renal Microcirculation. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13: 342–9.
 22. Arima S, Kohagura K, Takeuchi K, Taniyama Y, Sugawara A, Ikeda Y, Abe M, Omata K, Ito S. Biphasic Vasodilator Action of Troglitazone on the Renal Microcirculation. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13: 342–9.
 23. Song J, Walsh MF, Igwe R, Ram JL, Barazi M, Dominguez LJ, Sowers JR. Troglitazone reduces contraction by inhibition of vascular smooth muscle cell Ca²⁺ currents and not endothelial nitric oxide production. *Diabetes*. 1997;46:659-64.
 24. Zhang F, Sowers JR, Ram JL, Standley PR, Peuler JD. Effects of pioglitazone on calcium channels in vascular smooth muscle. *Hypertension*. 1994;24:170-5.
 25. Pershadsingh HA, Szollosi J, Benson S, Hyun WC, Feuerstein BG, Kurtz TW. Effects of ciglitazone on blood pressure and intracellular calcium metabolism. *Hypertension*. 1993;21:1020-3.

26. Calnek DS, Mazzella L, Roser S, Roman J, Hart CM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands increase release of nitric oxide from endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:52-57
27. Zatz, R. ; Helou CMB ; Seguro AC ; EA, B. ; Yu L . Insuficiência Renal Aguda. In: Zatz R. (Org.). *Série Fisiopatologia Clínica - Fisiopatologia Renal.* São Paulo: Editora Atheneu, 2000;2:261-82.
28. Walker AB, Chattington PD, Buckingham RE, Williams G. The thiazolidinedione rosiglitazone (BRL-49653) lowers blood pressure and protects against impairment of endothelial function in Zucker fatty rats. *Diabetes.* 1999;48:1448-53.
29. Campos SB, Ori M, Dórea EL, Seguro AC. Protective effect of L-arginine on hypercholesterolemia-enhanced renal ischemic injury. *Atherosclerosis.* 1999;143:327–334.
30. Assis SMA, Seguro AC, Helou CMB. Effects of maternal hypercholesterolemia on pregnancy and development of offspring. *Pediatr Nephrol.* 2003;18:328–334.
31. Andrade L, Campos SB, Seguro AC. Hypercholesterolemia aggravates radiocontrast nephrotoxicity: protective role of L-arginine. *Kidney International.* 1998;53:1736-1742.
32. Helou CMB, Favaro VF, Seguro AC. Cholesterol feeding changes $[Ca^{++}]_i$ responses to Angiotensin II (Ang II) in juxtamedullary (JM) glomerular arterioles: involvement of voltage-operated calcium channels (VOCC). *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:355A.
33. Zhang X, Qiu C, Baylis C. Sensitivity of the segmental renal arterioles to angiotensin II in the aging rat. *Mechanisms of Ageing and Development.* 1997;97:183–92.
34. Führ J, Kaczmarczyk J, Krüttgen CD. Eine einfache colorimetrische Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-

- Clearance – Untersuchungen bei Stoffwechselgesunden und Diabetikern. *Klin Wochenschr.* 1955;33:729-30.
35. Helou CMB, Seguro AC, Rocha AS. Evaluation of human kidney viability during cold storage. *Ren Fail.* 1993;15:85–91.
36. Lowry DW, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265–75.
37. Ryan MJ, et al. PPAR γ agonist rosiglitazone improves vascular function and lowers pressure in hypertensive transgenic mice. *Hypertension.* 2004;43:661-6.
38. Sarafidis PA, Lasaridis AN. Actions of Peroxisome proliferator-activated receptors- γ agonists explaining a possible blood pressure-lowering effect. *Am J Hypertension.* 2006; 19:646-53.
39. Sarafidis PA, Bakris GL. Protection of the kidney by thiazolidinediones: An assessment from bench to bedside. *Kidney Int.* 2006; 70:1223–33.
40. Boyle JG, Logan PJ, Ewart MA, Reihill JA, Richie SA, Connell JM, Cleland SJ, Salt IP. Rosiglitazone stimulates nitric oxide synthesis in human aortic endothelial cells via AMP-activated protein Kinase. *J Biol Chem.* 2008;283(17):11211-17.
41. Wu L, et al. Beneficial and deleterious effects of rosiglitazone on hypertension development in spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertension.* 2004;17:749-56.
42. Bell D, McDermott BJ. SB-271258, a major metabolite in the dog of the thiazolidinedione, rosiglitazone, stimulates protein synthesis in re-differentiated rat cardiomyocytes in vitro. *Toxicol In Vitro.* 2006; 20(6):808-15.
43. Lygate CA, Hulbert K, Monfared M, Cole MA, Clarke K, Neubauer S. The PPAR γ -activator rosiglitazone does not alter remodeling but increases mortality in rats post-myocardial infarction. *Cardiovasc Res.* 2003; 58(3):632-7.

44. Ellis CN, Varani J, Fisher GJ, Zeigler ME, Pershadsingh HA, Benson SC, Chi Y, Kurtz TW. Troglitazone improves psoriasis and normalizes models of proliferative skin disease: ligands for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma inhibit keratinocyte proliferation. *Arch Dermatol*. 2000;136(5):609-16.
45. Pershadsingh HA. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma: therapeutic target for diseases beyond diabetes: quo vadis? *Expert Opin Investig Drugs*. 2004;13(3):215-28.
46. Zingarelli B, Sheehan M, Hake PW, O'Connor M, Denenberg A, Cook JA. Peroxisome proliferator activator receptor-gamma ligands, 15-deoxy-Delta(12,14)-prostaglandin J2 and ciglitazone, reduce systemic inflammation in polymicrobial sepsis by modulation of signal transduction pathways. *J Immunol*. 2003;171(12):6827-37.
47. Guyton K, Zingarelli B, Ashton S, Teti G, Tempel G, Reilly C, Gilkeson G, Halushka P, Cook J. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma agonists modulate macrophage activation by gram-negative and gram-positive bacterial stimuli. *Shock*. 2003; 20(1):56-62.
48. Costa JAC, Vieira-Neto OM, Neto MM. Insuficiência renal aguda. Simpósio: urgências e emergências nefrológicas. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto. 2003; 36:307-24.
49. Katz AI. Renal Na-K-ATPase: its role in tubular sodium and potassium transport. *Am J Physiol*. 1982;242(3):F207-19.
50. Tamaoki L, Oshiro-Montreal FM, Helou CMB. Effects of nicotine exposure on renal function of normal and hypercholesterolemic rats. *Am J Nephrol* 2009;30:377-82.
51. Isshiki K, Haneda M, Koya D, Maeda S, Sugimoto T, Kikkawa R. Thiazolidinedione Compounds Ameliorate Glomerular Dysfunction Independent of Their Insulin-Sensitizing Action in Diabetic Rats. *Diabetes*. 2000; 49: 1022–32.

52. Baylis C, Atzpodien E, Freshour G, Engels K. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ Agonist Provides Superior Renal Protection versus Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition in a Rat Model of Type 2 Diabetes with Obesity. *JPET*. 2003;307:854–60.
53. Yang, B, Clifton LG, McNulty JA, Chen L, Brown KK, Baer PG. Effects of a PPAR γ agonist, GI262570, on renal filtration fraction and nitric oxide level in conscious rats. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2003; 42(3):436-41.
54. Pistrosch F, Herbrig K, Kindel K, Passauer J, Fischer S, Gross P. Rosiglitazone Improves Glomerular Hyperfiltration, Renal Endothelial Dysfunction, and Microalbuminuria of Incipient Diabetic Nephropathy in Patients. *Diabetes*. 2005; 54:2206–11.
55. Calkin AC, Giunti S, Jandeleit-Dahm KA, Allen TJ, Cooper ME, Thomas MC. PPAR- α and - γ agonists attenuate diabetic kidney disease in the apolipoprotein e knockout mouse. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:2399–2405.

*De acordo com:

Adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias da FMUSP. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de S. Aragão, Suely C. Cardoso, Valéria Vilhena. 2^a ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

10. APÊNDICES

Apêndice 1 – Dietas

| | Composição da dieta Normal | Composição da dieta rica em Colesterol |
|----------------------------|-------------------------------|---|
| Amido de milho..... | 700 g/kg | 665 g/kg |
| Caseína | 200 g/kg | 190 g/kg |
| Óleo de milho..... | 50 ml/kg | 47,5 ml/kg |
| Óleo de fígado de bacalhau | 10 ml/kg | 9,5 ml/kg |
| Solução de vitaminas..... | 50 ml/kg | 50 ml/kg |
| Mistura de sais..... | 40 g/kg | 40 g/kg |
| Colesterol..... | - | 19,4 g/kg |
| Ácido cólico..... | - | 9,6 g/kg |

Apêndice 2 – Solução de vitaminas

| | |
|-----------------------------|-----------|
| Tiamina..... | 0,6 g/l |
| Caseína..... | 0,6 g/l |
| Piridoxina..... | 0,6 g/l |
| Pantotenato de Cálcio..... | 0,2 g/l |
| Ácido Nicotínico..... | 1,0 g/l |
| Cloreto de Colina..... | 30,0 g/l |
| Biotina..... | 0,002 g/l |
| Ácido Fólico..... | 0,004g/l |
| Inositol..... | 0,08 g/l |
| Ácido p-amino Benzóico..... | 6,0 g/l |
| Vitamina K..... | 0,2 g/l |
| Vitamina B12..... | 0,6 g/l |

Apêndice 3 -- Mistura de sais (para cada kg de dieta)

| | |
|--|-------------|
| NaCl..... | 2,0 g/kg |
| MgSO ₄ . 7H ₂ O..... | 2,29 g/kg |
| CaCO ₃ | 15,32 g/kg |
| FeSO ₄ . 7H ₂ O..... | 1,08 g/kg |
| MnSO ₄ . H ₂ O..... | 0,16 g/kg |
| ZnSO ₄ . 7H ₂ O..... | 0,022 g/kg |
| CuSO ₄ . 5H ₂ O..... | 0,02 g/kg |
| CoCl . 6 H ₂ O..... | 0,009 g/kg |
| NaI..... | 0,0282 g/kg |
| NaH ₂ PO ₄ . H ₂ O..... | 15,56 g/kg |
| KCL..... | 8,55 g/kg |