

**PAPÉL DA ATIVIDADE SIMPÁTICA RENAL NA
HIPERTENSÃO ARTERIAL PROVOCADA PELA
HIPERURICEMIA**

QUÉZIA PIRES DE MOURA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas

Universidade Federal do Espírito Santo

Vitória, setembro 2008

Moura , Quézia Pires, 1981

**Papel da Atividade Simpática Renal na Hipertensão Arterial
Provocada pela Hiperuricemia. [Vitória] 2008**

71 p., 29,7 cm (UFES, M. Sc.; Ciências Fisiológicas, 2008)

Dissertação, Universidade Federal do Espírito Santo, PPGCF.

1. Hiperuricemia 2. Hipertensão Arterial 3. Atividade Simpática Renal 4.
Desnervação Renal 5. Ratos

PAPEL DA ATIVIDADE SIMPÁTICA RENAL NA HIPERTENSÃO ARTERIAL PROVOCADA PELA HIPERURICEMIA

QUÉZIA PIRES DE MOURA

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Aprovada em 24/09/2008 por:

Prof. Dr. Antônio de Melo Cabral – Orientador, UFES

Prof. Dr. Roberto de Sá Cunha – Co-Orientador; UFES

Prof. Dr. Fausto Edmundo Lima Pereira

Coordenador do PPGCF: Prof. Dr. Luiz Carlos Schenberg

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

Vitória, setembro de 2008.

*“Isto é o que é aprender: você repentinamente
compreende algo que soube durante toda a sua
vida, mas de um modo novo.”*

(Doris Lessing)

*Ao Professor Cabral, pelas lições de vida aprendidas
com ele ao longo do desenvolvimento deste
trabalho.*

Agradecimentos

À Deus, meu amigo fiel, a quem devo tudo.

À minha mãe, Zilda, pelas orações constantes por mim.

A meus irmãos: Sunamita, Gilmara, Jódavi, e Junior pelo apoio.

Ao meu irmão Gamaliel pela preocupação e cuidado em todos os momentos.

A minha irmã Débora pela paciência, contribuição nos experimentos e por sua amizade.

Ao amor da minha vida, Pablo, pelo carinho, bom humor constante e pela companhia no tratamento dos ratos nos fins de semana.

Ao Prof. Dr. Antônio de Melo Cabral pela paciência ao ensinar-me, dedicação e pelas lições de solidariedade.

Ao Prof. Dr. Roberto de Sá Cunha pela idéia inicial deste projeto e contribuição no seu desenvolvimento.

Aos professores doutores Ivanita Stefanon e Dalton Vassallo e aos demais alunos do laboratório de Eletromecânica Cardíaca pela contribuição na centrifugação do sangue dos ratos.

Ao Prof. Dr. José Geraldo Mill e a Enildo pela contribuição nas dosagens de ácido úrico e creatinina plasmática.

Ao prof. Dr. Fausto pela contribuição nas análises histológicas renais.

À prof.^a Nazaré Bissoli pelos bons momentos de convívio no laboratório.

Aos professores da Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, por todos os conhecimentos transmitidos, que foram de particular importância para realização deste trabalho.

A Edson Dias pela grande amizade e auxílio nos experimentos sempre solucionando os problemas.

A Fonseca pelo auxílio na secretaria da Pós-Graduação.

A amiga e cunhada Viviane pela contribuição na produção dos gráficos e realização das análises estatísticas.

Aos alunos Lidiane, Diego e Patrick pela contribuição no tratamento dos ratos e dosagens de sódio.

As amigas: Luciana, Aline, Daniele, Gabriela e Cristina pelo bom convívio no laboratório.

À Prof.^a Vera Botan pela confiança em mim depositada.

Ao corpo docente, discente, diretoria e demais funcionários da UNILINHARES pelo crescimento profissional.

À FAPES (Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo) pela bolsa de Mestrado concedida durante um ano de realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES	10
RESUMO	11
ABSTRACT	13
1 INTRODUÇÃO	
1.1 Hiperuricemia	15
1.2 Hiperuricemia e Hipertensão Arterial	18
1.3 Hiperuricemia e Doença Renal	19
1.4 Papel dos Nervos Simpáticos Renais na Retenção de Sódio	21
2 OBJETIVOS	
2.1 Objetivo Geral	24
2.2 Objetivos Específicos	24
3 MATERIAIS E MÉTODOS	
3.1 Animais Experimentais	25
3.2 Grupos Experimentais	25
3.3 Procedimentos Cirúrgicos	26
3.3.1 Desnervação Renal	26
3.3.2 Implantação de Cateteres na Artéria e Veia Femorais	26
3.3.3 Implantação de Cateter na Bexiga	27
3.4 Protocolo Experimental	27
3.5 Técnicas Analíticas	29
3.6 Análise Histológica	30
4 ANÁLISE DE DADOS	30
5 RESULTADOS	
5.1 Peso Corporal	31
5.2 Concentração Plasmática de Ácido Úrico	32
5.3 Pressão Arterial Média Basal e Frequência Cardíaca Basal	33
5.4 Excreção Diária de Sódio	37
5.5 Respostas Cardiovasculares e Renais à Sobrecarga de Volume	38
5.6 Concentração Plasmática de Creatinina	52
5.7 Histologia Renal	54
6 DISCUSSÃO	56
7 CONCLUSÃO	62
8 REFERÊNCIAS	63

LISTA DE ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E UNIDADES:

ANP	Peptídeo Natriurético Atrial
ASR	Atividade Simpática Renal
AU	Ácido Úrico
BPM	Batimentos Por Minuto
$\beta 1, \alpha 1$	Subtipos de Receptores Adrenérgicos
dL	Decilitro
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EPM	Erro Padrão da Média
ExNa	Excreção de Sódio
FC	Frequência Cardíaca
FPR	Fluxo Plasmático Renal
FU	Fluxo Urinário
g	Gramas
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
i.p.	Via Intraperitoneal de Administração de Fármacos
mmHg	Milímetros de Mercúrio
mEq	Miliequivalente
mg	Miligrama
mL	Mililitro
min.	Minutos
μ Eq	Microequivalente
μ L	Microlitro
n	Número de Animais
NOS	Óxido Nítrico Sintase
OA	Ácido Oxônico
PAM	Pressão Arterial Média
SRA	Sistema Renina Angiotensina
TFG	Taxa de Filtração Glomerular

RESUMO

Os mecanismos fisiopatológicos que envolvem a relação entre hiperuricemia e hipertensão arterial (HA) são ainda pouco conhecidos. Com o intuito de contribuir para explicar o mecanismo fisiopatológico que envolve hiperuricemia e HA é que este estudo teve como objetivo avaliar o papel da Atividade Simpática Renal (ASR) no desenvolvimento da HA induzida por hiperuricemia em ratos. Foram utilizados ratos Wistar (250g) divididos em grupos controle e experimental. Cada um destes grupos foi dividido nos seguintes subgrupos (n=6): CTRL não receberam OA 2%; CTRL DESN não receberam OA 2% e foram submetidos à desnervação renal bilateral; AOX receberam OA 2% e AOX DESN receberam OA 2% e foram submetidos à desnervação renal bilateral. Os animais foram colocados em gaiolas metabólicas por 3 e 7 semanas onde foram ou não tratados com OA 2% e tiveram suas urinas coletadas diariamente. Os valores basais de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram medidos ao final do tratamento. A estimativa da ASR foi realizada através de manobra aguda de expansão volumétrica que sabidamente produz retirada simpática. Para isso, os animais foram submetidos à infusão contínua (55 μ L/min) de salina por 2 horas. Após esse período de estabilização, amostras de urina foram coletadas por um período controle (C1e C2), período de expansão, no qual a velocidade de infusão foi aumentada ao equivalente em volume a 5% do peso corporal do animal, (E1, E2, E3) e período de recuperação, onde houve o retorno à velocidade de infusão inicial, (R1, R2 e R3). Terminada essa fase foi retirada uma amostra de sangue dos animais e as concentrações plasmáticas de ácido úrico (AU) e creatinina foram determinadas. A seguir os animais foram sacrificados e ambos os rins removidos, pesados e fixados em formol para posterior análise histológica. Os resultados foram apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM) e analisados utilizando-se da análise de variância para medidas repetidas seguida do teste de Tukey. Os resultados mostraram que os ratos do grupo experimental apresentaram aumento na concentração plasmática de AU (mg/dL) quando comparados com os ratos do grupo controle (AOX $1\pm 0,06$ mg/dL; AOX DESN $1\pm 0,1$ mg/dL; CTRL $0,8\pm 0,08$; CTRL DESN

0,7±0.08; p<0.05). Os valores acumulados por 3 semanas da excreção diária de sódio mostraram que os ratos do grupo AOX e AOX DESN excretaram menor quantidade de sódio na urina quando comparados com os ratos do grupo CTRL (15 ± 2,6 vs 44 ± 5,0 mEq; p<0.01 e 27±4,8 vs 44 ± 5,0 mEq; p<0.05). Após 7 semanas de tratamento, foi observado que os valores basais de PAM foram maiores nos animais do grupo AOX quando comparado ao grupo CTRL (120 ± 3 vs 102 ± 2 mmHg; p<0.01) e grupo AOX DESN (120 ± 3 mmHg vs 101 ± 0,7; p<0.01). O grupo AOX apresentou aumento maior no fluxo urinário (FU) e excreção de sódio (ExNa) induzidos pela sobrecarga hidrossalina quando comparados ao grupo CTRL (141±18,3 vs 62±27,1 µL/min/g; p<0.01 e 16± 0,8 vs 10±1,8 µEq/min/g; p<0.05) e, sobretudo, quando comparados ao grupo AOX DESN (141±18,3 vs 27±2,6 µL/min/g; p<0.01 e 14± 3,1 vs 3±0,2 µEq/min/g; p<0.01). O grupo AOX apresentou aumento na concentração da creatinina plasmática quando comparados com o grupo CTRL (0,82±0,05 vs 0,66±0,04 mg/dL; p<0.05). Os grupos AOX e AOX DESN mostraram uma aparente hipertrofia das arteríolas aferentes, focos de aumento de matriz extracelular intertubular e hipertrofia glomerular. O principal resultado deste estudo foi o aumento da ASR em ratos com hiperuricemia e HA. Tal aumento pôde ser observado pela retenção crônica de sódio e aumento maior FU e ExNa após a retirada simpática produzida pela expansão volêmica. Tal interpretação foi ainda sustentada pelo fato de que a desnervação renal bilateral ter sido capaz de prevenir o acúmulo de sódio, a elevação na pressão arterial e o aumento do FU e ExNa em resposta a expansão volêmica.

ABSTRACT

The pathophysiology mechanisms involving hyperuricemia and arterial hypertension are still unknown. With the aim of contributing to the knowledge of pathophysiology mechanism that involves the relationship between hiperuricemia and arterial hypertension this study was carried out to observe if renal sympathetic activity (RSA) is involved. Wistar male rats (250g) were divided in control and experimental groups. Each one of these groups was divided in the following subgroups (n=6): control (CTRL); treated with oxonic acid (OA) 2% (AOX); CTRL submitted to bilateral renal denervation (CTRL DENS); and AOX submitted to bilateral renal denervation (AOX DENS). The animals were placed in metabolic cages by 3 and 7 weeks to collect daily urine samples and the OA treatment was implemented. The basal values of mean arterial pressure (MAP) and heart rate (HR) were measured at the end of the OA treatment period. The estimate role of RSA was accessed through acute extracellular volume expansion (5% of body weigh) that produces a sympathetic withdraw. For that, the animals were submitted i.v. saline infusion (55 L/min) for 2 hours. After that period of stabilization, urine samples were collected over two 10 min of control (C1e C2), 3 expansion (E1, E2, E3), and 3 recovery periods. On the recovery periods (R1, R2, R3), the i.v. saline infusio was returned to the control rate (55 L/min). Subsequently, samples of blood were collected to measure the plamatic concentrations of uric acid (UA) and creatinin. Under general anesthesia, the animals were sacrificed and both kidneys removed to normalize the urine flow and sodium excretion, and subsequent histology. The results showed that the rats treated with OA presented increase in the plamatic concentration of UA (mg/dL) when compared with control animals (AOX 1 ± 0.06 mg/dL; AOX DESN 1 ± 0.1 mg/dL; CTRL 0.8 ± 0.08 ; CTRL DENS 0.7 ± 0.08 ; $p < 0.05$). The accumulated values (3 weeks) of the daily excretion of sodium showed that the AOX and AOX DESN rats excreted smaller amount of urinary sodium when compared with CTRL animals (15 ± 2.6 vs 44 ± 5.0 mEq; $p < 0.01$ and 27 ± 4.8 vs 44 ± 5.0 mEq; $p < 0.05$). After 7 weeks of treatment, the basal values of MAP were higher in the AOX when compared to the CTRL group (120 ± 3 vs 102 ± 2 mmHg; $p < 0.01$). The renal denervation prevented

this elevation in MAP (AOX DESN: 101 ± 0.7 ; $p < 0.01$). Compared to the CTRL ($141 \pm 18.3 \mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$ of kidney), the AOX group presented increase ($27 \pm 2.6 \mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$; $p < 0.01$) in the urinary flow rate and in sodium excretion (NaEx) (16 ± 0.8 vs $10 \pm 1.8 \mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$; $p < 0.05$), and especially if compared to the AOX DESN group (141 ± 18.3 vs $27 \pm 2.6 \mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$; $p < 0.01$ e 14 ± 3.1 vs $3 \pm 0.2 \mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$; $p < 0.01$). When compared with the CTRL, the AOX group presented increase in the plasma concentration of creatinin (0.82 ± 0.05 vs $0.66 \pm 0.04 \text{ mg}/\text{dL}$; $p < 0.05$). The AOX and AOX DESN showed an apparent hypertrophy of the afferent artery, increase of intertubular extracellular matrix and glomerular hypertrophy. The principal result of this study was the increase of SRA in rats that developed arterial hypertension due to hyperuricemia. The SRA and sodium retention could be a major responsible for the hypertension once the bilateral renal denervation prevented the sodium retention and the augment of arterial hypertension.

1 INTRODUÇÃO:

1.1 Hiperuricemia

O ácido úrico é produto do metabolismo das purinas (adenosina 5'-monofosfato → AMP e guanosina 5'-monofosfato → GMP). Os grupos fosfatos destes nucleotídeos são perdidos pela ação da nucleotidase. O adenilato libera a adenosina, que é então desaminada para inosina. A inosina é hidrolisada para liberar a hipoxantina que é oxidada sucessivamente para xantina e para ácido úrico pela xantina oxidase. O guanilato é primeiro hidrolisado para liberar a guanosina, a qual é clivada para liberar guanina. A guanina sofre remoção hidrolítica do seu grupo amino para liberar xantina, que é convertida em ácido úrico pela xantina oxidase. Na maioria dos mamíferos esta degradação continua e sob ação da uricase o ácido úrico é convertido em alantoína (Alderman e Aiyer, 2004).

Em alguns primatas e em humanos uma mutação não-funcional ocorrida no período miocênico (8 a 20 milhões de anos) inativou a uricase, tornando os níveis séricos de ácido úrico cerca de três a quatro vezes superiores no homem, quando comparados com aves, por exemplo. Tal mutação sofreu uma pressão seletiva positiva considerável, sendo postulado que em algum momento de privação hidrossalina severa esse genótipo foi perpetuado. Assim, esses indivíduos convivem com níveis séricos de ácido úrico elevado em razão da ausência da enzima hepática uricase (watanabe e cols., 2002). Além disso, outros fatores podem interferir no aumento da concentração plasmática de ácido úrico, como por exemplo, produção excessiva e/ou deficiência na eliminação do ácido úrico pelo rim, e provocar hiperuricemia média. A hiperuricemia média usualmente é definida como nível de ácido úrico maior do que 6 ou 6,5 mg/dL em mulheres e maior do que 6,5 ou 7 mg/dL em homens sem a presença de gota ou nefrolitíase. Ela está presente em 5% dos indivíduos normais, em 25% dos hipertensos não-tratados, em 40% a 50% daqueles tratados com diuréticos e ao redor de 75% naqueles com hipertensão arterial maligna ou disfunção renal (Baker e cols., 2005).

Sabe-se que mesmo podendo ser causado por dieta e possíveis defeitos metabólicos, aumentos nos níveis séricos de ácido úrico são, comumente, causados por defeitos na excreção renal de ácido úrico (Johnson e cols., 2003), isso porque os níveis séricos de ácido úrico são fortemente influenciados pela secreção e reabsorção renal de urato. A excreção fracional de urato (porcentagem de urato filtrado em glomérulos que é excretada em urina - %E/F urato) é normalmente menor que 10% (MaesaKa e Fishbane, 1998) e desse modo, 90% do urato filtrado é reabsorvido. O urato é livremente filtrado no glomérulo, sofre reabsorção no túbulo proximal através de um sistema de troca aniônica, e ainda secreção e reabsorção pós-secretória no túbulo distal (Gutman e Yu, 1961; Diamond e Paolino, 1973). Dessa forma, podem-se citar as diminuições da função renal e do estrogênio (agente uricosúrico) com a idade como fatores que podem aumentar a concentração plasmática de ácido úrico em homens e mulheres na meia-idade e a redução do volume circulante produzido por diuréticos que provocam intensa reabsorção de urato pelo rim (Zhou e cols., 2006).

O papel do ácido úrico como marcador ou causador de doença cardiovascular tem sido discutido desde o início da história da hipertensão arterial. Em 1879 Frederick Akbar Mahomed observou que muitos indivíduos hipertensos pertenciam a famílias de gotosos, levando ele a sugerir o ácido úrico como um fator causal na resposta da pressão sangüínea. Dez anos mais tarde, Haig propôs dietas pobres em purinas como um meio de prevenir hipertensão arterial e doença cardiovascular. Em alguns outros estudos, inclusive nos recentes estudos de "Framingham", o ácido úrico é considerado simplesmente um marcador que se relaciona ao risco cardiovascular e renal. Nessa análise, os níveis séricos de ácido úrico foram significativamente correlacionados com o risco de doença cardiovascular em mulheres, mas a significância deste dado não permaneceu após correção por 11 variáveis, incluindo hipertensão arterial, índice de massa corpórea e uso de diuréticos. Somente quando as investigações de "Framingham" avaliaram o risco de doenças cardiovasculares em pacientes que sofriam de gota, os níveis de ácido úrico passaram a ser um fator de risco significativo e independente de doenças cardiovasculares (Culleton e cols., 1999). Muitas pesquisas, atualmente, de forma diferente, têm encontrado que o nível elevado de ácido

úrico é um fator de risco independente para doenças cardiovasculares, e evidenciado o papel etiológico da hiperuricemia no aumento da pressão arterial (Feig e cols., 2006, Mazzali e cols., 2001, Jossa e cols., 1994, Verdecchia e cols., 2000).

Dessa forma, pode se dizer que o papel do ácido úrico como preditor de eventos cardiovasculares na população tem sido objeto de grandes debates. Muitos autores têm descrito a relação da hiperuricemia com diversas doenças e condições incluindo hipertensão arterial, gota, doença cardiovascular, infarto do miocárdio e doença renal (Jossa e cols., 1994; Freedman e cols., 1995; Kang e cols., 2002; Choi e cols., 2005). No entanto, existem dificuldades ao se associar doença cardiovascular e hipertensão arterial a uma variável que é influenciada por idade, raça, sexo, consumo de álcool, obesidade, sedentarismo, padrões específicos de dieta, função renal e uso de diuréticos (Cunha e Magalhães, 2006). Ainda parece incerto se o aumento no nível de ácido úrico é causa ou consequência de algumas destas condições, tornando-se um desafio científico elucidar um possível papel do ácido úrico como agente etiológico de doenças cardiovasculares e hipertensão arterial (Kutzing e Firestein, 2008). Entretanto, mesmo diante da dificuldade de compreensão da relação entre doença cardiovascular e ácido úrico, surgiram nos últimos anos tentativas terapêuticas de interferir nos fenômenos ligados a hiperuricemia. O uso do Alopurinol (inibidor da xantina oxidase) em cirurgia cardíaca tem mostrado bons resultados por reduzir o estresse oxidativo (Tabayashi e cols., 1991). Também tem sido descrito que o Losartan é capaz de reduzir em 20 a 25% os níveis séricos de ácido úrico por provocar redução na reabsorção de ácido úrico no túbulo proximal renal. Parece que o Losartan inibe o canal lactato/urato e cloreto/urato no túbulo contorcido proximal (Sica e cols., 2002). A estimativa no “LIFE Study” é que 29% da redução do risco nas doenças cardiovasculares, obtida pelo Losartan foi atribuída à redução dos níveis séricos de ácido úrico (Alderman e Aiyer, 2004).

1.2 Hiperuricemia e Hipertensão Arterial

Ácido úrico comumente está associado com a hipertensão arterial como marcador que se relaciona ao risco cardiovascular e renal ou marcador independente que exerce um efeito causal na elevação da pressão arterial (Johnson e cols., 2003).

O aumento na prevalência da hiperuricemia em hipertensos pode ser relacionado, por alguns pesquisadores, a um distúrbio circulatório sistêmico em que defeitos renais inerentes à hipertensão arterial explicam a maior retenção de urato (Messerli e cols, 1980) ou, ainda, pelo surgimento de uma doença microvascular que leva a isquemia tecidual (Puig e Ruilope, 1999). Sabe-se que a isquemia tecidual provoca aumento na produção de lactato, o qual bloqueia a secreção de urato no túbulo proximal, e também aumento na síntese de ácido úrico. Na isquemia há degradação de ATP em adenina e xantina e ativação da xantina oxidase. O aumento do substrato (xantina) e da enzima (xantina oxidase) resulta em aumento da produção de ácido úrico bem como de radicais superóxido (O_2^-) (Friedl e cols., 1991).

Há, porém, evidências de um papel etiológico da hiperuricemia no aumento da pressão arterial em vários outros estudos. Um desses estudos, realizados com a colaboração de Johnson (Mazzali e cols., 2001), demonstrou esse papel etiológico direto do ácido úrico na hipertensão arterial. A inibição da uricase, em ratos, com uso de ácido oxônico (2%), foi capaz de produzir uma forma de hipertensão arterial experimental sem a deposição de cristais de urato nos rins no decorrer de 7 semanas de hiperuricemia. Nestes mesmos estudos foi sugerido que o mecanismo da hipertensão, neste modelo, envolveria o aumento de renina e redução na expressão óxido nítrico sintase (NOS1) no sistema justaglomerular. A hipertensão arterial foi prevenida pela administração de inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e em menor extensão pela L-arginina (substrato para óxido nítrico sintase), confirmando o papel chave do sistema renina-angiotensina e óxido nítrico sintase na elevação da pressão arterial. A hipertensão arterial e alterações na renina e óxido nítrico sintase também foram prevenidas por manutenção do ácido úrico em níveis

normais com o uso de alopurinol (inibidor da xantina oxidase) e benziodarona (agente uricosúrico).

1.3 Hiperuricemia e Doença Renal

Resultados adicionais, deste mesmo estudo de Mazzali (2001), sugeriram que o ácido úrico também está associado com o desenvolvimento de lesão tubulointersticial, mesmo na ausência da deposição de cristais de urato nos rins. Técnicas imuno-histoquímicas revelaram que há aumento na deposição de colágeno intersticial e infiltração de macrófagos nos rins de ratos com hiperuricemia. Sugeriu-se, então, que a angiotensina II e o óxido nítrico estão envolvidos na patogênese da lesão renal, pois o bloqueio da formação de angiotensina II com enalapril e o estímulo da síntese de óxido nítrico com L-arginina foram capazes de prevenir a progressão da fibrose intersticial.

Um ano depois Mazzali demonstrou que a hiperuricemia também está relacionada à arteriopatia da arteríola aferente de ratos, observado pelo espessamento da camada média, sugerindo, dessa forma, que há um remodelamento vascular hipertrófico causado pelo ácido úrico. Aponta-se para a possibilidade de que o ácido úrico possa induzir nefropatia por ativar o sistema renina-angiotensina independente do aumento da pressão arterial e sugere-se que a classe de drogas inibidoras desse sistema diminui a proliferação do músculo liso e síntese de colágeno. O mecanismo pelo qual isso acontece foi demonstrado pelo tratamento de ratos com hiperuricemia com inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), o enalapril, e comparação destes com outros tratados com o diurético hidroclorotiazida. Desta forma, se observou que mesmo que ambos sejam capazes de diminuir a pressão arterial somente o enalapril provocou redução significativa na arteriopatia. Como consequência desse espessamento da parede da arteríola aferente tem se alterações na hemodinâmica glomerular de ratos que promovem hipertensão glomerular. Ocorre limitação do mecanismo auto-regulatório de contração arteriolar aferente que visa aumentar a resistência

aferente, quando há um aumento na pressão arterial, e prevenir esse aumento de pressão arterial para a circulação glomerular (Sanchez-Lozada e cols., 2002).

Nesse mesmo sentido, estudos posteriores mostraram que a hiperuricemia em ratos resulta em hipertrofia glomerular, evidenciado através da análise de imagens da área glomerular. Foi suscitado que a hipertrofia glomerular não é devida à hipertensão arterial, pois o tratamento dos ratos com hiperuricemia com a hidroclorotiazida preveniu o aumento na pressão arterial, mas não foi capaz de prevenir a hipertrofia glomerular. Em contrapartida, a inibição da enzima conversora de angiotensina além de diminuir os níveis da pressão arterial também preveniu parcialmente a hipertrofia glomerular, sugerindo que a hipertrofia glomerular acontece por um mecanismo que é parcialmente mediado pelo sistema renina angiotensina. Apesar da hipertrofia glomerular ser comumente associada com o desenvolvimento de glomeruloesclerose, ela não foi observada no glomérulo de ratos com 7 semanas de hiperuricemia. Entretanto, na avaliação da hiperuricemia por 6 meses em ratos houve o desenvolvimento de albuminúria e glomeruloesclerose (Nakagawa e cols.,2003).

Ratos com hiperuricemia mostraram ter sensibilidade ao sal, isto é grande aumento na pressão sanguínea para mesma carga de sódio de ratos normais. Uma explicação para esse mecanismo é que a sensibilidade ao sal pode resultar de doença vascular pré-glomerular, a qual está associada à isquemia renal, infiltração de leucócitos com produção de agentes oxidantes locais, alteração no balanço local vasorregulatório que favorecem a vasoconstrição renal e como resultado a diminuição na excreção de sódio que, por sua vez, eleva a pressão arterial (Watanabe e cols., 2002).

1.4 Papel dos Nervos Simpáticos Renais na Retenção de Sódio

Os estudos anatômicos de Mitchell (1950) revelaram que os nervos renais têm origem difusa, estendendo-se do nervo esplânico torácico superior passando pelo simpático lombar ao plexo hipogástrico que envolve a bifurcação aórtica na região pré-sacral. Os nervos renais são nervos mistos que contêm fibras aferentes e eferentes. São descritas duas classes de aferentes renais: os mecanorreceptores que monitorizam as mudanças de pressão hidrostática no rim e os quimiorreceptores que são afetados por isquemia (Recordati e cols., 1980). A inervação eferente renal é composta por fibras simpáticas pós-ganglionares que tipicamente exercem seus efeitos através da liberação de noradrenalina em receptores adrenérgicos nas membranas celulares pós-sinápticas. A inervação simpática é dirigida para as arteríolas glomerulares aferentes e eferentes, para os túbulos renais (proximal e distal), para o ramo ascendente da alça de Henle e para o sistema justaglomerular (DiBona, 1989). Alterações na atividade do nervo simpático renal eferente produzem mudanças significativas no fluxo sanguíneo renal, na taxa de filtração glomerular, na liberação de renina e na reabsorção de sódio e água. Estudos experimentais mostraram que as alterações em tais parâmetros são proporcionais à frequência de estimulação do nervo simpático renal, observando-se que, dependendo da magnitude do estímulo, pode ocorrer aumento da reabsorção de sódio e água ao longo do néfron sem alteração da hemodinâmica renal (DiBona e Sawin, 1983; DiBona, 1985; DiBona, 1986). Estímulos com frequências mais altas (maiores que 2,0 Hz) mostraram causar aumento na resistência renal e redução no fluxo sanguíneo renal, efeito esse mediado predominantemente por receptores adrenérgicos α -1 (DiBona, 1985).

A participação dos nervos simpáticos renais na regulação do balanço de sódio foi evidenciada por alguns autores em animais acordados durante alterações agudas e crônicas no sódio corporal total (Rogenes e cols., 1982; Szalay e cols., 1986). Estudos experimentais de DiBona e Sawin (1983) demonstraram o quão importante é o papel da inervação simpática renal em situações de baixa ingestão de sódio, nas quais faz-se necessária a ativação de diversos mecanismos para manter a homeostase do sódio. Outros estudos

também experimentais mostraram que a redução na atividade simpática renal eferente, mediada pela expansão de volume, é fundamental na resposta excretora renal à sobrecarga de volume e que a desnervação renal prévia atenua tais respostas, diurética e natriurética (DiBona e Sawin, 1985; Morita e Vatner, 1985; Peterson e cols., 1988).

Quando a atividade do sistema nervoso simpático é agudamente aumentada, algumas estruturas recebem suprimento simpático maior do que outras. Isso tem sido observado em várias situações experimentais nas quais aumentos súbitos da atividade simpática produzem vasoconstrição desproporcionalmente maior no leito vascular renal do que em outros leitos vasculares (Vatner e cols., 1971; Katholi e cols., 1979). Esses dados favorecem a possibilidade de que nos estados em que a atividade simpática é cronicamente aumentada também haveria um tono simpático desproporcionalmente maior para os rins do que para outros órgãos facilitando a retenção de sódio devido à vasoconstrição renal, o aumento na liberação de renina pelas células justaglomerulares, com aumento na formação de angiotensina II, e aumento do efeito direto dos nervos simpáticos nos túbulos renais (DiBona, 1989). Esse é um importante mecanismo pelo qual o sistema nervoso simpático pode iniciar a hipertensão arterial ou permitir que ela seja sustentada ao prevenir à ocorrência do mecanismo de natriurese por pressão.

Fortes evidências da participação dos nervos renais na hipertensão arterial derivam de estudos de desnervação renal. Winternitz e colaboradores (1982) demonstraram que a desnervação renal retarda o desenvolvimento da hipertensão arterial em ratos espontaneamente hipertensos por haver um aumento na excreção urinária do sódio ingerido (natriurese por desnervação). Além disso, observaram que o subsequente desenvolvimento da hipertensão arterial coincidiu com o retorno do conteúdo renal de noradrenalina ao valor normal e com a diminuição da fração de excreção do sódio ingerido, evidenciando reinervação renal. Sabe-se que ocorre reinervação funcional nos rins, provavelmente secundária à regeneração de novas fibras e do aumento da sensibilidade à noradrenalina que se torna completa em cerca de oito semanas (Kline e Mercer, 1983).

Sendo assim, pode-se dizer que apesar de já estarem bem estabelecidas as evidências de que os nervos renais contribuem para o

controle da função renal e da homeostasia em condições normais e patológicas, as pesquisas que relacionam a atividade simpática renal e a hipertensão arterial provocada pela hiperuricemia são ainda insuficientes. E finalmente, buscando de alguma forma contribuir para responder a significativa questão é que nos propomos a realizar a pesquisa em questão.

2 OBJETIVOS:

2.1 Objetivo Geral:

Avaliar o papel dos mecanismos simpáticos renais no desenvolvimento da hipertensão arterial induzida por hiperuricemia em ratos.

2.2 Objetivos Específicos:

Avaliar nos animais com hiperuricemia a participação dos nervos renais:

- no desenvolvimento da hipertensão arterial;
- na retenção hidrossalina;
- e na diurese e natriurese induzida pela sobrecarga de volume.

3 MATERIAIS E MÉTODOS:

3.1 Animais Experimentais

Os experimentos foram realizados em ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*) machos com cerca de 250g fornecidos pelo biotério do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas da Universidade Federal do Espírito Santo. Os ratos foram mantidos em ambiente com luz, temperatura e umidade controladas.

3.2 Grupos Experimentais

Os animais foram divididos em grupo controle (CON), cujos animais receberam ração sem o ácido oxônico e o grupo experimental (AOX), em que os animais receberam o ácido oxônico (OA) (Sigma) a 2% adicionado à ração em pó. Cada um destes grupos foi dividido em subgrupos (n=6), conforme o tratamento recebido por cada animal, e como abaixo esquematizado:

1. Animais Controle (CTRL)

- (a) não receberam OA 2%, denominado CTRL.
- (b) não receberam OA 2% e submetidos à desnervação dos nervos simpáticos renais, denominado CTRL DESN.

2. Animais Experimentais (AOX):

- (a) receberam OA 2%, denominados AOX.
- (b) receberam OA 2% e submetidos à desnervação dos nervos simpáticos renais, denominados AOX DESN.

3.3 Procedimentos Cirúrgicos

3.3.1 Desnervação Renal

Com a finalidade de remover a influência dos nervos simpáticos renais sobre a função excretora, os ratos foram submetidos à desnervação renal 3 dias antes de serem colocados em gaiolas metabólicas. Sob anestesia pelo hidrato de cloral (40mg/100g, i.p.) realizou-se incisão bilateral nos flancos e, com auxílio de uma lupa (World Precision Instruments 13301, FI, USA), procedeu-se a separação das fibras nervosas dos vasos renais. Os nervos e seus ramos foram cortados e as artéria e veia renais foram banhadas com solução de fenol a 10% em álcool absoluto a fim de se destruir qualquer fibra nervosa remanescente, como descrito anteriormente por Dibona e Sawin (1983). A desnervação renal previne a resposta vasoconstritora renal, previne a antinatriurese induzida, por exemplo, pelo estresse ambiental e reduz as catecolaminas renais a valores não detectáveis na análise por histofluorescência (Dibona e Sawin 1983). Depois de completada a desnervação renal, a incisão no flanco foi fechada através de suturas nas camadas musculares e na pele e terminado o ato cirúrgico, os animais receberam injeção intramuscular de penicilina G benzatina (30.000 UI).

3.3.2 Implantação de Cateteres na Artéria e Veia Femorais

Os registros de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram obtidos por meio de cateter implantado na aorta abdominal via artéria femoral esquerda. A veia femoral esquerda também foi cateterizada para que fosse possível a infusão de solução isotônica de salina. Os cateteres foram confeccionados utilizando-se um tubo de polietileno PE-50 (Clay Aams, Parsippany, EUA) de 15 cm de comprimento, unidos a um PE-10 de 5cm de comprimento por meio de aquecimento sob mandril. Sob influência anestésica

do hidrato de cloral os cateteres foram implantados através de manobras cirúrgicas que consistiam de uma incisão na região inguinal em direção ao feixe vâsculo-nervoso. Após o isolamento da artéria, foi introduzida a extremidade do PE-10, previamente heparinizado (40UI/ml). A outra extremidade do cateter foi dirigida, por meio de um trocáter, sob a pele do dorso do animal até a região mediocervical posterior e fixado à pele por um fio de sutura, sendo o mesmo procedimento adotado para a cateterização venosa.

3.3.3 Implantação de Cateter na Bexiga

A seguir (após cerca de 24 horas), sob efeito anestésico do hidrato de cloral, os animais tiveram a bexiga cateterizada, segundo a técnica modificada por Gellai e Valtin (1979), que consiste de uma pequena incisão longitudinal supra-púbica de 1 cm para exposição da bexiga e implantação do cateter (PE-240, 4 cm de comprimento) o qual foi posteriormente fixado às camadas musculares e a pele do animal. A observação da passagem livre de urina através do cateter foi o método utilizado para verificar se o cateter estava corretamente posicionado.

3.4 Protocolo Experimental

Para realização do protocolo experimental, todos os ratos foram colocados em gaiolas metabólicas onde receberam água, ração em pó, com ou sem OA 2%, e tiveram suas urinas coletadas diariamente. O tratamento aconteceu durante dois períodos, 3 ou 7 semanas.

Ao final do tratamento, os animais foram retirados das gaiolas metabólicas, anestesiados e cateteres foram implantados na aorta abdominal via artéria femoral esquerda e na veia femoral. Os registros basais de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram obtidos no dia seguinte

por meio do cateter arterial conectado a um transdutor de pressão (Spctramed-statham, P23XL, USA) acoplado a um sistema de aquisição de dados biológicos (Biopac system, MP100, Santa Bárbara, CA, EUA). Após essa etapa, sob influência anestésica do hidrato de cloral, os animais tiveram suas bexigas cateterizadas e foram, a seguir, colocados em gaiolas de contenção que limitavam seus movimentos e permitiam registros hemodinâmicos e coleta de urina.

Para avaliar o papel dos nervos simpáticos renais na diurese e natriurese induzida por um estímulo fisiológico, como a sobrecarga de volume, os animais foram submetidos à infusão contínua de solução isotônica por meio de uma bomba de infusão Harvard modelo 795 ao fluxo de 55 $\mu\text{L}/\text{min}$, por um período de estabilização de 2 horas. Seguindo-se às duas horas do período de estabilização, iniciou-se a coleta de amostras de urina para determinação do volume e concentração de sódio urinário por um período controle de 20 minutos. Esta fase controle teve suas respectivas amostras denominadas de Controle 1 (C1) e Controle 2 (C2), coletadas pelo tempo de 10 minutos cada. A seguir a velocidade de infusão da bomba foi aumentada ao equivalente em volume a 5% do peso corporal do animal, por um período de 30 minutos e novas amostras de urina também com tempo de 10 minutos cada, foram colhidas. Tal fase foi denominada de expansão e suas respectivas amostras de Expansão 1 (E1), Expansão 2 (E2) e Expansão 3 (E3). Na próxima fase, retornou-se à velocidade de infusão inicial de salina isotônica (55 $\mu\text{L}/\text{min}$), procedendo-se à coleta de mais três amostras de urina também com intervalo de 10 minutos cada. Tal fase foi denominada de Recuperação e suas respectivas amostras de Recuperação 1 (R1), Recuperação 2 (R2) e Recuperação 3 (R3). Registros contínuos de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) foram realizados durante todo o período experimental, armazenados em disco rígido do computador e analisados posteriormente.

Terminada essa fase do protocolo experimental, sob influência anestésica do éter foi retirado uma amostra de cerca de 2 mL de sangue direto do coração dos animais. O sangue foi centrifugado (Centrifuge 5804 R) por 10 minutos, a uma temperatura de 20° C e com uma velocidade de 3500 rpm. O soro obtido foi armazenado congelado para posterior determinação da concentração plasmática de ácido úrico e creatinina. A seguir os animais foram

sacrificados e ambos os rins removidos, pesados, para normalização do volume urinário e excreção de sódio em relação à massa renal, seccionados transversalmente em fragmentos com espessura de 2 a 3 mm e fixados em formol a 4% para posterior análise histológica.

3.5 Técnicas Analíticas

Fluxo Urinário (FU). As amostras de urina foram coletadas a cada 10 minutos em tubos plásticos previamente pesados e o volume urinário foi determinado gravimetricamente. Os valores foram normalizados pelo peso renal (grama de peso renal). O volume urinário ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$) = (volume urinário) / (tempo de coleta [10min] / (g).

Excreção Urinária de Sódio (ExUNa). A concentração de sódio das amostras de urina foram medidas utilizando-se de um fotômetro de chama (Micronal, modelo B 262, São Paulo, Brasil) e a excreção urinária de sódio calculada. A excreção de sódio ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$) = (volume urinário) x (concentração urinária de sódio).

Concentração Plasmática de Ácido Úrico. A concentração plasmática de ácido úrico (AU) (mg/dL) foi obtida pelo método Enzimático Colorimétrico (UOD-PAP). A concentração plasmática foi determinada através da leitura da absorbância das amostras (espectrofotômetro Bioespectro SP220).

Concentração Plasmática de Creatinina. A concentração plasmática de creatinina (mg/dL) foi obtida pelo método modificado de Jaffé. A concentração plasmática foi determinada através da leitura da absorbância das amostras (espectrofotômetro Bioespectro SP220).

3.6 Análise Histológica

Um dos fragmentos medianos que estava fixado em formol a 4% foi incluído em parafina, com utilização de aparelho automático de inclusão. Cortes de 6 micrômetros de espessura foram corados pela Hematoxilina e Eosina e pelo Tricrômico de Mallory. O tamanho dos glomérulos foi avaliado pela medida dos maiores e menores diâmetros de cada glomérulo, as quais foram feitas sobre fotomicrografias tomadas em microscópio Zeiss, utilizando objetiva de 20X.

4. ANÁLISE DE DADOS

Os resultados são apresentados como média \pm erro padrão da média (EPM). Os dados foram analisados utilizando-se da análise de variância para medidas repetidas seguida do teste de Tukey para comparação entre médias. Os valores de $p < 0,01$ e $p < 0,05$ foram considerados como significativos. Para análise dos dados foi utilizado o programa estatístico GB-STAT (Dynamic Microsystem Inc., Silver Spring, MD, USA) 6.5 for Windows e para a plotagem dos gráficos foi utilizado o GraphPad Prism 2.0 (San Diego, CA, USA)

5. RESULTADOS

5.1 Peso Corporal

Ao final do tratamento de 3 e 7 semanas os animais apresentaram visivelmente bom estado clínico sem variação significativa de peso corporal entre os grupos.

Tabela 1. Valores de peso corporal (g) após tratamento por 3 e 7 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM em ratos dos grupos CTRL, CTRL DESN, AOX e AOX DESN.

	3 semanas	7 semanas
CTRL	280 \pm 19,7	350 \pm 11,6
CTRL DESN	288 \pm 19,9	345 \pm 9,5
AOX	282 \pm 8.8	336 \pm 8,6
AOX DESN	285 \pm 10.5	341 \pm 7,7

5.2 Concentração Plasmática de Ácido Úrico

Os valores da concentração plasmática de ácido úrico após 3 semanas de tratamento com OA 2% são mostrados na figura 1. Os dados mostram que os ratos tratados com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN) apresentam aumento ($p < 0.05$) na concentração plasmática de ácido úrico (mg/dL) quando comparados com os ratos controle (AOX $1 \pm 0,06$ mg/dL; AOX DESN $1 \pm 0,1$ mg/dL; CTRL $0,8 \pm 0,08$; CTRL DESN $0,7 \pm 0,08$; $p < 0.05$).

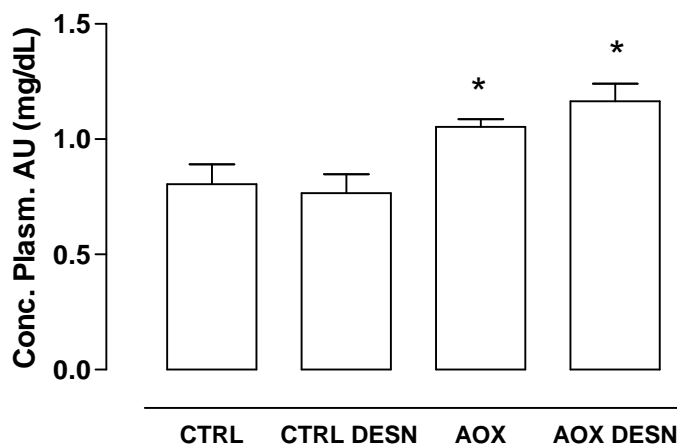


Figura 1. Concentração plasmática de AU após inibição da uricase com OA 2% por 3 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM dos grupos controle (CTRL) e desnervados (CTRL DESN) e dos grupos tratados com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN). * $p < 0.05$ vs ratos controle.

5.3 Pressão Arterial Média Basal e Frequência Cardíaca Basal

Os valores basais de pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) obtidos após 3 semanas de tratamento são mostrados na figura 2 e os obtidos após 7 semanas de tratamento são mostrados na figura 3. Em relação aos valores basais de PAM, nos grupos estudados após 3 semanas de tratamento, o grupo que recebeu OA 2% e foi desnervado (AOX DESN) mostrou menores valores basais de PAM quando comparado aos grupos controle (CTRL) e desnervado (CTRL DESN) e ao grupo tratado com OA 2% (AOX) (AOX DESN 80 ± 4 CTRL 102 ± 2 mmHg CTRL DESN 103 ± 3 mmHg AOX 100 ± 2 mmHg; $p < 0.01$). As diferenças nos valores basais de FC basal não foram significativas nos grupos estudados. Para 7 semanas de tratamento com OA 2%, foi observado que os valores basais de PAM são maiores nos animais que receberam OA 2% (AOX) quando comparado ao grupo controle que não recebeu OA 2% (CTRL) (120 ± 3 vs 102 ± 2 mmHg; $p < 0.01$). Esses valores basais de PAM diminuem quando os animais que receberam OA 2% são desnervados (AOX DESN), ou seja, os valores basais de PAM são menores no grupo AOX DESN quando comparados ao grupo AOX ($101 \pm 0,7$ vs 120 ± 3 mmHg; $p < 0.01$). Diferenças nos valores de FC, assim como o tratamento de 3 semanas, também não foram significativas.

Tabela 2. Valores basais de PAM (mmHg) e FC (bpm) após tratamento por 3 e 7 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM em ratos dos grupos CTRL, CTRL DESN, AOX e AOX DESN. ** $p < 0.01$ vs ratos do grupo CTRL e ## $p < 0.01$ vs ratos do grupo AOX.

	3 semanas	7 semanas
	PAM e FC	PAM e FC
CTRL	102 \pm 2	102 \pm 2
	357 \pm 14	363 \pm 8
CTRLDESN	103 \pm 3	111 \pm 3
	376 \pm 17	392 \pm 9
AOX	100 \pm 2	120 \pm 3**
	379 \pm 15	347 \pm 14
AOX DESN	80 \pm 4** ##	101 \pm 0,7##
	327 \pm 13	356 \pm 6

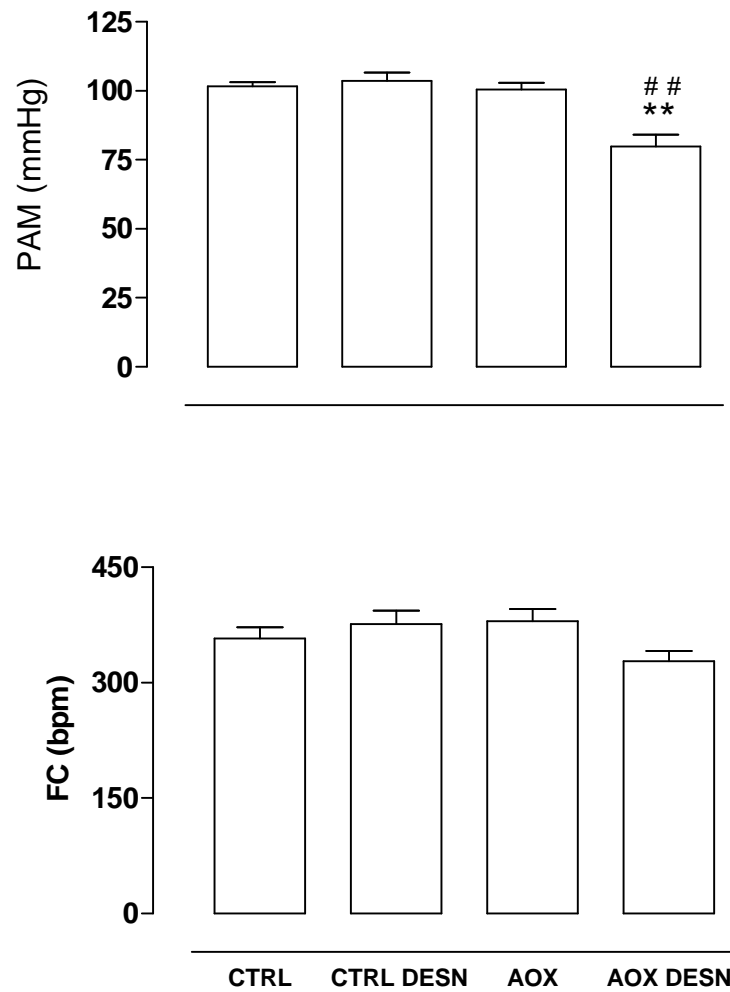


Figura 2. Valores basais de PAM e FC após 3 semanas de tratamento com OA 2%. Os valores representam as médias \pm EPM dos grupos controle (CTRL) e desnervados (CTRL DESN), e dos grupos tratados com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN). ** $p < 0.01$ vs ratos do grupo CTRL ## $p < 0.01$ vs ratos do grupo AOX.

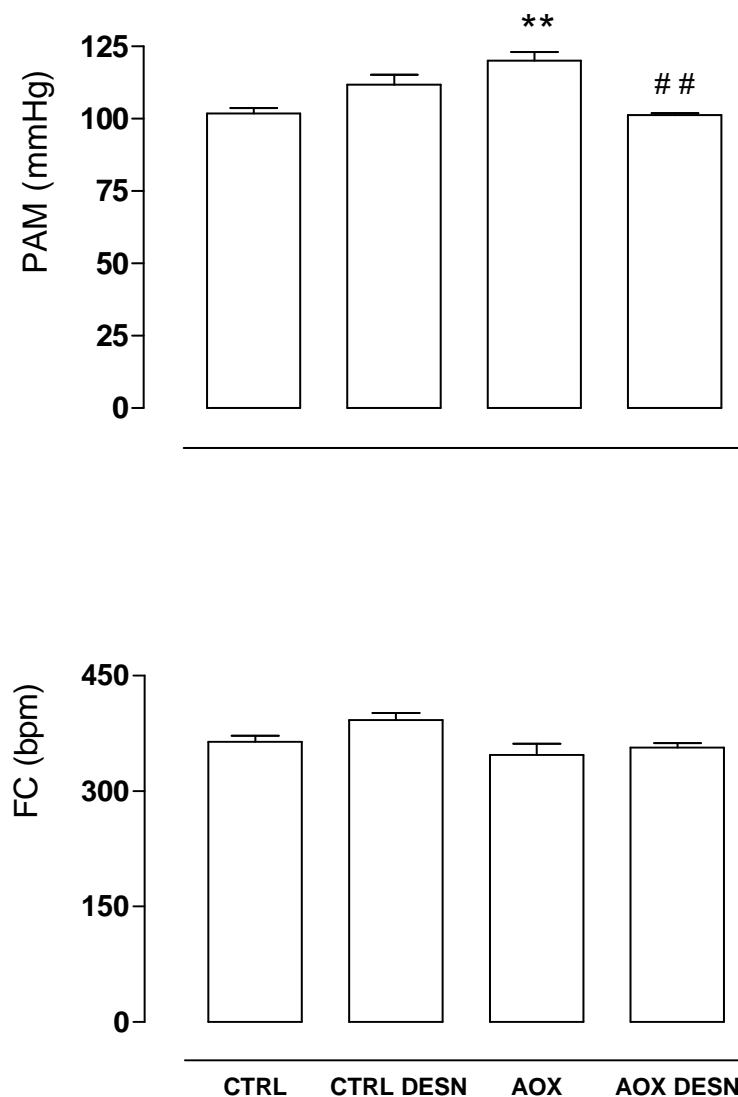


Figura 3. Valores basais de PAM e FC após 7 semanas de tratamento com OA 2%. Os valores representam as médias \pm EPM dos grupos controle (CTRL) e desnervados (CTRL DESN), e dos grupos tratados com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN). ** $p < 0.01$ vs ratos do grupo CTRL, ## $p < 0.01$ vs ratos do grupo AOX.

5.4 Excreção Diária de Sódio

Os valores acumulados por 3 semanas da concentração de sódio na urina excretado diariamente são mostrados na figura 4. Os dados mostram que os ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN) excretam menor quantidade de sódio na urina quando comparados com os ratos do grupo controle que não receberam OA 2% (CTRL) (CTRL $44 \pm 5,0$ mEq; AOX $15 \pm 2,6$ mEq; AOX DESN $27 \pm 4,8$ mEq $p < 0.01$ e $p < 0.05$). Além disso, observa-se que os animais do grupo AOX DESN mantêm valores de excreção de sódio semelhantes ao grupo que não recebeu OA 2% e foram desnervados (CTRL DESN) (CTRL DESN $31 \pm 3,8$ mEq; AOX DESN $27 \pm 4,8$ mEq).

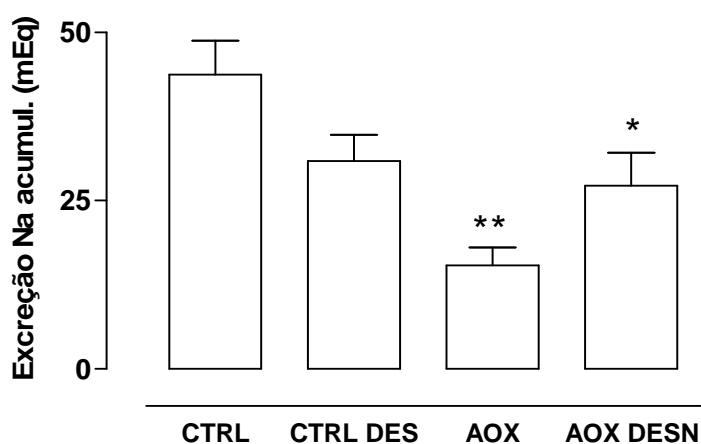


Figura 4. Valores acumulados da concentração de sódio coletado diariamente na urina por 3 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM dos grupos controle (CTRL) e desnervados (CTRL DESN), e dos grupos tratados com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN). ** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$ vs ratos do grupo CTRL.

5.5 Respostas Cardiovasculares e Renais à Sobrecarga de Volume

A Figura 5 ilustra as respostas diurética e natriurética à infusão de solução salina isotônica em ratos do grupo controle que não recebeu OA 2% (CTRL) e em ratos do grupo que recebeu OA 2% na ração (AOX) durante 3 semanas e a Figura 6 também mostra os mesmos parâmetros, só que estudados nos grupos tratados com OA 2% durante 7 semanas. Em relação aos resultados observados nos grupos estudados após 3 semanas de tratamento, os valores de fluxo urinário (FU) e excreção de sódio (ExNa) na fase controle (C1, C2) são similares nos dois grupos (Tabela 3). A expansão hidrossalina (E1, E2, E3) promoveu aumento progressivo ($p < 0.01$) de tais parâmetros em ambos os grupos, entretanto não houve diferenças significativas para esses parâmetros entre os grupos (Tabela 3). Durante a fase de recuperação (R1, R2, R3) também não houve diferença significativa na diurese e natriurese entre os grupos, havendo redução progressiva ($p < 0.01$) das mesmas, com tendência para retorno aos valores basais (Tabela 3). Nos grupos tratados com OA 2% durante 7 semanas os valores de fluxo urinário e excreção de sódio na fase controle (C1, C2) são similares nos dois grupos (Tabela 4). A expansão hidrossalina (E1, E2, E3) promoveu aumento progressivo ($p < 0.01$) de tais parâmetros em ambos os grupos, observando-se que o fluxo urinário mostrou-se maior ($p < 0.01$) no grupo tratado com ácido oxônico (Tabela 4). Na fase final da expansão a excreção de sódio foi também maior ($p < 0.01$ e $p < 0.05$) se comparado com o grupo controle (Tabela 4). Durante a fase de recuperação (R1, R2, R3) não houve diferença significativa na diurese e natriurese entre os grupos, havendo redução progressiva ($p < 0.01$ e $p < 0.05$) das mesmas, com tendência para retorno aos valores basais (Tabela 4).

Em relação aos parâmetros hemodinâmicos, não ocorreram alterações significativas de PAM e FC nas diferentes fases estudadas dos grupos tratados com OA 2% por 3 semanas (Tabela 3 e Figura 7). No entanto, a PAM mostrou-se maior ($p < 0.01$ e $p < 0.05$) nas diferentes fases estudadas (Tabela 4 e Figura 8) nos grupos tratados com OA 2% por 7 semanas quando comparados aos ratos do grupo controle.

Tabela 3. Valores de fluxo urinário (FU), excreção de sódio (ExNa), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos do grupo controle (CTRL) e ratos do grupo tratado com OA 2% durante 3 semanas (AOX) obtidos na fase controle (C2), expansão (E3) e recuperação (R3).

CTRL - 3 semanas (n=6)			
	C2	E3	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	13,5 \pm 6,3	114,6 \pm 35,0**	36,7 \pm 6,6
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	1,8 \pm 0,8	15,7 \pm 5,2**	6,0 \pm 1,2
PAM (mmHg)	107 \pm 2,6	105 \pm 2,1	109 \pm 2,5
FC (bpm)	382 \pm 20,5	394 \pm 21,1	399 \pm 18,4
AOX - 3 semanas (n=6)			
	C2	E3	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	22,3 \pm 10,2	155,9 \pm 43,9**	71,7 \pm 20,6**
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	2,1 \pm 0,9	16,0 \pm 4,0**	9,6 \pm 1,3**
PAM (mmHg)	106 \pm 3,8	105 \pm 6,4	110 \pm 5,9
FC (bpm)	395 \pm 22,5	402 \pm 19,7	381 \pm 23,7

Os dados são apresentados como média \pm EPM. ** $p < 0.01$ em relação à fase controle.

Tabela 4. Valores de fluxo urinário (FU), excreção de sódio (ExNa), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos do grupo controle (CTRL) e ratos do grupo tratado com OA 2% durante 7 semanas (AOX) obtidos na fase controle (C2), expansão (E3) e recuperação (R3).

CTRL - 7 semanas (n=6)			
	C2	E3	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	8,3 \pm 1,4	62,4 \pm 27,1**	18,3 \pm 4,9
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	2,2 \pm 0,8	10,4 \pm 1,8**	4,7 \pm 1,7
PAM (mmHg)	97 \pm 8,5	99 \pm 7,3	95 \pm 8,1
FC (bpm)	376 \pm 21,5	386 \pm 13,8	389 \pm 24,1
AOX - 7 semanas (n=6)			
	C2	E3	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	32,8 \pm 11,2	141,4 \pm 18,2 ^{**##}	56,4 \pm 4,7
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	3,3 \pm 1,1	16,5 \pm 0,8 ^{**#}	9,1 \pm 1,1
PAM (mmHg)	128 \pm 3,5 [#]	140 \pm 4,7 ^{##}	133 \pm 7,5 ^{##}
FC (bpm)	346 \pm 16,7	385 \pm 27,5	389 \pm 25,3

Os dados são apresentados como média \pm EPM. ** $p < 0.01$ em relação à fase controle; ## $p < 0.01$ e # $p < 0.05$ em relação aos respectivos ratos do grupo CTRL.

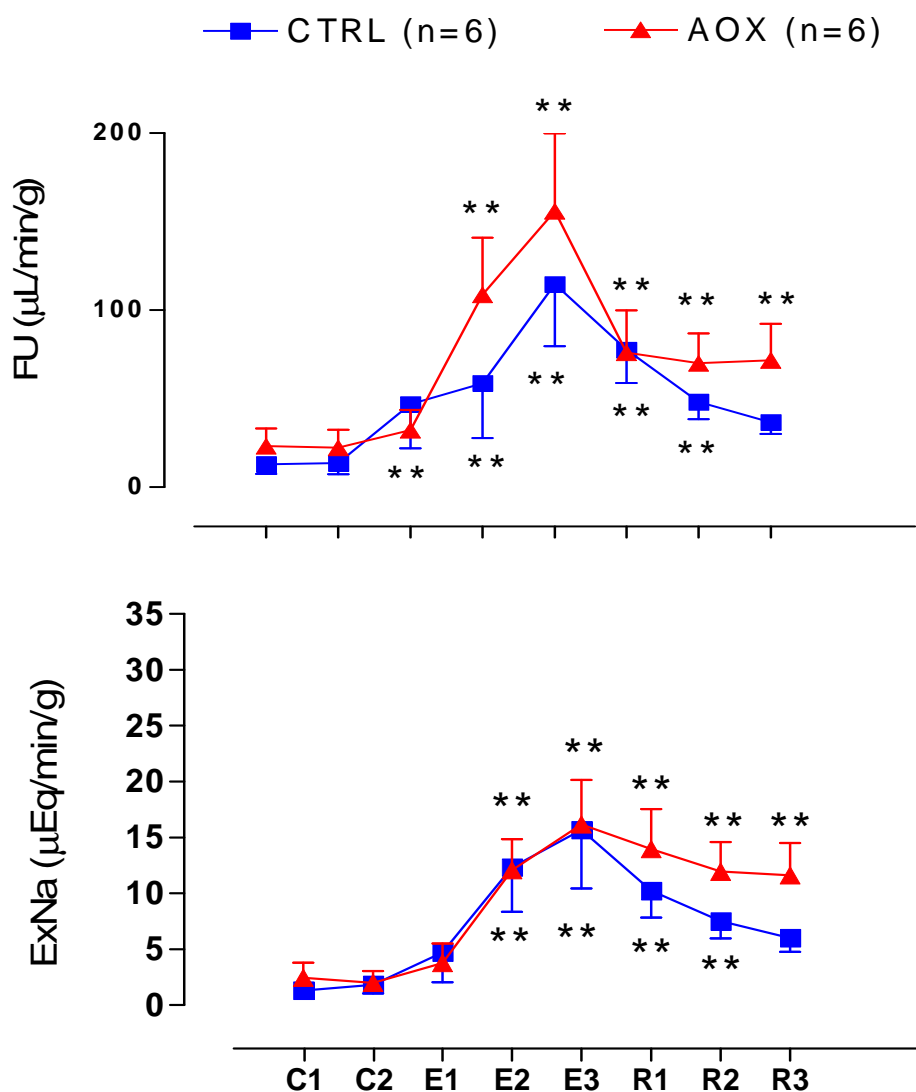


Figura 5. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) em ratos do grupo controle (CTRL) e ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) durante 3 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM, ilustrando o fluxo urinário (FU) e a excreção de sódio (ExNa) corrigidos por grama de rim nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 $\mu\text{l}/\text{min}$. ** $p < 0.01$ vs fase controle.

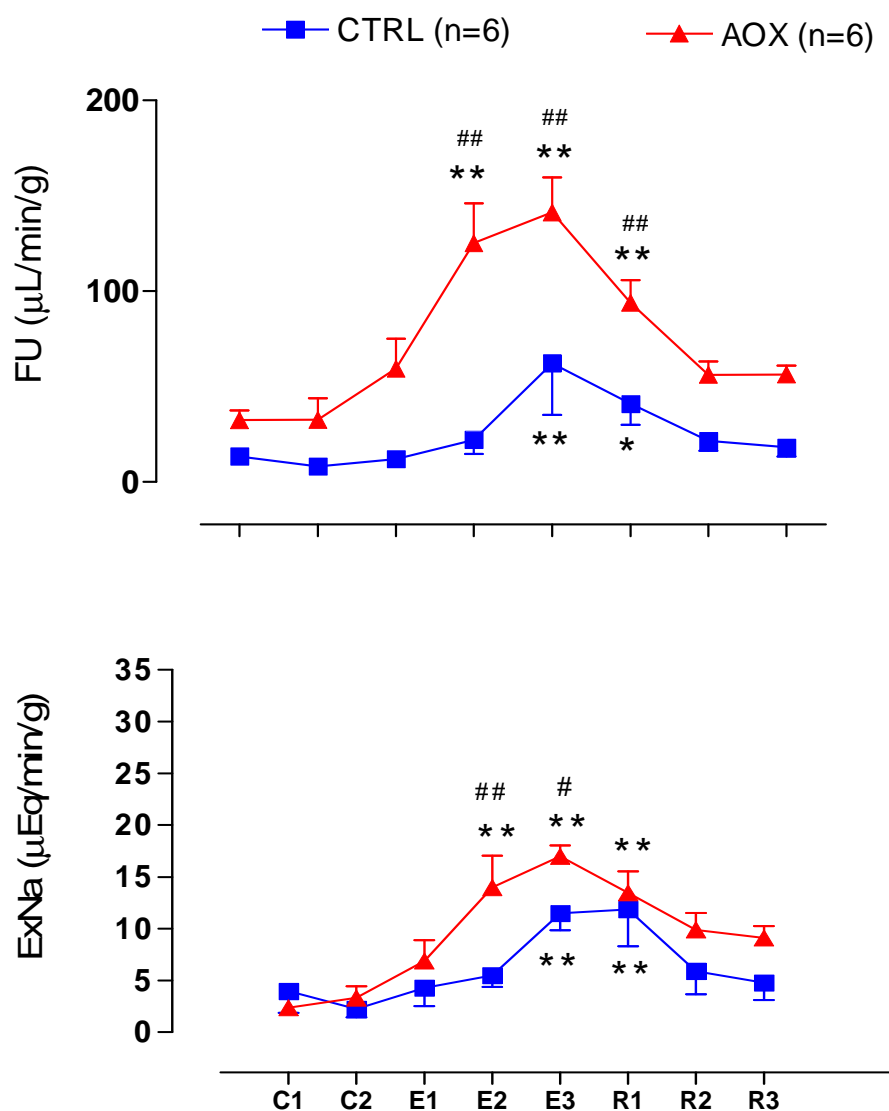


Figura 6. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) em ratos do grupo controle (CTRL) e ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) durante 7 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM, ilustrando o fluxo urinário (FU) e a excreção de sódio (ExNa) corrigidos por grama de rim nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 $\mu\text{L}/\text{min}$. ** $p < 0.01$ vs fase controle; ## $p < 0.01$ e # $p < 0.05$ vs grupo CTRL.

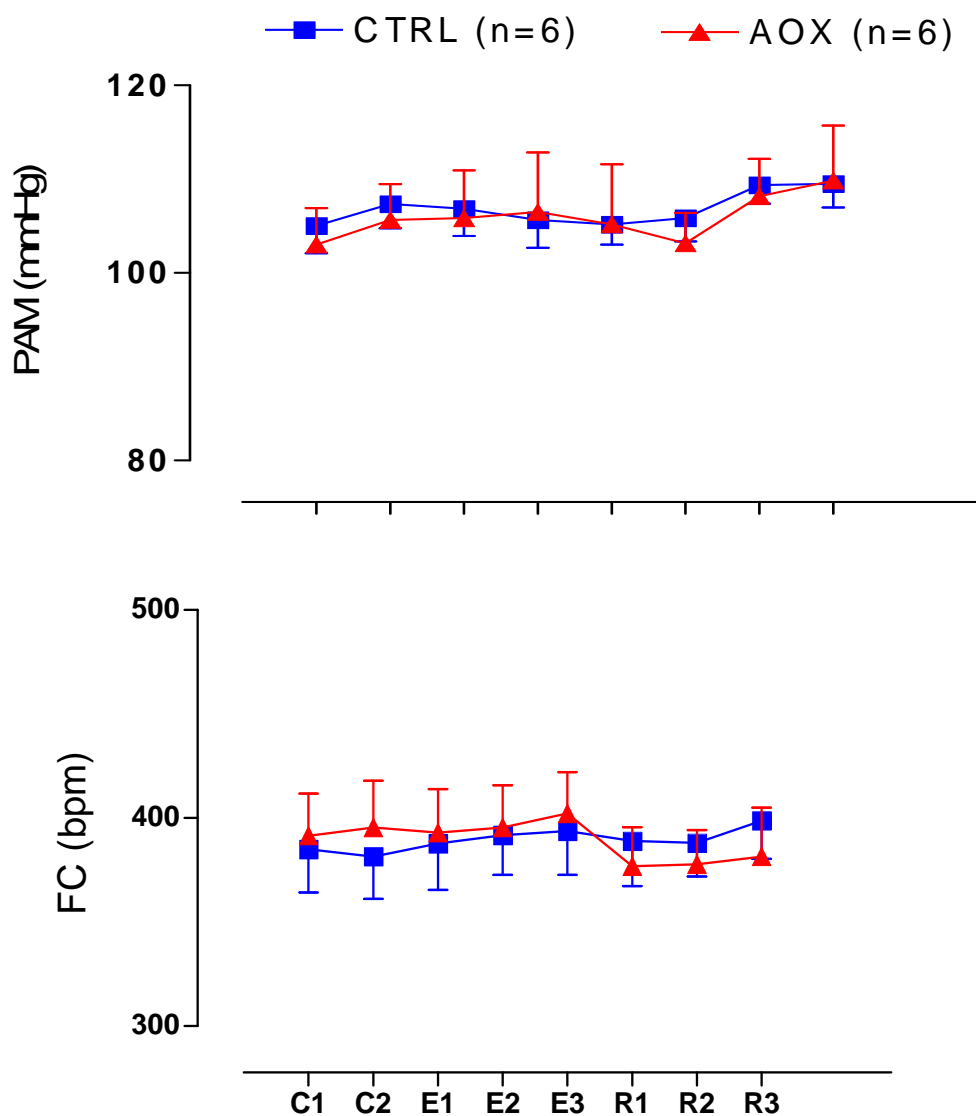


Figura 7. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) na pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos do grupo controle (CTRL) e ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) durante 3 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 μ l/min..

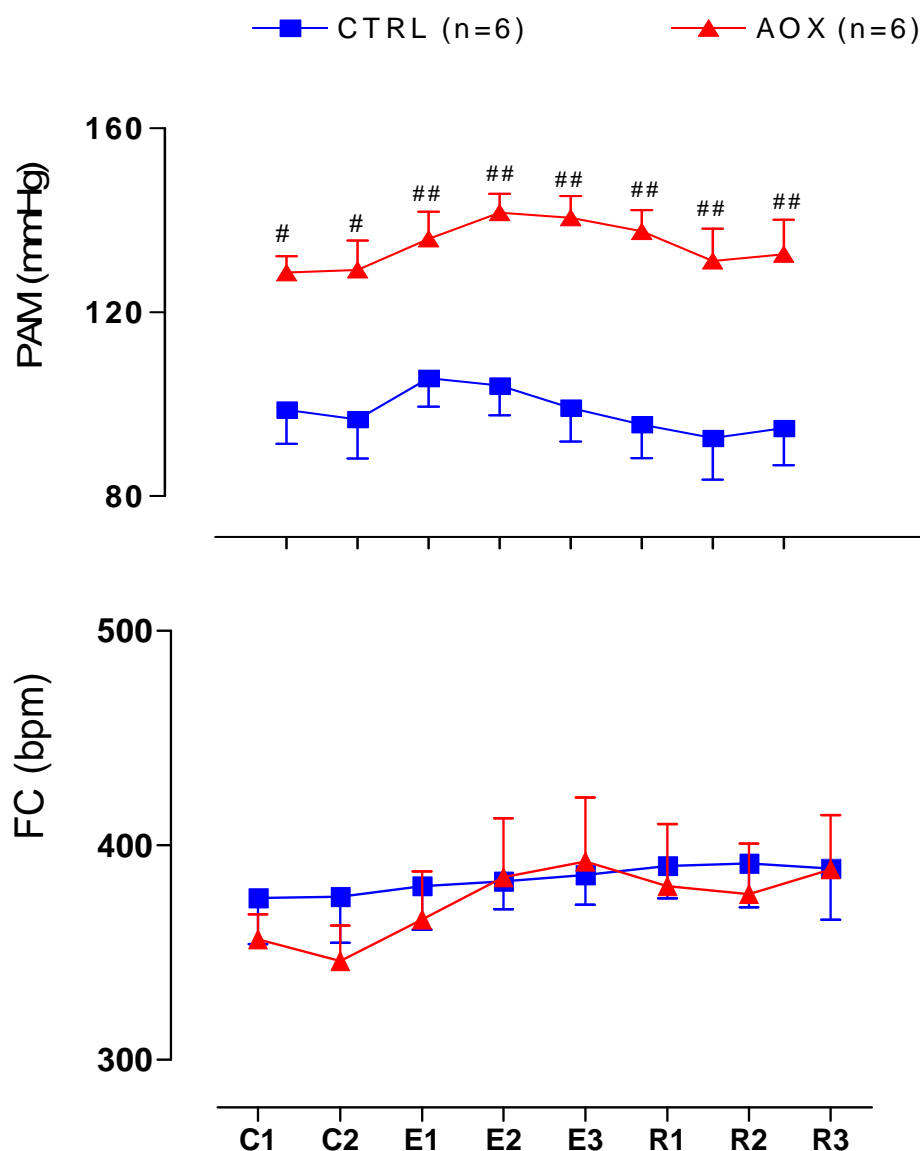


Figura 8. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) na pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos do grupo controle (CTRL) e ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) durante 7 semanas. Os valores representam as médias \pm EPM nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 μ l/min..[#] p < 0.05; ^{##} p < 0.01 vs grupo CTRL.

A Figura 9 ilustra as respostas diurética e natriurética à infusão de solução salina isotônica em ratos do grupo que recebeu OA 2% durante 3 semanas (AOX) e em ratos do grupo que além de receber o OA 2% também foram desnervados (AOX DESN). A Figura 10 também mostra essas respostas nos mesmos parâmetros estudados, porém para o tratamento com OA 2% durante 7 semanas. Após o período de estabilização de duas horas, observa-se que os valores de fluxo urinário e excreção de sódio na fase controle (C1, C2) nos ratos tratados com OA 2% durante 3 semanas são similares aos ratos que além de OA 2%, durante o mesmo período, também foram desnervados (Tabela 5). A expansão hidrossalina (E1, E2, E3) promoveu aumento progressivo ($p < 0.01$) de tais parâmetros em ambos os grupos, porém não houve diferenças significativas para esses parâmetros entre eles (Tabela 5). Durante a fase de recuperação (R1, R2, R3) também não houve diferença significativa na diurese e natriurese entre os grupos, havendo redução progressiva ($p < 0.01$) das mesmas, com tendência para retorno aos valores basais (fase controle) (Tabela 5). Nos grupos tratados com OA 2% durante 7 semanas, observa-se que os valores de fluxo urinário e excreção de sódio na fase controle (C1, C2) são similares nos dois grupos (Tabela 6). A expansão hidrossalina (E1, E2, E3) promoveu aumento progressivo ($p < 0.01$) de tais parâmetros no grupo tratado com OA 2% (Tabela 6), os quais se mostraram maiores ($p < 0.01$) que nos ratos além de receber OA 2% também foram desnervados. Durante a fase de recuperação (R1, R2, R3), não houve diferença significativa na diurese e natriurese entre os grupos, havendo redução progressiva das mesmas, com tendência para retorno aos valores basais (fase controle) (Tabela 6).

Em relação aos parâmetros hemodinâmicos, não ocorreram alterações significativas de PAM e FC nas diferentes fases estudadas dos grupos tratados com OA 2% por 3 semanas (Tabela 5 e Figura 11). No entanto, a PAM mostrou-se significativamente maior nas diferentes fases estudadas (Tabela 6 e figura 12) nos grupos tratados por 7 semanas com OA 2% quando comparados aos ratos que além de serem tratados com OA 2% também foram desnervados.

Tabela 5. Valores de fluxo urinário (FU), excreção de sódio (ExNa), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos tratados por 3 semanas com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN) obtidos na fase controle (C2), expansão (E3) e recuperação (R3).

AOX - 3 semanas (n=6)			
	C2	E3	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	22,3 \pm 10,2	155,9 \pm 43,9**	71,7 \pm 20,6**
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	2,1 \pm 0,9	16,0 \pm 4,0**	9,6 \pm 1,3**
PAM (mmHg)	106 \pm 3,8	105 \pm 6,4	110 \pm 5,9
FC (bpm)	395 \pm 22,5	402 \pm 19,7	381 \pm 23,7

AOX DESN - 3 semanas (n=6)			
	C2	E3	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	28,4 \pm 6,2	141,2 \pm 9,7**	63,6 \pm 9,9**
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	4,1 \pm 1,5	25,5 \pm 5,7**	14,0 \pm 3,8**
PAM (mmHg)	104 \pm 6,1	102 \pm 6,4	99 \pm 6,2
FC (bpm)	413 \pm 19,5	412 \pm 23,1	434 \pm 20,3

Os dados são fornecidos como média \pm EPM. ** $p < 0.01$ em relação à fase controle.

Tabela 6. Valores de fluxo urinário (FU), excreção de sódio (ExNa), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos tratados por 7 semanas com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN) obtidos na fase controle (C2), expansão (E2) e recuperação (R3).

AOX - 7 semanas (n=6)			
	C2	E2	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	32,8 \pm 11,2	125,3 \pm 0,8**	56,4 \pm 4,7
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	3,3 \pm 1,1	14,0 \pm 3,1**	9,1 \pm 1,1
PAM (mmHg)	129 \pm 6,4	141 \pm 4,7	133 \pm 7,5
FC (bpm)	346 \pm 16,7	392 \pm 29,8	389 \pm 25,3
AOX DESN – 7 semanas (n=6)			
	C2	E2	R3
FU ($\mu\text{L}/\text{min}/\text{g}$)	16,8 \pm 2,5	27,0 \pm 2,6 ^{##}	28,5 \pm 2,2
ExNa ($\mu\text{Eq}/\text{min}/\text{g}$)	0,6 \pm 0,1	2,6 \pm 0,2 ^{##}	4,2 \pm 0,3
PAM (mmHg)	102 \pm 3,6	110 \pm 3,1 [#]	97 \pm 2,8 ^{##}
FC (bpm)	385 \pm 5,2	404 \pm 3,3	400 \pm 4,6

Os dados são fornecidos como média \pm EPM. ** $p < 0.01$ em relação à fase controle; [#] $p < 0.05$ e ^{##} $p < 0.01$ em relação aos ratos do grupo AOX.

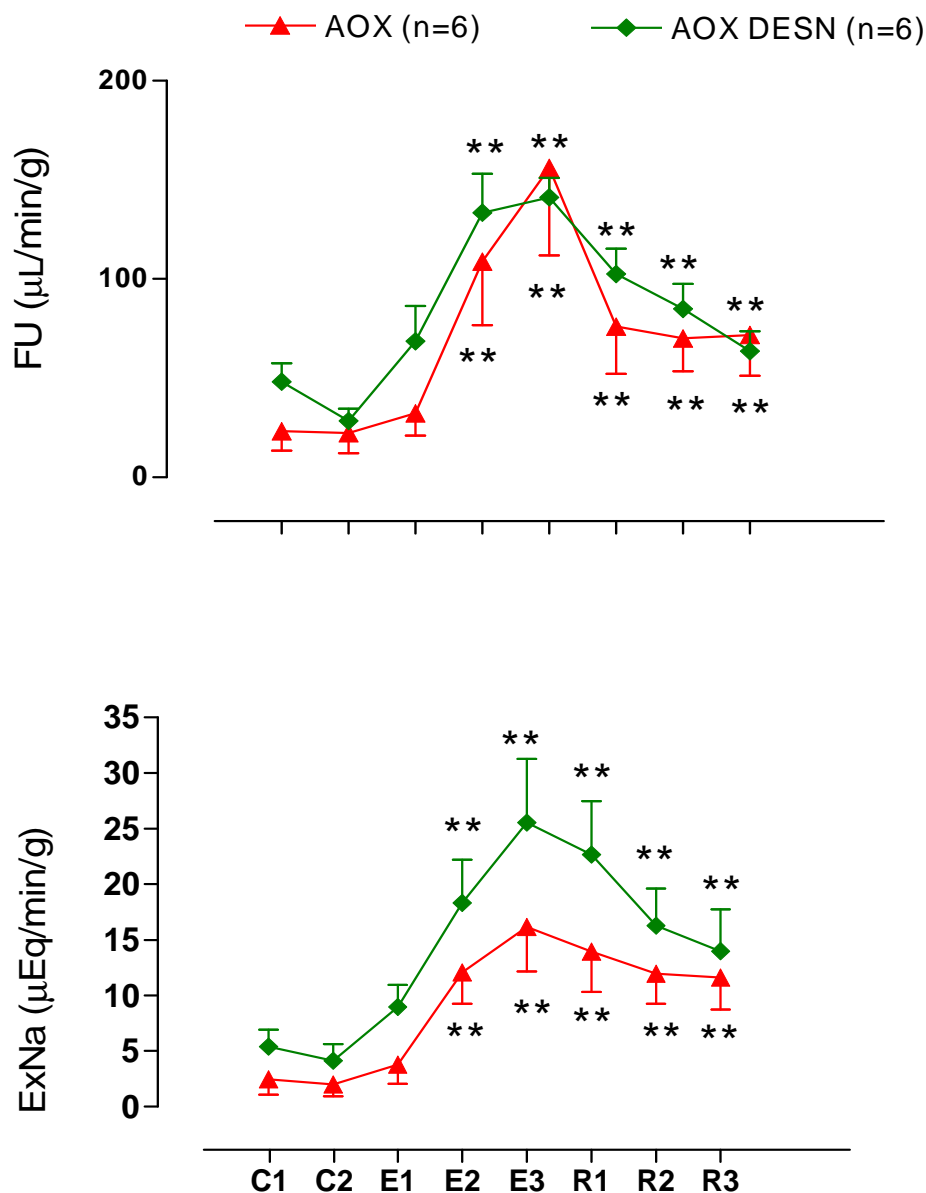


Figura 9. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) em ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) por 3 semanas e desnervados (AOX DESN). Os valores representam as médias \pm EPM, ilustrando o fluxo urinário (FU) e a excreção de sódio (ExNa) corrigidos por grama de rim nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 $\mu\text{L}/\text{min}$. ** $p < 0.01$ vs fase controle.

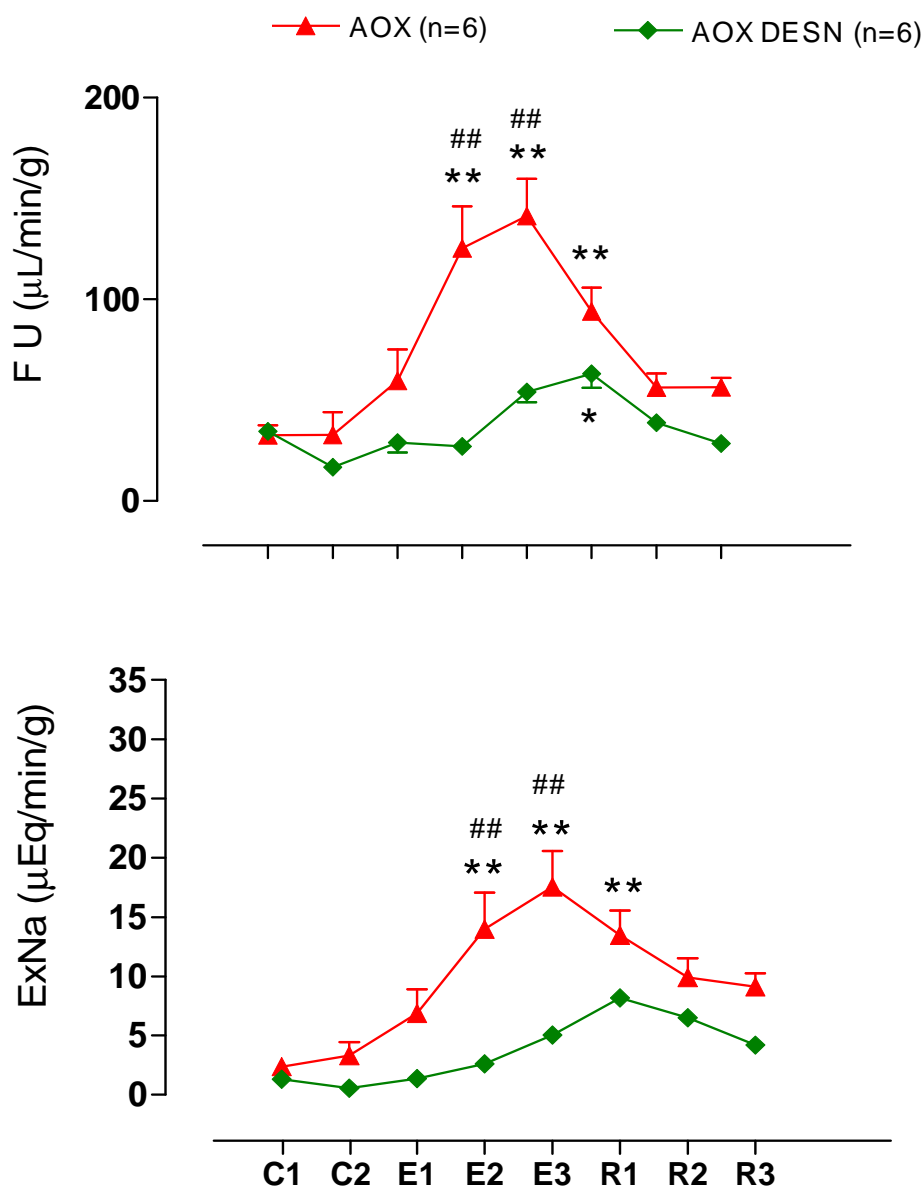


Figura 10. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) em ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) por 7 semanas e desnervados (AOX DESN). Os valores representam as médias \pm EPM, ilustrando o fluxo urinário (FU) e a excreção de sódio (ExNa) corrigidos por grama de rim nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de $55 \mu\text{L}/\text{min}$. ** $p < 0.01$ e * $p < 0.05$ vs fase controle; ## $p < 0.01$ vs grupo AOX DESN.

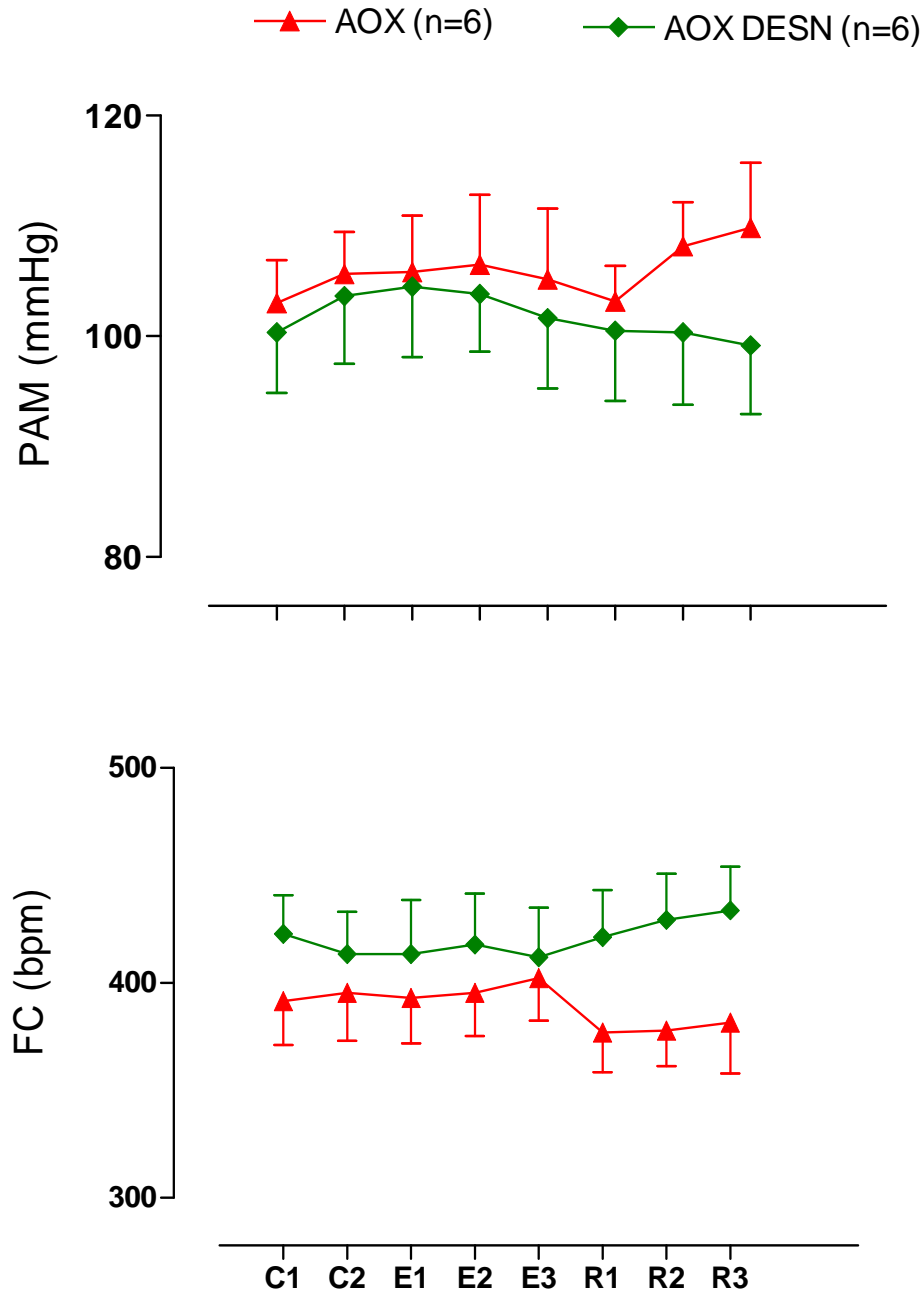


Figura 11. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) na pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) por 3 semanas e desnervados (AOX DESN). Os valores representam as médias \pm EPM nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 μ l/min..

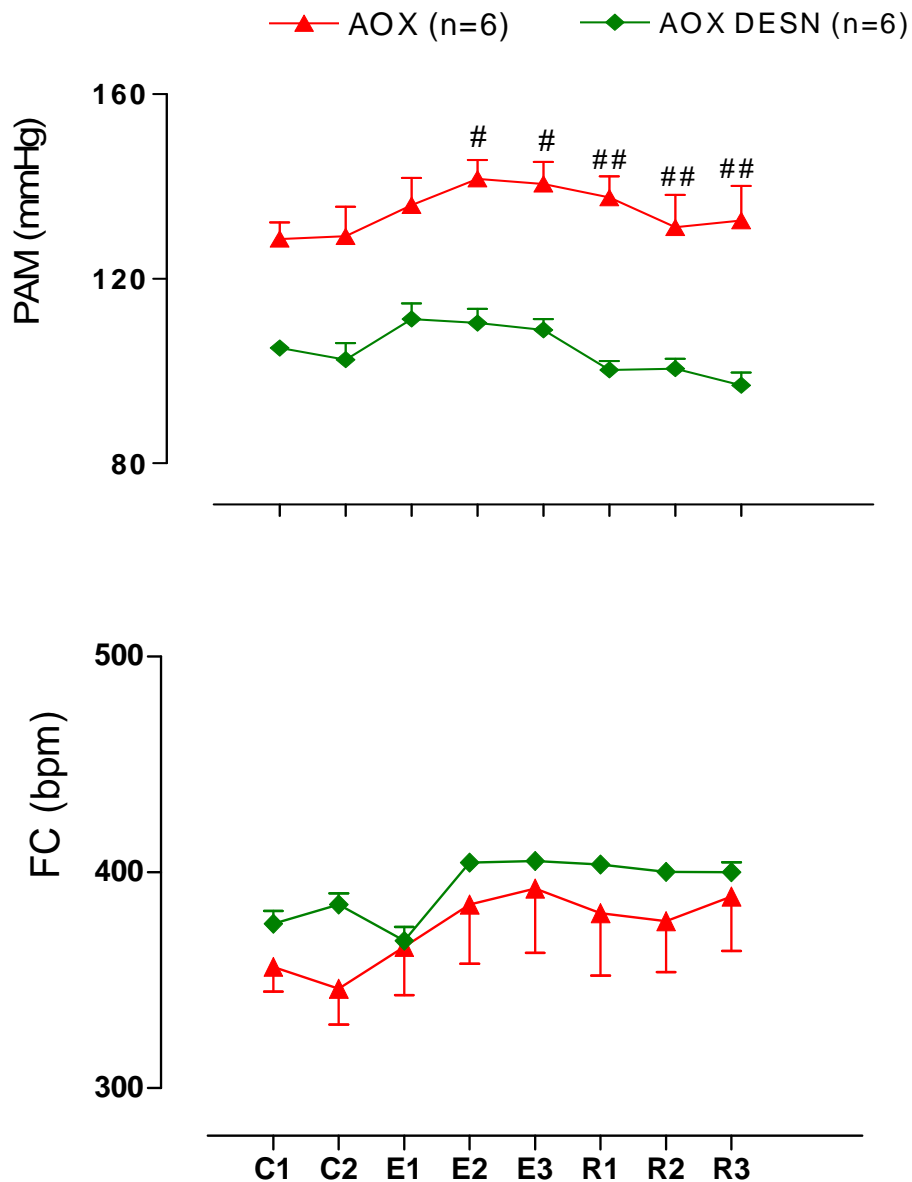


Figura 12. Efeito da expansão de volume (infusão de salina isotônica no volume equivalente a 5 % do peso corporal) na pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC) em ratos do grupo tratado com OA 2% (AOX) por 7 semanas e desnervados (AOX DESN). Os valores representam as médias \pm EPM nas fases controle (C1, C2), expansão (E1, E2, E3) e recuperação (R1, R2, R3). Nas fases controle e recuperação, os animais receberam infusão contínua de salina isotônica ao fluxo de 55 μ l/min. # $p < 0.05$; ## $p < 0.01$ vs grupo AOX DESN.

Em princípio, podemos notar que estes resultados demonstram que os animais do grupo tratado com OA 2% (AOX) durante 7 semanas apresentaram um ganho nas respostas diurética e natriurética induzidas pela expansão volêmica quando comparados aos ratos do grupo controle que não receberam OA 2% (CTRL) e sobretudo quando comparados aos ratos que além de receber OA 2% também foram desnervados (AOX DESN).

5.6 Concentração Plasmática de Creatinina

Os valores da concentração plasmática de creatinina são mostrados na figura 13. Os dados mostram que os ratos tratados com OA 2% durante 7 semanas (AOX) apresentam aumento ($p < 0.05$) na concentração plasmática de creatinina (mg/dL) quando comparados com os ratos controles (AOX $0,82 \pm 0,05$; CTRL $0,66 \pm 0,04$; CTRL DESN $0,64 \pm 0,05$ mg/dL; $p < 0.05$). A desnervação simpática renal não reduziu significativamente a elevação plasmática de creatinina induzida pela hiperuricemia de 7 semanas, muito embora este valor permaneça mais alto que aquele observado nos animais controle. Entretanto, essa diferença não foi significativa quando comparada com os valores da concentração plasmática de creatinina dos ratos controles e dos ratos tratados com OA 2% por 7 semanas (AOX DESN $0,80 \pm 0,04$; CTRL $0,66 \pm 0,04$; CTRL DESN $0,64 \pm 0,05$; AOX $0,82 \pm 0,05$ mg/dL).

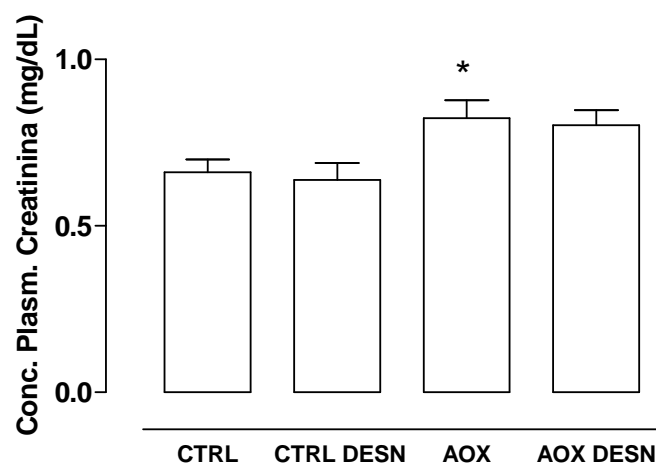


Figura 13. Concentração plasmática de creatinina após inibição da uricase por 7 semanas com OA 2%. Os valores representam as médias \pm EPM dos grupos controle (CTRL) e desnervados (CTRL DESN) e dos grupos tratados com OA 2% (AOX) e desnervados (AOX DESN). * $p < 0.05$ vs ratos controle.

5.7 Histologia Renal

A análise histológica dos cortes dos rins dos animais tratados com OA 2% durante 7 semanas (AOX) e dos que além de terem sido tratados também foram desnervados (AOX DESN) mostrou uma aparente hipertrofia das arteríolas aferentes (figura 15) e focos de aumento de matriz extracelular intertubular com ausência de exsudato inflamatório (figura 14). Em relação ao tamanho dos glomérulos, nos ratos dos grupos AOX e AOX DESN os glomérulos apresentaram-se maiores do que nos ratos do grupo CTRL (CTRL $89,5\pm 1,3$; AOX $101\pm 0,9$; AOX DESN $102\pm 1,5$ micrômetros; $p < 0,01$). Além disso, não foram observadas alterações quanto à celularidade ou depósitos anormais nos glomérulos (figura 15).

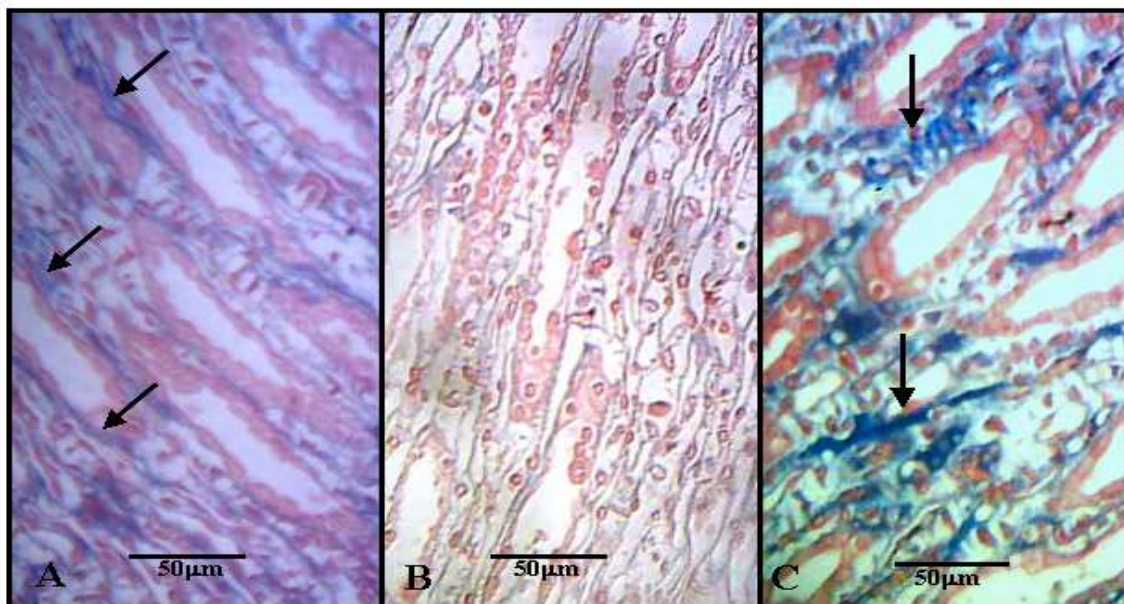


Figura 14. Campo microscópico da medular de rato do grupo controle que não recebeu OA 2% (CTRL) (B) de rato tratado com OA 2% (AOX) (A) e de rato tratado com AO 2% e desnervado (AOX DESN) (C). As setas indicam áreas de fibrose na medular (coloração: tricrômico de Mallory).

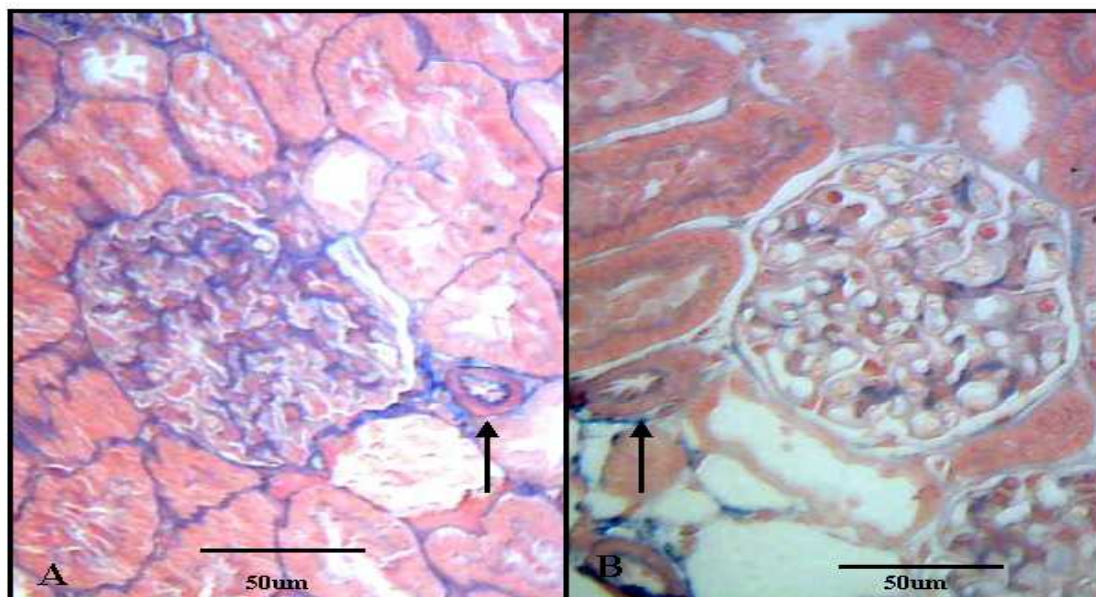


Figura 15. Campo microscópico da cortical de rato controle que não recebeu OA 2% (CTRL) (A) e de rato tratado com OA 2% (AOX) (B). A seta indica arteríola aferente, com parede mais espessada no animal do grupo AOX. A diferença de tamanho dos glomérulos, embora demonstrada pela tomada da medida, não foi percebida na fotomicrografia (coloração: tricrômico de Mallory).

6. DISCUSSÃO

Estudos anteriores ao nosso demonstraram que ratos com hiperuricemia média desenvolvem hipertensão arterial acompanhada de doença renal (Mazzali e cols., 2001). Em nossos resultados também foi encontrado hipertensão arterial em ratos, mas somente após 7 semanas de hiperuricemia. A inibição da uricase com OA 2% foi capaz de produzir hiperuricemia média e conseqüente aumento na pressão arterial. Esses resultados nos levam a concordar com as conclusões prévias de diversas pesquisas de que o ácido úrico é um marcador independente que exerce efeito causal na hipertensão arterial (Feig e cols., 2006, Mazzali e cols., 2001, Jossa e cols., 1994, Verdecchia e cols., 2000).

Quando promovemos a prévia desnervação simpática renal bilateral foi observado diminuição da pressão arterial tanto na terceira semana de hiperuricemia, quando os animais ainda não apresentavam hipertensão arterial, como na sétima semana de hiperuricemia, quando os animais já se encontravam hipertensos. Em relação à excreção diária de sódio foi observado retenção de sódio em ratos com hiperuricemia que foi abolida pela desnervação renal bilateral prévia destes animais. Esses resultados nos levam a acreditar que o nervo simpático renal tem um papel fundamental no mecanismo de retenção de sódio e da hipertensão arterial produzida pela hiperuricemia. A atividade simpática renal começa a se elevar já na terceira semana de hiperuricemia, mesmo que ainda não seja capaz de produzir hipertensão arterial, pois a desnervação renal bilateral prévia foi capaz de diminuir a pressão arterial e impedir a retenção de sódio. Os resultados se mostraram mais evidentes na sétima semana de hiperuricemia quando os animais apresentaram hipertensão arterial.

Existem evidências da literatura que admitem esses resultados, dentre elas podemos destacar a potente vasoconstrição renal associada com significativo decréscimo na taxa de filtração glomerular observada em ratos com hiperuricemia (Sanchez-Lozada e cols., 2008) que foi explicada pela redução endotelial de óxido nítrico e aumento na liberação de renina pelas células justa-

glomerulares (Mazzali e cols., 2001). A ativação do sistema renina angiotensina promove aumento nas concentrações de angiotensina II a qual regula a resistência vascular, estimula a secreção de aldosterona e a reabsorção de sódio diretamente nos túbulos renais e, além disso, aumenta a liberação do neurotransmissor simpático renal (Stegbauer e cols., 2005). A inervação simpática renal pode regular a excreção de sódio e água através de: variações na resistência vascular renal com conseqüente constrição da arteríola aferente e redução da taxa de filtração glomerular; reabsorção de sódio e água diretamente nos túbulos via receptores adrenérgicos - α_1 ; e estimulação da liberação de renina pelas células do sistema justaglomerular via receptores adrenérgicos - β_1 com aumento da formação de anigiotensina II e de aldosterona que aumentam ainda mais a reabsorção tubular de sódio (DiBona e Koepke, 1982; DiBona, 1989). No entanto, quando se retira a influência do sistema nervoso simpático renal através da desnervação renal bilateral, ocorre aumento do fluxo plasmático glomerular e redução da reabsorção tubular de sódio associado com aumento na excreção urinária de sódio e água (Bencsáth e cols., 1982).

Dessa forma, podemos inferir que tais mudanças atuando em conjunto, podem contribuir para a significativa retenção renal de sódio, sendo esse um fator crítico para o desenvolvimento da hipertensão arterial que acompanha a hiperuricemia (Watanabe e cols.,2002), uma vez que o balanço de sódio e água pelos rins influencia o controle da pressão arterial a longo prazo (Guyton e Coleman, 1980).

No sentido de se avaliar o papel dos nervos simpáticos renais nos mecanismos hipertensores da hiperuricemia foram estudadas as respostas cardiovasculares e renais induzidas pela sobrecarga de volume em ratos com hiperuricemia. Assim, foi observado que a excreção renal de sódio e água aumenta de forma similar com a sobrecarga de volume tanto nos animais controle quanto nos animais tratados com OA 2% por 3 semanas. Para os animais tratados com OA 2% por 7 semanas, essas respostas também aumentam, só que se mostram mais elevadas nos animais tratados com OA 2% quando comparadas aos animais que não receberam OA 2%. Em relação aos parâmetros hemodinâmicos, a PAM e a FC não foram alteradas nas diferentes fases da expansão volêmica em nenhum dos dois grupos tanto para

3 quanto para 7 semanas de hiperuricemia, no entanto os animais tratados com AO 2% por 7 semanas apresentaram maiores valores de PAM durante toda manobra quando comparados aos controle.

Sabemos que em condições fisiológicas, as expansões volêmicas agudas promovem aumento na excreção hidrossalina, a qual acredita-se ser de origem multifatorial, já que a dilatação das câmaras atriais e ventriculares que decorre da expansão volêmica culminam em supressão de mecanismos sistêmicos vasoconstritores e retentores de sódio e água, como o sistema nervoso simpático, o sistema renina-angiotensina e a vasopressina e na ativação de mecanismos vasodilatadores como os do peptídeo natriurético e das prostaglandinas (Brennan e cols., 1971; Goetz e cols., 1975; Thames e cols., 1982). Dessa forma, para o nosso estudo, sugerimos que a elevação no aumento da excreção hidrossalina dos animais hiperuricêmicos submetidos à expansão volêmica, foi devido a uma maior supressão dos mecanismos vasoconstritores e/ou maior ativação dos vasodilatadores ou ainda alteração na resposta renal frente a estes mecanismos que só se tornaram evidentes na sétima semana de hiperuricemia.

Dentre os mecanismos propostos, o sistema nervoso simpático renal foi objeto de nosso estudo. Acreditamos que o mesmo tem participação decisiva no aumento da excreção hidrossalina em resposta a sobrecarga de volume que acompanha a hiperuricemia, sugerindo, assim, que a retenção crônica de sódio neste modelo envolve ativação simpática renal, a qual culmina com maior retirada simpática renal quando há expansão volêmica. Neste sentido, uma das fases do nosso estudo foi idealizada justamente com o propósito de avaliar o papel da atividade simpática renal nas respostas diurética e natriurética à expansão volêmica observadas na hiperuricemia. Para tal, foi realizada desnervação renal bilateral previamente ao tratamento com OA 2% e sendo testada a seguir a resposta à sobrecarga hidrossalina.

Nossos resultados demonstraram que a desnervação renal bilateral prévia foi capaz de prevenir o aumento causado pela hiperuricemia na diurese e natriurese, em resposta a sobrecarga hidrossalina, nos animais que se encontravam na sétima semana de hiperuricemia, sendo os valores comparados aos vistos nos ratos controle. A partir destes resultados, podemos inferir que a atividade simpática renal eferente contribui para as alterações na

homeostase hidrossalina e conseqüentemente para o aumento na pressão arterial que é observado na hiperuricemia. Corroborando essa idéia, é bem conhecido que a atividade do nervo simpático renal eferente desempenha um papel fundamental no controle da circulação e função renal não só em condições fisiológicas, mas também em diversas condições fisiopatológicas (DiBona, 1982). Tal controle pode ocorrer em diferentes níveis no rim, tais como na regulação da circulação renal, na filtração glomerular, nas funções de reabsorção e secreção tubular envolvidas no controle renal da homeostase hidrossalina, bem como na liberação de substâncias vasoativas pelo próprio rim (DiBona, 1982; DiBona e cols., 1988).

O aumento da atividade simpática renal em condições fisiopatológicas já foi descrito para várias condições, como por exemplo, a hipertensão arterial primária, cirrose hepática e insuficiência cardíaca congestiva (Hollenberg, 1975; DiBona e Sawin 1991). Inclusive no nosso laboratório já foi demonstrado que os nervos simpáticos renais desempenham um importante papel na retenção de sódio que caracteriza a insuficiência cardíaca congestiva (Buloto e Cabral, 1999), para qual há vários mecanismos implicados na hiperatividade simpática, dentre eles o aumento dos níveis plasmáticos de angiotensina II e a redução na síntese central de óxido nítrico (Li e cols., 1992; DiBona e cols., 1995; Tagawa e cols., 1994; Patel et cols., 1996;).

Para hiperuricemia, ainda precisa ser claramente estabelecida qual é a origem da hiperatividade simpática, talvez a angiotensina II possa ter um papel relevante nesse mecanismo, pois se sabe que além de mediar um importante aumento na vasoconstrição e na retenção de sódio e água, a angotensina II também aumenta a liberação da noradrenalina por ativação dos receptores AT1 pré-sinápticos (Stegbauer e cols., 2005). A importância da angiotensina II na hiperuricemia já foi sugerida em diversas pesquisas. Estudos que utilizaram inibidores da ECA como o enalapril, mostraram que o mesmo é capaz de diminuir a pressão arterial e as lesões renais ocasionadas pelo aumento dos níveis plasmáticos de ácido úrico em ratos (Mazzali e cols., 2001). Além destes, outros que utilizaram o losartan em humanos, bloqueador dos receptores AT1, propuseram que o mesmo foi capaz de provocar as mesmas respostas, não só por interferir nas ações da angiotensina II, mas também por aumentar a excreção urinária de urato (Alderman e Aiyer, 2004).

Nossos resultados, referentes à taxa de filtração glomerular (TGF), através da medida da concentração plasmática de creatinina, mostraram um aumento no nível plasmático de creatinina nos animais que foram submetidos à hiperuricemia por 7 semanas. Este resultado pode ser corroborado por estudo anterior ao nosso que foi realizado em humanos. No mesmo o tratamento de pacientes com função renal normal com alopurinol, inibidor da síntese de ácido úrico, por três meses foi capaz de diminuir a concentração plasmática de creatinina e aumentar a TGF. Sugerindo-se, dessa forma, que o ácido úrico provoca diminuição na TGF (Kanbay e cols., 2007).

Esses resultados apontam para o fato de a elevação da atividade simpática renal, produzida pelo aumento do ácido úrico, ter sido de magnitude tal que pôde promover vasoconstrição acentuada da arteríola aferente e com isso reduzir a TGF. Como está bem demonstrado, o estímulo elétrico do nervo renal produz de uma maneira dependente da frequência de descarga dos nervos, mudanças no fluxo plasmático renal (FPR) e TGF, na reabsorção de sódio e água e na secreção de renina, observando-se aumento na resistência vascular renal e redução no FPR com estímulos com frequências maiores que 2,0 Hz (DiBona, 1985). Com base nesses dados e em nossos resultados, acreditamos que a desnervação renal tenha promovido aumento na excreção diária de sódio dos animais com hiperuricemia, pelo menos em parte, através da inibição do efeito direto que a atividade simpática exerce sobre a reabsorção tubular de sódio, uma vez que a mesma não alterou significativamente a redução da TGF e/ou FPR induzida pela hiperuricemia.

No que se refere às alterações morfológicas renais, apesar da metodologia utilizada ter sido uma metodologia de coloração de rotina, a qual não é possível observar com muita evidência as alterações renais, os resultados da análise histológica demonstraram que a desnervação renal não modificou as alterações renais provocadas pela hiperuricemia. Nos dois grupos as alterações renais observadas - áreas de fibrose na região medular e aumento de tamanho dos glomérulos - foram semelhantes. Esses dados sugerem que as alterações renais observadas não dependem do aumento da pressão arterial e sim do aumento das concentrações plasmáticas de ácido úrico.

De fato dados da literatura referem que à lesão tubular, a arteriopatia da arteríola aferente e a hipertrofia glomerular induzidas pela hiperuricemia não estão relacionadas com o aumento da pressão arterial. Estudos de Mazzali (2002) e Nakagawa (2003) mostraram que o tratamento de ratos hipertensos e hiperuricêmicos com hidroclorotiazida foi capaz de provocar diminuição dos níveis tensionais sem alterar as lesões renais observadas. Por outro lado o tratamento dos ratos hiperuricêmicos com inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), o enalapril, além de levar a diminuição da pressão arterial, também provocou redução significativa da lesão tubular, da arteriopatia e da hipertrofia glomerular. Como a hidroclorotiazida não interfere no sistema renina angiotensina como o enalapril, os autores admitiram que as alterações morfológicas dos rins nos animais tratados com ácido oxônico seriam consequência de um mecanismo mediado pelo sistema renina angiotensina hiperativado pelo aumento nas concentrações plasmáticas de ácido úrico.

7. CONCLUSÃO

Considerando os resultados obtidos, o principal resultado deste estudo é que existe um aumento da atividade simpática renal em ratos com hiperuricemia e hipertensão arterial. Tal aumento pode ser observado pela retenção crônica de sódio e maior resposta diurética e natriurética, após a retirada simpática produzida pela expansão volêmica. Tal interpretação é ainda sustentada pelo fato de que a desnervação renal bilateral, realizada previamente ao desenvolvimento da hiperuricemia com OA 2%, ter sido capaz de prevenir o acúmulo de sódio, a elevação da pressão arterial e o aumento da resposta diurética e natriurética à expansão volêmica.

9. REFERÊNCIAS

Alderman M and Aiyer KJ (2004). Uric acid: role in cardiovascular disease and effects of losartan. *Current Medical Research Opinion* 20:369-379.

Baker JF, Krishnan E, Chen L, Schumacher HR (2005). Serum uric acid and cardiovascular disease: recent developments, and where do they leave us? *The American Journal of Medicine* 118:816-826.

Bencsáth P, Fekete MI, Kanyicska B, Szénási G, Takács L (1982). Renal excretion of sodium after bilateral renal sympathectomy in the anaesthetized and conscious rat. *The Journal of Physiology* 331:443-450.

Brennan LA Jr, Malvin RL, Jochim KE, Roberts DE (1971). Influence of right and left atrial receptors on plasma concentrations of ADH and renin. *The American Journal of Physiology* 221:273-278.

Buloto SD and Cabral MA (2000) Papel dos nervos simpáticos renais na resposta natriurética induzida pela expansão volêmica em ratos com insuficiência cardíaca secundária ao infarto do miocárdio. Dissertação de mestrado em Ciências fisiológicas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória.

Choi HK, Mount DB, Reginato AM; American College of Physicians; American Physiological Society (2005). Pathogenesis of gout. *Annals of Internal Medicine* 4:499-516.

Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, Levy D (1999). Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart Study. *Annals of Internal Medicine* 6:7-13.

Cunha RS and Magalhães P (2006). Ácido Úrico e Hipertensão Arterial. *Hipertensão* 9: 84-87.

Diamond HS and Paolino JS (1973). Evidence for a postsecretory reabsorptive site for uric acid in man. *The Journal of Clinical Investigation* 52: 1491-1499.

DiBona GF (1982). The functions of the renal nerves. *Reviews of Physiology, Biochemistry and Pharmacology* 181: 75-181.

DiBona GF (1985). Neural control of renal function. *Federation Proceedings* 44: 2815-2850.

DiBona GF (1985). Neural control of renal function: role of renal alpha adrenoceptors. *Journal Cardiovascular Pharmacology* 8:18-23.

DiBona GF (1986). Neural mechanisms in body fluid homeostasis. *Federation Proceedings* 45:2871-2877.

DiBona GF (1989). Neural control of renal function: cardiovascular implications. *Hypertension* 13:539-548.

DiBona GF and Koepke JP (1982). Functions of the renal nerves. *The Physiologist* 28:47-52.

DiBona GF and Sawin LL (1983). Renal nerves in renal adaptation to dietary sodium restriction. *The American Journal Physiology* 245:322-328.

DiBona GF and Sawin LL (1985). Renal nerve activity in conscious rats during volume expansion and depletion. *The American Journal Physiology* 248:15-23.

DiBona GF and Sawin LL (1991). Role of renal nerves in sodium retention of cirrhosis and congestive heart failure. *The American Journal of Physiology* 260:298-305.

DiBona GF, Herman PJ, Sawin LL (1988). Neural control of renal function in edema-forming states. *The American journal of physiology* 254: 17-24.

DiBona GF, Jones SY, Brooks VL (1995). ANG II receptor blockade and arterial baroreflex regulation of renal nerve activity in cardiac failure. *The American Journal Physiology* 269:1189-1196.

Feig DI, Rodriguez IB, Nakagawa T, Johnson RJ (2006). Nephron number, uric acid, and renal microvascular disease in the pathogenesis of essential hypertension. *Hypertension* 48:25-26.

Freedman DS, Williamson DF, Gunter EW, Byers T (1995). Relation of serum uric acid to mortality and ischemic heart disease. The NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *American Journal of Epidemiology* 1:637-644.

Friedl HP, Till GO, Trentz O, Ward PA (1991). Role of oxygen radicals in tourniquet-related ischemia-reperfusion injury of human patients. *Klinische Wochenschrift* 69:1109-1112.

Gauer OH, Henry JP, Behn C (1970). The regulation of extracellular fluid volume. *Annual Review Physiology* 32:547-595.

Gellai M and Valtin H (1979). Chronic vascular constrictions and measurements of renal function in conscious rats. *Kidney International* 15:419-426.

Goetz KL, Bond GC, Bloxham DD (1975). Atrial receptors and renal function. *Physiological Reviews* 55:157-205.

Gutman AB and Yu TF (1961). A three-component system for regulation of renal excretion of uric acid in man. *Transactions of the Association of American Physicians* 74: 253-365.

Guyton AC, Coleman TG, Young DB, Lohmeier TE, DeClue JW (1980). Salt balance and long-term blood pressure control. *Annual Review of Medicine* 31:15-27

Haig A. (1889). On uric acid and arterial tension. *BMJ* 1:288-291.

Hollenberg NK, Adams DF, Solomon H, Chenitz BM, Burger HL, Abrams HL, Merrill JP (1975). Renal vascular tone in essential and secondary hypertension. *Medicine* 54: 29-44.

Huang CL, Lewicki J, Johnson LK, Cogan MG (1985). Renal mechanism of action of rat atrial natriuretic factor. *The Journal of Clinical Investigation* 75:769-773.

Johnson RJ, Kang DH, Feig D, Kivlighn S, Kanellis J, Watanabe S, Tuttle KR, Rodriguez-Iturbe B, Herrera-Acosta J, Mazzali M (2003). Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? *Hypertension* 41:1183-1190.

Jossa F, Farinaro E, Panico S, Krogh V, Celentano E, Galasso R, Mancini M, Trevisan M (1994). Serum uric acid and hypertension: the Olivetti heart study. *Journal Human Hypertension* 8:677-681.

Kanbay M, Ozkara A, Selcoki Y, Isik B, Turgut F, Bavbek N, Uz E, Akcay A, Yigitoglu R, Covic A (2007). Effect of treatment of hyperuricemia with allopurinol on blood pressure, creatinine clearance, and proteinuria in patients with normal renal functions. *International Urology and Nephrology* 39:1227-1133.

Kang DH, Nakagawa T, Feng L, Watanabe S, Han L, Mazzali M, Truong L, Harris R, Johnson RJ (2002). A role for uric acid in the progression of renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology* 13:2888-2897.

Katholi RE, Oparil S, Urthaler F, James TN (1979). Mechanism of postarrhythmic renal vasoconstriction in the anesthetized dog. *The Journal of Clinical Investigation* 64:17-31.

Kline RL, Mercer PF (1983). Functional reinnervation and development of supersensitivity to NE after renal denervation in rats. *The American Journal of Physiology* 238:353-358.

Kramer HJ, Moch T, von Sicherer L, Düsing R (1979). Effects of aprotinin on renal function and urinary prostaglandin excretion in conscious rats after acute salt loading. *Clinical Science* 56:547-553.

Kutzing MK and Firestein BL (2008). Altered uric acid levels and disease states. *The Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics* 324:1-7.

Li YW, Polson JW, Dampney RA (1992). Angiotensin II excites vasomotor neurons but not respiratory neurons in the rostral and caudal ventrolateral medulla. *Brain Research* 577:161-164.

Maesaka JK and Fishbane S (1998). Regulation of renal urate excretion: a critical review. *American Journal of Kidney Disease* 32:917-933.

Mahomed FA (1879). On chronic Bright's disease, and its essential symptoms. *Lancet* 1:399-401.

Marchand GR (1978). Interstitial pressure during volume expansion at reduced renal artery pressure. *The American Journal of Physiology* 235:209-212

Mazzali M, Hughes J, Kim YG, Jefferson JA, Kang DH, Gordon KL, Lan HY, Kivlighn S, Johnson RJ (2001). Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism. *Hypertension* 38:1101-1106.

Mazzali M, Kanellis J, Han L, Feng L, Xia YY, Chen Q, Kang DH, Gordon KL, Watanabe S, Nakagawa T, Lan HY, Johnson RJ (2002). Hyperuricemia induces a primary renal arteriopathy in rats by a blood pressure-independent mechanism. *American Journal of Physiology Renal Physiology* 282: 991-997.

Messerli FH, Frohlich ED, Dreslinski GR, Suarez DH, Aristimuno GG (1980). Serum uric acid in essential hypertension: an indicator of renal vascular involvement. *Annals of International Medicine* 93:817-821.

Mitchell GA (1950). The nerve supply of the kidneys. *Acta Anatomica* 10:1-37.

Morita H and Vatner SF (1985). Effects of volume expansion on renal nerve activity, renal blood flow, and sodium and water excretion in conscious dogs. *The American Journal Physiology* 249:680-687.

Nakagawa T, Mazzali M, Kang DH, Kanellis J, Watanabe S, Sanchez-Lozada LG, Rodriguez-Iturbe B, Herrera-Acosta J, Johnson RJ (2003). Hyperuricemia causes glomerular hypertrophy in the rat. *American Journal of Nephrology* 23:2-7.

Patel KP (1991). Role of renal nerves and vasopressin in renal responses to acute volume expansion in rats. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 196:438-443.

Patel KP, Zhang K, Zucker IH, Krukoff TL (1996). Decreased gene expression of neuronal nitric oxide synthase in hypothalamus and brainstem of rats in heart failure. *Brain Research* 734:109-115.

Pawlowska D, Haas JA, Granger JP, Romero JC, Knox FG (1988). Prostaglandin blockade blunts the natriuresis of elevated renal interstitial hydrostatic pressure. *The American Journal of Physiology* 254:507-511.

Peterson TV, Benjamin BA, Hurst NL (1988). Renal nerves and renal responses to volume expansion in conscious monkeys. *The American Journal Physiology* 255:388-394.

Puig JG and Ruilope LM (1999). Uric acid as a cardiovascular risk factor in arterial hypertension. *Journal of Hypertension* 17:869-872.

Recordati GM, Moss NG, Genovesi S, Rogenes PR. (1980). Renal receptors in the rat sensitive to chemical alterations of their environment. *Circulation Research* 46:395-405.

Rogenes PR and Gottschalk CW (1982). Renal function in conscious rats with chronic unilateral renal denervation. *The American Journal of Physiology* 242:140-148.

Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Avila-Casado C, Soto V, Franco M, Santamaría J, Nakagawa T, Rodríguez-Iturbe B, Johnson RJ, Herrera-Acosta J (2002). Mild hyperuricemia induces glomerular hypertension in normal rats. *American Journal of Physiology Renal Physiology* 283:1105-1110.

Sánchez-Lozada LG, Tapia E, Soto V, Avila-Casado C, Franco M, Zhao L, Johnson RJ (2008). Treatment with the xanthine oxidase inhibitor febuxostat lowers uric acid and alleviates systemic and glomerular hypertension in experimental hyperuricaemia. *Nephrology, Dialysis Transplantation* 23:1179-1185.

Schwab TR, Edwards BS, Heublein DM, Burnett JC Jr (1986). Role of atrial natriuretic peptide in volume-expansion natriuresis. *The American Journal of Physiology* 251:10-13.

Sica DA and Schoolwerth AC (2002). Part 1. Uric acid and losartan. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 11:475-482.

Stegbauer J, Vonend O, Oberhauser V, Sellin L, Rump LC (2005). Angiotensin II receptor modulation of renal vascular resistance and neurotransmission in young and adult spontaneously hypertensive rats. *Kidney & Blood Pressure Research* 28:20-26.

Szalay L, Colindres RE, Jackson R, Gottschalk CW (1986). Effects of chronic renal denervation in conscious restrained rats. *International Urology and Nephrology* 18:3-18.

Tabayashi K, Suzuki Y, Nagamine S, Ito Y, Sekino Y, Mohri H (1991). A clinical trial of allopurinol (Zyloric) for myocardial protection. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 101:713-718.

Tagawa T, Imaizumi T, Harada S, Endo T, Shiramoto M, Hirooka Y, Takeshita A (1994). Nitric oxide influences neuronal activity in the nucleus tractus solitarius of rat brainstem slices. *Circulation Research* 75:70-76.

Thames MD, Miller BD, Abboud FM (1982). Baroreflex regulation of renal nerve activity during volume expansion. *The American Journal Physiology* 243: 810-814.

Vatner SF, Higgins CB, White S, Patrick T, Franklin D (1971). The peripheral vascular response to severe exercise in untethered dogs before and after complete heart block. *The Journal of Clinical Investigation* 50:1950-1960

Verdecchia P, Schillaci G, Reboldi G, Santeusano F, Porcellati C, Brunetti P (2000). Relation between serum uric acid and risk of cardiovascular disease in essential hypertension The PIUMA study. *Hypertension* 36:1072-1078.

Watanabe S, Kang DH, Feng L, Nakagawa T, Kanellis J, Lan H, Mazzali M, Johnson RJ (2002). Uric acid, hominoid evolution, and the pathogenesis of salt-sensitivity. *Hypertension* 40:355-360.

Winternitz SR and Oparil S (1982). Sodium-neural interactions in the development of spontaneous hypertension. *Clinical and Experimental Hypertension* 4:751-760

Zhou X, Matavelli L, Frohlich ED (2006). Uric acid: its relationship to renal hemodynamics and the renal renin-angiotensin system. *Current Hypertension Reports* 8:120-124