

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

FREDERICO FELIPE COSTA TEBAS DE FREITAS

**PAPEL DO BARORREFLEXO NA PROGRESSÃO DA
DOENÇA RENAL CRÔNICA**

VITÓRIA

2013

FREDERICO FELIPE COSTA TEBAS DE FREITAS

**PAPEL DO BARORREFLEXO NA PROGRESSÃO DA
DOENÇA RENAL CRÔNICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientador: Prof^a Dr^a Ágata Lages Gava

VITÓRIA

2013



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

“Papel do barorreflexo na progressão da doença renal crônica”

Frederico Felipe Costa Tebas de Freitas

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da
Universidade Federal do Espírito Santo como requisito parcial para a obtenção do
título de Mestre em Biotecnologia.

Aprovado por:

Prof.ª. Dr.ª. Ágata Lages Gava (UFES)

Orientadora

Prof. Dr. Hélder Mauad (UFES)

Membro Interno

Prof.ª. Dr.ª. Guiomar Nascimento Gomes (UNIFESP)

Membro Externo

Vitória-ES, 02 de dezembro de 2013.

“ Eu Quero o Saber

Eu quero o saber, desejo o conhecimento, aspiro aprender, anelo manter a mente aberta, ser capaz de romper fronteiras e conhecer algo que ainda não experimentei, algo que tenha aspecto do novo, sim, que tenha aspecto do novo, pois, “nada há de novo debaixo do céu”, já dizia o sábio judeu, Salomão.

Mais que títulos, quero o conhecimento e a disposição em ser um constante aprendiz, ser capaz de ouvir, de estar pronto a compartilhar apenas pelo prazer de contribuir de alguma forma, ter a alegria franciscana de dividir o que obtiver, e não pela recompensa do aplauso que envaidece.

Quero estar pronto a reconhecer o brilho ou a grandeza do outro e não sentir inveja quando ele for o foco das atenções. Isto não é tarefa fácil de ser colocada em prática, mas quero alcançar o ponto de nobreza humana. E, porque sou humano, vou aprendendo enquanto vivo minha história de limitado ser humano com tropeços, com dificuldades, porque ser homem não é algo simples nem obra pequena.

Aspiro ao conhecimento mesmo sabendo que por mais que me seja concedido viver e aprender ainda serei ignorante, embora polido.

Portanto, conhecendo, quero admitir que ainda não sei e que, aprendendo consigo apenas um vislumbre da verdade. Enquanto isso prossigo para o alvo, pois sei que há de chegar aquele momento em que “então conhecerei como também sou conhecido.”

Ari Tebas de Freitas

AGRADECIMENTOS

Agradeço enormemente à professora Ágata por ter me aceitado como aluno, sem conhecer nada a meu respeito e, mesmo assim, acreditou em mim, presenteando-me com um belíssimo projeto;

Ainda agradeço a ela por sua grande paciência em escutar ideias mirabolantes e me ensinar a filtrá-las e manter o foco, sempre “tocando o barco”;

Aos professores Vasquez e Silvana, por terem aberto as portas do laboratório e me acolhido como uma família, que o é o LTCC, além de terem me ensinado tanto nesses anos de convivência;

Ao professor Hélder por ter aberto a primeira porta e ter me dado a mão nos primeiros passos científicos;

Aos meus pais, Ari e Sonia, por todo o suporte prestado em mais uma jornada e por acreditarem que este era mais um sonho a ser realizado, abraçando-o comigo;

A minha irmã Natália que, por inúmeras vezes, mesmo sem saber, com suas inúmeras perguntas, me incentivou a buscar o conhecimento;

A todos os demais familiares, em especial a minha prima (irmã) Priscila, que também tiveram papel importante nessa caminhada;

Aos meus amigos do LTCC: Ananda, Gilberto, Bianca, Camille, Bernah, Marcella, Laís, Marcos, Thiago... sem os quais nenhum dos experimentos teriam funcionado, nenhum dos cafés da tarde teriam me saciado, nenhum dos happy hours teriam sido alegres e nenhum desses anos dedicados a este trabalho teriam sido importantes;

À Lívia, que entrou em minha vida na hora certa, me trazendo o foco em um momento crucial, suportando minha presença ausente;

Às agências de fomento: FAPES, CAPES e CNPq;

A Deus, que por caminhos por mim não esperados me trouxe até aqui;

Meu muito obrigado!

RESUMO

A variabilidade da pressão arterial (VPA) surge como um novo fator de risco associado ao desenvolvimento, severidade e progressão da doença renal crônica (DRC), no entanto, poucos estudos se destinaram a avaliar um possível efeito da VPA sobre o funcionamento renal, bem como para a progressão da DRC. Desta forma, o objetivo da presente investigação foi avaliar a influência da desnervação sinoaórtica (DSA), um modelo de VPA, sobre a função renal e seu papel na progressão da DRC em ratos submetidos à nefrectomia de 5/6. Foram utilizados ratos Wistar machos (200 – 250 g) divididos em 4 grupos experimentais: controle (Sham), desnervados (SAD), nefrectomizados (NX) e desnervados + nefrectomizados (SAD+NX). Após 6 semanas, foram verificados variáveis hemodinâmicas e parâmetros de função renal. A associação entre DSA e nefrectomia foi capaz de produzir alterações em praticamente todos os parâmetros analisados quando comparada aos demais grupos. Somente os grupos NX e SAD+NX apresentaram hipertensão arterial, sendo esta maior no último grupo. O índice de sensibilidade do barorreflexo encontrou-se reduzido nos grupos SAD e NX, sendo a associação entre a DSA e a nefrectomia capaz de induzir a valores ainda menores no grupo SAD+NX. Adicionalmente, a VPA se mostrou elevada nos grupos SAD, NX e SAD+NX, sendo maior neste último. Somente os animais submetidos à nefrectomia apresentaram hiperúremia, cujo valor no grupo SAD+NX foi de quase 1,5 vezes maior que no grupo NX. Somente nos grupos NX e SAD+NX apresentaram redução na taxa de filtração glomerular e o fluxo plasmático renal (FPR) vs. Sham, sendo o FPR menor em SAD+NX vs NX. Houve redução do fluxo sanguíneo renal (FSR) no grupo SAD vs. Sham. Nos animais nefrectomizados esta redução foi de aproximadamente 92% nos ratos NX vs. Sham, e de 96% nos animais SAD+NX, nos quais o valor do FSR foi metade do valor observado em NX. Todos os grupos apresentaram aumento da resistência vascular renal vs. Sham, bem como quando comparados entre si. Estes resultados nos mostram que o prejuízo do barorreflexo está associado a uma piora na progressão da DRC.

Palavras-chave: Desnervação sinoaórtica. Variabilidade da pressão arterial. Doença renal crônica.

ABSTRACT

Recently, blood pressure variability (BPV) has emerged as a new risk factor related with the development, progression and severity of chronic kidney disease (CKD). Despite this fact, few investigations have performed in order to access the renal function under a BPV condition and to better clarify how would this scenario contribute to the CKD progression. Therefore, the aim of the present study was to analyze the influence of BPV, induced by sinoaortic denervation, over the renal function and the progression of CKD in nephrectomized rats. Male Wistar rats (200 – 250 g) were divided in 4 experimental groups: Sham, sinoaortic denervated (SAD), nephrectomized (NX) and denervated + nephrectomized (SAD+NX). At the end of 6 weeks, hemodynamic variables and the renal function were analyzed. Almost all analyzed parameters were worsened by the association between SAD and 5/6 nephrectomy. Only NX and SAD+NX groups became hypertensive, with the highest level in SAD+NX rats. The baroreflex sensitivity was reduced in both SAD and NX but was additionally reduced in SAD+NX rats. The SAD, NX and SAD+NX rats exhibited rise in BPV, with the highest level observed in SAD+NX rats. Only nephrectomized rats presented hyperuremia which was 1.5 fold higher in SAD+NX. No difference was observed in glomerular filtration rate (GFR) and renal plasma flow (RPF) between SAD and Sham. Both nephrectomized rats showed reduction in GFR and RPF but RPF was additionally reduced in SAD+NX. There was also a reduction at renal blood flow (RBF) in all groups vs. Sham. At both nephrectomized groups this reduction reached about 92% of the Sham value in NX rats and 96% reduction in SAD+NX rats, in which the RBF value were half the value of NX rats. All groups exhibited increased in renal vascular resistance as compared to Sham as between groups. Thus, our results showed that an impairment in baroreflex function is associated with a worsening of CKD progression.

Key words: Sinoaortic denervation. Blood pressure variability. Chronic kidney disease.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ilustração esquemática da anatomia do barorreflexo: origem e órgãos alvo do controle reflexo da pressão arterial.	15
Figura 2 – Representação esquemática do protocolo experimental.....	26
Figura 3 – Índice de sensibilidade do barorreflexo avaliado pela resposta bradicárdica nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX.	38
Figura 4 – Índice de sensibilidade do barorreflexo avaliado pela resposta taquicárdica nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX.	39
Figura 5 – Representação de registros típicos mostrando o aumento na variabilidade e da média dos desvios-padrão da pressão arterial média nos grupos SAD, NX e SAD+NX.	40
Figura 6 – Taxa de filtração glomerular nos diferentes grupos estudados.	42
Figura 7 – Fluxo plasmático renal nos diferentes grupos estudados.	43
Figura 8 – Fluxo sanguíneo renal nos diferentes grupos estudados.	44
Figura 9 – Fração de filtração obtida pela relação entre TFG e FPR.	45
Figura 10 – Resistência vascular renal.....	46
Figura 11 – Fotos histológicas de glomérulos corados com tricrômio de masson dos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX.	48
Figura 12 – Fração de colágeno glomerular nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX	48
Figura 13 – Índice de glomeruloesclerose nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX.	49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estratificação e classificação da Doença Renal Crônica.....	21
Tabela 2 – Variáveis Hemodinâmicas: pressão arterial média, pressão arterial sistólica, pressão arterial diastólica e frequência cardíaca nos diferentes grupos estudados.	37
Tabela 3 – Índice de hipertrofia calculado pela relação entre o peso do coração pela tíbia e relação do peso do rim pela tíbia.	41
Tabela 4 – Excreção renal de água, eletrólitos e ureia nos grupos experimentais. Volume urinário, fração de excreção dos íons sódio, potássio, cálcio, cloreto e ureia plasmática.	47

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
ANRs	Atividade do nervo simpático renal
CE	Carga excretada
CF	Carga filtrada
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
DP PAM	Desvio-padrão da pressão arterial média
DRC	Doença renal crônica
DAS	Desnervação sinoaórtica
ECA	Enzima conversora de angiotensina
EF	Excreção fracional
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FC	Frequência cardíaca
FEN	Fenilefrina
FE %	Porcentagem da fração de excreção
FF	Fração de filtração
FPR	Fluxo plasmático renal
FSR	Fluxo sanguíneo renal
FU	Fluxo urinário
Hct	Hematócrito
HF	Alta frequência (do inglês <i>High Frequency</i>)
IN	Inulina
i.p	Intraperitoneal
i.v	Intravenoso
IR	Insuficiência renal
ISB	Índice de sensibilidade do barorreflexo
KDOQI	Kidney disease outcome quality initiative
LF	Baixa frequência (do inglês <i>Low Frequency</i>)
NOR	Noradrenalina
NO	Óxido nítrico
NPS	Nitroprussiato de sódio

NTS	Núcleo do trato solitário
PA	Pressão arterial
PAH	Paraminohipurato de sódio
PAM	Pressão arterial média
PAS	Pressão arterial sistólica
PAD	Pressão arterial diastólica
RVP	Resistência vascular periférica
RVR	Resistência vascular renal
SBN	Sociedade Brasileira de Nefrologia
SNC	Sistema nervoso central
SNS	Sistema nervoso simpático
SRA	Sistema renina – angiotensina
TFG	Taxa de filtração glomerular
UP	Ureia plasmática
u.r	Unidade relativa
VPA	Variabilidade da pressão arterial
VU	Volume urinário

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Controle da pressão arterial.....	14
1.2	A variabilidade da pressão arterial.....	17
1.3	Doença renal crônica.....	20
2	OBJETIVOS	24
2.1	Objetivo geral.....	24
2.2	Objetivos específicos.....	24
3	METODOLOGIA	25
3.1	Animais experimentais.....	25
3.2	Grupos experimentais.....	25
3.3	Procedimentos Cirúrgicos.....	26
	3.3.1 <i>Desnervação sinoaórtica</i>	26
	3.3.2 <i>Nefrectomia de 5/6</i>	26
	3.3.3 <i>Canulação para medidas hemodinâmicas</i>	27
	3.3.4 <i>Canulação para avaliação da função renal</i>	27
3.4	Medida do volume urinário.....	28
3.5	Avaliações hemodinâmicas.....	28
3.6	Avaliação do Barorreflexo.....	29
3.7	Avaliação da função renal.....	29
3.8	Quantificação de íons, ureia, IN e PAH.....	33
3.9	Avaliação da excreção fracional de eletrólitos.....	34
3.10	Medida de hipertrofia.....	35
3.11	Análise Histológica.....	35
3.12	Análise estatística.....	36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
4.1	Valores basais da frequência cardíaca, pressão arterial média, pressão arterial sistólica e diastólica.....	37
4.2	Avaliação do índice de sensibilidade do barorreflexo.....	37
4.3	Análise da variabilidade da pressão arterial.....	39
4.4	Índice de Hipertrofia.....	41

4.5	Avaliação da função renal	42
4.5.1	<i>Taxa de filtração glomerular</i>	42
4.5.2	<i>Fluxo plasmático renal</i>	43
4.5.3	<i>Fluxo sanguíneo renal</i>	44
4.5.4	<i>Fração de filtração</i>	45
4.5.5	<i>Resistência vascular renal</i>	45
4.6	Excreção renal de água, eletrólitos e uremia.....	46
4.7	Análise Histológica	47
5	CONCLUSÃO.....	64
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 Controle da pressão arterial

Sabe-se que a pressão arterial (PA) é uma variável contínua, ajustando-se ao longo do dia de acordo com as atividades desenvolvidas e necessidades fisiológicas. Porém, apesar da existência de labilidade na PA, a mesma deve ser mantida dentro de uma faixa estreita de variação, de forma a garantir uma perfusão tecidual adequada (FLORAS, 2013; MANCIA et al., 1983). Esta manutenção da variação da PA em uma estreita faixa é um imperativo fisiológico que requer uma complexa interação entre os sistemas neuronal, humoral e renal. Usualmente, o controle da pressão arterial é dividido em controle a curto prazo que é coordenado pelos sistemas neuronais, o controle em médio prazo, coordenado pelos sistemas hormonais e o controle a longo prazo, coordenado pelos rins (GUYTON, 1981).

O controle a curto prazo da PA é o principal responsável em manter a PA em uma curta faixa de variação sendo efetuado momento a momento por meio de reflexos neuronais, onde podemos destacar o barorreflexo. Localizados principalmente na adventícia do arco aórtico e do seio carotídeo, os barorreceptores arteriais são estimulados por variações bruscas da PA que, em consequência, causarão deformações na parede destes vasos, sendo por isso usualmente considerados como sensores de pressão (VASQUEZ; PEOTTA; MEYRELLES, 2012). O mecanismo pelo qual os barorreceptores atuam na manutenção da PA se dá através do controle reflexo da atividade do sistema nervoso autônomo. Os sinais aferentes provenientes da estimulação dos barorreceptores são dirigidos ao tronco cerebral fazendo sua primeira sinapse no núcleo do trato solitário (NTS), cujos neurônios se projetam e fazem sinapses com os neurônios dos núcleos caudoventrolateral, rostroventrolateral e vagais, sendo este conjunto de estruturas chamado de centro vasomotor (VASQUEZ et al., 1997). Os sinais provenientes do NTS terão tanto papel inibitório quanto excitatório, de acordo com o órgão destino de sua projeção neural, bem como de acordo com a situação fisiológica. A anatomia do barorreflexo é representada na Figura 1, onde podemos ver a localização dos barorreceptores no

arco aórtico e seio carotídeo, bem como as projeções aferente e eferente deste mecanismo de controle da PA.

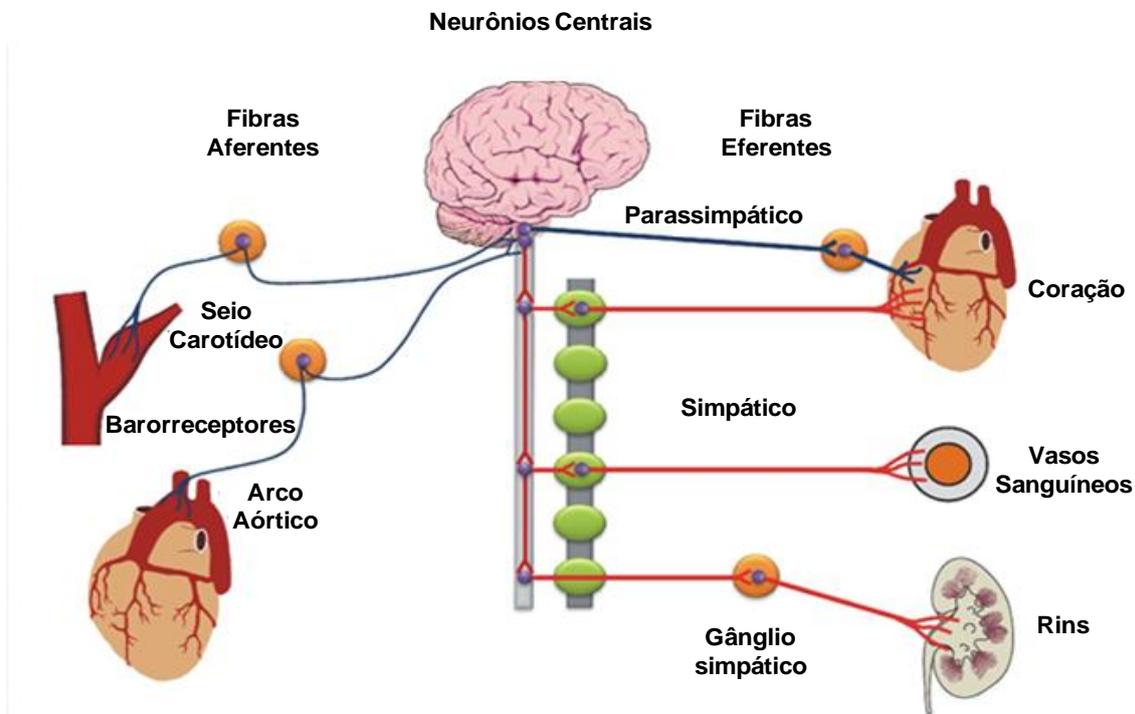


Figura 1 – Ilustração esquemática da anatomia do barorreflexo: origem e órgãos alvo do controle reflexo da PA. (Modificada de Vasquez et al., 2012)

Quando estimulados pela elevação da PA, ocorre um aumento na geração de potenciais de ação nos barorreceptores. Estes sinais trafegarão através do nervo vago (provenientes dos barorreceptores do arco aórtico) e glossofaríngeo (provenientes do seio carotídeo) até o NTS, desencadeando uma resposta inibitória da atividade simpática periférica seguida de uma ativação da atividade parassimpática cardíaca. Como resultado desta estimulação dos barorreceptores ocorre uma diminuição da frequência cardíaca (FC), bem como redução da resistência vascular periférica (RVP). Em conjunto, estas alterações resultarão em uma redução da PA. Em contrapartida, quando ocorre queda na PA para abaixo dos níveis fisiológicos, há uma redução no estiramento dos barorreceptores, o que causa uma diminuição na geração dos potenciais de ação, levando a um cenário contrário ao observado na elevação da PA: aumento da atividade do sistema nervoso simpático (SNS) e redução da atividade parassimpática para a periferia, resultando

em uma taquicardia e aumento da RVP, ocasionando elevação da PA (PARATI; BILO, 2012).

Os rins são a base fundamental para a manutenção a longo prazo da PA, sendo para tanto constituídos de mecanismos complexos no alcance deste objetivo. Dentre esses mecanismos, temos aqueles de influência intrínseca, como os mecanismos de autorregulação renal que produzem suas respostas por meio de mudanças na hemodinâmica renal e na função renal (alterando a reabsorção tubular, o fluxo sanguíneo renal ou a taxa de filtração glomerular). Apesar de os mecanismos de autorregulação terem influência no controle a longo prazo da pressão, principalmente através do controle da resistência vascular renal (RVR), capaz de produzir alterações no volume de líquido extracelular por meio da natriurese e da diurese, o principal mecanismo responsável no controle a longo prazo é o sistema renina angiotensina (SRA). (GUYTON, 1981). Este é considerado um mecanismo extrínseco, uma vez que produz ações sistêmicas e não somente locais (GUYTON, 1987). Independente da diferença de ação entre os mecanismos ativados no rim na compensação de alterações da PA, o ponto final destes envolverá 2 atores principais: o sódio e a água (GUYTON, 1981).

Fazendo-se um paralelo entre o mecanismo do barorreflexo e o mecanismo do SRA, nota-se que o primeiro possui um papel importante tanto em situações de queda da PA, quanto em situações em que ocorra a elevação da PA, sendo, porém, mais proeminente o seu papel nas situações de elevação da PA, motivo este pelo qual os barorreceptores são chamados de receptores de alta pressão (ROBERTSON; DIEDRICH; CHAPLEAU, 2012). Já o SRA tem papel importante quando há queda na PA ou na perfusão renal, bem como a diminuição na concentração de sódio tubular, fatos estes que causam ativação deste sistema nos rins (NAVAR et al., 1998).

Usualmente, o SRA tem função vital na manutenção da homeostasia, protegendo o organismo contra a redução da PA ou da perfusão renal. Na presença deste cenário, ocorre liberação da renina pelas células justaglomerulares, que após ação enzimática resultará na formação, entre outros, de angiotensina II, o mais potente e clinicamente relevante peptídeo formado a partir da renina. Após sua formação, a

angiotensina II, por meio da ativação de receptores do tipo AT1, promove a vasoconstrição de arteríolas (tanto renal quanto sistêmica), bem como retenção de água e sódio, que em conjunto promovem a elevação da PA (NAVAR, 2005). Além dessas alterações diretas por meio da ativação dos receptores AT1, a angiotensina II promove a liberação de aldosterona pela adrenal, hormônio este que promove o aumento da reabsorção de sódio e, indiretamente, de água nos ductos coletores. No sistema nervoso central (SNC), a angiotensina II também promove aumento da atividade simpática bem como facilita a transmissão adrenérgica na periferia, aumentando assim o tônus vascular, em consequência, aumentando a resistência dos vasos. Além disso, a angiotensina II também estimula a liberação do ADH pela hipófise posterior, o qual, atuando nos túbulos distais, promoverá uma maior absorção de água (NAVAR et al., 1998).

A perfeita interação entre os mecanismos de curto e longo prazo é que garante a manutenção da perfusão tecidual, bem como mantém a PA dentro de uma faixa curta de variação. Em condições de desequilíbrio ou de perda funcional em algum desses mecanismos de controle da PA, instala-se um quadro em que nota-se um aumento da variabilidade da pressão arterial (VPA), fator este que pode ocasionar lesões em órgãos alvo

1.2 A variabilidade da pressão arterial

A variabilidade dos parâmetros fisiológicos, dentre eles a PA, ocorre em situações de normalidade e reflete a interação entre fatores ambientais e fisiológicos. Em relação à VPA, entende-se que a mesma ocorra devido a variações espontâneas na PA, cujo valor pode ser mensurado a partir de registros contínuos, seguido do cálculo do desvio-padrão dos valores obtidos neste registro (FLORAS, 2013; ROCHA et al., 2008).

Apesar do conhecimento sobre a variabilidade da pressão, a sua quantificação só se tornou possível a partir da década de 70, quando a medida contínua da pressão arterial passou a ser algo tangível e exequível (IRVING et al., 1974; LITTLER et al.,

1972) surgindo no início da década de 80 um novo parâmetro hemodinâmico a ser analisado: a VPA (MANCIA et al., 1980; WATSON; STALLARD; LITTLER, 1979).

Nos estudos iniciais em que a VPA começou a ser quantificada, grande foco foi dado aos pacientes hipertensos, uma vez que o aumento da pressão arterial e sua permanência em graus elevados sempre esteve relacionado a um mal prognóstico, o que demandou uma grande busca em melhor se entender os fatores envolvidos na hipertensão. Uma das primeiras hipóteses a ser levantada e comprovada como causa do aumento da VPA em pacientes hipertensos foi a de diminuição no índice de sensibilidade do barorreflexo (ISB) (MANCIA et al., 1980, 1983; WATSON et al., 1980). Desde então, inúmeros trabalhos foram desenvolvidos neste campo, e recentemente o aumento da VPA passou a ser considerado um indicador de risco de mortalidade, após a constatação de que pacientes com doenças cardiovasculares e renais apresentavam aumento na VPA e que este quadro estaria relacionado a um pior prognóstico para as doenças (FLORAS, 2013).

Um dos modelos experimentais mais utilizados para se avaliar os efeitos do aumento da VPA é a desnervação sinoaórtica (DSA), procedimento em que se promove a secção das fibras aferentes do barorreflexo (KRIEGER, 1964; SU, 2006). Após a retirada deste controle de curto prazo da pressão, nota-se um grande aumento na labilidade da PA, que se inicia logo após a remoção deste reflexo assim permanecendo durante o período de vida do animal, porém, sem a presença da hipertensão arterial (VASQUEZ; KRIEGER, 1982).

Como após a DSA o ISB torna-se inexistente ou quase inexistente, os estudos com animais submetidos à DSA dão suporte às observações feitas na clínica quanto as causas do aumento da VPA. No modelo de DSA a retirada do barorreflexo provoca um aumento exagerado da VPA, assim como é observado na clínica, em que a diminuição do ISB já foi provada estar inversamente relacionada com a VPA (WATSON et al., 1980), nos indicando que possivelmente o prejuízo no mecanismo do barorreflexo esteja envolvido na promoção do aumento da VPA.

Além de dar suporte às observações sobre a origem do aumento da VPA, os vários estudos utilizando-se o modelo de DSA trouxeram grandes informações sobre as

consequências de um prejuízo no barorreflexo e do aumento da VPA, visto que até então pensava-se somente em sua influência para o controle momentâneo da PA. A partir desses estudos, notou-se que a ausência do barorreflexo é capaz de produzir alterações morfológicas e estruturais em diversos órgãos alvo, como coração, vasos sanguíneos e rim, abrindo uma nova perspectiva para a funcionalidade deste reflexo e sua importância para a homeostasia, que iria além somente da manutenção e regulação da PA (BISSOLI et al., 1991; ORFILA et al., 1993; KATORI, 2003; KUDO et al., 2009; MOSTARDA et al., 2010; FENG et al., 2011).

As alterações observadas decorrentes do aumento da VPA apresentam aspectos multifatoriais, envolvendo processos inflamatórios, apoptóticos, de dano endotelial e de hiperativação do SRA e do SNS, dentre outros. No entanto, apesar dos inúmeros mecanismos ativados com o aumento da VPA, acredita-se que seja a hiperativação dos principais sistemas de controle a curto e longo prazo da pressão, SNS e SRA, os responsáveis em produzir os danos em órgãos alvo observado em situações de alta variabilidade da pressão (SU, 2006; YASUOKA et al., 2013).

Apesar dos inúmeros estudos no campo da DSA, poucos foram os trabalhos que focaram na correlação entre a retirada deste mecanismo e as consequências sobre o rim, o responsável pelo controle a longo prazo da PA. Com base nos trabalhos relacionando os dois mecanismos, temos que quando a DSA é promovida, nota-se que ocorrem danos à estrutura renal, porém, nada a respeito da função renal em si (ORFILA et al., 1993). Cabe notar que em muitas doenças que apresentam uma diminuição do ISB e aumento da VPA, como acontece na hipertensão arterial, na diabetes e na dislipidemia, os rins podem sofrer danos estruturais podendo, em alguns casos, apresentar uma diminuição de sua função, o que caracterizaria um quadro de insuficiência renal, como demonstrado por outros pesquisadores (VINIK et al., 2003; GRIFFIN; BIDANI, 2004; BALARINI et al., 2011).

1.3 Doença renal crônica

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada pela perda lenta, progressiva e irreversível das funções renais. Apesar de haver uma conceituação para a mesma, até o início do século XXI o diagnóstico da DRC era controverso e complicado, devido à falta de uma diretriz a respeito da doença, o que acabava em classificar pessoas doentes como saudáveis. Some-se a este quadro a falta de clareza na classificação do estágio da doença nos pacientes diagnosticados com a DRC, o que tornava o acompanhamento e tratamento deficitários (BASTOS; KIRSZTAJN, 2011).

Devido a este cenário controverso a respeito da DRC, a Kidney Disease Outcome Quality Initiative (KDOQI), com o apoio da National Kidney Foundation, lançou no ano de 2002 um guia contendo diretrizes a respeito da DRC, cabendo um foco especial quanto ao diagnóstico da doença, que passou a ser feito com base em três pilares: a taxa de filtração glomerular (TFG), marcadores de dano renal (nível plasmático de ureia e proteinúria) e temporalidade da observação. Além disso, o guia também propôs a estratificação da DRC em estágios de 1 a 6, de acordo com a gravidade do diagnóstico feito (NATIONAL KIDNEY FOUNDATION, 2002). O guia proposto pela KDOQI foi aceito mundialmente, inclusive no Brasil, onde serviu de base para a criação das Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica, lançada em 2004 (ROMÃO et al., 2004).

De acordo com as diretrizes brasileiras, a classificação de um paciente como doente renal crônico também tem como base a TFG, bem como a presença ou não de lesões renais, caracterizada pela presença de proteínas na urina e/ou nível de ureia plasmática. Assim como proposto pelo KDOQI, a DRC é dividida em estágios, correspondendo cada estágio a um grau de insuficiência renal (IR), como visto na Tabela 1.

Tabela 1 – Estratificação e classificação da DRC (Modificada de Romão et al., 2004).

Estágio	TFG (ml/min/1.73m ²)	Grau de IR
0	> 90	Ausência de lesão renal
1	> 90	Lesão renal leve (proteinúria ou uréia plasmática pouco elevadas) TFG normal
2	60 – 90	IR leve ou funcional
3	30 – 59	IR moderada ou laboratorial
4	15 – 29	IR severa ou clínica
5	< 15	IR terminal ou dialítica

No Brasil, estima-se que a prevalência da DRC seja de 483 por milhão de habitantes, enquanto a incidência é estimada em 100 a cada 1 milhão de habitantes, números estes subestimados, uma vez que o diagnóstico dos doentes ainda é mal executado, sendo muitas vezes detectado apenas na fase avançada da DRC (ABENSUR; YU; BURDMANN, 2012). No último censo publicado em 2011 pela Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN), notou-se um crescimento de aproximadamente 55% no número de pacientes em diálise desde a implementação das diretrizes para diagnóstico em 2004. Ainda de acordo com o censo de 2011, a principal doença de base associada com a DRC terminal é a hipertensão arterial primária, seguida da diabetes mellitus, que juntas acometem mais 60% dos pacientes com DRC (SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA, 2011).

O fato de a hipertensão arterial primária e a diabetes mellitus serem as principais doenças a coexistirem com a DRC é algo esperado pelo fato de ambas doenças poderem causar danos renais, sendo já demonstrado que a DRC acometerá aproximadamente 40 – 50% dos pacientes com hipertensão arterial e o diabetes mellitus (ROSARIO; WESSON, 2006; SCHENA; GESUALDO, 2005). Apesar disso, os mecanismos envolvidos na produção das lesões renais bem como na progressão da DRC nestes pacientes ainda não estão totalmente esclarecidos. É interessante notar que tanto a hipertensão arterial como o diabetes mellitus apresentam como característica comum o aumento da VPA e a diminuição do ISB (WATSON et al., 1980; ROBINSON; CARR, 2002; TOZAWA et al., 1999), o que nos leva a supor que

danos nos mecanismos de controle da PA possam estar envolvidos na progressão da DRC, presente nestas doenças.

O estudo da DRC em modelos animais pode ser desenvolvido de diversas formas, visto a variedade de modelos existentes, recaindo a escolha no aspecto do desenvolvimento da doença que se deseja estudar (BECKER; HEWITSON, 2013). Neste sentido, um ótimo modelo para analisar a perda progressiva da função renal devido à diminuição na funcionalidade dos néfrons observada na DRC em humanos é a utilização do modelo de ablação renal, também conhecido como nefrectomia de 5/6 (YANG; ZUO; FOGO, 2010; GAVA et al., 2012). A indução da DRC neste modelo é alcançada por meio da retirada do rim direito e remoção dos polos ou por meio do infarto de 2/3 do rim remanescente através da ligação de 2 – 3 ramos da artéria renal (GRIFFIN; PICKEN; BIDANI, 1994).

Após a promoção da nefrectomia de 5/6, observa-se um aumento na função dos néfrons remanescentes, em uma tentativa de compensar a perda da massa renal. No entanto, esse mesmo aumento compensatório dos néfrons acaba por induzir lesões nos mesmos, levando assim a uma progressiva perda de função renal, caracterizada pela glomeruloesclerose, proteinúria, hipertensão arterial sistêmica e glomerular, entre outras modificações metabólicas (GRIFFIN; BIDANI, 2006; GRIFFIN et al., 2000; HOSTETTER et al., 2001). Considera-se que a DRC esteja instalada neste modelo a partir da 4ª semana após o procedimento, correspondendo esse período a fase inicial da doença (YANG; ZUO; FOGO, 2010).

A escolha entre os modelos de nefrectomia de 5/6 deve levar em conta as diferenças existentes entre os mesmos. No modelo em que é realizado o infarto das artérias renais, nota-se a presença de hipertensão arterial, bem como um maior nível de glomeruloesclerose, sendo a hipertensão arterial uma das responsáveis pela maior taxa de desenvolvimento da glomeruloesclerose. Já no modelo em que a remoção dos pólos é realizada observa-se que os animais permanecem normotensos, porém, também desenvolvem glomeruloesclerose (GRIFFIN; PICKEN; BIDANI, 1994).

Como a hipertensão arterial sempre esteve relacionada como uma das responsáveis pelos danos renais, o fato de os animais submetidos à nefrectomia de 5/6 por remoção dos pólos, permanecerem normotensos e mesmo assim desenvolverem glomeruloesclerose parecia ser um dado controverso, até Griffin e colaboradores demonstrarem que apesar de a PA permanecer em níveis normais neste modelo, o mesmo apresentava aumento na VPA, sendo este aumento diretamente correlacionado aos maiores níveis de glomeruloesclerose (GRIFFIN; PICKEN; BIDANI, 2004). No entanto, no trabalho desenvolvido por este grupo, nada foi relatado a respeito do mecanismo barorreflexo ou de algum outro possível mecanismo envolvido no aumento da VPA.

As observações feitas no modelo animal têm suporte quando analisada em conjunto com as observações clínicas, onde já foi demonstrado que pacientes com DRC também apresentam aumento na VPA, assim como observado em pacientes com hipertensão arterial e diabetes (ROBINSON; CARR, 2002; TOZAWA et al., 1999). Além destas observações, outros pesquisadores também mostraram haver uma diminuição no ISB em pacientes com DRC (LAZARUS et al., 1973; PICKERING; GRIBBIN; OLIVER, 1972; STUDINGER et al., 2006), reforçando a ideia de que o prejuízo no barorreflexo estaria envolvido na produção da elevação da VPA, podendo este cenário contribuir para as lesões renais e para a progressão da DRC.

Apesar das inúmeras evidências indicando que o prejuízo no mecanismo barorreflexo do controle da PA seria um dos principais responsáveis em promover o aumento da VPA e das lesões renais, como observado na DRC, nenhum trabalho havia sido desenvolvido associando o modelo de DSA, capaz de promover um grande aumento na VPA, ao modelo de nefrectomia de 5/6, em especial ao modelo de nefrectomia de 5/6 por infarto, cuja principal característica é a hipertensão arterial que, como dito anteriormente, é a principal doença de base a acometer os pacientes com DRC.

Diante do exposto, o presente trabalho foi desenvolvido com o objetivo de responder o seguinte questionamento: poderia um prejuízo prévio do mecanismo do barorreflexo alterar a progressão da DRC?

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a influência da deservação sinoaórtica na progressão da doença renal crônica.

2.2 Objetivos específicos

Avaliar nos animais controle, desnervados, nefrectomizados e desnervados associados à nefrectomia os seguintes parâmetros:

- Variáveis hemodinâmicas (frequência cardíaca, pressão arterial média, diastólica e sistólica) e o índice de sensibilidade do barorreflexo;
- Variabilidade da pressão arterial;
- Índice de hipertrofia cardíaca e renal;
- Parâmetros da função renal (taxa de filtração glomerular, fluxo plasmático renal, fluxo sanguíneo renal, fração de filtração, resistência vascular renal, ureia plasmática, volume-urinário e excreção dos íons);
- Análise histológica (avaliação da glomerulosclerose por meio da coloração de Tricrômio de Masson).

3 Metodologia

3.1 Animais experimentais

Para a consecução dos experimentos foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 250 a 300 g, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura e ciclo de luz (12 horas claro/escuro) controlados, tendo livre acesso à água e comida. Todos os protocolos realizados foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFES (Protocolo número 003/2012).

3.2 Grupos experimentais

Os animais foram divididos randomicamente em quatro grupos experimentais:

- **Grupo controle** (Sham, n=8) – Submetidos à cirurgia fictícia de desnervação e nefrectomia 5/6.
- **Grupo Desnervado** (SAD, n=10) – Submetidos à cirurgia de desnervação sinoaórtica.
- **Grupo Nefrectomizado** (NX, n=6) – Submetidos à cirurgia de nefrectomia de 5/6.
- **Grupo Desnervado + Nefrectomizado** (SAD+NX, n=6) – Submetidos à cirurgia de desnervação sinoaórtica e nefrectomia de 5/6.

O primeiro procedimento cirúrgico a ser realizado foi o de desnervação sinoaórtica ou sua cirurgia fictícia, de acordo com o grupo experimental ao qual se destinava o animal. Quinze dias após este procedimento cirúrgico, os animais foram submetidos à nefrectomia de 5/6 ou a sua cirurgia fictícia e acompanhados por um período de mais 4 semanas, completando um total de 6 semanas. A representação esquemática do protocolo experimental é mostrada na Figura 2.



Figura 2 – Representação esquemática do protocolo experimental.

3.3 Procedimentos Cirúrgicos

3.3.1 *Desnervação sinoaórtica*

Para a realização da DSA foi utilizada a técnica descrita por Krieger (KRIEGER, 1964). Os animais foram anestesiados com ketamina (50 mg/Kg) e xilazina (10 mg/Kg) pela via intraperitoneal (i.p) e em seguida, foram colocados em posição supina. Uma incisão mediana na região cervical anterior foi realizada, de modo a expor os músculos que cobrem a traqueia. Após separação dos músculos pré-traqueais, o feixe vaso-nervoso (constituído pela artéria carótida, nervo vago e tronco simpático) foi cuidadosamente separado em seus componentes. As fibras pressoreceptoras aórticas que trafegam junto ao tronco simpático ou como fibras isoladas foram seccionadas, bem como o nervo laríngeo superior. Logo após, a região da bifurcação carotídea foi extensamente exposta e dissecada dos nervos e tecido conectivo a sua volta, para retirada do gânglio cervical superior e do corpúsculo carotídeo. De forma a completar a desnervação, foi aplicada a região da bifurcação solução fenol a 10%. Estes procedimentos foram realizados bilateralmente.

3.3.2 *Nefrectomia de 5/6*

O procedimento cirúrgico de nefrectomia de 5/6, realizado em uma única etapa, foi executado sob anestesia induzida por mistura de ketamina (50 mg/Kg, i.p) e xilazina (10 mg/Kg, i.p). Os animais foram colocados em posição de decúbito dorsal para a realização da laparotomia. Primeiramente, o rim direito foi exposto e

desencapsulado. Logo em seguida, artéria e veia renal foram amarradas e após confirmação visual da cessão de perfusão para o rim direito, através da mudança em sua coloração de vermelho para um tom marrom, o mesmo foi removido.

Em continuidade, o rim esquerdo foi exposto e desencapsulado. Para completar o procedimento, duas, das três ramificações existentes da artéria renal, foram ligadas, produzindo-se um infarto de aproximadamente 2/3 do rim remanescente, obtendo-se assim um rim com apenas 1/3 de sua capacidade de funcionamento. Ao fim da cirurgia, peritônio e pele abdominal foram suturados.

3.3.3 Canulação para medidas hemodinâmicas

Ao final da 6^a semana, após serem retirados da gaiola metabólica, os animais foram submetidos a cateterização. Para tanto, sob anestesia de ketamina (50 mg/Kg, i.p.) e xilazina (10 mg/Kg, i.p.), cânulas confeccionadas com tubos de polietileno PE-50 e PE-10, preenchidas com solução fisiológica heparinizada e ocluídas com pinos de metal, foram inseridas na veia e artéria femoral para infusão de drogas e medidas hemodinâmicas, respectivamente. Nos grupos SAD e SAD+NX foram utilizadas doses menores (60% da dose normal) do anestésico durante os procedimentos cirúrgicos. Após a implantação das cânulas nos vasos e com a ajuda de um trocater, as cânulas foram passadas subcutaneamente pelo dorso do animal e exteriorizadas na região cervical, de forma a permitir o registro das medidas hemodinâmicas e infusão das drogas nos animais acordados.

3.3.4 Canulação para avaliação da função renal

Vinte e quatro horas após as avaliações hemodinâmicas e confirmação da eficácia da desnervação sinoaórtica, os animais foram anestesiados com tiopental (50 mg/Kg, i.p.) para avaliação de sua função renal. Novamente, nos grupos SAD e SAD+NX foram utilizadas doses menores (60% da dose normal) do anestésico. Foram inseridas nas bexigas dos animais cânulas confeccionadas com tubos de

polietileno PE-240, para obtenção da urina produzida pelo mesmo durante a execução do experimento. Devido ao fato de o anestésico aumentar a produção de muco, também se fez necessária a realização de traqueostomia, com a inserção na traqueia de cânula produzida a partir de tubo de polietileno PE-220, de modo a facilitar a remoção da secreção produzida e respiração do animal.

3.4 Medida do volume urinário

Ao final da 6ª semana, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas e a urina por eles produzida recolhida em potes previamente pesados. Antes de serem colocados para armazenar a urina durante o período de coleta, aos potes foi adicionada vaselina, de modo a impedir a evaporação da urina. A determinação do volume urinário (VU) se fez pelo método gravimétrico, após um período de 24 horas de coleta.

3.5 Avaliações hemodinâmicas

Decorrido um período de 24 horas após a cateterização da veia e artéria femoral, foi realizada a aquisição dos dados de pressão arterial média (PAM), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial sistólica (PAS) e FC em animais acordados. Para tanto, a cânula inserida na artéria foi conectada a um transdutor de pressão, conectado a um sistema de aquisição de dados (BIOPAC Systems, USA) na frequência de 1000 Hz. Após um período de estabilização de 15 minutos, manteve-se o animal conectado por mais um período de 30 minutos para coleta de suas informações hemodinâmicas. A VPA foi avaliada por meio da mensuração do desvio-padrão da pressão arterial média (DP PAM), calculado sobre um período de 5 minutos do registro obtido.

3.6 Avaliação do Barorreflexo

A efetividade da DSA foi verificada por através da avaliação do reflexo pressorreceptor. Imediatamente após o período de aquisição dos dados hemodinâmicos basais do animal, uma cânula extensora, com capacidade de 0,06 ml, foi conectada ao cateter venoso para infusão das drogas. As alterações de pressão arterial foram ocasionadas pela injeção *in bolus* de 4 doses crescentes de fenilefrina (FEN, 0.25 a 32 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.), e de nitroprussiato de sódio (NPS, 0.05 a 1.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$, i.v.). O volume máximo injetado não foi superior a 0,1 ml por dose. Com a utilização dessas doses, foram promovidas variações na PA de no máximo 40 mmHg acima do valor basal, quando utilizada a FEN, ou a mesma magnitude abaixo do valor basal, quando utilizado o NPS. Somente era injetada uma nova dose após o retorno PA e FC aos valores basais.

Para a avaliação da efetividade da DSA, os valores máximos ou mínimos da variação da FC após infusão das drogas foram diminuídos dos valores basais antes da administração, obtendo-se um ΔFC . O mesmo foi feito para a PA, os valores máximos ou mínimos da variação da PA após infusão das drogas foram diminuídos dos valores basais antes da administração, obtendo-se um ΔPA . Por meio da divisão do ΔFC pelo ΔPA , obtém-se o ISB, dado em b.p.m/mmHg. Somente foram considerados desnervados os animais cujo ISB foi menor ou igual a 0,6.

3.7 Avaliação da função renal

Vinte quatro horas após a aquisição das medidas hemodinâmicas e da avaliação da efetividade do barorreflexo, os animais foram submetidos à avaliação de função renal. Após os procedimentos para canulação da bexiga e traqueia, os animais foram conectados a um transdutor de pressão, através da mesma cânula da artéria utilizada nas medidas hemodinâmicas, sendo o transdutor conectado a um sistema de aquisição de dados (BIOPAC Systems, USA). A cânula introduzida na veia foi conectada uma cânula extensora, produzida com tubo de polietileno PE-50, para infusão das soluções. A esta cânula extensora encontrava-se conectada uma

seringa de capacidade de 20 mL (BD Yale, Brasil) na qual foram adicionadas as soluções de infusão. Esta seringa foi posicionada em uma bomba infusora (Harvard Apparatus, USA), mantendo-se uma velocidade constante de infusão de 0,1 mL/min.

Esta primeira infusão, que perdurou por 30 minutos, foi realizada com a injeção de solução composta por manitol 3% e NaCl 0,9%. Sendo o manitol um carboidrato de alto peso molecular livremente filtrado nos glomérulos, sua presença nos túbulos renais aumenta pressão osmótica, conseqüentemente, aumentando a diurese nos animais (KARAJALA; MANSOUR; KELLUM, 2009).

As substâncias utilizadas na determinação dos parâmetros renais foram a inulina (IN) e o paraminohipurato de sódio (PAH). Imediatamente ao fim do período de infusão inicial foi administrado, através do cateter da veia, 1 mL de dose *prime* constituída de solução salina de manitol 3% contendo 90 mg de IN (Sigma) e 2 mg de PAH (Sigma). Em seguida, foi mantida infusão, com auxílio da bomba infusora, de solução salina com manitol a 3% contendo IN (15 mg/mL) e PAH (4 mg/mL) a uma velocidade constante de 0,1 mL/min, durante toda a duração do experimento.

A contar do início da administração da dose *prime*, foram coletadas 4 amostras de 0,8 mL de sangue, mantendo-se um intervalo de 30 minutos entre cada coleta. Essas amostras foram utilizadas para a determinação do hematócrito (Hct) e das concentrações de IN e PAH no plasma.

Na determinação do Hct foram utilizados tubos capilares heparinizados (Perfecta) que, após a aplicação da amostra de sangue, foram centrifugados por 1 minuto (Centrimicro Mod. 211, Fanem – SP). O restante da amostra de sangue coletada foi centrifugada por 10 minutos a 3000 rpm (Centrifuge 5415D, Eppendorf, Germany), sendo o plasma separado e armazenado em geladeira até a dosagem.

Da mesma forma como as amostras de sangue, as amostras de urina foram coletadas em intervalos de 30 minutos, a contar da infusão da dose *prime*, perfazendo um total de 4 amostras. Para esta coleta foram utilizados tubos de ensaios contendo uma pequena quantidade de vaselina. Antes do início das coletas, os tubos foram identificados e pesados. Ao final de cada coleta, procedeu-se novamente a pesagem dos tubos contendo as amostras. Do peso encontrado,

subtraíu-se o peso inicial, obtendo-se assim a determinação do volume de urina produzida no intervalo de tempo. Como as amostras de plasma, as amostras de urina foram armazenadas na geladeira até o momento da dosagem.

Os seguintes parâmetros da função renal foram avaliados: TFG, fluxo plasmático renal (FPR), fluxo sanguíneo renal (FSR), fração de filtração (FF) e a RVR.

A TFG foi determinada através do *clearance* de IN, enquanto o FPR foi determinado por meio do *clearance* de PAH. A IN é um polissacarídeo que não sofre nenhum tipo de metabolismo no organismo. É livremente filtrada pelos glomérulos, não sendo nem reabsorvida e nem secretada ao nível dos túbulos renais, portanto, considerada uma substância padrão ouro na determinação da TFG. Já o PAH é um anion orgânico também livremente filtrado pelos glomérulos e altamente secretado no túbulo proximal, sendo assim, um ótimo marcador na determinação do FPR (TOTO, 1995).

Primeiramente, o fluxo urinário (FU) foi calculado segundo a equação:

$$FU = \frac{P_f - P_i}{T}$$

Onde:

Pf: peso final do tubo com urina

Pi: peso inicial do tubo

T: tempo da coleta (minuto)

A densidade da urina foi considerada como aproximadamente 1 g/mL, portanto, o FU foi expresso em mL/min.

Após a determinação das concentrações plasmáticas e urinárias de IN e PAH, TFG e FPR foram calculados a partir do *clearance* das respectivas substâncias em relação ao peso de cada animal, por conseguinte, os valores de TGF e FPR foram expressos em mL/min/Kg. Para este cálculo, a seguinte fórmula foi utilizada:

$$C_x = \left\{ \frac{[X_{ur}] \times FU}{[X_{pl}]} \right\} : M$$

Onde:

C_x : *clearance* da substância (IN ou PAH) em relação ao peso do animal

$[X_{ur}]$: concentração da substância na urina

$[X_{pl}]$: concentração da substância no plasma

FU: fluxo urinário (mL/min)

M: peso corporal do animal (Kg)

Para o cálculo do FSR, expresso em mL/min/Kg, a seguinte fórmula foi utilizada:

$$FSR = \frac{FPR}{1 - HCT}$$

Onde:

FSR: fluxo sanguíneo renal

FPR: fluxo plasmático renal

HCT: hematócrito

A partir dos valores da TFG e do FPR foi determinada a FF, segundo a fórmula:

$$FF = \frac{TFG}{FPR} \times 100$$

Sendo:

FF: fração de filtração

TFG: taxa de filtração glomerular

FPR: fluxo plasmático renal

Com base na lei de Ohm, a RVR foi mensurada. Para tanto, foram utilizados os valores do FSR e da PAM, obtidos durante o experimento da função renal, na seguinte fórmula:

$$RVR = \frac{PAM}{FSR}$$

Na qual:

RVR: resistência vascular renal

PAM: pressão arterial média

FSR: fluxo sanguíneo renal

3.8 Quantificação de íons, ureia, IN e PAH

A mensuração da ureia plasmática (UP), bem como a quantificação dos íons Ca^{2+} e Cl^- nas amostras de urina e plasma, foi realizada por meio de testes enzimáticos colorimétricos através de kits comerciais (Bioclin). Já a quantificação da IN se deu pelo método colorimétrico da Antrona, enquanto o PAH foi quantificado pelo método descrito por Smith (SMITH et al., 1945). Na leitura da cor dos ensaios citados foi utilizado o espectrofotômetro modelo Sp 220 da Biospectro. Para a determinação

dos íons Na^+ e K^+ nas amostras de urina e plasma foi utilizado o fotômetro de chama B262 da Micronal.

3.9 Avaliação da excreção fracional de eletrólitos

A excreção fracional (EF) de eletrólitos foi quantificada a partir dos valores da carga excretada (CE) e carga filtrada (CF), de acordo com as fórmulas que seguem:

$$\text{CE} = [\text{U}_x] \times \text{FU}$$

Sendo:

CE: carga excretada

$[\text{U}_x]$: concentração urinária do íon

FU: fluxo urinário

$$\text{CF} = [\text{P}_x] \times \text{TFG}$$

Onde:

CF: carga filtrada

$[\text{P}_x]$: concentração plasmática do íon

TFG: taxa de filtração glomerular

$$EF = \frac{CE}{CF} \times 100$$

Onde:

EF: excreção fracional

CE: carga excretada do íon

CF: carga filtrada do íon

3.10 Medida de hipertrofia

Ao fim dos experimentos, os animais tiveram coração e rins retirados e pesados. Da mesma forma, a tíbia esquerda foi retirada, limpa e medida. A hipertrofia foi determinada por meio da divisão do peso dos órgãos pelo tamanho da tíbia. Dessa forma, o índice de hipertrofia foi expresso em g/cm.

3.11 Análise Histológica

Após serem pesados para avaliação da hipertrofia, os rins foram seccionados longitudinalmente e armazenados em solução de Bouin para fixação até o momento do corte histológico. Previamente à microtomia, as peças foram desidratadas, diafanizadas, parafinizadas e emblocadas. Os cortes foram feitos a uma espessura de 5 μm . Para evitar a avaliação de um mesmo glomérulo mais de uma vez, os cortes estavam afastados um do outro a uma distância de 200 μm .

Para a mensuração da glomeruloesclerose foi utilizada a coloração por tricrômio de masson. Após coloração, foram fotografados aleatoriamente 30 glomérulos. Por meio do programa *Image J*, foi determinada a percentagem de área corada em cada glomérulo. O índice de glomeruloesclerose foi calculado utilizando-se uma escala semiquantitativa. Foi atribuído valor 0 (zero) quando não havia presença de

colágeno, valor 1 (um) quando a deposição de colágeno ocupava até 25% do glomérulo, valor 2 (dois) quando o colágeno ocupava de 25 a 50% do glomérulo, valor 3 (três) quando ocupava de 50 a 75%, e o valor 4 (quatro) quando o colágeno estava presente em mais de 75% do glomérulo. A média dos valores obtidos nos 30 glomérulos foi considerada como índice de glomeruloesclerose para cada animal.

3.12 Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas por meio do software GraphPad Prism 5®, utilizando-se o teste de análise de variância (ANOVA) de duas vias seguido do teste *post hoc* de Bonferroni, além do teste t de Student para amostras independentes conforme necessidade. Todos os dados foram analisados quanto à normalidade de distribuição da amostra por meio do teste de Kolmogorov-Smirnov. Os resultados estão expressos como média \pm EPM, sendo considerados significativos os valores de $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Valores basais da frequência cardíaca, pressão arterial média, pressão arterial sistólica e diastólica.

Os resultados da análise das variáveis hemodinâmicas encontram-se demonstrados na Tabela 2. Nenhuma diferença foi observada entre os grupos Sham e SAD com relação aos parâmetros estudados. Em contrapartida, em ambos os grupos nefrectomizados – NX e SAD+NX, as pressões arteriais sistólica, diastólica e média mostraram-se elevadas quando comparadas aos grupos Sham e SAD. Adicionalmente, a associação da nefrectomia com a desnervação promoveu um aumento ainda maior na PAM do grupo SAD+NX (182 ± 7 mmHg ^ep < 0.01) quando comparado ao grupo NX (154 ± 3 mmHg), fato também observado para a PAS, que foi maior no grupo SAD+NX (224 ± 10 mmHg ^ep < 0.01) em relação a NX (184 ± 10 mmHg). Quanto a FC, o grupo SAD+NX foi o único a apresentar uma elevação quando comparado aos demais grupos.

Tabela 2 – Variáveis Hemodinâmicas: pressão arterial média (PAM), pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC) nos diferentes grupos estudados. Os valores são expressos como média \pm EPM. ^ap < 0.01 vs. Sham, ^cp < 0.01 vs. SAD, ^ep < 0.01 vs. NX.

Parâmetros	Grupos			
	Sham	SAD	NX	SAD+NX
PAM (mmHg)	107 \pm 1	109 \pm 1	154 \pm 3 ^{ac}	182 \pm 7 ^{ace}
PAD (mmHg)	80 \pm 2	83 \pm 3	128 \pm 10 ^{ac}	145 \pm 10 ^{ac}
PAS (mmHg)	140 \pm 2	135 \pm 3	184 \pm 10 ^{ac}	224 \pm 10 ^{ace}
FC (b.p.m)	344 \pm 5	366 \pm 6	356 \pm 8	387 \pm 16 ^a

4.2 Avaliação do índice de sensibilidade do barorreflexo

Os resultados do teste de sensibilidade do barorreflexo são demonstrados nas Figuras 3 e 4. Na Figura 3 estão representados os resultados das respostas de

bradicardia frente a elevação de pressão arterial induzida por injeção de FEN. Como esperado, o ISB encontrou-se consideravelmente reduzido nos grupos SAD ($-0,49 \pm 0,03$ b.p.m/mmHg $^{\$}p < 0,01$) e SAD+NX ($-0,26 \pm 0,05$ b.p.m/mmHg $^{\$}p < 0,01$) quando comparado ao grupo controle ($-2,93 \pm 0,11$ b.p.m/mmHg). Interessante notar que o índice aqui analisado também mostrou-se reduzido nos animais do grupo NX ($2,00 \pm 0,12$ b.p.m/mmHg $^{\$}p < 0,01$) quando comparados ao grupo Sham. É interessante notar que a associação da nefrectomia com a desnervação promoveu uma diminuição ainda maior do ISB, quando comparamos este grupo aos animais SAD.

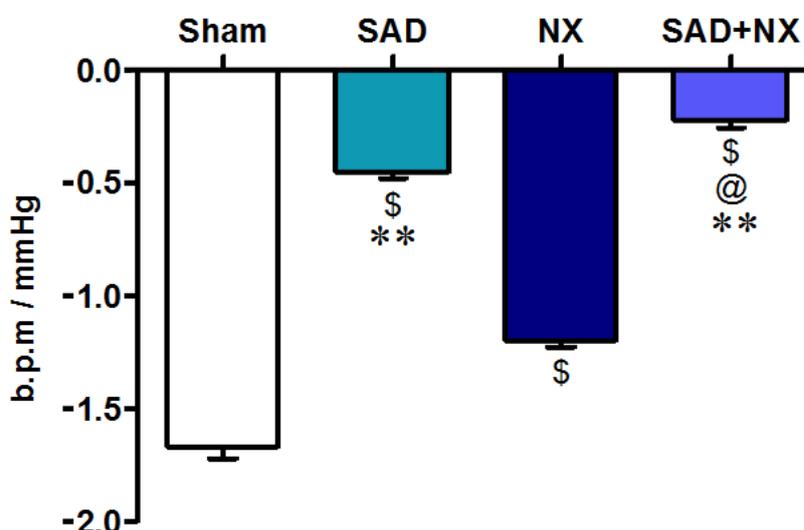


Figura 3 – Índice de sensibilidade do barorreflexo avaliado pela resposta bradicárdica nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX. $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham, $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs. NX.

Na Figura 4 estão representados os resultados das respostas de taquicardia frente à queda da pressão arterial induzida por injeção de NPS. Assim como observado para a resposta bradicárdica, o ISB mostrou-se também reduzido nos grupos SAD ($0,45 \pm 0,05$ b.p.m/mmHg $^{\$}p < 0,01$), SAD+NX ($0,23 \pm 0,03$ b.p.m/mmHg $^{\$}p < 0,01$) e NX ($1,20 \pm 0,05$ b.p.m/mmHg $^{\$}p < 0,01$) quando comparados ao grupo Sham. Novamente, a associação de SAD e NX promoveu um menor ISB no grupo SAD+NX ($0,23 \pm 0,03$ b.p.m/mmHg $^{\textcircled{a}}p < 0,05$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs. NX).

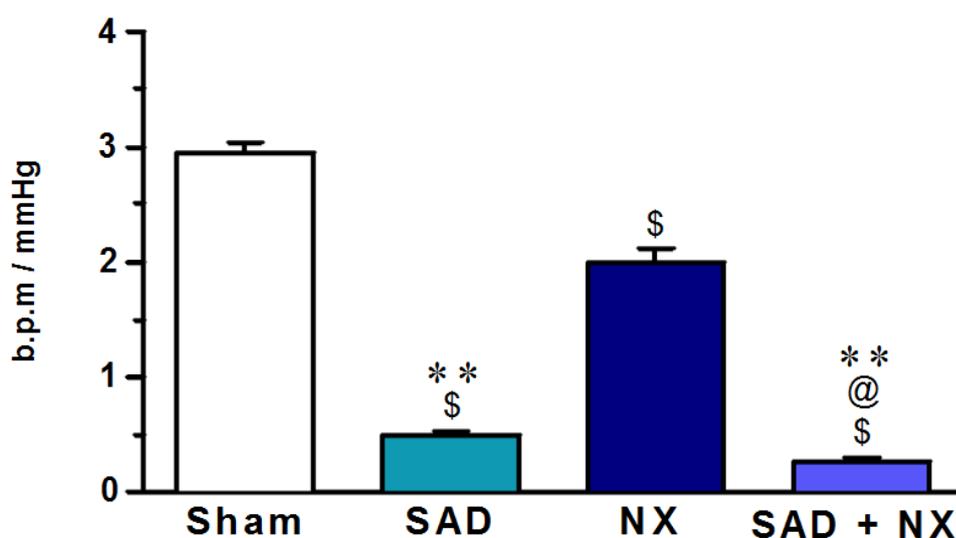


Figura 4 – Índice de sensibilidade do barorreflexo avaliado pela resposta taquicárdica nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX. \$p<0,01 vs. Sham, @p<0,01 vs. SAD, **p<0,01 vs. NX.

4.3 Análise da variabilidade da pressão arterial

Os dados referentes à avaliação da VPA são demonstrados na Figura 5. Na Figura 5A estão representados segmentos de registros típicos de cada grupo, obtidos durante o período basal. Nela estão representadas a PAM (traçado amarelo) e a PAP (em preto), sendo claramente visível o grande aumento na VPA nos grupos SAD e SAD+NX e um leve aumento no grupo NX quando comparados ao grupo Sham. Na Figura 5B são apresentados os valores do DP PAM. Quando comparados ao grupo Sham ($2,39 \pm 0,05$ mmHg) todos os grupos apresentaram aumento no DP PAM – NX ($3,69 \pm 0,12$ mmHg \$p<0,01), SAD ($5,53 \pm 0,13$ mmHg \$p<0,01) e SAD+NX ($8,51 \pm 0,12$ mmHg \$p<0,01). Este aumento na VPA é mais pronunciado nos grupos submetidos à desnervação sinoaórtica, sendo também significativamente superior quando comparado ao grupo NX. Assim como em outros parâmetros observados, a associação da nefrectomia com a desnervação sinoaórtica promoveu uma piora no quadro observado, sendo que o grupo SAD+NX apresentou o maior DP PAM quando comparado a todos os demais grupos.

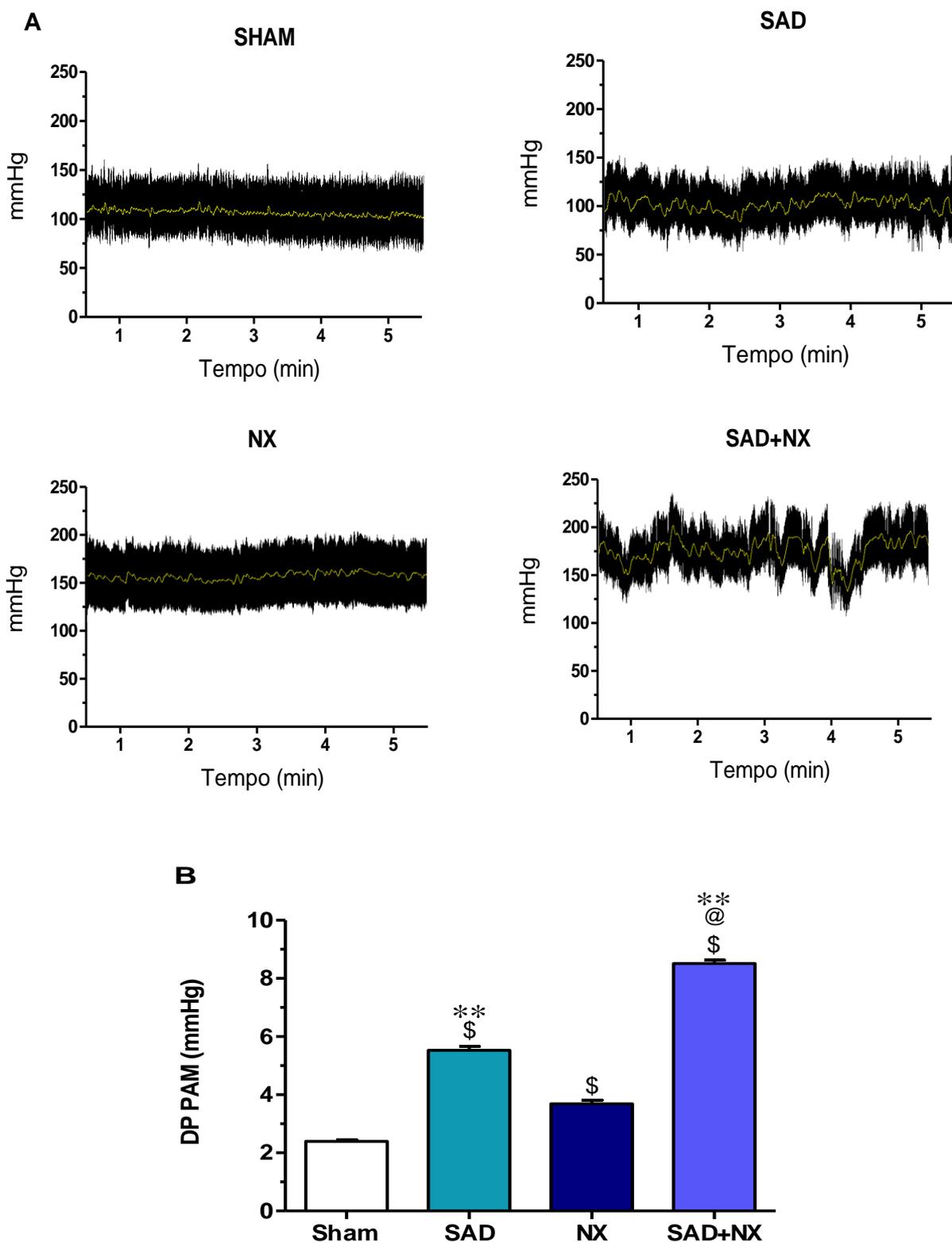


Figura 5 – Em A, representação de registros típicos mostrando o aumento na variabilidade da pressão arterial nos grupos SAD, NX e SAD+NX. A pressão arterial média é mostrada pelo traço em amarelo, enquanto que a pressão arterial pulsátil é mostrada em preto. Em B, representação da média dos desvios-padrão da pressão arterial média (DP PAM) obtidos da análise de um período de 5 minutos do registro basal. \$ $p < 0,01$ vs. Sham, @ $p < 0,01$ vs. SAD, ** $p < 0,01$ vs. NX.

4.4 Índice de Hipertrofia

Os resultados quanto à hipertrofia do coração e rim são mostrados na Tabela 3. A relação coração / tibia apresentou-se elevada em todos os grupos quando comparados ao grupo Sham. Já quanto à relação rim / tibia, somente os animais do grupo SAD+NX apresentaram aumento, não sendo observada diferença neste parâmetro entre os demais grupos estudados.

Tabela 3 – Índice de hipertrofia calculado pela relação entre o peso do coração pela tibia e relação do peso do rim pela tibia. Os valores são expressos como média \pm EPM. ^ap < 0.01 vs Sham, ^cp < 0.01 vs SAD, ^dp < 0.05 vs SAD, ^fp < 0.05 vs NX.

	Grupos			
	Sham	SAD	NX	SAD+NX
Coração / Tibia (g/cm)	0,31 \pm 0,01	0,36 \pm 0,01 ^a	0,36 \pm 0,01 ^a	0,41 \pm 0,01 ^{adf}
Rim / Tibia (g/cm)	0,39 \pm 0,01	0,41 \pm 0,02	0,43 \pm 0,02	0,53 \pm 0,03 ^{acf}

4.5 Avaliação da função renal

4.5.1 Taxa de filtração glomerular

Na Figura 6 são apresentados os resultados do *clearance* de IN, que representa a TFG. Nota-se que não houve diferença entre o grupo SAD ($6,6 \pm 0,4$ mL/min/Kg) e Sham ($6,5 \pm 0,4$ mL/min/Kg). Tanto o grupo NX quanto o grupo SAD+NX apresentaram uma redução da TFG ($1,8 \pm 0,2$ e $1,9 \pm 0,4$; respectivamente), sendo essa significativamente diferente dos grupos Sham e SAD ($^{\$}p < 0,01$ vs. Sham; $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD).

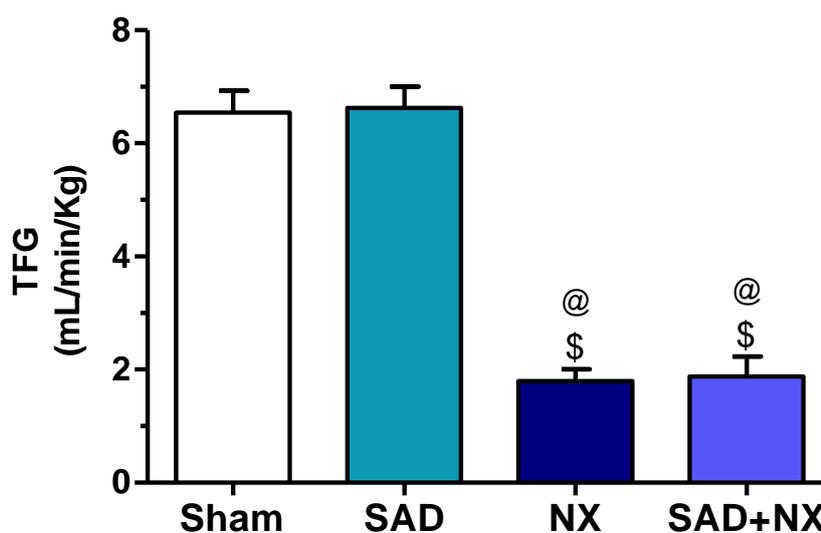


Figura 6 – Taxa de filtração glomerular (TFG) nos diferentes grupos estudados. $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham, $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD.

4.5.2 Fluxo plasmático renal

Os resultados dos *clearance* do PAH, que representa o FPR, são mostrados na Figura 7. Apesar de ter ocorrido uma diminuição do FPR no grupo SAD ($23,7 \pm 1,4$ mL/min/Kg), esta não foi significativamente diferente em relação ao grupo Sham ($27,9 \pm 2,3$ mL/min/Kg). No entanto, houve uma diminuição no FPR nos animais do grupo NX ($4,5 \pm 0,3$ mL/min/Kg; $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham; $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD) quando comparados aos demais grupos. Adicionalmente, a redução do FPR foi ainda maior nos animais submetidos à desnervação + nefrectomia quando comparado aos demais grupos (SAD+NX: $2,9 \pm 0,2$ mL/min/Kg; $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham; $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD; $^{**}p < 0,01$ vs. NX).

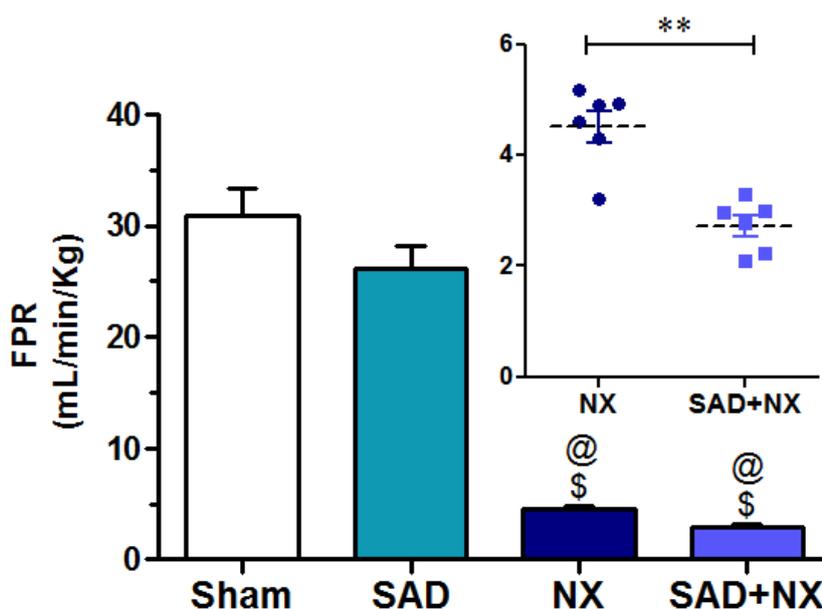


Figura 7 – Fluxo plasmático renal (FPR) nos diferentes grupos estudados. $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham, $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs. NX

4.5.3 Fluxo sanguíneo renal

Não houve diferença significativa entre o Hct do grupo Sham ($42,5 \pm 0,7$ %) e SAD ($39,0 \pm 1,1$ %). No entanto, ambos os grupos submetidos à nefrectomia apresentaram diminuição significativa ($p < 0,01$) deste parâmetro em relação aos demais grupos: NX ($29,1 \pm 0,8$ %) e SAD+NX ($32,8 \pm 1,1$ %). Quanto ao FSR, em relação ao grupo Sham ($53,3 \pm 4,0$ mL/min/Kg) todos os grupos apresentaram uma redução neste parâmetro: SAD ($41,4 \pm 2,5$ mL/min/Kg; $^{\#}p < 0,05$), NX ($6,4 \pm 0,4$ mL/min/Kg; $^{\$}p < 0,01$) e SAD+NX ($3,5 \pm 0,7$ mL/min/Kg; $^{\$}p < 0,01$). Da mesma forma, houve diferença significativa nesta redução no grupo NX quando comparados ao grupo SAD, $^{\textcircled{a}}p < 0,01$. Mais uma vez, a associação da DSA com a nefrectomia foi capaz de induzir uma piora no parâmetro analisado quando comparado aos resultados dos grupos em que o procedimento foi realizado de forma isolada ($^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs. NX). Os resultados das medidas do FSR estão representados na Figura 8.

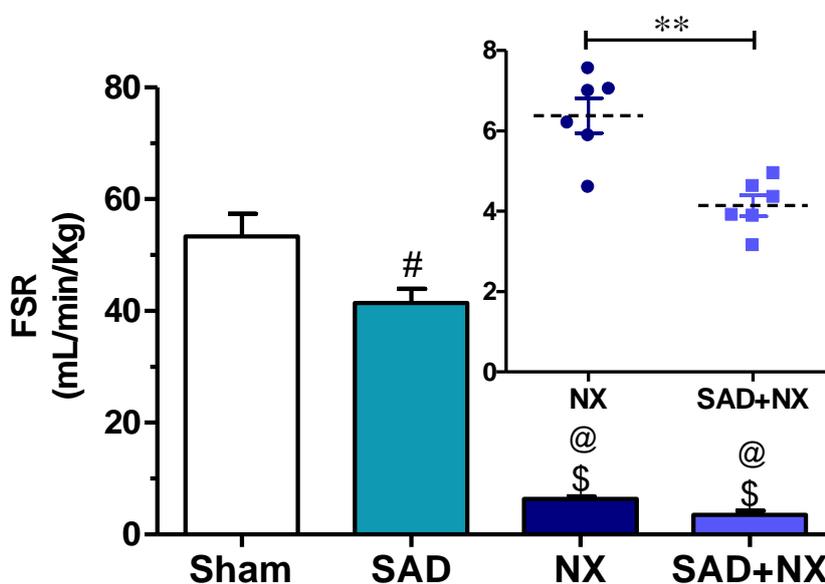


Figura 8 – Fluxo sanguíneo renal (FSR) nos diferentes grupos estudados. $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham, $^{\#}p < 0,05$ vs. Sham, $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs. NX.

4.5.4 Fração de filtração

As frações de filtração dos grupos deste trabalho são apresentadas na Figura 9. Não houve diferença estatística entre os grupos Sham ($23,1 \pm 1,4$; %) e SAD ($28,3 \pm 2,6$; %). Entretanto, tanto o grupo NX quanto o grupo SAD+NX apresentaram um aumento significativo nos valores de FF em relação aos demais grupos ($41,3 \pm 3,0$ e $53,2 \pm 3,3$; %; respectivamente), resultado este que foi mais pronunciado no grupo SAD+NX ($^{\&}p < 0,05$ vs. NX).

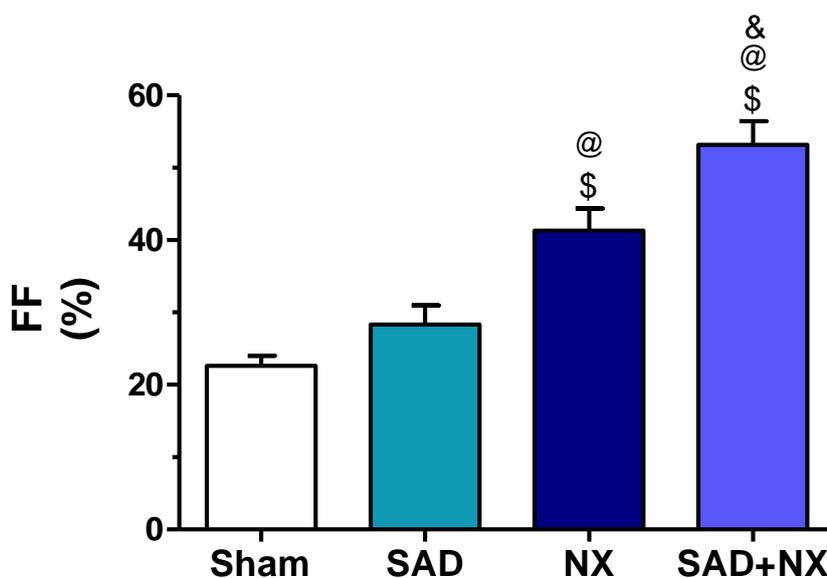


Figura 9 – Fração de Filtração (FF) obtida pela relação entre TFG e FPR. $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham, $^{\@}p < 0,01$ vs. SAD, $^{\&}p < 0,05$ vs. NX.

4.5.5 Resistência vascular renal

Quanto à RVR, observou-se um aumento no grupo SAD ($2,8 \pm 0,2$; u.r) em relação ao grupo Sham ($2,1 \pm 0,1$) ($^{\#}p < 0,05$). O mesmo ocorreu para nos animais do grupo NX ($22,4 \pm 2,7$; u.r) e SAD+NX ($32,2 \pm 1,8$; u.r), cujo aumento foi significativamente maior tanto em relação ao grupo Sham quanto em relação ao grupo SAD ($^{\$}p < 0,01$ vs.

Sham; @p<0,01 vs. SAD). Mais uma vez, a associação entre DSA e nefrectomia promoveu uma piora no resultado no grupo SAD+NX quando comparado aos grupos em que os procedimentos foram realizados de forma isolada, visto que a RVR foi maior nos animais do grupo SAD+NX. A RVR encontra-se representada na Figura 10.

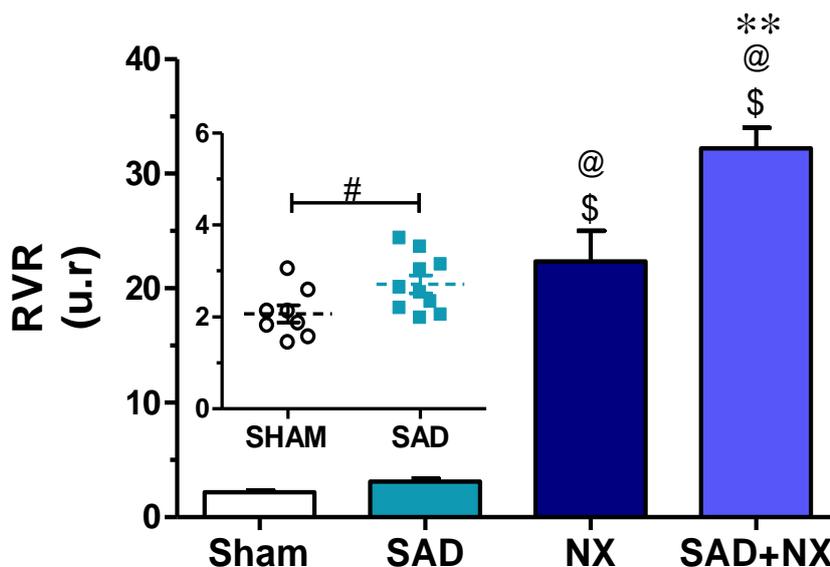


Figura 10 – Resistência vascular renal (RVR). \$p<0,01 vs. Sham, #p<0,05 vs. Sham @p<0,01 vs. SAD, **p<0,01 vs. NX.

4.6 Excreção renal de água, eletrólitos e uremia

O volume urinário foi medido após 24 horas de coleta da urina dos animais alocados em gaiolas metabólicas. É possível notar um aumento na excreção de água em todos os grupos em relação ao grupo Sham, sendo este aumento aproximadamente 5 vezes maior no grupo SAD+NX em comparação ao grupo Sham. Quanto a análise da excreção renal de Na⁺, K⁺, Cl⁻ e Ca²⁺, foi avaliada a porcentagem da fração de excreção (FE%). De uma maneira geral, houve aumento na FE% para todos os íons em todos os grupos, quando comparados ao grupo Sham. Em relação a FE% do Na⁺ e K⁺, o aumento observado no grupo SAD em relação ao Sham não atingiu diferença significativa. Entretanto, essa diferença foi estatisticamente diferente nos grupos NX e SAD+NX em relação aos demais grupos, atingido grau estatístico também entre si. Já quanto a FE% do Ca²⁺ e do Cl⁻, o aumento constatado foi

significativamente diferente em todos os grupos quando comparados ao Sham. Por fim, os animais dos grupos submetidos à nefrectomia apresentam um aumento da UP em relação aos grupos Sham e SAD, sendo que os animais do grupo SAD+NX tiveram um aumento ainda maior deste parâmetro em relação ao grupo NX. Os resultados dessa análise são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Excreção renal de água, eletrólitos e ureia nos grupos experimentais. Volume urinário (VU), Fração de excreção (FE) dos íons sódio (Na^+), potássio (K^+), cálcio (Ca^{2+}), cloreto (Cl^-) e ureia plasmática (UP). ^ap < 0.01 vs Sham, ^bp < 0.05 vs Sham, ^cp < 0.01 vs SAD, ^ep < 0.01 vs NX, ^fp < 0.05 vs NX.

Parâmetros	Grupos			
	Sham	SAD	NX	SAD+NX
VU (mL/24h)	12,5±1,3	25,2±0,7 ^a	38,3±3,2 ^{ac}	57,4±6,0 ^{ace}
FE Na^+ (%)	1,9±0,1	2,7±0,3 ^b	7,8±0,7 ^{ac}	10,3±0,9 ^{ace}
FE K^+ (%)	25,0±2,5	30,6±1,9	69,3±9,3 ^{ac}	106,6±9,8 ^{ace}
FE Cl^- (%)	3,4±0,1	6,4±0,7 ^a	14,4±1,1 ^{ac}	17,4±0,2 ^{ace}
FE Ca^{2+} (%)	0,62±0,09	1,46±0,20 ^a	7,88±1,51 ^{ac}	15,43±2,43 ^{ace}
UP (mmol/L)	6,4±0,3	5,9±0,4	15,5±1,3 ^{ac}	22,1±2,5 ^{acf}

4.7 Análise Histológica

As fotos dos cortes histológicos do grupo Sham, SAD, NX e SAD+NX são mostradas na Figura 11, enquanto os resultados da avaliação da área ocupada pela deposição de colágenos nos diferentes grupos são mostrados na Figura 12. Não foi observada diferença estatística entre os grupos Sham (9,3±1,5, %) e SAD (11,0±1,0; %). No entanto, o grupo NX (44,8±1,2; %) apresentou aumento da área glomerular ocupada por colágeno quando comparado aos grupos Sham e SAD ([§]p < 0,01 vs. Sham; [@]p < 0,01 vs. SAD). A maior porcentagem de área corada foi observada no grupo SAD+NX (49,9±1,2; %), sendo esta significativamente diferente dos demais grupos ([§]p < 0,01 vs. Sham; [@]p < 0,01 vs. SAD, [&]p < 0.05 vs NX).

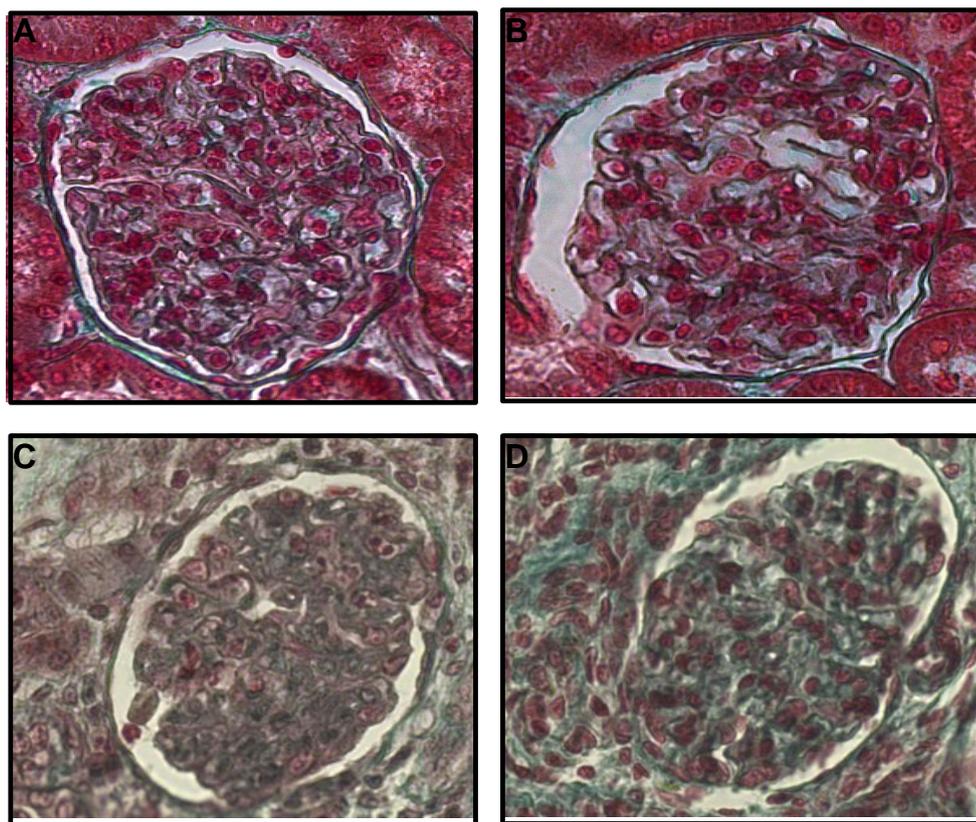


Figura 11 – Fotos histológicas de glomérulos dos grupos Sham (A), SAD (B), NX (C) e SAD+NX (D) corados com tricrômio de masson.

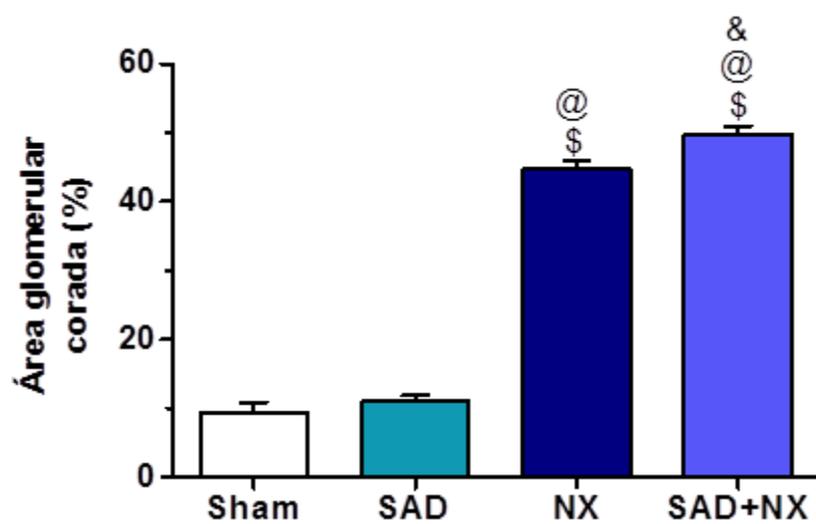


Figura 12 – Fração de colágeno glomerular nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX. \$ $p < 0,01$ vs. Sham, @ $p < 0,01$ vs. SAD, & $p < 0,05$ vs. NX.

Do mesmo modo que a análise da área glomerular corada, a avaliação do índice de glomeruloesclerose revelou diferenças significativas entre os animais dos grupos NX ($2,5\pm 0,07$) em relação aos animais do grupo Sham (1,0) e SAD (1,0). O maior valor para o índice de glomeruloesclerose foi encontrado no grupo SAD+NX ($2,5\pm 0,07$), sendo este significativamente diferente em relação aos demais grupos ($^{\$}p < 0,01$ vs. Sham; $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs NX). Estes resultados estão representados na Figura 13.

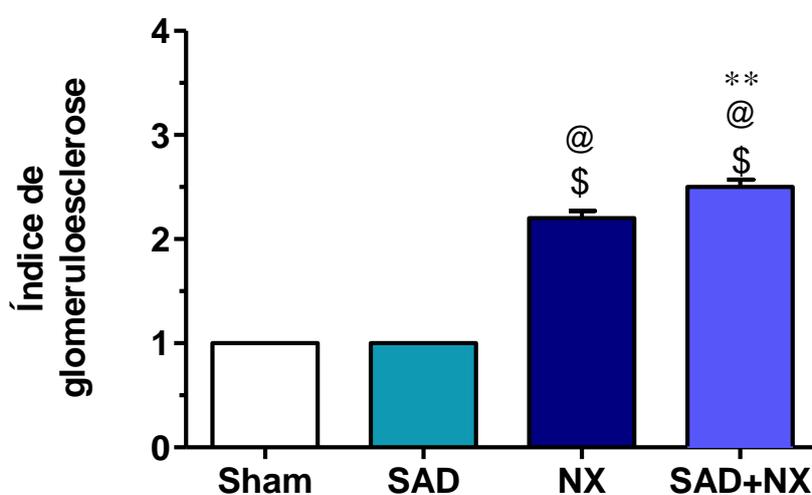


Figura 13 – Índice de glomeruloesclerose nos grupos Sham, SAD, NX e SAD+NX. $^{\$}p < 0,01$ vs. Sham, $^{\textcircled{a}}p < 0,01$ vs. SAD, $^{**}p < 0,01$ vs. NX.

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm demonstrado que inúmeras doenças como aterosclerose, hipertensão, diabetes, síndrome de Riley Day e a doença renal crônica apresentam um fator em comum: aumento na variabilidade da pressão arterial (DI IORIO et al., 2012; FLORAS et al., 1988; GOMEZANGELATS et al., 2004; NUSSINOVITCH et al., 2005; ROMAN et al., 2001). Nesse cenário, a quantificação da VPA surge como um novo marcador de severidade de danos a órgãos alvo, sendo demonstrado que o aumento na VPA, de maneira geral, está relacionado a um pior prognóstico das doenças cardiovasculares e renais (DI IORIO et al., 2013; MIAO et al., 2006; PARATI, 2003). Assim sendo, o presente trabalho teve como objetivo responder a seguinte pergunta: sendo o aumento da VPA um marcador de mau prognóstico, quais as consequências de sua existência prévia para a progressão da DRC? Além disto, quais seriam as consequências da retirada

de um mecanismo que controle a curto prazo da pressão arterial sobre um órgão envolvido no controle a longo prazo da pressão arterial, no caso os rins?

Nossos resultados mostraram que associação entre DSA e a nefrectomia foi capaz de produzir alterações profundas em quase todos os parâmetros analisados, como visto pelos maiores níveis de PAM, maior hipertrofia cardíaca e renal, menores taxas de perfusão renal e aumento da resistência vascular renal, entre outras alterações que foram observadas nos animais do grupo SAD+NX. Isso nos demonstra que o prejuízo no mecanismo do barorreflexo presente na DRC (ROBINSON; CARR, 2002) confere um pior prognóstico para a evolução da doença.

Um ótimo modelo animal para o estudo da VPA é a DSA. Inicialmente considerado um modelo de hipertensão neurogênica (KRIEGER, 1964), atualmente a DSA crônica tem sido considerada um excelente modelo experimental para o estudo da VPA (KUDO et al., 2009; MIAO; SU, 2002; SU; MIAO, 2002), uma vez que a PAM retorna ao seu valor basal ainda nos primeiros dias após a desnervação, mas mantém-se a labilidade da mesma (NORMAN; COLEMAN; DENT, 1981; VASQUEZ; KRIEGER, 1982). Como pôde ser visto nos resultados apresentados, na 6ª semana após a desnervação os animais apresentaram uma diminuição no ISB acompanhada de um aumento na VPA. O mesmo padrão – diminuição no ISB acompanhada de aumento na VPA – foi também observado nos animais submetidos à nefrectomia. A diminuição do ISB bem como o aumento da VPA já era esperado acontecer nos grupos SAD e SAD+NX, uma vez que a DSA é um modelo já bem reconhecido na promoção da VPA, como discutido anteriormente. No entanto, verificou-se que a diminuição do ISB no grupo SAD+NX foi aproximadamente 2 vezes maior que no grupo SAD, assim como o aumento da VPA foi de aproximadamente 1,5 vezes maior que no grupo SAD. A diminuição do ISB no modelo de nefrectomia usado (nefrectomia de 5/6 provida pelo infarto) é um dado novo, visto que não foi encontrado nenhum trabalho na literatura associando uma diminuição no ISB a este modelo de nefrectomia, embora já se saiba que em outras condições em que a função renal esteja prejudicada, como no diabetes, ocorra uma diminuição na sensibilidade do barorreflexo (VINIK et al., 2003). Quanto ao aumento na VPA em ratos submetidos à nefrectomia 5/6, trabalhos anteriores já haviam demonstrado que 6 semanas após a nefrectomia os animais apresentavam aumento na VPA

(GRIFFIN; PICKEN; BIDANI, 1993; 2004), assim como observado em nossos resultados.

Em seu trabalho com pacientes hipertensos, Watson e colaboradores demonstraram haver uma correlação inversa entre o ISB e a VPA, sendo que, quanto maior a perda na sensibilidade do mecanismo citado, maior foi a VPA (WATSON et al., 1980). Em nosso trabalho, notou-se que os grupos que apresentaram um menor ISB foram os que apresentaram os maiores níveis de VPA. Dessa forma, podemos supor que uma pré condição para o aumento da VPA seja uma diminuição do ISB.

Embora os mecanismos envolvidos no aumento da VPA ainda não estejam elucidados, indícios apontam para uma participação do SNS, (JULIEN; ZHANG; BARRÈS, 1993). Como os barorreceptores são responsáveis em manter a PA em uma estreita faixa de variação durante o dia através de um controle reflexo da atividade simpática – parassimpática, ao se promover a diminuição neste reflexo (como ocorreu na nefrectomia) ou a sua retirada (como ocorre na DSA), ocorre um desbalanço nesse sistema, havendo assim um aumento esporádico e permissivo da atividade simpática.

A hipótese para o aumento da VPA em animais submetidos à DSA devido ao aumento da atividade simpática surge de trabalhos nos quais a atividade do nervo simpático renal (ANRs) foi medida nas fases aguda e crônica após a DSA (horas e semanas, respectivamente). Nestes estudos foi mostrado que nos primeiros dias após a desnervação ocorre um aumento significativo da atividade simpática, fato comprovado pelo aumento da ANRs, retornando a mesma aos valores basais na fase crônica após DSA. No entanto, apesar do retorno da ANRs aos níveis basais, nota-se uma falta de sincronia entre as flutuações ocorridas na PA e os comandos reflexos eferentes. O resultado dessa dessincronização é a exposição dos tecidos a vários curtos momentos de hiperatividade simpática ao longo do dia (BARRES et al., 1992; IRIGOYEN et al., 1995). Sendo o SNS responsável em manter o tônus vascular, aumentos esporádicos na atividade simpática seriam responsáveis em promover o aumento do tônus neurogênico periférico, aumentando-se assim as flutuações na pressão arterial ao longo do dia.

Dando suporte a hipótese da ativação do SNS em animais submetidos à DSA estão os resultados do estudo realizado por Shan e colaboradores no qual demonstraram um aumento nos níveis de noradrenalina (NOR) no SNC, especialmente na medula oblonga e no hipotálamo, regiões envolvidas no controle vasomotor, 18 semanas após a DSA, o que nos leva a crer que haja um aumento da atividade simpática promovida pela DSA (SHAN et al., 2004).

A hipótese da ativação simpática também ganha suporte quando analisada sob a ótica da análise espectral de frequência, modelo este que mostra, em suma, a relação entre os controles autonômicos. Tanto na pressão arterial quanto na frequência cardíaca, a atividade do SNS é representada no gráfico de frequências por bandas de baixa frequência (LF), enquanto a atividade parassimpática é dada por bandas de alta frequência (HF). As variações dos parâmetros cardiovasculares, que ocorrem normalmente durante o dia, podem fornecer informações importantes quanto ao controle autonômico da circulação (PARATI et al., 2006). Um estudo realizado com camundongos submetidos à DSA demonstrou que 15 dias após a desnervação dos barorreceptores, o que é considerado uma fase crônica, houve um aumento do componente LF da análise da PAS, bem como uma diminuição do LF da FC no grupo em que a DSA foi realizada com relação ao controle (FAZAN et al., 2005). O mesmo padrão foi observado em ratos submetidos à SAD, nos quais, 90 dias após a desnervação o componente LF da PAS sofreu aumento, enquanto o componente LF da FC diminuiu quando comparados ao grupo controle (MOSTARDA et al., 2010). Ambos autores relatam que essas mudanças observadas, aumento da banda LF na PAS e sua diminuição na FC mostram que há uma disfunção autonômica, sendo esta devido a um aumento da atividade simpática em relação a parassimpática.

Em relação ao modelo de nefrectomia de 5/6, como visto anteriormente, animais submetidos a este procedimento apresentam aumento na VPA (GRIFFIN; PICKEN; BIDANI, 2004). Na clínica, o aumento na VPA também foi observado em paciente com doença renal crônica (DI IORIO et al., 2012; TOZAWA et al., 1999) bem como uma diminuição na sensibilidade do barorreflexo também foi constatada em pacientes nos mais diversos estágios de insuficiência renal crônica (PICKERING; GRIBBIN; OLIVER, 1972; LAZARUS et al., 1973; AGARWAL et al., 1991;

STUDINGER et al., 2006). Em relação ao nosso trabalho, uma possível explicação para a diminuição do ISB nos animais submetidos à nefrectomia recai sobre a hipertensão arterial. Embora a hipertensão arterial não possa ser considerada como a única responsável por reduzir o ISB levando ao aumento da VPA, a mesma ainda é considerada como uma das principais causas indutoras da diminuição do ISB, que por conseguinte levará a uma maior variabilidade na pressão arterial. Há muito já se sabe que uma hipertensão arterial mantida promove uma diminuição do reflexo pressorreceptor arterial, devido a um reajuste dos barorreceptores ao novo nível de pressão (CHAPLEAU; HAJDUCZOK; ABBOUD, 1988). Além disso, a relação entre aumento da VPA e a hipertensão arterial já havia sido demonstrada por outros pesquisadores em trabalhos com pacientes hipertensos (KAI et al., 2009; MANCIA et al., 2001; PRINGLE et al., 2003).

Nossos resultados mostraram que os animais submetidos à nefrectomia de 5/6, por infarto das artérias renais, apresentam hipertensão arterial, estando eles de acordo com os resultados obtidos por Griffin e colaboradores. No trabalho deste grupo foi demonstrado que nos animais em que a nefrectomia de 5/6 por infarto foi realizada, o quadro de hipertensão arterial foi observada já a partir do 2º dia após a cirurgia, assim permanecendo durante o desenvolvimento da doença (GRIFFIN; PICKEN; BIDANI, 1994)

Dessa forma, o aumento na VPA e a diminuição do ISB presente no grupo NX comparado ao grupo Sham e a diferença observada entre os grupos NX e SAD+NX quanto aos mesmos parâmetros pode ser, em parte, atribuída à hipertensão arterial. Como visto nos resultados, tanto o grupo NX quanto o grupo SAD+NX apresentaram hipertensão arterial, sendo esta maior no grupo SAD+NX. Da mesma forma, tanto o ISB quanto VPA encontraram-se alterados nos referidos grupos em relação aos animais controle, sendo que a associação da nefrectomia com a desnervação dos barorreceptores foi capaz de promover uma piora ainda maior neste quadro, visto que os animais do grupo SAD+NX apresentaram o maior valor de PAM e VPA, bem como o menor ISB. Ressalte-se que uma mudança nos parâmetros da VPA e do ISB já estaria presente no referido grupo, devido ao procedimento de desnervação sinoaórtica, no entanto, este procedimento não é capaz de promover um aumento na PAM, como comprovado no grupo SAD, que se manteve normotenso pelo período

do experimento. Dessa forma, podemos concluir que a hipertensão, promovida pela nefrectomia, associada a uma já existente disfunção barorreflexa, foi capaz de gerar um maior nível de hipertensão arterial, que por sua vez promoveu uma piora no ISB, levando a um aumento ainda maior da VPA.

Assim como no modelo de DSA, uma possível explicação para o aumento na VPA no animais nefrectomizados também recairia em um aumento na ativação do SNS, uma vez que após o procedimento de nefrectomia de 5/6 ocorre um aumento gradativo no conteúdo das catecolaminas circulantes já a partir da primeira semana após a cirurgia, vindo a aumentar no decorrer da progressão da doença, comprovando uma hiperatividade simpática (AMANN et al., 2000; LEINWEBER et al., 2002). Corroborando a esta ideia está o trabalho de Bigazzi e colaboradores, no qual demonstraram que 4 semanas após a indução da doença renal crônica por meio da nefrectomia de 5/6 em ratos há um aumento no *turnover* de NOR no núcleo hipotalâmico posterior, sugerindo-se assim que a o estado de insuficiência crônica dos rins seria responsável por causar um aumento de sinais eferentes simpáticos (BIGAZZI; KOGOSOV; CAMPESE, 1994). Para comprovar que o aumento do *turnover* de NOR era devido à nefrectomia, o mesmo grupo realizou uma rizotomia dorsal bilateral (T10 a L2) juntamente com a nefrectomia de 5/6 em ratos. Quatro semanas após os procedimentos, o *turnover* de NOR foi avaliado, constatando-se que o mesmo encontra-se reduzido nos animais nefrectomizados e que sofreram a rizotomia quando comparados aos animais somente nefrectomizados, demonstrando aumento da atividade simpática central e, conseqüentemente, a periférica (CAMPESE; KOGOSOV, 1995).

Corroborando para isto o fato de os rins serem altamente inervados pelo SNS, podendo atuar tanto como origem quanto como alvo da ativação simpática, pelo fato de possuir tanto fibras aferentes quanto eferentes (CAMPESE, 2000).

Contribui também para a sustentação dessa hipótese o trabalho de Teyara e colaboradores, no qual foi demonstrado que o uso de doses subpressoras clonidina, um simpatolítico central, em ratos SHR foi capaz de diminuir a VPA, devido a uma diminuição do tônus simpático, sem causar alterações na PAM (TEYNARA et al., 1996).

O aumento da atividade simpática também foi investigado em pacientes em diferentes fases da doença renal. Neste estudo, realizados com 73 pacientes, diversos parâmetros de atividade simpática foram analisados, dentre eles a atividade nervosa simpática muscular. Relatou-se que nesse pacientes existia uma correlação inversa entre TFG e atividade nervosa simpática muscular, de forma que os pacientes que apresentaram as menores TFGs foram os que apresentaram os maiores níveis de atividade simpática muscular, demonstrando que a progressão da doença renal é acompanhada de aumento da atividade simpática (GRASSI et al., 2011). Este aumento de atividade simpática em pacientes com insuficiência renal crônica, recebendo ou não hemodiálise, também foi relato de outros pesquisadores (CONVERSE et al., 1992; SCHLAICH et al., 2009).

Esse aumento de atividade do SNS nos animais submetidos à nefrectomia de 5/6 por infarto é também o responsável pela hipertensão arterial que se observa nesses animais. O papel do SNS na manutenção da hipertensão nos animais nefrectomizados torna-se proeminente a partir da 2^o semana, como demonstrado no trabalho de Augustyniak e colaboradores. Em seu trabalho, os pesquisadores utilizaram-se de animais tanto simpatectomizados quanto com SNS intacto e submetidos à nefrectomia, acompanhados por 6 semanas para medida da pressão arterial. Durante as 6 semanas de acompanhamento, verificou-se que nas primeiras semanas após a nefrectomia, ambos os grupos apresentaram o mesmo nível de hipertensão, porém, a partir da 2^a semana de experimento, o grupo simpatectomizado apresentou uma redução nos níveis pressóricos, embora continuasse hipertenso, enquanto os animais com SNS intacto apresentaram maiores níveis de PA, bem como aumento gradativo na mesma (AUGUSTYNIK et al., 2010).

Apesar do papel importante desempenhado pelo SNS no desenvolvimento e manutenção da hipertensão arterial presente na DRC, ele não é o único responsável. A hipertensão arterial que se manifesta neste modelo pode ser dividida em duas fases: na fase inicial, que se segue após a retirada de um dos rins e infarto do rim remanescente, se deve também a um aumento na atividade do SRA, que desencadeará, entre outras alterações, aumento da vasoconstrição e da absorção de sódio e água, na tentativa de se manter a taxa de filtração em um nível normal,

assim como é observado no modelo 1 rim 1 clipe de Goldblatt (KATHOLI; WINTERNITZ; OPARIL, 1982).

Durante as semanas que se seguem, ocorre um aumento gradativo na atividade do SRA, tanto ao nível plasmático, evidenciado pelo aumento das concentrações plasmáticas de angiotensina II e da aldosterona (que atinge seu pico máximo de ativação na 2ª semana após a nefrectomia), quanto tecidual. No entanto, nota-se que na 4ª semana após a nefrectomia, as concentrações plasmáticas de angiotensina II e aldosterona já se encontram em valores normais (MACKIE; CAMPBELL; MEYER, 2001; VAZIRI et al., 2007). A ativação do SRA também foi evidenciada no hipotálamo e tronco cerebral no trabalho em que Nishimura e colaboradores demonstraram que 12 semanas após o procedimento de nefrectomia em ratos, a expressão de mRNA da renina, enzima conversora de angiotensina (ECA) e receptores AT1 encontrava-se aumentada em relação aos animais do grupo controle (NISHIMURA; TAKAHASHI; YOSHIMURA, 2007). Esta observação torna-se importante, uma vez em que as regiões em que foram observadas a ativação do SRA estão envolvidas com a regulação da pressão arterial e da atividade simpática periférica.

Assim como os animais submetidos à nefrectomia, animais em que a DSA é realizada apresentam aumento de atividade do SRA somente ao nível tecidual, uma vez que as concentrações plasmáticas da angiotensina II encontram-se normais já na primeira semana após o procedimento cirúrgico, assim permanecendo durante o tempo de vida do animal estudado (SHAN et al., 2004). A evidência deste aumento tecidual provém de trabalhos anteriores que mostraram que os níveis de angiotensina II, de mRNA dos receptores AT1 e atividade da ECA no coração, aorta e rim de animais submetidos à DSA encontravam-se elevados, provando que a desnervação dos barorreceptores é capaz de ativar o SRA tecidual (FENG et al., 2011; MIAO et al., 2003; SHAN et al., 2004). Apesar de a atividade do SRA se encontrar aumentada ao nível tecidual, essa não é capaz de promover um quadro de hipertensão nos animais em que a DSA é realizada, como visto anteriormente (SHAN et al., 2004).

A função fisiológica SRA toma cada vez mais novas proporções, assumindo um papel tanto como um sistema endócrino quanto parácrino e intrácrino (FYHRQUIST; SAIJONMAA, 2008). As novas descobertas a respeito deste sistema nos indicam que diversos órgãos, como coração, rins, cérebro e vasos possuem toda a maquinaria necessária para a produção do principal produto resultante da ativação do SRA, a angiotensina II (DZAU, 2001). Já foi demonstrado que a angiotensina II produzida localmente induz o crescimento celular, apoptose, a inflamação, a diferenciação e migração celular, entre outras funções (BALATU; CAMPOS; BADER, 2011; KOBORI et al., 2007).

Corroborando com a ideia da hiperatividade do SRA local e seu papel na produção das alterações morfológicas após a DSA estão os dados de trabalhos demonstrando que o tratamento tanto com inibidores da ECA quanto com bloqueadores de receptores AT1 foram capazes de diminuir as alterações morfológicas, bem como a hipertrofia cardíaca (BISSOLI et al., 1991; MIAO et al., 2002)

Some-se a essas alterações o fato de que nos animais em que a nefrectomia foi realizada, observou-se um aumento da uremia, como esperado neste modelo, porém, esta foi maior no grupo SAD+NX. Já foi demonstrado que o aumento das concentrações plasmática da ureia está envolvido na promoção da disfunção autonômica, bem como está envolvido na ativação do SRA (JOHNSON et al., 2013; ROBINSON; CARR, 2002). Adicionalmente, o estado em que a uremia encontra-se alta também parece promover aumento do tônus miogênico, que somado as demais alterações contribuiria para a hipertensão observada nesses animais (SAVAGE et al., 1998).

Dessa forma, seria plausível assumir que a razão para os maiores níveis de hipertensão observados nos animais do grupo SAD+NX seria devido à acumulação de ambas hiperativações do SNS e SRA, visto que olhando individualmente para os modelos, isto é, tanto quando é promovida somente a DSA quanto quando é promovida somente a nefrectomia, já se é observado um aumento da atividade dos referidos sistemas, sendo possível que a associação dos procedimentos promovesse uma exarcebação dessa hiperatividade simpática e do SRA, causando um nível maior de hipertensão, como notado no animais do grupo SAD+NX.

Em relação aos parâmetros de função renal, nossos resultados demonstraram que, apesar das pronunciadas alterações hemodinâmicas presentes nos animais desnervados e nefrectomizados, a TFG neste grupo permaneceu igual ao grupo nefrectomizado, que apresentou redução significativa deste parâmetro. Enquanto a TFG manteve-se inalterada, o FSR, a FF e a RVR sofreram mudanças significativas no grupo desnervado + nefrectomizado. Nestes, o FPR e o FSR encontravam-se diminuídos, enquanto que a FF e a RVR estavam aumentadas.

Para que este cenário aconteça, é possível que tenha ocorrido uma constrição preferencial da arteríola eferente, que acarreta em um aumento da pressão hidrostática glomerular e aumento da TFG, ou, como observado em nossos grupos experimentais, manutenção da TFG (NAVAR, 2005). Sabe-se que a angiotensina II é capaz de promover vasoconstrição preferencial da arteríola eferente, podendo, em maiores concentrações, também causar a vasoconstrição da arteríola aferente (NAVAR et al., 1996). Como demonstrado anteriormente, tanto animais submetidos à DSA quanto animais submetidos à nefrectomia apresentam aumento na concentração intrarenal de angiotensina II (NAVAR et al., 2011; SHAN et al., 2004; VAZIRI et al., 2007), podendo mais uma vez a hiperativação deste sistema ser a responsável pelas alterações observadas.

Uma outra hipótese plausível é a de que como em ambos os grupos (NX e SAD+NX) ocorre uma redução significativa da massa renal, tenha ocorrido uma diminuição do FSR para evitar possíveis lesões renais. É importante lembrarmos que nestes animais cada glomérulo remanescente passa a ter que filtrar um volume maior de sangue, fenômeno conhecido como hiperfiltração, comprovada pelo aumento da FF. Afim de evitar lesões glomerulares, a RVR aumentou e o FSR diminuiu, em vistas de se manter a TFG.

Outra explicação possível para essas alterações observadas seria uma diminuição na produção do vasodilatador óxido nítrico (NO) que, como se sabe, possui papel importante no controle da hemodinâmica renal (MATTSON; MEISTER, 2005; TODA; OKAMURA, 2011) e, em especial, no contrabalanceamento das atividades do SNS e do SRA. Quanto ao SNS, sabe-se que frente a um aumento na atividade deste sistema, ocorre uma maior liberação de NO na tentativa de se evitar que ocorra uma

isquemia tecidual, principalmente ao nível medular, que possui um menor suprimento sanguíneo quando comparado ao córtex (ZOU; COWLEY, 2000). Entretanto, em situações em que ocorre aumento do estresse oxidativo, o aumento da produção de NO não se converte em maiores efeitos desta molécula, uma vez que esta pode ser inativada, diminuindo sua biodisponibilidade. Tanto o modelo de DSA quanto o de nefrectomia de 5/6 são capazes de induzir a uma menor biodisponibilidade de NO, como demonstrado por trabalhos anteriores (BAYLIS, 2006; FENG et al., 2011; SHEN et al., 2006; TAIN et al., 2011). Adicionalmente, diversos estudos já demonstram que quando ocorre uma diminuição na produção do NO renal, há também uma diminuição do FSR bem como aumento da RVR, porém, em alguns casos, mantendo-se a TFG (NAVAR et al., 1996), assim como observado em nosso trabalho.

Some-se a este quadro o fato de ter sido demonstrado que em estados de uremia, como observado nos animais nefrectomizados, há uma diminuição do NO plasmático bem como supressão da excreção urinária dos produtos do metabolismo do NO, situação esta associada à diminuição do FSR bem como aumento da RVR (SÁNCHEZ-LOZADA et al., 2008). Além disso, a ureia também está relacionada a um aumento do tônus miogênico, como demonstrado anteriormente, que também contribui para estas alterações observadas a nível renal (SAVAGE et al., 1998).

Portanto, a menor biodisponibilidade do NO, encontrada em ambos os modelos experimentais (DSA e nefrectomia), juntamente com a uremia (presente nos animais nefrectomizados, sendo maior no grupo SAD+NX), que também promove diminuição na biodisponibilidade do NO, associado a aumento na atividade de sistemas que promovem a vasoconstrição, explicaria a diminuição do FSR bem como o aumento da RVR nos grupos SAD, NX e SAD+NX, uma vez que com uma menor produção de NO, as ações promovidas pela ativação daqueles sistemas estariam exacerbadas.

Cabe ressaltar, juntamente com as observações feitas anteriormente, que apesar de a TFG apresentar-se no mesmo nível nos grupos NX e SAD+NX, este fato não é indicativo de que os animais dos referidos grupos estejam em um mesmo estágio do desenvolvimento da DRC. A comprovação desta afirmação surge do resultado da avaliação dos níveis plasmáticos de ureia, que se encontra aproximadamente 1,5

vezes maior no grupo SAD+NX quando comparado ao grupo NX. Dessa forma, quando analisamos esse dado sob a ótica clínica para a classificação do estágio da DRC, temos que nos estágios iniciais da DRC além do valor da TFG devem ser considerados os achados de lesão renal, como o nível plasmático de ureia. Sabe-se que na 4ª semana após da indução da nefrectomia de 5/6 por infarto o animal encontra-se na fase inicial da DRC (YANG; ZUO; FOGO, 2010), dessa forma, os resultados obtidos no estudo da função renal em conjunto com o resultado da análise da UP, nos indicam que os animais do grupo SAD+NX apresentam uma lesão renal mais pronunciada que os animais do grupo NX, podendo, portanto, serem classificados em um estágio mais avançado da DRC, apesar de os valores da TFG permanecerem no mesmo nível.

Dando suporte a esta ideia estão os resultados obtidos da análise histológica, no qual foi demonstrado que a associação entre nefrectomia e desnervação promoveu um maior nível de glomeruloesclerose, o que comprova que o dano renal nos animais do grupo SAD+NX é maior do que nos demais grupos. Já foi demonstrado que a elevação dos níveis plasmáticos de ureia está relacionada a aumento na progressão da lesão renal em ratos submetidos à nefrectomia (KANG et al., 2002), bem como em humanos também foi demonstrado haver uma possível correlação direta entre o aumento dos níveis séricos de ácido úrico e a lesão glomerular (SUZUKI et al., 2013).

Quanto aos parâmetros de excreção de água e eletrólitos, quando comparados ao grupo Sham, todos os grupos apresentaram aumento do VU, bem como aumento na $FENa^+$ e na FEK^+ . Este aumento no VU bem como da $FENa^+$ e da FEK^+ nos animais submetidos à DSA estão de acordo com os observados no trabalho Orfila e colaboradores com cachorros (ORFILA et al., 1993). Da mesma forma, o aumento observado nos mesmos parâmetros para aos animais submetidos à nefrectomia também estão de acordo com trabalhos anteriores (CHAMBERLAIN; SHIRLEY, 2007; GAVA et al., 2012; HAYSLETT; KASHGARIAN; EPSTEIN, 1969). Mais uma vez, notou-se nesses parâmetros que a associação da nefrectomia com a DSA foi capaz de alterar profundamente os parâmetros analisados, visto que os valores da $FENa^+$, FEK^+ e o VU foram maiores no grupo SAD+NX.

Os resultados dos parâmetros citados anteriormente, também nos dão indícios sobre o aumento na atividade do SRA. A ação da angiotensina II na reabsorção renal de água e sódio já é bem descrita e, como discutido acima, a atividade do SRA encontra-se aumentada ao nível renal nos modelos utilizados neste trabalho. Somase a esse quadro o aumento da liberação de aldosterona, provocado pela ação da angiotensina II na suprarenal, de forma que mais sódio e água serão reabsorvidos. Já se é sabido que a angiotensina II é capaz de promover o aumento dos transportadores de sódio na membrana plasmática dos túbulos renais (KAVA et al., 2012; KWON et al., 2003). Além disso, sabe-se que o SNS é o principal mecanismo extrarenal capaz de promover a ativação do SRA, como também é capaz de promover aumento da reabsorção de sódio e água (THRASHER, 1994).

Estando aqueles sistemas hiperativados, uma maior quantidade de sódio e água será absorvida. Além disso, tanto nos animais submetidos à DSA quanto nos animais submetidos à nefrectomia ocorre uma diminuição da perfusão renal, como demonstrado pelo dado de FSR de nosso trabalho, onde nota-se que esse parâmetro encontra-se diminuído em todos os grupos quando comparados ao resultado dos animais controle. Além disso, o aumento na VPA imporia aos néfrons, momentos tanto hiperperfusão quanto de hipoperfusão. Yingst e colaboradores mostram que em situações em que ocorra uma diminuição da perfusão renal, a angiotensina II é capaz de aumentar a expressão da Na-K-ATPase na membrana plasmática (YINGST et al., 2009).

Uma vez aumentada a quantidade de sódio e água absorvida nos túbulos renais, haverá, conseqüentemente, um aumento no volume extracelular. Para que se mantenha a homeostasia, deve haver um aumento na excreção renal tanto de água quanto de sódio, como ocorre nos grupos analisados, sendo por isso observado o aumento tanto do VU quanto da $FENa^+$. Além disso, observa-se também aumento na FEK^+ , dado que corrobora para a explicação do aumento da atividade do SRA, uma vez que a angiotensina II promove a liberação de aldosterona, sendo que a aldosterona é capaz de aumentar a excreção urinária de potássio.

Cabe ressaltar que o aumento no VU bem como aumento da $FENa^+$ e na FEK^+ seriam esperados acontecer no modelo de nefrectomia, visto que nos animais

submetidos a este procedimento ocorre um fenômeno conhecido como hiperfiltração, no qual os néfrons remanescentes hipertrofiam na tentativa de compensar a morte do tecido caudado pela isquemia, ocorrendo assim um aumento na filtração (HOSTETTER et al., 2001). Adicionalmente, animais submetidos à nefrectomia apresentam diminuição de aquaporinas no ducto coletor, apesar dos níveis circulantes de vasopressina (promotora da expressão de aquaporinas) encontrarem-se elevados neste modelo, sendo este também um dos motivos para o aumento do VU observado após a nefrectomia (KIM; JUNG; KWON, 2005; KWON et al., 1998). Diferente do que é observado na nefrectomia, os níveis de vasopressina circulantes encontram-se reduzidos após a DSA (THRASHER; CHEN; KEIL, 2000), o que nos leva a crer que em animais submetidos à DSA haja também uma redução na expressão de aquaporinas no ducto coletor, levando a um aumento no VU, como observado.

Outras evidências da ativação do SRA e de sua participação na promoção das alterações surge dos resultados do índice peso coração/tíbia, em que foi demonstrado que os animais submetidos à DSA, nefrectomia e associação DSA e nefrectomia apresentaram hipertrofia cardíaca, sendo esta maior nos animais do grupo SAD+NX. Nossos resultados para este parâmetro encontram suporte em outros trabalhos que se utilizaram tanto da DSA quanto da nefrectomia, sendo observado que ambos modelos são capazes de produzir hipertrofia cardíaca (BARAKA; EL GHOTNY, 2012; BISSOLI et al., 1991; MICHEA et al., 2008; ZHANG et al., 2011).

Os indícios da participação do SRA na promoção da hipertrofia surgem do trabalho de Kudo e colaboradores com ratos SHR e Wistars submetidos à DSA. Neste trabalho os pesquisadores demonstram que os animais SHR sem o reflexo barorreceptor apresentaram um maior nível de hipertrofia do que os animais SHR em que barorreflexo encontrava-se intacto, da mesma forma que a hipertrofia nos animais SHR foi maior do que nos animais Wistar desnervados. Porém, o tratamento com doses subpressoras de candesartan (antagonista AT1) foi capaz de prevenir a hipertrofia observada nos animais submetidos à DSA, mostrando que o SRA está envolvido na hipertrofia cardíaca observada após a DSA, independente da pressão arterial (KUDO et al., 2009).

Assim como no modelo de DSA, a hipertrofia cardíaca nos animais nefrectomizados também tem como origem, entre outros, o aumento da atividade do SRA, como visto no trabalho de Michea e colaboradores. Neste trabalho, ratos submetidos à nefrectomia foram tratados por 5 semanas após a cirurgia com espironolactona, um antagonista da aldosterona, ou com veículo. Ao final das 5 semanas, verificou-se que os animais nefrectomizados que receberam tratamento com a espironolactona tiveram uma atenuação da hipertrofia cardíaca quando comparados aos animais nefrectomizados tratados com veículo (MICHEA et al., 2008).

5 CONCLUSÃO

Conclui-se com o presente trabalho que o prejuízo no mecanismo do barorreflexo arterial, promovido por meio da desnervação sinoaórtica, é capaz de alterar a progressão da DRC. Tal fato é demonstrado nos resultados apresentados onde notou-se que os animais submetidos concomitantemente à desnervação sinoaórtica e à nefrectomia de 5/6 por infarto apresentaram alterações profundas nos parâmetros de função renal como aumento na fração de filtração e na resistência vascular renal, diminuição no fluxo plasmático e sanguíneo renal, além de maiores níveis plasmáticos de ureia. Embora a taxa de filtração glomerular tenha permanecido praticamente inalterada entre os grupos submetidos à nefrectomia, as alterações apresentadas nos estudos de função renal somadas aos achados histológicos, nos dão indícios de que os animais nefrectomizados em que a desnervação sinoaórtica foi procedida apresentam maiores níveis de lesões renais, visto seus piores resultados.

Além de promover maiores níveis de lesão renal piorando a progressão da DRC, notou-se também que a associação entre a desnervação e a nefrectomia foi capaz de promover grandes alterações fisiológicas, como aumento na variabilidade da pressão arterial, hipertensão arterial, aumento na fração de excreção de todos os íons avaliados e hipertrofia cardíaca e renal.

Em conjunto estes resultados nos mostram que a preservação do mecanismo do barorreflexo com consequente manutenção da variabilidade da pressão arterial dentro de um limite estreito são fundamentais para a proteção da função renal.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

A. K. BIDANI, K. A. GRIFFIN, M. PICKEN, D. M. L. Continuous telemetric blood pressure monitoring and glomerular injury in the rat remnant kidney model. **American journal of physiology: Renal physiology.**, n. 265, p. 391-98, 1993.

ABENSUR, H.; YU, L.; BURDMANN, E. A. A decade after the KDOQI CKD guidelines: a perspective from Brazil. **American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation**, v. 60, n. 5, p. 738-9, nov. 2012.

AGARWAL, A; ANAND, IS; SAKHUJA, V; CHUGH, K. Effect of dialysis and renal transplantation on autonomic dysfunction in chronic renal failure. **Kidney international**, v. 3, n. 40, p. 489-95, 1991.

AMANN, K. et al. Effects of low dose sympathetic inhibition on glomerulosclerosis and albuminuria in subtotaly nephrectomized rats. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 11, n. 8, p. 1469-78, ago. 2000.

AUGUSTYNIAK, R. et al. Sympathetic nerves and the progression of chronic kidney disease during 5/6 nephrectomy: studies in sympathectomized rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 37, n. 1, p. 12-18, 2010.

BALARINI, C. M. et al. Hypercholesterolemia promotes early renal dysfunction in apolipoprotein E-deficient mice. **Lipids in health and disease**, v. 10, n. 1, p. 220, jan. 2011.

BALTATU, O. C.; CAMPOS, L. A; BADER, M. Local renin-angiotensin system and the brain--a continuous quest for knowledge. **Peptides**, v. 32, n. 5, p. 1083-6, maio. 2011.

BARAKA, A; EL GHOTNY, S. Cardioprotective effect of renalase in 5/6 nephrectomized rats. **Journal of cardiovascular pharmacology and therapeutics**, v. 17, n. 4, p. 412-6, dez. 2012.

BARRES, C; LEWIS, SJ; JACOB, HJ; BRODY, M. Arterial pressure lability and renal sympathetic nerve activity are dissociated in SAD rats. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, n. 263, p. 639-646, 1992.

BASTOS, M.; KIRSZTAJN, G. Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. **Jornal brasileiro de nefrologia**, v. 33, n. 1, p. 93-108, 2011.

BAYLIS, C. Arginine, arginine analogs and nitric oxide production in chronic kidney disease. **Nature Clinical Practice Nephrology**, v. 2, n. 4, p. 209-220, 2006.

BECKER, G.; HEWITSON, T. Animal models of chronic kidney disease: useful but not perfect. **Nephrology, dialysis, transplantation**, p. 1-7, 30 jun. 2013.

BIGAZZI, R.; KOGOSOV, E.; CAMPESE, V. Altered norepinephrine turnover in the brain of rats with chronic renal failure. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, n. 4, p. 1901-1907, 1994.

BISSOLI, N. et al. Captopril prevents ventricular hypertrophy in sinoaortic denervated rats. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas médicas e biológicas / Sociedade Brasileira de Biofísica ... [et al.]*, v. 24, n. 2, p. 191-4, 1991.

CAMPESE, V. Neurogenic factors and hypertension in renal disease. **Kidney International**, v. 57, p. 2-6, 2000.

CAMPESE, V.; KOGOSOV, E. Renal afferent denervation prevents hypertension in rats with chronic renal failure. **Hypertension**, n. 25, p. 878-882, 1995.

CHAMBERLAIN, R. M.; SHIRLEY, D. G. Time course of the renal functional response to partial nephrectomy: measurements in conscious rats. **Experimental physiology**, v. 92, n. 1, p. 251-62, jan. 2007.

CHAPLEAU, M.; HAJDUCZOK, G.; ABOUD, F. . Mechanisms of resetting of arterial baroreceptors: an overview. **The american journal of medical sciences**, v. 295, n. 4, p. 327-334, 1988.

CONVERSE, R. et al. Sympathetic overactivity in patients with chronic renal failure. **The England Journal of Medicine**, v. 27, n. 327, p. 1912-8, 1992.

DI IORIO, B. et al. Blood pressure variability and outcomes in chronic kidney disease. **Nephrology, dialysis, transplantation: official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association**, v. 27, n. 12, p. 4404-10, dez. 2012.

DI IORIO, B. et al. Variability of blood pressure in dialysis patients: a new marker of cardiovascular risk. **Journal of nephrology**, v. 26, n. 1, p. 173-82, 2013.

DZAU, V. J. Tissue Angiotensin and Pathobiology of Vascular Disease : A Unifying Hypothesis. **Hypertension**, v. 37, n. 4, p. 1047-1052, 1 abr. 2001.

FASSETT, R. G. et al. Biomarkers in chronic kidney disease: a review. **Kidney international**, v. 80, n. 8, p. 806-21, out. 2011.

FAZAN, R. et al. Frequency-dependent baroreflex modulation of blood pressure and heart rate variability in conscious mice. **American journal of physiology. Heart and circulatory physiology**, v. 289, n. 5, p. H1968-75, nov. 2005.

FENG, J. et al. Down-regulation of DDAH2 and eNOS induces endothelial dysfunction in sinoaortic-denervated rats. **European journal of pharmacology**, v. 661, n. 1-3, p. 86-91, jul. 2011.

FLORAS, J. S. et al. Factors influencing blood pressure and heart rate variability in hypertensive humans. **Hypertension**, v. 11, n. 3, p. 273-281, mar. 1988.

FLORAS, J. S. Blood pressure variability: a novel and important risk factor. **The Canadian journal of cardiology**, v. 29, n. 5, p. 557-63, maio. 2013.

FYHRQUIST, F.; SAIJONMAA, O. Renin-angiotensin system revisited. **Journal of internal medicine**, v. 264, n. 3, p. 224-36, set. 2008.

GAVA, A. L. et al. Effects of 5/6 nephrectomy on renal function and blood pressure in mice. **International journal of physiology, pathophysiology and pharmacology**, v. 4, n. 3, p. 167-73, jan. 2012.

GOMEZANGELATS, E. et al. Blood pressure variability and silent cerebral damage in essential hypertension. **American Journal of Hypertension**, v. 17, n. 8, p. 696-700, ago. 2004.

GRASSI, G. et al. Early sympathetic activation in the initial clinical stages of chronic renal failure. **Hypertension**, v. 57, n. 4, p. 846-51, abr. 2011.

GRIFFIN, K. A et al. Functional and structural correlates of glomerulosclerosis after renal mass reduction in the rat. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 11, n. 3, p. 497-506, mar. 2000.

GRIFFIN, K. A; BIDANI, A. K. Progression of renal disease: renoprotective specificity of renin-angiotensin system blockade. **Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN**, v. 1, n. 5, p. 1054-65, set. 2006.

GRIFFIN, K. A; PICKEN, M. M.; BIDANI, A. K. Blood pressure lability and glomerulosclerosis after normotensive 5/6 renal mass reduction in the rat. **Kidney international**, v. 65, n. 1, p. 209-18, jan. 2004.

GRIFFIN, K.; BIDANI, A. Hypertensive renal damage: insights from animal models and clinical relevance. **Current hypertension reports**, v. 6, n. 2, p. 145-53, 2004.

GRIFFIN, K.; PICKEN, M.; BIDANI, A. Method of Renal Mass Reduction Is a Critical Modulator of Subsequent Hypertension and Glomerular Injury. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 4, p. 2023-2031, 1994.

GUYTON, A. The relationship of cardiac output and arterial pressure control. **Circulation**, v. 64, n. 6, p. 1079-1088, dez. 1981.

GUYTON, A. C. Renal function curve: a key to understanding the pathogenesis of hypertension. **Hypertension**, v. 10, n. 1, p. 1-6, jul. 1987.

H. SMITH, N. FINKELSTEIN, L. ALIMINOSA, B. C. The renal clearances of substituted hippuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. **The Journal of clinical investigation**, v. 24, n. 3, p. 388-404, 1945.

HAYSLETT, J. P.; KASHGARIAN, M.; EPSTEIN, F. H. Mechanism of change in the excretion of sodium per nephron when renal mass is reduced. **The Journal of clinical investigation**, v. 48, n. 6, p. 1002-6, jun. 1969.

HOSTETTER, T. H. et al. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. **Journal of the American Society of Nephrology: JASN**, v. 12, n. 6, p. 1315-25, jun. 2001.

IRIGOYEN, M. et al. Changes of renal sympathetic activity in acute and chronic conscious sinoaortic denervated rats. **Hypertension**, n. 26, p. 1111-1116, 1995.

IRVING, J. B. et al. Value of prolonged recording of blood pressure in assessment of hypertension. **British heart journal**, v. 36, n. 9, p. 859-66, set. 1974.

JALAL, D. I. et al. Uric acid as a target of therapy in CKD. **American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation**, v. 61, n. 1, p. 134-46, jan. 2013.

JOHNSON, R. J. et al. Full Review Uric acid and chronic kidney disease : which is chasing which ? **Nephrology Dialysis Transplantation**, 2013.

JULIEN, C.; ZHANG, Z.; BARRÈS, C. Role of vasoconstrictor tone in arterial pressure lability after chronic sympathectomy and sinoaortic denervation in rats. **Journal of the autonomic nervous system**, v. 1, n. 42, p. 1-10, 1993.

KAI, H. et al. Large Blood Pressure Variability and Hypertensive Cardiac Remodeling. **Circulation journal**, v. 73, n. December, p. 2198-2203, 2009.

KANG, D.-H. et al. A Role for Uric Acid in the Progression of Renal Disease. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 13, n. 12, p. 2888-2897, dez. 2002.

KARAJALA, V.; MANSOUR, W.; KELLUM, J. A. Diuretics in acute kidney injury. **Minerva anesthesiologica**, v. 75, n. 5, p. 251-7, maio. 2009.

KATHOLI, R. E.; WINTERNITZ, S. R.; OPARIL, S. Decrease in peripheral sympathetic nervous system activity following renal denervation or unclipping in the one-kidney one-clip Goldblatt hypertensive rat. **The Journal of clinical investigation**, v. 69, n. 1, p. 55-62, jan. 1982.

KATORI, M. Do studies on a sinoaortic denervation model give a clue to the mechanisms of cardiovascular and renal damage in hypertension? **Journal of hypertension**, v. 21, n. 11, p. 2019-21, nov. 2003.

KAVA, L. et al. Increased expression of Na,K-ATPase and a selective increase in phosphorylation at Ser-11 in the cortex of the 2-kidney, 1-clip hypertensive rat. **American journal of hypertension**, v. 25, n. 4, p. 487-91, abr. 2012.

KIM, E.-J.; JUNG, Y.-W.; KWON, T.-H. Angiotensin II AT1 receptor blockade changes expression of renal sodium transporters in rats with chronic renal failure. **Journal of Korean medical science**, v. 20, n. 2, p. 248-55, abr. 2005.

KOBORI, H. et al. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. **Pharmacological Reviews**, v. 59, n. 3, p. 251-287, 2007.

KRIEGER, E. M. Neurogenic Hypertension in the Rat. **Circulation research**, v. 15, p. 511-21, dez. 1964.

KUDO, H. et al. Exaggerated blood pressure variability superimposed on hypertension aggravates cardiac remodeling in rats via angiotensin II system-mediated chronic inflammation. **Hypertension**, v. 54, n. 4, p. 832-8, out. 2009.

KWON, T. et al. Reduced AQP1, -2, and -3 levels in kidneys of rats with CRF induced by surgical reduction in renal mass. **American journal of physiology. Renal physiology**, n. 275, p. 724-741, 1998.

KWON, T.-H. et al. Regulation of sodium transporters in the thick ascending limb of rat kidney: response to angiotensin II. **American journal of physiology. Renal physiology**, v. 285, n. 1, p. F152-65, jul. 2003.

LAZARUS, J. M. et al. Baroreceptor Activity in Normotensive and Hypertensive Uremic Patients. **Circulation**, v. 47, n. 5, p. 1015-1021, maio. 1973.

LEINEWEBER, K. et al. Cardiac beta-adrenoceptor desensitization due to increased beta-adrenoceptor kinase activity in chronic uremia. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 13, n. 1, p. 117-24, jan. 2002.

LITTLER, W. A. et al. Continuous recording of direct arterial pressure and electrocardiogram in unrestricted man. **British medical journal**, v. 3, n. 5818, p. 76-8, 8 jul. 1972.

MACKIE, F. E.; CAMPBELL, D. J.; MEYER, T. W. Intrarenal angiotensin and bradykinin peptide levels in the remnant kidney model of renal insufficiency. **Kidney international**, v. 59, n. 4, p. 1458-65, abr. 2001.

MANCIA, G. et al. Blood pressure variability in man: its relation to high blood pressure, age and baroreflex sensitivity. **Clinical science (London, England : 1979)**, v. 59 Suppl 6, p. 401s-404s, dez. 1980.

MANCIA, G. et al. Blood pressure and heart rate variabilities in normotensive and hypertensive human beings. **Circulation Research**, v. 53, n. 1, p. 96-104, jul. 1983.

MANCIA, G. et al. Relation between blood pressure variability and carotid artery damage in hypertension: baseline data from the European Lacidipine Study on Atherosclerosis (ELSA). **Journal of hypertension**, v. 19, n. 11, p. 1981-9, nov. 2001.

MATTSON, D. L.; MEISTER, C. J. Renal cortical and medullary blood flow responses to L-NAME and ANG II in wild-type, nNOS null mutant, and eNOS null mutant mice. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 289, n. 4, p. R991-7, out. 2005.

MIAO, C.-Y. et al. Candesartan inhibits sinoaortic denervation-induced cardiovascular hypertrophy in rats. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 8, p. 713-20, ago. 2002.

MIAO, C.-Y. et al. Angiotensin II and AT1 receptor in hypertrophied ventricles and aortas of sinoaortic-denervated rats. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 24, n. 8, p. 812-8, ago. 2003.

MIAO, C.-Y. et al. Blood pressure variability is more important than blood pressure level in determination of end-organ damage in rats. **Journal of hypertension**, v. 24, n. 6, p. 1125-35, jun. 2006.

MIAO, C.-Y.; SU, D.-F. The importance of blood pressure variability in rat aortic and left ventricular hypertrophy produced by sinoaortic denervation. **Journal of hypertension**, v. 20, n. 9, p. 1865-72, set. 2002.

MICHEA, L. et al. Mineralocorticoid receptor antagonism attenuates cardiac hypertrophy and prevents oxidative stress in uremic rats. **Hypertension**, v. 52, n. 2, p. 295-300, ago. 2008.

MOSTARDA, C. et al. Autonomic impairment after myocardial infarction: role in cardiac remodelling and mortality. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 37, n. 4, p. 447-52, abr. 2010.

NASHAR, K.; FRIED, L. F. Hyperuricemia and the progression of chronic kidney disease: is uric acid a marker or an independent risk factor? **Advances in chronic kidney disease**, v. 19, n. 6, p. 386-91, nov. 2012.

NATIONAL KIDNEY FOUNDATION. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 39, n. Suppl 2, p. S1 - S246, 2002.

NAVAR, L. The role of the kidneys in hypertension. **The Journal of Clinical Hypertension**, n. 7, p. 542-549, 2005.

NAVAR, L. et al. Intrarenal angiotensin II and its contribution to the genesis of chronic hypertension. **Current opinion in pharmacology**, v. 11, n. 2, p. 180-186, 2011.

NAVAR, L. G. et al. Paracrine regulation of the renal microcirculation. **Physiological reviews**, v. 76, n. 2, p. 425-536, abr. 1996.

NAVAR, L. G. et al. Unraveling the Mystery of Goldblatt Hypertension. *News in physiological sciences : an international journal of physiology produced jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society*, v. 13, p. 170-176, ago. 1998.

NISHIMURA, M.; TAKAHASHI, H.; YOSHIMURA, M. Upregulation of the brain renin-angiotensin system in rats with chronic renal failure. **Acta physiologica**, v. 189, n. 4, p. 369-77, abr. 2007.

NORMAN, R. A.; COLEMAN, T. G.; DENT, A. C. Continuous monitoring of arterial pressure indicates sinoaortic denervated rats are not hypertensive. **Hypertension**, v. 3, n. 1, p. 119-125, jan. 1981.

NUSSINOVITCH, N. et al. 24-Hour Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Children With Familial Dysautonomia. **Pediatric nephrology (Berlin, Germany)**, v. 20, n. 4, p. 507-11, abr. 2005.

ORFILA, C. et al. Renal morphological changes after sinoaortic denervation in dogs. **Hypertension**, n. 21, p. 758-766, 1993.

PARATI, G. Blood pressure variability, target organ damage and antihypertensive treatment. **Journal of hypertension**, v. 21, n. 10, p. 1827-30, out. 2003.

PARATI, G. et al. Point: cardiovascular variability is/is not an index of autonomic control of circulation. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 101, n. 2, p. 676-8; discussion 681-2, ago. 2006.

PARATI, G.; BILO, G. Arterial baroreflex modulation of sympathetic activity and arterial wall properties: new evidence. **Hypertension**, v. 59, n. 1, p. 5-7, jan. 2012.

PICKERING, T.; GRIBBIN, B.; OLIVER, D. Baroreflex sensitivity in patients on long-term haemodialysis. **Clinical science**, v. 5, n. 43, p. 645-57, 1972.

PRINGLE, E. et al. Systolic blood pressure variability as a risk factor for stroke and cardiovascular mortality in the elderly hypertensive population. **Journal of hypertension**, v. 21, n. 12, p. 2251-7, dez. 2003.

ROBERTSON, D.; DIEDRICH, A.; CHAPLEAU, M. W. Editorial on arterial baroreflex issue. **Autonomic neuroscience : basic and clinical**, v. 172, p. 1-3, 24 dez. 2012.

ROBINSON, T. G.; CARR, S. J. Cardiovascular autonomic dysfunction in uremia. **Kidney international**, v. 62, n. 6, p. 1921-32, dez. 2002.

ROCHA, M. L. et al. Blood pressure variability increases connexin expression in the vascular smooth muscle of rats. **Cardiovascular research**, v. 80, n. 1, p. 123-30, out. 2008.

ROMAN, M. J. et al. Relation of Blood Pressure Variability to Carotid Atherosclerosis and Carotid Artery and Left Ventricular Hypertrophy. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 21, n. 9, p. 1507-1511, set. 2001.

ROMÃO, J. et al. Diretrizes Brasileiras de Doença Renal Crônica. **Jornal brasileiro de nefrologia**, v. XXVI, n. Supl.1, p. 1-49, 2004.

ROSARIO, R.; WESSON, D. Primary hypertension and nephropathy. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 15, n. 2, p. 130-4, mar. 2006.

SÁNCHEZ-LOZADA, L. G. et al. Role of oxidative stress in the renal abnormalities induced by experimental hyperuricemia. **American journal of physiology. Renal physiology**, v. 295, n. 4, p. F1134-41, out. 2008.

SAVAGE, T. et al. Increased myogenic tone precedes structural changes in mild experimental uraemia in the absence of hypertension in rats. **Clinical science**, v. 95, n. 6, p. 681-6, dez. 1998.

SCHENA, F.; GESUALDO, L. Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 16, n. 3_suppl_1, p. S30-S33, mar. 2005.

SCHLAICH, M. P. et al. Sympathetic activation in chronic renal failure. **Journal of the American Society of Nephrology : JASN**, v. 20, n. 5, p. 933-9, maio. 2009.

SHAN, Z. et al. Changes of Central Norepinephrine, Beta-Endorphin, LEU-Enkephalin, Peripheral Arginine-Vasopressin, and Angiotensin II Levels in Acute and Chronic Phases of Sino-Aortic Denervation in Rats. **Journal of cardiovascular pharmacology**, v. 43, n. 2, p. 234-241, 2004.

SHEN, F.-M. et al. Early structural changes of aortic wall in sinoaortic-denervated rats. **Clinical and experimental pharmacology & physiology**, v. 33, n. 4, p. 358-63, abr. 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NREFROLOGIA. **Censo de diálise SBN: 2011**. Disponível em: <www.sbn.org.br/pdf/censo_2011_publico.pdf>. Acesso em: 13 jul. 2013.

STUDINGER, P. et al. Determinants of baroreflex function in juvenile end-stage renal disease. **Kidney international**, v. 69, n. 12, p. 2236-42, jun. 2006.

SU, D.-F. Treatment of hypertension based on measurement of blood pressure variability: lessons from animal studies. **Current opinion in cardiology**, v. 21, n. 5, p. 486-91, set. 2006.

SU, D.-F.; MIAO, C.-Y. Arterial baroreflex function in conscious rats. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 23, n. 8, p. 673-9, ago. 2002.

SUZUKI, K. et al. The association between serum uric acid and renal damage in a community-based population: the Takahata study. **Clinical and experimental nephrology**, v. 17, n. 4, p. 541-8, ago. 2013.

TAIN, Y.-L. et al. Reciprocal changes of renal neuronal nitric oxide synthase- α and - β associated with renal progression in a neonatal 5/6 nephrectomized rat model. **Pediatrics and neonatology**, v. 52, n. 2, p. 66-72, abr. 2011.

TEYNARA, C. et al. Effects of clonidine and flesionoxan on blood pressure variability in conscious spontaneously hypertensive rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 30, p. 241-244, 1997.

THRASHER, T. Baroreceptor regulation of vasopressin and renin secretion: low-pressure versus high-pressure receptors. **Frontiers in neuroendocrinology**, n. 15, p. 157-196, 1994.

THRASHER, T.; CHEN, H.; KEIL, L. Arterial baroreceptors control plasma vasopressin responses to graded hypotension in conscious dogs. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, n. 278, p. 469-475, 2000.

TODA, N.; OKAMURA, T. Modulation of renal blood flow and vascular tone by neuronal nitric oxide synthase-derived nitric oxide. **Journal of vascular research**, v. 48, n. 1, p. 1-10, jan. 2011.

TOTO, R. D. Conventional measurement of renal function utilizing serum creatinine, creatinine clearance, inulin and para-aminohippuric acid clearance. **Current opinion in nephrology and hypertension**, v. 4, p. 505-09, 1995.

TOZAWA, M. et al. Blood pressure variability as an adverse prognostic risk factor in end-stage renal disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**. n. 14, p. 1976-1981, 1999.

VASQUEZ, E. C. et al. Neural reflex regulation of arterial pressure in pathophysiological conditions: interplay among the baroreflex, the cardiopulmonary reflexes and the chemoreflex. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 30, n. 4, p. 521-32, abr. 1997.

VASQUEZ, E.; PEOTTA, V.; MEYRELLES, S. Cardiovascular autonomic imbalance and baroreflex dysfunction in the apolipoprotein E-deficient mouse. **Cellular Physiology and Biochemistry**, n. 29, p. 635-646, 2012.

VASQUEZ, EC; KRIEGER, E. Decreased chronotropic responses to adrenergic stimulation following sinoaortic denervation in the rat. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 15, n. 6, p. 377-87, 1982.

VAZIRI, N. et al. Intra-renal angiotensin II/AT1 receptor, oxidative stress, inflammation, and progressive injury in renal mass reduction. **The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 323, n. 1, p. 85-93, 2007.

VINIK, A. et al. Diabetic autonomic neuropathy. **Diabetes Care**, v. 26, n. 5, p. 1553-79, jan. 2003.

WATSON, R. D. et al. Factors determining direct arterial pressure and its variability in hypertensive man. **Hypertension**, v. 2, n. 3, p. 333-341, 1 maio. 1980.

WATSON, R. D.; STALLARD, T. J.; LITTLER, W. A. Factors determining the variability of arterial pressure in hypertension. **Clinical science (London, England : 1979)**, v. 57 Suppl 5, p. 283s-285s, dez. 1979.

YANG, H.; ZUO, Y.; FOGO, A. Models of chronic kidney disease. **Drug Discovery Today: Disease Models**, v. 7, p. 1-10, 2010.

YASUOKA, S. et al. Blood Pressure Variability Activates Cardiac Mineralocorticoid Receptor and Induces Cardiac Remodeling in Hypertensive Rats. **Circulation Journal**, v. 77, n. 6, p. 1474-1481, 2013.

YINGST, D. R. et al. Decreased renal perfusion rapidly increases plasma membrane Na-K-ATPase in rat cortex by an angiotensin II-dependent mechanism. **American journal of physiology. Renal physiology**, v. 297, n. 5, p. F1324-9, nov. 2009.

ZHANG, L.-C. et al. Angiotensin-converting enzyme and Angiotensin-converting enzyme 2 are involved in sinoaortic denervation-induced cardiovascular hypertrophy in rats. **Biological & pharmaceutical bulletin**, v. 34, n. 9, p. 1398-403, jan. 2011.

ZOU, A.; COWLEY, A. W. α 2 -Adrenergic receptor-mediated increase in NO production buffers renal medullary vasoconstriction. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, n. 279, p. 769 - 777, 2000.