

## Efeitos do Alopurinol em Rins Isquêmicos de Cães Anestesiados com Pentobarbital Sódico \*

Norma Sueli Pinheiro Módolo, TSA<sup>1</sup>, Yara Marcondes Machado Castiglia, TSA<sup>2</sup>, Eliana Marisa Ganem, TSA<sup>1</sup>, José Reinaldo Cerqueira Braz, TSA<sup>2</sup>, Pedro Thadeu Galvão Vianna, TSA<sup>2</sup>

### RESUMO

Módolo NSP, Castiglia YMM, Ganem EM, Braz JRC, Vianna PTG - Efeitos do Alopurinol em Rins Isquêmicos de Cães Anestesiados com Pentobarbital Sódico

**Justificativa e Objetivos** - O alopurinol é droga que inibe a formação de radicais livres lesivos ao rim. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito protetor renal do alopurinol em rins isquêmicos de cães.

**Método** - Em 16 cães, anestesiados com pentobarbital sódico (PS) e submetidos à expansão do volume extracelular ( $1,4 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), à respiração mecânica com ar ambiente, à nefrectomia direita e ao pinçamento da artéria renal esquerda foram estudadas as alterações que poderiam ocorrer na morfologia e função renal após período de trinta minutos de total isquemia e posterior reperfusão, no Grupo 1 (G<sub>1</sub>), bem como a ação do alopurinol ( $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) sobre estes rins, administrado 24 horas antes do experimento e uma hora antes da realização de isquemia no Grupo 2 (G<sub>2</sub>). Os atributos estudados, frequência cardíaca, pressão da cava inferior, pressão arterial média, depuração de PAH, fluxo sanguíneo renal, resistência vascular renal, depuração de creatinina, fração de filtração, débito urinário, osmolalidade plasmática e urinária, depuração osmolar, de água livre, de sódio e de potássio, excreção urinária e fracionária de sódio e de potássio, hematócrito, temperatura retal e exame histológico do rim esquerdo foram pesquisados em quatro momentos: M<sub>1</sub>, momento controle, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> e M<sub>4</sub>, obtidos, respectivamente, imediatamente, 15 e 30 minutos após a liberação da artéria renal esquerda. Em G<sub>2</sub>, a obtenção de M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> e M<sub>4</sub> ocorreu 45, 90, 105 e 120 minutos após a 2ª dose do alopurinol.

**Resultados** - Em M<sub>1</sub>, de ambos os grupos, ocorreram os maiores valores para o C<sub>PAH</sub>, FSR e C<sub>cr</sub> e os menores valores para o RVR. Os animais mantiveram-se taquicárdicos desde o início do experimento, tanto em G<sub>1</sub> quanto em G<sub>2</sub>. Os demais parâmetros não se alteraram. O exame histológico do rim esquerdo mostrou alterações compatíveis com necrose tubular aguda em ambos os grupos experimentais.

**Conclusões** - As alterações encontradas na hemodinâmica renal são compatíveis com a liberação de substâncias vasocons-

tritoras pela isquemia renal. O alopurinol não se mostrou eficaz em prevenir as alterações renais decorrentes da isquemia e reperfusão.

UNITERMOS - ANIMAL: cão; COMPLICAÇÕES: isquemia renal; DROGAS: alopurinol; HIPNÓTICOS, Barbitúricos: pentobarbital

### SUMMARY

Módolo NSP, Castiglia YMM, Ganem EM, Braz JRC, Vianna PTG - Effects of Allopurinol in Ischemic Kidneys of Dogs Anesthetized with Sodium Pentobarbital

**Background and Objectives** - Allopurinol is a drug which inhibits the formation of noxious renal free radicals. The aim of this study was to evaluate the protecting renal effects of allopurinol in ischemic kidneys of dogs.

**Methods** - Sixteen dogs were anesthetized with sodium pentobarbital and submitted to extracellular volume expansion ( $1.4 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), to mechanic ventilation with air, to right nephrectomy and to left renal artery clamping. Changes which might occur in renal morphology and function after 30 min of total ischemia and posterior reperfusion were studied in Group 1 (G<sub>1</sub>), in addition to the action of allopurinol ( $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ ) on those kidneys, when administered 24 h before the experiment and 1 h before the ischemic procedure in Group 2 (G<sub>2</sub>). The following parameters: heart rate, inferior vena cava pressure, mean blood pressure, PAH clearance (PAH<sub>C</sub>), renal blood flow (RBF), renal vascular resistance (RVR), creatinine clearance (Cr<sub>C</sub>), filtration fraction, urine output, plasma and urine osmolality, osmolar clearance, free water, sodium and potassium clearance, urine and fractional sodium and potassium excretion, hematocrit, rectal temperature, and left kidney histology were evaluated in four moments: M1 control, and M2, M3, M4 obtained immediatly, 15 and 30 min after unclamping of the left renal artery. In G<sub>2</sub>, M1, M2, M3 and M4 were obtained 45, 90, 105, and 120 min after the second allopurinol dose.

**Results** - Both groups showed the highest values for PAH<sub>C</sub>, RBF, and Cr<sub>C</sub>, and the lowest values for RVR in M1. Animals were tachycardiac since the beginning of the experiment both in G<sub>1</sub> and in G<sub>2</sub>. The other parameters were not changed. Left kidney histological evaluation showed alterations compatible with acute tubular necrosis in both experimental groups.

**Conclusions** - Alterations found in renal hemodynamics were compatible with the release of vasoconstrictor substances due to renal ischemia. Allopurinol was not effective in preventing renal alterations caused by ischemia and reperfusion.

KEY WORDS - ANIMAL: dog; COMPLICATIONS: renal ischemia; DRUGS: allopurinol; HYPNOTICS, Barbiturate: pentobarbital

\* Trabalho realizado no Departamento de Anestesiologia da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, Botucatu - SP

1. Professora Assistente Doutora do Departamento de Anestesiologia da FMB - UNESP

2. Professor(a) Titular do Departamento de Anestesiologia da FMB - UNESP

Apresentado em 25 de novembro de 1999  
Aceito para publicação em 27 de dezembro de 1999

Correspondência para Dra. Norma Sueli Pinheiro Módolo  
Deptº de Anestesiologia da FMB - UNESP  
Distrito de Rubião Junior  
18618-970 Botucatu, SP

© 2000, Sociedade Brasileira de Anestesiologia

O rim é de fundamental importância para a homeostase do organismo, sendo que o controle adequado do volume extracelular, das concentrações dos eletrólitos plasmáticos e do equilíbrio ácido-base são dependentes de sua boa função.

Quando a técnica cirúrgica agride o rim é, na maior parte das vezes, através da interrupção temporária do fluxo sanguíneo renal. As alterações que se instalam terão a gravidade comandada pelo tempo de isquemia: trinta minutos ocasionam alterações anatômicas e fisiológicas<sup>1,2</sup>. O mecanismo preciso do dano isquêmico e o ponto exato em que o processo, torna-se irreversível ainda é obscuro. As lesões poderão ser abrandadas ou prevenidas através de medidas agrupadas em cinco categorias.

A primeira seria a interferência com o ambiente renal, reduzindo a temperatura<sup>3-5</sup>; outra seria a manipulação dos fluxos sanguíneo e urinário e processos de transportes renais, empregando diuréticos, como o manitol<sup>6,7</sup>, a furosemida<sup>8</sup>, a dopamina<sup>9</sup> ou o fator natriurético atrial<sup>10,11</sup>; uma terceira seria o aumento da provisão energética da célula, com substâncias como o ATP - cloreto de magnésio<sup>12</sup> e os hormônios tireoidianos<sup>13</sup>; a quarta seria a interferência com os hormônios renais através de atuação sobre o sistema renina-angiotensina-aldosterona<sup>2,14</sup> e os produtos da degradação do ácido aracdônico<sup>15-17</sup>, com o intuito de mantê-los em equilíbrio, proporcionando melhor desempenho renal; o quinto mecanismo proposto é o de manipulação de substâncias que causam lesão tissular, quando em excesso, como os íons cálcio<sup>18-21</sup> e os radicais livres<sup>5,16</sup>.

Esta pesquisa teve por objetivo avaliar a ação protetora renal do alopurinol que atua bloqueando a formação dos radicais livres de oxigênio e aumentando a provisão energética das células.

## MÉTODO

Utilizaram-se 16 cães adultos, sadios, de ambos os sexos, sem raça definida, cujos pesos variaram de 9,5 a 27 kg. Os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (PS), por via venosa, 30 mg.kg<sup>-1</sup> para indução e 5 mg.kg<sup>-1</sup> para manutenção da anestesia (aos 45 e 105 minutos após a dose inicial).

Foram criados dois grupos de estudo, com oito animais em cada grupo, obedecendo o critério de sorteio:

Grupo 1 (G<sub>1</sub>): Realização de lobotomia direita para a nefrectomia e lobotomia esquerda para pinçamento da artéria renal por 30 minutos.

Grupo 2 (G<sub>2</sub>): mesmos procedimentos do Grupo 1 e administração do alopurinol, por via oral, 24 horas antes do experimento e 1 hora antes do pinçamento da artéria renal esquerda, na dose de 50 mg.kg<sup>-1</sup> de peso corporal.

Após jejum de 14 horas, os animais foram anestesiados com PS e colocados em decúbito dorsal sobre a goteira de Claude Bernard. Realizou-se a seguir:

1) Intubação orotraqueal e instalação de ventilação controlada com ar, empregando-se aparelho de anestesia K. Takaoka, Mod 850-10. O volume corrente foi de 15 ml.kg<sup>-1</sup> e a frequência respiratória, de 10 movimentos por minuto;

- 2) Dissecção e cateterismo da veia femoral esquerda para medida de pressão da veia cava inferior, através de manômetro de água, para administração das doses complementares de PS e do cloreto de alcurônio, 0,2 mg.kg<sup>-1</sup>, inicialmente, e 0,006 mg.kg<sup>-1</sup> para doses complementares, coleta de sangue venoso para dosagem bioquímica e infusão contínua de solução de Ringer (1 ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>);
- 3) Dissecção e cateterismo da artéria femoral direita para medida de pressão arterial média, através de manômetro de mercúrio;
- 4) Dissecção e cateterismo da veia femoral direita para administração, trinta minutos após o início da infusão contínua de solução de Ringer com lactato, da dose inicial "prime" de solução de para-aminohipurato de sódio (PAH) (4 mg.kg<sup>-1</sup>) e de creatinina (30 mg.kg<sup>-1</sup>) em solução de Ringer. Foi instalada, a seguir e até o término da experiência, a infusão contínua da solução de PAH (0,06 g%) e de creatinina (0,15 g%) em solução de Ringer, sendo administrados, por minuto, 0,6 mg de creatinina e 0,24 mg de PAH por quilograma de peso do animal (0,4 ml.kg<sup>-1</sup>.min<sup>-1</sup>);
- 5) Colocação de sonda orogástrica para administração de alopurinol, 50 mg.kg<sup>-1</sup> de peso corporal, diluídos em 20 ml de solução fisiológica 0,9% no Grupo 2 (G<sub>2</sub>), no mesmo momento em que era administrada a solução *prime*. No Grupo 1 (G<sub>1</sub>), administrava-se a mesma quantidade de solução fisiológica 0,9% através da sonda;
- 6) Realização de lobotomia direita para a retirada do rim e lobotomia esquerda para cateterização do ureter e dissecção do pedículo renal. Exposição da artéria renal esquerda, colocação de pinça atraumática, a qual permanecia aberta até o momento do pinçamento;
- 7) Cateterização do ureter com cateter de polivinil de números 6 ou 8, dependendo do animal. A urina, sempre que era produzida, fluía continuamente pelo cateter durante o experimento;
- 8) Colocação de termômetro de álcool no reto para determinação da temperatura.
- 9) Sacrifício do animal com solução de formol a 20%, por via venosa;
- 10) Coleta de material para estudo histológico dos rins.

Os parâmetros foram classificados em dois grupos:

1. Para controle da homogeneidade do experimento: peso do animal (kg), frequência respiratória (mov.min<sup>-1</sup>), volume corrente (ml.kg<sup>-1</sup>), hematócrito (Ht) (%), temperatura retal (°C).
2. Para atender as finalidades da pesquisa. Hemodinâmicos: fluxo plasmático renal (medido pela depuração de PAH -  $C_{PAH} = U_{PAH} \times V / P_{PAH}$ ; na qual V = débito urinário, U e P = concentração de PAH na urina e plasma, respectivamente); fluxo sanguíneo renal (FSR =  $C_{PAH}/1-Ht$ ); resistência vascular renal (RVR =  $PAM/FSR$ ). De função renal: ritmo de filtração glomerular (RFG) (medido pela deputação de creatinina -  $C_{cr} = U_{cr} \times V / P_{cr}$ ); débito urinário

rio (V); fração de filtração ( $FF = C_{cr} / C_{PAH}$ ); osmolalidade plasmática ( $P_{osm}$ ); osmolalidade urinária ( $U_{osm}$ ); depuração osmolar ( $C_{osm} = U_{osm} \times V / P_{osm}$ ); depuração de sódio e potássio ( $C_{Na\ ou\ K} = U_{Na\ ou\ K} \times V / P_{Na\ ou\ K}$ ); depuração de água livre ( $C_{H_2O} = V - C_{osm}$ ); excreção urinária de sódio ( $U_{Na} V = U_{Na} \times V$ ); excreção fracionária de sódio ( $EF_{Na} = C_{Na} / C_{cr} \times 100$ ); excreção urinária de potássio ( $U_K V = U_K \times V$ ); excreção fracionária de potássio ( $EF_K = C_K / C_{cr} \times 100$ ). Estudo histológico do rim esquerdo.

Os parâmetros estudados foram obtidos nos seguintes momentos:

- M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> - controles, 30 e 45 minutos após a dose inicial de PAH e creatinina e também 15 e 30 minutos após a 1ª dose complementar de PS e em G<sub>2</sub>, após 30 e 45 minutos, da administração da 2ª dose do alopurinol, respectivamente.
- M<sub>3</sub> - em G<sub>1</sub>, 75 minutos após a 1ª dose do PS e 15 minutos após a 2ª dose de PS e imediatamente após a liberação da artéria renal esquerda. Em G<sub>2</sub>, após 90 minutos da administração da 2ª dose do alopurinol.
- M<sub>4</sub> - em G<sub>1</sub>, 90 minutos após a 1ª dose do PS e 30 minutos após a 2ª dose de PS, e 15 minutos após a liberação da artéria renal esquerda. Em G<sub>2</sub>, após 105 minutos da administração da 2ª dose do alopurinol.
- M<sub>5</sub> - em G<sub>1</sub>, 105 minutos após a 1ª dose do PS e 45 minutos após a 2ª dose do PS, e 30 minutos após a liberação da artéria renal esquerda. Em G<sub>2</sub>, após 120 minutos da administração da 2ª dose do alopurinol.

Para melhor representatividade estatística, optou-se por transformar os dois momentos iniciais em um único momento, desde que ambos constituíram o controle do animal. Portanto, para efeito de discussão dos resultados, o M<sub>1</sub> considerado foi a média de M<sub>1</sub> e M<sub>2</sub> e, desse modo, M<sub>3</sub>, M<sub>4</sub> e M<sub>5</sub>, passaram a ser, respectivamente, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> e M<sub>4</sub>.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos estão representados na tabela I. Houve homogeneidade entre os cães dos dois grupos experimentais com relação à PAM, à PCI, à P<sub>osm</sub>, à U<sub>osm</sub>, à FF, ao V, ao C<sub>osm</sub>, ao C<sub>H<sub>2</sub>O</sub>, ao C<sub>Na</sub>, à U<sub>Na</sub>V, à EF<sub>Na</sub>, ao C<sub>K</sub>, à U<sub>K</sub>V e à EF<sub>K</sub>. Os animais dos grupos G<sub>1</sub> e G<sub>2</sub> apresentaram valores significativamente maiores em M<sub>1</sub> referentes aos parâmetros C<sub>PAH</sub>, FSR e C<sub>cr</sub>.

A RVR apresentou, tanto em G<sub>1</sub> quanto em G<sub>2</sub>, os menores valores em M<sub>1</sub>.

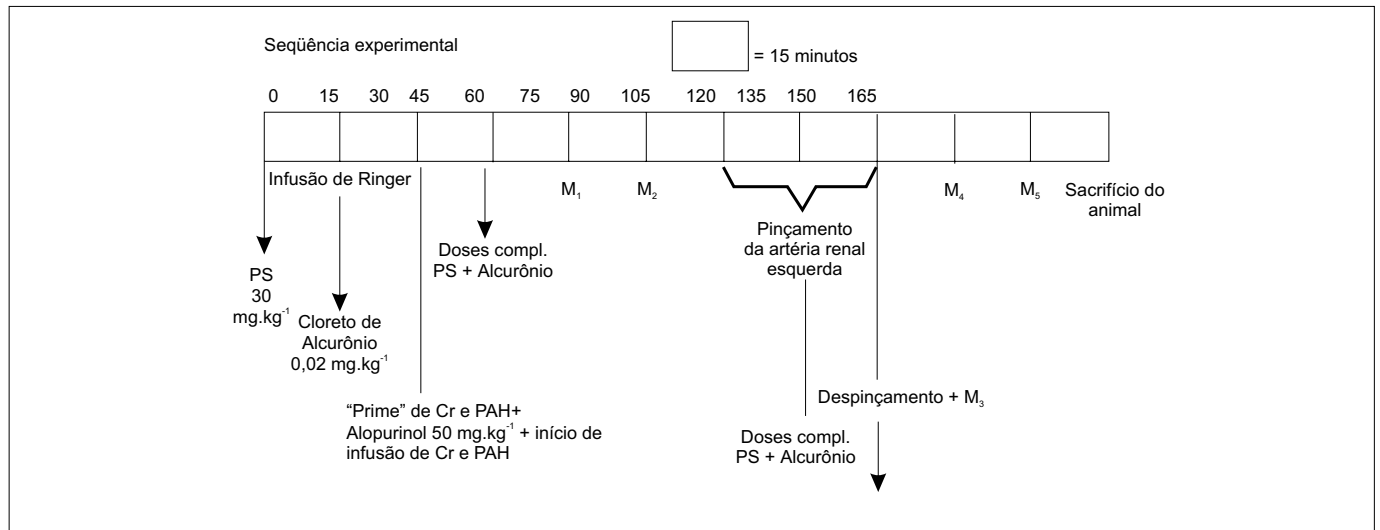
A temperatura retal apresentou redução estatisticamente significativa no decorrer do experimento.

O resultado do exame histológico dos rins mostrou necrose tubular aguda, com maior comprometimento da porção reta dos túbulos proximais e fragmentação das bordas tubulares. Nas células tubulares encontrou-se intensa vacuolização citoplasmática e degeneração hialino goticular. Na luz tubular havia presença de material espumoso e protéico hialino. Estes achados foram semelhantes em ambos os grupos experimentais.

## DISCUSSÃO

Em cães, a frequência cardíaca é considerada normal entre 60 a 120 batimentos por minuto. Os animais apresentaram elevação da mesma nos momentos iniciais do experimento em ambos os grupos. O pentobarbital sódico, utilizado como anestesia de base, eleva os batimentos cardíacos, seja devido a ação simpatomimética<sup>22</sup>, vagolítica<sup>23</sup> ou mediação através de reflexos desencadeados por barorreceptores arteriais<sup>24</sup>. O alopurinol utilizado no Grupo 2 não interfere com a frequência cardíaca.

Quanto ao FSR, C<sub>PAH</sub> e C<sub>cr</sub>, que clinicamente traduz o ritmo de filtração glomerular, os grupos apresentam os maiores valores em M<sub>1</sub>, momento controle, realizado antes da isque-



Esquema representativo das drogas e soluções administradas durante a seqüência experimental.

Tabela I - Média  $\pm$  DP dos Parâmetros Hemodinâmicos em Cada Momento nos Dois Grupos Experimentais

Parâmetros	Momentos Grupos	M1	M2	M3	M4	Análise
FC (bat/min)	G <sub>1</sub>	150,87 $\pm$ 18,78	146,00 $\pm$ 26,10	141,75 $\pm$ 23,38	139,50 $\pm$ 25,13	G <sub>1</sub> = G <sub>2</sub> M <sub>1</sub> > (M <sub>2</sub> = M <sub>3</sub> = M <sub>4</sub> ) em G <sub>1</sub> =G <sub>2</sub> p<0,01
	G <sub>2</sub>	149,15 $\pm$ 16,65	137,75 $\pm$ 22,81	133,25 $\pm$ 26,81	134,25 $\pm$ 24,08	
C <sub>PAH</sub> ml/kg/min	G <sub>1</sub>	3,03 $\pm$ 1,62	1,19 $\pm$ 0,48	1,36 $\pm$ 0,65	1,61 $\pm$ 0,92	G <sub>1</sub> = G <sub>2</sub> M <sub>1</sub> > (M <sub>2</sub> = M <sub>3</sub> = M <sub>4</sub> ) em G <sub>1</sub> =G <sub>2</sub> p<0,01
	G <sub>2</sub>	4,04 $\pm$ 2,87	1,97 $\pm$ 1,72	2,63 $\pm$ 2,52	2,23 $\pm$ 1,85	
FSR ml/kg/min	G <sub>1</sub>	4,12 $\pm$ 2,10	1,62 $\pm$ 0,68	1,92 $\pm$ 0,82	2,12 $\pm$ 1,11	G <sub>1</sub> = G <sub>2</sub> M <sub>1</sub> > (M <sub>2</sub> = M <sub>3</sub> = M <sub>4</sub> ) em G <sub>1</sub> =G <sub>2</sub> p<0,01
	G <sub>2</sub>	6,14 $\pm$ 4,79	2,97 $\pm$ 2,80	3,92 $\pm$ 3,94	3,13 $\pm$ 2,78	
RVR mmHg/ml/min	G <sub>1</sub>	2,71 $\pm$ 1,16	5,86 $\pm$ 3,88	5,52 $\pm$ 3,88	4,71 $\pm$ 2,67	G <sub>1</sub> = G <sub>2</sub> G <sub>1</sub> = M <sub>1</sub> < M <sub>4</sub> p<0,05 G <sub>2</sub> = M <sub>1</sub> < (M <sub>2</sub> = M <sub>3</sub> = M <sub>4</sub> ) p<0,01
	G <sub>2</sub>	2,97 $\pm$ 2,60	8,36 $\pm$ 9,74	8,22 $\pm$ 11,32	5,30 $\pm$ 3,93	
C <sub>cr</sub> ml/kg/min	G <sub>1</sub>	0,50 $\pm$ 0,21	0,33 $\pm$ 0,16	0,50 $\pm$ 0,22	0,62 $\pm$ 0,28	G <sub>1</sub> = G <sub>2</sub> G <sub>1</sub> = M <sub>1</sub> > M <sub>2</sub> p<0,05 G <sub>2</sub> = M <sub>1</sub> < (M <sub>2</sub> = M <sub>3</sub> = M <sub>4</sub> ) p<0,01
	G <sub>2</sub>	1,07 $\pm$ 0,95	0,62 $\pm$ 0,80	0,60 $\pm$ 0,41	0,74 $\pm$ 0,60	
Tr °C	G <sub>1</sub>	31,81 $\pm$ 1,25	30,81 $\pm$ 1,30	30,28 $\pm$ 0,98	30,18 $\pm$ 0,92	G <sub>1</sub> = G <sub>2</sub> G <sub>1</sub> = M <sub>1</sub> > M <sub>2</sub> (M <sub>3</sub> = M <sub>4</sub> ) p<0,01 G <sub>2</sub> = M <sub>1</sub> > M <sub>2</sub> > M <sub>3</sub> > M <sub>4</sub> p<0,01
	G <sub>2</sub>	32,25 $\pm$ 0,65	31,50 $\pm$ 0,70	30,93 $\pm$ 0,90	30,62 $\pm$ 1,09	

mia renal. Entretanto, a resistência vascular renal, em ambos os grupos, mostrou valores menores em M<sub>1</sub>.

Entendemos que, no rim, todas essas funções são reguladas por fatores ou substâncias que causam vasoconstrição ou vasodilatação. Isto é, há perfeita modulação destas variáveis e o resultado é a otimização da homeostase renal. A interrupção temporária e total do fluxo sanguíneo renal pode ter desencadeado quebra deste equilíbrio, com predomínio das ações vasoconstritoras destes fatores ou substâncias, que se refletem a partir de M<sub>2</sub> (FSR, C<sub>PAH</sub>, C<sub>er</sub> diminuem a partir de M<sub>2</sub> e há aumento na RVR).

Uma importante alteração encontrada durante isquemia é o aumento do cálcio livre intracelular. Sob condições normais, o cálcio livre no citoplasma da célula é mantido em níveis considerados baixos se comparados com os do cálcio do fluido extracelular. Em situações de isquemia, a concentração e distribuição deste íon podem ser alteradas por vários motivos. Primeiro, com a depleção do oxigênio e a queda de concentração do ATP, a habilidade das células de exportarem cálcio fica limitada. O seqüestro do cálcio pela mitocôndria e pelo retículo endoplasmático também se torna ineficiente, pois é dependente de energia. Segundo, a queda do pH durante a isquemia diminui a afinidade do cálcio pelo citrato e pelo glutamato, substâncias às quais uma quantidade significativa do mesmo fica ligada. Há, portanto, liberação do cálcio como íon livre.

O aumento do cálcio intracelular propicia sua ligação com a proteína calmodulina e forma o complexo cálcio-calmodulina, essencial para a ativação da actina F, necessária para a contração muscular. O aumento da concentração deste

complexo pode bloquear o efeito inibitório da proteína caldesmon, responsável pelo relaxamento do músculo liso, aumentando, desta forma, a atividade contrátil.

Outro fato relevante é o envolvimento do sistema renina-angiotensina-aldosterona, que tem importante papel na modulação da função renal.

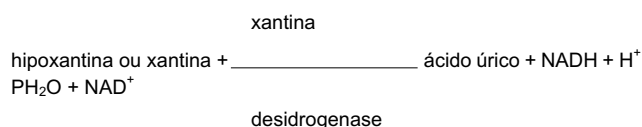
Em nossa pesquisa, a interrupção temporária do fluxo sanguíneo renal, diminuindo o volume sanguíneo, poderia ter diminuído a pressão na arteríola aferente, que levaria a menor contato com as células granulares do aparelho justaglomerular, resultando em secreção de renina<sup>25-27</sup>. Esta enzima liberada age sobre seu substrato, uma  $\alpha_2$  globulina que catalisa a conversão de uma das proteínas plasmáticas, denominada substrato de renina, no peptídeo angiotensina I. A renina persiste no sangue por uma hora e continua a formar angiotensina I durante todo o tempo. Poucos segundos após a formação da angiotensina I, ela é convertida em outro peptídeo, a angiotensina II, por uma enzima chamada de conversão, presente nos pulmões e no aparelho justaglomerular. Este fato sugere que a angiotensina II possa ser formada localmente no rim e, desta forma, venha a desempenhar papel importante na regulação do fluxo plasmático renal e no ritmo de filtração glomerular. A angiotensina II é potente vasoconstritor renal e periférico e, também, estimula a liberação de aldosterona pelo córtex da supra-renal, a qual, por sua vez, atua nos rins, determinando diminuição da excreção de sal e água<sup>28,27</sup>.

O efeito da angiotensina II, demonstrado por vários autores, parece ser nas artérias arqueadas e interlobulares e nas arteríolas aferente e eferente<sup>29-33</sup> provocando vasoconstricção

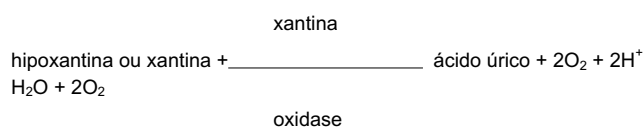
ção. Portanto, a liberação da angiotensina II poderia ter contribuído para os resultados encontrados em M<sub>2</sub>, isto é, aumento da resistência vascular renal e diminuição do ritmo de filtração glomerular.

Ainda, o aumento do cálcio livre intracelular desencadeia a liberação do ácido aracdônico, ao ativar a fosfolipase H<sub>2</sub>. Este ácido forma, através da ciclo-oxigenase, os endoperóxidos. Estes últimos podem ser convertidos em prostaglandinas I<sub>2</sub> (prostaciclina) e prostaglandinas E<sub>2</sub>, que são vasodilatadoras<sup>5,34-36</sup>. Pela mesma via, o ácido aracdônico produz prostaglandina F<sub>2</sub> α e o tromboxane A<sub>2</sub>, que são vasoconstritores<sup>5,17,37</sup>.

Os vasoconstritores, portanto, não somente causam vasoconstrição, mas, também, liberam substâncias vasodilatadoras, as quais modificam os efeitos vasoconstritores. Entretanto, na isquemia há predomínio dos efeitos vasoconstritores, o que acreditamos tenha acontecido em nossos animais, traduzindo-se em elevação da resistência vascular renal, em M<sub>2</sub>, tanto no Grupo 1, quanto no Grupo 2. Outro aspecto importante é a redução em 70 a 90% do ATP da célula, com dez minutos de isquemia renal. Durante o episódio isquêmico, há degradação do ATP das células a ADP, AMP, IMP, com formação de adenosina, inosina e hipoxantina. Os nucleotídeos ATP, ADP, AMP, IMP são relativamente impermeáveis às células. Contrastando com isso, os nucleosídeos adenina, inosina e a base hipoxantina podem sair da célula e diminuir o substrato para a formação das purinas. A hipoxantina consegue ser convertida em ácido úrico pela enzima xantina oxidase. Durante esta reação são formados os radicais livres, principalmente na fase de reperfusão, que pioram os danos celulares isquêmicos. A maior fonte de superóxido no tecido isquêmico decorre da atuação da enzima xantina oxidase. Esta enzima é sintetizada como xantina desidrogenase, que é responsável por 90% da atividade do tecido saudável. A enzima desidrogenase não transfere elétrons do oxigênio molecular para formar peróxido de hidrogênio ou superóxido, mas pode reduzir a coenzima adenina-nicotinamida dinucleotídeo (NAD<sup>+</sup>), que transporta energia química na forma de átomos de hidrogênio ou elétrons das reações catabólicas para as anabólicas.



A enzima xantina oxidase tem a possibilidade de usar oxigênio molecular, ao invés de NAD<sup>+</sup>, produzindo superóxido e/ou peróxido de hidrogênio, que são lesivos às células quando formados em excesso.



Esta conversão da xantina desidrogenase em xantina oxidase ocorre, *in vivo*, em tecidos isquêmicos<sup>38,39</sup>. Segundo McCord, 1985, o processo de conversão começa quando a diminuição do fluxo sanguíneo limita o oxigênio para a produção do ATP. Toda energia da célula cai, e o gradiente iônico através da membrana celular não se mantém e precipita a redistribuição do íon cálcio. A elevada concentração do cálcio no citoplasma da célula parece ser o fator ativador da protease capaz de converter a enzima xantina desidrogenase em xantina oxidase. No rim, esta conversão atinge o pico máximo em trinta minutos. Portanto, o acúmulo da hipoxantina e a mudança desta atividade enzimática, durante a isquemia, formam, principalmente durante a reperfusão, os radicais livres do oxigênio. O efeito destes compostos na integridade capilar e na membrana celular seria devido à degradação do ácido hialurônico e do colágeno.

O dano isquêmico, levando à lesão celular com descamação e lesão tubular por estas células descamadas, ao aumento da pressão tubular e extravasamento para o interstício do fluido filtrado, perpetua as lesões iniciais e determina alterações funcionais renais.

O alopurinol, que é inibidor da enzima xantina oxidase, utilizado em G<sub>2</sub>, poderia bloquear a formação dos radicais livres e, ao mesmo tempo, aumentar a fonte de metabólitos intermediários para a ressíntese do ATP e, desta forma, determinar melhora nos danos isquêmicos, abrandando as alterações fisiológicas<sup>40-43</sup>.

Alguns autores demonstraram que o alopurinol melhorava a função dos rins em vários animais de experimentação submetidos a tempos variáveis de isquemia<sup>41,44-48</sup>. Em nosso trabalho, o alopurinol não se mostrou totalmente eficaz em prevenir ou atenuar as lesões isquêmicas. Os grupos experimentais exibiram alterações fisiológicas e histológicas semelhantes.

A realização do experimento de forma aguda pode não ter propiciado tempo suficiente para que se detectasse o benefício do alopurinol.

Em resumo, a isquemia renal, determinando desequilíbrio na liberação e na atuação das substâncias vasoconstritoras e vasodilatadoras produzidas localmente no rim, pode ter provocado as alterações encontradas na hemodinâmica renal (aumento da RVR, diminuição do FSR, C<sub>cr</sub> e C<sub>PAH</sub>) e no exame histológico (necrose tubular aguda). O alopurinol, administrado 24 horas antes do experimento e uma hora antes da interrupção total e temporária do FSR, parece não ter protegido totalmente o rim do episódio de isquemia e reperfusão.

## RESUMEN

Módolo NSP, Castiglia YMM, Ganem EM, Braz JRC, Vianna PTG - Efectos del Alopurinol en Riñones Isquémicos de Canes Anestesiados con Pentobarbital Sódico

**Justificativa y Objetivos** - El alopurinol es la droga que inhibe la formación de radicales libres lesivos al riñón. El objetivo de este estudio fue verificar el efecto protector renal del alopurinol en riñones isquémicos de canes.

**Método** - En 16 canes, anestesiados con pentobarbital sódico (PS), y sometidos a la expansión del volumen extracelular ( $1,4 \text{ ml.kg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ ), a la respiración mecánica con aire ambiente, a la nefrectomía derecha y al clampeamiento de la arteria renal izquierda, fueron estudiadas las alteraciones que podrían ocurrir en la morfología y función renal después de un período de treinta minutos de total isquemia y posterior reperfusión, en el Grupo 1 ( $G_1$ ), bien como la acción, sobre estos riñones, del alopurinol ( $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), administrado 24 horas antes del experimento y una hora antes de la realización de isquemia en el Grupo 2 ( $G_2$ ). Los atributos estudiados, frecuencia cardíaca, presión de la cava inferior, presión arterial media, depuración de PAH, flujo sanguíneo renal, resistencia vascular renal, depuración de creatinina, fracción de filtración, débito urinario, osmolalidad plasmática y urinaria, depuración osmolar, de agua libre, de sodio y de potasio, excreción urinaria y fraccionaria de sodio y de potasio, hematócrito, temperatura retal e examen histológico del riñón izquierdo, fueron pesuados en cuatro momentos:  $M_1$ , momento control,  $M_2$ ,  $M_3$  e  $M_4$ , obtenidos, respectivamente, de inmediato, 15 y 30 minutos después del desclampeamiento de la arteria renal izquierda. En  $G_2$ , la obtención de  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$  y  $M_4$  ocurrió 45, 90, 105 y 120 minutos después de la 2ª dosis del alopurinol.

**Resultados** - En  $M_1$ , de ambos grupos, ocurrieron los mayores valores para el  $C_{PAH}$ , FSR y  $C_{cr}$  y los menores valores para el RVR. Los animales se mantuvieron taquicárdicos desde el inicio del experimento, tanto en  $G_1$  cuanto en  $G_2$ . Los demás parámetros no se alteraron. El examen histológico del riñón izquierdo mostró alteraciones compatibles con necrosis tubular aguda en ambos grupos experimentales.

**Conclusiones** - Las alteraciones encontradas en la hemodinámica renal son compatibles con la liberación de substancias vasoconstrictoras por la isquemia renal. El alopurinol, no se mostró eficaz en prevenir las alteraciones renales decorrientes de la isquemia y reperfusión.

## REFERÊNCIAS

- Paller MS, Anderson RJ - Use of vasoactive agents in the therapy of acute renal failure, em: Brenner BM, Lazarus JM - Acute renal failure. 3<sup>th</sup> Ed, Philadelphia, Saunders, 1983;723-40.
- Módolo NSP - Efeitos do metoprolol na função renal de modelo de isquemia renal aguda em cães. Dissertação (Mestrado em Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 1989;114.
- Marberger M, Günter R, Mayer EJ et al - A simple method for in situ preservation of the ischemic kidney during renal surgery. Invest Urol, 1976;14:191-193.
- Zager RA, Altschuld R - Body temperature: an important determinant of severity of ischemic renal injury. Am J Physiol, 1986;251:87-93.
- McDougal WS - Renal perfusion/reperfusion injuries. J Urol, 1988; 140:1325-1330.
- Burke TJ, Cronin RE, Duchin KL et al - Ischemia and tubule obstruction during acute renal failure in dogs: manintol protection. Am J Physiol, 1980;238:305-314.
- Schrier RW, Arnold PE, Gordon JA et al - Protection of mitochondrial function by manintol in ischemic acute renal failure. Am J Physiol, 1984;247:365-369.
- Graziani G, Cantaluppi A, Casati S et al - Dopamine and furosemide in oliguric acute renal failure. Nephron, 1984;37:39-42.
- Parker S, Carlon GC, Iaacs M et al - Dopamine administration in oliguria and oliguric renal failure. Crit Care Med, 1981;9:630-632.
- deBodd AJ, Borenstein HB, Veredd AT et al - A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extract in rats. Life Sci, 1981;28:89-94.
- Fried TA, MacCoy RN, Osgood RW et al - Effect of atriopeptin II on determinants of glomerular filtration in the perfused dog glomerulus. Am J Physiol, 1986;250:1119-1122.
- Gaudio KM, Taylor MR, Chaudry IH et al - Accelerated recovery of single nephron function by the postischemic infusion of ATP -  $\text{MgCl}_2$ . Kidney Int, 1982;22:13-20.
- Schulte-Wissermann H, Straub E, Funke PJ - Influence of L - thyroxin upon enzymatic activity in the renal tubular epithelium of the rat under normal conditions and in mercury induced lesions. Virchows Arch Cell B Pathol, 1977;23:175-184.
- Kotchen TA, Roy MW - Renin-angiotensin, em: Dunn MJ - Renal Endocrinology. Baltimore, Williams & Wilkins, 1983;181-204.
- Badr KF, Jacobson HR - Arachidonic acid metabolites and the kidney, em: Brenner BM, Rector FC, The Kidney, 4<sup>th</sup> Ed, Philadelphia, Saunders, 1991;584-619.
- Finn WF - Prevention of ischemic injury in renal transplantation. Kidney Int, 1990;37:171-182.
- Bonventre JV, Nemenoff R - Renal tubular arachidonic acid metabolism. Kidney Int, 1991; 39:438-449.
- Schrier RW, Arnold PE, Van Putten V et al - Cellular calcium in ischemic acute renal failure - role of calcium entry blockers. Kidney Int, 1987;32:312-321.
- Schrier RW, Hensen J - Cellular mechanisms of ischemic acute renal failure: role of  $\text{Ca}^{2+}$  and calcium entry blockers. Klin Wochenschr, 1988;66:800-807.
- Frei U, Margreiter R, Harms A et al - Preoperative graft reperfusion with calcium antagonist improves initial function: preliminary results of a prospective randomized trial in 110 kidneys recipients. Transplant Proc, 1987;19:3539-3541.
- Epstein M - Calcium antagonists and the kidney implications for renal protection. Kidney Int, 1992;41:66-72.
- Barlow C, Knott DH - Hemodynamic alterations after 30 minutes of pentobarbital sodium anesthesia in dogs. Am J Physiol, 1964;207: 764-766.
- Page IH, McCubbin JW - Autonomic regulation of arterial pressure response. Arch Int Pharmacodyn Ther, 1965;157:152-165.
- Manders WT, Vatner SF - Effects of sodium pentobarbital anesthesia on left ventricular function and distribution of cardiac output in dogs with particular reference to the mechanism for tachycardia. Circ Res, 1976;39:512-517.
- Brenner BM, Rector FC. The Kidney, 4<sup>th</sup> Ed, Philadelphia, Saunders, 1991; 1368.
- Vianna PTG - Rim e anestesia. Rev Bras Anestesiologia, 1991;41: 347-356.
- Malnic G, Marcondes M - Fisiologia renal. 3ª Ed, São Paulo: Ed. Pedagógica e Universitária, 1986;409.
- Guyton AC - Tratado de Fisiologia Médica, 5ª Ed, Philadelphia, W.B. Saunders, 1986; 251:610-618.
- Carmine PK, Morrison TK, Navar LGA - Angiotensin II effects on microvascular diameters of in vitro blood-perfused juxtamedullary nephrons. Am J Physiol, 1986;251:610-622.
- Nobiling R, Bührle CP, Hackenthal E et al - Ultrastructure, renin status, contractile and electrophysiological properties of the afferent glomerular arteriole in the rat hydronephrotic kidney. Virchows Arch Pathol Anat Hystopathol, 1986;410:31-42.
- Steinhausen M, Kücherer J, Parekh N - Angiotensin II control of the renal microcirculation: effect of blockade by saralasin. Kidney Int, 1986;30:56-61.
- Wilson SK - The effects of angiotensin II and norepinephrine on afferent arterioles in the rat. Kidney Int, 1986;30:895-905.
- Heyerass KJ, Aukland K - Interlobular arterial resistance. Influence of renal arterial pressure and angiotensin II. Kidney Int, 1987;31: 1291-1298.
- Ardailou N, Hagege J, Nivez MP et al - Vasoconstrictor-evoked prostaglandin synthesis in cultured human mesangial cells. Am J Physiol, 1985;248:240-246.

EFEITOS DO ALOPURINOL EM RINS ISQUÊMICOS DE CÃES  
ANESTESIADOS COM PENTOBARBITAL SÓDICO

35. Bernett R, Goldwasser P, Scharschmidt LA et al - Effects of leukotrienes on isolated rat glomeruli and cultured mesangial cells. *Am J Physiol*, 1986;250:838-844.
36. Scholondorff D, De Candido S, Satriano JA - Angiotensin II stimulate phospholipases C and A<sub>2</sub> in cultured rat mesangial cells. *Am J Physiol*, 1987;253:113-120.
37. Harris K - The role of prostaglandins in the control of renal function. *Br J Anaesth*, 1992;69: 233-235.
38. Roy RS, McCord JM - Superoxide and ischemia: conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase, em: Greenwald R, Cohen G - Oxyradicals and their scavenger systems: cellular and molecular aspects. New York, Elsevier, 1983;2:145-153.
39. McCord JM - Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med*, 1985; 312:159-163.
40. Crowell JW, Jones CE, Smith EE - Effect of allopurinol on hemorrhagic shock. *Am J Physiol*, 1969;216:744-748.
41. Vasko KA, DeWall RA, Riley AM - Effect of allopurinol in renal ischemia. *Surgery*, 1972;71: 787-790.
42. Keaveny TV, Cunningham SK, Fitzgerald P - The effect of allopurinol in sparing ATP, ADP and AMP in anoxic kidney. *Br J Surg*, 1973;60:66-76.
43. Crowell JW, Jones CE, Smith EE - Effect of allopurinol on hemorrhagic shock. *Am J Physiol*, 1969;216:744-748.
44. Hansson R, Gustafsson B, Jonsson O et al - Effect of xanthine oxidase inhibition on renal circulation after ischemia. *Transplant Proc*, 1982;14:51-58.
45. Hansson R, Jonsson O, Lundstam S et al - Effect of free radical scavengers on renal circulation after ischemia in the rabbit. *Clin Sci*, 1983;65:605-610.
46. Hansson R, Johansson S, Jonsson O et al - Kidney protection by pre-treatment with free radicals scavengers and allopurinol: renal function at recirculation after warm ischaemia in rabbits. *Clin Sci*, 1986;71:245-251.
47. Paller MS, Anderson RJ - Use of vasoactive agents in the therapy of acute renal failure, em: Brenner BM, Lazarus IM - Acute renal failure. Philadelphia: Saunders, 1983;28:723-740.
48. Baker GL, Corry RJ, Autor AP - Oxygen free radical induced damage in kidneys subjected to warm ischemia and reperfusion. *Am Surg*, 1985;202:628-641.