

EFEITO DA INIBIÇÃO CRÔNICA DO ÓXIDO NÍTRICO NO RIM DE RATOS DIABÉTICOS

Andréa de Castro PEREZ*

- **RESUMO:** O presente trabalho teve como finalidade analisar o efeito de um inibidor do óxido nítrico no rim de ratos normais e diabéticos. Observamos que L-N^G-nitro arginina metil éster (L-NAME), além de causar hipertensão arterial, não teve nenhum efeito na morfologia renal e, também não atenuou a diabetes pela inibição da produção do NO. O conhecimento sobre a produção de NO por ilhotas de Langerhans ainda precisa ser melhor estudado, porém este é um modelo eficaz para estudo de hipertensão.
- **PALAVRAS-CHAVE:** Óxido nítrico; L-NAME; rim; diabetes.

Introdução

O óxido nítrico (NO) é uma molécula sintetizada a partir do aminoácido L-arginina, catalisada pela enzima NO-sintase, podendo ser inibida por análogos da L-arginina como L-N^G-nitro arginina metil éster (L-NAME).⁵ O NO é responsável por vários efeitos biológicos, tais como: modulação da pressão arterial, atividade plaquetária etc., sendo esta molécula encontrada em vários tecidos como: neutrófilos, células endoteliais, ilhotas de Langerhans do pâncreas.⁴

* Departamento de Ciências Fisiológicas – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

No rim, a inibição do NO pela administração crônica do L-NAME provoca alterações hemodinâmicas associadas com aumento da resistência arteriolar aferente e eferente, tais como aumento do fluxo sanguíneo renal e filtração glomerular reduzida. Portanto, qualquer disfunção nas células endoteliais dos vasos que irrigam o rim provocam alterações metabólicas. Um estudo de Manning Junior et al.³ mostrou efeito do L-NAME, em cachorros conscientes, no aumento da pressão arterial, decréscimo do fluxo urinário e diminuição da excreção urinária de sódio independentes de qualquer fator humoral.

Como na diabetes experimental também observamos problemas vasculares; o objetivo desse trabalho foi verificar o efeito do L-NAME nas alterações morfológicas de rim de ratos diabéticos.

Material e método

Animais

Foram utilizados neste experimento ratos Wistar machos com peso entre 150–200 g no início do experimento. Os ratos foram divididos nos seguintes grupos: normais, que receberam L-NAME (20 mg/kg/dia, Grupo B^{6,11}); diabéticos (por injeção de aloxana; Grupo C); diabéticos que receberam L-NAME (Grupo D); controle, que receberam água de torneira comum (Grupo A). Em cada Grupo n = 7.

O diabetes experimental foi induzido pela aplicação de aloxana (15 mg/rato, em volume de 0,5 ml, na veia dorsal do pênis). A evolução da diabetes, foi avaliada por meio dos seguintes parâmetros: glicemia e insulínia, somente os ratos com comprovado diabetes foram utilizados.

Todos os animais receberam também captopril (0,25 mg/ml). A inclusão do captopril tinha como objetivo reduzir a geração endógena de Angiotensina II e eliminar a influência da hipertensão arterial no desenvolvimento da diabetes.

As drogas foram dissolvidas na água de beber e o tratamento teve duração de 4 semanas.

Medidas de pressão sanguínea

A pressão arterial média foi medida uma vez por semana pelo método *tail-cuff method*.¹²

Insulinemia e glicemia

Para a determinação da glicose sanguínea foi utilizado Kit Celm-Glicose E (Cia. Equipadora de Laboratórios Modernos, São Paulo). A insulinemia foi determinada por radioimunoensaio com o Kit de radioimunoensaio de insulina para ratos da Linco Research, Inc. (St. Louis, USA).

O aumento de peso corporal também foi acompanhado por todo o período do experimento.

Drogas

L-N^G-nitro arginina metil éster (L-NAME) e captopril foram obtidos da Sigma (USA).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro-padrão da média e analisados por teste "t" pareado de Student. Diferenças foram consideradas significantes com valor de $p < 0,05$.

Resultado

Os animais tratados com L-NAME (Grupos B e D) tiveram um aumento de peso corporal significativamente menor do que os animais dos Grupos A e C (Tabela 1).

Tabela 1 – Controle do peso corporal

	Aumento de peso corporal/semana	n
Controle (A e C)	30 \pm 10	7
L-NAME (B e D)	15 \pm 12*	7

* $p < 0,05$.

Os ratos dos Grupos A e C (n = 7 para cada grupo) apresentaram uma pressão arterial média de 110 ± 10 mm/Hg, enquanto os ratos tratados com L-NAME (Grupos B e D) tiveram uma hipertensão tempo-dependente (n = 7 para cada Grupo), conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2 – Medida de pressão arterial observada nos diferentes grupos experimentais

L-NAME	Tempo de tratamento com L-NAME			
	2ª semana	4ª semana	6ª semana	7ª semana
Pressão arterial (mm/Hg)	150 ± 10	162 ± 5	185 ± 5	182 ± 7

Não foi encontrada alteração morfológica no rim de ratos tratados com L-NAME (Grupos B e D) quando comparados com os Grupos A e C (Figuras 1 e 2).

Durante todo o experimento não houve modificações do quadro clínico dos ratos diabéticos (Grupos C e D) e nem atenuação deste pelo tratamento com L-NAME (Grupo D).

Discussão

O tratamento crônico ou agudo com L-NAME, ou seja, a inibição da síntese de NO pelos análogos da L-arginina provoca alterações que podem ser notadas principalmente no sistema cardiovascular.^{8,11}

O NO é sintetizado continuamente pelas células endoteliais, e por ter meia-vida muito curta age localmente mantendo o tono vascular que também sofre influência de outros vasodilatadores e vasoconstritores. Se a manutenção do tono vascular dependesse do equilíbrio desses agentes, a falta de NO poderia levar à predominância dos efeitos dos vasoconstritores locais, porém, como discutido por Ribeiro et al.,¹¹ a hipertensão observada é independente de angiotensina, prostaglandinas, adrenalina ou retenção de sódio. Esse parece ser um efeito intrínseco do NO, causando um aumento da concentração ou sensibilidade intracelular de Ca^{2+} .¹

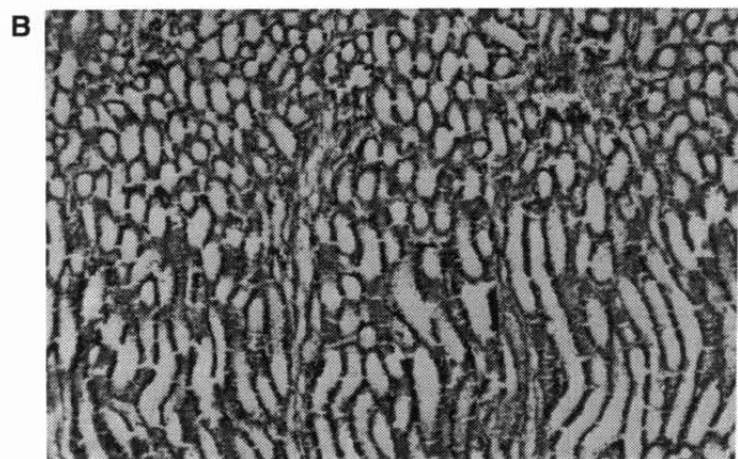
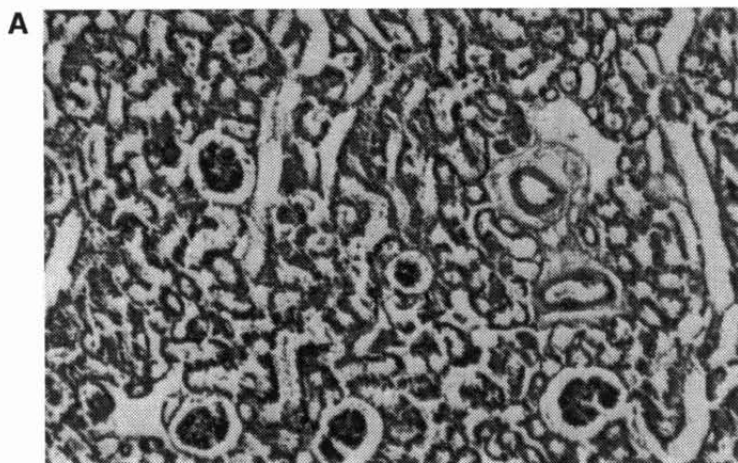


FIGURA 1 – Corte transversal do rim de ratos, corados com Hematoxilina-eosina. Aumento de 52x; A) Grupo A (controle normal), B) Grupo B (normal tratado com L-NAME).

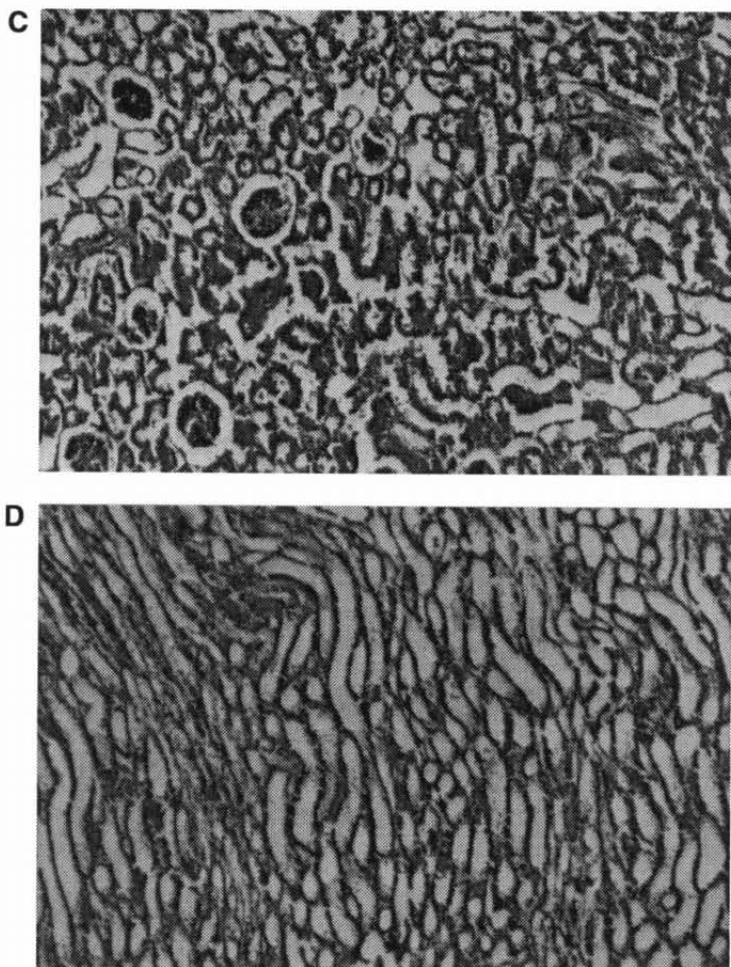


FIGURA 2 – Corte transversal do rim de ratos, corados com Hematoxilina-eosina. Aumento de 52x; C) Grupo C (diabético), D) Grupo D (diabético tratado com L-NAME).

Nossos resultados mostraram que as análises histológicas dos rins dos ratos tratados com L-NAME não apresentaram alterações morfológicas e nem acentuada infiltração de células inflamatórias (Figuras 1 e 2). Esse efeito parece ser diferente do que ocorre no miocárdio e dependente da sensibilidade do tipo celular, pois Moreno Júnior et al.⁷ relataram alterações do miocárdio, como fibrose intersticial e necrose subendocardial.

O diabetes já instalado não acentuou esse quadro, como seria esperado, já que as ilhotas de ratos diabéticos teriam capacidade maior de secretar NO. Rabinovitch⁹ relatou que um excesso de NO seria responsável pelos efeitos deletéricos encontrados em ilhotas de diabéticos. De fato, nossos resultados prévios já demonstravam que ratos tratados cronicamente com L-NAME liberam menos NO que ratos-controle.²

Várias doenças, como hipertensão, aterosclerose, fenômeno de Raynaud, vasoespasmos coronariano e cerebral, estão relacionadas com disfunção das células endoteliais desses tecidos em liberar NO. Esse comprometimento metabólico do NO poderia explicar também a falta de aumento de peso corporal dos ratos tratados com L-NAME, que foi independente do diabetes, pois já é sabido que ratos tratados com aloxana têm um aumento de peso menor que os controle.¹⁰

Finalizando, esses efeitos podem ser também devidos a uma isquemia observada no tecido,⁶ porém os efeitos do NO sobre ilhotas de Langerhans necessitam ser melhor investigados.

Conclusão

De acordo com a metodologia empregada e com os resultados obtidos, é possível concluir que o tratamento crônico de ratos com L-NAME não afetou o rim de animais normais ou diabéticos.

Agradecimento

À M. Salete Faria e Monica G. Figueiredo pelo trabalho de microscopia.

PEREZ, A. C. Effect of nitric oxide chronic inhibition on kidney of diabetic rats. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.26, n.2, p.297-305, 1997.

- **ABSTRACT:** *The aim of this work was to study the effects of NO inhibition by N^G-nitro L-arginine methyl ester (L-NAME) on kidney of either normal or diabetic rats. We observed that chronic administration of L-NAME, beside hypertension caused no morphological changes in the kidney. It neither attenuated diabetes by inhibition of NO production. However the production of NO by islets of Langerhans need a better understanding this is a useful model for hypertension study.*
- **KEYWORDS:** *Nitric oxide; L-NAME; kidney; diabetes.*

Referências bibliográficas

- 1 BANK, N., AYNEDJIAN, H. S., KHAN, G. A. Mechanism of vasoconstriction induced by chronic inhibition of nitric oxide in rats. *Hypertension*, v.24, p.322-8, 1994.
- 2 CONDINO-NETO, A. et al. The Release of a nitric oxide-like factor from rat islets of Langerhans. In: REUNIÃO ANUAL DA FEDERAÇÃO DE SOCIEDADES DE BIOLOGIA EXPERIMENTAL, 7, 1992, Caxambu. *Resumos...* São Paulo: FESBE, 1992. (Resumo 4.102).
- 3 MANNING JUNIOR, R. D., HU, L., WILLIAMSON, T. D. Mechanisms involved in the cardiovascular-renal actions of nitric oxide inhibition. *Hypertension*, v.23, p 951-6, 1994.
- 4 MONCADA, S., PALMER, R. M. J., HIGGS, E. A. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol. Rev.*, v.43, p.109-42, 1991.
- 5 MOORE, P. K. et al. L-NG-nitro arginine methyl ester inhibits antinociceptive activity in the mouse. *Br. J. Pharmacol.*, v.102, p.198-202, 1991.
- 6 MORENO JÚNIOR, H. et al. Chronic nitric oxide blockade causes cardiac ischemia but not cardiac hypertrophy: an experiment of four weeks in rats. *Verh. Dtsch. Ger. Pathol.*, v.78, p.459-62, 1994.
- 7 _____. Chronic nitric oxide inhibition as a model of hypertensive heart muscle disease. *Basic Res. Cardiol.*, v.91, p.248-55, 1996.
- 8 PALMER, R. M. J. et al. L-arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, v.153, p.1251-6, 1988.

- 9 RABINOVITCH, A. Role of cytokines in IDDM pathogenesis and islet B-cell destruction. *Diabetes Rev.*, v.1, p.215-40, 1993.
- 10 RERUP, C. C. Drugs producing diabetes through damage of the insulin secreting cells. *Pharmacol. Rev.*, v.22, p.485-512, 1970.
- 11 RIBEIRO, M. O. et al. Chronic inhibition of nitric oxide synthesis: a new model of arterial hypertension. *Hypertension*, v.20, p.298-303, 1992.
- 12 ZATZ, R. A low cost tail-cuff method for the estimation of mean arterial pressure in conscious rats. *Lab. Anim. Sci.*, v.40, p.198-201, 1990.