



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE FISILOGIA E FARMACOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

Efeitos renais dos hipoglicemiantes orais derivados das sulfonamidas, incretinas e inibidores de SGLT2, no escape renovascular e na estimulação alfa adrenérgica, em coelhos

JÉSSICA ALVES FARIAS

FORTALEZA

2020

JÉSSICA ALVES FARIAS

Efeitos renais dos hipoglicemiantes orais derivados das sulfonamidas, incretinas e inibidores de SGLT2, no escape renovascular e na estimulação alfa adrenérgica, em coelhos

Dissertação de Mestrado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Farmacologia.

Orientador: Prof. PhD. Manassés Claudino Fonteles

FOTALEZA

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- F238e Farias, Jéssica.
Efeitos renais dos hipoglicemiantes orais derivados das sulfonamidas, incretinas e inibidores de SGLT2, no escape renovascular e na estimulação alfa adrenérgica no modelo de perfusão renal / Jéssica Farias. – 2020.
80 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2020.
Orientação: Prof. Dr. Manassés Galdino Fonteles.
1. Incretinas. 2. Antidiabéticos orais. 3. Perfusão renal. I. Título.

CDD 615.1

JÉSSICA ALVES FARIAS

Efeitos renais dos hipoglicemiantes orais derivados das sulfonamidas, incretinas e inibidores de SGLT2, no escape renovascular e na estimulação alfa adrenérgica, em coelhos

Tese apresentada à Banca do Programa de Mestrado em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Farmacologia.

Aprovada em ___/___/___

Conceito:

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a. Dra. Helena Serra Azul Monteiro
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Victor Martins Gomes
Faculdade de Maracanaú (FADAM)

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Senhor Deus Todo Poderoso pela força, perseverança, saúde e intelecto para executar essa pesquisa.

Aos meus pais, Maria Jaqueline e Marcus Antônio, que me nortearam através dos ensinamentos éticos contribuindo profundamente para a formação do meu carácter.

Ao meu noivo Marcello Mota, que esteve sempre ao meu lado dando força e incentivando a continuar em frente sem desanimar.

Ao Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles pela inspiração e legado intelectual, pela presença e incentivo durante todo o período de mestrado.

Aos colegas do curso de Pós-graduação e do Laboratório de Fisiofarmacologia, Victor Martins, Rafael Jorge, Camilo Reuber pelos momentos de convivência e troca de conhecimentos durante todo período de formação deste trabalho.

Aos coordenadores e professores da Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará e aos funcionários do Instituto Superior de Ciências Biomédicas.

À CNPq por todo apoio financeiro.

“Quem dentre vós é sábio e inteligente? Mostre, pelo seu bom trato, as suas obras em mansidão de sabedoria.”

Tiago 3:13

RESUMO

A utilização de técnicas de perfusão renal tem se mostrado vantajosa, ao permitir o avanço no entendimento dos mecanismos tubulares de reabsorção de íons no sistema renal de diversas espécies animais. Por conta disso, o sistema vascular renal é alvo de inúmeros estudos científicos, acerca das características vasoativas e reativas a substâncias que modulam algumas fisiopatologias. Nesse sentido, foram utilizados coelhos Califórnia, provenientes da Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, com o intuito de avaliar os efeitos renovasculares e a estimulação alfa adrenérgica, em animais normoglicêmicos, produzidos por agentes hipoglicemiantes orais utilizados clinicamente no controle de alterações glicêmicas da diabetes mellitus. O projeto foi iniciado após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) sob o número 9768280219 e os experimentos foram conduzidos de acordo com a legislação brasileira que regulamenta o uso de animais em experimentações científicas, conforme a Lei Arouca 11974 de 2008. Todas as substâncias antidiabéticas orais utilizadas foram preparadas, diluídas e adicionadas à solução de KH, para posterior infusão renal, através do sistema de perfusão. Vários parâmetros fisiológicos foram avaliados com o intuito de avaliar os efeitos desses antidiabéticos orais em coelhos normais, no rim perfundido, durante a interação vascular α -adrenérgica. Em relação à pressão de perfusão todos os grupos apresentaram pico pressórico superior ao grupo controle com adição de PHE, comprovando a interferência dos antidiabéticos orais nos níveis pressóricos do sistema de perfusão renal. Todavia, apenas o grupo com adição de empaglifozina foi capaz de demonstrar a presença do efeito taquifilático, semelhante ao apresentado pelo grupo controle, exibindo uma queda dos valores pressóricos máximos ao longo de todo o experimento. Todos os grupos de hipoglicemiantes orais demonstraram valor de resistência vascular maior do que a do grupo controle com adição de PHE, sendo os de maiores resistências os grupos empaglifozina e glimepirida, estando este resultado atrelado aos valores da pressão de perfusão e ao fluxo do perfusato, devido à fórmula utilizada para a realização do cálculo desta medida. Em contrapartida, o grupo com adição de gliclasida foi o único grupo capaz de superar os resultados apresentados pelo grupo controle com infusão de PHE, em relação ao RFG. Além do ritmo de filtração glomerular, a gliclasida demonstrou ainda relevância significativa em relação ao clearance osmolar e ao clearance de água livre.

Palavras-chave: Incretinas; antidiabéticos orais, perfusão renal.

ABSTRACT

Renal effects of oral hypoglycemic agents derived from sulfonamides, incretins and SGLT2 inhibitors, in renovascular escape and alpha adrenergic stimulation in rabbits

The use of renal perfusion techniques has been shown to be advantageous, as it allows advances in the understanding of the tubular mechanisms of ion resorption in the renal system of several animal species. Because of this, the renal vascular system is the target of countless scientific studies about the vasoactive and reactive characteristics of substances that modulate some pathophysiology. In this sense, California rabbits, from the Cuniculture Department of Zootechnics of the Federal University of Ceará, were used in order to assess the renovascular effects and alpha adrenergic stimulation in normoglycemic animals, produced by oral hypoglycemic agents used clinically to control changes glucose levels of diabetes mellitus. The project was initiated after approval by the Ethics Committee on the Use of Animals of the Federal University of Ceará (CEUA-UFC) under number 9768280219 and the experiments were conducted according to the Brazilian legislation that regulates the use of animals in scientific experiments, as the Arouca Law 11974 of 2008. All oral antidiabetic substances used were prepared, diluted and added to the KH solution, for subsequent renal infusion, through the perfusion system. Several physiological parameters were evaluated in order to evaluate the effects of these oral antidiabetics in normal rabbits, in the perfused kidney, during α -adrenergic vascular interaction. Regarding the perfusion pressure, all groups showed a peak pressure higher than the control group with the addition of PHE, proving the interference of oral antidiabetics in the pressure levels of the renal perfusion system. However, only the group with the addition of empaglifozin was able to demonstrate the presence of the tachyphilatic effect, similar to that presented by the control group, exhibiting a drop in maximum blood pressure values throughout the entire experiment. All groups of oral hypoglycemic agents demonstrated vascular resistance greater than that of the control group with the addition of PHE, with the greatest resistance being the empaglifozin and glimepiride groups, this result being linked to the values of perfusion pressure and perfusate flow, due to the formula used to perform the calculation of this measure. On the other hand, the group with addition of gluclaside was the only group capable of overcoming the results presented by the control group with PHE infusion, in relation to the RFG. In addition to the glomerular filtration rate, gluclaside also demonstrated significant relevance in relation to osmolar clearance and free water clearance.

Keywords: Incretins; oral antidiabetics, renal perfusion.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura molecular da gliclazida

Figura 2. Estrutura molecular da glimepirida

Figura 3. Estrutura molecular da linagliptina

Figura 4. Estrutura molecular da empaglifozina

Figura 5. Foto do sistema de perfusão aberta em rim isolado de coelho

Figura 6. Protocolo experimental e períodos de coleta de perfusato e urina

Figura 7. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=3), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit

Figura 8. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 9. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e linagliptina (0,005 mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 10. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e glimepirida (2µg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 11. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e gliclasida (0,03 mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 12. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e empaglifozina (0,0125 mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 13. Fluxo de perfusato renal de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)

Figura 14. Fluxo urinário de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 15. Resistência vascular renal de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 16. Clearance osmolar de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 17. Clearance de água livre (C_{H₂O}) de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 18. Ritmo de filtração glomerular de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 19. Sódio filtrado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 20. Sódio transportado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 21. Sódio excretado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 22. Potássio filtrado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 23. Potássio transportado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 24. Potássio excretado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

Figura 25. Comparativo entre os escapes vasculares dos grupos de rins perfundidos com Krebs Henseleit com infusão de fenilefrina e KH com adição de antidiabéticos orais e infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit

Quadro 2. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e linagliptina (0,005 mg/mL)

Quadro 3. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e glimepirida (2 µg/mL)

Quadro 4. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e gliclasida (0,03 mg/mL)

Quadro 5. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e empaglifozina (0,0125 mg/mL)

LISTA DE ABREVIATURAS

\dot{V}	Fluxo urinário
AMPc	3' 5'-monofosfato cíclico de adenosina)
ANOVA	Análise de Variância
ATP	Adenosina Trifosfato
CH₂O	Clearance de Água Livre
C_{H₂O}	Clearance de água livre
C_{osm}	Clearance Osmolar
DM	Diabetes mellitus
EV	Escape vascular
F_x	Fluxo de perfusato
GIP	Peptídeo inibitório gástrico
GLIM	Glimepirida
GLP-1	Peptídeo-1 semelhante ao glucagon
GPCRs	Receptores acoplados à proteína G
K⁺	Potássio
Kir6	Genes de canal retificador interno
Na⁺	Sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaHCO₃	Bicarbonato de sódio
NHE3	Isoforma 3 do trocador NA ⁺ /H ⁺
PAM	Pressão de perfusão média
P_{cr}	Concentrações de creatinina plasmática
PHE	Fenilefrina
P_{osm}	Concentração osmolar do plasma
RFG	Ritmo de filtração glomerular
RV	Resistência vascular
SGLT	Cotransportador sódio-glicose
U_{cr}	Concentrações de creatinina urinária
FNa⁺	Sódio Filtrado
TNa⁺	Sódio Transportado
ENa⁺	Sódio Excretado
TK⁺	Potássio Transportado
EK⁺	Potássio Excretado

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. <i>Anatomia e fisiologia renal em humanos</i>	3
2.2. <i>Anatomia e fisiologia renal em coelhos</i>	4
2.3. <i>Agentes Antidiabéticos orais</i>	5
2.3.1. Sulfonilureias	5
2.3.2. Incretinas	7
2.3.3. Inibidor de SGLT2	11
2.4. <i>Taquifilaxia</i>	13
2.5. <i>Escape Vascular (EV)</i>	14
3. JUSTIFICATIVA	15
4. OBJETIVOS	15
4.1. <i>Geral</i>	16
4.2. <i>Específicos</i>	16
4.2.1. Estudar as variações pressóricas, durante a perfusão renal, em animais sob o efeito da fenilefrina, medindo o escape renovascular e a taquifilaxia.	16
4.2.2. Avaliar os efeitos da linagliptina, glimepirida, gliclasida e empaglifozina em coelhos normais, no rim perfundido, durante a interação vascular α -adrenérgica.	16
4.2.3. Analisar os parâmetros renais dos hipoglicemiantes orais nos rins isolados, como fluxo de perfusato, fluxo urinário, resistência vascular e clearance renal.	16
5. MATERIAIS E MÉTODOS	16
5.1. <i>Animais Experimentais</i>	16
5.2. <i>Procedimento Cirúrgico</i>	16
5.3. <i>Solução para Perfusão</i>	17
5.4. <i>Reagentes e ferramentas farmacológicas</i>	18
5.5. <i>Sistema de Perfusão</i>	18
5.6. <i>Protocolo de perfusão</i>	19
5.7. <i>Grupos de estudo</i>	20
5.8. <i>Medidas Fisiológicas</i>	21
5.8.1. Peso do rim	21
5.8.2. Fluxo de perfusato	21
5.8.3. Fluxo urinário	21
5.8.4. Resistência Vascular	22
5.8.5. Escape Renovascular	22
5.8.6. Taquifilaxia	23
5.8.7. Clearance osmolar e clearance de água livre	23
5.8.8. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG)	24
5.8.9. Sódio Filtrado (FNa ⁺)	24
5.8.10. Sódio Transportado (TNa ⁺)	24
5.8.11. Sódio Excretado (ENa ⁺)	24

5.8.12.	Potássio Filtrado (FK+)	25
5.8.13.	Potássio Transportado (TK+)	25
5.8.14.	Potássio Excretado (EK+)	25
5.9.	Análise estatística	25
6.	RESULTADOS	25
6.1.	Pressão de perfusão e fluxo renal de cada grupo	25
6.1.1.	Grupo controle com infusão de solução de Krebs-Henseleit, sem a infusão de fenilefrina	25
6.1.2.	Grupo controle com infusão de solução de Krebs-Henseleit, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)	26
6.1.3.	Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs- Henseleit e linagliptina (0,005mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)	28
6.1.4.	Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs- Henseleit e glimepirida (2µg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)	30
6.1.5.	Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs- Henseleit e gliclasida (0,03mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)	31
6.1.6.	Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs- Henseleit e empaglifozina (0,0125mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)	33
6.2.	Fluxo de perfusato renal	35
6.3.	Fluxo urinário	36
6.4.	Resistência vascular	37
6.5.	Clearance osmolar (C_{osm})	38
6.6.	Clearance de água livre (C_{H_2O})	40
6.7.	Ritmo de Filtração Glomerular (RFG)	41
6.8.	Sódio Filtrado (FNa^+)	42
6.9.	Sódio Transportado (TNa^+)	43
6.10.	Sódio Excretado (ENa^+)	44
6.11.	Potássio Filtrado (FK^+)	45
6.12.	Potássio Transportado (TK^+)	46
6.13.	Potássio Excretado (EK^+)	47
6.14.	Escape Vascular (EV)	48
7.	DISCUSSÃO	49
8.	CONCLUSÃO	53
	REFERÊNCIAS	53

1. INTRODUÇÃO

O caráter epidêmico global do diabetes é crescente, a tendência é que o número de pessoas com diabetes aumente dos 425 milhões em 2017 para 629 milhões em 2045. Além disso, estima-se que cerca de 175 milhões dos casos ainda não tenham sido diagnosticados, com isso uma vasta quantidade de pessoas está progredindo para complicações inconscientes. (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2018)

O diabetes está aumentando em todo o mundo e os países estão lutando para acompanhar o ritmo de crescimento da doença. O conceito errôneo de que o diabetes é "uma doença dos ricos" ainda é defendido por alguns, porém as evidências publicadas refutam essa ilusão, mostrando que 80% da população diabética vive em países de baixa e média renda e os menos favorecidos em qualquer país são os mais vulneráveis à doença (BEAGLEY, GUARIGUATA, WEIL, MOTALA, 2014).

O Brasil ocupa o quarto lugar no ranking dos países com maior população com DM, precedido da China, Índia e Estados Unidos, com 14,5 milhões de pessoas, ou seja, 8,7% da população entre 18 e 99 anos (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2018).

Pelo fato de o diabetes estar associado a maiores taxas de hospitalizações, maior utilização dos serviços de saúde, bem como maior incidência de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares, insuficiência renal e amputações não traumáticas de membros inferiores, pode-se prever a carga que isso representará nos próximos anos para os sistemas de saúde de todos os países. Em termos humanos e financeiros, o ônus do diabetes é enorme, provocando 5,1 milhões de mortes e consumindo US\$ 548 bilhões em gastos com saúde, 11% do total gasto em todo o mundo, em 2013 (ROSA *et al.*, 2007; BAHIA *et al.*, 2011; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2018).

Tradicionalmente, as complicações do diabetes são categorizadas como distúrbios microvasculares e macrovasculares, que resultam em retinopatia, nefropatia, neuropatia, doença coronariana, doença cerebrovascular e doença arterial periférica (GREGG, SATTAR, ALI, 2016).

A doença renal (nefropatia), por exemplo, é muito mais comum em pessoas com diabetes, estando presente em cerca de 30- 40% dos casos de diabetes mellitus do tipo 1 e 20% dos casos de diabetes mellitus do tipo 2. Além disso, a diabetes é uma das principais causas de doença renal crônica, sendo associada a danos ocasionados aos

pequenos vasos sanguíneos, o que pode fazer com que os rins sejam menos eficientes ou falhem por completo (O'MEARA, BRADY, BRENNER, 2001).

Desde o início notava-se que havia casos mais brandos de pessoas com diabetes. A partir da descoberta da insulina tornou-se cada vez mais claro que muitos indivíduos talvez nem necessitassem dela para alcançar um controle metabólico razoável (ELIASCHEWITZ, 2006). A partir daí, começou-se a pensar no desenvolvimento de drogas orais para o tratamento do diabetes, tais drogas teriam a finalidade de baixar a glicemia e mantê-la dentro da taxa de normalidade (jejum < 100mg/dL e pós-prandial < 140mg/dL), todavia os testes com a insulina oral foram um fracasso, já que sua absorção enteral é extremamente baixa (AHREN, 2006).

Em 1944, Loubatières constatou que inúmeros pacientes que vinham sendo tratados para febre tifoide com o derivado sulfonamídico isopropiltiadiazol iam a óbito, após hipoglicemia prolongada, com essa observação o campo dos hipoglicemiantes avançou e em 1955 foi lançada a primeira sulfoniluréia, que atua potencializando a secreção pancreática de insulina (ELIASCHEWITZ, 2006; CHEHADE, 2000; KRENTZ, 2005).

Na década de 1960, a metformina foi introduzida como tratamento para a diabetes e devido sua eficácia passou a ser cada vez mais utilizada, sendo hoje a droga de eleição de todos os protocolos mundiais de tratamento do diabetes (ELIASCHEWITZ, 2006; KRENTZ, 2005; AGRAWAL, 2013).

Na primeira década do século XXI surgiram os inibidores do DPP-4, as gliptinas, hoje com vários representantes no mercado (vildagliptina, sitagliptina, saxagliptina, linagliptina), tais drogas atuam aumentando o efeito de um hormônio intestinal, o GLP-1, produzido nas células neuroendócrinas do intestino delgado, e com isso incrementando a liberação da insulina endógena, praticamente sem provocarem hipoglicemia, pois têm efeito de modo glicose-dependente (ELIASCHEWITZ, 2006; MOORE, 1906; BAYLISS, STARLING, 1902; CREUTZFELDT, 2005).

Recentemente uma verdadeira revolução está se desenhando no arsenal terapêutico dos antidiabéticos orais, com o surgimento de uma nova classe de medicamentos, os inibidores dos transportadores de sódio-glicose (i-SGLT2). A partir da evidência de que os pacientes com DM2 têm um aumento da reabsorção tubular renal de glicose, passou-se a pesquisar essa molécula (SGLT2), que é expressa praticamente apenas no rim, sendo a responsável pela reabsorção da glicose no túbulo renal. Inibindo-se o SGLT2 aumenta-se a excreção renal de glicose. Portanto a

glicosúria, parâmetro há séculos utilizado como indicador de descompensação do diabetes, será utilizada para o tratamento do diabetes. A Empaglifozina e a Canagliflozina, são exemplos de medicações desse grupo (ELIASCHEWITZ, 2006).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Anatomia e fisiologia renal em humanos

O Sistema renal é formado por dois órgãos denominados de rins, que tem como objetivos principais realizar a maior parte das funções de excreção, filtrando o sangue e recolhendo deste os resíduos metabólicos de todas as células do nosso corpo (DI DIO, 1999; GARDNER, 1998; MOORE, 2007).

Os rins são estruturas retroperitonais, localizados na região abdominal, ao lado da coluna vertebral, entre as duas últimas vértebras torácicas e as três primeiras vértebras lombares. Sua coloração é um marrom escuro; possui um formato de grão de feijão; mede aproximadamente 12 cm de altura, de 5 a 7,5 cm de largura e 2,5 cm de espessura; seu peso varia entre 125 a 170 gramas no homem adulto, e 115 a 155 gramas na mulher adulta (DI DIO, 1999; GARDNER, 1998; MOORE, 2007; GRAY, 1988).

A artéria renal leva cerca de 25% do débito cardíaco para os dois rins, equivalente a 1,25 L/min. Considerando que o peso do rim corresponde somente a 0,5% do peso corporal, é essencial que haja uma ramificação da artéria renal em diversas arteríolas e vascularização de todo o tecido renal, além de uma eficiência máxima nos processos de filtração, reabsorção, secreção e excreção. (KOEPEN; STANTON, 2018).

A subdivisão progressiva em artérias interlobar, artéria arqueada, artéria interlobular e arteríola aferente promove o suprimento de sangue aos capilares presentes no glomérulo. As extremidades desses capilares posteriormente unem-se para formar a arteríola eferente, conduzindo a uma segunda rede capilar, os capilares peritubulares, circundando os túbulos renais, e suprindo sangue às unidades morfofuncionais dos rins, os néfrons (KOEPEN; STANTON, 2018).

A unidade morfofuncional básica do rim é o néfron. Toda a urina resulta da filtração do sangue que passa por estes néfrons, no qual se calcula que existam cerca de 6 a 12 x 10⁵ néfrons. No humano, cerca de 80% dos néfrons são localizados no córtex e o restante na medula (AIRES, 1999; DOUGLAS, 2002; GUYTON, 2002; DELAMARCHE, 2006).

Há muitos anos, a capacidade do rim em controlar o fluxo urinário e a excreção de sódio em resposta a alterações agudas da pressão de perfusão renal são alvo de estudos de pesquisadores (SELKURT *et al.*, 1949; SHIPLEY *et al.*, 1951; THOMPSON *et al.*, 1951)

Alterações na excreção de sódio, em resposta a variações na pressão de perfusão se dá devido a alterações na reabsorção tubular de sódio, uma vez que o ritmo de filtração glomerular e a carga excretada de sódio são geralmente bem autorregulados, sendo assim, um decréscimo da pressão de perfusão renal resulta em um aumento na reabsorção tubular de sódio e uma diminuição na excreção de sódio. Em contrapartida, o aumento da pressão de perfusão renal leva a uma diminuição da reabsorção tubular de sódio e aumento na excreção de sódio, este fenômeno é conhecido como natriurese pressórica (GRANGER *et al.*, 2002).

Em suma são muitas as funções renais, porém a que tem maior importância é a manutenção da homeostase do meio interno proporcionada pelo sistema renal a partir da controle de água corpórea; manutenção da osmolaridade extracelular; manutenção da concentração de eletrólitos; manutenção da concentração de íons hidrogênio (pH), manutenção da concentração de metabólitos e de catabólitos, contribuindo de forma importante para a manutenção e controle da pressão arterial, sendo o produto final resultante deste intenso trabalho renal a urina (AIRES, 1999; DOUGLAS, 2002; GUYTON, 2002).

2.2. Anatomia e fisiologia renal em coelhos

O aparelho urinário do coelho é relativamente simples, resumindo-se a dois órgãos, os rins, com seus respectivos canais excretores, os ureteres, a bexiga e a uretra (DUARTE & CARVALHO, 1979).

O coelho apresenta um rim simples unipapilar, onde uma papila e um cálice entram no ureter diretamente, tornando a pelve renal uma extensão direta do ureter, com um bacinete pouco diverticulado, localizado de modo retro peritoneal (DUARTE & CARVALHO, 1979).

O rim direito do coelho encontra-se entre a 13^o vértebra torácica e a 2^o vértebra lombar, havendo contato com o lobo caudal do fígado, porém sem tocar a parede abdominal. Já o rim esquerdo, posiciona-se entre a 3^o e 5^o vértebras lombares e permanece de modo ventro caudal ao rim direito, onde sua lateral também não faz

contato com a parede abdominal esquerda (HRISTOV; KOSTOV; VLADOVA, 2006; BREWER, 2006; DIMITROV et al., 2012; DUARTE & CARVALHO, 1979).

O coelho é um modelo animal útil para o estudo da fisiologia tubular renal, por ser o único no qual a membrana basal das células do túbulo contorcido proximal e distal do rim pode ser separada dos túbulos em fatias (BREWER, 2006).

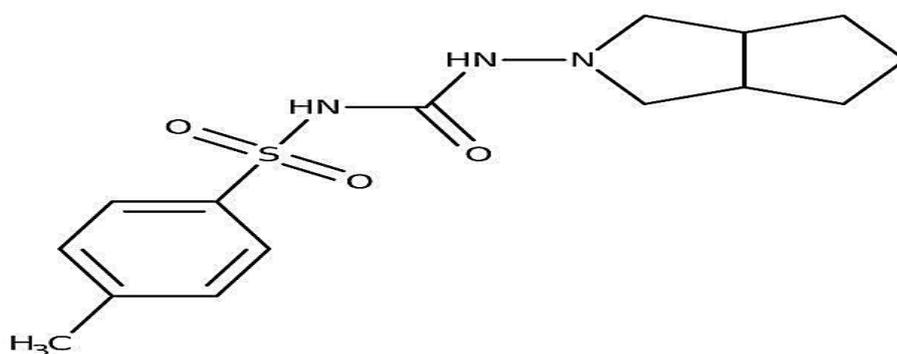
Um dos principais diferenciais entre o coelho e demais mamíferos é o número de néfrons. O camundongo tem cerca de 12.400 néfrons por rim, o rato 30.000 a 40.000, e o coelho 230.000 (RYTAND, 1938; KNEPPER, 1977). O número de glomérulos nos coelhos aumenta depois do nascimento, diferentemente de outros mamíferos, como cães e humanos, (SMITH, 1951).

2.3. Agentes Antidiabéticos orais

2.3.1. Sulfonilureias

Anteriormente utilizada como tratamento para a febre tifoide, a sulfonamida passou a ser vista como um agente hipoglicemiante, após a observação de hipoglicemia produzida por um de seus derivados. (BEREZIN, 2016).

Figura 1. Estrutura molecular da gliclazida

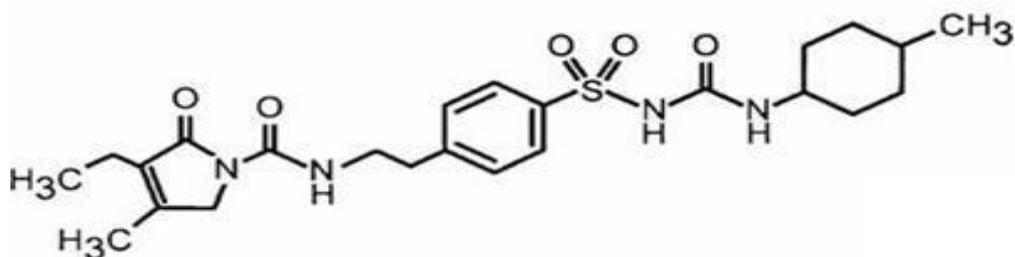


Fonte: LEÃO, 2016

Seu mecanismo de ação consiste na estimulação da secreção pancreática de insulina pela ligação a uma proteína reguladora (chamada de receptor da sulfoniluréia), encontrada na superfície da célula beta pancreática. A ligação desses receptores resulta no fechamento dos canais de adenosina trifosfato de potássio dependentes de voltagem

(KATP), influenciando a despolarização da membrana celular e o influxo de cálcio na célula. Em virtude disso, a insulina é secretada e liberada em níveis mais baixos de glicose que o normal. O aumento da concentração de insulina circulante, mesmo na presença de resistência à insulina, resulta numa diminuição dos níveis de glicose no sangue (MUNDEN; WILLIAMS; WILKINS, 2007).

Figura 2. Estrutura molecular da glimepirida



Fonte: SONG & ASHCROFT, 2001

Os canais de potássio regulam o potencial de membrana do músculo liso que controla a entrada de cálcio através de canais de cálcio voltagem-dependentes e assim, a contratilidade é modificada através do cálcio intracelular. O canal de K^+ /ATP é composto por membros de genes de canal retificador interno (Kir6) e receptores proteicos de sulfonilureias. Os canais de K^+ /ATP são inibidos por drogas hipoglicemiantes orais (QUAST & COOK, 1989).

As sulfonilureias são absorvidas por via oral, circulando ligadas à albumina plasmática, posteriormente são metabolizadas no fígado e, por fim, eliminadas por via renal. Em caso de haver alteração da função renal, seu uso leva a obrigatoriedade de um cuidado redobrado, pelo perigo de acumulação e hipoglicemia grave (ALLEN, 1985; ASMAL & MARBLE, 1984).

Quando não se consegue um bom equilíbrio glicêmico metabólico apenas com o exercício físico e o regime alimentar adequado, as sulfonilureias podem ser utilizadas em pacientes diabéticos não insulino dependentes. A gliclazida e a glimepirida, são dois exemplos de medicações desse grupo (ASMAL & MARBLE, 1984).

Além de apresentar efeito hipoglicemiante, comum às sulfonilureias, a gliclazida tem a particularidade de ter uma ação antiagregante plaquetária, o que é de grande interesse, dado que a diabetes é uma situação que se acompanha de graves alterações hematológicas, por conta disso, tal droga é proposta na prevenção da microangiopatia

diabética, que afeta essencialmente os vasos da retina (retinopatia) e dos rins (nefropatia) (CALDEIRA, 1975).

2.3.2. Incretinas

No início do século 20, a história do efeito da incretina começou a ser escrita, desde então o interesse clínico e científico em torno dela vem aumentando. Em 1906, pesquisadores fizeram uso de extratos da mucosa do intestino delgado de porcos, como um tratamento para diabetes com resultados satisfatórios, surgiu a hipótese de que a secreção pancreática poderia ser estimulada por um hormônio produzido pela mucosa duodenal. Já na década de 30, o termo “incrétine” (“iNtestin seCRETion insulin”), foi utilizado pela primeira vez com o intuito de descrever uma substância que possuía a capacidade de promover o aumento da secreção pancreática endócrina (MOORE, 1906; BAYLISS; STARLING, 1902; CREUTZFELDT, 2005).

As incretinas foram reconhecidas como hormônios insulíntrópicos, somente na década de 60. Em 1986, estudos demonstraram que essas substâncias eram originadas no intestino, já que a administração de glicose por via oral mostrou-se capaz de causar uma resposta na quantidade de insulina maior do que a observada com a infusão de glicose por via endovenosa (EV), apesar dos níveis sanguíneos de glicose se apresentarem mais elevados em consequência da administração EV (NAUCK *et al.*, 1986).

Devido a sua capacidade de potencializar a secreção de insulina e, conseqüentemente, levar a uma diminuição do glucagon, as incretinas tem um importante papel na modulação da resposta das células das ilhotas pancreáticas. Elas são capazes de diminuir as taxas de glicose no sangue, principalmente após as refeições (pós-prandial), quando esses níveis tendem a ser mais altos. Além disso, acredita-se que as incretinas sejam responsáveis por cerca de 50-70% da secreção total de insulina, em resposta à glicose oral. (LEON *et al.*, 2006; DOYLE, EGAN, 2007; NELSON, COX, 2014).

Existem dois principais tipos de incretinas: peptídeo 1 tipo glucagon (GLP-1) e polipeptídeo inibitório gástrico (GIP), os quais pertencem a classe dos receptores acoplados à proteína G (GPCRs) e à família do peptídeo glucagon. As incretinas fornecem um sinal a partir do trato gastrointestinal para as ilhotas pancreáticas, moderando a elevação antecipada da glicose plasmática pós-prandial (CHACRA, 2006; GUPTA, 2012).

2.3.2.1. Peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1)

O Glucagon é um hormônio produzido pelas células α pancreáticas e age estimulando o fígado e os músculos a fazerem a quebra do glicogênio e liberar glicose, sua secreção está estritamente correlacionada com os níveis de glicose no sangue: baixos níveis de glicose no sangue em jejum determinam secreção de glucagon e inibem a secreção de insulina. A secreção de glucagon restaura os níveis de glicose através da glicogenólise hepática e da neoglicogênese, em conjunto com a inibição da glicogênese. Além disso, o glucagon diminui a síntese de colesterol pelo fígado, inibe a reabsorção de sódio pelos rins, aumenta sensivelmente o débito cardíaco, regula o apetite e diminui o nível de aminoácidos (GODOY-MATOS, 2014; HABBEGER *et al.*, 2010).

O GLP-1 é um peptídeo de 36 aminoácidos, derivada do produto da transcrição do gene de pró-glucagon, produzido pelas células L enteroendócrinas, encontradas principalmente no íleo e no cólon do intestino, e secretado na corrente sanguínea (FULURIJA, 2008; GAUTIER *et al.*, 2005).

Além de estimular a secreção da insulina, o GLP-1, inibe a liberação de glucagon, aumentando a concentração das células β , diminuindo a resistência à insulina e retardando o esvaziamento gástrico, o que leva a uma redução da ingestão de alimentos, devido à manutenção da saciedade por mais tempo (CHACRA, 2006; GUPTA, 2012).

Durante o estado de jejum, a concentração plasmática de GLP-1 é baixa, aumentando rapidamente após a ingestão de alimentos. É válido ressaltar que indivíduos obesos ou que receberam o diagnóstico de diabetes tipo II, possuem uma diminuição na secreção de GLP-1 (ORSKOV *et al.*, 1994; VILSBOLL *et al.* 2001).

Receptores específicos acoplados a uma proteína G transmembranar medeiam os efeitos das incretinas. O receptor para a molécula GLP-1 (GLP-1R) encontra-se nas ilhotas pancreáticas (principalmente células β), fígado, rins, pulmões, coração, trato gastrointestinal e em múltiplas regiões do Sistema Nervoso Central e Periférico (BAGGIO & DRUCKER, 2007).

Quando o receptor GLP-1R é acionado, forma-se um complexo GLP-1/GLP-1R que ativa a adenilato ciclase, promovendo a imediata produção de AMPc (3' 5'-monofosfato cíclico de adenosina) (THORENS, 1992). Após a produção de AMPc, ocorre um estímulo para a liberação de insulina, cujos mecanismos são a ativação dos canais de cálcio e inibição de canais de potássio, o aumento da despolarização da

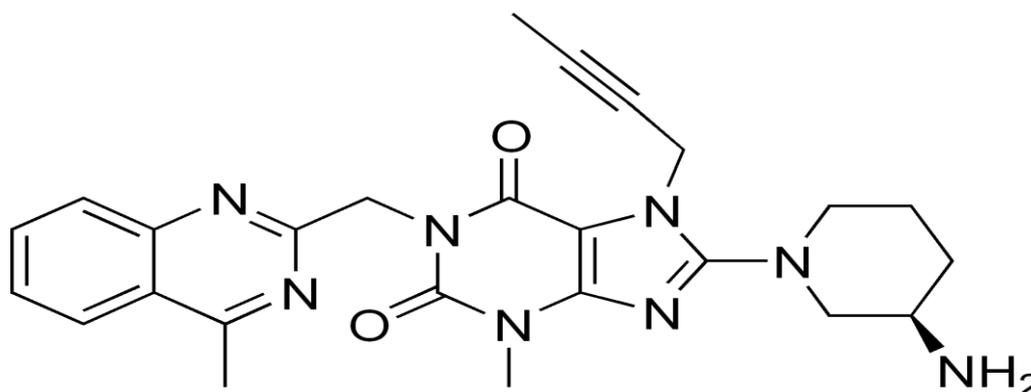
membrana celular e da síntese de ATP mitocondrial, resultando em maior influxo de cálcio nas células, levando a uma exocitose dos grânulos de insulina (BAGGIO & DRUCKER, 2007; EGAN *et al.*, 1994).

O tempo de meia vida do GLP-1 é de 2-5 minutos, sendo este tempo menor em sua forma ativa e maior em seu metabólito renal. A responsável pela sua degradação é a enzima dipeptil peptidase (DPP), que está presente na corrente sanguínea e membranas celulares. Uma droga cujo foco é inibir a ação dessa enzima é a linagliptina, que age bloqueando a ação da DPP, ligando-se de forma reversível e eficaz, originando assim uma elevação sustentada dos níveis de incretinas e um prolongamento de sua atividade. (BAGGIO & DRUCKER, 2004)

A farmacocinética da linagliptina foi avaliada em pacientes com vários graus de disfunção renal crônica, comparando-os com voluntários que apresentavam função renal normal. O estudo incluiu pacientes com disfunção renal classificada de acordo com a depuração de creatinina como leve (50 a <80 mL/minuto), moderada (30 a <50 mL/minuto) e grave (<30 mL/minuto) (BERGMAN, 2007; CHAN *et al*, 2008; LINNEBJERG *et al*,2007; YOUNG, 2014; BUTLER, 2013).

Sob condições de estado de equilíbrio, a exposição à linagliptina em pacientes com insuficiência renal leve foi comparável àquela nos indivíduos saudáveis. Na insuficiência renal moderada, um aumento moderado na exposição, de cerca de 1,7 vezes, foi observado em comparação ao controle. A exposição em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 com insuficiência renal grave foi aumentada em cerca de 1,4 vezes comparada a pacientes com diabetes mellitus tipo 2 com função renal normal (BERGMAN, 2007; CHAN *et al*, 2008; LINNEBJERG *et al*,2007; YOUNG, 2014; BUTLER, 2013).

Figura 3. Estrutura molecular da linagliptina.



As propriedades diuréticas e natriuréticas que resultaram da infusão sistêmica de doses farmacológicas de GLP-1 e de seus análogos foram comprovadas em diversos estudos realizados, tanto em animais de experimentação quanto em humanos (FARAH, 2015; GUTZWILLER, 2004; CRAJOINAS, 2011; MORENO, 2002; RIEG, 2012). A infusão intravenosa contínua de GLP-1 em indivíduos saudáveis e obesos é capaz de aumentar o fluxo urinário, a excreção de sódio e reduzir a secreção de hidrogênio, levando a crer que suas ações diuréticas e natriuréticas, podem ser mediadas pela inibição da isoforma 3 do trocador Na^+/H^+ (NHE3) em túbulo proximal renal. (THOMSON *et al.*, 2013; FARAH, 2015)

O NHE3 está presente nos túbulos proximais de mamíferos, sendo tal isoforma a mais abundante na membrana apical, o qual é responsável pela reabsorção de grande parte do cloreto de sódio (NaCl) e do bicarbonato de sódio (NaHCO_3) filtrados nos glomérulos, apresentando portanto, grande importância na homeostase de volume e ácido-base e na determinação dos níveis de pressão arterial sistêmica (SCHULTHEIS *et al.*, 1998).

O GLP-1, quando infundido promove alterações hemodinâmicas renais, aumentando o fluxo plasmático e o ritmo de filtração glomerular. Tais efeitos estão ligados à sua ação vasodilatadora sobre a vasculatura renal e independe do endotélio, já que a remoção destas células não bloqueia o relaxamento (FARAH, 2015).

Estudos recentes demonstraram que o receptor de GLP-1 é expresso na vasculatura renal, incluindo a artéria aferente e que sua ativação aguda diminui a eficiência de auto regulação renal, reduzindo assim capacidade da arteríola aferente de controlar o ritmo de filtração glomerular e o fluxo plasmático renal, conseqüentemente, a manutenção da homeostase de Na^+ e a proteção dos capilares glomerulares poderia ser reduzida (FARAH, 2015; JENSEN *et al.*, 2014).

2.3.2.2. Polipeptídeo inibitório gástrico (GIP)

O GIP é um peptídeo de 42 aminoácidos, produzido pelas células K enteroendócrinas, encontradas principalmente no intestino proximal. Este hormônio age rapidamente sobre células β -pancreáticas para estimular a liberação de insulina, e assim, garantir a rápida absorção de glicose pelos tecidos. Além disso, o GIP promove a remoção de triglicérides da circulação, mediado pela sua capacidade de estimular a atividade da lipase lipoprotéica, que é uma enzima conversora de triglicérides em

ácidos graxos, permitindo sua captação pelos tecidos periféricos. Em doses farmacológicas, também apresenta a capacidade de inibir a secreção do ácido gástrico. (FULURIJA *et al.*, 2008; GUPTA, 2012; GAUTIER *et al.*, 2005).

O receptor para o GIP (GIP-R) foi identificado nas células β pancreáticas, tecido adiposo, córtex adrenal, coração, cérebro e rins. O GIP, assim como o GLP, aumenta os níveis de AMPc e cálcio dentro da célula, entretanto, diferentemente do GLP, o GIP não apresenta influência sob a secreção de glucagon nas células α pancreáticas e nem interfere no esvaziamento gástrico (DING & GROMADA, 1997).

O GIP possui a capacidade de regular o metabolismo dos adipócitos, já que os seus receptores estão presentes nessas células, sendo capaz de estimular a liberação de insulina através da incorporação de ácidos graxos em triglicerídeos, estimulação de ácidos graxos e da lipase protéica. O fato de o GIP ser estimulado pela gordura, explica o porquê dele se encontrar aumentado em pessoas obesas (BAGGIO & DRUCKER, 2007).

A meia vida do polipeptídeo inibitório gástrico, seja exógeno ou endógeno, é muito curta, em torno de 7 minutos, sendo degradados em condições normais pela enzima DPP, na posição N-terminal de sua cadeia. (DEACON *et al.*, 2000)

O sistema renal não é o mais importantes para a degradação inicial da GIP e GLP-1, porém a extração dos metabólitos de ambos depende principalmente da função renal (MEIER *et al.*, 2004)

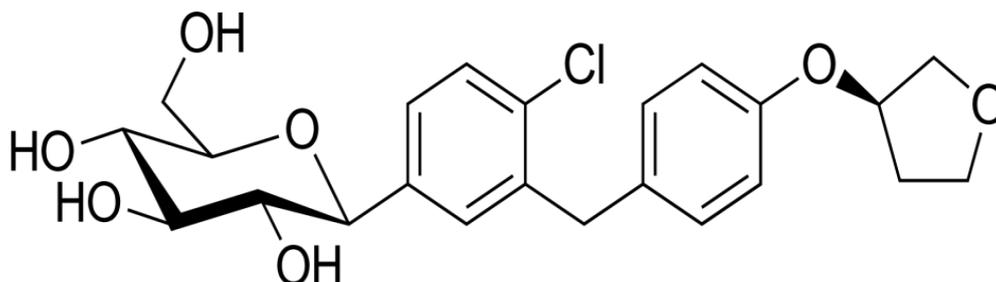
2.3.3. Inibidor de SGLT2

A glicosúria tem sido estudada por mais de 150 anos, usando o extrato botânico florizina, encontrado em diversas árvores frutíferas, que foi posteriormente identificado como um inibidor inespecífico das proteínas do cotransportador sódio-glicose (SGLT), localizadas no túbulo proximal renal e na mucosa do intestino delgado. Observou-se que a inibição dessas proteínas resulta em mudanças que melhoram favoravelmente o metabolismo dos carboidratos, tornando-se um conceito atraente para o tratamento do diabetes (EHRENKRANZ, 2005; MUDALIAR, 2014; SCHEEN, 2015; SHUBROOK, 2015).

A grande maioria da glicose filtrada é reabsorvida no primeiro segmento do túbulo contorcido proximal dos rins pelo transportador SGLT2. Decorrente disso, esses transportadores são alvos para o tratamento do diabetes, pois são responsáveis por cerca de 90% da reabsorção da glicose filtrada. O SGLT2 é um transportador de baixa

afinidade, mas de alta capacidade (SCHEEN; SHUBROOK; TRIPLIT; FIORETTO, 2015). Sua ação é independente da função das células β e da secreção de insulina. Portanto, eles podem ser utilizados em pacientes com diabetes de longa duração, desde que a função renal esteja preservada (DESOUZA, 2015).

Figura 4. Estrutura molecular da empaglifozina.



Fonte: CONCEIÇÃO; SILVA; BARBOSA, 2017

A glicose filtrada remanescente (10%) é removida pelo SGLT1 na região distal do túbulo contorcido proximal. O SGLT1 é um transportador de alta afinidade e baixa capacidade. Ele é expresso no intestino delgado e ajuda a regular a absorção de glicose e galactose no rim. As pessoas que não expressam SGLT1 em funcionamento sofrerão de complicações gastrointestinais (GI) significativas, incluindo diarreia grave, enquanto aquelas sem SGLT2 funcional parecem viver vidas normais, apesar do aumento da glicosúria (WRIGHT, 2011).

O limiar renal normal para reabsorção de glicose corresponde a uma concentração sérica de glicose de 180 mg/dL, porém em pacientes com diabetes tipo 2, esse limiar pode aumentar e a expressão do SGLT2 pode ser supra regulada, causando uma resposta maior do que o normal, levando a hiperglicemia. A inibição seletiva dos inibidores de SGLT2 pode reduzir esse limiar para 40 a 120 mg/dL (MOSES, 2014; DESOUZA, 2015).

A empaglifozina (inibidor de alta seletividade para o cotransportador de sódio e glicose do tipo 2) é um dos representantes da classe dos inibidores do SGLT2, tal fármaco foi capaz de reduzir o risco de mortalidade cardiovascular, infarto não fatal e AVC/derrame não fatal em 14% quando associado ao tratamento padrão em paciente com diabetes do tipo 2. Além disso, o tratamento com este medicamento resultou em um menor risco de mortalidade por todas as causas (redução de 32%) e hospitalização por insuficiência cardíaca (redução de 35%) (NWANERI, 2013; MORRISH, 2001; ZINMAN, 2015).

A eficácia dos inibidores do SGLT2 depende da função renal, por isso o seu uso não é recomendado em pacientes com filtração glomerular menor que 45 ml/min/1.73 m², além disso, a diurese osmótica que está atrelada a glicosúria terapêutica pode ocasionar uma redução na pressão arterial, por isso recomenda-se cautela ao utilizar esta medicação em pacientes que apresentem esse risco (BIP, 2015).

Além de seus efeitos sobre o metabolismo da glicose, a florizina tem sido relatada como tendo uma variedade de efeitos no sistema nervoso central, paradoxalmente, constatou-se que a florizina melhora a memória, efeito esse que parece ser independente dos níveis glicêmicos no sangue ou da captação de glicose no cérebro (EHRENKRANZ, 2005; YANG, 1999; BETZ, 1975).

2.4. Taquifilaxia

A taquifilaxia é a exposição contínua ou repetida a uma droga que pode levar a uma diminuição da resposta farmacológica. Isso é uma consequência da sensibilidade diminuída do receptor em resposta à estimulação contínua por um agonista do fármaco, produzindo uma resposta farmacológica diminuída (WOLVERTON, 2015).

Este processo de dessensibilização pode ser uma consequência de uma diminuição no número de receptores ou de uma atenuação da resposta, devido a uma liberação de neurotransmissores em excesso respondendo à presença do fármaco, promovida pela produção pré-sináptica. (BRUNTON, 2005)

Em nível celular, a estimulação adrenérgica estimula a ativação da enzima adenil ciclase, levando a um aumento abrupto nas concentrações intracelulares do segundo mensageiro, a adenosina monofostato cíclico (AMPc). Porém em muitas células essa capacidade de ativar a adenil ciclase diminui com o tempo, levando a uma diminuição nas concentrações de AMPc intracelulares, reduzindo as respostas farmacológicas que dependem desse transportador (WHALEN, 1999; BILLINGTON *et. al.*, 2013).

Um segundo mecanismo para esse evento envolve a retroalimentação de segundos mensageiros que podem levar à dessensibilização não apenas de receptores ativados por agonistas, mas também de diferentes classes de receptores expressos na mesma célula. Essa forma de taquifilaxia foi determinada sendo do tipo “heteróloga”, uma vez que a função de vários tipos de receptores pode ocorrer simultaneamente após a ativação de apenas um tipo de receptor (TRAVIS *et. al.*, 1997).

2.5. Escape Vascular (EV)

O tônus vascular é mediado pela interação de fatores regulatórios locais, influências corporais e agentes transportados pelo sangue. A vasoconstrição induzida por nervos simpáticos e norepinefrina produz reduções bem conservadas na condutância vascular em muitos órgãos; entretanto, muitos outros leitos vasculares respondem à vasoconstrição com escape vascular característico. (FOLKOW *et al.*1964)

Há aproximadamente 43 anos, este fenômeno tem sido abordado em várias publicações, desde sua primeira descrição, inúmeros trabalhos demonstraram a ocorrência deste fenômeno adaptativo em diversos sítios vasculares. Os resultados apresentados nessas investigações se correlacionam com a ocorrência do escape induzido por noradrenalina à liberação de mediadores vasoativos secundários, localmente produzidos pelo endotélio, ou mesmo tecidos neurais, tais como prostaglandinas, fator de ativação de plaquetas (PAF) e de óxido nítrico endógeno (ERDF) (FONTELES & FERREIRA, 1994; FONTELES *et al.*,1974).

O EV é o fenômeno pelo qual ocorre uma taquifilaxia na vasoconstrição de uma arteríola a uma constante estimulação simpática, sendo definido como a incapacidade do músculo liso arterial em manter-se contraído quando sobre ele incide um estímulo vasoconstritor constante, como o que ocorre durante a infusão de agonistas adrenérgicos (noradrenalina, fenilefrina, etc.) ou quando o tronco simpático sofre algum tipo de estímulo elétrico. O escape parece ter um significado especial como mecanismo protetor frente às variações súbitas e frequentes da tonicidade vascular e por isso tem merecido especial atenção desde suas primeiras descrições (FONTELES & FERREIRA, 1994; D'Almeida, 1992; MENEZES, 2017).

As reações de escape vascular no rim isolado e perfundido começam a ocorrer entre 5-7 minutos após o início da infusão de noradrenalina, requerendo infusões prolongadas de agentes vasoconstritores, sugerindo que a vasoconstrição necessita de um determinado período de tempo para iniciar a reatividade vascular reversa. Durante esse período, fibras musculares lisas contraídas passam a receber sinalização oposta para sinalizar a produção subjacente de substâncias vasoativas, capazes de tornar o vaso momentaneamente refratário ao efeito vasoconstritor ou promover a liberação de fatores vasodilatadores, e com isso, preservar a integridade hemodinâmica de determinado território vascular (FONTELES & DE LIMA E FORTI, 1993).

Outro fator apontado na participação da vasodilatação observada no EV é o pH tecidual, que é expresso pela concentração plasmática de íons H⁺, onde um acúmulo

de metabólitos ácidos levaria a uma vasodilatação inicial induzida pelo agente vasopressor, ocasionando uma acidose local, promovendo uma inibição dos receptores α_2 pós-sinápticos e, conseqüentemente, uma redução na eficácia da noradrenalina em deflagrar a contração do músculo liso vascular. Por essa razão, os níveis de pressão iniciais não poderiam ser mantidos, resultando no escape vascular (CHEN, 1991).

3. JUSTIFICATIVA

A utilização de técnicas de perfusão renal tem se mostrado vantajosa, ao permitir o avanço no entendimento dos mecanismos tubulares de reabsorção de íons no sistema renal de diversas espécies animais. Por conta disso, o sistema vascular renal é alvo de inúmeros estudos científicos, acerca das características vasoativas e reativas a substâncias que modulam algumas fisiopatologias.

Entretanto, quando se pesquisa acerca dos efeitos renovasculares e estimulação alfa adrenérgica em animais normoglicêmicos produzidos por agentes hipoglicemiantes utilizados clinicamente no controle de alterações glicêmicas da diabetes mellitus, o conteúdo é escasso.

A compreensão mais detalhada desses mecanismos é útil para uma maior percepção de parâmetros renais envolvidos nas alterações vasculares que podem influenciar na fisiopatologia de diversas doenças relacionadas ao diabetes, tal como a hipertensão arterial, nefropatia, cardiopatia, entre outras.

Portanto, novas abordagens terapêuticas que possam atenuar, reverter e/ou lentificar o aparecimento destas complicações terão grande impacto na qualidade de vida e na sobrevivência dos pacientes, além do grande impacto no custo operacional do sistema de saúde do país.

Estes dados nos estimulam ao estudo do potencial destes medicamentos em prevenir ou atenuar lesões estruturais e funcionais associadas a alterações nos parâmetros renais, como por exemplo, as mudanças que ocorrem na pressão de perfusão renal, fluxo de perfusato, fluxo urinário, resistência vascular e o clearance renal, visando a utilização dessas substâncias em patologias que dependam do sistema renal.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

Avaliar os efeitos renovasculares e a estimulação alfa adrenérgica em animais normoglicêmicos produzidos por agentes hipoglicemiantes orais utilizados clinicamente no controle de alterações glicêmicas da Diabetes Mellitus.

4.2. Específicos

4.2.1. Estudar as variações pressóricas, durante a perfusão renal, em animais sob o efeito da fenilefrina, medindo o escape renovascular e a taquifilaxia.

4.2.2. Avaliar os efeitos da linagliptina, glimepirida, gliclasida e empaglifozina em coelhos normais, no rim perfundido, durante a interação vascular α -adrenérgica.

4.2.3. Analisar os parâmetros renais dos hipoglicemiantes orais nos rins isolados, como fluxo de perfusato, fluxo urinário, resistência vascular e clearance renal.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. Animais Experimentais

Foram utilizados coelhos Califórnia para a pesquisa, de ambos os sexos, provenientes da Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Ceará, pesando, em média, entre 700g e 1500g. Os animais foram mantidos em jejum alimentar, em gaiolas de aço, com livre ingestão de água nas 12 horas prévias aos experimentos realizados no Laboratório de Farmacologia Renal e Metabólica da Unidade de Pesquisas Clínicas da Faculdade de Medicina da UFC.

O projeto foi iniciado após aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Ceará (CEUA-UFC) sob o número 9768280219 e os experimentos foram conduzidos de acordo com a legislação brasileira que regulamenta o uso de animais em experimentações científicas, conforme a Lei Arouca 11974 de 2008.

5.2. Procedimento Cirúrgico

Os animais foram anestesiados com uma injeção intraperitoneal de uretana (1200 mg/kg) e pentobarbital (30 mg/kg) administrado por injeção intramuscular num membro inferior. Por meio de uma incisão abdominal mediana, indo do processo xifoide à região púbica, obteve-se o acesso ao interior da cavidade abdominal. Uma vez

expostas, as vísceras foram rebatidas para a direita, expondo o rim esquerdo, o primeiro a ser removido e pesado.

Após limpeza cuidadosa da gordura perirrenal, foram expostos e identificados os vasos renais, umedecendo as vísceras com salina em gaze. A seguir, artéria e veia renais foram, em conjunto, bloqueadas com pinça hemostática.

Antes da remoção do órgão, verificou-se, cuidadosamente, se as suturas estavam adequadas e que não havia nenhum ponto de hemorragia que pudesse comprometer a perfusão tecidual das regiões ainda não utilizadas. Para remover o rim, seccionou-se a veia renal junto à pelve renal e o ureter, em seu terço- médio. O rim foi então colocado em uma placa de Petri, contendo solução de Krebs-Henseleit (KH) (KREBS & HENSELEIT, 1932) e procedeu-se a canulação arterial com tubo de polietileno PE 50. Antes de conectar o rim ao sistema de perfusão, realizou-se uma lavagem rápida com solução salina a 37°C e a cavidade abdominal ficou protegida com gaze embebida da solução a fim de evitar desidratação das vísceras.

Iniciou-se, de imediato, a infusão com solução de KH, previamente oxigenado com carbogênio (95% de O₂ e 5% de CO₂), ao mesmo tempo em que o ureter foi também canulado com tubo de polietileno 50 estirado. Na sequência, o órgão foi levado ao sistema onde recebeu solução de KH com pH ajustado entre 7,35 e 7,40, permanecendo aerado com mistura de carbogênio, com temperatura média de 37°C, em média, 5 minutos desde a canulação da artéria renal.

Após cada experimento, o rim foi pesado e expresso em gramas (g) a fim de ser usado nos cálculos dos parâmetros fisiológicos de fluxo de perfusato, fluxo urinário e resistência vascular.

O animal foi mantido aquecido por uma manta térmica e com as vísceras umedecidas até o término do procedimento, para que pudéssemos prosseguir com a retirada do outro rim e iniciação do mesmo processo de canulação.

5.3. Solução para Perfusão

A solução empregada no sistema de perfusão é uma modificação da solução de Krebs-Henseleit modificada, Sua composição (mM) - NaHCO₃ 25, Glicose 5,5, CaCl₂H₂O 2,79, Creatinina 0,5 NaCl 117,7, KCl 4,29, K₂H₂PO₄ 0,93, MgSO₄7H₂O 1,13, Uréia 8,3. Para cada litro da solução foram ainda adicionados. O PH final da solução foi sempre ajustado para 7,3.

5.4. Reagentes e ferramentas farmacológicas

A. Solução de Krebs-Henseleit.

B. Reagentes utilizados no preparo da solução vasoconstrictora, fenilefrina à dose de 10µg/mL (SIGMA).

C. Anestésicos: uretana (1,2 g/Kg) e pentobarbital sódico (30 mg/Kg).

D. Linagliptina 5 mg. Cada comprimido da droga foi dissolvido em solução de Krebs-Henseleit na razão de 5 mg/1000 mL, onde se chegou à concentração de 0,005 mg/mL.

E. Gliclasida 30mg. Cada comprimido da droga foi dissolvido em solução de Krebs-Henseleit na razão de 30mg/1000mL, onde se chegou à concentração de 0,03mg/mL.

G. Glimpirida 2 mg. Preparou-se a partir de um comprimido de glimepirida, pulverizado em um becker e ressuspenso em 1,0 L de solução de KH, perfazendo, pois, uma concentração de 2 µg/mL.

H. Empaglifozina 25 mg. Cada comprimido foi dissolvido em 10 mL de água destilada, retirado 5 mL e rediluído em 1,0 L de solução de KH, chegando à uma concentração de 0,0125 mg/mL

5.5. Sistema de Perfusão

A principal característica do sistema de perfusão adotado é a de ser um sistema aberto, utilizando o perfusato sem recirculação. O sistema é composto, esquematicamente, por:

- a) Sistema de aquecimento composto por termostato com temperatura mantida em $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$;
- b) Bomba peristáltica marca Watson-Marlow, previamente calibrada para perfusão, flutuando entre 4,0 a 12,0 mL/minuto;
- c) Reservatório de perfusão, contendo a solução a ser perfundida;
- d) Sistema para captação de bolhas (FONTELES et al., 1973);
- e) Bomba de Infusão Imbracios®, calibrada para infusão de 0,2 a 0,8mL/minuto;
- f) Manômetro para registro das variações na pressão de perfusão, em mmHg;

- g) Sistema de borbulhamento em oxigenador específico de fabricação artesanal, acoplada à bomba de perfusão e por onde circula o perfusato oxigenado, com pH final entre 7,2 - 7,4;
- h) Cânula arterial, tubo de polietileno PE50;
- i) Coletor de perfusato;
- j) Coletor de urina.

O sistema de perfusão que foi adotado é uma modificação do utilizado em trabalhos anteriores em nosso laboratório, que já possui vasta experiência sobre o assunto, portanto está bem equipado para a realização deste arcabouço experimental (COSTA – E – FORTI & FONTELES, 1977; 1979).

Figura 5. Foto do sistema de perfusão aberta em rim isolado de coelho



5.6. Protocolo de perfusão

Logo após a colocação no sistema, o rim foi perfundido com solução KH, tendo os tempos experimentais sido divididos em:

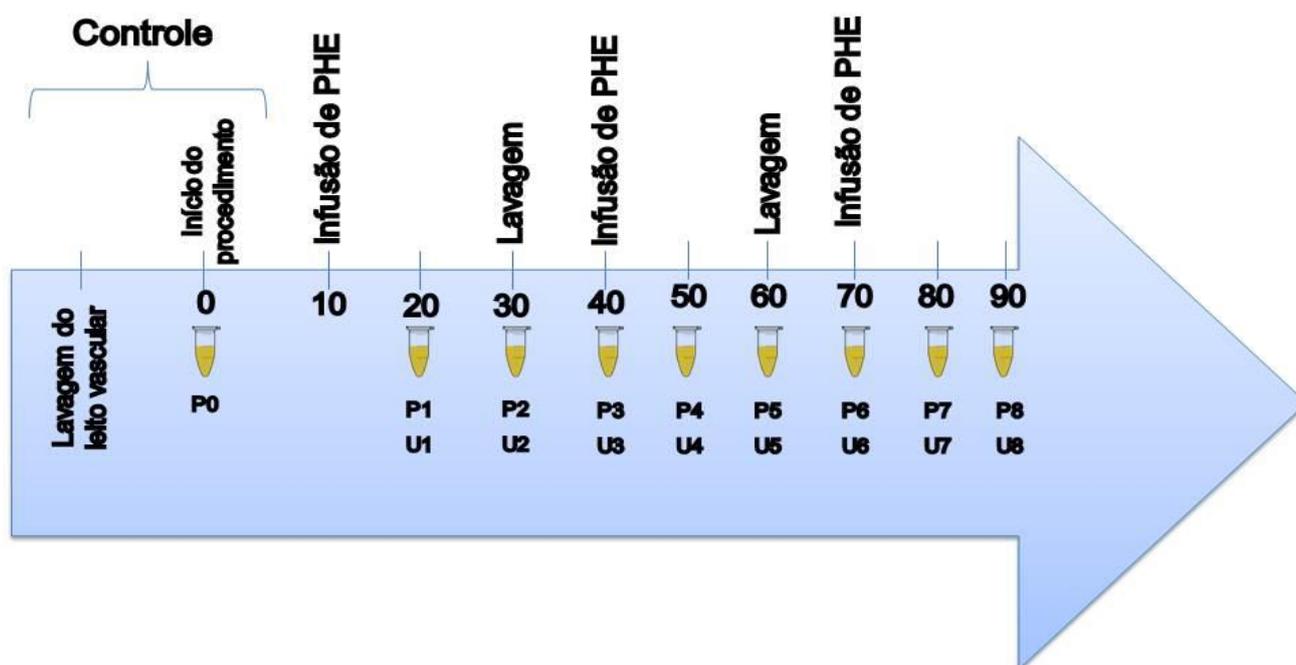
A. Período de Controle (20 minutos): este primeiro período foi dividido em dois tempos de 10 minutos cada, onde o primeiro antecedeu o início do procedimento e teve como intuito a lavagem do leito vascular renal, eliminação de sangue remanescente e estabilização da pressão de perfusão e o segundo onde se marcou os primeiros 10 minutos de início do procedimento registrando-se os parâmetros;

B. Períodos de Infusão de fenilefrina (20 minutos cada): compostos de três etapas de infusão de PHE a uma vazão de 1 mL/min, a primeira foi iniciada imediatamente após o período de controle realizado.

C. Períodos de Lavagem (10 minutos cada): lavagem com líquido de perfusato, intercalada aos períodos de infusão de PHE, repetidos em três ciclos de 10 minutos.

Todas as substâncias antidiabéticas orais utilizadas foram preparadas, diluídas e adicionadas à solução de KH, para posterior infusão no sistema. A cada 10 minutos, foram coletadas amostras de perfusato e urina para a realização da dosagem do clearance renal. A primeira coleta foi realizada, apenas após o período de controle.

Figura 6. Protocolo experimental e períodos de coleta de perfusato e urina



5.7. Grupos de estudo

Os grupos de estudo foram divididos de acordo com o protocolo de infusão com ou sem a substância vasoconstritora (grupo controle). Considerou-se o n o número de rins perfundidos em cada experimento.

A. Grupo controle (n=3) com infusão apenas de solução de Krebs-Henseleit para a validação da pressão arterial média.

B. Animais perfundidos (n=6) com infusão de solução de Krebs-Henseleit e fenilefrina (PHE).

C. Animais perfundidos (n=6) com infusão de solução de Krebs- Henseleit e glimepirida (GLIM), em infusões com fenilefrina.

D. Animais perfundidos (n=6) com infusão de solução de Krebs- Henseleit e gliclazida, em infusões com fenilefrina.

E. Animais perfundidos (n=6) com infusão de solução de Krebs- Henseleit e linagliptina, em infusões com fenilefrina.

F. Animais perfundidos (n=6) com infusão de solução de Krebs- Henseleit e empaglifozina, em infusões com fenilefrina.

5.8. Medidas Fisiológicas

Os seguintes parâmetros fisiológicos foram avaliados durante este experimento:

5.8.1. Peso do rim

O peso dos rins utilizados nos protocolos experimentais foi determinado após o encerramento de cada perfusão, sendo utilizado para a determinação do fluxo de perfusato, fluxo urinário e cálculo da resistência vascular, sendo expresso em gramas (g). O perfusato e a urina foram coletados a cada 10 minutos e medidos em cilindros graduados.

5.8.2. Fluxo de perfusato

O fluxo de perfusato foi calculado dividindo-se o volume pelo intervalo de tempo e pelo peso renal corrigido, isto é, mediante a subtração de água ganha durante a perfusão, registrado a cada 10 minutos, com coletas de amostras de perfusato. O resultado é expresso em mL/g/min.

5.8.3. Fluxo urinário

O fluxo de urina foi calculado, dividindo-se o volume pelo intervalo de tempo (10 minutos) e pelo peso do rim corrigido.

$$\dot{V} = \frac{\text{Volume (mL)}}{\text{Tempo (min)}}$$

Os resultados dos fluxos serão expressos em ml/g/min.

5.8.4. Resistência Vascular

A resistência vascular foi calculada de acordo com a expressão:

$$R = \frac{\text{PAM}}{F_x}$$

onde:

R - é a resistência periférica

PAM - é a pressão de perfusão média em mm/Hg

F_x- é o fluxo de perfusato em mL/g/min.

O uso de pressão média (PM) deve-se ao caráter semipulsátil da bomba de perfusão. A PM que é calculada segundo a fórmula (LITTLE, 1981):

$$\text{PAM} = \text{PD} + 1/3\text{PP}$$

onde:

PAM - é a pressão média

PD - é a pressão diastólica

PP - é a pressão de pulso.

5.8.5. Escape Renovascular

Durante o estudo do efeito vasoconstritor, foi medida a variação da pressão de perfusão do seu pico máximo à sua estabilização. O decremento deste valor máximo, durante o registro da pressão de perfusão, expresso percentualmente, corresponde à medida do escape renovascular (FONTELES & JESKE; 1980).

O escape foi calculado de acordo com a fórmula abaixo (FONTELES, et al., 1974):

$$\% \text{ EV} = \frac{(P_{\text{MAX}} - P_{\text{MIN}}) \cdot 100}{P_{\text{MAX}} - P_i}$$

Onde:

P_{máx.}- pressão de perfusão máxima obtida após a infusão da substância vasoconstritora, antes do escape;

P_{min.} - pressão de perfusão mínima observada durante a infusão de PHE, após o escape;

P_i - pressão de perfusão registrada imediatamente antes da infusão do α-agonista.

5.8.6. Taquifilaxia

As curvas de infusão de PHE caracterizam-se por uma tendência à queda dos valores pressóricos máximos, ao longo de todo o experimento. Assim, a observação de três curvas de infusão de PHE, intercaladas por períodos de lavagem de 10 minutos da preparação, mostra uma tendência ao decaimento dos níveis pressóricos nas diferentes curvas.

Não há expressões matemáticas para a medida da taquifilaxia, portanto, considerada adimensional. Sendo medida, pela comparação entre os pontos máximos das diferentes curvas nos grupos estudados, calculando as diferenças entre as pressões que compõem as curvas de infusão nos grupos com infusão de fenilefrina. Calculou-se a diferença entre a pressão de base da curva e as pressões seguintes antes da lavagem do sistema. Percebeu-se o fenômeno da taquifilaxia quando as curvas posteriores não tiveram resposta igual às iniciais.

5.8.7. Clearance osmolar e clearance de água livre

As determinações de osmolaridade da urina e plasma foram realizadas utilizando-se um osmômetro (Osmette, Mitchell Foutz). Os resultados obtidos foram usados para calcular o clearance osmolar e o clearance de água livre. O clearance osmolar (C_{osm}) foi determinado ao multiplicar a concentração osmolar da urina (U_{osm}) pelo \dot{V} e dividindo pela concentração osmolar do plasma (P_{osm}) e o clearance de água livre (C_{H₂O}) através da subtração do \dot{V} pelo C_{osm}.

$$C_{\text{osm}} = \frac{U_{\text{osm}} \cdot \dot{V}}{P_{\text{osm}}}$$

$$C_{\text{H}_2\text{O}} = \dot{V} - C_{\text{osm}}$$

Os resultados foram expressos em mL/g/min.

5.8.8. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG)

Para avaliar o RFG, foram medidas as concentrações de creatinina plasmática (Pcr) e urinária (Ucr), posteriormente estes valores foram usados para calcular o clearance de creatinina como estimativa do RFG. O fluxo urinário (\dot{V}) foi determinado dividindo o volume urinário pelo tempo de coleta.

$$\dot{V} = \frac{\text{Volume (mL)}}{\text{Tempo (min)}}$$

$$\text{RFG} = \frac{U_{in} \cdot \dot{V}}{P_{in}}$$

O ritmo de filtração glomerular foi expresso através do clearance de creatinina em ml/g/min.

5.8.9. Sódio Filtrado (FNa⁺)

O sódio filtrado foi obtido pelo produto do RFG e da concentração de sódio no perfusato (PNa⁺).

$$\text{FNa}^+ = \text{RFG} \times \text{PNa}^+$$

O sódio filtrado foi expresso em uEq/g/min.

5.8.10. Sódio Transportado (TNa⁺)

O sódio transportado foi obtido da diferença entre o sódio filtrado (FNa⁺) e o sódio excretado (ENa⁺).

$$\text{TNa}^+ = \text{FNa}^+ - \text{ENa}^+$$

O sódio transportado foi expresso em uEq/g/min.

5.8.11. Sódio Excretado (ENa⁺)

O sódio excretado foi calculado a partir do produto do fluxo urinário (\dot{V}) pela concentração de sódio na urina (UNa⁺).

$$\text{ENa}^+ = \dot{V} \times \text{UNa}^+$$

O sódio transportado foi expresso em uEq.

5.8.12. Potássio Filtrado (FK⁺)

O potássio filtrado foi obtido pelo produto do RFG e da concentração de potássio no perfusato (PK⁺).

$$FK^+ = RFG \times PK^+$$

O potássio filtrado foi expresso em uEq/g/min.

5.8.13. Potássio Transportado (TK⁺)

O potássio transportado foi obtido da diferença entre o potássio filtrado (FK⁺) e o potássio excretado (EK⁺).

$$TK^+ = FK^+ - EK^+$$

O potássio transportado foi expresso em uEq/g/min.

5.8.14. Potássio Excretado (EK⁺)

O potássio excretado foi calculado a partir do produto do fluxo urinário (\dot{v}) pela concentração de potássio na urina (UK⁺).

$$EK^+ = \dot{v} \times UK^+$$

O sódio transportado foi expresso em uEq.

5.9. Análise estatística

Os resultados foram expressos utilizando média \pm erro padrão. Os dados foram testados utilizando análise de variância (ANOVA) e pós teste de Bonferroni para comparações entre grupos e o Teste-t pareado para comparações intra grupo. Valores de $p < 0,05$ foram considerados para a análise, como negação da hipótese nula.

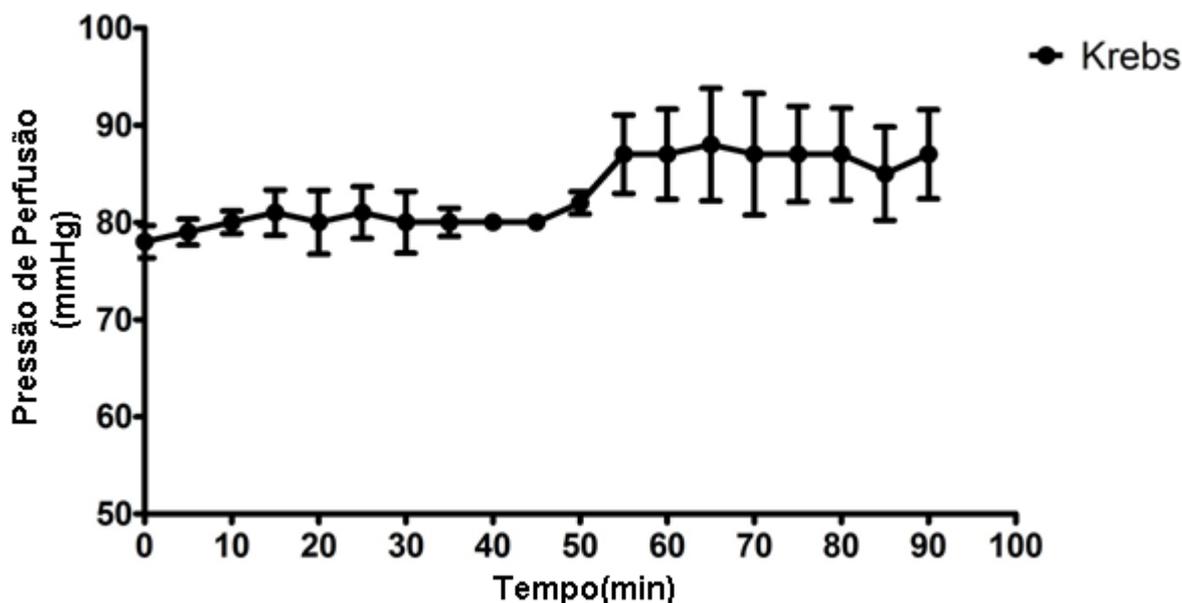
6. RESULTADOS

6.1. Pressão de perfusão e fluxo renal de cada grupo

6.1.1. Grupo controle com infusão de solução de Krebs-Henseleit, sem a infusão de fenilefrina

Os resultados mostraram que a perfusão renal, apenas com solução de Krebs-Henseleit (n=3), não alterou significativamente as pressões ao longo da duração dos experimentos, não obtendo, portanto, alterações estatísticas significantes (Figura 7).

Figura 7. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=3), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit



6.1.2. Grupo controle com infusão de solução de Krebs-Henseleit, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)

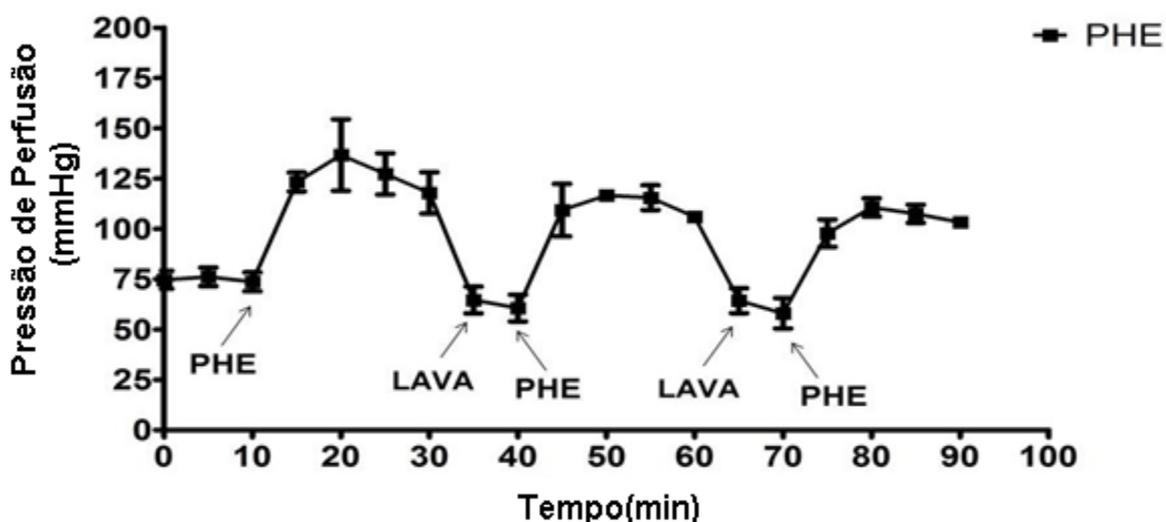
Neste grupo procedeu-se com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL) nos rins isolados em três ciclos de infusões, a fim de se estudar o comportamento pressórico renal. Salienta-se que essa mesma dose também foi utilizada nos experimentos dos grupos subsequentes, onde foram adicionados à solução de Krebs os antidiabéticos orais supracitados e realizadas infusões com fenilefrina, de acordo com o protocolo de perfusão.

Os aspectos gerais das pressões verificadas podem ser observados através das várias alterações nas linhas das curvas gráficas plotadas na figura 7, onde, primeiramente, há um período de estabilização das pressões logo após a nefrectomia e acomodação do rim no sistema de perfusão. Em seguida à injeção de fenilefrina, vê-se uma súbita e acentuada elevação na pressão de perfusão, seguido de um trecho em que o incremento pressórico diminui, tendendo a um período estável e, finalmente, ocorre uma redução da pressão, mesmo mantida a infusão do agente vasoconstritor.

As curvas de pressão de perfusão foram decrescentes, onde após a primeira infusão, uma significativa diferença foi observada desde o minuto 5' ($76,17 \pm 4,64$ mmHg) até o minuto 20 ($136,67 \pm 17,80$ mmHg). Na segunda infusão de fenilefrina, as pressões também variaram: tempo 50'= $116,67 \pm 2,36$ mmHg e tempo 70'= $58,00 \pm 7,54$ mmHg; na terceira infusão, os valores foram de $110,67 \pm 4,50$ mmHg (tempo de 80') e

103,33 ± 2,05 mmHg (tempo de 90'). Até a última infusão, as médias de pressão foram significativas, porém em valores absolutos menores, evidenciando o notório e proporcional efeito taquifilático (Figura 7).

Figura 8. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



Ao observar os valores expostos no Quadro 1, é possível perceber que as médias de fluxo de perfusato, fluxo urinário e resistência vascular se mantêm praticamente constantes, havendo variação estatisticamente significativa, apenas nos tempo 60' e 70', em relação ao tempo 10' (tempo controle, onde ainda não houve a infusão de fenilefrina), quando se trata do fluxo urinário, demonstrando um $p < 0,05$, após a realização do teste t pareado.

Quadro 1. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit

Tempo (minutos)	Fluxo do Perfusato	Fluxo Urinário	Resistência Vascular
10	19,04 ± 1,70	0,10 ± 0,01	5,09 ± 0,53
20	19,34 ± 1,65	0,11 ± 0,01	8,28 ± 1,46
30	18,29 ± 2,02	0,13 ± 0,02	8,31 ± 1,75
40	17,39 ± 1,54	0,12 ± 0,01	4,56 ± 0,60
50	18,72 ± 1,62	0,13 ± 0,01	7,12 ± 1,27
60	20,29 ± 2,21	0,16 ± 0,02**	6,37 ± 0,63
70	19,26 ± 1,95	0,15 ± 0,01**	4,14 ± 0,78
80	16,39 ± 2,51	0,14 ± 0,01	6,97 ± 1,10
90	19,01 ± 2,05	0,11 ± 0,02	6,85 ± 1,33

Valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário referidos em média ± erro padrão e expressos em unidades de ml/g/min. A resistência vascular referida em média ± erro padrão e expressa em unidades de mmHg/mL.g⁻¹. min⁻¹

**p<0,05. Na análise do fluxo urinário, houve significância entre as médias nos tempos de 60' e 70' em relação ao tempo 10' (teste t pareado).

6.1.3. Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs-Henseleit e linagliptina (0,005mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)

Neste outro grupo, foi adicionado à solução de Krebs- Henseleit, o antidiabético oral linagliptina, com a infusão do agonista α -adrenérgico (fenilefrina).

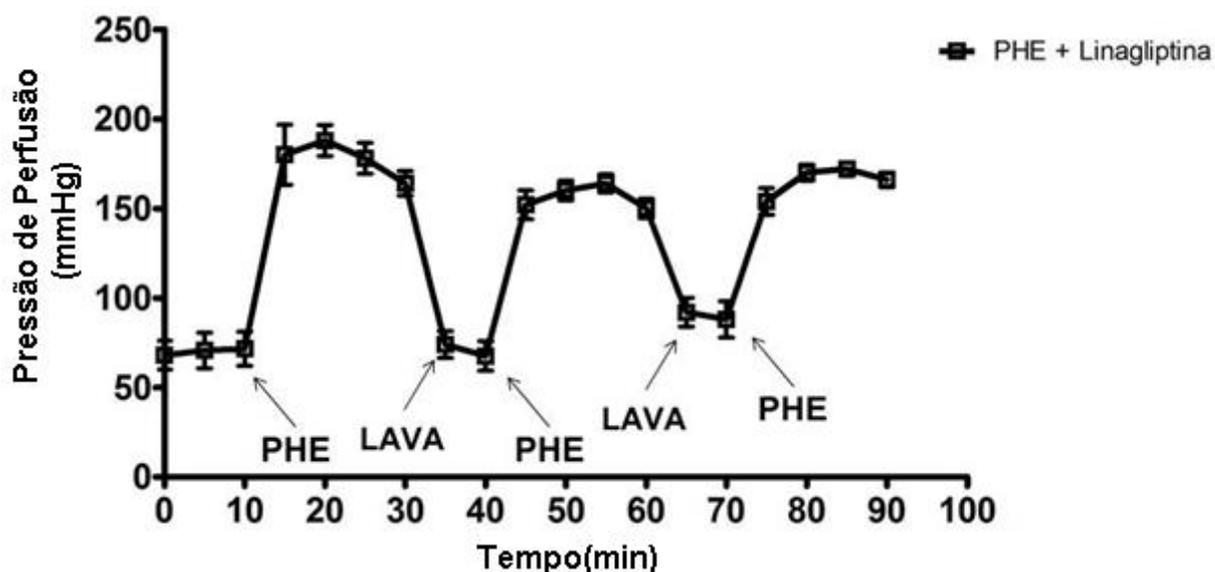
Através das alterações nas linhas das curvas gráficas plotadas na figura 8, podemos observar os aspectos gerais das pressões verificadas, onde, primeiramente, há um período de estabilização das pressões logo após a nefrectomia e acomodação do rim no sistema de perfusão, assim como no grupo anterior. Logo após a injeção de fenilefrina, vê-se uma súbita e acentuada elevação na pressão de perfusão, seguido de um trecho em que o incremento pressórico diminui, mesmo mantendo-se a infusão do agente vasoconstritor.

Quando comparadas entre si, observamos que a primeira curva atinge a média de pressão de $196,67 \pm 8,50$ mmHg (tempo 20'), a segunda curva a média de $180,00 \pm 20,14$ mmHg (tempo 55') e a terceira curva a média de $190,00 \pm 24,83$ mmHg (tempo 85'). As curvas de pressão de perfusão foram decrescentes, quando comparamos a primeira e a segunda, onde fica evidenciado o efeito taquifilático, porém o mesmo não ocorreu com a terceira curva que apresentou taquifilaxia em relação à primeira curva de pressão, todavia demonstrou média pressórica maior do que a segunda curva.

Após a primeira infusão do agonista uma significativa diferença foi observada desde o minuto 5 ($72,17 \pm 2,45$ mmHg) até o minuto 20 ($196,67 \pm 8,50$ mmHg). Na segunda infusão de fenilefrina, as pressões também variaram: tempo 50'= $173,33 \pm 16,50$ mmHg e tempo 70'= $106,67 \pm 21,60$ mmHg; na terceira infusão, os valores foram de $188,33 \pm 23,57$ mmHg (tempo de 80') e $185,00 \pm 25,93$ mmHg (tempo de 90') (Figura8).

Em relação ao grupo controle, com a infusão de fenilefrina, as médias deste grupo (linagliptina + PHE), podem ser consideradas significativas, já que o pico máximo de pressão do grupo Krebs com a infusão de fenilefrina atingiu apenas $136,67 \pm 17,80$ mmHg.

Figura 9. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e linagliptina (0,005 mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



Em relação aos valores expostos no Quadro 2, não houve diferença significativa em relação ao fluxo de perfusato e fluxo urinário que se mantiveram praticamente constantes, todavia, em relação à resistência vascular os tempos 20', 30', 50', 60', 80' e 90' comparados ao tempo 10', demonstraram significativa diferença estatística com um $p < 0,05$.

Quadro 2. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e linagliptina (0,005 mg/mL)

Tempo (minutos)	Fluxo do Perfusato	Fluxo Urinário	Resistência Vascular
10	17,67 ± 0,6	0,05 ± 0,01	4,06 ± 0,49
20	19,11 ± 0,55	0,05 ± 0,01	10,11 ± 0,63**
30	18,03 ± 0,70	0,06 ± 0,009	9,28 ± 0,33**
40	16,98 ± 0,71	0,08 ± 0,009	4,13 ± 0,52
50	17,62 ± 0,39	0,06 ± 0,007	9,07 ± 0,14**
60	17,43 ± 0,71	0,07 ± 0,01	9,00 ± 0,53**
70	18,50 ± 0,44	0,09 ± 0,01	4,83 ± 0,51
80	18,80 ± 0,4	0,08 ± 0,008	9,10 ± 0,51**
90	17,36 ± 0,44	0,08 ± 0,01	9,78 ± 0,42**

Valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário referidos em média ± erro padrão e expressos em unidades de ml/g/min. A resistência vascular referida em média ± erro padrão e expressa em unidades de mmHg/mL.g⁻¹. min⁻¹

** $p < 0,05$. Na análise da resistência vascular houve significativa diferença entre as médias nos tempos de 20', 30', 50', 60', 80' e 90' comparados ao tempo 10' (teste t pareado).

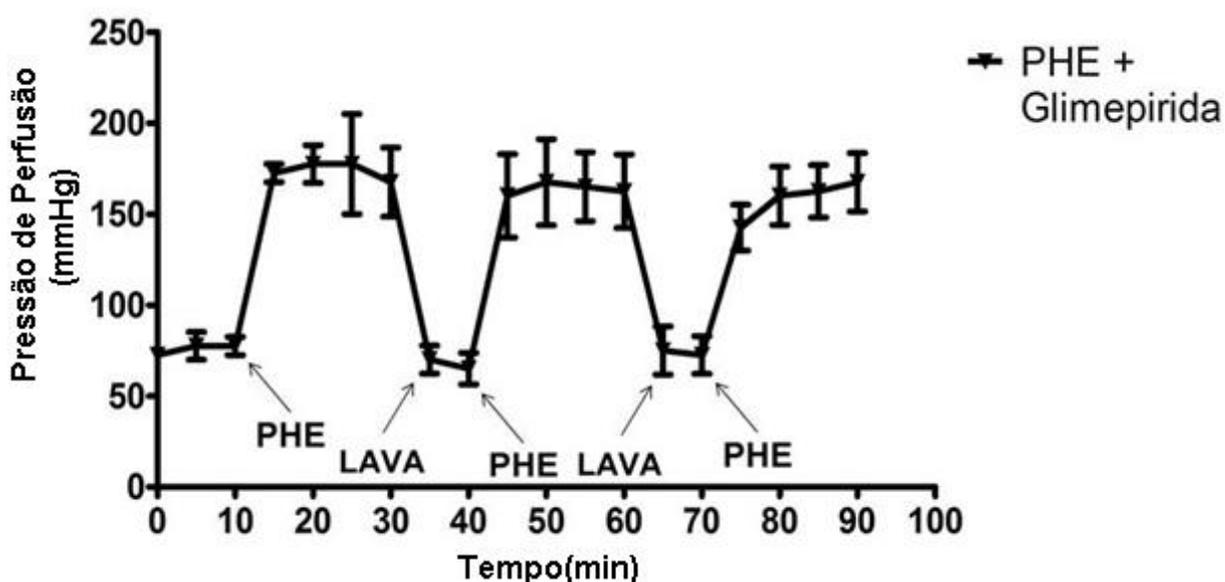
6.1.4. Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs-Henseleit e glibeprida (2µg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)

Seguindo o protocolo de infusão renal com fenilefrina fez-se também a adição de glibeprida, onde se observou um aumento de pressão significativa à primeira administração do agonista adrenérgico.

A partir daí, nas seguintes infusões de fenilefrina, os aumentos de pressão foram menores, mas significantes quando comparados ao primeiro, demonstrando taquifilaxia ao compararmos a primeira curva com a segunda e a primeira curva com a terceira, todavia se compararmos a segunda curva com a terceira houve a manutenção do pico de pressão: tempo 5' = $77,50 \pm 7,64$ mmHg; tempo 20' = $177,50 \pm 10,41$ mmHg; tempo 50' = $167,50 \pm 23,63$ mmHg; tempo 70' = $72,50 \pm 10,41$; tempo 80' = $160,00 \pm 16,07$ mmHg; tempo 90' = $167,50 \pm 16,07$ mmHg (Figura 9), diferindo do grupo controle que apresenta visível taquifilaxia nas 3 curvas.

Quando comparado ao grupo controle, com a infusão de fenilefrina, as médias deste grupo (glibeprida + PHE), podem ser consideradas significativas estatisticamente, já que o pico máximo de pressão do grupo Krebs com a infusão de fenilefrina atingiu apenas $136,67 \pm 17,80$ mmHg, já o pico máximo atingido neste grupo foi de $177,50 \pm 10,41$ mmHg (tempo 20').

Figura 10. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e glibeprida (2µg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



Em relação aos valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário, não houve diferença estatística significativa, porém na análise da resistência vascular, ocorreu significativa diferença nos tempos de 20', 30', 50', 60', 80' e 90', quando comparados ao tempo 10', após a realização do teste t pareado.

Quadro 3. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e glimepirida (2 µg/mL)

Tempo (minutos)	Fluxo do Perfusato	Fluxo Urinário	Resistência Vascular
10	11,66 ± 0,66	0,07 ± 0,02	6,90 ± 0,73
20	11,32 ± 0,92	0,06 ± 0,01	15,32 ± 1,95*
30	11,73 ± 0,78	0,07 ± 0,02	15,28 ± 1,43*
40	11,81 ± 1,31	0,07 ± 0,01	6,25 ± 1,40
50	10,08 ± 1,26	0,06 ± 0,01	17,21 ± 2,58*
60	10,90 ± 1,32	0,07 ± 0,01	15,88 ± 1,97*
70	10,67 ± 1,17	0,07 ± 0,02	9,30 ± 2,75
80	10,79 ± 1,28	0,06 ± 0,01	15,65 ± 2,05*
90	10,75 ± 1,37	0,08 ± 0,02	16,67 ± 2,39*

Valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário referidos em média±erro padrão e expressos em unidades de ml/g/min. A resistência vascular referida em média±erro padrão e expressa em unidades de mmHg/mL.g⁻¹. Min⁻¹

*p<0,0001. Na análise da resistência vascular houve significativa diferença entre as médias nos tempos de 20', 30', 50', 60', 80' e 90' comparados ao tempo 10' (teste t pareado).

6.1.5. Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs-Henseleit e gliclasida (0,03mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)

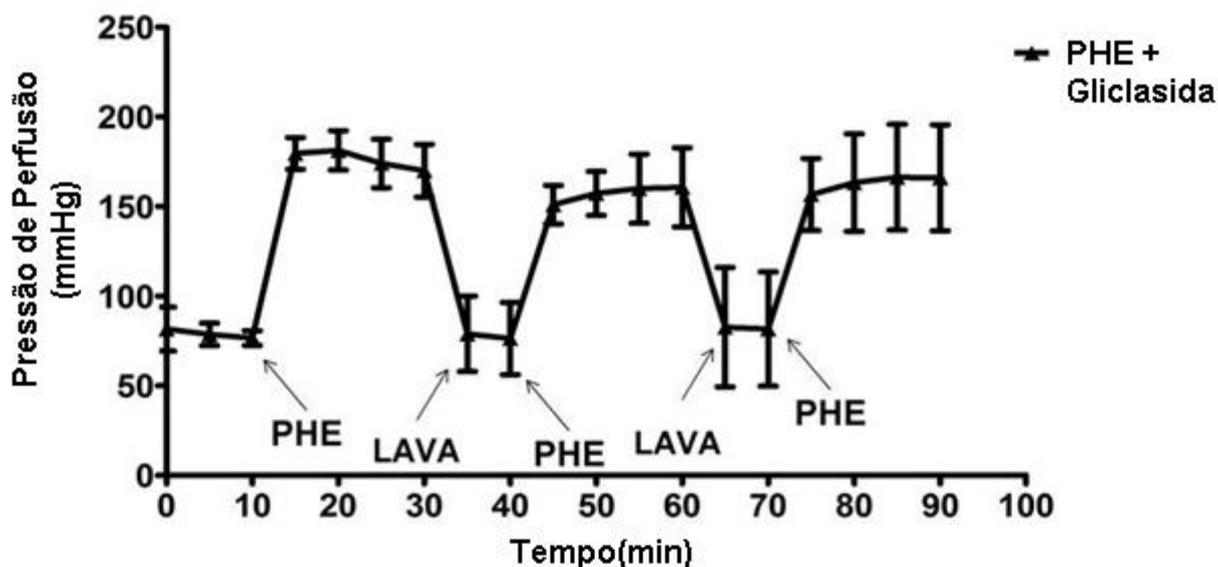
Neste grupo fez-se a adição de gliclasida à solução de Krebs, além da infusão da fenilefrina nos tempos determinados, de acordo com o protocolo de perfusão.

Após a primeira administração do agonista, houve um pico de pressão, a partir daí, nas infusões seguintes, os aumentos de pressão foram menores, mas significantes quando comparados ao primeiro. É possível observar a taquifilaxia ao compararmos a primeira curva com a segunda e com a terceira, já se compararmos a segunda curva com a terceira houve um aumento do pico de pressão, não demonstrando taquifilaxia: tempo 5'=78,67 ± 6,24mmHg; tempo 20'= 181,33 ± 10,96mmHg; tempo 50'=157,33 ± 12,25mmHg; tempo 70'= 81,67 ± 31,89; tempo 80'=163,33 ± 27,18; tempo 90'=166,00 ± 29,53mmHg (Figura 10).

Em relação ao grupo controle, com a infusão de fenilefrina, as médias deste grupo (gliclasida + PHE), podem ser consideradas significativas, já que o pico máximo

de pressão do grupo Krebs com a infusão de fenilefrina atingiu apenas $136,67 \pm 17,80$ mmHg, sendo o pico máximo deste grupo de $181,33 \pm 10,96$, no tempo 20'.

Figura 11. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e gliclasida (0,03 mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



Em relação aos valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário, não houve diferença estatística significativa, porém na análise da resistência vascular, ocorreu significativa diferença nos tempos de 20', 30', 50', 60', 80' e 90', quando comparados ao tempo 10', com $p < 0,05$.

Quadro 4. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e gliclasida (0,03mg/mL)

Tempo (minutos)	Fluxo do Perfusato	Fluxo Urinário	Resistência Vascular
10	$17,57 \pm 1,77$	$0,11 \pm 0,01$	$6,18 \pm 0,76$
20	$20,16 \pm 1,57$	$0,11 \pm 0,01$	$13,02 \pm 1,49^{**}$
30	$18,52 \pm 1,55$	$0,09 \pm 0,01$	$13,46 \pm 0,92^{**}$
40	$17,31 \pm 1,49$	$0,14 \pm 0,01$	$6,14 \pm 0,80$
50	$18,20 \pm 1,30$	$0,13 \pm 0,02$	$12,19 \pm 0,64^{**}$
60	$18,54 \pm 1,18$	$0,11 \pm 0,01$	$12,13 \pm 0,65^{**}$
70	$18,38 \pm 1,39$	$0,14 \pm 0,02$	$5,88 \pm 1,18$
80	$18,46 \pm 1,79$	$0,12 \pm 0,02$	$13,25 \pm 1,54^{**}$
90	$19,05 \pm 1,06$	$0,11 \pm 0,01$	$12,25 \pm 1,30^{**}$

Valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário referidos em média±erro padrão e expressos em unidades de mL/g/min. A resistência vascular referida em média±erro padrão e expressa em unidades de mmHg/mL.g⁻¹.min⁻¹

**p<0,05. Na análise da resistência vascular houve significativa diferença entre as médias nos tempos de 20', 30', 50', 60', 80' e 90' comparados ao tempo 10' (teste t pareado).

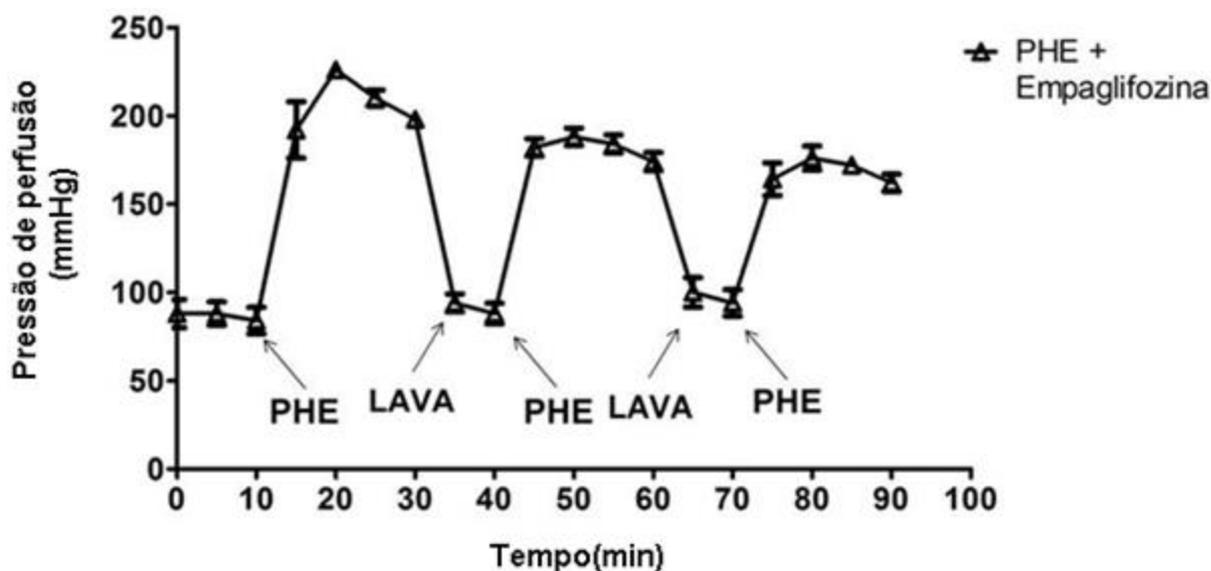
6.1.6. Grupo de rins perfundidos com infusão de solução de Krebs-Henseleit e empaglifozina (0,0125mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10µg/mL)

O último grupo foi perfundido com solução de Krebs com adição da empaglifozina em sua mistura, com a infusão de fenilefrina, de acordo com o protocolo.

Quando comparadas entre si, observamos que a primeira curva atinge a média de pressão de $215,00 \pm 14,14$ mmHg (tempo 20'), a segunda curva a média de $183,33 \pm 8,16$ mmHg (tempo 50') e a terceira curva a média de $175,00 \pm 2,36$ mmHg (tempo 80'). As curvas de pressão de perfusão foram decrescentes, fato este que fica ainda mais evidenciado quando comparamos os picos de pressão atingidos, onde é possível observar que ocorre uma taquifilaxia significativa.

Após a primeira infusão do agonista ocorre uma diferença que pôde ser observada desde o minuto 5 ($95,00 \pm 8,16$ mmHg) até o minuto 20 ($215,00 \pm 14,14$ mmHg). Na segunda infusão de fenilefrina, as pressões também variaram: tempo 50'= $183,33 \pm 8,16$ mmHg e tempo 70'= $98,33 \pm 8,50$ mmHg; na terceira infusão, os valores foram de $175,00 \pm 2,36$ mmHg (tempo de 80') e $160,00 \pm 6,24$ mmHg (tempo de 90'). Até a última infusão as médias de pressão foram também significantes, porém em valores absolutos menores, evidenciando o notório e proporcional efeito taquifilático (Figura 11).

Figura 12. Pressão de perfusão de rins de coelhos normais (n=6), perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e empaglifozina (0,0125 mg/mL), com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



Observou-se que não houve diferença estatística de nenhum dos parâmetros renais avaliados intragrupo no Quadro 5, porém quando analisamos a resistência vascular deste grupo é possível notar que os valores são consideravelmente maiores do que os do grupo controle com a infusão de fenilefrina, onde o valor máximo atingido foi no tempo 30' = $8,31 \pm 1,75 \text{ mmHg/mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$ e o grupo com empaglifozina mesmo quando comparada ao tempo 10' ($11,40 \pm 0,83 \text{ mmHg/mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$), onde ainda não houve infusão de fenilefrina, demonstra maior resistência vascular.

Quadro 5. Efeito da fenilefrina na perfusão de rins de coelhos normais, perfundidos com solução de Krebs-Henseleit e empaglifozina (0,0125 mg/mL)

Tempo (minutos)	Fluxo do Perfusato	Fluxo Urinário	Resistência Vascular
10	$11,40 \pm 0,83$	$0,06 \pm 0,01$	$11,40 \pm 0,83$
20	$12,19 \pm 1,29$	$0,06 \pm 0,01$	$12,19 \pm 1,29$
30	$11,58 \pm 1,27$	$0,06 \pm 0,008$	$11,58 \pm 1,27$
40	$11,32 \pm 1,23$	$0,07 \pm 0,009$	$11,32 \pm 1,23$
50	$12,45 \pm 1,19$	$0,08 \pm 0,01$	$12,45 \pm 1,19$
60	$12,01 \pm 0,87$	$0,08 \pm 0,008$	$12,01 \pm 0,87$
70	$11,87 \pm 1,26$	$0,12 \pm 0,02$	$11,87 \pm 1,26$
80	$11,91 \pm 1,24$	$0,10 \pm 0,01$	$11,91 \pm 1,24$
90	$12,27 \pm 0,94$	$0,10 \pm 0,01$	$12,27 \pm 0,94$

Valores de fluxo de perfusato e fluxo urinário referidos em média±erro padrão e expressos em unidades de ml/g/min. A resistência vascular referida em média±erro padrão e expressa em unidades de $\text{mmHg/mL.g}^{-1}.\text{min}^{-1}$

Não houve diferença estatística na avaliação dos parâmetros estudados.

6.2. Fluxo de perfusato renal

Como dito anteriormente, o fluxo de perfusato foi calculado dividindo-se o volume coletado durante a perfusão, pelo intervalo de tempo e pelo peso renal corrigido, isto é, mediante a subtração de água ganha durante a perfusão.

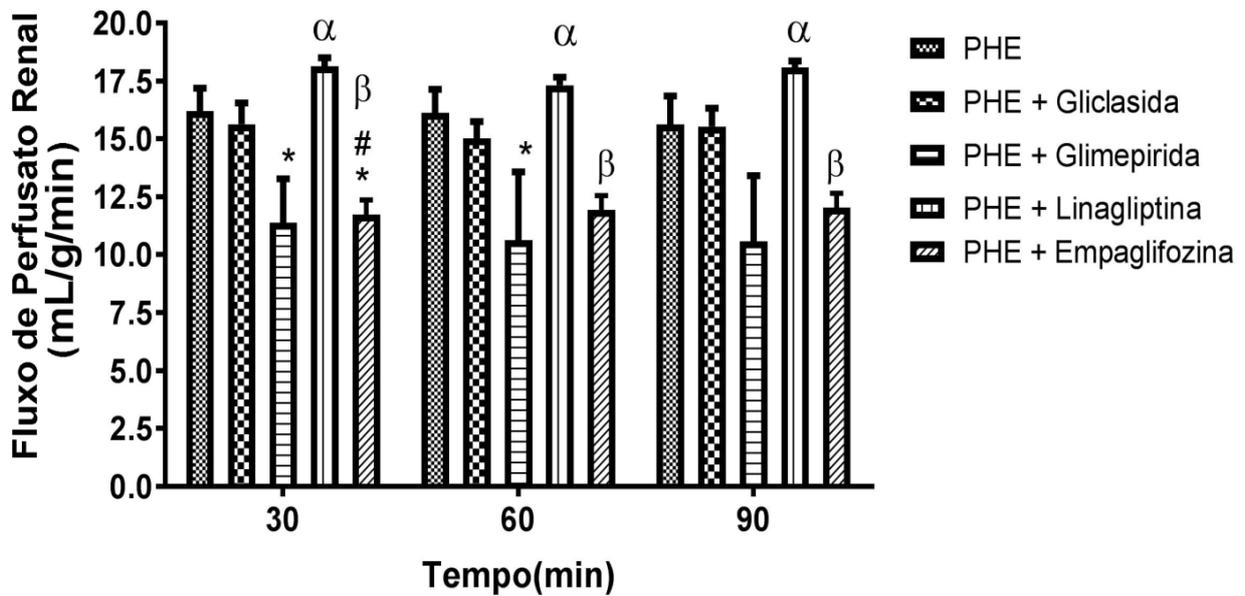
O grupo Krebs com a infusão de fenilefrina manteve um fluxo de perfusão estável, com uma variação não significativa, quando comparado nos tempos 30' ($16,19 \pm 0,99$ mL/g/min), 60' ($16,11 \pm 1,02$ mL/g/min) e 90' ($15,61 \pm 1,22$ mL/g/min), porém quando observamos seu desempenho em relação aos grupos onde foi adicionado glimepirida e a empaglifozina é possível constatar relevância estatística em sua resposta.

Quando o foco se torna o grupo perfundido com gliclasida, a resposta é similar a do grupo anterior, que continha apenas fenilefrina, se mostrando estatisticamente relevante quando comparado com aos grupos perfundidos com glimepirida e empaglifozina, grupos estes, que se encontram bem abaixo da média.

O grande destaque, no quesito fluxo de perfusão deve ser dado ao grupo Krebs com adição de linagliptina que foi o grupo que superou a média, em relação aos demais, mantendo uma resposta estável quando comparado entre si, nos tempos 30' ($18,13 \pm 0,36$ mL/g/min), 60' ($17,31 \pm 0,34$ mL/g/min) e 90' ($18,08 \pm 0,27$ mL/g/min).

Após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$, constatou-se que, a Figura 13 mostra que o grupo PHE + glimepirida ($2 \mu\text{g/mL}$), diminuíram significativamente o fluxo de perfusato renal, em relação ao grupo controle, nos tempos 30' e 60', já o grupo PHE + empaglifozina ($0,0125 \text{ mg/mL}$), apresentou essa diminuição estatisticamente significativa no tempo 30'. O grupo PHE + linagliptina ($0,005 \text{ mg/mL}$), demonstrou diferença significativa quando comparada ao grupo controle (PHE) e PHE + gliclasida ($0,03 \text{ mg/mL}$).

Figura 13. Fluxo de perfusato renal de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina ($10 \mu\text{g/mL}$)



* $p < 0,0001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,0001$ em relação ao grupo glimepirida, nos tempos 30' e 60' (teste ANOVA)

^α $p < 0,0001$ em relação ao grupo empaglifozina (teste ANOVA)

^β $p < 0,0001$ em relação aos grupos linagliptina (teste ANOVA)

6.3. Fluxo urinário

O fluxo de urina foi calculado, dividindo-se o volume coletado durante a perfusão, pelo intervalo de tempo e pelo peso do rim corrigido, como já citado.

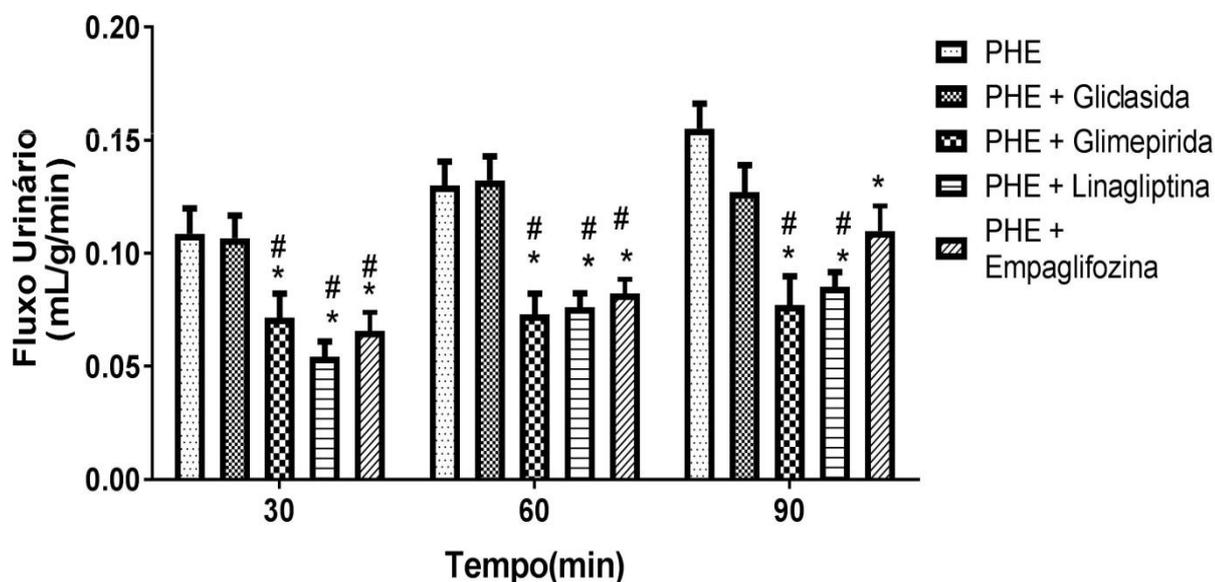
Em relação ao fluxo urinário nota-se que, quando se trata do grupo perfundido com Krebs e infusão de fenilefrina ocorre um aumento crescente, em relação ao tempo, aonde no tempo 30' o fluxo chega a 0,11 mL/g/min, chegando a mais de 0,15 mL/g/min no tempo 90', atingindo inclusive, o maior valor quando comparado aos outros grupos.

Os outros grupos seguem basicamente a mesma dinâmica, quanto ao aumento crescente do fluxo urinário, em relação ao tempo, mesmo que em menor escala.

Apenas o grupo perfundido com a gliclasida difere dos demais, demonstrando um aumento crescente quando comparamos o tempo 30' com o 60', porém quando analisamos o tempo 60' e o 90' é possível observar um decréscimo no fluxo.

Após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$, constatou-se que, a Figura 13 mostra que os grupos PHE + glimepirida (2 $\mu\text{g/mL}$), PHE + linagliptina (0,005 mg/mL) e PHE + empaglifozina (0,0125 mg/mL), diminuiram significativamente o fluxo urinário, em relação ao grupo controle (PHE), nos tempos 30', 60' e 90'.

Figura 14. Fluxo urinário de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



*p<0,0001 em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

#p<0,0001 em relação ao grupo empaglifozina no tempo 90' (teste ANOVA)

6.4. Resistência vascular

Conforme mencionado anteriormente, a resistência vascular foi calculada dividindo-se a pressão de perfusão média pelo fluxo de perfusato.

Em relação à resistência vascular o grupo que atingiu posição de destaque, em relação aos outros grupos, foi a gliclasida, atingindo o maior valor no tempo 90' (13,87 ± 1,43 mmHg/mL/min), após aumentar de forma crescente.

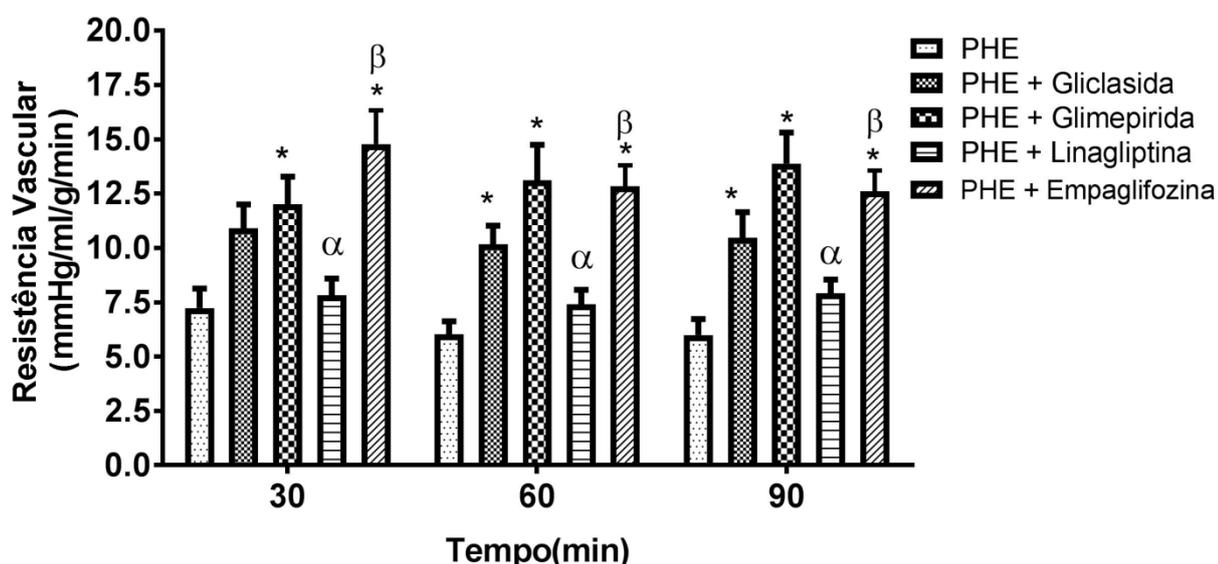
Os grupos controle com infusão de PHE e gliclasida demonstram um decréscimo estatisticamente irrelevante, quando observamos os tempos 60' (6,02 ± 0,6 mmHg/mL/min; 10,15 ± 0,86 mmHg/mL/min) e 90' (5,98 ± 0,73 mmHg/mL/min; 10,46 ± 1,17 mmHg/mL/min), em relação ao tempo 30' (7,23 ± 0,89 mmHg/mL/min; 10,89 ± 1,10 mmHg/mL/min).

Ao examinar o gráfico de resistência vascular renal dos grupos perfundidos com a empaglifozina e com a linagliptina, é possível notar que a resistência apresenta certa estabilidade, mantendo-se praticamente igual, com diferença estatística irrelevante, em relação ao tempo, porém quando se compara com linagliptina, a empaglifozina apresenta significância estatística.

A menor resistência foi alcançada pelo grupo perfundido apenas com Krebs e infusão de fenilefrina e a maior resistência foi atingida pelo grupo perfundido com Krebs com a adição de glimepirida e a infusão de fenilefrina.

Após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$, constatou-se que a, Figura 15 mostra que o grupo PHE + glimepirida (2 $\mu\text{g/mL}$), aumentou significativamente a resistência vascular, em relação ao grupo controle, nos tempos 30', 60' e 90', já o grupo PHE + gliclasida (0,03 mg/mL), aumentou a resistência vascular, em relação ao grupo controle, nos tempos 60' e 90'.

Figura 15. Resistência vascular renal de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 $\mu\text{g/mL}$)



* $p < 0,0001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

α $p < 0,0001$ em relação ao grupo glimepirida, nas 3 curvas e gliclasida nos tempo 60' e 90' (teste ANOVA)

β $p < 0,0001$ em relação ao grupo linagliptina (teste ANOVA)

6.5. Clearance osmolar (C_{osm})

Como mencionado, o clearance osmolar resulta do produto da relação da osmolaridade urinária (U_{osm}) pelo fluxo urinário (\dot{V}), dividido pela osmolaridade do perfusato (P_{osm}) e o seu resultado é dado em ml/g/min .

Quando se trata de clearance osmolar, o grupo controle, perfundido com fenilefrina demonstrou um aumento quando comparamos o tempo 30' ao tempo 90', porém não apresentou relevância estatística em relação aos demais.

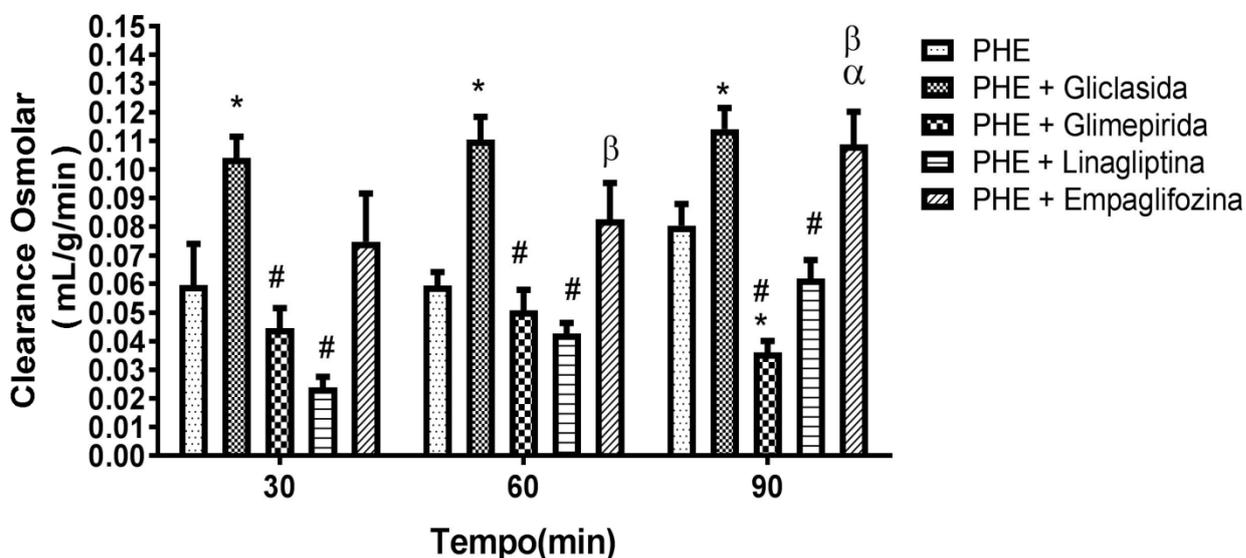
O grupo adicionado de gliclasida manteve uma tendência à estabilidade e demonstrou diferença estatística, quando comparado aos outros grupos, apresentando $p < 0,0001$. Destacou-se tendo atingido o maior valor de clearance osmolar, chegando a 0,114mL/g/min.

Ao observar o gráfico de Clearance osmolar é possível notar que os grupos perfundidos com glimepirida e linagliptina possuem diferença estatística, demonstrando um $p < 0,0001$. Além disso, verifica-se que há um decréscimo do clearance quando se compara o tempo 30' e o tempo 90', no grupo glimepirida. Porém quando se trata da linagliptina, ocorre o inverso, havendo um aumento no tempo 90' em relação ao tempo 30'.

Em relação à empaglifozina, houve um aumento crescente, onde nos tempos 60' e 90' este grupo passa a ter significância estatística.

Após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$, constatou-se que, a Figura 16 mostra que o grupo PHE + gliclasida (0,03 mg/mL), aumentou significativamente o Clearance osmolar, em relação ao grupo controle, nos tempos 30', 60' e 90'. Os grupos PHE + glimepirida (2 µg/mL) e PHE + Linagliptina (0,005 mg/mL) diminuíram o Clearance osmolar, em relação ao grupo PHE + gliclasida (0,03 mg/mL), nas 3 curvas.

Figura 16. Clearance osmolar de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



* $p < 0,0001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,0001$ em relação ao grupo gliclasida (teste ANOVA)

^a $p < 0,0001$ em relação aos grupos glimepirida e linagliptina, nas 3 curvas (teste ANOVA)

^β $p < 0,0001$ em relação ao grupo empaglifozina, no tempo 90' (teste ANOVA)

6.6. Clearance de água livre (C_{H_2O})

O Clearance de água livre foi calculado através da subtração do fluxo urinário (\dot{V}) pelo clearance osmolar (C_{osm}), como supracitado.

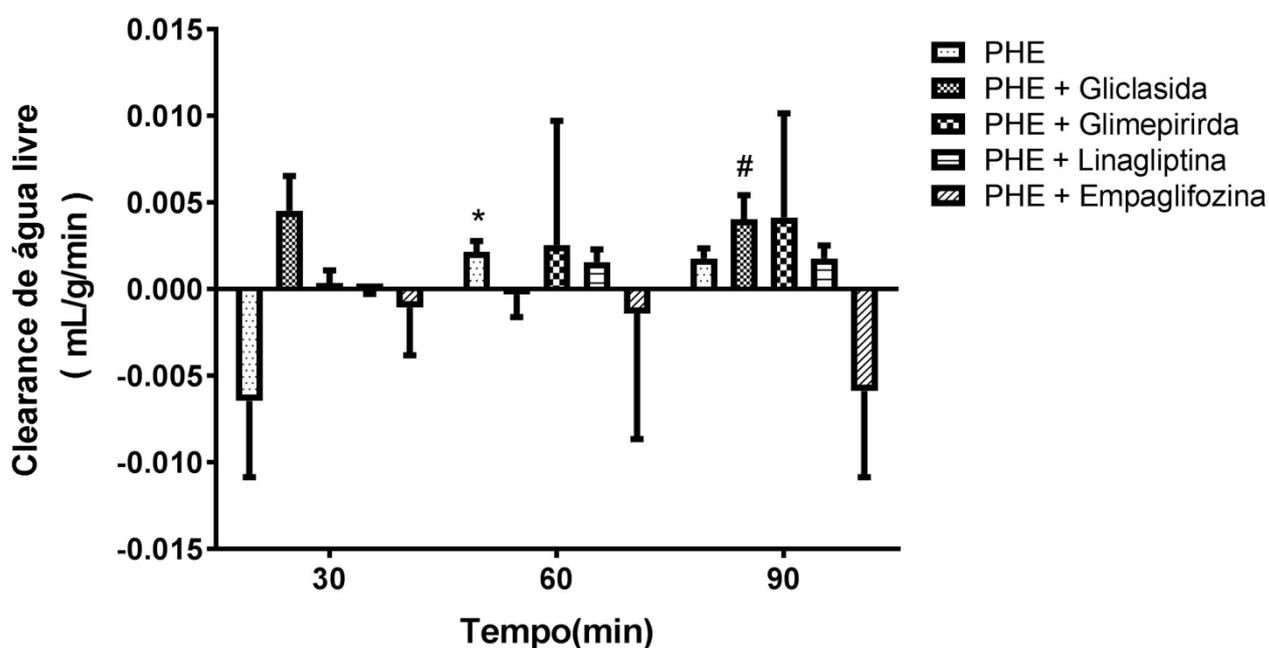
Ao analisar o gráfico em relação ao clearance de água livre, o grupo controle com infusão de PHE, demonstrou um aumento quando comparamos o tempo 30' (-0.0064 ± 0.004) aos tempos 60' (0.0021 ± 0.0006) e 90' (0.0017 ± 0.0005). Já no grupo perfundido com gliclasida, o tempo 30' (0.0045 ± 0.001) mostra-se maior do que os tempos 60' (-0.0003 ± 0.001) e 90' (0.004 ± 0.001).

Diferentemente do grupo controle, os grupos com a infusão de glimepirida e linagliptina demonstraram aumento do clearance de água livre em relação ao tempo, apresentando no tempo 30' (0.00035 ± 0.0007 ; -0.000035 ± 0.0002) valor inferior aos tempos 60' (0.0025 ± 0.007 ; 0.0015 ± 0.0007) e 90' (0.0041 ± 0.006 ; 0.0017 ± 0.0007).

O grupo perfundido com empaglifozina apresentou valores negativos no decorrer de todo o processo, além disso, é possível notar decréscimo dos valores do C_{H_2O} em relação ao tempo, onde no tempo 30' o valor é de -0.0010 ± 0.002 , alcançando o valor de -0.0058 ± 0.004 no tempo 90'.

Na análise intergrupo, após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$ é possível identificar que o grupo PHE, no tempo 60' apresentou um valor estatisticamente maior do que os grupos PHE + glimepirida ($2 \mu\text{g/mL}$), PHE + linagliptina ($0,005 \text{ mg/mL}$) e PHE + empaglifozina ($0,0125 \text{ mg/mL}$). Além disso, observa-se que o grupo PHE + gliclasida ($0,03 \text{ mg/mL}$) é estatisticamente significativo quando comparado ao grupo PHE.

Figura 17. Clearance de água livre (C_{H_2O}) de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina ($10 \mu\text{g/mL}$)



* $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE, nos tempos 30' e 60' (teste ANOVA)

$p < 0,001$ em relação ao grupo controle com adição de PHE (teste ANOVA)

6.7. Ritmo de Filtração Glomerular (RFG)

Como dito anteriormente, o ritmo de filtração glomerular foi calculado a partir das medidas das concentrações de creatinina plasmática (Pcr) e urinária (Ucr), que posteriormente foram usadas para calcular o clearance de creatinina como estimativa do RFG.

Quando se trata do ritmo de filtração glomerular, o grupo controle com infusão de PHE demonstrou um aumento quando comparamos o tempo 30' (0.049 ± 0.01 mL/g/min) aos tempos 60' (0.072 ± 0.02 mL/g/min) e 90' (0.092 ± 0.02 mL/g/min). Assim como no grupo controle com infusão de PHE, o grupo perfundido com gliclasida, também apresenta um aumento do RFG no decorrer do tempo, alcançando o valor de 0.13 ± 0.007 no tempo 90'.

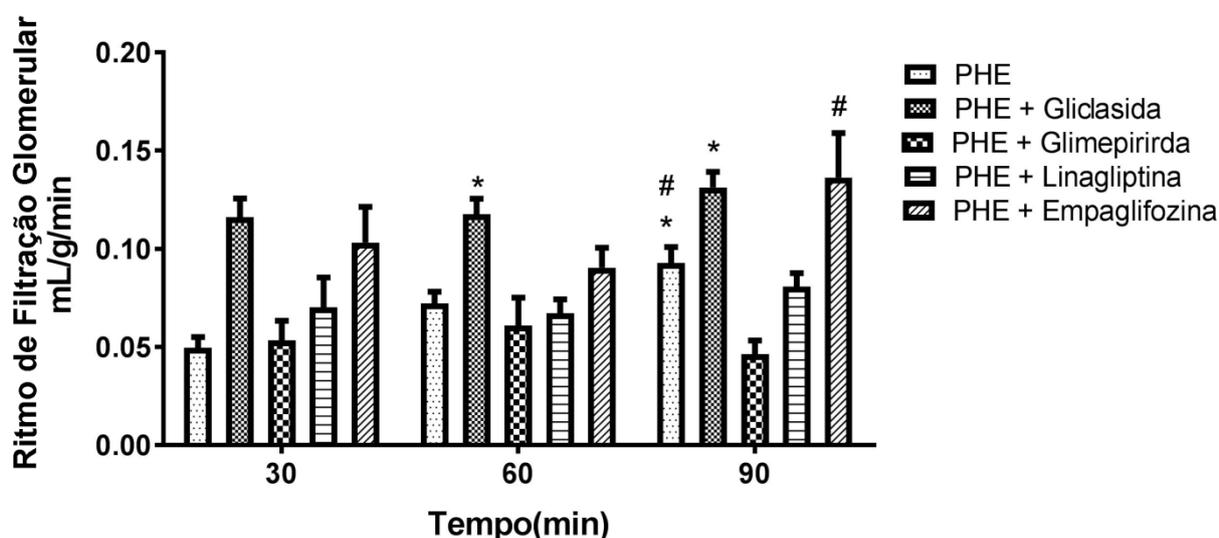
Diferentemente do grupo controle, o grupo com a infusão de glimpirida demonstrou um aumento do RFG quando comparamos o tempo 30' (0.053 ± 0.009 mL/g/min) ao tempo 60' (0.06 ± 0.01 mL/g/min), porém apresentou um decréscimo quando comparado ao tempo 90' (0.04 ± 0.006 mL/g/min).

Os grupos perfundidos com linagliptina e empaglifozina apresentaram uma diminuição ao comparar o tempo 30' (0.07 ± 0.01 mL/g/min; 0.10 ± 0.01 mL/g/min) com

o tempo 60' (0.06 ± 0.007 mL/g/min; 0.09 ± 0.01 mL/g/min), seguido de um aumento no tempo 90' (0.08 ± 0.007 mL/g/min; 0.13 ± 0.02 mL/g/min).

Na análise intergrupo, após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$ é possível identificar que os grupos PHE (tempo 90') e PHE + gliclasida (0,03 mg/mL), nos tempos 60' e 90' apresentam relevância estatística em relação aos grupos PHE + glimepirida (2 µg/mL), PHE + linagliptina (0,005 mg/mL).

Figura 18. Ritmo de filtração glomerular de coelhos de todos os grupos estudados, com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



* $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,001$ em relação ao grupo gliclasida (teste ANOVA)

6.8. Sódio Filtrado (FNa^+)

O sódio filtrado (ENa^+) foi calculado a partir do produto do RFG e da concentração de sódio no perfusato (PNa^+).

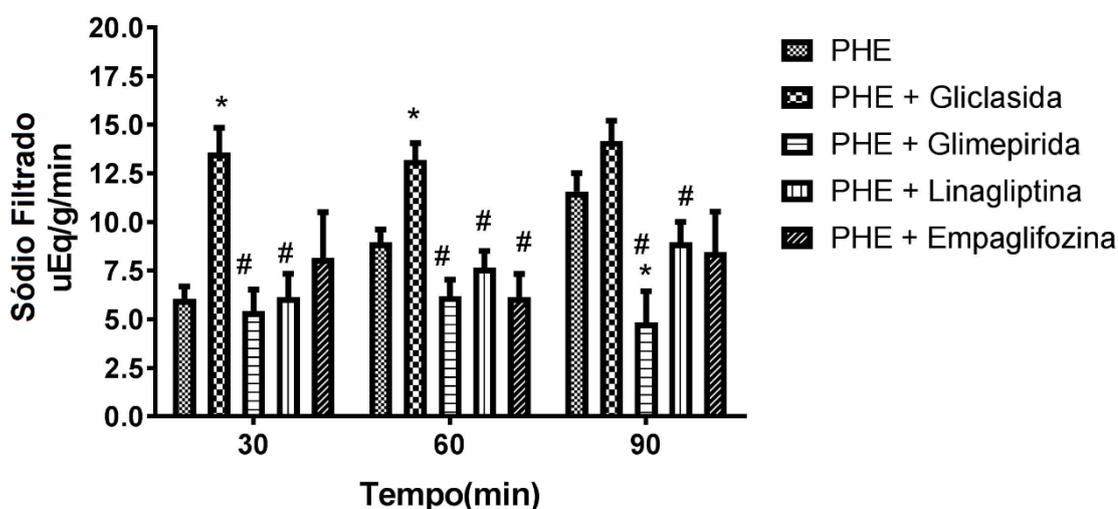
Ao analisar os dados é possível constatar que o grupo PHE demonstra uma elevação da filtração de sódio ao longo do experimento quando comparamos os tempos 30' ($6,04 \pm 0,64$ uEq/g/min), 60' ($8,94 \pm 0,67$ uEq/g/min) e 90' ($11,56 \pm 0,94$ uEq/g/min).

Os demais grupos não apresentaram diferença estatística relevante na análise intragrupo.

Quando se trata da análise intergrupo, a gliclasida demonstrou valores de sódio filtrado maiores e estatisticamente relevantes, em relação ao grupo controle, nos tempos 30' ($13,56 \pm 1,27$ uEq/g/min) e 60' ($13,18 \pm 0,86$ uEq/g/min), além disso foi o único que apresentou valor maior que os outros grupos

Em relação aos grupos glimepirida e linagliptina, os valores de filtração são estatisticamente menores do que o grupo controle nos tempos 30' ($5,41 \pm 1,10$ uEq/g/min; $6,13 \pm 1,19$ uEq/g/min), 60' ($6,20 \pm 0,84$ uEq/g/min; $7,63 \pm 0,87$ uEq/g/min) e 90' ($4,83 \pm 1,61$ uEq/g/min; $8,96 \pm 1,04$ uEq/g/min), já o grupo com adição de empaglifozina demonstra relevância estatística apenas no tempo 60' ($6,13 \pm 1,18$ uEq/g/min), com valor menor do que o grupo controle.

Figura 19. Sódio filtrado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



* $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,001$ em relação ao grupo gliclasida (teste ANOVA)

6.9. Sódio Transportado (TNa⁺)

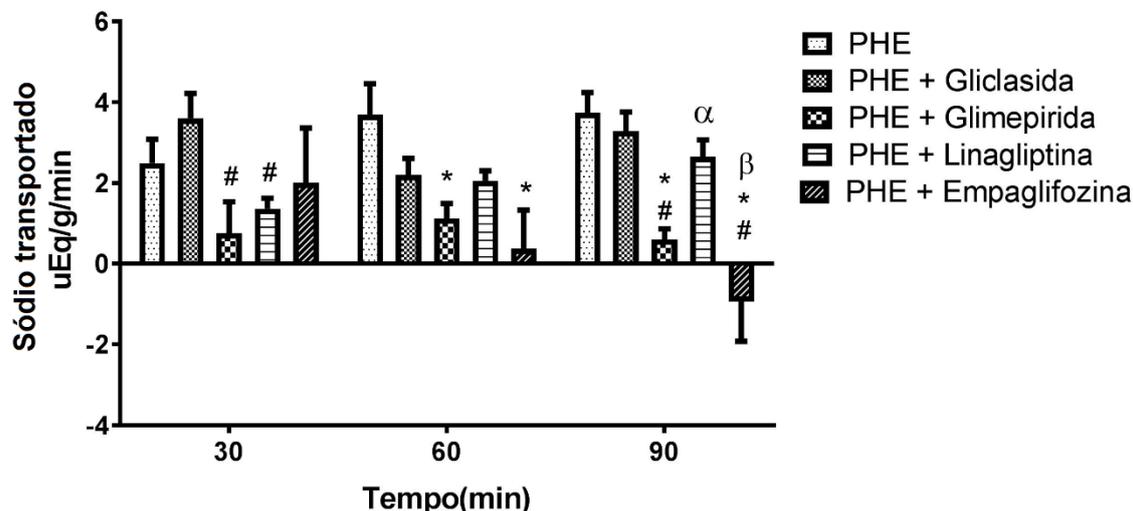
Como dito anteriormente, o sódio transportado foi obtido da diferença entre o sódio filtrado (FNa⁺) e o sódio excretado (ENa⁺).

Os grupos linagliptina e empaglifozina foram os únicos capazes de demonstrar valores de transporte de sódio estatisticamente significativos, em relação a análise intragrupo. Todavia, enquanto o primeiro demonstra um crescimento da taxa de sódio transportado ao longo do tempo (30': $1,36 \pm 0,26$ uEq/g/min, 60': $2,05 \pm 0,25$ uEq/g/min; e 90': $2,64 \pm 0,41$ uEq/g/min), o segundo apresenta um decréscimo (30': $2,00 \pm 1,35$ uEq/g/min; 60': $0,37 \pm 0,96$ uEq/g/min e 90': $-0,93 \pm 0,97$ uEq/g/min).

Na análise intergrupo, após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$ é possível identificar que nenhum dos grupos foi capaz de superar o transporte de sódio realizado

pelo grupo controle com adição de PHE. Além disso, o grupo empaglifozina apresentou valores negativos em relação a este parâmetro, no tempo 90' ($-0,93 \pm 0,97$ uEq/g/min).

Figura 20. Sódio transportado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



* $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,001$ em relação aos grupos glimepirida e empaglifozina, no tempo 60' (teste ANOVA)

^α $p < 0,001$ em relação aos grupos glimepirida e linagliptina no tempo 30' (teste ANOVA)

^β $p < 0,001$ em relação ao grupo linagliptina no tempo 60' (teste ANOVA)

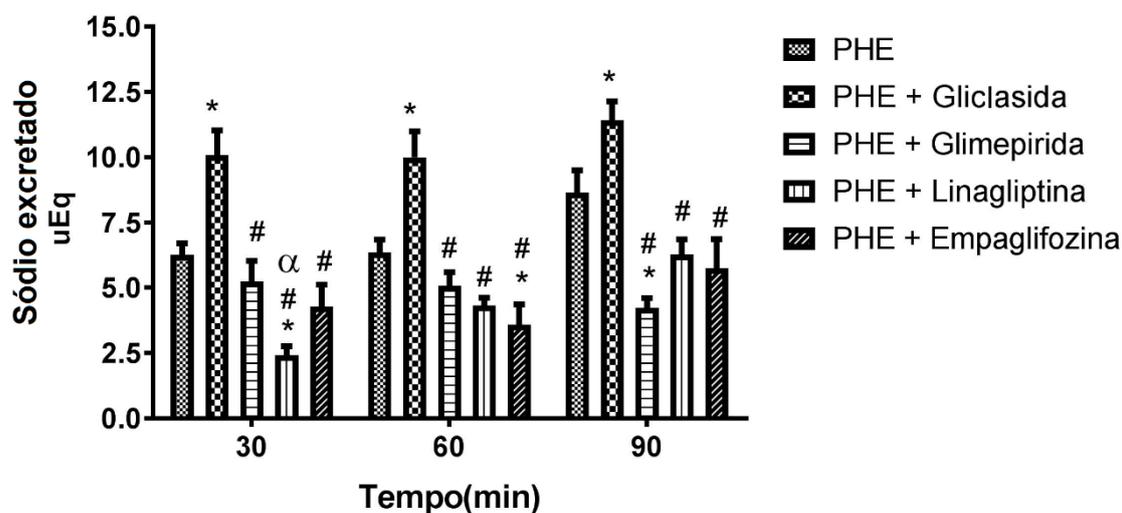
6.10. Sódio Excretado (ENa⁺)

O sódio excretado foi calculado a partir do produto do fluxo urinário (\dot{V}) pela concentração de sódio na urina (UNa⁺).

Ao realizar a análise intragrupo, foi possível constatar que o grupo controle com adição de PHE apresentou um aumento na excreção do sódio, de acordo com a evolução do experimento (30': $6,25 \pm 0,44$ uEq; 60': $6,35 \pm 0,48$ uEq e 90': $8,65 \pm 0,84$ uEq). O único grupo que apresentou resposta semelhante ao grupo controle, em relação a este parâmetro, foi o grupo linagliptina (30': $2,43 \pm 0,33$ uEq; 60': $4,31 \pm 0,29$ uEq e 90': $6,27 \pm 0,58$ uEq)

Quando se trata da análise intergrupo, após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$, o grupo gliclasida foi o único capaz de superar a resposta do grupo controle com adição de PHE, ao longo de todo o experimento (30': $10,07 \pm 0,93$ uEq; 60': $9,99 \pm 0,99$ uEq e 90': $11,41 \pm 0,72$ uEq).

Figura 21. Sódio excretado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



*p<0,001 em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

#p<0,001 em relação ao grupo gliclasida (teste ANOVA)

^ap<0,001 em relação aos grupos glimepirida e empaglifozina (teste ANOVA)

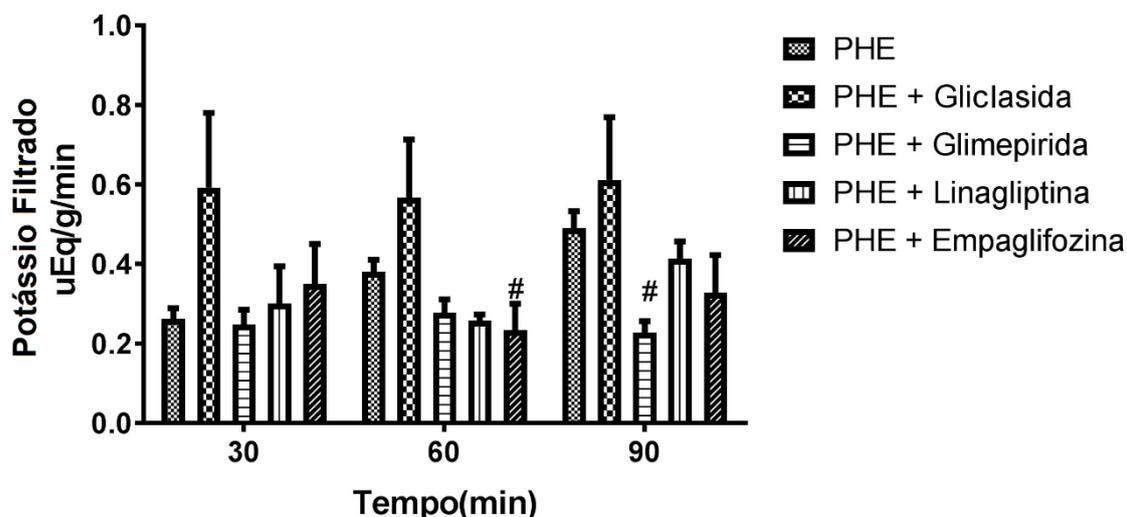
6.11. Potássio Filtrado (FK⁺)

O potássio filtrado (EK⁺) foi calculado a partir do produto do RFG e da concentração de potássio no perfusato (PK⁺).

Quando se trata do potássio filtrado, o grupo controle com infusão de PHE demonstrou um aumento relevante estatisticamente, na análise intragrupo, quando comparamos o tempo 30' (0,26 ± 0,02 uEq/g/min), aos tempos 60' (0,38 ± 0,03 uEq/g/min) e 90' (0,49 ± 0,04 uEq/g/min).

Na análise intergrupo nenhum dos experimentos obteve uma quantidade de potássio filtrado que fosse de relevância estatística, em relação ao grupo controle com infusão de PHE.

Figura 22. Potássio filtrado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



#p<0,001 em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

6.12. Potássio Transportado (TK⁺)

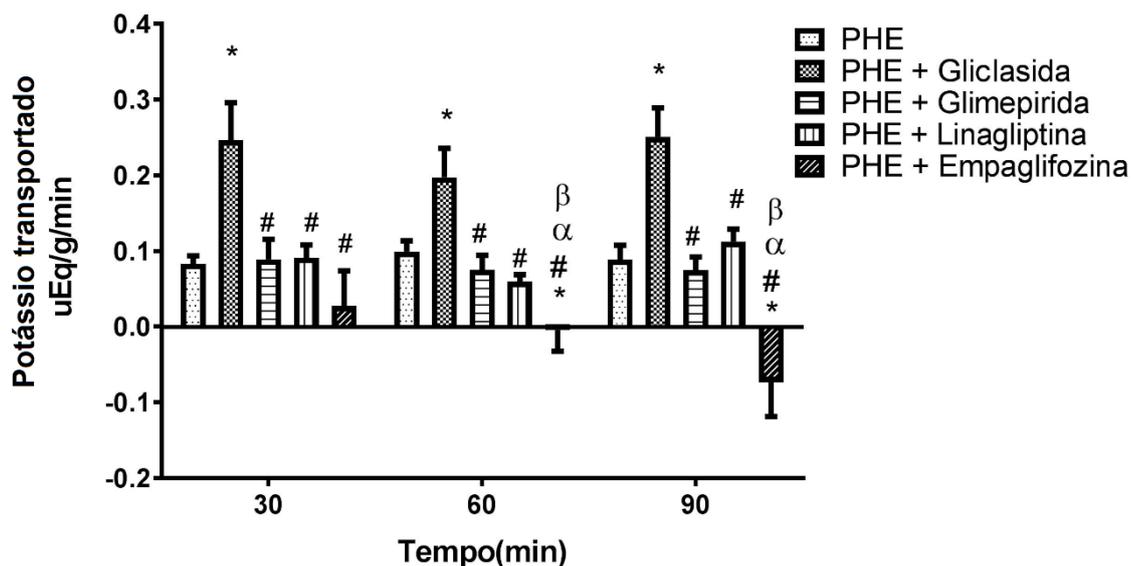
Como dito anteriormente, o potássio transportado foi obtido da diferença entre o potássio filtrado (FK⁺) e o potássio excretado (EK⁺).

Ao realizar a análise intragrupo, foi possível constatar que o grupo controle com adição de PHE apresentou um aumento no transporte de sódio, de acordo com a evolução do experimento, quando comparamos o tempo 30' ($0,08 \pm 0,01$ uEq/g/min), aos tempos 60' ($0,09 \pm 0,01$ uEq/g/min) e 90' ($0,08 \pm 0,01$ uEq/g/min).

Em relação a análise intergrupo, após a realização do ANOVA, onde o $p < 0,0001$ constatamos que o grupo gliclasida foi o único capaz de superar a resposta do grupo controle com adição de PHE ao longo do experimento, quando comparamos o tempo 30' ($0,24 \pm 0,04$ uEq/g/min), aos tempos 60' ($0,19 \pm 0,03$ uEq/g/min) e 90' ($0,25 \pm 0,03$ uEq/g/min).

De acordo com a Figura 23, é possível ainda visualizar que o grupo empaglifozina mostra valores negativos nos tempos 60' ($-0,004 \pm 0,02$ uEq/g/min) e 90' ($-0,07 \pm 0,04$ uEq/g/min), em relação a este parâmetro.

Figura 23. Potássio transportado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina (10 µg/mL)



* $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,001$ em relação ao grupo gliclasida (teste ANOVA)

^α $p < 0,001$ em relação aos grupos glimepirida e linagliptina (teste ANOVA)

^β $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

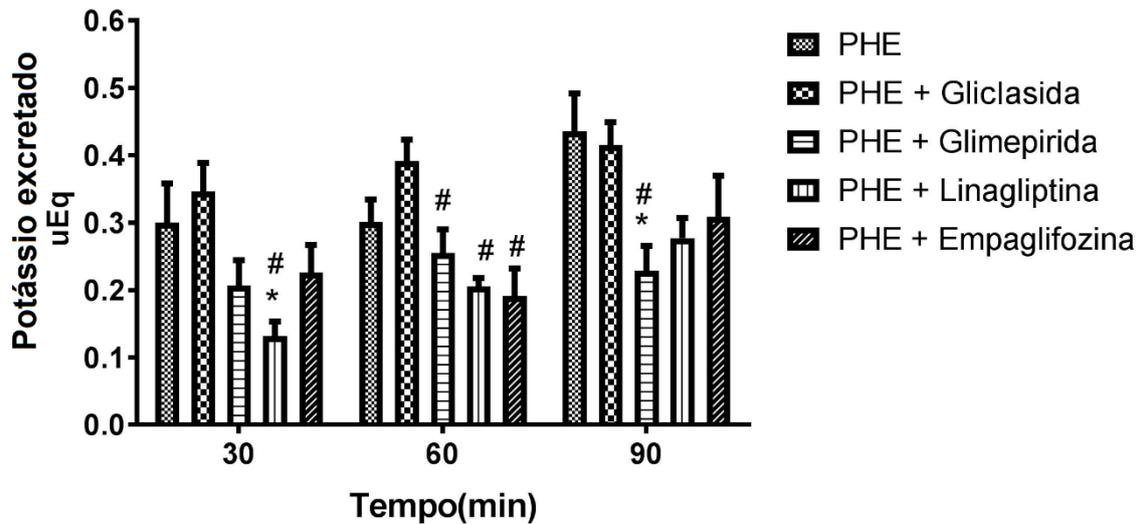
6.13. Potássio Excretado (EK^+)

O potássio excretado foi calculado a partir do produto do fluxo urinário (\dot{V}) pela concentração de potássio na urina (UK^+).

Na análise intragrupo, o grupo controle com adição de PHE e o grupo linagliptina mantiveram um padrão de aumento da excreção de sódio ao longo do experimento, quando comparamos os tempos 30' ($0,30 \pm 0,05$ uEq; $0,13 \pm 0,02$ uEq), 60' ($0,30 \pm 0,03$ uEq; $0,30 \pm 0,01$ uEq/g/min) e 90' ($0,26 \pm 0,02$ uEq; $0,27 \pm 0,02$ uEq/g/min).

Quando se trata da análise intergrupo, nenhum dos grupos apresentou valores estatisticamente relevantes que fossem capazes de superar a excreção de sódio realizada pelo grupo controle com adição de PHE.

Figura 24. Potássio excretado de coelhos de todos os grupos estudados com a infusão de fenilefrina ($10 \mu\text{g/mL}$)



* $p < 0,001$ em relação ao grupo controle com infusão de PHE (teste ANOVA)

$p < 0,001$ em relação aos grupos gliclasida e gliclasida (teste ANOVA)

6.14. Escape Vascular (EV)

Após a conclusão de todos os grupos experimentais, foram feitos os cálculos dos escapes vasculares, considerando-se como grupo controle os rins perfundidos com solução de Krebs-Henseleit, de três curvas com a infusão de fenilefrina (PHE).

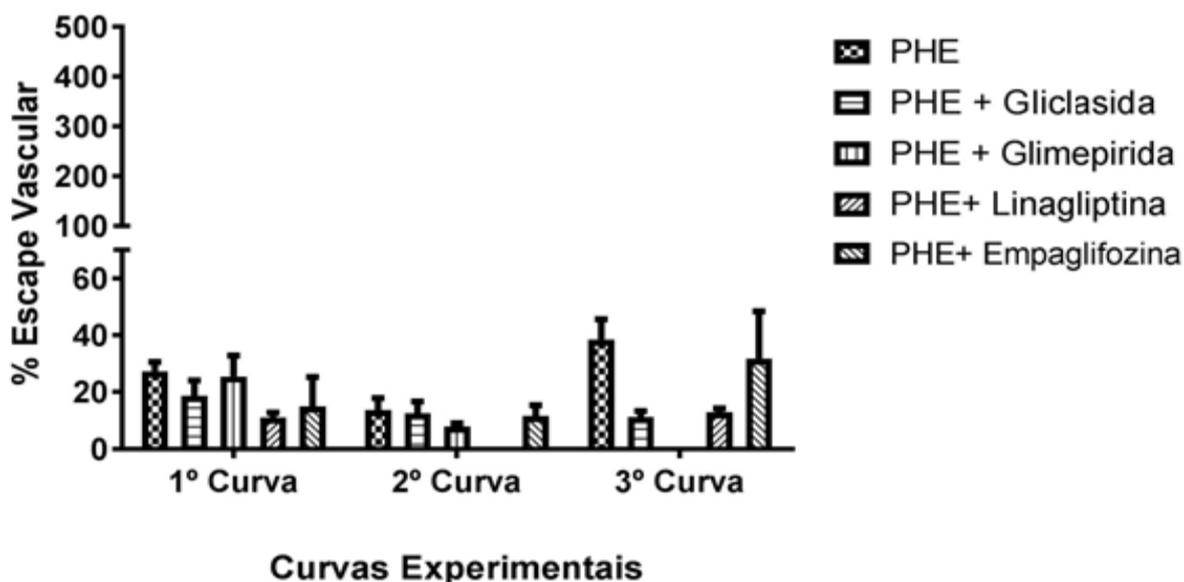
No grupo controle, houve um decréscimo do escape vascular quando comparamos C1 (27,33%) e C2 (13,68%), porém houve um aumento ao comparar as duas primeiras curvas com C3 (38,52%). Já no grupo com gliclasida e gliclasida, as três curvas sofrem um decréscimo.

Em relação ao grupo perfundido com linagliptina, sofre um decréscimo quando comparamos C1 (11,00%) e C2, neste último não existe curva, porém ela volta a aumentar em C3 (12,91%).

Ao analisar o grupo perfundido com empaglifozina, é possível observar um decréscimo de C2, em relação a C1, entretanto em C3 a curva volta a aumentar.

Na análise intergrupo os dados não foram estatisticamente relevantes, não apresentando diferença estatística na avaliação do escape vascular.

Figura 25. Comparativo entre os escapes vasculares dos grupos de rins perfundidos com Krebs Henseleit com infusão de fenilefrina e KH com adição de antidiabéticos orais e infusão de fenilefrina (10 $\mu\text{g/mL}$)



Não houve diferença estatística na avaliação dos parâmetros estudados.

7. DISCUSSÃO

O presente trabalho se deteve a estudar alguns aspectos da dinâmica renovascular, explorando respostas de agentes hipoglicemiantes orais utilizados clinicamente no controle de alterações glicêmicas da Diabetes Mellitus e como eles reagem no tocante à reatividade α -adrenérgica, em animais normoglicêmicos, em um modelo de rim isolado e perfundido de coelho.

Um grupo com solução perfusora (Krebs-Henseleit), sem a presença de fenilefrina, foi utilizado para dar início à experimentação, com o intuito de verificar os efeitos da ausência de PHE nos parâmetros da função renal do coelho, para se prospectar curvas de dose-resposta, permitindo a posterior comparação com os grupos com a infusão de PHE e as alterações causadas nos níveis pressóricos renais, após sua adição (FONTELES & FORTI, 1993).

Como esperado, o grupo controle sem a infusão de PHE, não apresentou alterações pressóricas significativas, além de não ser possível a visualização de taquifilaxia e escape renovascular, já que tais efeitos dependem da presença de uma substância vasoconstritora, de maneira constante. Essas respostas musculares (efeito taquifilático e escape renovascular) tem o intuito de preservar o leito do vaso e mantê-lo protegido de súbitas variações de tonicidade (FONTELES & FERREIRA, 1994; D'ALMEIDA, 1992; MENEZES, 2017).

Após a realização da curva dose resposta sem a utilização de PHE, foi realizada a administração de $10\mu\text{M}$ de fenilefrina que produziu uma nova resposta contrátil e com

uma clara atividade no escape renovascular e na taquifilaxia, segundo mostrados nas figuras 8 e 17 em experimentos controles, utilizando protocolos com três curvas de infusão de PHE.

O efeito taquifilático e o escape renovascular já eram eventos esperados, quando se deu a adição de uma substância α -adrenérgica, por serem fenômenos de natureza vasoativa e compensatória, além de possuírem uma importância fisiológica significativa como mecanismo de proteção vascular às variações súbitas de tonicidade arterial (FERREIRA & FONTELES, 1989).

Em relação à pressão de perfusão todos os grupos apresentaram pico pressórico superior ao grupo controle com adição de PHE, comprovando a interferência dos antidiabéticos orais nos níveis pressóricos do sistema de perfusão renal. Todavia, apenas o grupo com adição de empaglifozina foi capaz de demonstrar a presença do efeito taquifilático, semelhante ao apresentado pelo grupo controle com infusão de PHE, exibindo uma queda dos valores pressóricos máximos ao longo de todo o experimento, como observado na Figura 12.

Os demais grupos de hipoglicemiantes orais apresentaram um decréscimo da média de pressão de perfusão apenas ao comparar a primeira curva de infusão de PHE (tempo 30') à segunda (tempo 60'), porém quando comparada à terceira (tempo 90') esse decréscimo não se manteve, como demonstrado nas figuras 9, 10 e 11, com isso é possível afirmar que houve efeito taquifilático entre a primeira e a segunda curva, porém ocorreu uma compensação e adaptação vascular entre a segunda e a terceira curva, onde a taquifilaxia não ocorre.

O sistema aberto foi utilizado para a execução da perfusão renal, com o intuito de facilitar a medição do escape renovascular, tal sistema foi estabelecido em 1977, sendo utilizado para a realização da perfusão de rins isolados de coelhos, após algumas modificações (COSTA – E – FORTI & FONTELES, 1977; 1979).

O fenômeno de escape vascular autorregulatório tem sido descrito em vários leitos vasculares onde a estimulação elétrica de nervos simpáticos ou infusão de uma substância α adrenérgica resulta num decréscimo inicial do fluxo sanguíneo que tende a ser revertido, caso a infusão continue por vários minutos. Ainda que muitos estudos tenham sido realizados em respostas autônomas, em apenas um foi reportado o escape autorregulatório (HANSON, 1972).

É válido ressaltar que o escape difere da autorregulação, pois a segunda é limitada pela pressão, enquanto a distribuição do escape varia com a dose testada e ocorre em qualquer variação de altas pressões de perfusão (RICHARDSON & JOHNSON, 1969).

Ainda que durante a comparação estatística intergrupo não haja uma diferença significativa, em relação ao escape vascular, a gliclasida e a empaglifozina, assim como o grupo controle com adição de fenilefrina apresentaram EV nas 3 curvas, sendo o grupo com adição de empaglifozina aquele que atingiu o maior escape, depois do grupo controle (PHE). Além disso, a linagliptina deixou de apresentar escape na segunda curva, porém este reapareceu na terceira curva; já a empaglifozina, por sua vez, mostrou-se com o maior grau de EV na terceira curva, o que nos leva a supor que haja uma potencialização deste evento graças à liberação de outros fatores endoteliais.

Quando se fala de fluxo de perfusato renal, a gliclasida demonstrou uma resposta semelhante ao grupo controle com adição de PHE, ao observar a glimepirida e a empaglifozina nota-se que os valores são estatisticamente menores do que o grupo controle, já a linagliptina foi a única a apresentar uma resposta maior do que o grupo controle como apresentado na figura 13.

A linagliptina é um hipoglicemiante oral que tem como foco inibir a ação da enzima dipeptil peptidase (DPP), tal enzima tem como função degradar os hormônios GIP e GLP-1, porém com sua ação inibida os índices dessas substâncias se manterão aumentados por mais tempo, elevando desta forma o tempo de meia vida desses hormônios (BAGGIO & DRUCKER, 2004).

Estudos anteriores, que utilizaram a infusão direta de GLP-1 demonstraram que seu receptor GLP1-R é expresso na vasculatura renal, por conta disso alterações hemodinâmicas renais ocorreram, como o aumento do fluxo plasmático e do ritmo de filtração glomerular, estes efeitos acontecem devido a sua ação vasodilatadora sobre a vasculatura renal, fato este que independe do endotélio, já que a remoção das células endoteliais, quando realizada, não bloqueia o relaxamento (FARAH, 2015; JENSEN et al., 2014).

Diferentemente do que foi exposto anteriormente em pesquisas que utilizaram a infusão direta de incretina, neste estudo foi utilizado apenas um inibidor da enzima que tem como função degradar esses hormônios, aumentando o tempo de ação dessas substâncias no leito vascular, o que não se mostrou eficiente o bastante para exercer influência na resposta do ritmo de filtração glomerular, que deveria ter apresentado um

aumento estatisticamente significativo em relação ao grupo controle. Tal resposta deve estar atrelada ao fato de que o sistema renal não é o mais importante para a degradação inicial da GIP e GLP-1 (MEIER et. al., 2004)

Em contrapartida, o grupo com adição de gliclasida foi o único grupo capaz de superar os resultados apresentados pelo grupo controle com infusão de PHE nos tempo 30', 60' e 90', em relação ao RFG, enquanto que a empaglifozina apresentou valores significativamente maiores do que o grupo controle apenas na última curva (tempo 90').

As sulfoniluréias (gliclasida e glimepirida) utilizadas neste estudo são substâncias que quando incubadas em banhos de vidro, ocasionam um aumento substancial na sensibilização do receptor α -adrenérgico nos vasos renais de rins de coelho perfundidos. Todavia, surge o questionamento do porquê isso ocorre e se essa sensibilização está ou não relacionada com um mecanismo de "upregulation" dos receptores, já que a fenilefrina não apresenta fenômenos de maior ou menor captação neuronal pós ou pré-sináptica (MENEZES, 2017).

Além do ritmo de filtração glomerular, a gliclasida demonstrou ainda relevância significativa em relação ao clearance osmolar e ao clearance de água livre.

Quando se trata de C_{osm} , a empaglifozina apresentou valor superior ao grupo controle com adição de PHE, porém este resultado foi considerado estatisticamente relevante apenas na última curva (tempo 90'), enquanto os demais hipoglicemiantes (glimepirida e linagliptina) apresentaram valores significativamente menores do que aqueles do grupo controle, em todos os tempos (30', 60' e 90').

Já em relação ao fluxo urinário (figura 14), nenhum dos grupos foi capaz de superar de forma estatisticamente significativa os valores do grupo controle com adição de PHE, porém o hipoglicemiante oral que apresentou melhor resposta em relação a este parâmetro foi a gliclasida que se manteve estável durante todo o procedimento de perfusão, além de ter sido a droga que apresentou o maior valor de \dot{V} .

No que concerne à resistência vascular e outros parâmetros fisiológicos renais, o bloqueio parcial exercido pelo tratamento com indometacina (inibidor não seletivo da ciclooxigenase) mostrou que as prostaglandinas poderiam ter sido mediadores importantes dos efeitos renais (CHENG & HARRIS, 2004; SIMONSON, DUNN, 1991).

Todos os grupos de hipoglicemiantes orais demonstraram valor de resistência vascular maior do que a do grupo controle com adição de PHE, como apresentado na

figura 15, sendo os de maiores resistências os grupos empaglifozina no tempo 30' e glimepirida nos tempos 60' e 90', estando este resultado atrelado aos valores da pressão de perfusão e ao fluxo do perfusato, devido à fórmula utilizada para a realização do cálculo desta medida.

8. CONCLUSÃO

O presente estudo demonstrou que em relação à pressão de perfusão o efeito dos antidiabéticos orais ocasionou picos pressóricos maiores e estatisticamente significativos quando comparados à ação de uma substância α adrenérgica isolada, sem adição dessas drogas, o que mostra que a presença dessas substâncias afeta os níveis pressóricos de perfusão renal.

Em relação ao escape renovascular, os hipoglicemiantes não apresentaram relevância estatística quando comparado ao grupo controle, entretanto quando se trata da presença de efeito taquifilático o grupo com adição de empaglifozina teve resultado semelhante ao grupo controle com infusão de PHE, demonstrando este efeito, porém com curvas pressóricas maiores.

A linagliptina apresentou um valor de fluxo de perfusato superior ao do grupo controle com adição de PHE, assim como, todos os grupos foram capazes de demonstrar valor de resistência vascular maior do que a do grupo controle, comprovando a influência dessas substâncias neste parâmetro fisiológico.

Na presença da gliclasida o clearance osmolar, o clearance de água livre e o ritmo de filtração glomerular demonstraram maior resposta quando comparada ao grupo controle.

Com tudo o que foi exposto, é possível constatar que existe forte interação fisiofarmacológica dos antidiabéticos orais infundidos em rins isolados de coelhos normais, todavia, estudos complementares se fazem necessários para confirmação e complemento desses achados.

REFERÊNCIAS

- AGRAWAL YP, AGRAWAL MY, GUPTA AK. Emerging Molecular targets for the treatment and management of Diabetes Mellitus- A Review. International Journal of Pharmaceutical Sciences. 2013:2000-15.
- AHREN B. Vildagliptin: an inhibitor of dipeptidyl peptidase-4 with antidiabetic properties. Expert Opin Investig Drugs. 2006;15(4):431-42.

ALLEN B.T., FEINGLOS M.N., LEOVITZ H.E. Treatment of Poorly Regulated Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus with Combination Insulin-Sulfonylurea. Arch. Intern Med., 1985, vol. 145, 1900-1903.

ASMAL A. C., MARBLE A. Oral Hypoglycemic Agents. Drugs, 1984, vol. 28, 62.

BAGGIO LL, DRUCKER DJ. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. Gastroenterology 2007; 132:2131-2157

BAGGIO LL, DRUCKER DJ. Glucagon like peptide-1 and glucagon-like peptide-2. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2004; 18(4): 531-34

BAHIA LR, ARAUJO DV, SCHAAN BD, DIB SA, NEGRATO CA, LEÃO MP ET AL. The costs of type 2 diabetes mellitus outpatient care in the Brazilian public health system. Value Health. 2011;14(5 Suppl 1):S137-40.

BARNES, P.J. Beta-adrenoceptors on smooth muscle, nerves and inflammatory cells. Life Sci. 1993. ;52(26):2101-9.

BAYLISS, W. M., STARLING E. H. The mechanism of pancreatic secretion J Physiol. 1902; 28(5):325–353.

BEAGLEY J, GUARIGUATA L, WEIL C, MOTALA AA. Global estimates of undiagnosed diabetes in adults. Diabetes Res Clin Pract. 2014;103(2):150-60.

BEETY JM, MORGAN LM, WRIGHT JW, HOWLAND R, MARKS V. Attenuated GLP-1 secretion in obesity: cause or consequence? Ranganath LR, Gut. 1996; 38 (6):916–919.

BEREZIN, A. Metabolic memory phenomenon in diabetes mellitus: Achieving and perspectives. Diabetes Metab. Syndr., 2016. Apr-Jun;10(2 Suppl 1):S176-83.

BERGMAN AJ, COTE J, YI B, MARBURY T, SWAN SK, SMITH W, et al. Effect of renal insufficiency on the pharmacokinetics of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor. Diabetes Care. 2007 Jul;30(7):1862-4.

BETZ AL, DREWES LR, GILBOE DD. Inhibition of glucose transport into brain by phlorizin, phloretin, and glucose analogues. Biochem Biophys Acta 1975;406: 505–515.

BILLINGTON, C.K.; OJO, O.O.; PENN, R.B.; ITO, S. cAMP regulation of airway smooth muscle function. Pulm. Pharmacol. Ther., 2013, Feb;26(1):112-20.

BOEHRINGER INGELHEIM PHARMACEUTICALS. Jardiance (empagliflozin) tablets; prescribeinformation(<http://bidocs.boehringerengelheim.com/BIWebAccess/ViewServlet.ser?docBase=renetnt&folderPath=/Prescribing+Information/PIs/Jardiance/jardiance.pdf>.opens in new tab). Google Scholar. 2015

BREWER, Nathan R. Biology of the rabbit. Journal of The American Association for Laboratory Animal Science, Chicago, v. 45, n. 1, p.8-24, jan. 2006.

BRUNTON, L. B.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics. 11ed. New York: McGraw Hill, 2005.

BUTLER AE, CAMPBELL-THOMPSON M, GURLO T, DAWSON DW, ATKINSON M, BUTLER PC. Marked expansion of exocrine and endocrine pancreas with incretin therapy in humans with increased exocrine pancreas dysplasia and the potential for glucagon -producing neuroendocrine tumors. *Diabetes*. 2013 Jul;62(7):2595-604.

CALDEIRA J.C., ANDRÉ O.N., LISBOA P.E. Terapêutica Oral da Diabetes Mellitus. *Rev. Port. Clin. Terap.*, 1975, vol. 145.

CHACRA AR. Efeito fisiológico das incretinas. *Adv Stud Med, São Paulo*, v. 6 (7 B), p. S613 – S617, 2006.

CHAN JC, SCOTT R, ARJONA FERREIRA JC, SHENG D, GONZALEZ E, DAVIES MJ, et al. Safety and efficacy of sitagliptin in patients with type 2 diabetes and chronic renal insufficiency. *Diabetes Obes Metab*. 2008 Jul;10(7):545-55.

CHEHADE JM, MOORADIAN AD. A rational approach to drug therapy of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2000;60(1):95-113.

CHEN, L.Q.; RIEDEL, G.L.; SHEPHERD, A.P. Norepinephrine release during autoregulatory escape: effects of alpha 2-receptor blockade. *Am. J. Physiol.*, 1991. Feb; 260 (2 Pt 2):H400-8.

CHENG, H.F., HARRIS, R.C. Cyclooxygenases, the kidney, and hypertension. *Hypertension*. 2004; 43 (3), 525–530. Mar;43(3):525-30.

CONCEIÇÃO, R.A. da; SILVA, P.N. da; BARBOSA, M.L.C. Fármacos para o Tratamento do Diabetes Tipo II: Uma Visita ao Passado e um Olhar para o Futuro. *Revista Virtual de Química, Rio de Janeiro*, v. 9, n. 2, p.514-524, abr. 2017.

COSTA – E – FORTI A., FONTELES MC. Na alpha – Adrenotropic study of the normal and diabetic rabbit kidney. *Arch. Internat. Physiol. Bioch*. 1979; 87(5): 887-897.

COSTA – E – FORTI A., FONTELES MC. Verificação de presença de receptores beta no leito vascular dos rins de coelhos normais e diabéticos. *Ver. Med. Univ. Fed. Ceará*. 1977/1978; 17/18: 83-96.

CRAJOINAS RO, ORICCHIO FT, PESSOA TD, PACHECO BP, LESSA LM, MALNIC G, et al. Mechanisms mediating the diuretic and natriuretic actions of the incretin hormone glucagon-like peptide-1. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011;301(2):F355-63.

CREUTZFELDT W. The [pre-] history of the incretin concept. *Regul Pept*. 2005; 128(2):87-91.

D'ALMEIDA MS, LAUTT WW. Expression of vascular escape: conductance or resistance?. *Am J Physiol*. 1992 Apr; 262(4 Pt 2):H1196-6.

DEACON CF, NAUCJ MA, MEIER J, HUCKING K, HOLST JJ. Degradation of endogenous and exogenous gastric inhibitory polypeptide in healthy and in type 2 diabetic subjects as revealed using a new assay for the intact peptide. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85(10): 3575-81.

DELAMARCHE P et al. *Anatomia, fisiologia e biomecânica.* Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2006.

DESOUZA CV, GUPTA N, PATEL A. Cardiometabolic Effects of a New Class of Antidiabetic Agents. *Clin Ther.* 2015 Jun 1; 37(6):1178–94. [PubMed: 25754876].

DI DIO. Liberato J.A. *Tratado de anatomia aplicada.* 1.ed. São Paulo: Pólus Editorial, 1999. 2v

DIMITROV, R. et al. Anatomotopographical and morphological analysis of normal kidneys of rabbit (*oryctolagus cuniculus*). *Trakia Journal of Sciences, Stara Zagora,* v. 10, n. 2, p.79-84, 2012.

DING WG, GROMADA J. Protein kinase A-dependent stimulation of exocytosis in mouse pancreatic beta-cells by glucose-dependent insulinotropic polypeptide. *Diabetes.* 1997; 46 (4):615-21.

DOYLE M E, EGAN J M. Mechanisms of action of GLP-1 in the pancreas. *Pharmacol Ther,* v. 3, p. 1-83, Mar., 2007.

Duarte A. T. & Carvalho J. M. (1979). *Cunicultura.* Lisboa: Livraria Clássica Editora

EGAN JM, MONTROSE-RAFIZADEH C, WANG Y, BERNIER M, ROTH J. Glucagon-like peptide-1(7-36) amide (GLP-1) enhances insulin-stimulated glucose metabolism in 3T3-L1 adipocytes: one of several potential extrapancreatic sites of GLP-1 action. *Endocrinology.* 1994; 135 (5):2070-5.

EHRENKRANZ JR, LEWIS NG, KAHN CR, ROTH J. Phlorizin: a review. *Diabetes/metabolism research and reviews.* 2005 Jan-Feb;21(1):31–8. [PubMed: 15624123].

ELIASCHEWITZ FG. (Ed.Cient.). *Da descoberta da insulina aos dias atuais.* Fotógrafo João Carlos Landi Guimarães. São Paulo: Pfizer, 2006. v.2. 34 p. (A História do Diabetes, 2)

FARAH LXSF. Efeito do peptídeo-1 semelhante ao glucagon endógeno sobre a atividade do NHE3 em túbulo proximal renal. 2015. 97 f. *Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.*

FERREIRA & FONTELES, 1988. Uma avaliação da participação do fator de relaxamento endotélio dependente (EDRF) e do fator de ativação de ativação de plaquetas (PAF) no escape vascular e na taquifilaxia do rim isolado de coelho. **Dissertação de Mestrado em Farmacologia– Universidade Federal do Ceará (UFC), 5/10/89.**

FIORETTO P, GIACCARI A, SESTI G. Efficacy and safety of dapagliflozin, a sodium glucose cotransporter 2 (SGLT2) inhibitor, in diabetes mellitus. *Cardiovascular diabetology*. 2015; 14:142. [PubMed: 26474563].

FOLKOW, B., LEWIS, B. H., LUN-REN, O., MELLANDER, S., WALLENTIN, 1964. The effect of graded vasoconstrictor fibre stimulation on the intestinal resistance and capacitance vessels. *Acta Physiol. Scand.* 61: 445-457.

FONTELES MC, COHEN JJ, ALTAMESE JB, STEVEN JW. Support of kidney function by long-chain fatty acids derivatives from renal tissue. *Am. J. Physiol.* 1983; 244 F235-F246.

FONTELES MC, JESKE AH. Vasoactivity and vascular escape in isolated perfused kidneys from normotensive versus spontaneously hypertensive rats. *Gen. Pharmacol.* 1980; 11: 293-296.

FONTELES, M. C.; FERREIRA, M. G. Renal Vascular Escape, *Rev. Med. UFC*, 1994.

FONTELES, M. C.; JESKE, A.H.; KAROW, A.M. JR. Vascular escape in the isolated perfused rabbit kidney. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 1974. Jan;7(1):153-64.

FONTELES, M.C.; LIMA E FORTI, C. The effect of indomethacin and reserpine on renal vascular escape. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*, 1993. Jul;81(1):103-12.

FULURIJA A, LUTZ TA, SLADKO K, OSTO M, WIELINGA PY, BACHMANN MF, SAUDAN P. Vaccination against GIP for the treatment of obesity. *PLoS One*. 2008; 3(9):3163.

GARDNER E; et al. *Anatomia*, 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GAUTIER JF, FETITA S, SOBNGWI E, SALAÜN-MARTIN C. Biological actions of the incretins GIP and GLP-1 and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 2005; 31:233-242.

GODOY-MATOS AF. The role of glucagon on type 2 diabetes at a glance. *Diabetol Metab Syndr*. 2014; 6: 91. 2.

GRANGER, J. P.; ALEXANDER, B. T.; LLINAS, M. Mechanisms of Pressure Natriuresis. *Curr. Hypertens. Rep.*, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2002.

GRAY H, GROSS CM. *Anatomia*. 29. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 1988.

GREGG EW, SATTAR N, ALI MK. The changing face of diabetes complications. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2016;4(6):537-47.

GUPTA V. Pleiotropic effects of incretins. *Indian J Endocrinol Metab*, v.16 (Suppl 1), p. S47-S56, Mar., 2012.

GUTZWILLER JP, TSCHOPP S, BOCK A, ZEHNDER CE, HUBER AR, KREYENBUEHL M, et al. Glucagon-like peptide 1 induces natriuresis in healthy subjects and insulin-resistant obese men. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(6):3055-61.

GUYTON AC Tratado de fisiologia médica. 10.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

HABEGGER KM, HEPNER KM, GEARY N, BARTNESS TJ, DIMARCHI R, TSCHÖP MH. The metabolic actions of glucagon revisited. *Nat Rev Endocrinol.* 2010; 6: 689–97.

HANSON, K.M. Escape of the liver vasculature from adrenergic vasoconstriction. *Proc. Soc. Exp. Biol. And Med.*, 1972. Oct;141(1):385-90.

HRISTOV, H.; KOSTOV, D.; VLADOVA, D.. Topographical anatomy of some abdominal organs in rabbits. *Trakia Journal of Sciences*, v. 4, n. 3, p.7-10, jan. 2006.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *IDF Atlas*. 7th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2018.

JENSEN EP, POULSEN SS, KISSOW H, HOLSTEIN-RATHLOU NH, DEACON CF, JENSEN BL, et al. Activation of GLP-1 receptors on vascular smooth muscle cells reduces the autoregulatory response in afferent arterioles and increases renal blood flow. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2015: ajprenal 00527 2014.

KNEPPER, Mark A. et al. Quantitative analysis of renal medullary anatomy in rats and rabbits. *Kidney International*, [s.l.], v. 12, n. 5, p.313-323, nov. 1977.

KOEPPEN, B.M.; STANTON, B. *Berne e Levy- Fisiologia*. 7. ed. Porto Alegre: Elsevier, 2018. 880 p.

KREBS HA, HENSELEIT K. Untersuchungen über die Harnstoffbildung in Tierkörper. *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* 1932; 210:33

KRENTZ AJ, BAILEY CJ. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs.* 2005;65(3):385-411.

LEÃO, Amanda Damasceno. Sistemas híbridos de glibenclamida e hidróxidos duplos lamelares para incremento de solubilidade e coadministração de micronutrientes funcionais. 2016. Dissertação (Mestrado)-Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

LÉON DD, CRUTCHLOW MF, HAM JYN, STOFFERS DA. Role of glucagonlike peptide-1 in the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus. *Int J Biochem Cell Biol* 2006;38:845-859.

LINNEBJERG H, KOTHARE PA, PARK S, MACE K, REDDY S, MITCHELL M, et al. Effect of renal impairment on the pharmacokinetics of exenatide. *Br J Clin Pharmacol.* 2007 Sep;64(3):317-27.

LITTLE JR, COHEN JJ. Effect of albumin concentration on function of isolated perfused rat kidney. *Am. J. Physiol.* 1974; 226(3): 512-517.

LITTLE RC. *Physiology of the heart and circulation*. 2^aed. Chicago. Year Book Medical Publishers, 1981.

MEIER JJ, NAUCK MA, KRANZ D, HOLST JJ, DEACON FC., DIRK GAECKLER, SCHMIDT WE, GALLWITZ B. Secretion, Degradation, and Elimination of Glucagon-Like Peptide 1 and Gastric Inhibitory Polypeptide in Patients with Chronic Renal Insufficiency and Healthy Control Subjects. *Diabetes* 2004; 53(3): 654-662.

MENEZES, Antonio Teles de. Estudo dos efeitos de hipoglicemiantes orais na reatividade vascular adrenérgica, no escape renovascular e na taquifilaxia em rins isolados de coelho. 2017. 113 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

MOORE B. On the of Diabetes mellitus by acid extract of Duodenal Mucous Membrane. *Biochem J.* 1906; 1 (1):28-38

MOORE KL; DALLEY A. *Anatomia orientada para a clínica*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2007.

MORENO C, MISTRY M, ROMAM RJ. Renal effects of glucagon-like peptide in rats. *Eur J Pharmacol.* 2002;434(3):163-7.

MORRISH NJ, et al. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. *Diabetologia.* 2001; 44 Suppl 2:S14-21.

MOSES RG, COLAGIURI S, POLLOCK C. SGLT2 inhibitors: New medicines for addressing unmet needs in type 2 diabetes. *Australas Med J.* 2014; 7(10):405–15. [PubMed: 25379062].

MUDALIAR S, HENRY RR, BODEN G, SMITH S, CHALAMANDARIS AG, DUCHESNE D, ET AL. Changes in insulin sensitivity and insulin secretion with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor dapagliflozin. *Diabetes technology & therapeutics.* 2014 Mar; 16(3):137–44. [PubMed: 24237386].

MUNDEN, JULIE; WILLIAMS, LIPPINCOTT; WILKINS. *Diabetes Mellitus: A Guide to Patient Care*. Philadelphia:Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

NAUCK M.A, HOMBERGER E, SIEGEL EG, ALLEN RC, EATON RP, EBERT R, CREUTZFELDT W. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab.* v. 63, p. 492–498, 1986.

NELSON DL, COX MM. *Integração e regulação hormonal do metabolismo dos mamíferos. Princípios de bioquímica*. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014

NWANERI C, COOPER H, BOWEN-JONES D. Mortality in type 2 diabetes mellitus: magnitude of the evidence from a systematic review and meta-analysis. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*. 2013;13(4):192-207.

O'MEARA YM, BRADY HR, BRENNER BM. Glomerulopathies associated with multisystem diseases. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser, SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. International Edition. New York: McGraw-Hill; 2001.p.1590-7.

ORSKOV C, RABENHOJ L, WETTERGREN A, KOFOD H, HOLST JJ. Tissue and plasma concentrations of amidated and glycine-extended glucagon-like peptide I in humans. *Diabetes* 1994; 43 (4):535-9.

PITTS RF. *Physiology of the kidney and body fluids*. 3rded. Chicago, Year Book Medical Publishers, 1974.

QUAST, U.; COOK, N.S. Moving together: K⁺ channel openers and ATP-sensitive K⁺ channels. *Trends. Pharmacol. Sci.* 1989: Nov;10(11):431-5.

RICHARDSON, D. R.; JOHNSON, P. C. Comparison of autoregulatory escape and autoregulation in the intestinal vascular bed. *Am. J. Physiol.*, 1969: Aug;217 (2):586-90.

RIEG T, GERASIMOVA M, MURRAY F, MASUDA T, TANG T, ROSE M, et al. Natriuretic effect by exendin-4, but not the DPP-4 inhibitor alglipitin is mediated via the GLP-1 receptor and preserved in obese type 2 diabetic mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2012;303(7):F963-71.

ROSA RS, SCHMIDT MI, DUNCAN MI, SOUZA MFM, LIMA AK, MOURA L. Internações por diabetes mellitus como diagnóstico principal na rede pública do Brasil, 1999-2001. *Rev Bras Epidemiol*. 2007;10(4):465-78. 26.

RYTAND, D.A. The number and size of mammalian glomeruli as related to kidney and to body weight, with methods for their enumeration and measurement. *American Journal of Anatomy*, v. 62, n. 4, p.507-520, maio 1938.

SCHEEN AJ. Pharmacodynamics, efficacy and safety of sodium-glucose co-transporter type 2 (SGLT2) inhibitors for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Drugs*. 2015 Jan; 75(1):33–59. [PubMed: 25488697].

SCHULTHEIS PJ1, CLARKE LL, MENETON P, MILLER ML, SOLEIMANI M, GAWENIS LR, RIDDLE TM, DUFFY JJ, DOETSCHMAN T, WANG T, GIEBISCH G, ARONSON PS, LORENZ JN, SHULL GE. Renal and intestinal absorptive defects in mice lacking the NHE3 Na⁺/H⁺ exchanger. *Nat Genet*. 1998; 19(3):282-5.

SELKURT, E. E.; HALL, P. W.; SPENCER, M. Influence of graded arterial pressure decrement on the renal clearance of creatinine, p-aminohippurate and sodium. *Am. J. Physiol.*, v. 159, p. 369–378, 1949.

SHIPLEY, R. E.; STUDY, R. S. Changes in renal blood flow, extraction of inulin, glomerular filtration rate, tissue pressure and urine flow with acute alterations in renal artery pressure. *Am. J. Physiol.*, v. 167, p. 676–688, 1951.

SHUBROOK JH, BOKAIE BB, ADKINS SE. Empagliflozin in the treatment of type 2 diabetes: evidence to date. *Drug design, development and therapy*. 2015; 9:5793–803.

SIMONSON, M.S., DUNN, M.J. Endothelins: a family of regulatory peptides. State-of-the-art lecture. *Hypertension* 2, ., 1991 (6 Pt 2), 856–863

SMITH, Homer William. *The Kidney- Structure and Function in Health and Disease*. Oxford- Oxford University Press, 1951. 1049 p.

SONG, D.; ASHCROFT, F. M. Glimperide block of cloned β -cell, cardiac and smooth muscle KATP channels. *Br. J. Pharmacol.* 2001: Mar-Apr;17(2 Suppl):11-5.

THOMPSON, D. D.; PITTS, R. F. Effects of alterations of renal arterial pressure on sodium and water excretion. *Am. J. Physiol.*, v. 168, p. 490-499, 1951.

THOMSON SC, KASHKOULI A, SINGH P. Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases GFR and suppresses proximal reabsorption in the rat. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2013; 304 (2):F137-44.

THORENS B. Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the glucocretin hormone glucagon-like peptide 1. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1992; 89 (18):8641-5.

TRAVIS, M.D; WHALEN, E.J.; LEWIS, S.J.; Heterologous desensitization of beta.-adrenoceptor signal transduction in vivo. *Eur. J. Pharmacol.*, 1997: Jun 5;328(1):R1.

TRIPLITT C, CORNELL S. Canagliflozin Treatment in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Clinical medicine insights Endocrinology and diabetes*. 2015; 8:73–81. [PubMed: 26523120].

VILSBOLL T, KRARUP T, DEACON CF, MADSBAD S, HOLST JJ. Reduced postprandial concentrations of intact biologically active glucagon-like peptide 1 in type 2 diabetic patients. *Diabetes*. 2001; 50 (3):609-13.

WHALEN, E,J.; JOHNSON, A.K.; LEWIS, S.J. Tachyphylaxis to PACAP-27 after inhibition of NO synthesis: a loss of adenylate cyclase activation. *Am. J. Physiol.*, 1999: Nov;277(5 Pt 2):R1453-61.

WOLVERTON, Stephen E. *Terapêutica Dermatológica*. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier Brasil, 2015.

WRIGHT EM, LOO DD, HIRAYAMA BA. Biology of human sodium glucose transporters. *Physiol Rev*. 2011;91(2):733–794.

YANG XJ, KOW LM, FUNABASHI T, MOBBS CV. Hypothalamic glucose sensor: similarities to and differences from pancreatic beta-cell mechanisms. *Diabetes* 1999; 48: 1763–1772.

YOUNG MA, WALD JA, MATTHEWS JE, YANG F, REINHARDT RR. Effect of renal impairment on the pharmacokinetics, efficacy, and safety of albiglutide. *Postgrad Med*. 2014 May;126(3):35-46.

ZINMAN B, WANNER C, LACHIN J, FITCHETT D, BLUHMKI E, HANTEL S, MATTHEUS M, BIOMATH D, DEVINS T, JOHANSEN O, HANS J, WOERLE H, BROEDL U, INZUCCHI S. Empagliflozin, Cardiovascular Outcomes, and Mortality in Type 2 Diabetes *N Engl J Med* 2015 Set DOI: 10.1056/NEJMoa1504720.