



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

VICTOR MARTINS GOMES

Perfusão do rim isolado de coelho: estudo comparativo da variação da concentração de albumina e efeitos renais da Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli*

FORTALEZA – CEARÁ  
2019

VICTOR MARTINS GOMES

**Perfusão do rim isolado de coelho: estudo comparativo da variação da concentração de albumina e efeitos renais da Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli***

Tese de Doutorado submetida à Coordenação do Curso de Pós Graduação em Farmacologia do Departamento de Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Farmacologia.

**Orientador:** Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles.

**FORTALEZA-CEARÁ  
2019**

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)

---

G618p Gomes, Victor.

Perfusão do rim isolado de coelho: estudo comparativo da variação da concentração de albumina e efeitos renais da Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli* / Victor Gomes. – 2019.

150 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2019.

Orientação: Prof. Dr. Manassés Claudino Fonteles.

1. Peptídeos natriuréticos. 2. Enterotoxina termoestável de *Escherichia coli*. 3. Uroguanilina. 4. Transporte de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>. I. Título.

CDD 615.1

---

VICTOR MARTINS GOMES

**Perfusão do rim isolado de coelho: estudo comparativo da variação da concentração de albumina e efeitos renais da Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli***

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

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Conceito:

Nota:

**BANCA EXAMINADORA**

---

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

---

**Prof. Dr. Carlos Campos Câmara**  
Universidade Federal do Semi-Árido (UFERSA)

---

**Dr. Wesley Lyeverton Correia Ribeiro**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

**Profa. Dra. Ivelise Regina Canito Brasil**  
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

---

**Dr. Francisco Adelvane de Paulo Rodrigues**  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

## RESUMO

Desde a década de 1970, pesquisas são realizadas em torno da perspectiva de uma nova sinalização celular entre o sistema gastrointestinal e o renal. Desde então, pesquisas sobre a ação da enterotoxina de *Escherichia coli* (STa), como descrito em 1983 por Fonteles e Lima, com a demonstração efeitos caluréticos, natriuréticos e diuréticos, que já apontavam para cross-talk entre estes dois sistemas, levaram a proposição da existência de um hormônio sinalizador em um eixo entero-renal, para a excreção do excesso de sal ingerido. Pesquisas com hormônios da classe das guanilinas têm sido feitas em modelo de rim perfundido de rato, existindo uma escassez de trabalhos em outros modelos animais filogeneticamente mais evoluídos como o do coelho. Nesse sentido, o presente trabalho estuda, em modelo *ex-vivo* no modelo de rim perfundido de coelho, diferentes concentrações de albumina (0%, 2%, 4% e 6%) em solução perfusora e o efeito de Enterotoxina Termoestável, a fim de avaliar o transporte e a absorção de sal e água. Coelhos machos Nova Zelândia (800-1000 g) foram anestesiados com uretana (1.2 g/Kg, I.P) e pentobarbital (30 mg/Kg, I.M). Procedeu-se, então, cirurgia para isolar o rim esquerdo do animal, perfundido-o *in situ* inicialmente, e posteriormente *ex-vivo*, em um sistema de perfusão renal conforme desenvolvido por Fonteles e colaboradores na década de 80. Foram colhidas amostras de urina e perfusato em intervalo de 10 minutos. Foram feitas dosagens bioquímicas para conteúdo de sódio e potássio, foram calculados parâmetros de função renal, antes e após a administração de enterotoxina termoestável (7 ng/ml) no sistema de perfusão. Foi utilizado o Test t de Student e Análise de Variância (ANOVA), com significância de  $p < 5\%$  para comparação estatística. Como etapa inicial procurou-se entender os mecanismos de diferentes concentrações de albumina na perfusão. Os maiores efeitos na reabsorção de eletrólitos foram proporcionais ao acréscimo de albumina. Foi escolhida a concentração de 6% de albumina para investigação dos efeitos renais de STa nos transportes tubulares renais. Como resultados, STa, adicionada aos 40 min, modificou de modo significativo os parâmetros: equilíbrio da pressão de perfusão, aumento do fluxo urinário, ritmo de filtração glomerular e aumento da reabsorção de potássio nos segmentos distais, com diminuição da reabsorção de sódio nos segmentos proximais, culminando em maior excreção de sódio e menor excreção de potássio. Portanto, no tocante à toxina STa, os maiores efeitos foram obtidos com a

maior concentração de albumina, 6%, permitindo a visualização de efeitos natriuréticos e diuréticos nos túbulos renais nesta espécie.

**Palavras-Chave:** Peptídeos natriuréticos, Uroguanilina, Enterotoxina de *Escherichia coli*, Transporte de  $Na^+$  e  $K^+$ .

## ABSTRACT

Isolated perfused rabbit kidney: comparative study of albumin concentration variation and renal effects of heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*

Since the 1970s, physiologic research had been made on the prospect to discover a new signaling axis between the gastrointestinal system and renal system. Since then, research on the action of heat-stable *Escherichia coli* enterotoxin (STa), as described in 1983 by Fonteles and Lima, with the demonstration of caluuretic, natriuretic and diuretic effects, which already indicate a cross-talk between these two systems, led to the proposition of the existence of a hormone signaling in an entero-renal axis, for the excretion of the excess of ingested salt. Investigations with hormones of the guanylin class have been made in a model of rat perfused kidney, with a shortage of work in other phylogenetically more evolved animal models such as the rabbit. The objective of this study was to study rabbit kidney perfusion using a Krebs-Henseleit solution with different concentrations of albumin (0%, 2%, 4% and 6%), and the heat-stable Enterotoxin, in order to evaluate the transport and the absorption of salt and water. Male New Zealand rabbits (800-1000 g) were anesthetized with urethane (1.2 g / kg, I.P) and pentobarbital (30 mg / kg, I.M). Surgery is then performed to isolate the left kidney of the animal, perfused it in situ initially, and then *ex vivo*, into a renal perfusion system as developed by Fonteles et al. In the 1980s. Urine and perfusate samples were collected within 10 minutes gap. After biochemical measurements for sodium and potassium contents, renal function parameters were calculated after administration of; heat-stable enterotoxin (7 ng/mL) in the perfusion system. Data were statistically compared using Student's t test and Analysis of Variance (ANOVA), with significance of  $p < 5\%$ . As an initial step in understanding of renal mechanisms with different concentrations of albumin in infusion, we obtained the greatest effects on electrolyte reabsorption proportional to the addition of albumin. The concentration of 6% in albumin was chosen to investigate the renal effects of STa on renal tubular transport. As result, the addition of STa at 40 minutes significantly modified the parameters: perfusion pressure balance, increased urinary flow and glomerular filtration rate, increased potassium reabsorption in the distal segments and decreased sodium reabsorption in the segments leading to higher sodium excretion and lower potassium excretion. Therefore, with regard to STa toxin, the greatest

effects were obtained with the highest concentration of albumin, 6%, allowing the visualization of natriuretic and diuretic effects in the renal tubules in rabbit.

**Key words:** Natriuretic Peptides, Uroguanylin, *Escherichia coli* enterotoxin , Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> transport.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Anatomia renal .....	26
Figura 2: Forma dos rins de coelhos Nova Zelândia .....	30
Figura 3: Corte sagital dos rins de coelhos Nova Zelândia. ....	31
Figura 4: Representação anatômica ventro-dorsal dos órgãos dentro da cavidade abdominal e torácica de uma fêmea adulta de coelho. 1.Traqueia, 2. Esôfago, 3. Timo, 4. Diafragma, 5. Estômago, 6. Baço, 7. Ceco, 8.Glândula Adrenal Esquerda, 9. Rim esquerdo, 10. Ovário Esquerdo, 11. Cólon descendente, 12. Bexiga urinária, 13. Pulmões, 14. Coração 15. Fígado, 16. Pâncreas, 17. Intestino Delgado, 18. Glândula Adrenal Direita, 19. Rim direito, 20. Ovário Direito, 21. Corno direito do útero .....	37
Figura 5: estruturas peptídicas primárias de guanilina, uroguanilina e enterotoxina termoestável e suas expressões em diversas espécies.Q: glutamina. E: ácido glutâmico. D: aspartato. L: leucina. C: cisteína. N: asparagina. I: isoleucina. V: valina. A: alanina. T: treonina. G: glicina. S: serina. H: histidina. P: prolina. Y: tirosina. W: triptofano. D: aspartato. F: fenilalanina.....	43
Figura 6: Efeito da Enterotoxina termoestável de Escherichia coli (STa) ( 0.017 e 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ no percentual de sódio transportado proximal (%pTNa <sup>+</sup> ).Valores representam media $\pm$ erro padrão do efeito máximo em cada concentração usada de STa em rins perfundidos de ratos.....	51
Figura 7: STa se liga aos domínio extracelular de guanilato ciclase C (GC-C).A ligação à GC-C leva a ativação de seu domínio catalítico intracelular, resultando em conversão de GTP a GMPc e seu acúmulo citoplasmático.....	53
Figura 8: desenho esquemático do sistema de perfusão para rim isolado.....	58
Figura 9: ilustração da técnica cirúrgica para perfusão renal em coelho (Arquivo pessoal).....	61
Figura 10: Desenho experimental da perfusão de rim de coelho. ....	62
Figura 11: Fluxo de Perfusão Renal (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=7), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=7), 4% (n=6) e 6% (n= 4). Os	

resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	68
Figura 12: Fluxo urinário (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=6), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	70
Figura 13: Ritmo de Filtração Glomerular (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 7), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	72
Figura 14: Osmolaridade presente no perfusato (mmol/Kg) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=6), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n=4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina. ....	74
Figura 15: Osmolaridade presente na urina (mmol/Kg) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 6), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina. ....	75
Figura 16: Clearance Osmolar (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n= 5) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	76
Figura 17: Clearance de Água Livre (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=4), 4% (n= 4) e 6% (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	78
Figura 18: Transporte Distal de Sódio ( $\mu$ Eq/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=4 ), 4% (n= 4) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	79

Figura 19: Transporte Distal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	80
Figura 20: Percentual do Transporte Distal de Sódio ( $\%d\text{TNa}^+$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	81
Figura 21: Percentual do Transporte Distal de Potássio ( $\%d\text{TK}^+$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM.....	82
Figura 22: Transporte Proximal de Sódio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	83
Figura 23: Transporte Proximal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=3), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	84
Figura 24: Percentual do Transporte Proximal de Sódio ( $\%p\text{TNa}^+$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	85
Figura 25: Percentual do Transporte Proximal de Potássio ( $\%p\text{TK}^+$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM.....	86
Figura 26: Sódio Excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	87

Figura 27: Potássio Excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	88
Figura 28: Sódio Filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=3), 4% (n=4) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	90
Figura 29: Potássio Filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=4) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	91
Figura 30: Sódio Transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM.....	92
Figura 31: Potássio Transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	93
Figura 32: Percentual de Sódio Transportado (%TNa <sup>+</sup> ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=4) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	94
Figura 33: Percentual de Potássio Transportado (%TK <sup>+</sup> ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=6), 4% (n=4) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. *p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.....	95
Figura 34: Fluxo de Perfusão Renal (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	97

Figura 35: Fluxo urinário (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 6). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	98
Figura 36: Ritmo de Filtração Glomerular (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. ....	99
Figura 37: Osmolaridade presente no perfusato (mmol/Kg) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	100
Figura 38: Osmolaridade presente na urina (mmol/Kg) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	101
Figura 39: Clearance Osmolar (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	102
Figura 40: Clearance de Água Livre (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	103
Figura 41: Transporte Distal de Sódio ( $\mu$ Eq/g/min) no grupo e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	104
Figura 42: Transporte Distal de Potássio ( $\mu$ Eq/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	105
Figura 43: Percentual do Transporte Distal de Sódio (%dTNa+) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	106
Figura 44: Percentual do Transporte Distal de Potássio (%dTK+) nos grupos Krebs Henseleit albumina 6% (n= 5) e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	107

Figura 45: Transporte Proximal de Sódio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=5 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	108
Figura 46: Transporte Proximal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=5 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	109
Figura 47: Percentual do Transporte Proximal de Sódio (%pTNa <sup>+</sup> ) no Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	110
Figura 48: Percentual do Transporte Proximal de Potássio (%pTK <sup>+</sup> ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ..	111
Figura 49: Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	112
Figura 50: Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	113
Figura 51: Sódio excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 6 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	114
Figura 52: Potássio excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=5 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos.....	115
Figura 53: Sódio filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	116

Figura 54: Potássio filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 6). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM.....	117
Figura 55: Sódio transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 6). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	118
Figura 56: Potássio transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=5 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	119
Figura 57: Percentual de sódio transportado (%TNa <sup>+</sup> ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	120
Figura 58: Percentual de potássio transportado (%TK <sup>+</sup> ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6 ). Os resultados estão expressos em Média $\pm$ EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 minutos. ....	121

## LISTA DE TABELAS

**Tabela 1** : Excreção urinária de  $\text{Na}^+$  antes e depois da carga de cloreto de sódio.. **41**



## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>%dTK<sup>+</sup></b>	Percentual do Transporte Distal de Potássio
<b>%dTNa<sup>+</sup></b>	Percentual do Transporte Distal de Sódio
<b>%pTK<sup>+</sup></b>	Percentual do Transporte Proximal de Potássio
<b>%pTNa<sup>+</sup></b>	Percentual do Transporte Proximal de Sódio
<b>μEq/g/min</b>	Microequivalente por grama, por minuto
<b>ADK<sup>+</sup></b>	Aporte Distal de Potássio
<b>ADNa<sup>+</sup></b>	Aporte Distal de Sódio
<b>ANOVA</b>	Análise de Variância
<b>ATP</b>	Adenosina Tri –Fosfato
<b>CH<sub>2</sub>O</b>	Clearance de Água Livre
<b>COsm</b>	Clearance Osmolar
<b>dTK<sup>+</sup></b>	Transporte Distal de Potássio
<b>dTNa<sup>+</sup></b>	Transporte Distal de Sódio
<b>EK<sup>+</sup></b>	Potássio Excretado
<b>ENa<sup>+</sup></b>	Sódio Excretado
<b>FK<sup>+</sup></b>	Potássio Filtrado
<b>FNa<sup>+</sup></b>	Sódio Filtrado
<b>FP</b>	Fluxo do Perfusato
<b>FU</b>	Fluxo urinário
<b>GC-C</b>	Guanilato ciclase tipo C
<b>i.v</b>	Intra-venoso
<b>l/min</b>	Litros por minuto
<b>mEq/l</b>	Miliequivalente por litro
<b>ml/g/min</b>	Mililitro por grama, por minuto
<b>Mmol</b>	Milimolar
<b>mmol/Kg</b>	Milimol por quilo.
<b>Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase</b>	Bomba de sódio, potássio ATPase.
<b>NHE3</b>	Isoforma 3 do trocador Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup>
<b>PE50</b>	Polietileno 50
<b>PNA</b>	Peptídeo Natriurético Atrial
<b>PP</b>	Pressão de Perfusão
<b>pTK<sup>+</sup></b>	Transporte Proximal de Potássio
<b>pTNa<sup>+</sup></b>	Transporte Proximal de Sódio
<b>RFG</b>	Ritmo de filtração Glomerular
<b>RNAm</b>	Ácido Ribonucleico mensageiro
<b>STa</b>	Enterotoxina termoestável de <i>Escherichia coli</i>
<b>TK<sup>+</sup></b>	Potássio Transportado
<b>TK<sup>+</sup>%</b>	Percentual de Potássio Transportado
<b>TNa<sup>+</sup></b>	Sódio Transportado
<b>TNa<sup>+</sup>%</b>	Percentual de Sódio Transportado

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	24
2.1	Fisiologia Renal Humana.....	24
2.1.1	Anatomia Renal .....	25
2.1.2	Transporte de Solutos e Água.....	28
2.2	Fisiologia Renal do Coelho .....	30
2.2.1	Macro anatomia .....	30
2.2.1	Marcadores de Função renal.....	32
2.3	Balanço Hidrossalino.....	33
2.3.1	Papel do Intestino do coelho na Regulação do Sal.....	35
2.3.2	Papel do Rim na Regulação do Sal.....	41
2.4	Guanilinas e Uroguanilinas .....	42
2.4.1	Descoberta das Uroguanilinas.....	44
2.4.2	Estrutura Molecular.....	46
2.4.3	Mecanismo de Ação de Peptídeos Natriuréticos.....	46
2.5	Receptores Moleculares Guanilato Ciclase e Guanilinas .....	48
2.6	Enterotoxina Termoestável de <i>Escherichia coli</i> .....	50
2.6.1	Descoberta da ação da Enterotoxina Termoestável de <i>Escherichia coli</i> na fisiologia renal.....	50
2.6.2	Mecanismo de Ação da Enterotoxina Termoestável de <i>Escherichia coli</i> .....	52
3	JUSTIFICATIVA.....	55
4	OBJETIVOS.....	56
4.1	Objetivo Geral.....	56
4.2	Objetivos Específicos .....	5
5	MATERIAL E MÉTODOS .....	57
5.1	Animais de Experimentação.....	57
5.2	Perfusão de Rim isolado.....	57
5.2.1	Sistema de perfusão de rim de coelho .....	57
5.3	Solução Perfusora.....	60
5.4	Reagentes Utilizados .....	60

5.5	Técnica Cirúrgica .....	60
5.6	Protocolo Experimental .....	62
5.7	Grupos Experimentais .....	63
5.8	Análise Bioquímica .....	63
5.9	Cálculo dos parâmetros renais .....	63
5.10	Análise Estatística.....	67
6	RESULTADOS.....	68
6.1	Fluxo de Perfusão Renal nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	68
6.2	Fluxo urinário nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	70
6.3	Ritmo de Filtração Glomerular nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2% , 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	72
6.4	Osmolaridade presente no perfusato nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	74
6.5	Osmolaridade presente na urina nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	75
6.6	Clearance Osmolar nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho....	76
6.7	Clearance de Água Livre nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	78
6.8	Transporte Distal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	79
6.9	Transporte Distal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	80
6.10	Percentual do Transporte Distal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	81
6.11	Percentual do Transporte Distal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	82

6.12	Transporte Proximal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	83
6.13	Transporte Proximal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	84
6.14	Percentual do Transporte Proximal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	85
6.15	Percentual do Transporte Proximal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	86
6.16	Sódio Excretado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho....	87
6.17	Potássio Excretado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	88
6.18	Sódio Filtrado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	90
6.19	Potássio Filtrado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho.....	91
6.20	Sódio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho....	92
6.21	Potássio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	93
6.22	Percentual de Sódio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina , 2% , 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	94
6.23	Percentual de Potássio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho .....	95
6.24	Fluxo de Perfusão Renal no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	97
6.25	Fluxo urinário no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	98

6.26	Ritmo de Filtração Glomerular no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	99
6.27	Osmolaridade presente no perfusato no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	100
6.28	Osmolaridade presente na urina no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	101
6.29	Clearance Osmolar nos grupos Krebs-Henseleit albumina 6% e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	102
6.30	Clearance de Água Livre no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	103
6.31	Transporte Distal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit albumina 6% e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	104
6.32	Transporte Distal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	105
6.33	Percentual do Transporte Distal de Sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	106
6.34	Percentual do Transporte Distal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	107
6.35	Transporte Proximal de Sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	108
6.36	Transporte Proximal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	109
6.37	Percentual do Transporte Proximal de Sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	110
6.38	Percentual do Transporte Proximal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	111

6.39	Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	112
6.40	Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho. ....	113
6.41	Sódio excretado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	114
6.42	Potássio excretado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	115
6.43	Sódio filtrado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	116
6.44	Potássio filtrado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	117
6.45	Sódio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	118
6.46	Potássio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho .....	119
6.47	Percentual de sódio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	120
6.48	Percentual de potássio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.....	121
7	DISCUSSÃO .....	122
7.1	Efeitos da variação da concentração de albumina no rim perfundido do coelho. ....	121
7.2	Efeitos da toxina termo estável da <i>Escherichia coli</i> no rim perfundido do coelho. ....	124
7.3	Receptores de STa. . ....	126
8	CONCLUSÃO .....	122
	REFERÊNCIAS.....	132

## 1 INTRODUÇÃO

Um dos principais aspectos da manutenção da homeostase da célula é a diferença entre gradientes osmóticos do meio intracelular e extracelular. Um dos fatores que contribuem para esses gradientes é a concentração de eletrólitos como o sódio e potássio (SILVERTHORN, 2009).

Durante o curso da evolução em um meio hipertônico, o mar, surge nos organismos compostos capazes de sinalizar a excreção de sal fisiologicamente, regulando sua osmolaridade interna, em contrabalanço ao meio ambiente (BALDISSEROTTO; MANCERA; B.G. KAPOOR, 2007).

Presente nos peixes eurialinos (TAKEI; MCCORMICK, 2013) e enguias (TAKEI; YUGE, 2007), peptídeos natriuréticos participam dos mecanismos de osmorregulação destes organismos diante da variação da osmolaridade no ambiente marinho.

A progressão dos organismos a partir da água para o meio terrestre, onde a disponibilidade de água era escassa, levou-os a desenvolver órgãos responsáveis pela reabsorção e preservação de seu conteúdo hídrico, assim como meios de excreção de sal, já desenvolvido anteriormente, os peptídeos natriuréticos (LORETZ, 2001).

Outros organismos unicelulares, como bactérias, também coexistiam com esses organismos através da colonização de seus sistemas gastrointestinais, onde produziam toxinas que levavam a perda de água e sais. Posteriormente, estas mesmas toxinas viriam a ser utilizadas como ferramentas farmacológicas no campo de pesquisa da fisiologia renal.

Nas décadas de 70 a 90 foi o período de grande atividade científica em torno dos peptídeos natriuréticos e enterotoxinas bacterianas, onde o ponto inicial foi a procura da explicação para o fenômeno da diferença na excreção de sal em virtude de uma sobrecarga oral, quando comparada à sobrecarga parenteral, em humanos e coelhos (LENNANE, 1975).

A descoberta por Fonteles e colaboradores (1993) de um composto com atividade natriurética no rim similar ao peptídeo natriurético atrial (ANP), e com capacidade de geração de GMPc em células T84, nos traz à possibilidade da existência de um sistema de osmorregulação em mamíferos evolutivamente mais próximos do homem, entretanto, ainda carece de estudos sobre o tema.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Estudo Morfo-funcional do rim humano

“A fixidez do meio supõe uma perfeição do organismo, de modo que as variações externas são cada vez compensadas e equilibradas... Todos os mecanismos vitais, por mais variados que sejam, têm sempre um objetivo, manter a uniformidade das condições de vida no ambiente interno... A estabilidade do ambiente interno é a condição para a vida livre e independente.”

HOLMES *apud* Claude Bernard, 1974.

Claude Bernard, famoso fisiologista francês, iniciou o conceito de meio interno em sua obra “*Lectures on the Phenomena of Life common to Animals and Plants*”. Nela, exemplificava diversos mecanismos de regulação corporais como o volume de água, a temperatura corporal, a concentração de oxigênio e reservas metabólicas (HOLMES, 1986 *apud* BERNARD, 1974).

Posteriormente, em 1926, houve a complementação por Walter Cannon (CHROUSOS, 1992), e a reformulação do conceito de meio interno em um novo conceito chamado de homeostase ou homeostasia, sendo esta a tendência à manutenção das condições internas de um organismo sempre dentro de parâmetros normais ou fisiológicos (GROSS, 1998). A constância do meio interno, ou homeostase, é um dos principais objetivos na condição de vida e mecanismos fisiológicos agem a todo o momento na regulação de parâmetros essenciais para a existência de equilíbrio.

O meio ambiente externo e o interno podem ser considerados como fonte de variações para parâmetros fisiológicos, por vezes representando problemas clínicos comuns e importantes. Dentro do espaço de vida de um indivíduo, as variações de volume e composição do fluido extracelular são reguladas pela tanto pela fisiologia gastro-intestinal, fisiologia respiratória quanto pela fisiologia renal, mantendo-as sempre dentro dos limites compatíveis com a vida e havendo a eliminação da urina como produto final (AIRES, 2012).

Os rins podem ser considerados órgãos que atuam em uma variedade de funções, no intuito de manter a homeostase no organismo, como a regulação do equilíbrio hídrico e salino no organismo, a excreção de subprodutos do metabolismo,



excreção de xenobióticos, regulação da pressão sanguínea arterial e produção de células vermelhas, regulação da produção de vitamina D e gliconeogênese (EATON; POOLER, 2015).

Uma dessas funções, a regulação do equilíbrio hídrico e salino no corpo, envolve a manutenção da concentração normal de eletrólitos e água como forma de equilibrar o volume pelo balanceamento entre a ingestão destas substâncias com sua excreção na urina (SILVERTHORN, 2009), onde a formação desta tem início na estrutura glomerular, havendo a filtração de 20% do plasma, que entra pela artéria renal. Os 80% de plasma restante são encaminhados para os capilares peritubulares, culminando com sua saída na veia renal (AIRES, 2012).

No processo de formação da urina, diversos mecanismos celulares passivos ou ativos localizados nas membranas das células tubulares trabalham para que esse filtrado glomerular seja modificado, havendo transporte de substâncias do interior tubular para o sangue dos capilares peritubulares, em um processo denominado de reabsorção. Mecanismos inversos de transporte de substâncias do sangue para a luz tubular também são ativados, um processo denominado secreção (AIRES, 2012).

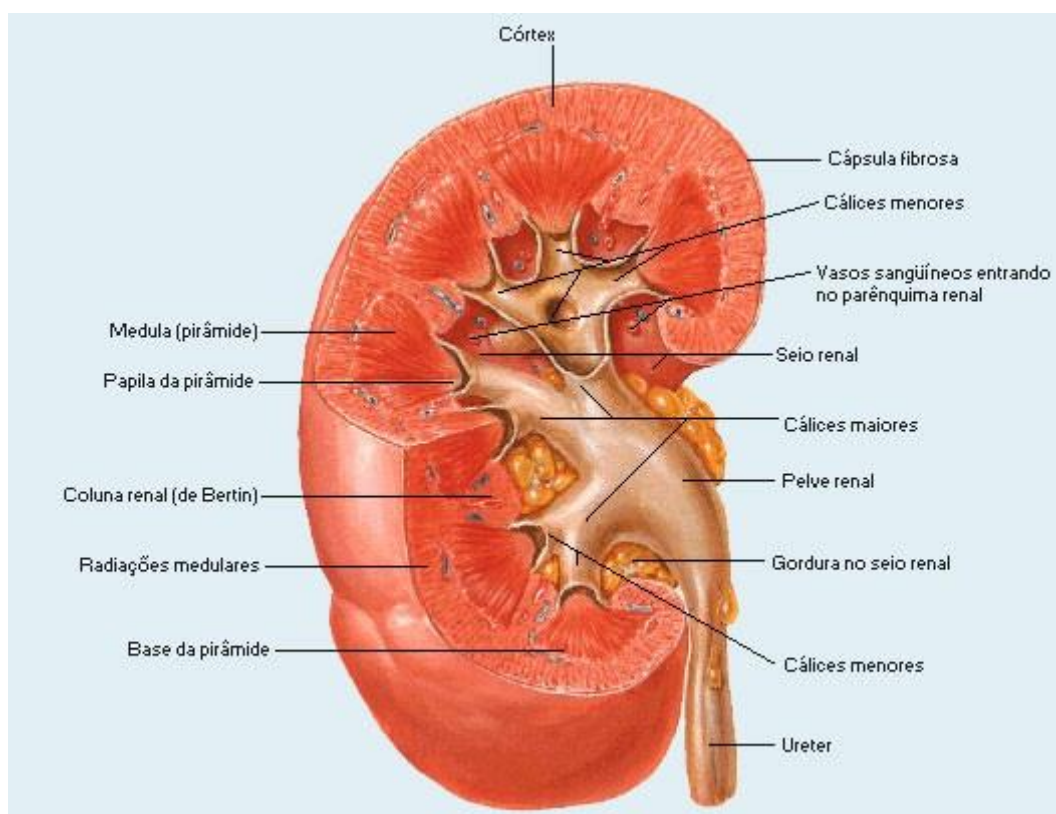
### **2.1.1 Anatomia Renal**

Os rins são órgãos pares, que se situam retro peritonealmente, junto à parede abdominal posterior, cada um lateralmente a coluna vertebral. Em humanos, cada rim pesa em torno de 115 g a 170 g, medindo cerca de 10 cm de comprimento, 6 cm de largura e 3 cm de espessura (KOEPEEN; STANTON, 2018). Com formato semelhante a um “feijão”, pode-se localizar a superfície externa e convexa de modo lateral, enquanto a superfície côncava posiciona-se de modo medial, a qual se dá o nome de hilo renal (EATON; POOLER, 2015).

O hilo é a entrada por onde penetram elementos como a artéria renal, veia renal, nervos e ureter. O rim segue um processo estrutural de hierarquia, a qual os ureteres são formados por cálices maiores, que, por sua vez, são formados por cálices menores. Os cálices são estruturas que se encaixam sobre uma formação do tecido renal de formato cônico a piramidal. As pirâmides se arranjam radialmente em torno do hilo, na qual cada topo da pirâmide se chama papila e se projeta para o

cálice menor. A região mais interna das pirâmides constituem uma região do rim denominada medula, enquanto a região mais externa denomina-se córtex (Figura 1) (EATON; POOLER, 2015).

Figura 1: anatomia renal



Fonte: NETTER, 2000

No córtex renal observamos um aspecto mais granular devido à presença de glomérulos e túbulos contorcidos. O rim humano é um rim multipapilar, na qual a medula contém estruturas cônicas estriadas, as pirâmides. A aparência estriada reflete a orientação linear e paralela de túbulos retos (loops de Henle e canais coletores). Cada pirâmide tem a base situada na junção córtico-medular e um ápice que se estende até o seio renal, formando uma papila. Na ponta de cada papila, existem 20 a 70 pequenas aberturas que representam as extremidades distais dos canais coletores. O córtex é formado por uma camada externa de 1 cm, cobrindo a base de cada pirâmide e se estende entre pirâmides formando as colunas (septos) de Bertin. Estrias longitudinais de cor clara, denominadas raios medulares, estendem-se desde as bases das pirâmides até o córtex. Uma única pirâmide e o córtex ao redor podem ser considerados como um lobo renal. Um lobo de um rim

humano multipapilar pode ser considerado equivalente a um rim inteiro unipapilar, presente em animais como *rattus norvegicus* ou *mus musculus* (ZHOU *et al.*, 2017).

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 que haja vascularização de todo o tecido renal, e eficiência máxima nos processos de filtração, reabsorção, secreção e excreção. A subdivisão progressiva em artérias interlobar, artéria arqueada, artéria interlobular e arteríola aferente promove o suprimento de sangue aos capilares presentes no glomérulo (KOEPEEN; STANTON, 2018). 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 suprimindo sangue as unidades morfofuncionais dos rins, os néfrons (KOEPEEN; STANTON, 2018).

A unidade funcional do rim é o néfron, cujo número é cerca de  $1,3 \times 10^6$  néfrons em cada rim. À medida que se localizam em zonas diferentes do rim, podem ser classificados como corticais, medicorticais ou justamedulares, os quais se localizam respectivamente, na porção externa do córtex, no córtex interno e na zona de transição e na medula. No humano, cerca de 80% dos néfrons são localizados no córtex, restando 20% dos néfrons sendo medulares (AIRES, 2012).

O néfron consiste em glomérulo e estruturas tubulares. A estrutura glomerular é compreendida como um conjunto de capilares glomerulares projetados em uma extremidade dilatada do túbulo renal, a cápsula de Bowman (SILVERTHORN, 2009). A junção entre o endotélio do glomérulo e da cápsula de Bowman forma a barreira de filtração, exercendo uma seletividade a nível de peso molecular e carga elétrica, as quais influenciam a passagem de solutos contidos no sangue para o ultrafiltrado (KOEPEEN; STANTON, 2018).

O túbulo contorcido proximal é responsável por cerca de 85% do bicarbonato de sódio filtrado, 40% do cloreto de sódio, 60% da água além de reabsorver completamente solutos orgânicos como glicose, frutose e aminoácidos (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014), ocorrendo a reabsorção de glicose principalmente através de co-transportadores acoplados ao sódio, SGLT-1 e SGLT-2 (VLOTIDES; MERTENS, 2002). O segmento existente entre as porções interna e externa da medula é o segmento fino descendente da Alça de Henle. Este segmento, altamente permeável à água, consegue concentrar o ultrafiltrado em

virtude da reabsorção passiva de água, auxiliada pela hipertonicidade do interstício medular (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014). Sendo o segmento espesso ascendente impermeável à água, este promove a reabsorção de solutos, realizando a diluição do ultrafiltrado.

O túbulo distal e o ducto coletor são revestidos por vários tipos de células, sendo o túbulo distal sitio para a ação de hormônios como a aldosterona, envolvida na reabsorção de sódio e secreção de potássio, ao passo que o ducto coletor é sitio de ação de hormônios como antidiurético, culminando no aumento da reabsorção de água (AIRES, 2012). Células presentes no ducto coletor, como células principais, que reabsorvem sódio e secretam potássio e células intercalares, envolvidas principalmente na secreção de hidrogênio (RANG; DALE, 2016), possuem funções para a manutenção da homeostase do equilíbrio ácido-base, equilíbrio do potássio, sódio, e reabsorção do magnésio, além da concentração urinária (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

### **2.1.2 Transporte de Solutos e Água**

O processo de reabsorção e de secreção que acontece nos túbulos renais está intimamente relacionado com a estrutura celular da região onde acontece o transporte. Regiões especializadas das células luminiais como a borda em escova, presente no túbulo contorcido proximal, ou a presença de endotélios fenestrados nos capilares glomerulares, aliados a presença de proteínas na membrana plasmática, são fatores essenciais para as funções de transporte e filtração respectivamente (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Apesar de suas variações em forma e função, todas as células epiteliais que compõem o néfron partilham uma característica fundamental, a polarização. As membranas plasmáticas de células epiteliais polarizadas são divididas em domínios distintos tanto morfológicamente quanto bioquimicamente, uma membrana voltada para a face luminal do túbulo renal, membrana apical, enquanto outra membrana entra em contato com a membrana basal e a células tubulares laterais, membrana basolateral. A manifestação de polaridade bioquímica implica que elas têm a capacidade de gerar e manter subdomínios diferenciados entre a membrana e a

superfície celular (MATLIN; VALENTICH, 1989; RODRIGUEZ-BOULAN; NELSON, 1989; DUFFIELD; CAPLAN; MUTH, 2008; MUTH; CAPLAN, 2003).

O epitélio tubular renal é composto de uma quantidade notável de tipos celulares, variando desde células glomerulares altamente especializadas, com processos podocíticos que facilitam a filtração do sangue através da membrana basal, até epitélio pavimentoso da alça de henle (ALPERN; CAPLAN; MOE, 2012).

Apesar de sua diversidade celular, certas características são compartilhadas entre todos os tipos celulares do epitélio tubular, como a presença de uma superfície lateral especializada para interações célula-célula, regulação da permeabilidade transepitelial, e uma superfície basal que adere a membrana basal (ALPERN; CAPLAN; MOE, 2012).

Todas as células epiteliais, incluindo aquelas dos túbulos renais possuem superfícies laterais especializadas para a interação celular, realizadas através da presença de estruturas como junções estreitas ou *zonula occludens*, junções de adesão ou *zonulas adherens*, desmossomos (SCHWARZ, 1990) e junções comunicantes (SIMON; GOODENOUGH, 1998; 1999).

O transporte iônico pelas membranas celulares serve dois propósitos importantes nos organismos pluricelulares; a manutenção do volume e composição do fluido intracelular e a preservação e regulação do volume e composição, do fluido extracelular (SCHULTZ, 1981a).

A visão corrente é que a membrana plasmática é altamente organizada e de estrutura assimétrica composta de lipídios e proteínas (ENGELMAN, 2005).

Existem diferenças quanto à composição lipídica dentro de uma monocamada; esfingolipídios, esteróis, e fosfatidilcolina predomina no folheto extracelular, onde o folheto intracelular é enriquecido com fosfatidilinositol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, e ácido fosfatídico, o qual resulta em uma carga negativa que facilita a ligação de proteínas transmembrana e periféricas (MCINTOSH; SIMON, 2006).

Proteínas envolvidas no transporte ativo de íon sódio, como a própria bomba de sódio,  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -ATPase, são localizadas na membrana basolateral e através do bombeamento de íons sódio para o espaço intersticial das células tubulares renais. Tal processo cria um gradiente eletroquímico, a favor do fluxo de sódio a partir da face luminal tubular para os capilares peritubulares, exercendo influência sobre o transporte de moléculas de água através de canais, aquaporinas,

na membrana apical das células tubulares, e pelo transporte paracelular, onde outros íons, como  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$  também são transportados (KAPLAN, 2002).

## 2.2 Fisiologia Renal do Coelho

### 2.2.1 Macro anatomia

Macro anatomicamente, os rins do coelho se localizam de modo retroperitoneal, onde pode-se localizar o rim direito do coelho entre a 13<sup>o</sup> vértebra torácica e a 2<sup>o</sup> 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<sup>o</sup> e 5<sup>o</sup> 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). Em relação à coluna vertebral e a parede abdominal esquerda e direita, os dois rins se localizam no meio da distância entre esses dois pontos (DIMITROV *et al.*, 2012).

Os rins de coelho são tipicamente em formato de feijão, havendo o rim direito seu polo cranial mais achatado comparativamente ao rim esquerdo (Figura 2). O corte sagital do rim demonstra claramente diferentes regiões do parênquima renal (córtex, medula e papila) e a pelve renal (DIMITROV *et al.*, 2012).

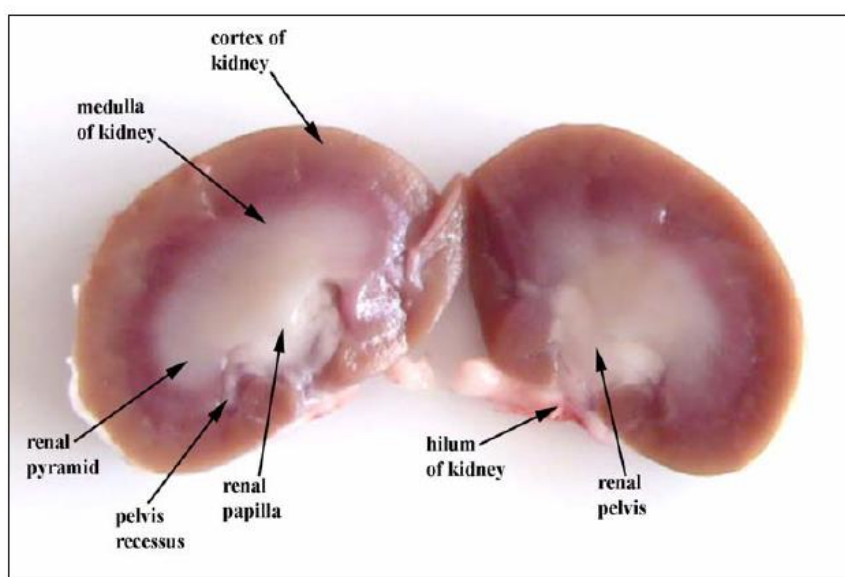
Figura 2: Forma dos rins de coelhos Nova Zelândia



Fonte: DIMITROV *et al.*, 2012.

Diferentemente de muitas espécies, o coelho tem um rim unipapilar (BREWER, 2006; DIMITROV *et al.*, 2012; ARTHUR, 2016). Pode-se caracterizar a pelve do coelho como tipicamente unipapilar (Figura 3), de forma afunilada, simples, onde uma papila e um cálice entram no ureter diretamente, tornando a pelve renal uma extensão direta do ureter (DWYER; SCHMIDT-NIELSEN, 2003).

Figura 3: corte sagital dos rins de coelhos Nova Zelândia.



Fonte: DIMITROV *et al.*, 2012.

Morfologicamente, a medula do rim de coelho tem as extremidades curvadas nos polos superior e inferior renal, direcionadas para o hilo renal (SHEEHAN; DAVIS, 1959). A pirâmide propriamente dita é uma projeção da medula, formando um cone achatado. A medula, por sua vez, é dividida em uma zona externa, posteriormente se dividindo em uma faixa externa e interna, na qual forma a papila.

Quanto à vasculatura renal do coelho, não se tem uma diferença quanto ao tamanho, sendo todos de tamanho uniforme e distribuição regular ao longo da faixa interna. Diferentemente do rato e camundongo, os feixes vasculares não se fundem para formar feixes secundários (KOEPPEN, 1980).

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

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

No coelho, assim como em muitos mamíferos, pouco ou nenhum glomérulo toca a superfície renal, como acontece em anfíbios e na linhagem de ratos Wistar-Munich (BREWER, 1994). Outra diferença anatômica renal é a presença de uma região curta que conecta o glomérulo ao túbulo contorcido proximal (SCHONHEYDER; MAUNSBACH, 1975), assim como uma região curta conectando o túbulo contorcido distal ao ducto coletor (KRIZ *et al.*, 1988).

Assim como no glomérulo, as Alças de Henle também possuem distinções na sua morfologia, sendo compostas de 70% de alças longas e 30% de alças curtas. O número de alças curtas sobrepõe o número de alças longas em ratos, camundongos, humanos e porcos, ao passo que carnívoros possuem somente alças longas (BREWER; CRUISE, 1994).

### **2.2.1 Marcadores de Função renal**

Assim como outros mamíferos, o coelho possui suas particularidades quanto aos seus aspectos fisiológicos, especificamente quanto a marcadores de função renais e níveis de eletrólitos, em virtude de seus aspectos morfofuncionais renais, e suas peculiaridades.

A creatinina é um composto nitrogenado de natureza não proteica produzido a partir da quebra da fosfocreatina muscular. Ela pode ser encontrada tanto no plasma quanto na urina, e pode ser usado como um marcador de função glomerular através da comparação da quantidade de creatinina presente na urina em relação ao plasma (AIRES, 2012).

Segundo Kaplan e Smith (1935), o uso de inulina ou creatinina pode ser feito no coelho como marcadores de função glomerular. Uma das particularidades do coelho é a alteração de função glomerular, especificamente, a taxa de filtração glomerular. O coelho tem a capacidade de aumento em até 16 vezes na diurese, sem significativamente haver aumento na taxa de filtração glomerular (SMITH,



1951). Tal fato se deve ao processo de auto regulação na arteríola aferente, o qual fenômeno semelhante não é encontrado em outros mamíferos (STEINHAUSEN; ENDLICH; WIEGMAN, 1990).

Os níveis de creatinina sérica no coelho variam em torno de 0,5- 2,5 mg/dl e podem ser aumentados em casos patológicos , como a presença de insuficiência renal ou lesão muscular (MITCHELL; TULLY , 2009).

Os principais eletrólitos que regulam nossas funções corporais como manutenção do potencial de repouso, gradiente iônico para transportes celulares e excitabilidade celular são considerados sódio, potássio e cloro.

O sódio é um cátion presente em todos os espaços teciduais, e sua concentração está associada com a homeostase osmótica. O sódio plasmático geralmente está em equilíbrio com o sódio excretado, onde a maior reabsorção de sódio ocorre nos túbulos distais e ductos coletores do rim. A faixa referencial para o sódio sérico em coelhos é 131- 155 mEq/l, e os níveis podem variar consideravelmente, distinguindo-se entre as cepas de coelhos ( FOX; LAIRD, 1970).

Potássio é primariamente um cátion intracelular, importante para a manutenção do potencial de membrana. Os níveis intracelulares e extracelulares de potássios são regulados por mecanismos complexos de troca iônica, onde compostos como aldosterona, catecolaminas e insulina podem modificar os níveis intracelular ou extracelular (EVANS, 2009). A faixa referência de potássio sérico para coelhos é ao redor de 3.5- 6.9 mEq/l e pode flutuar fisiologicamente tanto em coelhos quanto em outros herbívoros ( MELILLO, 2007).

Cloreto é um ânion encontrado em grande quantidade no meio extracelular, e juntamente com o sódio, é importante para a manutenção da osmolalidade e do balanço ácido-base. Os níveis referências para o cloro em coelhos são de 92-120 mEq/l e permanecem constante em diferentes idades e sexo (KURTZ; TRAVLOS, 2017).

### **2.3 Balanço Hidrossalino.**

Diariamente, nosso corpo regula a homeostase do volume de fluidos para ajustar as concentrações de sais e eletrólitos de forma compatível com a vida. Os rins participam ativamente do processo de controle do equilíbrio hidrossalino,

realizando processos celulares de secreção e reabsorção nos túbulos renais (GARBERS; DUBOIS, 1999).

A adaptação dos transportes renais e intestinais para água e eletrólitos às mudanças na ingestão diária de sódio é controlada primariamente por dois mecanismos endócrinos distintos- o sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona e o peptídeo natriurético atrial (ANP) (POTTHAST, 2001).

Alterações como redução e expansão de volume plasmático desencadeiam mecanismos homeostáticos para reestabelecer condições funcionais basais. O sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona é um mecanismo clássico para promover redução de volume sanguíneo através do aumento dos níveis séricos de um potente mediador vasoconstrictor, angiotensina II e sinalização hormonal a partir deste, pela liberação de aldosterona do córtex suprarrenal, e como consequência, aumento da reabsorção distal de NaCl (SILVERTHORN, 2009).

Apesar de o sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona atuar como principal sistema na regulação da excreção de sódio renal, experimentos nos meados de 1950 sugeriram existência de outros fatores natriuréticos (SAGNELLA, 2000). Henry e colaboradores (1956) forneceram evidências para a presença de receptores, localizados no átrio esquerdo, que eram sensíveis as mudanças no volume circulante de sangue e afetava as respostas homeostáticas do rim. Pesquisas subsequentes levaram a descoberta do peptídeo natriurético atrial (PNA) nos meados de 1980 (DE BOLD, 1985).

Desde então, numerosos estudos tem provido novos achados sobre o papel do PNA na regulação do volume sanguíneo e proteção contra a sobrecarga de volume.

Está estabelecido na literatura que o PNA pode rapidamente aumentar a eliminação de sódio, promovendo um grande aumento na filtração glomerular (MELO, 2000) e diminuindo a reabsorção tubular de sódio (COGAN, 1990). Porém, este sistema é dependente de um aumento inicial, sendo necessária uma grande magnitude em termos de estímulo para haver a liberação do peptídeo dos receptores atriais, portanto, dificilmente desempenhando um papel significativo no dia-a-dia da homeostase do NaCl (COGAN, 1990 ; MELO, 2000).

Experimentos em 1970 demonstraram que em coelhos e humanos, uma carga salina oral pode evocar uma maior natriurese do que o equivalente dado por via intravenosa, sugerindo a existência de um hormônio natriurético liberado a partir

do trato gastrointestinal (FONTELES; NASCIMENTO, 2011). Inicialmente denominado “*Fator natriureticus similis*” (FONTELES *et al.*, 1990 e 1993), foi posteriormente isolado, purificado e sua estrutura determinada a partir do jejuno de rato (CURRIE *et al.*, 1992), sendo denominado guanilina. Um terceiro sistema para manutenção do equilíbrio hidrossalino pode ser citado; o sistema uroguanilina e guanilinas.

### 2.3.1 Papel do Intestino do coelho na Regulação do Sal

O sistema gastrointestinal coordena os eventos da digestão e absorção dos nutrientes e líquidos ingeridos pelo organismo, além de outras funções essenciais como a secreção e absorção de fluidos, eletrólitos e minerais (YANG; JOSE; ZENG, 2017; MEERVELD, 2017).

A anatomo-fisiologia do sistema gastrointestinal do coelho o faz um animal único, verdadeiramente herbívoro não ruminante. O estômago do coelho compreende cerca de 15% do volume total do sistema gastrointestinal (JOHNSON-DELANEY, 2006), sendo limitado superiormente por um esfíncter cardíaco extremamente bem desenvolvido que impede o vômito (BOTHA, 1958). A porção cardíaca do estômago tem paredes finas, é não glandular e intrinsecamente imóvel (DAVIES; DAVIES, 2003).

Assim como em outros mamíferos, o tecido presente no fundo do estômago contém células parietais que secretam ácido clorídrico e fatores intrínsecos, como também células principais que secretam pepsinogênio, contribuindo para a ocorrência da diminuição do pH luminal e digestão de bolo alimentar (DAVIES; DAVIES, 2003).

Mesmo após 24 horas de jejum, o estômago pode conter uma mistura de bolo alimentar, pelos e fluidos, podendo estar ainda 50% cheio (O'MALLEY, 2005; GRIFFITHS; DAVIES, 1953).

O intestino delgado ocupa aproximadamente 12% do volume total do trato gastrointestinal. Formado por duodeno, jejuno e íleo, este possui algumas estruturas que são exclusivas do coelho enquanto espécie. O intestino delgado pode ser considerado mais curto se comparado a outras espécies (Figura 4) (SUCKOW; STEVENS; WILSON, 1997).

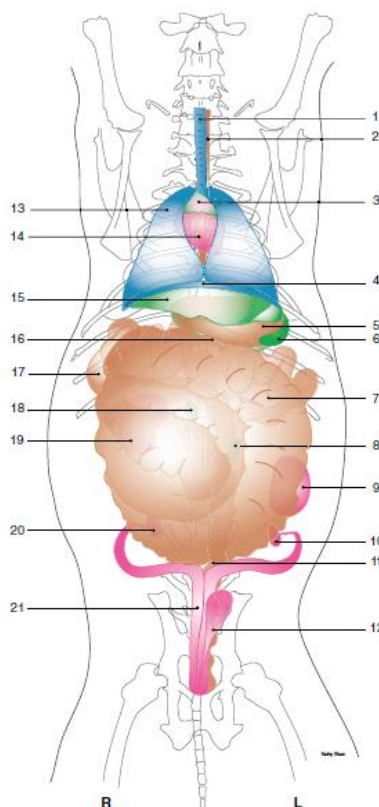
Por se tratar de um animal cujo sistema digestivo está constantemente ativo, promovendo rápida peristalse e digestão, porém, com baixa ingestão de proteínas e carboidratos (WEISBROTH; FLATT; KRAUS, 2013), o pâncreas possui um tamanho menor.

Anatomicamente, o duodeno se liga ao ducto biliar e ao pancreático, que penetram na região duodenal separadamente (CUNHA; CHEEKE, 2012; BLAS; WISEMAN, 2010). Enquanto o ducto biliar se conecta ao duodeno proximal, o ducto pancreático se conecta de forma distal. O lobo direito do pâncreas se localiza perto da alça duodenal e o esquerdo repousa entre o estômago e o cólon transversal (JOHNSON-DELANEY, 2006).

O jejuno é a estrutura mais longa do intestino delgado, possuindo menor vascularização do que o duodeno e paredes mais finas. O íleo em sua parte mais distal, dorsalmente ao intestino grosso no quadrante caudal esquerdo, dá origem a uma estrutura chamada *sacculus rotundus* (QUESENBERRY; CARPENTER, 2011; FUDGE, 2000), marcando a junção do íleo, o ceco e o cólon. O *sacculus rotundus* é freqüentemente chamado de "amígdala cecal" por causa do tecido linfático e da composição dos macrófagos. Esta estrutura parece ter uma função imunológica e somente achado em lagomorfo (FUDGE, 2000).

O ceco do coelho é proporcionalmente o maior do que qualquer mamífero. É duas vezes o comprimento da cavidade abdominal e 40- 60% do volume total do trato gastrointestinal (FUDGE, 2000).

Figura 4: representação anatômica ventro-dorsal dos órgãos dentro da cavidade abdominal e torácica de uma fêmea adulta de coelho. 1. Traqueia, 2. Esôfago, 3. Timo, 4. Diafragma, 5. Estômago, 6. Baço, 7. Ceco, 8. Glândula Adrenal Esquerda, 9. Rim esquerdo, 10. Ovário Esquerdo, 11. Cólon descendente, 12. Bexiga urinária, 13. Pulmões, 14. Coração, 15. Fígado, 16. Pâncreas, 17. Intestino Delgado, 18. Glândula Adrenal Direita, 19. Rim direito, 20. Ovário Direito, 21. Corno direito do útero



Fonte: SILVERMAN; TELL, 2005.

Enquanto o processo digestivo e absorptivo no coelho guardam semelhanças com outras espécies, ainda existem muitas diferenças anatômicas na estrutura da superfície epitelial e organização celular que diferem em segmentos consecutivos do trato intestinal (SNIPES *et al.*, 1982). Tais diferenças se tornam cruciais para heterogenicidade funcional entre segmentos quanto à diferença de potencial elétrico transepitelial e concentração de eletrólitos ao longo do intestino delgado e grosso.

Anteriormente, trabalhos haviam demonstrado que o cólon de mamífero absorvia  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ , e secretava  $\text{K}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$  quando o lúmen era exposto a uma solução similar ao plasma, livre de proteína (TURNBERG, 1970). Inferia-se o

movimento de  $\text{Na}^+$  e  $\text{HCO}_3^-$  à transportes ativos, mas  $\text{K}^+$  e  $\text{Cl}^-$  permaneciam não explicados (FRIZZELL; KOCH; SCHULTZ, 1976).

Posteriormente, Frizzell e colaboradores (1976) demonstraram *in vitro* que o colón isolado de coelho absorve ativamente  $\text{Na}^+$ , contribuindo para a diferença de potencial elétrico transepitelial, enquanto o  $\text{K}^+$ , devido ao potencial elétrico favorável e alta permeabilidade, é ativamente secretado no lúmen intestinal (TURNBERG, 1970). O processo absorptivo de  $\text{Cl}^-$  é realizado pelo transportador  $\text{Cl}^- - \text{HCO}_3^-$ , no qual a produção de  $\text{HCO}_3^-$  é derivada da atividade da anidrase carbônica, vista ser expressa no colón do rato e porquinho da índia (CARTER; PARSONS, 1971).

Welsh e colaboradores (1982) demonstraram que os processos absorptivos ocorrem em locais diferentes na estrutura tecidual da mucosa gastrointestinal. As criptas do cólon promovem a secreção eletrogênica de  $\text{Cl}^-$ , mediado por ATP cíclico, enquanto outros trabalhos (SCHULTZ; FRIZZELL; NELLANS, 1977) demonstraram que as células epiteliais de superfície estavam envolvidas no processo absorptivo de  $\text{Na}^+$ .

Posteriormente, após extensivamente estudado, preparações de cólon de coelho *in vitro* forneceram um modelo para a absorção eletrogênica de  $\text{Na}^+$  em intestino grosso de mamíferos (SCHULZ 1981b; SCHULZ; FIELD; FRIZZELL, 1991).

Entretanto, a maioria dos trabalhos relataram resultados em cólon descendente. Somente em 1982, os trabalhos de Clauss e Hernicke, e em 1984, com os trabalhos de Sellin e DeSoigne, puderam ser investigados as diferenças quanto às propriedades elétricas nos diferentes segmentos de cólon para o transporte iônico de  $\text{Na}^+$  e  $\text{Cl}^-$ .

Clauss e colaboradores (1985) demonstraram a existência de diferentes padrões de reabsorção de eletrólitos presente ao longo do intestino grosso do coelho. A absorção de  $\text{Na}^+$  se mostrou decrescente do ceco para o cólon distal, onde a administração de oubaína aboliu a absorção de  $\text{Na}^+$  em todos os segmentos. Postulou-se a ação da bomba de sódio basolateral no transporte ativo de  $\text{Na}^+$  nos segmentos proximais e distais, já que a expressão de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase já havia sido descrita em intestino grosso de coelhos anteriormente (VENGESA; HOPFER, 1979).

Assim como demonstrado por Snipes e colaboradores (1982), existem diferenças quanto ao conteúdo de eletrólitos nas fezes em diferentes locais do intestino do coelho. E a variação na motilidade, associada ao ritmo diurno,

estabelece diferenças quanto à capacidade de absorção de eletrólitos de 2 a 8 vezes (CLAUSS, 1984), em diferentes segmentos.

A heterogeneidade das propriedades de absorção ao longo do cólon do coelho parece, portanto, fazer parte do mecanismo digestivo especial nesta espécie, e mostra que esse órgão é mais diferenciado do que o intestino grosso de outros mamíferos.

Portanto, o intestino do coelho atua permanentemente na regulação da concentração de sal presente nas fezes, possuindo meios para detectá-la, e controlar sua variação quando necessário, à nível de meio interno e meio externo.

A sensibilidade ao sal é uma resposta fisiológica complexa nos organismos superiores, na qual o objetivo do sistema é manter o balanço de sal nos limiares normais. A sensibilidade ao sal ocorre em muitos locais do organismo, incluindo o trato gastrointestinal, língua, estômago, intestino delgado e grosso (NODA; HIYAMA, 2015; ORLOV; MONGIN, 2007; TITZE; MACHNIK, 2010; JONES *et al.*, 2014; BENOS, 2004; XU *et al.*, 2015).

Um dos primeiros órgãos a serem expostos ao sal ingerido é o trato gastrointestinal. Em um estado de depleção de sal, as necessidades de sal sentidas por órgãos como língua e estômago levam o organismo a intencionalmente ingerir mais sal (FU; VALLON, 2014), ocorrendo o oposto em um estado de excesso de sal, onde há a ativação de mecanismos fisiológicos em outros órgãos para inibir a absorção/reabsorção de  $\text{Na}^+$ .

Um dos primeiros trabalhos a demonstrarem a sensibilidade ao sal na fisiologia gastrointestinal de coelho foi o de Lennane e colaboradores (1975) no qual foram feitos experimentos com coelhos (3 Kg) seguindo dois protocolos; a administração em bólus de 1.5 mmol de  $\text{Na}^+$  / Kg de peso corporal, via veia marginal da orelha (i.v), e simultaneamente, o mesmo volume de solução salina hipotônica (0.075 mmol/Kg) via gavagem. O segundo protocolo, administrava-se a solução hipotônica via intravenosa, e a solução hipertônica por gavagem. A urina foi colhida através de um cateter Foley inserido na bexiga, por períodos de 4,8 e 24 h.

Os resultados mostraram que o grupo o qual havia recebido uma carga de sódio oral produziu uma natriurese significativamente maior em todos os tempos comparado ao grupo cuja administração foi intravenosa (Tabela 1). A excreção de potássio e volume de urina não foi significativamente modificada em 4,8 ou 24 h (LENNANE *et al.*, 1975).

Tabela 1: Excreção urinária de Na<sup>+</sup> antes e depois da carga de cloreto de sódio. Resultados estão representados como médias  $\pm$  erro padrão da média para dados pareados de 11 coelhos. Significância estatística foi testada para teste T pareado (n=11). NS= Não significativa (Adaptado de LENNANE *et al.*, 1975).

Excreção Urinária de sódio ( $\mu\text{mol}$ )					
Via de Administração da Exposição	Antes		Depois		Aumento após Exposição
	24 h	0-4 h	0-8 h	0-24 h	24 h
<b>Oral</b>	482 $\pm$ 97	720 $\pm$ 142	1315 $\pm$ 287	2736 $\pm$ 497	+2254 $\pm$ 457
<b>Intravenosa</b>	332 $\pm$ 88	244 $\pm$ 43	349 $\pm$ 39	608 $\pm$ 70	+275 $\pm$ 108
<b>t</b>	0.14	3.83	3.25	4.19	3.34
<b>P</b>	NS	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005

Anteriormente, trabalhos de diversos pesquisadores haviam mostrado que diversos fatores poderiam levar a um evento de natriurese. Starling e Veney (1925) demonstraram que concentrações variadas de fluidos de modo intravenoso poderiam produzir mudanças osmolares e hemodinâmicas, levando a natriurese.

Outros autores postularam que parâmetros como hematócrito (SCHRIER; EARLEY, 1970), pressão oncótica plasmática (HOWARD *et al.*, 1968) e concentração de sódio plasmático (GOLDSMITH; RECTOR; SELDIN, 1962) poderiam exercer efeitos renais.

Entretanto, na época, não havia consenso se a ocorrência de uma natriurese após uma carga oral de sódio poderia ser explicada através de mudanças cardiovasculares, atividade do sistema nervoso simpático, concentração de sódio tubular ou viscosidade do sangue (HOLLENBERG *et al.*, 1972).

A partir deste estudo, diversas explicações para este fenômeno surgiram, como; reflexos neurais desencadeados pela parede gastrointestinal, liberação de uma substância inibidora da ação da aldosterona, estímulos de natureza osmótica ou não para a circulação porta-hepática que levariam às alternativas acima, e por último, a liberação de um hormônio natriurético.



### 2.3.2 Papel do Rim na Regulação do Sal

A fim de se estudar o transporte tubular renal em modelo experimental de coelhos, foram desenvolvidas técnicas que se utilizavam de fragmentos com 2 mm de espessura, segmentados a partir do centro do rim do coelho (BURG *et al*, 1965).

Posteriormente, em 1970, Grantham e colaboradores examinaram a natureza do transporte tubular de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  em fragmentos isolados a partir do túbulo coletor de néfrons corticais do coelho, utilizando a técnica de fragmentação. Obtiveram, então, evidências para a secreção de  $\text{K}^+$  e reabsorção de  $\text{Na}^+$  nos túbulos renais.

Em épocas passadas, era bem estabelecido que o  $\text{K}^+$  filtrado era completamente absorvido nos néfrons proximais de mamíferos (BERLINER; KENNEDY; HILTON, 1950). No entanto, a partir de trabalhos com a técnica de clearance renal (DAVIDSON; LEVINSKY; BERLINER, 1958) e fluxo estático (WALKER *et al.*, 1961; VANDER, 1961), em aves e mamíferos, demonstrou-se que há a secreção de  $\text{K}^+$  através do túbulo distal.

Diversas outras espécies como ratos (MALNIC, 1964; 1969), cães (BENNETT; CLAPP; BERLINER, 1967), macacos (BENNETT; CLAPP; BERLINER, 1967) e coelhos (GRANTHAM; BURG; ORLOFF, 1970) foram objetos de pesquisa quanto à microperfusão de túbulos convolutos, o que possibilitou a demonstração da reabsorção de  $\text{K}^+$  no túbulo proximal e alças de henle.

Na década de 70, a partir da técnica de microperfusão, pôde-se determinar a diferença entre diversos segmentos do túbulo distal (WOODHALL; TISHER, 1973; MOREL *et al.*, 1976). Um estudo morfológico por Woodhall e Tisher (1973) sugeriu que existe uma heterogeneidade a nível funcional em virtude da ação do hormônio antidiurético nos segmentos distais do néfron potencialmente disponíveis para microperfusão.

Um estudo de perfusão *in vitro* nos fragmentos de túbulos de coelho demonstrou que o segmento mais proximal do túbulo distal é funcionalmente diferente do túbulo coletor cortical no tocante a sua resposta ao hormônio antidiurético e corticoides.

Pesquisas já tinha sugerido que poderiam existir segmentos distintos entre o túbulo distal e o túbulo coletor cortical, a partir de dados morfológicos (IMAI, 1979) e embriológicos (OSATHANDONH; POTTER 1963).

Posteriormente, tais diferenças foram confirmadas através de microscopia eletrônica (KRIZ 1978a, KRIZ 1978b), onde ficavam evidente os diferentes aspectos tubulares entre os segmentos de túbulo distal, túbulo conector e túbulo coletor cortical. Estudos bioquímicos de túbulos renais isolados (MOREL *et al.*, 1976; CHABARDES *et al.*, 1975) corroboram a visão de que existe um segmento funcionalmente distinto entre o túbulo distal e o túbulo coletor cortical.

Concluindo, o néfron distal do coelho pode ser classificado em segmentos funcionais distintos: o túbulo distal, o túbulo conector, e o túbulo coletor cortical. Apesar de o túbulo conector ter características em comum com o túbulo distal, este segmento é único.

## **2.4 Guanilinas e Uroguanilinas**

Guanilinas e Uroguanilinas são peptídeos sintetizados como pró-hormônios e têm sido isolados do plasma de diversos organismos como bactérias, humanos, gambás, porquinhos da Índia, ratos, entre outros (FONTELES; NASCIMENTO, 2011), os quais apresentam alta homologia entre as estruturas peptídicas encontradas em sistemas fisiológicos de espécies diferentes (Figura 5).

Figura 5: Estruturas peptídicas primárias de guanilina, uroguanilina e enterotoxina termoestável e suas expressões em diversas espécies. Q: glutamina. E: ácido glutâmico. D: aspartato. L: leucina. C: cisteína. N: asparagina. I: isoleucina. V: valina. A: alanina. T: treonina. G: glicina. S: serina. H: histidina. P: prolina. Y: tirosina. W: triptofano. D: aspartato. F: fenilalanina.

<b>Uroguanilin</b>																
Opossum	Q	E	D	C	E	L	C	I	N	V	A	C	T	G	C	
Human	N	D	D	C	E	L	C	V	N	V	A	C	T	G	C	L
Rat/Mouse	T	D	E	C	E	L	C	I	N	V	A	C	T	G	C	
<b>Guanvlin</b>																
Opossum	S	H	T	C	E	I	C	A	F	A	A	C	A	G	C	
Human	P	G	T	C	E	I	C	A	Y	A	A	C	T	G	C	
Rat/Mouse	P	N	T	C	E	I	C	A	Y	A	A	C	T	G	C	
<b>Lymphoguanvlin</b>																
Opossum	Q	E	E	C	E	L	C	I	N	M	A	C	T	G	Y	
<b>ST Bacterial Peptides</b>																
<i>E. coli</i> STa	*N	Y	C	C	E	L	C	C	N	P	A	C	T	G	C	Y
<i>V. cholerae</i> ST	*I	D	C	C	E	I	C	C	N	P	A	C	F	G	C	L
<i>Y. enterocolitica</i> *W	D		C	C	D	V	C	C	N	P	A	C	A	G	C	

Fonte: FONTELES *et al.*, 1998

A família das guanilinas, atualmente, incluem 4 membros; guanilinas, uroguanilinas, linfoguanilinas e renoguanilinas achadas em enguias. As guanilinas foram os primeiros peptídeos a serem isolados, a partir de jejuno de rato (CURRIE *et al.*, 1992). Posteriormente, uroguanilina foi isolada a partir de urina de gambá (HAMRA *et al.*, 1993), ao passo que linfoguanilina foi isolada a partir de seu tecido linfático (FORTE *et al.*, 1999) e renoguanilina a partir de enguias (YUGE; TAKEI, 2007). Renoguanilina e linfoguanilina ainda carecem de investigações acerca de sua expressão ou papel fisiológico no organismo de mamíferos.

A literatura relata a expressão e síntese de guanilinas e uroguanilinas tanto no trato gastrointestinal quanto no sistema renal. Ambos estão presentes no epitélio intestinal, e são secretadas no lúmen intestinal e na circulação sanguínea (FORTE, 2004; 2005). Elas são liberadas apicalmente, no lúmen intestinal e basolateralmente em confluência com os vasos sanguíneos (RUDOLPH; HAWKINS; COHEN, 2002).

Uroguanilina é principalmente sintetizada nas células enterocromafins e guanilina nas células calciformes no cólon e outros tecidos, como cérebro

(COHEN *et al.*, 1995; RAHBI *et al.*, 2012 ;TEIXEIRA *et al.*, 2013). O RNAm para a expressão de guanilina pode ser encontrado desde o duodeno até o cólon distal, tendo sua menor expressão nas partes iniciais do trato digestivo até a máxima expressão nas partes mais distais do trato gastrointestinal (FONTELES; NASCIMENTO, 2011). Uroguanilinas estão presentes ao longo do trato gastrointestinal, havendo sua máxima expressão na região do duodeno (RAHBI *et al.*, 2012; SINDIC, 2013).

Similarmente ao intestino, a expressão de guanilinas e uroguanilinas no rim não é homogênea. Existe um eixo de expressão crescente em relação às diversas partes do néfron, sugerindo uma ação endócrina para uroguanilinas expressas no intestino, parácrina e autócrina para guanilinas expressas nos túbulos renais. O RNAm para guanilinas está mais expresso nos ductos coletores, em analogia ao cólon, enquanto o RNAm para uroguanilinas está mais expresso nos segmentos iniciais dos néfrons, os túbulos contorcidos proximais (POTTHAST *et al.*, 2001).

Atualmente, diversos trabalhos apontam para a existência de um eixo endócrino entero-renal para regulação da ingestão de sal a partir da produção de peptídeos natriuréticos. A uroguanilina é liberada a partir do intestino como pró-uroguanilina, sendo convertida a peptídeo natriurético ativo dentro dos túbulos renais (MOSS *et al.*, 2008; QIAN *et al.*, 2008), estabelecendo então, um eixo entero-renal.

#### **2.4.1 Descoberta das Uroguanilinas**

Desde a década de 70, pesquisas de Carey e colaboradores (1976) demonstravam uma diferença, em modelos experimentais humanos e coelhos, entre a natriurese provocada pela administração de sal oral e parenteral. Essas observações contribuíam para a criação de um conceito sobre uma sinalização entre o sistema gastrointestinal e o sistema renal. De acordo com este conceito, haveria a liberação de hormônios natriuréticos do intestino para a circulação em resposta à ingestão oral de sal, e posteriormente haveria a excreção de sal via renal.

Pesquisas realizadas por Lima e Fonteles (1983), durante a década de 80, permitiram descobrir as ações natriuréticas, caliuréticas e diuréticas de uma fração parcialmente purificada de enterotoxina termoestável de *Escherichia coli*

(STa) em modelo de rim perfundido de rato. Os resultados da pesquisa foram apresentados no XVIII congresso brasileiro de fisiologia e divulgados para a comunidade científica à época.

A ação da enterotoxina de *Escherichia coli* nos túbulos renais do néfron de rato os levou a postular a existência de um mediador endógeno que causasse, de modo semelhante, a excreção de sódio, potássio e água no rim.

Fonteles e colaboradores (1990; 1993), posteriormente, durante a década de 90, conduziram pesquisas em rins de coelhos sob condições de 90 minutos de hipóxia. Essa condição fisiológica levava a liberação de um fator com propriedades natriuréticas, capaz tanto de se ligar a anticorpos para ANP quanto de induzir a geração de GMPc em células T84. Foi denominado "*Factor Natriureticus Similis*".

Posteriormente, em 1991, Fonteles e colaboradores apresentaram resultados inéditos da ação da Enterotoxina da *Escherichia coli* (STa) e toxina da cólera, na vigésima quinta conferência Estados Unidos- Japão de cólera e doenças relacionadas à diarreia. STa (0,42 ng/g/min) promoveu em rim perfundido de coelho uma diminuição da reabsorção fracionada e o percentual de reabsorção proximal de sódio. Naquele mesmo ano, 1992, Currie e colaboradores isolaram, purificaram e determinaram a estrutura das guanilinas a partir do jejuno de rato.

Anos mais tarde, em 1993, Fonteles e colaboradores, caracterizaram as ações renais de um análogo das guanilinas, comparativamente à Enterotoxina termo estável de *Escherichia coli*, Lis-guanilina (2 µg), promovendo um aumento de 4x no fluxo urinário, 100% de aumento do Ritmo de Filtração Glomerular e diminuição na fração de sódio e potássio reabsorvidos.

Já em 1998, Fonteles e colaboradores caracterizaram as atividades caliuréticas, natriuréticas e diuréticas de guanilinas e uroguanilinas em rim perfundido de rato, postulando que esses peptídeos atuam no equilíbrio e regulação do transporte de água e sais no intestino e rim.

Em 2003, Santos-Neto e colaboradores, demonstraram o efeito renal de um análogo das guanilinas, Lis-guanilina (1 e 2,5 µg/ml), na perfusão renal de rato. Os efeitos renais de Lis-guanilina compreenderam uma redução do %TNa<sup>+</sup> e %TK<sup>+</sup>, assim como aumento na pressão de perfusão, fluxo urinário e clearance osmolar.

### 2.4.2 Estrutura Molecular

Guanilinas e uroguanilinas são peptídeos pequenos, termoestáveis, possuindo 15 a 19 aminoácidos. A guanilina humana consiste de 15 aminoácidos, com 2 pontes dissulfídicas entre as cisteínas nas posições 4 a 12 e 7 a 15 (MUELLER; DIEPLINGER, 2012 ). A uroguanilina humana consiste de 16 aminoácidos e possui pontes dissulfídicas nas mesmas posições (KITA *et al.*, 1994; MUELLER; DIEPLINGER, 2012). Em ambas, as pontes dissulfídicas podem influenciar na sua conformação estrutural e a sua atividade biológica (SINDIC; SCHLATTER, 2006).

### 2.4.3 Mecanismo de Ação de Peptídeos Natriuréticos

A primeira descoberta da ação fisiológica das guanilinas se deu no túbulo proximal. Células do túbulo proximal são específicas para realizar uma massiva reabsorção de água e íons. A cada dia, as células dos túbulos proximais reabsorvem cerca de 120L de água filtrada, 65% de sódio filtrado, potássio e cloreto, e quase todo o bicarbonato filtrado. Pequenas mudanças no transporte do túbulo proximal levam a grandes mudanças finais na urina.

Os sítios de ligação para Guanilinas, uroguanilinas e a enterotoxina termoestável de *Escherichia coli* (STa) estão localizados tanto no gambá quanto no humano nas células do túbulo proximal (FORTE; KRAUSE; FREEMAN, 1988; WHITE *et al.*, 1989; FUJIMOTO *et al.*, 2000).

Guanilinas aumentam a excreção de sódio, potássio e água nos rins sem mudanças no ritmo de filtração glomerular ou fluxo sanguíneo renal (FONTELES *et al.*, 1998; CARRITHERS *et al.*, 1999).

Em metodologia de rim perfundido, o tratamento com uroguanilina, guanilina ou STa demonstrou-se que guanilina é menos potente do que uroguanilina ou STa como um agonista diurético e natriurético. Entretanto, guanilina causa um aumento substancial na excreção de potássio. O tratamento com uroguanilina ou STa intravenosa em camundongos estimula a excreção de sódio, potássio e água,

porém, guanilina foi ineficaz em provocar natriurese , caliurese e diurese nas doses testadas (GREENBERG *et al.*, 1997).

O túbulo proximal está envolvido ativamente na reabsorção de bicarbonato. Uroguanilina se mostrou eficaz em inibir a atividade da isoforma 3 do trocador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  , localizado na membrana apical, decrescendo a secreção de íons hidrogênio e então, diminuindo a secreção de bicarbonato (LESSA *et al.*, 2012), e também a isoforma 2 no intestino (TORIANO *et al.*, 2012) Uroguanilina inibe a atividade de NHE3 via GMPc seguida por ativação de proteína quinase G, e aumento de AMPc, seguido por ativação de proteína quinase A. Ambas são capazes de fosforilar NHE3 na membrana apical das células , posteriormente, reduzindo sua expressão (LESSA *et al.*, 2012).

As formas circulantes no sangue de uroguanilina e pró-uroguanilina são consideradas a fonte majoritária de uroguanilinas biologicamente ativas presentes na urina (FAN, 1997; KINOSHITA *et al.*, 1997; NAKAZATO; YAMAGUCHI; DATE, 1996). Ambos os peptídeos são totalmente filtrados no glomérulo e podem atuar nos túbulos renais.

Ambas guanilinas e uroguanilinas que circulam no plasma, podem ser filtradas no glomérulo para a urina primária. Uroguanilina é excretada via urina final, enquanto a guanilina é dificilmente achada na urina (HAMRA *et al.*, 1993; MOSS *et al.*, 2008). A possível razão para este fato é a sensibilidade da guanilina a quimotripsinas presentes na borda em escova dos túbulos renais, na qual degrada rapidamente guanilina após a filtração glomerular no lúmen do túbulo renal (CAPRICK; GARIEPY, 1993; MOSS *et al.*, 2008). Essas diferenças na degradação e padrão de expressão de guanilinas e uroguanilinas sugerem que provavelmente guanilina atue como hormônio estritamente autócrino, enquanto uroguanilina possa atuar como hormônio parácrino no rim.

A fonte dos peptídeos guanilinas e uroguanilinas no lúmen tubular, além do processo de filtração glomerular, poderia ser também a expressão de RNAm de guanilinas e uroguanilinas nas células epiteliais renais (POTTHAST *et al.*, 2001; CARRITHERS *et al.*, 2000; FUJIMOTO *et al.*, 2000)

Dados a partir de células em cultura de túbulos proximais sugerem que as guanilinas inibem a reabsorção de sódio neste segmento do nefron. Uroguanilina diminuem a expressão de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase, o qual diminui o gradiente de

concentração para o sódio, e então, reduz a reabsorção de eletrólitos acoplados ao sódio a partir do lúmen tubular ( CARRITHERS *et al.*, 1999).

Finalmente, assim como no intestino, o aumento no GMPc celular por guanilina e uroguanilina ( FAWCUS *et al.*, 1997), inibiria o trocador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  e então, reduziria a reabsorção de volume e de sódio.

Como mencionado acima, as guanilinas ainda podem causar natriurese, caliurese e diurese em camundongos *knockout* para receptores de guanilato ciclase tipo C(GC-C), sugerindo a existência de mais de uma isoforma presente nos rins ou vias de sinalização independentes de receptores guanilato ciclase e formação de GMPc (SINDIC *et al.*, 2013 ).

## 2.5 Receptores Moleculares Guanilato Ciclase e Guanilinas

Enterotoxinas termoestáveis são capazes de estimular receptores guanilato ciclase de membrana, localizados apicalmente em enterócitos presentes no intestino delgado e grosso, aumentando a produção de GMPc e consequentemente a secreção de cloreto, bicarbonato de sódio e fluido do lúmen intestinal ( HUGHES, 1978; FIELD, 1978).

A hiperestimulação da produção de GMPc por ST provoca o aumento na secreção de eletrólitos e fluidos intestinais, causando uma forma de diarreia aquosa. Por volta de uma década atrás, esses receptores de superfície de membrana para peptídeos ST foram considerados apenas uma peculiaridade da mucosa intestinal que servia de alvos inoportunos para toxinas bacterianas.

Então, receptores guanilato ciclase para peptídeos ST foram descobertos em duas linhagens de células, células OK (*Kidney opussum*) e PTK2, e em tecidos renais, hepáticos e testis de gambá norte-americano. A existência de “receptores para toxina termoestável de *escherichia coli*” em tecidos renais, hepáticos, vias aéreas e *testis* predizem que peptídeos semelhantes a STa existem para regular a atividade tanto de receptores guanilato ciclase extra-intestinais quanto intestinais, influenciando a função epitelial via segundo mensageiro, GMPc (FONTELES; NASCIMENTO, 2011)

Guanilinas, uroguanilinas e linfoguanilinas são peptídeos endógenos que servem como reguladores fisiológicos do seu receptor cognato (peptídeo ST) no



intestino, rim e outros epitélios (CURRIE *et al.*, 1992; FORTE *et al.*, 1999 ; HAMRA *et al.*, 1993).

As ações de guanilinas endógenas incluem a regulação de secreção de fluido intestinal durante a digestão, e neutralização do HCl no duodeno e de ácidos orgânicos derivados de bactérias entéricas no intestino grosso ( GUBA, 1996).

GMPc influencia secreção transepitelial de  $\text{Cl}^-$  e  $\text{HCO}_3^-$  no intestino através da ativação de proteína quinase II dependente de GMPc ou proteína quinase II dependente de AMPc que serve como receptores para GMPc em células alvo para guanilinas e uroguanilinas ( FRENCH *et al.*, 1995). Após ativação, um dos efeitos celulares é a fosforilação de uma proteína chamada de *reguladora da condutância transmembrana para fibrose cística* (CFTR) (PFEIFER *et al.*, 1996; FORTE *et al.*, 1994), levando ao aumento da secreção de cloreto e diminuição da reabsorção de bicarbonato de sódio.

Camundongos transgênicos com ablação para o gene codificante de GC-C tem uma redução substancial na resposta de secreção de fluidos intestinais para *E.Coli ST*, indicando que GC-C é responsável pelo componente majoritário das ações de guanilinas no intestino para secreção de fluidos (SCHULZ *et al.*, 1997).

Dois diferentes tipos de receptores guanilato ciclase produzem GMPc para sinalização intracelular. Receptores de guanilato ciclase citosólico são heterodímeros contendo um grupamento heme que serve de receptor para mediadores como oxido nítrico e foram primeiramente descritos por White & Aurbach (WHITE *et al.*, 1969). Em contraste, receptores guanilato ciclase de membrana são receptores para peptídeos endógenos, incluindo guanilina e atripectinas. Os receptores guanilato ciclase de membrana forma descritos por Hardman & Sutherland (HARDMAN; SUTHERLAND, 1969).

Os receptores guanilato ciclase de membrana tem quatro regiões principais, constituindo de; um domínio  $\text{NH}_2$ -terminal ligante para ligantes peptídicos, uma região transmembrana, uma região com atividade de quinase e um domínio catalítico localizado na extremidade -COOH terminal da proteína (KRAUSER *et al.*, 1997).

Tem sido identificado receptores de guanilato ciclase A para ligantes como atripectinas A e B. Dois receptores adicionais tem sido isolados a partir de cDNAs, GC-C para intestino (KRAUSER *et al.*, 1997), e para o rim, OK-GC (LONDON,1999 ). Ambos GC-C e OK-GC são receptores para hormônios da família

das guanilinas. Então, o GMPc pode ser liberado a partir de um grande número de receptores expressos em diferentes células, tecidos e órgãos do corpo. Entretanto, guanilinas e uroguanilinas não foram os primeiros peptídeos endógenos reguladores de GMPc serem identificados em mamíferos.

De Bold e colaboradores (1981) prepararam extratos de átrio que provocavam diurese e natriurese quando injetado em ratos. Atriopeptina A ou PNA foi subsequentemente purificado a partir do átrio, mostrado ser um pequeno peptídeo com uma única ponte sulfídica (CURRIE *et al.*, 1984). Atriopeptina B ou peptídico natriurético atrial (BNP) e a atriopeptina c foram isoaldos a partir de cérebro suíno poucos anos depois, constituindo, então, uma família de 3 peptídeos endógenos que influenciam funções celulares através da regulação da produção de GMPc em células alvo no rim, vasos sanguíneos, córtex adrenal e outros órgãos (SUDOH, 1998, 1990).

Não mais do que um décimo dos receptores guanilato ciclase tem sido identificados, deixando cerca de 90 receptores guanilato ciclase como moléculas não identificadas. Assumindo que metade desses receptores guanilato ciclase são receptores para peptídeos e que existem 4 genes de receptores guanilato ciclase para cada família, então, existem aproximadamente 100 diferentes famílias de peptídeos reguladores de GMPc que ainda não foram identificadas (FORTE *et al.*, 2000).

## **2.6 Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli***

### **2.6.1 Descoberta da ação da Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli* na fisiologia renal.**

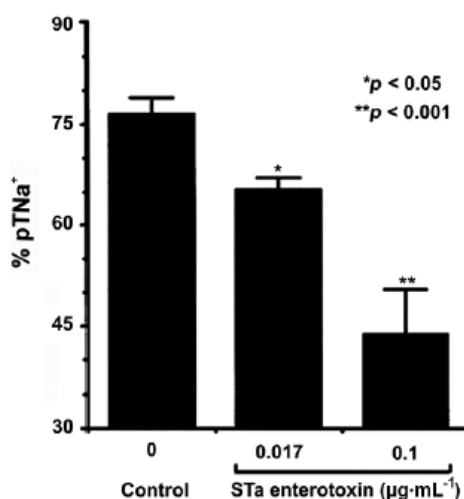
A função renal ao longo das décadas tem sido mais bem compreendida através das pesquisas no campo da fisiologia e farmacologia usando toxinas bacterianas como ferramentas farmacológicas. Toxinas do vibrião da cólera e Enterotoxina de *Escherichia coli* têm tido grande importância no aumento das fronteiras do entendimento sobre o balanço hidro eletrolítico na função intestinal de renal (HUGHES *et al.*, 1978; FIELD *et al.*, 1978; SHARP; HYNIE, 1971). Um dos grandes exemplos pode ser a citação de um hormônio endógeno, ligante de

guanilato ciclase, resultados de pesquisas independentes de toxinas termoestáveis de *Escherichia coli* (LIMA; FONTELES, 1983; LIMA; MONTEIRO; FONTELES, 1992; FONTELES *et al.*, 1991).

Em 1978, Hughes e colaboradores demonstraram a produção de GMPc em íleo de coelhos, mediante exposição à filtrado de culturas de cepas de *Escherichia coli*, e posteriormente Field e colaboradores no mesmo ano (1978) verificou efeitos da enterotoxina termoestável de *Escherichia coli* parcialmente purificada em íleo de coelhos Nova Zelândia, usando Câmaras de Ussing. Seus resultados demonstraram uma inibição da reabsorção de cloro e produção de GMPc. Os resultados de ambos os grupos consolidaram o entendimento sobre a ação da Enterotoxina termoestável sobre a guanilato ciclase, resultando no aumento do GMPc e indução de resposta secretória intestinal.

O grupo de Fonteles em 1983, demonstrou previamente que STa semi-purificada (infundida a 0.66  $\mu\text{g}/\text{min}/\text{g}$ ) causou uma diminuição no transporte eletrolítico tubular renal (Figura 6). Além de não encontrarem efeitos tóxicos, estes contrastaram com efeitos encontrados por Guerrant e colaboradores (1980) anos antes, sugerindo que o néfron também era responsivo a STa. Somente em 1989, White e colaboradores mostraram que o rim continha um receptor funcional para a Enterotoxina termoestável de *Escherichia coli*.

Figura 6: efeito da Enterotoxina termoestável de *Escherichia coli* (STa) (0.017 e 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  no percentual de sódio transportado proximal (%pTNa+). Valores representam media  $\pm$  erro padrão do efeito máximo em cada concentração usada de STa em rins perfundidos de ratos.



Fonte: LIMA; FONTELES 1983.

Somente em 1991, Fonteles e colaboradores puderam descrever os efeitos de STa em sua forma purificada usando o modelo de perfusão renal ex-vivo em ratos, comparando com um ativador de guanilato ciclase, o 8-bromo-GMPc. STa foi capaz de diminuir tanto transportes de sódio nos túbulos renais distais e proximais. Aqui se postulou que STa interagiria com guanilato ciclase presentes nos túbulos renais, comparando-a com a ação farmacológica de 8-bromo-GMPc, o qual diminuía o transporte proximal e distal de sódio.

Como o intestino e o néfron têm sistemas de eletrólitos e transporte de água semelhante, pode-se esperar que o sistema de guanilato ciclase também estivesse presente no tecido renal. No mesmo estudo, eles claramente levantaram a questão de que um hormônio desconhecido, ainda que endógeno, poderia estar acoplado ao sistema de guanilato ciclase no rim.

Posteriormente em 1992, Currie e colaboradores purificaram e sequenciaram um ligante endógeno da guanilato ciclase intestinal, muito semelhante a STa, o qual foi nomeado guanilina. Seus resultados demonstraram que a guanilina sintética aumentou os níveis de GMPc em células do tipo T84 de maneira tempo e concentração dependente, além de se ligar no sítio 125i da STA em células do tipo T84.

### **2.6.2 Mecanismo de Ação da Enterotoxina Termoestável de *Escherichia coli***

Enterotoxinas termoestáveis são compostos de natureza peptídica, contendo de 18 a 19 aminoácidos, com três pontes dissulfídicas. Possuem a capacidade de ligação ao domínio extracelular de Guanilato ciclase tipo C (CURRIE *et al.*, 1992; KITA *et al.*, 1994; KUHN *et al.*, 2016; SCHULZ *et al.*, 1992), presente na borda em escova do epitélio intestinal e túbulos renais distais e proximais (LIMA, 1983; 1992; CURRIE *et al.*, 1992; FIELD *et al.*, 1978; HUGHES *et al.*, 1978; FORTE *et al.*, 1988).

Após a ligação ao domínio extracelular de guanilato ciclase tipo C, há a ativação de um domínio catalítico intracelular, o qual converte GTP em GMPc ( KUHN *et al.*, 2016; SCHULZ, 1990, 1997). A geração e acúmulo de GMPc, leva a estimulação e ativação de uma proteína quinase dependente de GMPc (PKG), a qual tem como um dos principais alvos, a fosforilação, e consequente abertura, de

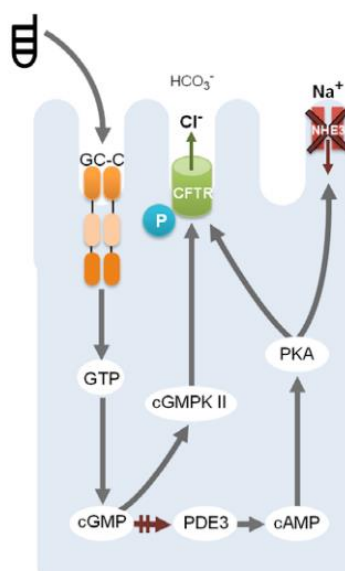
um canal permeável a cloro e bicarbonato, o canal regulador de membrana de fibrose cística (CFTR) (KUHN *et al.*, 2016; OSTEDGAARD- BALDURSSON; WELSH, 2001; BIJVELDS *et al.*, 2015)(Figura 5).

O fluxo de íons de cloreto através de seu gradiente de concentração no lúmen intestinal resulta em efluxo de sódio e secreção de água, os quais se manifestam através de diarreia secretória.

CFTR pertencem a uma família de proteínas chamadas transportadores ABC e trabalham como um canal de cloro, regulando o transporte passivo de cloro em ambas as direções dos enterócitos (OSTEDGAARD- BALDURSSON; WELSH, 2001). O GMPc também reduz a absorção de sódio e cloro via o transportador  $\text{Na}^+$ - $\text{H}^+$ , e está acoplado ao trocador Cloro/Ânion (SCHULTHEIS *et al.*, 1998).

O GMPc também inibe a fosfodiesterase tipo 3 (PDE3), uma fosfodiesterase regulada por GMPc, cuja ação hidrolisa AMPc. Sua inibição leva ao acúmulo de AMPc, e subsequente ativação de PKA (HAYASHI *et al.*, 2007; O'GRADY, 2002). Altas concentrações de GMPc também podem ativar diretamente PKA (FORTE, 2002). A STa também pode ser realocada de vesículas subapicais para a membrana apical de canais reguladores da condutância transmembrana para fibrose cística (CFTR) por estimulação com GC-C, promovendo aumento da expressão de CFTR na superfície dos enterócitos (GOLIN-BISELLO; BRADBURY; AMEEN, 2005)(Figura 7).

Figura 7: STa se liga aos domínio extracelular de guanilato ciclase C (GC-C). A ligação à GC-C leva a ativação de seu domínio catalítico intracelular, resultando em conversão de GTP a GMPc e seu acúmulo citoplasmático.



Fonte: DUBREUIL, 2012

A realocação de CFTR induzida por STa depende de PKG e da integridade da rede de microtúbulos. Experimentos com camundongos Knock-out para GC-C sugeriram que exista outro receptor para STa, guanilinas e uroguanilina, o qual possa estimular a secreção duodenal de bicarbonato em um mecanismo independente de CFTR (SELLERS *et al.*, 2008). Como mencionado anteriormente, a descoberta dessas toxinas e seus mecanismos de ação em comum tem levado diretamente ao isolamento e identificação de peptídeos endógenos similares a STa, guanilinas e uroguanilina (CURRIE *et al.*, 1992; HAMRA *et al.*, 1993).

A partir dos anos de 1980, as evidências da secreção de sal mediante a administração de uroguanilina, guanilinas e STa foram realizadas em modelos de rins perfundidos de ratos, devido as facilidades de manejo e reprodução do modelo animal citado. Não existem na literatura até o presente momento, resultados da ação de hormônios do tipo guanilinas e uroguanilina, ou mesmo STa em fisiologia renal de coelhos, filogeneticamente mais próximos dos seres humanos.

Diferenças tanto anatômicas quanto fisiológicas do rim de coelho podem inferir uma maior capacidade metabólica renal, além de outras vias farmacológicas não conhecidas na produção de hormônios natriuréticos. Portanto faz necessário uma retomada das pesquisas no campo renal de estudo de hormônios natriuréticos com o modelo animal original, coelhos, para as descobertas de possíveis interações farmacológicas entre hormônios natriuréticos, assim como sua farmacodinâmica na fisiologia renal.

### 3 JUSTIFICATIVA

O campo da pesquisa perfusão renal de vários mamíferos tem se mostrado profícuo ao longo dos seus 58 anos. A utilização de técnicas de perfusão renal *in vitro*, perfusão de fatias de néfron ou néfrons isolados, e micro punção tubular permitiu o avanço no entendimento dos mecanismos tubulares de reabsorção de íons no sistema renal de diversas espécies animais.

O desenvolvimento de um método de perfusão renal que conseguisse manter o órgão em condições viáveis do ponto de vista funcional e metabólico durante o tempo de experimentação foi crucial para a confiabilidade dos resultados obtidos e estabelecimento do método. Diversas mudanças, como a introdução de um pulmão silástico e a substituição de cânulas de vidro por metal também foram sumariamente importantes para o melhoramento da perfusão renal em si.

Entretanto, verifica-se na literatura um pequeno número de trabalhos atuais relacionados aos mecanismos tubulares para os processos renais em rins mais complexos, como de coelhos, cães e outros animais. Neste sentido, o coelho se mostrou como uma opção adequada do ponto de vista fisiológico para o começo de um estudo no campo da fisiologia renal.

A descoberta de um possível eixo entero-renal hormonal presente no coelho em trabalhos com a utilização da Enterotoxina de *Escherichia coli* (STa) na década de 80 e 90 foi sucedida de um hiato científico até os dias atuais, assim como a ausência de um entendimento mais específico sobre os mecanismos tubulares na variação da concentração de albumina nesse tipo de rim.

A realização de uma pesquisa sobre a influência da concentração de albumina nos túbulos renais de coelho tanto abre possibilidades para o entendimento dos mecanismos de albuminúria em rins mais complexos, quanto a caracterização das respostas renais à STa preenche abre novas perspectivas quanto à procura de alvos farmacológicos em rins evolutivamente mais próximos do homem.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo Geral

- Estudar o efeito farmacológico no sistema renal em resposta à variação da concentração de albumina e administração de uroguanilina e enterotoxina termoestável (STa) em rins perfundidos de coelhos Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*).

### 4.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar as mudanças nos parâmetros hemodinâmicos renais e de transporte tubular frente ao aumento da concentração de albumina na solução perfusora em rins perfundidos de coelhos.
2. Avaliar o potencial natriurético, diurético e caliurético da ação de enterotoxina termoestável (STa) em rins perfundidos de coelhos.



## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Animais de Experimentação

O presente trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Ceará (UFC) e seguiu todas as recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Esta tese foi aprovada, atendendo as normas de cuidados com animais, com número de protocolo: 42/17.

Os animais experimentais utilizados foram provenientes do coelhário central da UFC, os quais são coelhos machos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), brancos, adultos, pesando entre 800 g e 1200 g, mantidos no próprio coelhário até 24 h antes do experimento. O coelhário da Universidade Federal do Ceará está sob a administração da Professora Maria Elizimar Felizardo Guerreiro, atuado no manejo reprodutivo e cuidado dos animais. Foi realizado um jejum de 12 h até o momento do experimento, com ingestão de água potável *ad libitum*.

### 5.2 Perfusão de Rim isolado

#### 5.2.1 Sistema de perfusão de rim de coelho

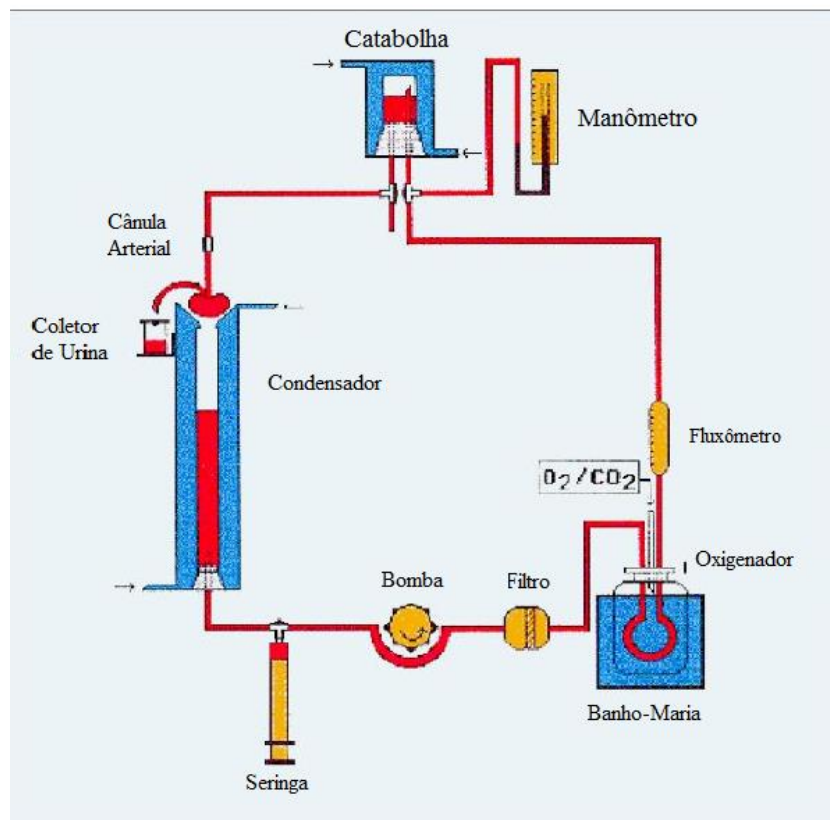
Para o estudo da função renal *ex-vivo*, utilizamos a metodologia de perfusão renal, onde o rim é mantido em condições fisiológicas similares ao organismo vivo. O sistema de perfusão renal foi desenvolvido baseado nos estudos pioneiros de Bowman e Maack (1974) e Ross (1978).

Desde a década de 1960, quando houve adaptações a partir da técnica de fígado isolado, diversos pesquisadores contribuíram com aprimoramentos para a metodologia de rim isolado. Diversas melhorias foram feitas na metodologia de perfusão do rim isolado, incluindo a introdução do uso de um coloide sob a forma da albumina bovina fração V (BAHLMAN *et al.*, 1967; BOWMAN, 1970; BOWMAN ; MAACK, 1974), o uso de uma solução perfusora de Krebs-Henseleit (SCHUREK, 1980), a adição de vários substratos energéticos para o rim, como glicose e aminoácidos (MELLO; MAACK, 1976), a utilização de um filtro miliporo ( PEGG,

1971) e a introdução de um pulmão artificial do tipo silástico, baseado no modelo de Hamilton (1974), utilizado originalmente na perfusão de fígado ( FONTELES, 1980).

Composto por dois subsistemas, o sistema de perfusão compõem-se de um circuito fechado, para perfusão *in vitro*, mantida a temperatura de 37°C. Neste sistema, o perfusato recircula no rim, quantitativamente a 100 mL da solução de Krebs-Henseleit, modificada com a adição de albumina sérica bovina a 0, 2, 4 ou 6% e oxigenação adaptada ao sistema. O outro sistema constitui-se de uma extensão do sistema *in vitro*, na qual é utilizada para uma perfusão *in situ*, durante a cirurgia para perfusão renal, imediatamente antes da retirada do rim.

Figura 8:desenho esquemático do sistema de perfusão para rim isolado.



Fonte: JORGE, 2013

O sistema de perfusão tem como componentes (Figura 8):

- Condensador- é composto de dois cilindros de vidro, onde o espaço interno entre eles permanece fechado, formando uma câmara selada. É aquecido pela circulação de água a 37°C no espaço entre os cilindros. É importante citar que em nenhum momento a água aquecida se mistura à solução perfusora.
- Seringa coletora de perfusão- permite, em intervalos padrão de 10 minutos, a coleta de amostras da solução perfusora para dosagens bioquímicas posteriores.
- Bomba (Watson-Marlow ®)- calibrada antes do início de cada experimento, esta permite o controle gradual e preciso do fluxo de perfusão renal. Deve ser calibrada antes do início de cada experimento.
- Filtro (USA- Millipore-5µm)- este permite a filtração permanente da solução, o qual promove a remoção de restos celulares, podendo ser trocado se necessário durante o experimento.
- Fluxômetro- utilizado antes do experimento na calibração da bomba peristáltica, permite a leitura, e utilização posterior do valor para o cálculo do fluxo de perfusão renal. Utilizando-se de uma regressão linear, com valores de fluxo e volume, é possível a inferência da perfusão obtida durante o experimento.
- Manômetro- está conectado ao catabolhas, permitindo a mensuração precisa e prática da pressão de perfusão na artéria renal, durante o experimento de perfusão.
- Catabolhas- estruturalmente similar ao condensador, a solução perfusora entra na câmara por uma conexão posicionada acima do ponto onde se insere a cânula conectada à artéria renal. Assim, a câmara apresenta capacidade de reter bolhas, evitando o embolismo gasoso do órgão.

A solução de perfusão Krebs Henseleit contém albumina (0, 2, 4 ou 6%) para fins de manutenção de força osmótica durante a filtração glomerular. Antes do início do experimento, o pH foi ajustado com solução de ácido clorídrico (0,1 mM) para 7,2 - 7,4. Para fins de mensuração do ritmo de filtração glomerular, adicionou-se um polímero de frutose, inulina, para efeitos de clearance renal.

### 5.3 Solução Perfusora

A solução empregada no sistema de perfusão é uma modificação da solução de Krebs-Henseleit modificada, associada à adição de albumina bovina fração V em faixas de 0, 2, 4 e 6 % de volume. Sua composição (mM)- NaHCO<sub>3</sub> 25, Glicose 5,5, CaCl<sub>2</sub>H<sub>2</sub>O 2,79, Inulina 0,06, NaCl 117,7, KCl 4,29, K<sub>2</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,93, MgSO<sub>4</sub>7H<sub>2</sub>O 1,13, Uréia 8,3.

Para fins de retirada de contaminantes como citrato, lactato e piruvato, realiza-se a diálise da solução perfusora (HANSON, 1968; FONTELES *et al*, 1983; LIMA, 1983). Para tanto, foi separada a partir da Krebs-henseleit, 300 mL para adição de albumina bovina fração V em faixas de 0, 2, 4 e 6%. Em seguida a solução foi dialisada, a 4°C, com auxílio de um homogeneizador, por 48h.

### 5.4 Reagentes Utilizados

As drogas e reagentes aqui mencionados foram obtidos por meio da empresa Sigma-Aldrich®.

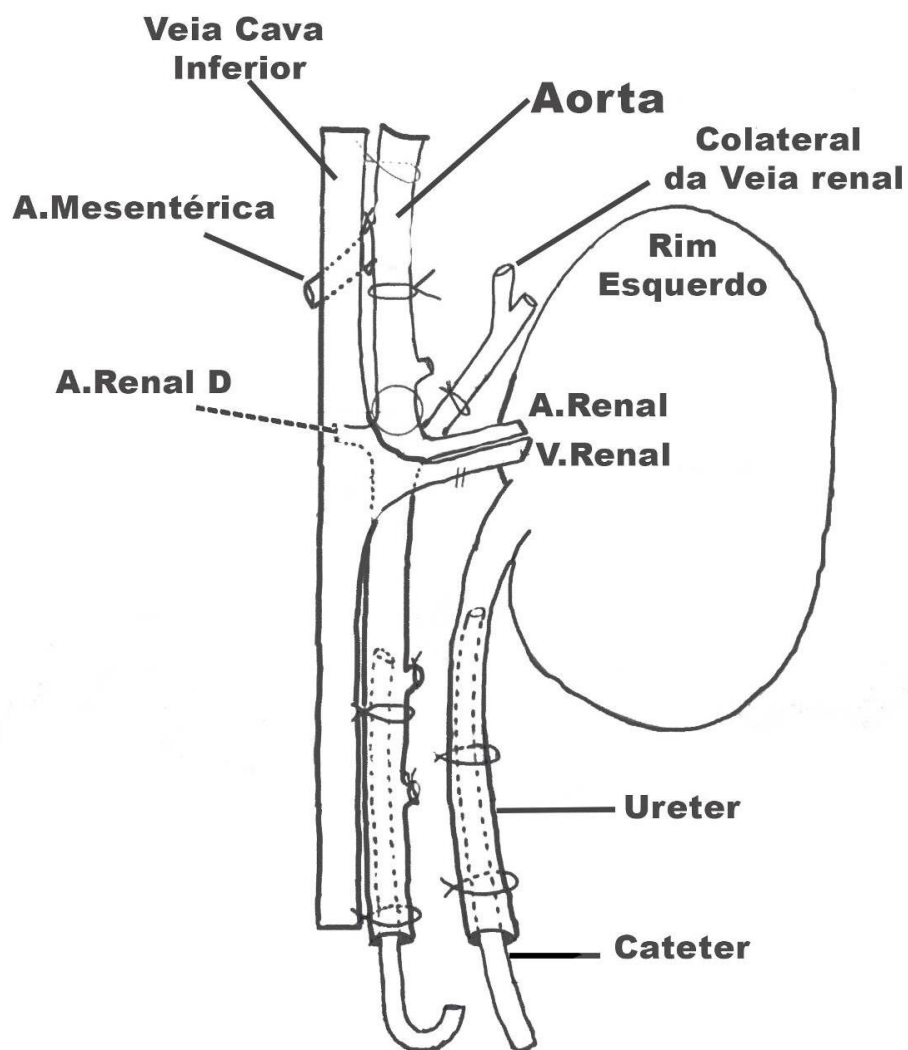
### 5.5 Técnica Cirúrgica

Os coelhos foram anestesiados com Uretana (1,2 g/Kg, I.P), e pentobarbital sódico (30 mg/Kg, I.M) 30 minutos depois. Após entrar em plano anestésico, foi administrado através da veia marginal da orelha manitol a 20%. Procedeu-se então uma incisão mediana abaixo do processo xifoide até a região hipogástrica. As vísceras abdominais foram rebatidas lateralmente, expondo o rim esquerdo, a aorta abdominal e suas ramificações.

Procedeu-se a canulação do ureter esquerdo com cânula de polietileno (PE50) e a aorta abdominal foi dissecada, ligando-se vasos colaterais anteriores e posteriores. Sequencialmente, a glândula adrenal foi removida, assim como foi feita a ligadura da artéria mesentérica e artéria renal direita.

Após todas as estruturas estarem completamente suturadas e isoladas foi administrado através da veia marginal da orelha 400 mg de manitol e, então, através de uma cânula metálica que foi introduzida na aorta, iniciou-se a perfusão renal *in situ*, com ligadura simultânea da aorta acima da artéria renal (Figura 9).

Figura 9: Ilustração da técnica cirúrgica para perfusão renal em coelho (Adaptada de MORAES, 1984).



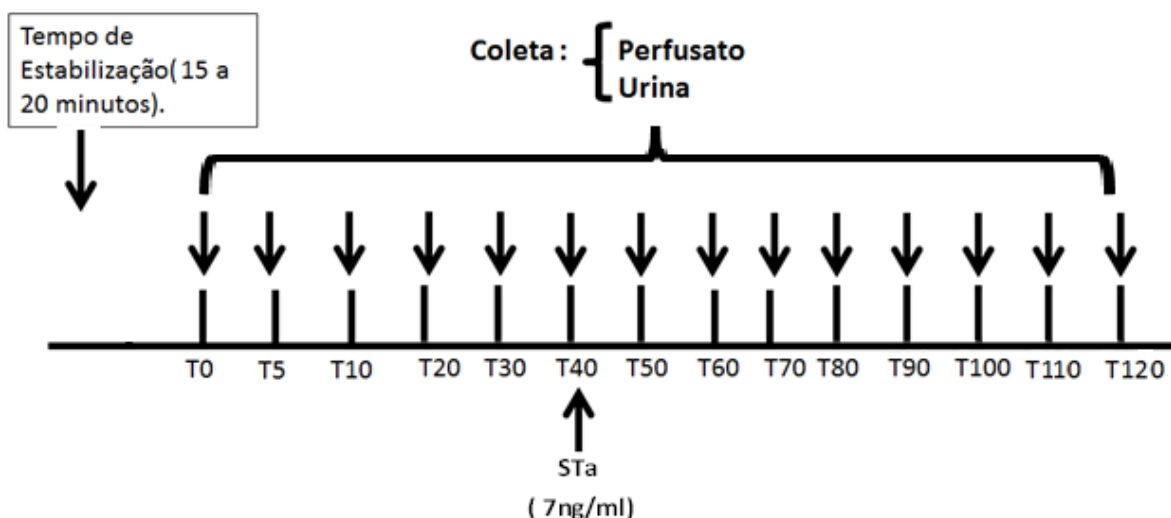
## 5.6 Protocolo Experimental

Após a transferência da solução de perfusão para o sistema, foi observado um período de equilíbrio de 15 min, conhecidos os valores da pré-calibração do fluxo e resistência, os quais foram mantidos constantes. Após os cinco minutos iniciais, coleta-se a primeira amostra de filtrado urinário, em recipiente com peso previamente calibrado, determinando-se imediatamente o peso da amostra em balança de precisão.

No tempo zero, foi coletado uma amostra de perfusato e após os 10 min, uma segunda amostra de perfusato foi coletada, registrando-se na ocasião as leituras de fluxo e pressão. A cada intervalo de dez minutos repetiu-se esses procedimentos até completar 120 minutos de observação. Imediatamente após a colheita, as amostras foram congeladas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . A colheita do perfusato foi feita no período intermediário de cada duas coletas de urina.

A escolha da concentração de STa para a avaliação de sua atividade foi realizada baseado nos trabalhos de Lima e colaboradores (1983; 1992) em modelo animal de ratos Hooded, e testada no presente trabalho para coelhos machos Nova Zelândia. Para protocolos de administração de STa (7 ng/ml), decorridos 30 min de perfusão renal, a substância é adicionada à solução perfusora (Figura 9), mais precisamente após 40 min.

Figura 10: Desenho experimental da perfusão de rim de coelho.



## 5.7 Grupos Experimentais

No intuito de avaliar o efeito da variação da concentração de albumina na fisiologia renal do coelho, foram realizados grupos com a solução perfusora de Krebs-Henseleit adicionadas de percentuais crescentes de albumina bovina fração V, a 0, 2, 4 ou 6%. E posteriormente, realizados um grupo com a solução de 6% de albumina adicionadas da STA ( 7ng/mL).

Os grupos experimentais:

- Grupo Krebs Henseleit sem Albumina (n=5)
- Grupo Krebs Henseleit com Albumina (2%) (n=5)
- Grupo Krebs Henseleit com Albumina (4%) (n=5)
- Grupo Krebs Henseleit com Albumina (6%) (n=5)
- Grupo Krebs Henseleit com Albumina (6%) + STA (7 ng/ml) (n=5)

## 5.8 Análise Bioquímica

As determinações de sódio e potássio foram realizadas no perfusato e na urina por fotometria de chama, utilizando-se Lítio como padrão interno (Instrumentation Laboratory - modelo 943).

Na determinação de inulina no perfusato e na urina foi utilizada a forma alcalino-estável desse composto, e de acordo com o método de Walser, Davidson e Orloff (1955). Foram utilizadas fórmulas para determinação de parâmetros da função renal (LIMA; FONTELES, 1982; FONTELES *et al.*, 1983 )

## 5.9 Cálculo dos parâmetros renais

Foram estudados os seguintes parâmetros fisiológicos durante a perfusão renal-

1. **Peso do Rim-** o peso do rim contralateral (direito) foi determinado imediatamente após a nefrectomia, sendo utilizado para as determinações de fluxo de perfusato e de resistência vascular, bem como medidas de sódio, potássio e água intracelulares.
2. **Fluxo de Perfusão Renal (FPR)-** expresso em ml/g/min, correspondendo ao valor medido, dividido pelo intervalo de tempo e pelo peso do rim.

- $FP = \text{volume (ml)}/\text{tempo (min)}/\text{peso do rim (g)}$ .
3. **Pressão de Perfusão (PP)**- refere-se à pressão de todo o leito vascular renal, sendo registrada a intervalos de dez minutos. A PP é medida em manômetro e expressa em mmHg, descontada a resistência na ponta da cânula perfusora.
  4. **Fluxo Urinário (FU)**- é calculado pela divisão do volume de urina coletada pelo intervalo de tempo (10 min) e pelo peso do rim. É expresso em ml/g/min.
    - $FU = V_{urina} / 10 \text{ minutos} / \text{peso}_{rim} \text{ (g)}$
  5. **Ritmo de Filtração Glomerular (RFG)**- expresso através do clearance de inulina em ml/g/min.
  6. **Sódio Filtrado (FNa<sup>+</sup>)**- é obtido pelo produto do RFG e da concentração de sódio no perfusato(PNa<sup>+</sup>).
    - $FNa^+ = RFG \times PNa^+, \text{ (uEq/g/min)}$ .
  7. **Sódio Excretado (ENa<sup>+</sup>)**- é o produto do fluxo urinário(FU) pela concentração de sódio na urina(UNa<sup>+</sup>).
    - $ENa^+ = FU \times UNa^+, \text{ (uEq/g/min)}$ .
  8. **Sódio Transportado (TNa<sup>+</sup>)**- resulta da diferença entre o sódio filtrado(FNa<sup>+</sup>) e o sódio excretado(ENa<sup>+</sup>).
    - $TNa^+ = FNa^+ - ENa^+, \text{ (uEq/g/min)}$ .
  9. **Percentual de Sódio Transportado (%TNa<sup>+</sup>)**- é dado pela multiplicação do Transporte de sódio (TNa<sup>+</sup>) por cem, e consequente divisão pelo Sódio Filtrado (FNa<sup>+</sup>).
    - $TNa^+\% = (TNa^+ \times 100) / FNa^+$
  10. **Potássio Filtrado (FK<sup>+</sup>)**- é o produto do ritmo de filtração glomerular (RFG) pela concentração de potássio no perfusato (PK<sup>+</sup>).
    - $FK^+ = RFG \times PK^+, \text{ (uEq/g/min)}$ .
  11. **Potássio Excretado (EK<sup>+</sup>)**- é o produto do fluxo urinário (FU) pela concentração de potássio na urina.
    - $EK^+ = FU \times UK^+, \text{ (uEq/g/min)}$ .
  12. **Potássio Transportado (TK<sup>+</sup>)**- resulta da diferença entre o potássio filtrado (FK<sup>+</sup>) e o potássio excretado(EK<sup>+</sup>).
    - $TK^+ = FK^+ - EK^+, \text{ (uEq/g/min)}$ .



13. **Percentual de Potássio Transportado (%TK<sup>+</sup>)**- é dado pela multiplicação do Transporte de Potássio (TK<sup>+</sup>) por cem, e consequente divisão pelo Potássio Filtrado (FK<sup>+</sup>).

- $TK^+ \% = (TK^+ \times 100) / FK^+$

14. **Clearance Osmolar (COsm)**- resulta do produto da relação osmolaridade urinária(UOsm)/osmolaridade do perfusato (POsm) pelo fluxo urinário(FU).

- $COsm = (UOsm/POsm) \times FU$ , (ml/g/min).

15. **Clearance de Água Livre (CH<sub>2</sub>O)**- é dado pela diferença entre o fluxo urinário (FU) e o clearance osmolar (COsm).

- $CH_2O = FU - COsm$ , (ml/g/min).

16. **Transporte Distal de Sódio (dTNa<sup>+</sup>)**- é dado pelo produto entre o Clearance de Água Livre (CH<sub>2</sub>O) e a Concentração Plasmática de Sódio (PNa<sup>+</sup>).

- $dTNa^+ = CH_2O \times PNa^+$ , (uEq/g/min).

17. **Aporte Distal de Sódio (ADNa<sup>+</sup>)**- é dado pela soma do Transporte Distal de Sódio e a concentração de sódio excretado.

- $ADNa^+ = dTNa^+ + ENa^+$ , (uEq/g/min).

18. **Percentual do Transporte Distal de Sódio (%dTNa<sup>+</sup>)**- é dado pela multiplicação do Transporte distal de sódio (dTNa<sup>+</sup>) por cem, e consequente divisão pelo aporte distal de Sódio (ADNa<sup>+</sup>).

- $\%dTNa^+ = (dTNa^+ \times 100) / (ADNa^+)$ .

19. **Transporte Proximal de Sódio (pTNa<sup>+</sup>)**- é dado pela subtração do Sódio Filtrado (FNa<sup>+</sup>) do Aporte Distal de Sódio (ADNa<sup>+</sup>).

- $pTNa^+ = FNa^+ - ADNa^+$ , (uEq/g/min).

20. **Percentual do Transporte Proximal de Sódio (%pTNa<sup>+</sup>)** é dado pela multiplicação do Transporte Proximal de sódio(pTNa<sup>+</sup>) por cem, e consequente divisão pelo Sódio Filtrado (FNa<sup>+</sup>).

$$\%pTNa^+ = (pTNa^+ \times 100) / (FNa^+).$$

21. **Transporte Distal de Potássio (dTK<sup>+</sup>)**- é dado pelo produto entre o Clearance de Água Livre(CH<sub>2</sub>O) e a Concentração Plasmática de Potássio (PK<sup>+</sup>).

- $dTK^+ = CH_2O \times PK^+$ , (uEq/g/min).

22. **Aporte Distal de Potássio (ADK<sup>+</sup>)**- é dado pela soma do Transporte Distal de Potássio (dTK<sup>+</sup>) e a concentração de Potássio excretado (EK<sup>+</sup>).

- $ADK^+ = dTK^+ + EK^+$ , (uEq/g/min).

23. **Percentual do Transporte Distal de Potássio (%dTK<sup>+</sup>)**- é dado pela multiplicação do Transporte distal de Potássio (dTK<sup>+</sup>) por cem, e divisão pelo aporte distal de Potássio(ADK<sup>+</sup>).

- $\%dTK^+ = (dTK^+ \times 100)/(ADK^+)$ .

24. **Transporte Proximal de Potássio (pTK<sup>+</sup>)**- é dado pela subtração do Potássio Filtrado (FK<sup>+</sup>) do Aporte Distal de Potássio (ADK<sup>+</sup>).

- $pTK^+ = FK^+ - ADK^+$ , (uEq/g/min).

25. **Percentual do Transporte Proximal de Potássio (%pTK<sup>+</sup>)**- é dado pela multiplicação do Transporte Proximal de Potássio(pTK<sup>+</sup>) por cem, e divisão pelo Potássio Filtrado (FK<sup>+</sup>).

- $\%pTK^+ = (pTK^+ \times 100)/(FK^+)$ .

### 5.10 Análise Estatística

Os resultados foram expressos utilizando média  $\pm$  erro padrão. Os dados foram testados para sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Posteriormente, para comparações intra-grupo, foi utilizado Teste-t pareado. Para comparações entre-grupos, foi utilizado Análise de Variância (ANOVA), seguido de pós-teste de Bonferroni. Para resultados não paramétricos, foi usado o teste de Kruskal-Wallis. O valor de  $\alpha$  para negação de hipótese nula é 5%.

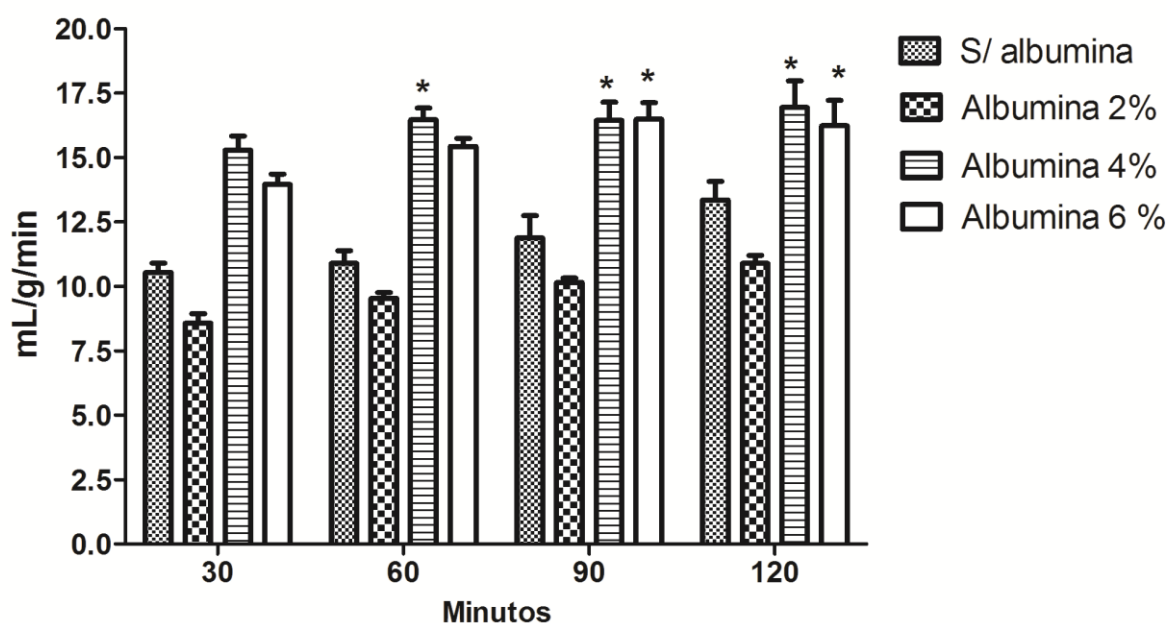
## 6 RESULTADOS

Inicialmente foram testadas concentrações crescentes (0, 2, 4 e 6%) de solução de albumina bovina na solução perfusora de Krebs-Henseleit, com o propósito de avaliar na funcionalidade do rim isolado de coelho, técnica desenvolvida no Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Renal da Universidade Federal do Ceará a 40 anos.

### 6.1 Fluxo de Perfusão Renal nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho

Inicialmente, foram avaliados os parâmetros relacionados com a hemodinâmica renal, em resposta à variação da concentração de albumina em solução perfusora.

Figura 11: Fluxo de Perfusão Renal (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=7), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=7), 4% (n=6) e 6% (n= 4). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.

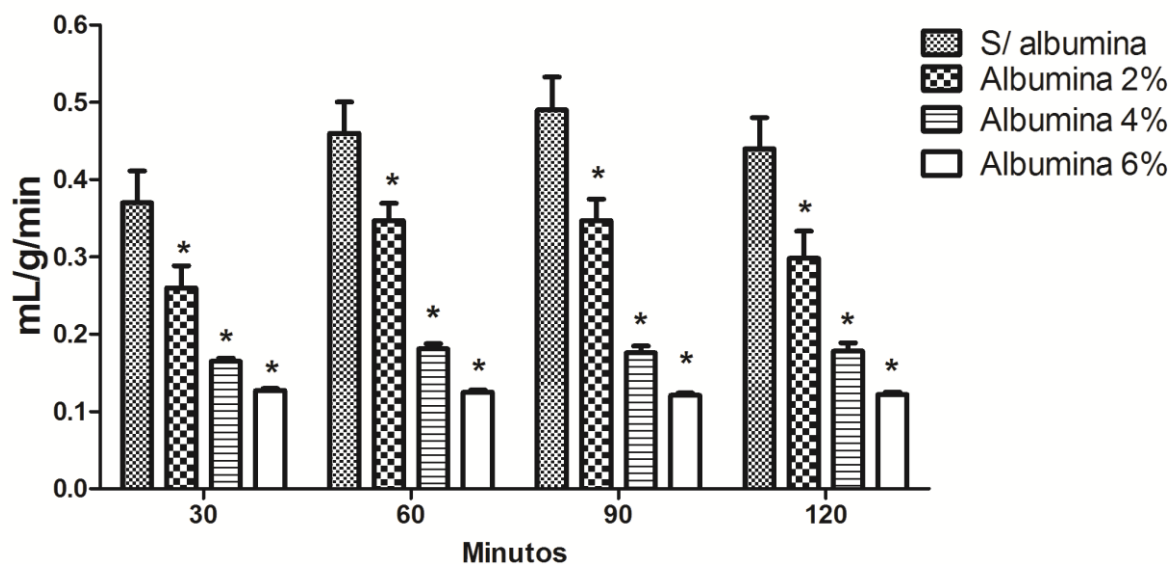


Os resultados demonstraram para o grupo sem Albumina um aumento gradual do fluxo plasmático renal. O tempo 30 min inicia em valores de  $10,76 \pm 0,66$  ml/g/min de tecido renal, onde atinge posteriormente valores de  $10,88 \pm 0,50$  ml/g/min (60 min),  $11,87 \pm 0,86$  ml/g/min (90 min) e  $13,34 \pm 0,72$  ml/g/min (120 min). O grupo Albumina 2% manteve o fluxo de perfusão renal em valores constantes em torno de  $9,78 \pm 0,49$  ml/g/min (Figura 11).

Os grupos de Albumina 4% obteve fluxo de perfusão real em valores de  $13,49 \pm 0,99$  ml/g/min (30 min), sendo estatisticamente diferentes nos tempos de 60, 90 e 120 min. Os grupos de Albumina 6% obteve fluxo de perfusão real em valores de  $13,96 \pm 0,38$  ml/g/min (30 min), sendo estatisticamente diferentes nos tempos de 90 e 120 min (Figura 11).

## 6.2 Fluxo urinário nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 12: Fluxo Urinário (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=6), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



O fluxo urinário obtido com o grupo sem albumina iniciou em valores de  $0,37 \pm 0,04$  ml/g/min (tempo 30 min), aumentando até valores de  $0,49 \pm 0,04$  ml/g/min (tempo 90 min) e permanecendo em patamares de  $0,44 \pm 0,04$  ml/g/min (tempo 120 min).

A adição de 2% de albumina à solução perfusora, grupo albumina 2%, reduziu o fluxo urinário em comparação ao grupo sem albumina em todos os valores de fluxo urinário mensurados. Apresentando comportamento semelhante quanto ao fluxo urinário, em comparação ao grupo sem albumina, iniciou em valores de  $0,26 \pm 0,02$  ml/g/min (tempo 30 min), aumentando até valores de  $0,34 \pm 0,04$  ml/g/min (tempo 90 min) e retornando até patamares de  $0,29 \pm 0,03$  ml/g/min (tempo 120 min). Os valores de fluxos urinários do grupo Albumina 2%, para todos os tempos experimentais foram estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo sem albumina.

A adição de 4% de albumina à solução perfusora reduziu o fluxo urinário em média 61,36% em comparação ao grupo sem albumina. O comportamento temporal do fluxo urinário se mostrou constante iniciando em valores de  $0,16 \pm 0,004$  ml/g/min (tempo 30 min), aumentando até valores de  $0,18 \pm 0,06$  ml/g/min (tempo 60

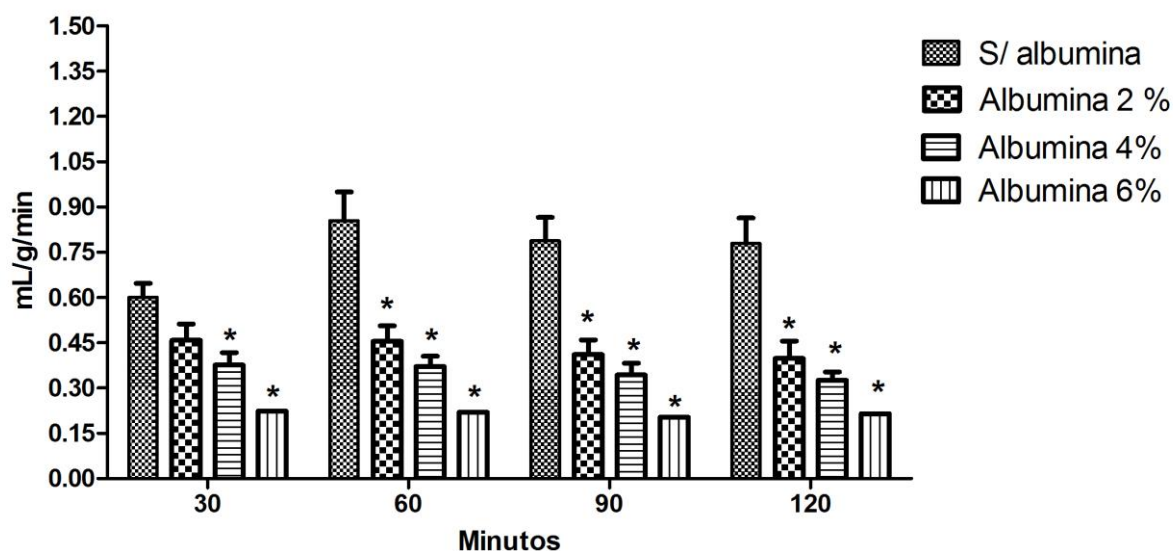
min) e se mantendo estável. Os valores de fluxos urinários do grupo Albumina 4%, para todos os tempos experimentais, foram estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo sem albumina.

A adição de 6% de albumina em solução perfusora reduziu o fluxo urinário em média 72,72% em comparação ao grupo sem albumina (Figura 12), mantendo valores estáveis durante todo o tempo de experimentação.

### 6.3 Ritmo de Filtração Glomerular nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2% , 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Os dados demonstraram para o grupo sem albumina uma manutenção dos níveis do ritmo de filtração glomerular em intervalos próximos a  $0,85 \pm 0,09$  ml/g/min (tempo 60 min) e  $0,78 \pm 0,07$  ml/g/min (tempo 90 min).

Figura 13: Ritmo de Filtração Glomerular (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 7), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n= 4). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



A adição de 2% de albumina à solução perfusora não afetou o ritmo de filtração glomerular durante os 30 primeiros min. Porém, promoveu em média uma diminuição do ritmo de filtração glomerular de 42,65 % em comparação com o grupo sem albumina (sem albumina  $0,75 \pm 0,04$  ml/g/min vs Albumina 2%  $0,43 \pm 0,01$  ml/g/min). Os valores de RFG mensurados nos tempos de 60 ( $0,45 \pm 0,05$  ml/g/min), 90 ( $0,41 \pm 0,04$  ml/g/min) e 120 ( $0,39 \pm 0,05$  ml/g/min) min foram estatisticamente significantes em comparação com o grupo sem albumina (Figura 13).

A adição de 4% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição do ritmo de filtração glomerular de 53,35% em comparação com o grupo sem albumina (sem albumina  $0,75 \pm 0,04$  ml/g/min VS Albumina 4%  $0,35 \pm 0,01$  ml/g/min). Os valores mensurados em todos os tempos experimentais (30, 60, 90 e 120 min) foram estatisticamente diferentes do grupo sem albumina. (Figura 13).

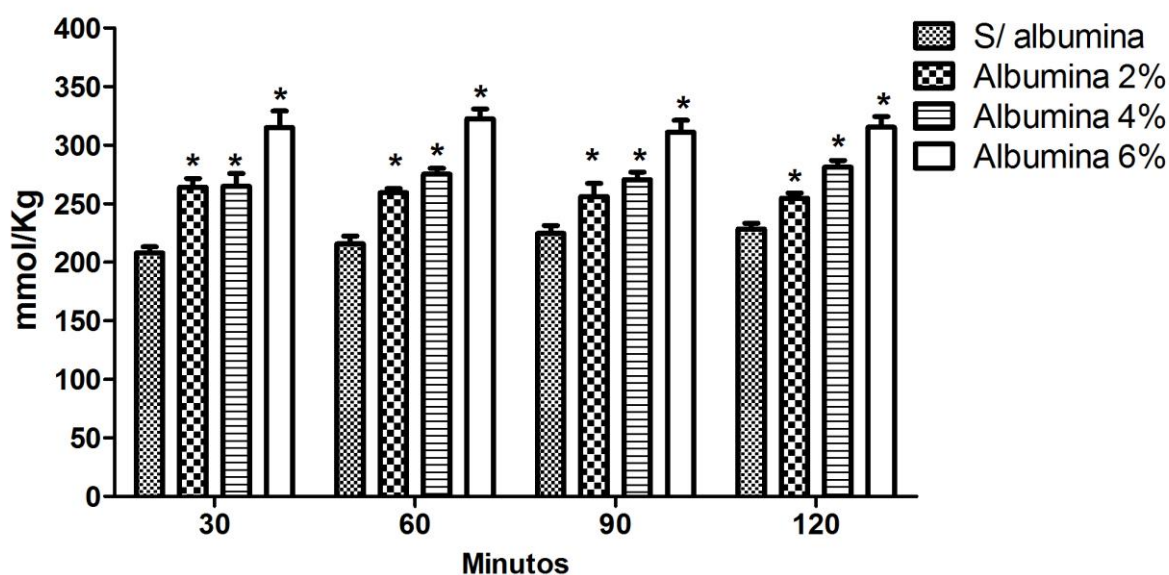


A adição de 6% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição do ritmo de filtração glomerular de 72% em comparação com o grupo sem albumina (sem albumina  $0,75 \pm 0,04$  ml/g/min vs Albumina 6%  $0,21 \pm 0,007$  ml/g/min). Todos os valores de ritmo de filtração glomerular foram estatisticamente diferentes em comparação com o grupo sem albumina (Figura 13).

#### 6.4 Osmolaridade presente no perfusato nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho

O grupo sem albumina apresentou uma manutenção dos níveis de osmolaridade no perfusato em valores médios de  $219,10 \pm 4,5$  mmol/Kg (Figura 14).

Figura 14: Osmolaridade presente no perfusato (mmol/Kg) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=6), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n=4). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



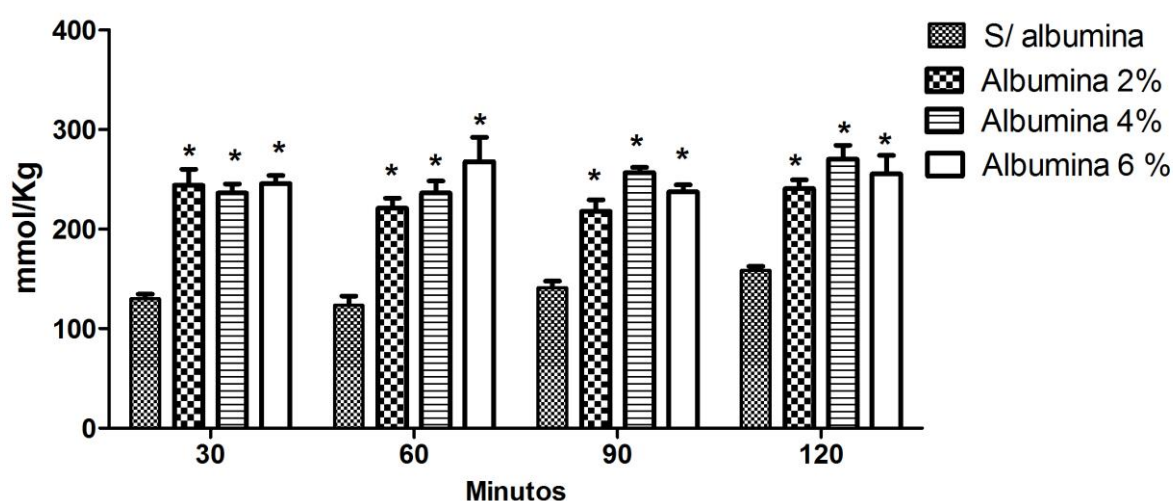
A adição de 2% de albumina em solução perfusora aumentou em média 15,9% a osmolaridade presente no perfusato. Os valores de osmolaridade encontrados em todos os tempos foram estatisticamente significantes.

A adição de 4% de albumina na solução perfusora manteve o aumento da osmolaridade no perfusato em valores médios de  $273,3 \pm 3,46$  mmol/Kg, cerca de 19 % maior que o grupo sem albumina. Os valores de osmolaridade encontrados em todos os tempos foram estatisticamente diferentes. O grupo 6% de Albumina em solução conseguiu manter valores médios de osmolaridade no perfusato de  $315 \pm 3,76$  mmol/Kg. Os valores de osmolaridade encontrados em todos os tempos foram estatisticamente significantes.

### 6.5 Osmolaridade presente na urina nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

O grupo sem albumina apresentou uma manutenção dos níveis de osmolaridade na urina em valores médios de  $138,1 \pm 7,54$  mmol/Kg (Figura 15).

Figura 15: Osmolaridade presente na urina (mmol/Kg) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 6), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n= 5) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



A adição de 2% de albumina em solução perfusora aumentou em média 40% a osmolaridade presente na urina. Todos os valores nos tempos mensurados (30, 60, 90 e 120 min) foram estatisticamente diferentes do grupo controle sem albumina (Figura 15).

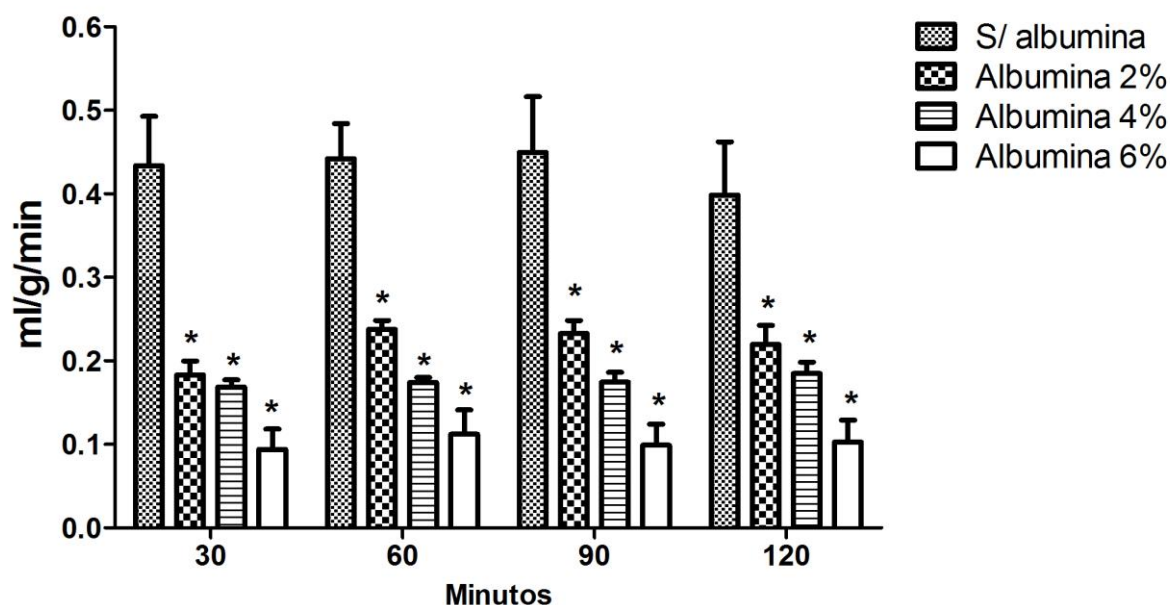
A adição de 4% de albumina em solução perfusora também aumentou a osmolaridade da urina a patamares semelhantes ao grupo de 2% de albumina, cerca de 44%, sendo todos os valores mensurados nos tempos experimentais, estatisticamente diferentes (Figura 15).

A adição de 6% de albumina em solução perfusora manteve alta a osmolaridade da urina, cerca de 45% acima do grupo controle sem albumina, sendo todos os valores mensurados nos tempos experimentais estatisticamente diferentes (Figura 15).

### 6.6 Clearance Osmolar nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

O grupo sem albumina apresentou altos clearance osmolares, em valores médios de  $0,43 \pm 0,01$  ml/g/min (Figura 16).

Figura 16: Clearance Osmolar (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n= 5) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



O grupo Albumina 2% apresentou níveis de clearance osmolar em torno de  $0,21 \pm 0,01$  ml/g/min (Figura 16). A adição de 2% de albumina na solução perfusora resultou em uma diminuição em média de 51,16% do clearance osmolar, comparados com o grupo controle sem albumina. A diminuição ocorreu em todos os tempos experimentais, sendo estatisticamente diferentes quando comparados estatisticamente com o grupo controle sem albumina.

O grupo Albumina 4% apresentou níveis de clearance osmolar em torno de  $0,17 \pm 0,003$  ml/g/min (Figura 16). A adição de 4% de albumina na solução perfusora acentuou a diminuição do clearance osmolar, resultando em clearance 60% menor quando comparado com o grupo controle sem albumina. A diminuição ocorreu de modo estatisticamente diferentes, em todos os valores mensurados nos tempos experimentais.

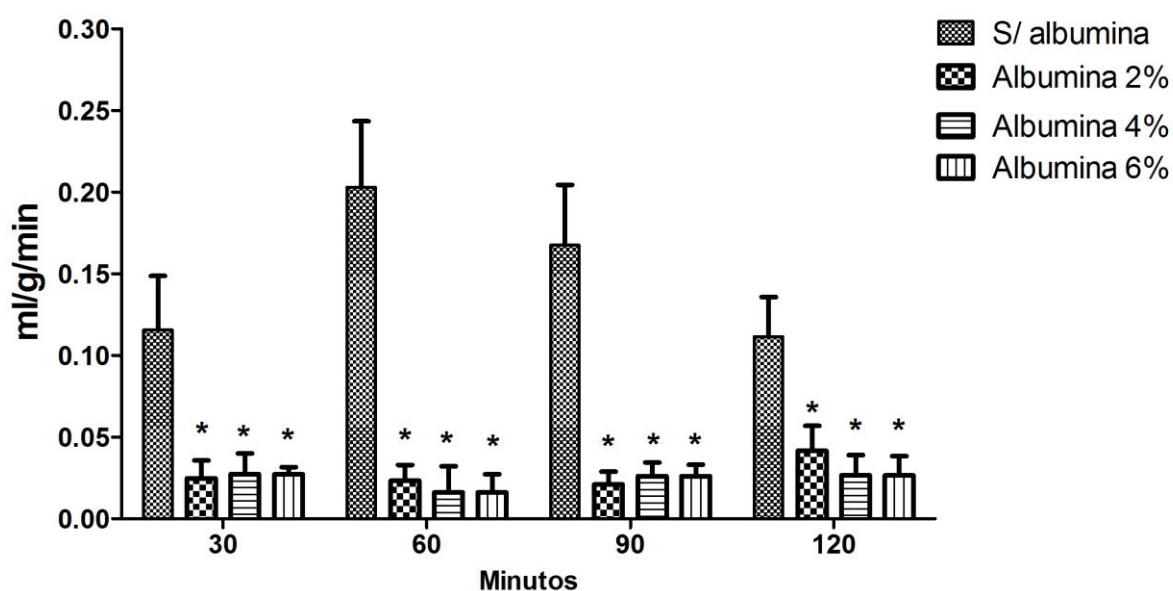
O grupo Albumina 6% apresentou níveis de clearance osmolar em torno de  $0,101 \pm 0,003$  ml/g/min (Figura 16). A adição de 6% de albumina na solução

perfusora manteve o clearance osmolar baixo, 73% menor quando comparado com o grupo controle sem albumina. A diminuição ocorreu em todos os tempos experimentais, sendo estes estatisticamente diferentes quando comparados estatisticamente com o grupo controle sem albumina.

### 6.7 Clearance de Água Livre nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

O grupo sem albumina apresentou altos valores de clearance de água livre durante o tempo experimental, iniciando em valores de  $0,11 \pm 0,03$  ml/g/min (30 min), aumentando até  $0,20 \pm 0,04$  ml/g/min (60 min) e decrescendo até  $0,11 \pm 0,02$  ml/g/min (120 min).

Figura 17: Clearance de Água Livre (ml/g/min) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=4), 4% (n= 4) e 6% (n= 4). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.

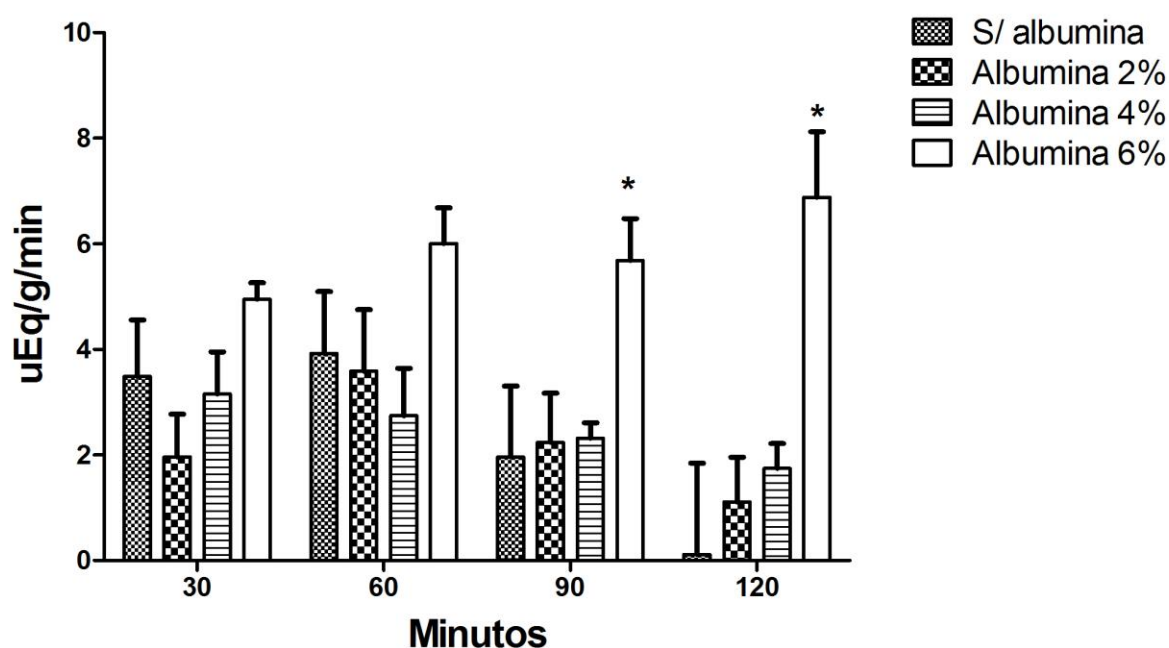


A adição de 2, 4 ou 6% de albumina na solução perfusora diminuir os valores de clearance de água livre em torno de 82%, sendo todos os valores mensurados nos tempo experimentais de 30, 60, 90 e 120 min estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle sem albumina (Figura 17).

### 6.8 Transporte Distal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

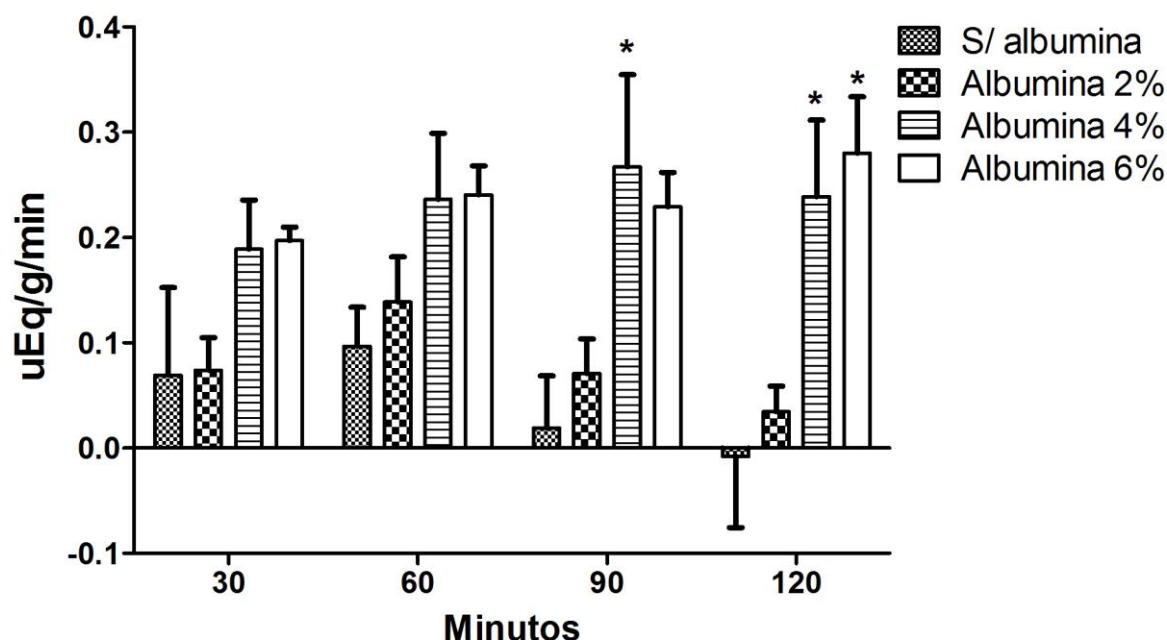
Os resultados demonstram para o grupo sem albumina uma diminuição progressiva do transporte distal de sódio, iniciando em valores de  $3,48 \pm 1,07 \mu\text{Eq/g/min}$  (tempo 30 min) e decrescendo até  $0,11 \pm 1,73 \mu\text{Eq/g/min}$  (tempo 120 min). De modo semelhante, a adição de 2% ou 4% de albumina diminuiu o transporte distal de sódio progressivamente. Somente a adição de 6% de albumina a solução perfusora foi capaz de gerar força coloidosmótica suficiente para influenciar o transporte de sódio, sendo estatisticamente diferente, quando mensurado nos tempos de 90 min ( $5,68 \pm 0,79 \mu\text{Eq/g/min}$ ) e 120 min ( $6,87 \pm 1,24 \mu\text{Eq/g/min}$ ), quando comparados ao grupo controle sem albumina nestes mesmos tempos experimentais (Figura 18).

Figura 18: Transporte Distal de Sódio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=4), 4% (n= 4) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



### 6.9 Transporte Distal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho

Figura 19: Transporte Distal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=5$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



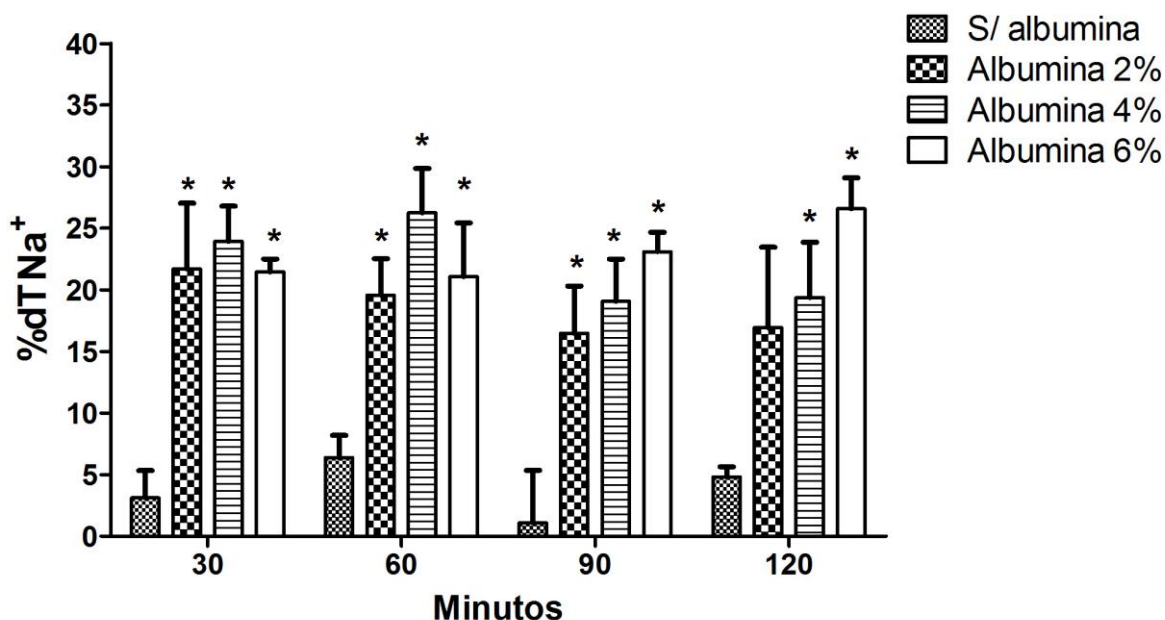
Os resultados demonstram para o grupo sem albumina, uma diminuição progressiva no transporte de potássio, iniciando em valores de  $0,06 \pm 0,02 \mu\text{Eq/g/min}$  e diminuindo até  $-0,007 \pm 0,067 \mu\text{Eq/g/min}$ , onde ocorre o processo secretório de potássio. A adição de 2% de albumina na solução perfusora, aumenta o transporte de potássio aos 60 min ( $0,13 \pm 0,04 \mu\text{Eq/g/min}$ ), mas decresce progressivamente durante os tempos experimentais ( $0,03 \pm 0,02 \mu\text{Eq/g/min}$ ).

Somente a adição de 4 e 6% de albumina na solução perfusora é capaz de aumentar o transporte de potássio nos segmentos distais do néfron, sendo os valores estatisticamente diferentes para 4% aos 90 e 120 min, e para 6%, somente aos 120 min (Figura 19).



### 6.10 Percentual do Transporte Distal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

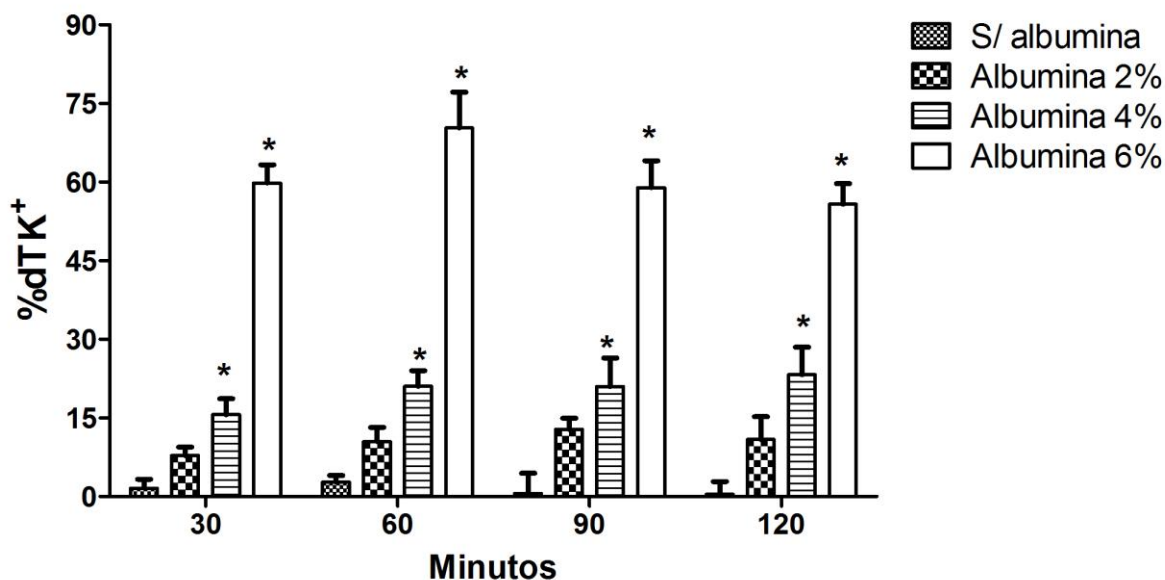
Figura 20: Percentual do Transporte Distal de Sódio (%dTNa<sup>+</sup>) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



Os resultados demonstram para o grupo sem albumina uma manutenção do percentual do transporte distal de sódio, em valores médios de  $3,84 \pm 1,18$  %dTNa<sup>+</sup>. A adição de 2% aumentou os valores percentuais de reabsorção de sódio em 79,43%, sendo os valores mensurados nos tempos experimentais de 30, 60 e 90 min estatisticamente diferentes. A adição de 4% de albumina aumentou levemente os valores percentuais de reabsorção de sódio em patamares de 82%, sendo todos os valores mensurados nos tempos experimentais estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle sem albumina. A adição de 6% de albumina em solução perfusora manteve o percentual de reabsorção de sódio em 83%, sendo todos os valores mensurados nos tempos experimentais estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle sem albumina (Figura 20).

### 6.11 Percentual do Transporte Distal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

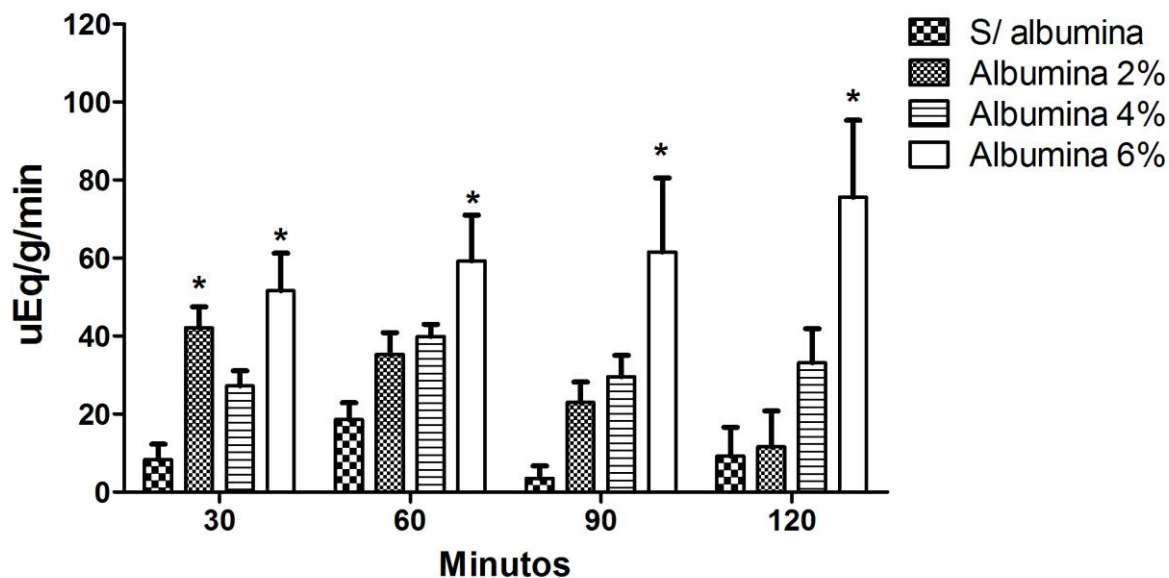
Figura 21: Percentual do Transporte Distal de Potássio (%dTK<sup>+</sup>) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média ± EPM.



O grupo controle sem albumina demonstrou uma manutenção dos níveis médios do percentual de transporte distal de potássio em  $1,30 \pm 0,50$  %dTK<sup>+</sup>. A adição de 2% não alterou o percentual de reabsorção de potássio nos segmentos distais, porém, a adição de 4% de albumina elevou a reabsorção distal de potássio em 93%, sendo todos os valores mensurados aos 30, 60, 90 e 120 min estatisticamente diferentes. A adição de 6% de albumina aumentou de modo semelhante, o percentual distal de reabsorção em todos os valores dos tempos experimentais (Figura 21).

### 6.12 Transporte Proximal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 22: Transporte Proximal de Sódio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=5$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



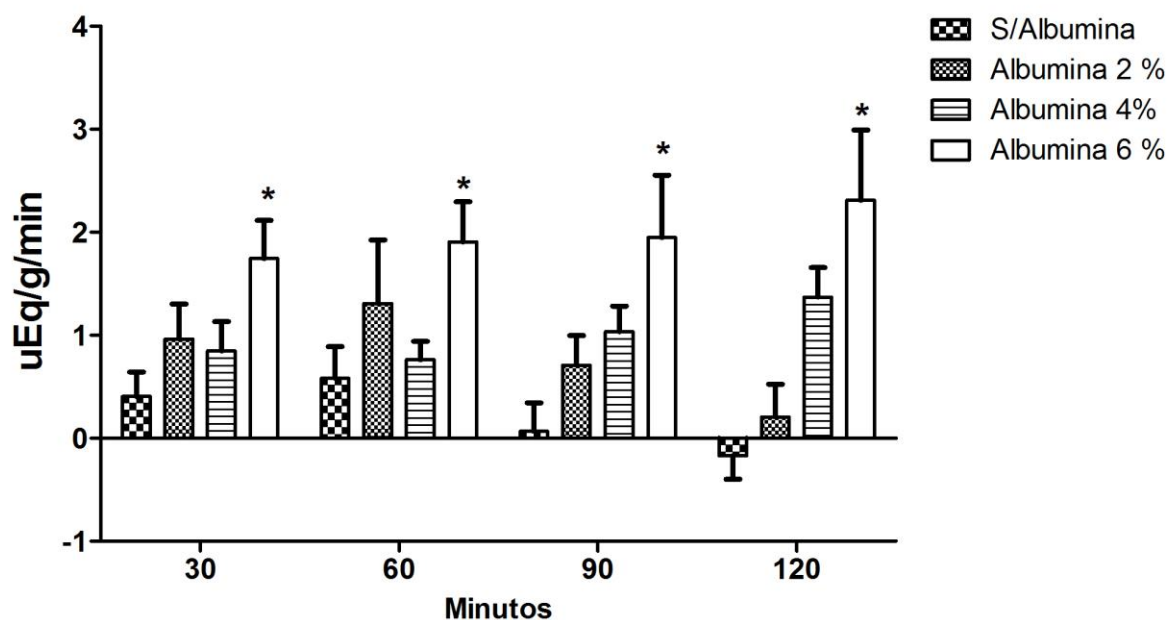
Os resultados demonstram para o grupo sem albumina uma grande oscilação entre valores de Transporte Proximal de Sódio, demonstrando valores médios de  $9,9 \pm 2,88 \mu\text{Eq/g/min}$ . A adição de 2% de albumina na solução perfusora provocou uma manutenção dos valores médios de Transporte Proximal de Sódio de  $27,22 \pm 6,7 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 22). Porém, somente os valores mensurados no tempo de 30 min foram estatisticamente diferentes. Houve posteriormente uma diminuição progressiva desses valores.

A adição de 4% de albumina na solução perfusora promoveu uma manutenção dos níveis de transporte proximal de sódio em  $32,44 \pm 2,76 \mu\text{Eq/g/min}$ , sem significativamente diferir dos valores do grupo controle sem albumina (Figura 22).

A adição de 6% de albumina na solução perfusora promoveu uma manutenção dos níveis de transporte proximal de sódio em  $61,98 \pm 5,01 \mu\text{Eq/g/min}$ . Todos os valores obtidos nos tempos experimentais foram estatisticamente diferentes quando comparada ao grupo controle sem albumina (Figura 22).

### 6.13 Transporte Proximal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 23: Transporte Proximal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=4$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=3$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



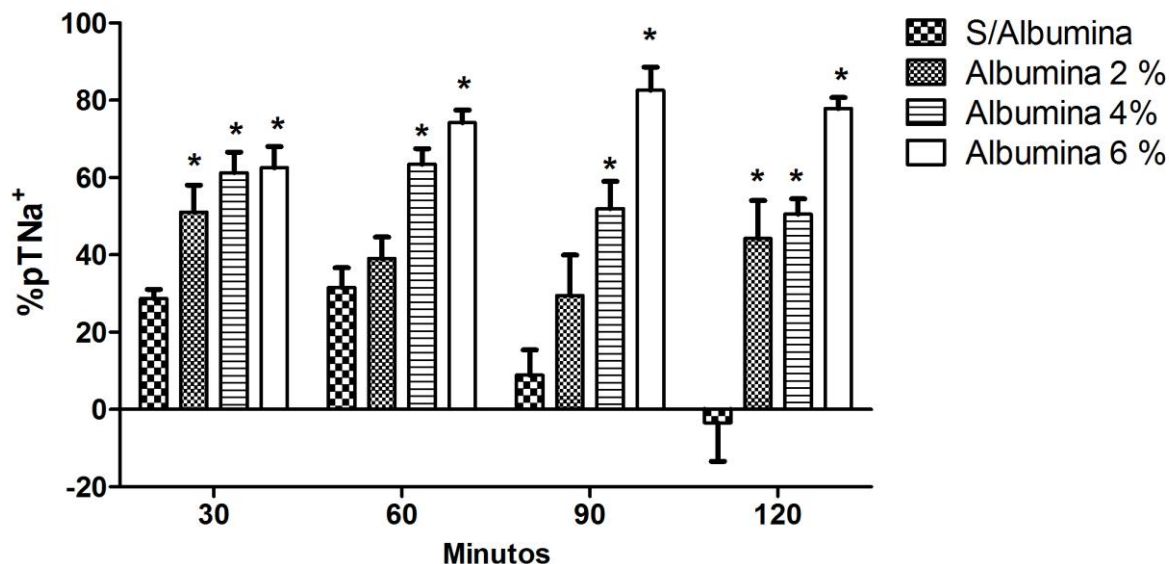
Os resultados demonstram para o grupo sem albumina uma diminuição progressiva do transporte proximal de potássio, iniciando em  $0,40 \pm 0,23 \mu\text{Eq/g/min}$  (tempo 30 min) e, posteriormente em 120 min,  $-0,17 \pm 0,22 \mu\text{Eq/g/min}$ .

A adição de 2 ou 4% de albumina em solução perfusora evocou grandes oscilações no transporte proximal de potássio, não havendo valores estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle sem albumina.

Somente a adição de 6% de albumina na solução perfusora foi capaz de produzir força coloidosmótica nos segmentos proximais, e aumentar o transporte proximal de potássio, atingindo valores de  $1,74 \pm 0,37$  (30 min),  $1,90 \pm 0,38$  (60 min),  $1,94 \pm 0,60$  (90 min) e  $2,30 \pm 0,68$  (120 min) (Figura 23).

### 6.14 Percentual do Transporte Proximal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 24: Percentual do Transporte Proximal de Sódio (%pTNa<sup>+</sup>) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



Os resultados demonstram para o grupo sem albumina uma diminuição progressiva dos valores percentuais de transporte proximal de sódio, iniciando em  $28,65 \pm 2,39$  %pTNa<sup>+</sup>, atingindo ao final de tempo experimental (120 min), valores de  $-3,43 \pm 10,02$  %pTNa<sup>+</sup>, ocorrendo secreção tubular proximal de sódio.

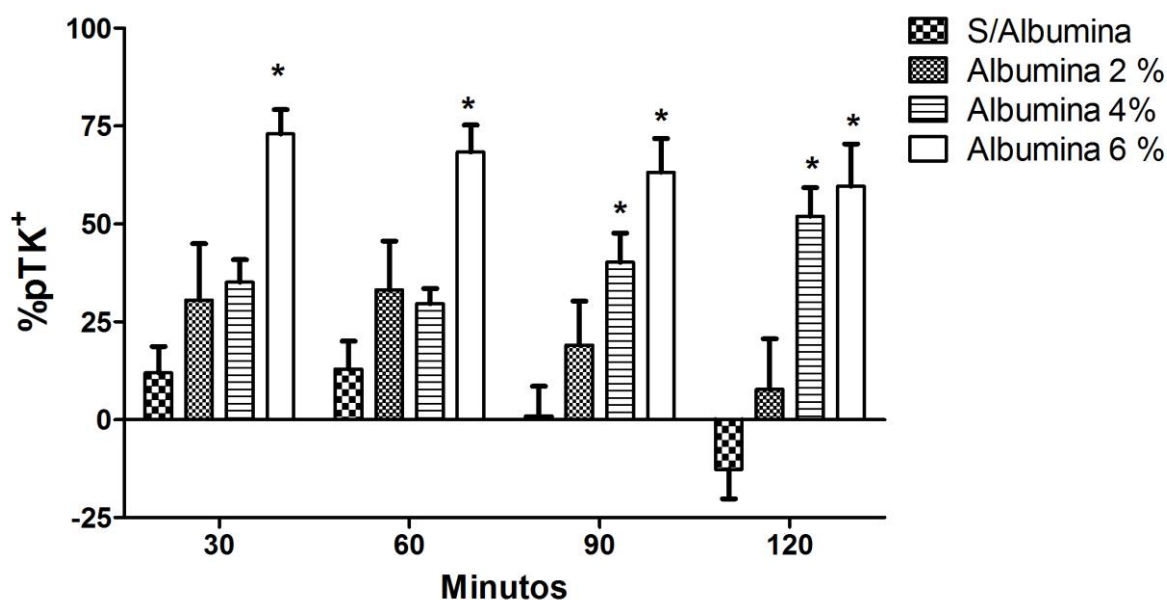
A adição de 2% de albumina na solução perfusora aumentou nos primeiros 30 min ( $51,06 \pm 6,93$  %pTNa<sup>+</sup>) e ao final, 120 min ( $44,17 \pm 9,8$  %pTNa<sup>+</sup>), de modo estatisticamente diferente quando comparado ao grupo controle sem albumina (Figura 24).

A adição de 4% de albumina na solução perfusora promoveu um aumento sustentado em torno de  $56,78 \pm 4,53$  %pTNa<sup>+</sup>. Todos os valores percentuais de transporte proximal de sódio, nos tempos experimentais mensurados foram estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle albumina.

A adição de 6% de albumina obteve o maior efeito no aumento do percentual de transporte proximal de sódio,  $77,91\%$ , atingindo valores de  $62,48 \pm 5,47$  %pTNa<sup>+</sup> (30 min),  $74,12 \pm 3,32$  %pTNa<sup>+</sup> (60 min),  $82,54 \pm 6,04$  %pTNa<sup>+</sup> (90 minutos) e  $77,82 \pm 2,81$  %pTNa<sup>+</sup> (120 minutos) (Figura 24).

### 6.15 Percentual do Transporte Proximal de Potássio nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina, em rim isolado perfundido de coelho

Figura 25: Percentual do Transporte Proximal de Potássio (%pTK<sup>+</sup>) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n=5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n=5), 4% (n=5) e 6% (n=5). Os resultados estão expressos em Média ± EPM.



A ausência de albumina na solução provocou uma diminuição progressiva do percentual de transporte de potássio durante os 120 min de tempo experimental.

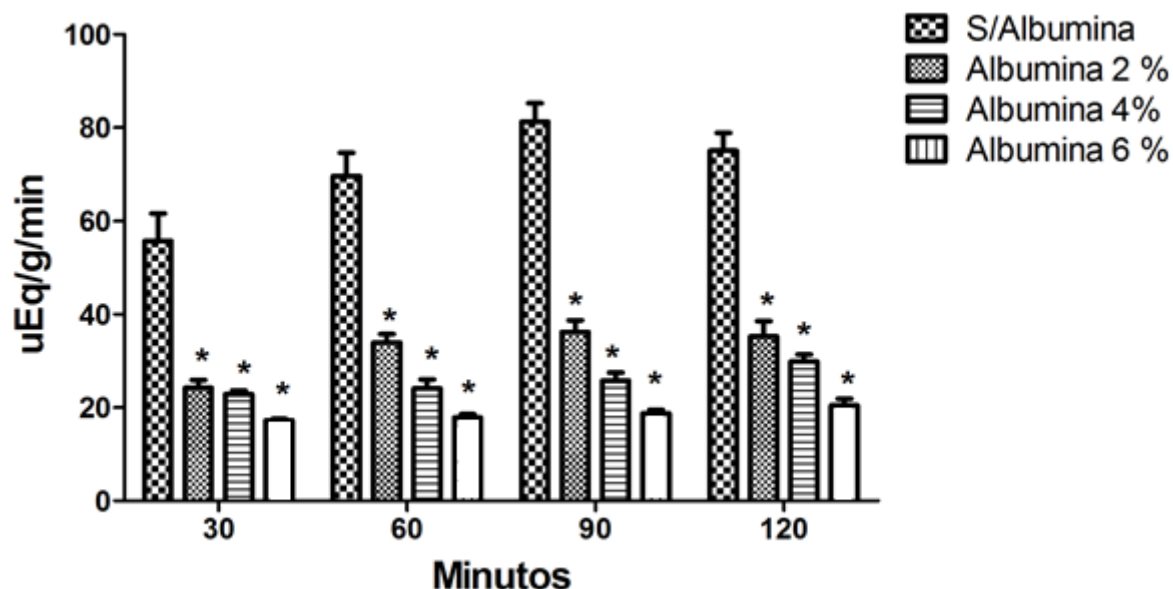
A adição de 2% de albumina na solução perfusora aumentou o percentual de transporte proximal de potássio, porém, sem diferença estatística, quando comparado ao grupo controle sem albumina, e também adquiriu um comportamento de diminuição progressiva de acordo com o tempo (Figura 25).

A adição de 4% de albumina na solução perfusora foi capaz de aumentar o percentual de transporte proximal de potássio nos últimos 60 min experimentais, 90 min ( $40,22 \pm 7,44$  %pTK<sup>+</sup>) e 120 min ( $51,97 \pm 7,29$  %pTK<sup>+</sup>), onde os valores diferiram estatisticamente do grupo controle sem albumina.

A adição de 6% de albumina na solução perfusora obteve os maiores níveis médios no percentual de transporte proximal de potássio,  $66,04 \pm 2,93$  %pTK<sup>+</sup>. Todos os valores encontrados nos tempos experimentais foram estatisticamente diferentes em comparação ao grupo controle sem albumina.

### 6.16 Sódio Excretado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 26: Sódio Excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=5$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



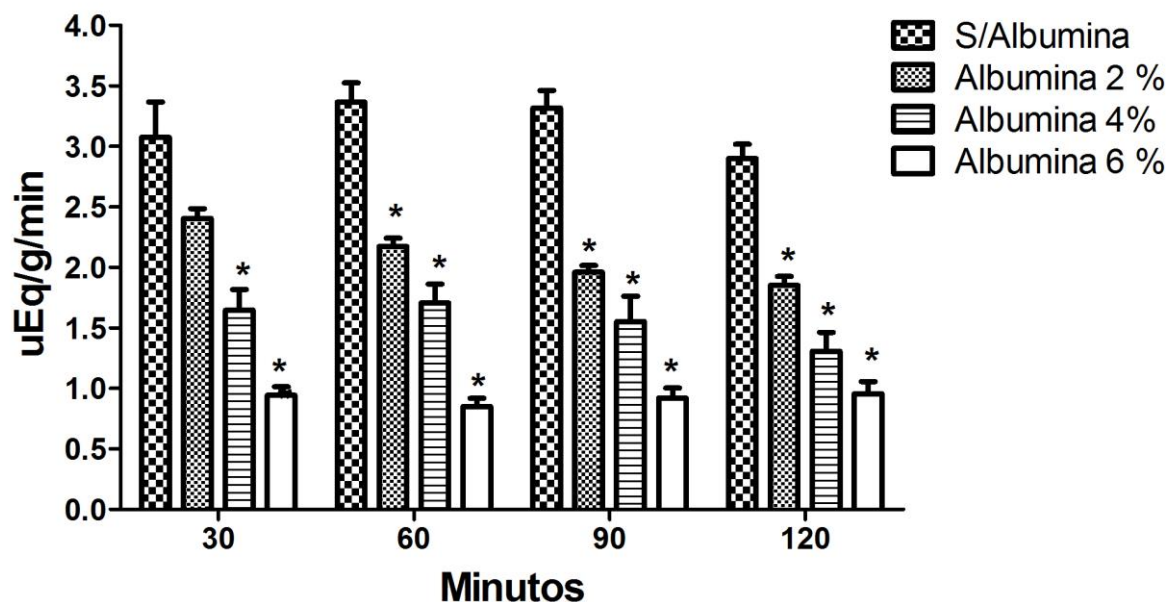
Os dados demonstraram para o grupo sem albumina altos valores de excreção de sódio, chegando a patamares próximos a  $70,42 \pm 5,44 \mu\text{Eq/g/min}$ . A adição de 2% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição do sódio excretado de 53,93% em comparação com o grupo sem albumina. Todos os valores de sódio, nos tempos experimentais mensurados, diminuíram de modo estatisticamente diferente, em comparação com o grupo sem albumina (Figura 26).

A adição de 4% de albumina à solução perfusora manteve um perfil baixo de excreção de sódio, em torno de 63,61% em comparação com o grupo sem albumina. Todos os tempos experimentais diminuíram modo estatisticamente significativo em comparação com o grupo sem albumina (Figura 26).

A adição de 6% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição de  $\text{Na}^+$  excretado de 73,62% em comparação com o grupo sem albumina. Todos os valores de  $\text{Na}^+$ , nos tempos experimentais, diminuíram modo estatisticamente significativo em comparação com o grupo sem albumina (Figura 26).

### 6.17 Potássio Excretado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 27: Potássio Excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=5$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



Os dados demonstraram para o grupo sem albumina uma manutenção dos altos níveis de potássio excretado até patamares médios próximos a  $3,11 \pm 0,1 \mu\text{Eq/g/min}$ .

A adição de 2% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição progressiva do potássio excretado, sendo em média 33,81% menor do que o grupo controle sem albumina. A partir dos 60 min experimentais, os valores do grupo 2% albumina diferiram estatisticamente do grupo sem albumina (Figura 27).

A adição de 4% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição de potássio excretado de 50,94% em comparação com o grupo sem albumina. Todos os valores mensurados nos tempos experimentais foram estatisticamente diferentes comparados ao grupo controle sem albumina.

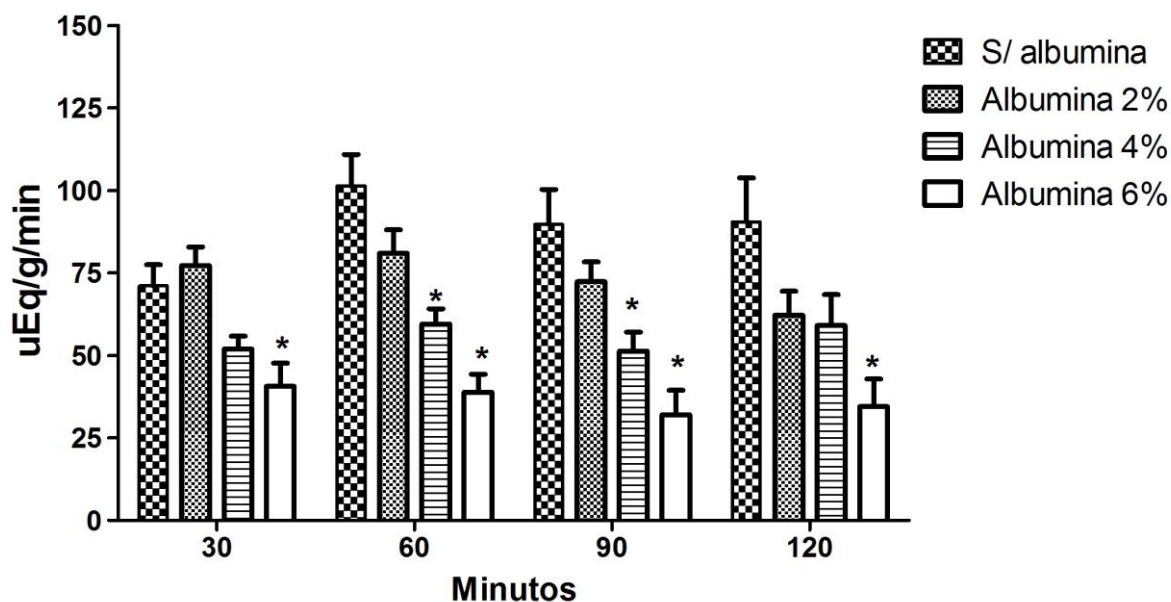
A adição de 6% de albumina à solução perfusora obteve os menores níveis de excreção de potássio, que promoveu em média uma diminuição de potássio excretado de 71,20% em comparação com o grupo sem albumina. Todos



os valores de potássio excretado, nos tempos experimentais, diminuíram modo estatisticamente significativo em comparação com o grupo sem albumina (Figura 27).

### 6.18 Sódio Filtrado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

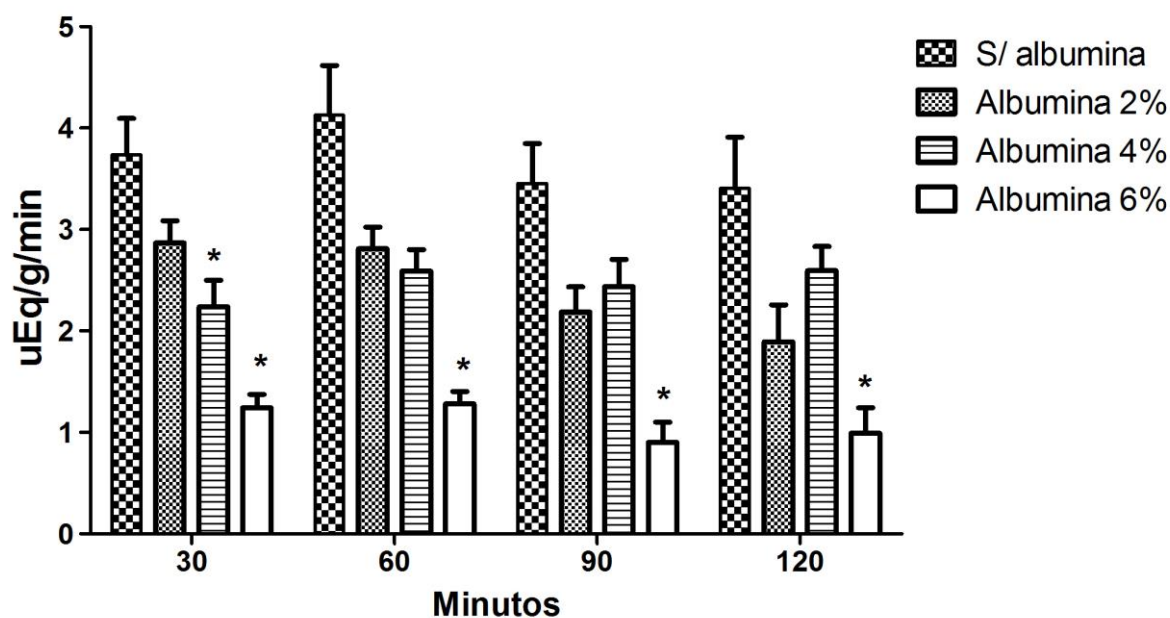
Figura 28: Sódio Filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=4$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=3$ ), 4% ( $n=4$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



Os dados de  $\text{Na}^+$  filtrado demonstraram, para o grupo sem albumina, valores médios de  $88,16 \pm 6,27 \mu\text{Eq/g/min}$  durante os 120 min de experimentação. A adição de 2% de albumina na solução perfusora diminuiu a quantidade de sódio filtrado, mas não suficiente para diferir estatisticamente do grupo controle sem albumina. A adição de 4% de albumina obteve valores estatisticamente diferentes do grupo controle nos tempos intermediários de 60 min ( $59,54 \pm 4,58 \mu\text{Eq/g/min}$ ) e 90 min ( $51,32 \pm 5,71 \mu\text{Eq/g/min}$ ). A adição de 6% de albumina em solução perfusora diminuiu em média 58,62%, sendo todos os valores de sódio filtrado mensurados nos tempos experimentais estatisticamente diferentes quando comparados ao grupo controle sem albumina (Figura 28).

### 6.19 Potássio Filtrado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 29: Potássio Filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=4$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=4$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina



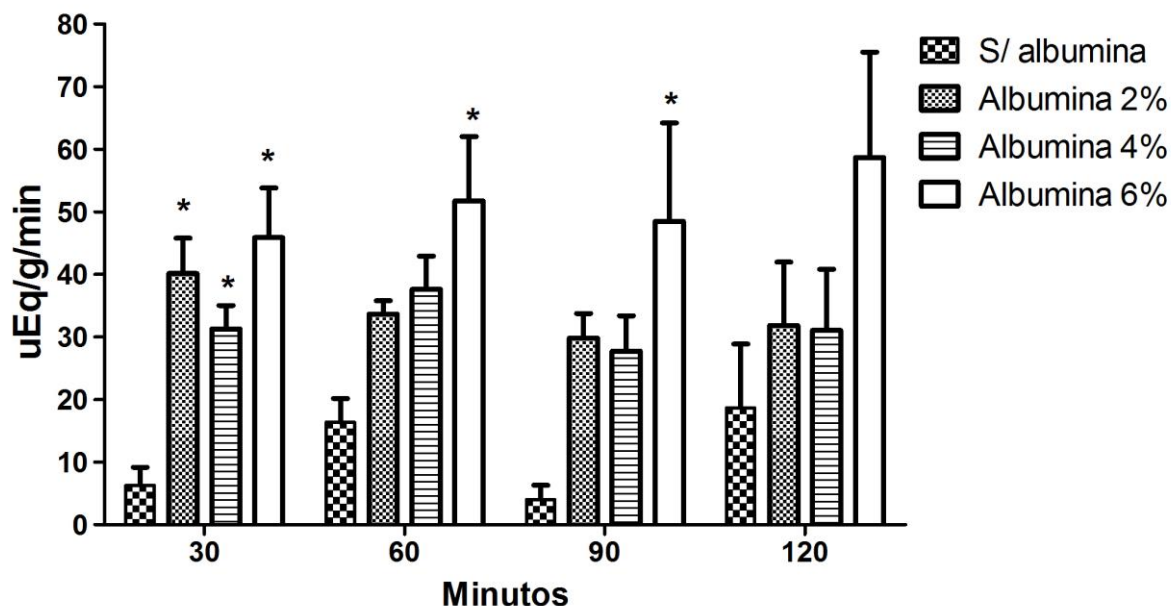
Os dados de  $\text{K}^+$  filtrado demonstraram, para o grupo sem albumina, valores médios de  $3,65 \pm 0,16 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 29). A adição de 2 % de albumina em solução perfusora, apesar de diminuir haver uma tendência à diminuição do conteúdo de potássio filtrado, não atingiu a significância estatística, quando comparada ao grupo controle sem albumina.

A adição de 4% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição do  $\text{K}^+$  filtrado de 33% em comparação com o grupo sem albumina, porém, somente os 30 primeiros min foram estatisticamente diferentes do grupo controle sem albumina (Figura 29).

A adição de 6% de albumina à solução perfusora promoveu em média uma diminuição do  $\text{K}^+$  filtrado de 70% em comparação com o grupo sem albumina, onde todos os valores, mensurados nos tempos experimentais foram estatisticamente diferentes quando comparados com o grupo sem albumina (Figura 29).

## 6.20 Sódio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 30: Sódio Transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=5$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM.

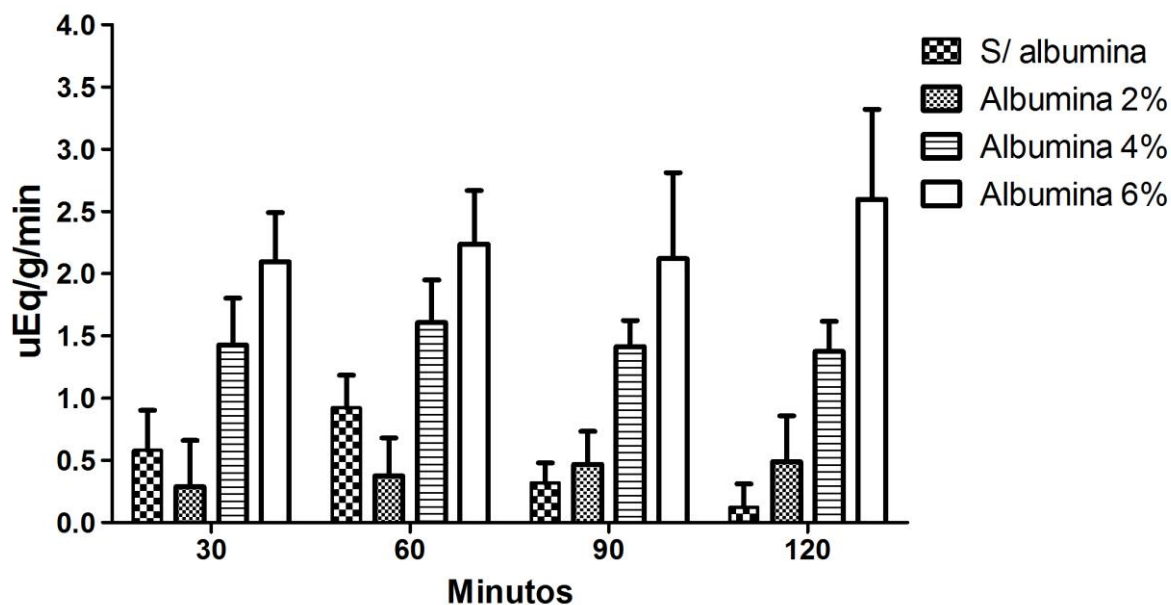


Os dados de sódio transportado demonstraram, para o grupo sem albumina, valores de transporte de sódio em  $11,35 \pm 3,69 \mu\text{Eq/g/min}$ . A adição de 2% ou 4% de albumina à solução perfusora aumentou de modo estatisticamente diferente 84,31% e 80,58%, respectivamente, no transporte de sódio durante os primeiros 30 min, quando comparado ao grupo controle sem albumina. Estes aumentos não permaneceram nos 90 min posteriores (Figura 30).

Somente a adição de 6% de albumina à solução perfusora promoveu, um aumento no transporte de sódio para valores de  $51,21 \pm 2,70 \mu\text{Eq/g/min}$ , cerca de 78% maior quando comparado ao grupo controle sem albumina.

### 6.21 Potássio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 31: Potássio Transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina ( $n=5$ ), Krebs-Henseleit albumina 2% ( $n=5$ ), 4% ( $n=5$ ) e 6% ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \* $p < 0.05$  em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.

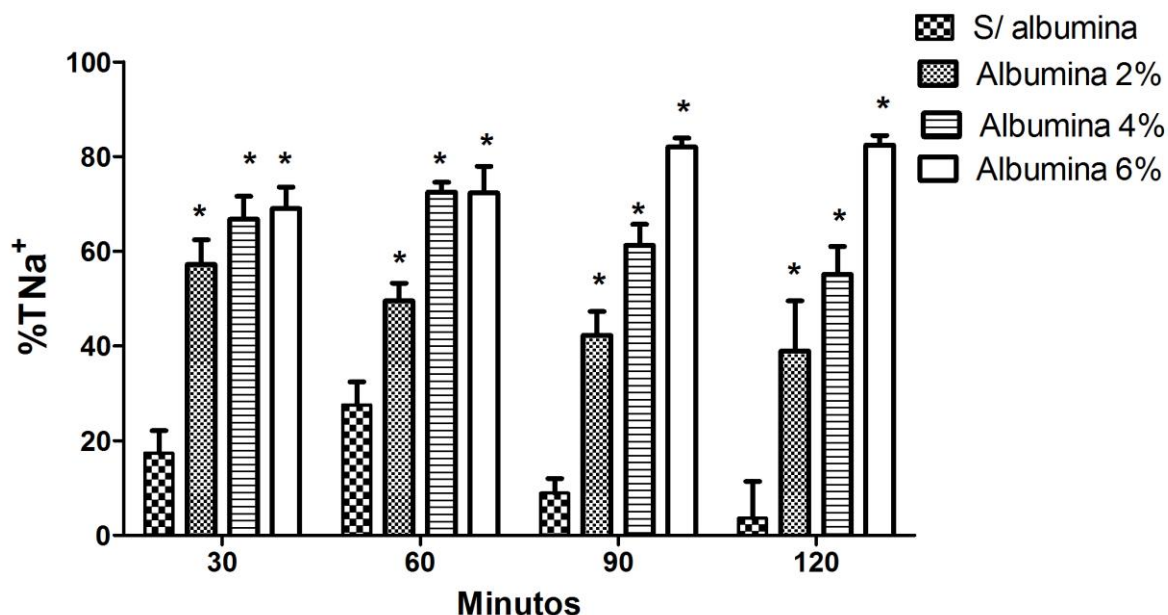


Os dados de  $\text{K}^+$  transportado demonstraram, para o grupo sem albumina, valores decrescentes ao longo do tempo experimental, iniciando em  $0,58 \pm 0,32 \mu\text{Eq/g/min}$  nos primeiros 30 min, e atingindo em  $0,12 \pm 0,18 \mu\text{Eq/g/min}$  aos 120 min de experimentação (Figura 31).

A adição de 2%, 4 ou 6% de albumina na solução perfusora, apesar de demonstrar uma tendência ao aumento do potássio transportado, não obteve valores mensurados nos tempos experimentais de modo estatisticamente diferentes, quando comparados ao grupo controle sem albumina.

## 6.22 Percentual de Sódio Transportado nos grupos Krebs- Henseleit sem albumina , 2% , 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 32: Percentual de Sódio Transportado (%TNa<sup>+</sup>) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 4), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 5), 4% (n=4) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.

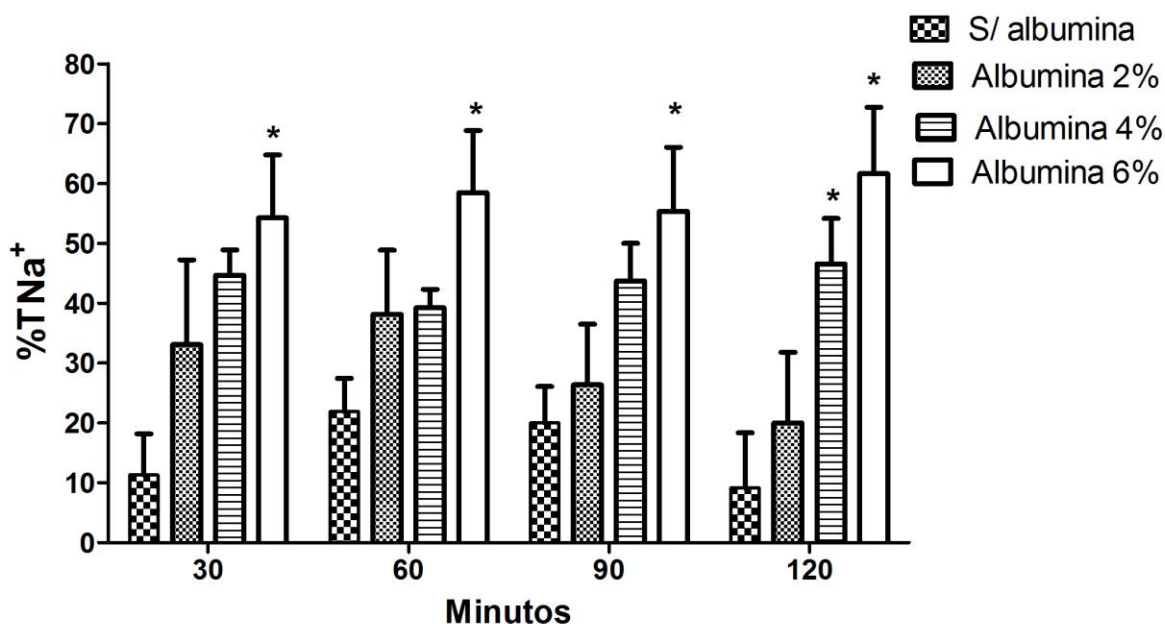


Os dados demonstraram para o grupo sem albumina uma manutenção no percentual de Na<sup>+</sup> transportado em patamares médios de 14,37  $\pm$  5,3 %TNa<sup>+</sup> durante o tempo experimental (Figura 32). A adição de 2% de albumina à solução perfusora promoveu um aumento estatisticamente significativo, em comparação ao grupo sem albumina, nos tempos experimentais 30 min (57,21  $\pm$  5,19 %TNa<sup>+</sup>), 60 min (49,54  $\pm$  3,71 %TNa<sup>+</sup>), 90 min (42,2  $\pm$  5,06 %TNa<sup>+</sup>) e 120 min (38,91  $\pm$  10,62 %TNa<sup>+</sup>). A adição de 4% de albumina à solução perfusora manteve o percentual de transporte de sódio 77% maior do que o grupo controle sem albumina, sendo todos os valores nos tempos experimentais mensurados, estatisticamente diferentes do grupo controle sem albumina.

A adição de 6% de albumina a solução perfusora acentuou levemente o aumento no percentual de transporte de sódio no rim, aumentando a níveis de 81,57%. Todos os valores nos tempos experimentais mensurados foram estatisticamente diferentes do grupo controle sem albumina.

### 6.23 Percentual de Potássio Transportado nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina, Krebs-Henseleit albumina 2%, 4% e 6% de albumina em rim isolado perfundido de coelho

Figura 33: Percentual de Potássio Transportado (%TK<sup>+</sup>) nos grupos Krebs-Henseleit sem albumina (n= 5), Krebs-Henseleit albumina 2% (n= 6), 4% (n= 4) e 6% (n= 5). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. \*p < 0.05 em comparação à Krebs-Henseleit sem albumina.



Os dados demonstraram para o grupo sem albumina uma manutenção no percentual de K<sup>+</sup> transportado em patamares médios de  $15,58 \pm 3,15$  %TK<sup>+</sup> durante o tempo experimental (Figura 33).

Os dados demonstram para o grupo Albumina 2%, um aumento discreto do percentual de transporte de potássio durante os primeiros 60 min, mas, sem diferença estatística quando comparado ao grupo controle sem albumina (Figura 33). O adição de 4% de albumina na solução perfusora foi capaz, somente aos 120 min, de diferir estatisticamente o percentual de reabsorção de potássio, quando comparado ao grupo controle sem albumina.

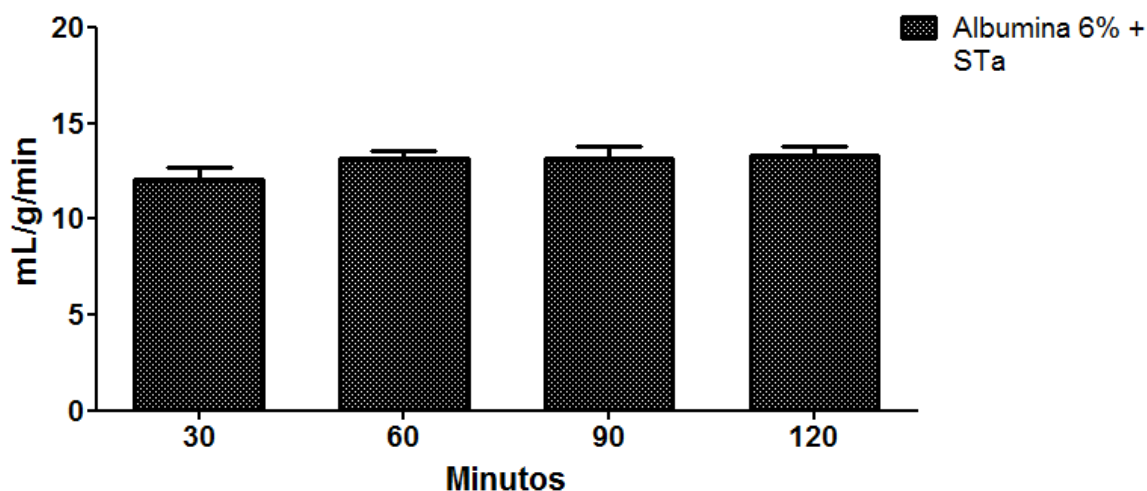
Somente a adição de 6% de albumina na solução perfusora foi capaz de elevar o percentual de transporte de potássio a um percentual de 73% maiores do que o grupo controle sem albumina. Todos os valores encontrados nos tempos experimentais mensurados foram considerados diferente estatisticamente do grupo controle.

Após a extensiva análise de todos os parâmetros que estiveram apresentados na sequência, optou-se pela avaliação dos efeitos da toxina termo estável da *Escherichia coli*, utilizando para isso, a concentração de albumina de 6 g%. Concentração essa que corresponde àquela observada em várias espécies de mamíferos quando avaliadas no soro sanguíneo, como gerbils, chinchilas, ratos e porquinhos da Índia (BREWER, 2006). Assim, discorreremos sobre as variações fisiológicas observadas durante o curso das perfusões *ex-vivo* constantes dessa preparação.



## 6.24 Fluxo de Perfusão Renal no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 34: Fluxo de Perfusão Renal (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.

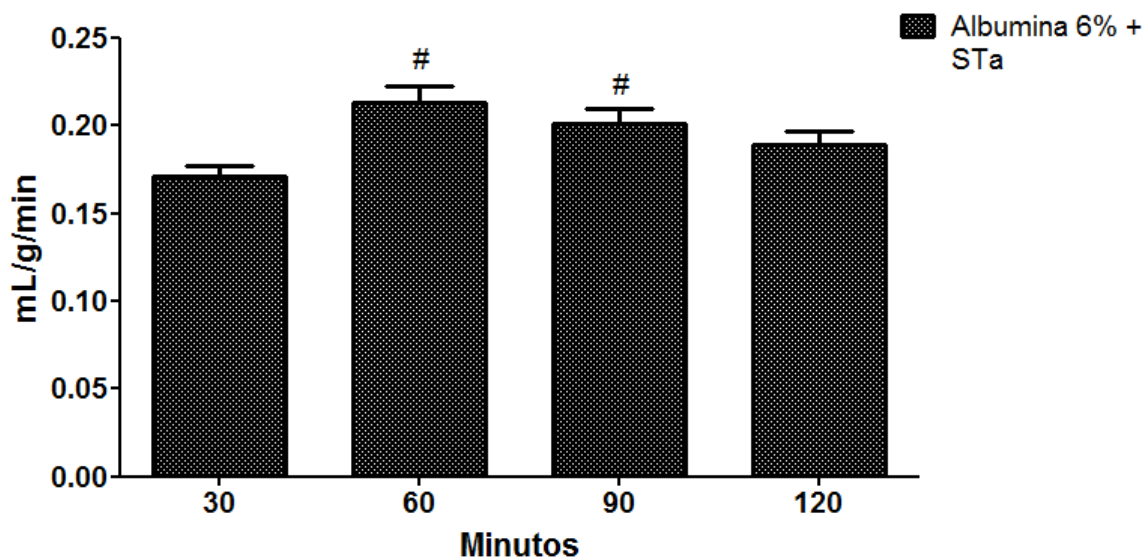


O fluxo de perfusão renal do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $12,95 \pm 0,28$  ml/g/min. Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o Fluxo de Perfusão Renal de  $12,10 \pm 0,59$  ml/g/min (Figura 34).

A adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min não modificou o Fluxo de Perfusão Renal nos tempos de 60, 90 ou 120 min. Apesar de haver um aumento de 8,12 % no tempo de 60 min, 8,76% no tempo de 90 min e 10,57% no tempo de 120 min, não foram estatisticamente significantes quando comparados ao tempo controle 30 min (Figura 34).

### 6.25 Fluxo urinário no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 35: Fluxo urinário (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



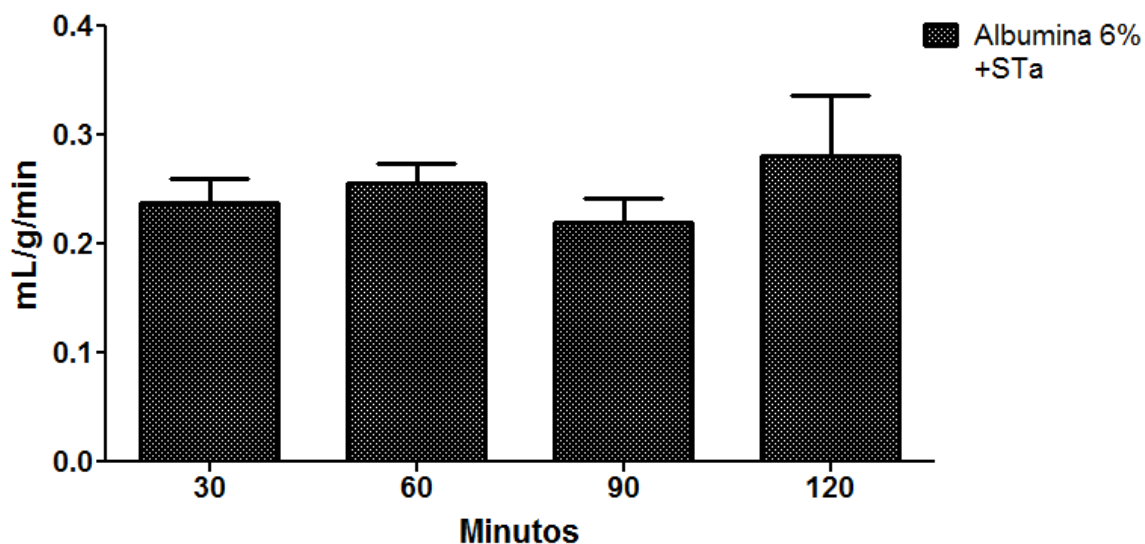
O fluxo urinário do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $0,195 \pm 0,008$  ml/g/min. Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o fluxo urinário de  $0,017 \pm 0,006$  ml/g/min (Figura 35).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $0,017 \pm 0,006$  ml/g/min) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o fluxo urinário de modo estatisticamente significativo em 24,56% no tempo de 60 min ( $0,213 \pm 0,009$  ml/g/min) (Figura 35).

De modo semelhante, no tempo 90 min, o aumento no fluxo urinário permaneceu em valores estatisticamente significantes ( $0,201 \pm 0,008$  ml/g/min) quando comparados ao tempo controle 30 min. Aos 120 min, o fluxo urinário retornou a valores próximos ao controle ( $0,189 \pm 0,007$  ml/g/min), porém, não houve significância estatística quando comparados ao tempo controle (Figura 35).

### 6.26 Ritmo de Filtração Glomerular no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 36: ritmo de Filtração Glomerular (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM.



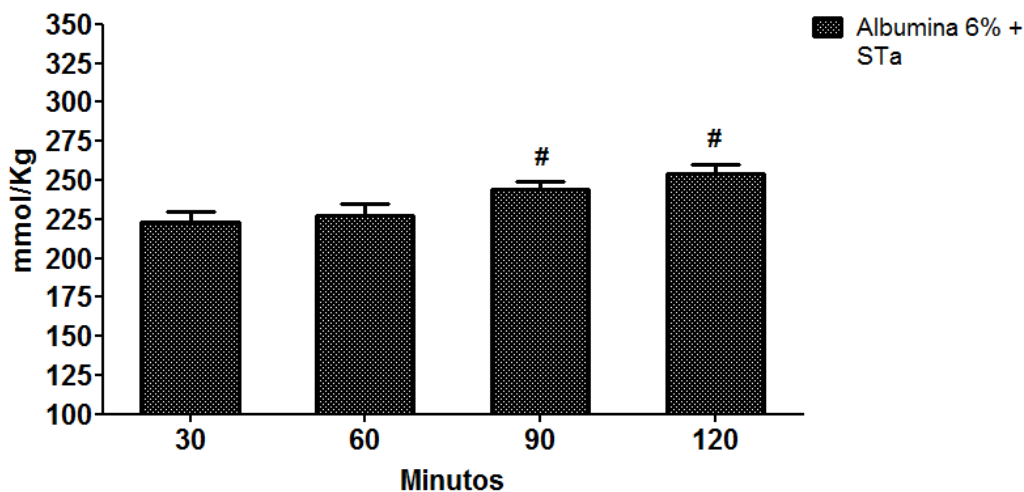
O ritmo de filtração glomerular do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $0,248 \pm 0,013$  ml/g/min. Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min um ritmo de filtração glomerular de  $0,237 \pm 0,022$  ml/g/min .

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $0,086 \pm 0,012$  ml/g/min) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min não aumentou o ritmo de filtração glomerular de modo no tempo 60 ou 90 min.

O tempo 120 min demonstrou uma tendência ao aumento ( $0,279 \pm 0,055$  ml/g/min, porém, este não se verificou em função da variabilidade de valores entre os experimentos realizados, não havendo significância estatística (Figura 36).

### 6.27 Osmolaridade presente no perfusato no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 37: Osmolaridade presente no perfusato (mmol/Kg) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.

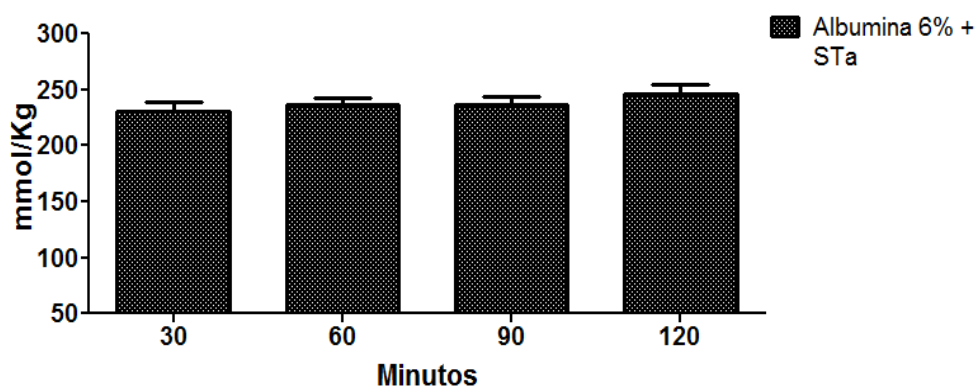


A osmolaridade presente no perfusato do grupo Albumina 6% + STa (7 ng/ml) apresentou valores semelhantes entre 30 min (222,93  $\pm$  6,92 mmol/Kg) e 60 min (227,25  $\pm$  8,08 mmol/Kg).

Após a adição de STa (7 ng/ml), aos 40 min, de modo tardio, aos 90 min, ocorreu um aumento de 9,45% da osmolaridade presente no perfusato (243,87  $\pm$  5,60 mmol/Kg), de modo estatisticamente significante, quando comparado ao tempo controle 30 min. O aumento da osmolaridade no perfusato, dada a adição de STa (7 ng/ml), continua aos 120 min, apresentando um aumento de 14,41%, de modo estatisticamente diferente, quando comparado ao tempo controle 30 minutos (Figura 38).

### 6.28 Osmolaridade presente na urina no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

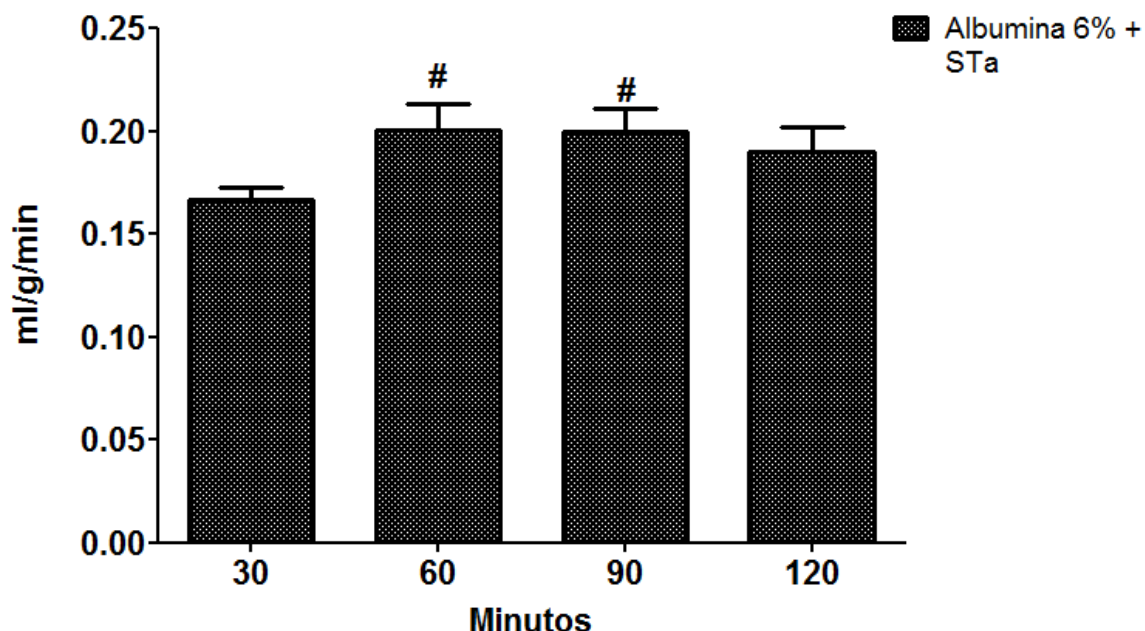
Figura 38: Osmolaridade presente na urina (mmol/Kg) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



A osmolaridade presente na urina do grupo Albumina 6% + STa (7 ng/ml) não apresentou grande variabilidade entre os tempos experimentais, apresentando valores médios de  $237,7 \pm 3,17$  mmol/Kg. A ocorrência de valores de osmolaridade presente na urina aos 60 min ( $236,27 \pm 5,77$  mmol/Kg), 90 ( $237,05 \pm 6,74$  mmol/Kg), ou 120 min ( $246,3 \pm 7,85$  mmol/Kg), não foram estatisticamente significantes quando comparados aos tempo controle 30 min ( $231,04 \pm 8,03$  mmol/Kg) (Figura 38).

### 6.29 Clearance Osmolar nos grupos Krebs-Henseleit albumina 6% e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 39: Clearance Osmolar (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



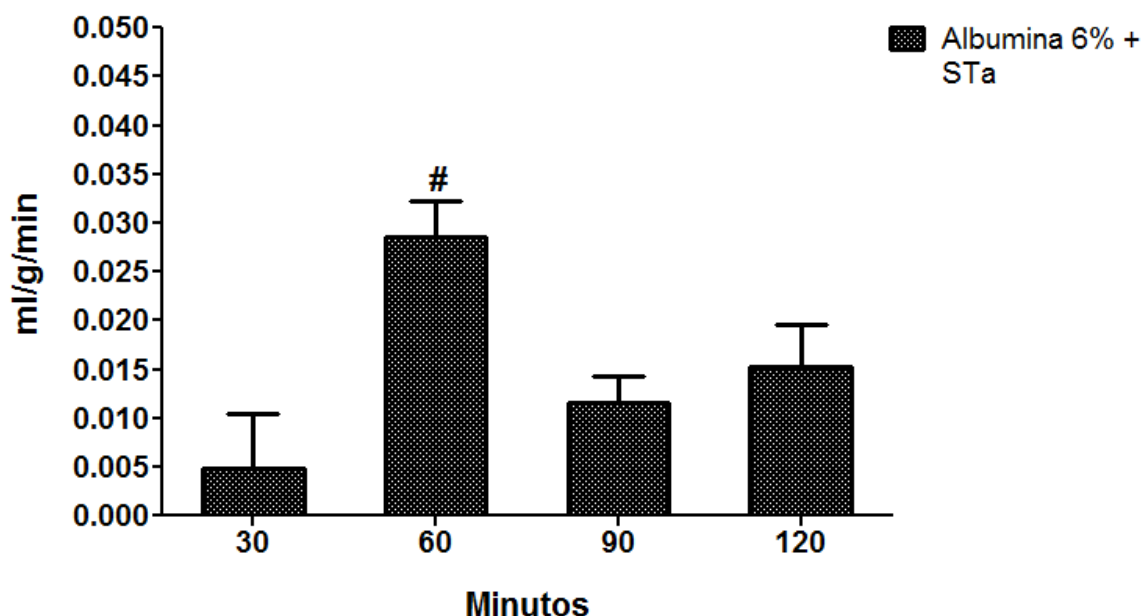
O Clearance Osmolar do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $0,189 \pm 0,007$  ml/g/min. Os resultados mostraram no tempo controle 30 min o Clearance Osmolar de  $0,166 \pm 0,005$  ml/g/min (Figura 39).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $0,166 \pm 0,005$  ml/g/min) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o Clearance Osmolar de modo estatisticamente significativo em 24,09% no tempo de 60 min ( $0,200 \pm 0,012$  ml/g/min) (Figura 39).

De modo semelhante, o aumento do Clearance Osmolar verificado em 60 min permaneceu aos 90 min ( $0,199 \pm 0,01$  ml/g/min), reduzindo para 19,87%, porém, ainda sendo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 min. Aos 120 min, o Clearance Osmolar retornou a valores próximos ( $0,189 \pm 0,01$  ml/g/min) do tempo controle 30 min, não havendo significância estatística quando comparados ao tempo controle (Figura 39).

### 6.30 Clearance de Água Livre no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 40: Clearance de Água Livre (ml/g/min) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



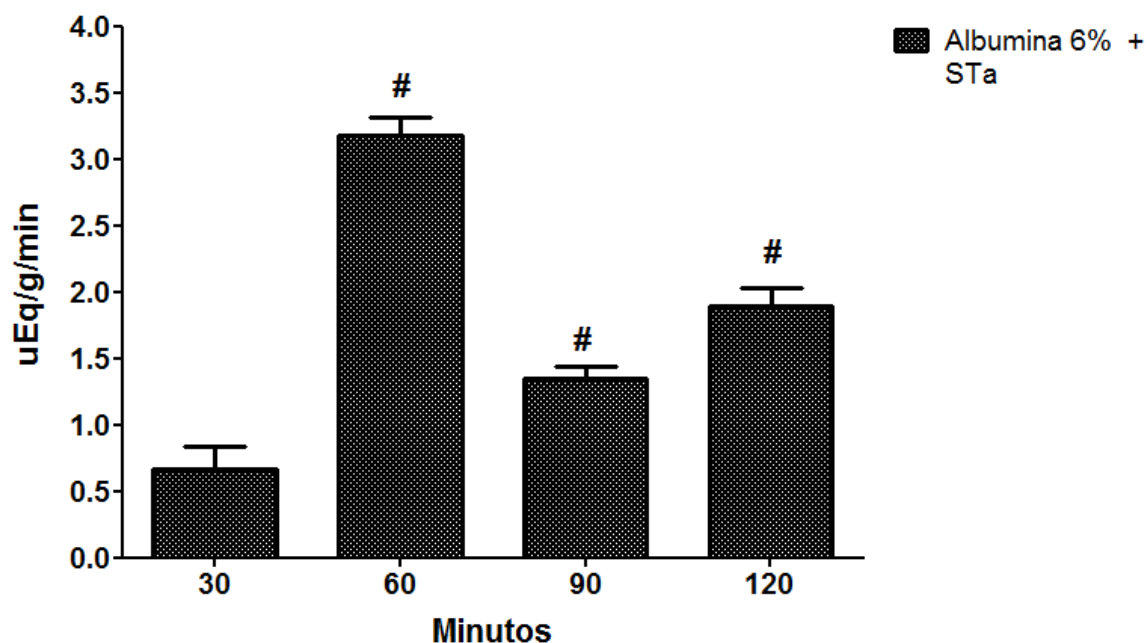
O Clearance de Água Livre do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $0,015 \pm 0,004$  ml/g/min. Os resultados mostraram no tempo controle 30 min o Clearance de Água Livre de  $0,004 \pm 0,005$  ml/g/min (Figura 40).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $0,004 \pm 0,005$  ml/g/min) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o Clearance de Água Livre de modo estatisticamente significativo em 600% no tempo de 60 min ( $0,028 \pm 0,003$  ml/g/min) (Figura 40).

Aos 90 ( $0,011 \pm 0,002$  ml/g/min) e 120 min ( $0,015 \pm 0,004$  ml/g/min), o aumento do Clearance de Água Livre, verificado em 60 min, diminuiu progressivamente, retornando a valores próximos do tempo controle 30 min, não havendo significância estatística quando comparados ao tempo controle (Figura 40).

### 6.31 Transporte Distal de Sódio nos grupos Krebs-Henseleit albumina 6% e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 41: Transporte Distal de Sódio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) ( $n=4$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



O transporte distal de sódio do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) iniciou em valores de  $0,67 \pm 0,17 \mu\text{Eq/g/min}$  e aumentou progressivamente. (Figura 41).

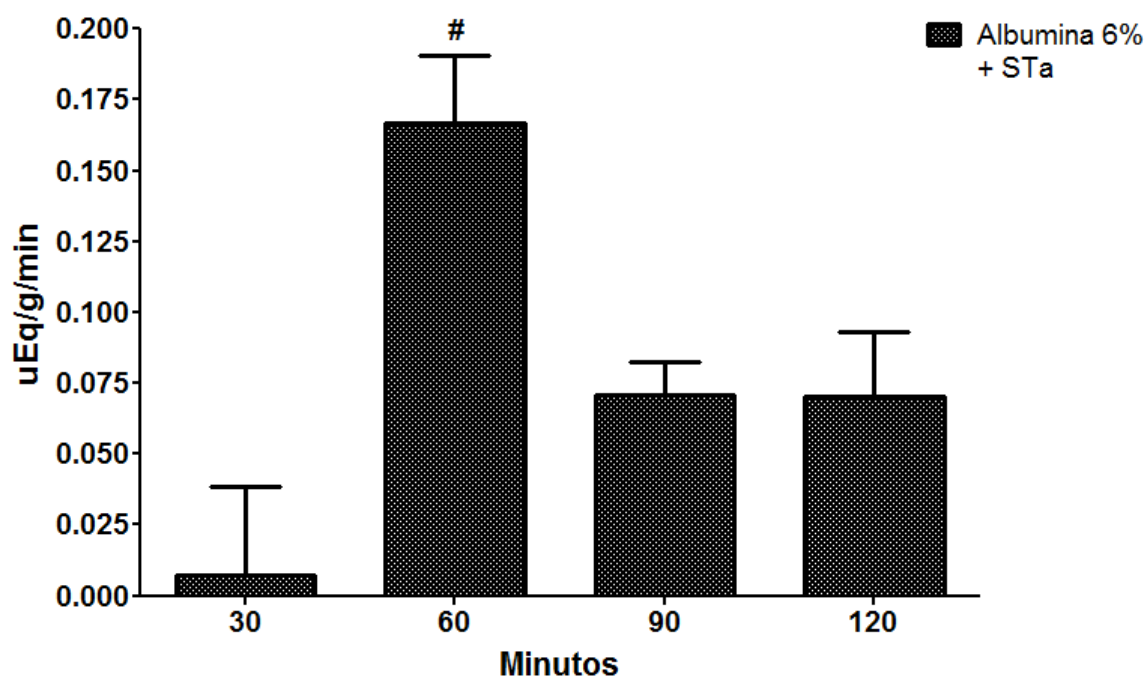
Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $0,67 \pm 0,17 \mu\text{Eq/g/min}$ ) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o transporte distal de sódio de modo estatisticamente significativo em 374% no tempo de 60 min ( $3,18 \pm 0,13 \mu\text{Eq/g/min}$ ) (Figura 41).

Aos 90 ( $1,34 \pm 0,08 \mu\text{Eq/g/min}$ ) e 120 min ( $1,89 \pm 0,13 \mu\text{Eq/g/min}$ ), o aumento do transporte distal de sódio, verificado em 60 min, diminuiu progressivamente, retornando a valores próximos ( $1,34 \pm 0,14 \mu\text{Eq/g/min}$ ) do tempo controle 30 min, ainda havendo significância estatística quando comparados ao tempo controle (Figura 41).



### 6.32 Transporte Distal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 42: Transporte Distal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) ( $n=4$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



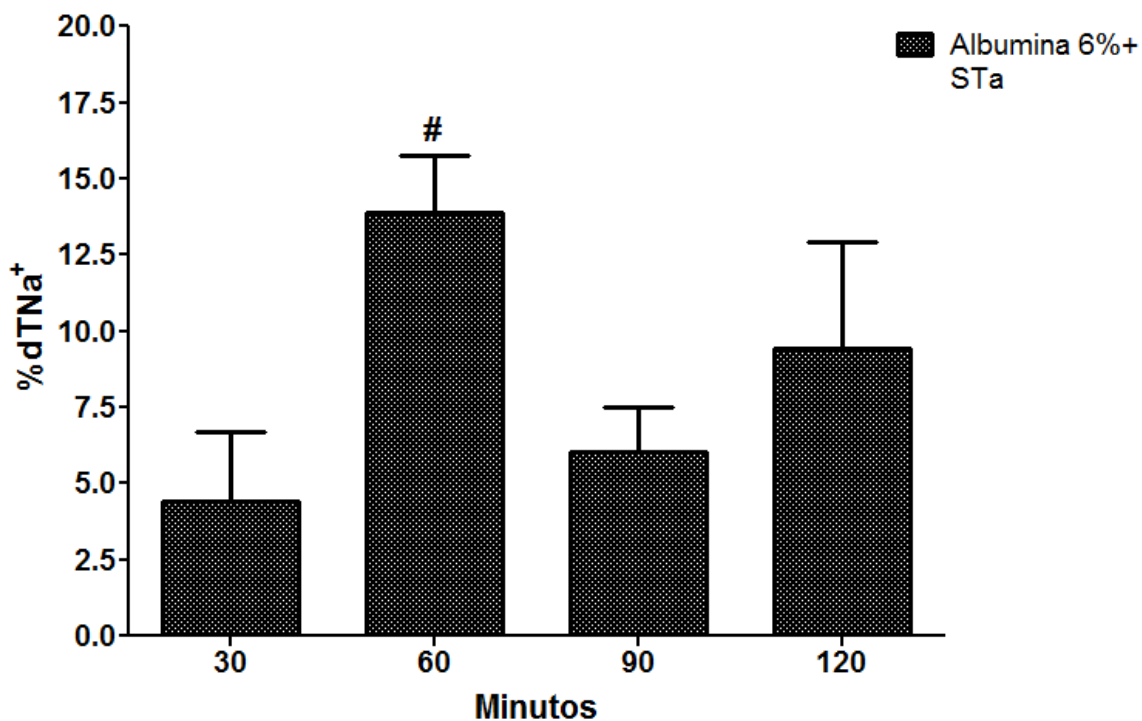
No início do tempo 30 min controle, obtivemos percentuais de transporte distal de potássio do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) em torno de valores de  $0,007 \pm 0,031 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 42).

A adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o Percentual de transporte distal de potássio de modo estatisticamente significativo no tempo de 60 min ( $0,166 \pm 0,02 \mu\text{Eq/g/min}$ ) (Figura 42).

O aumento verificado aos 60 min não se confirmou em tempos posteriores, 90 e 120 min, retornando a valores próximos ao tempo 30 min controle, de modo não estatisticamente significativo (Figura 42).

### 6.33 Percentual do Transporte Distal de Sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 43: Percentual do Transporte Distal de Sódio (%dTNa<sup>+</sup>) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5 ). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.



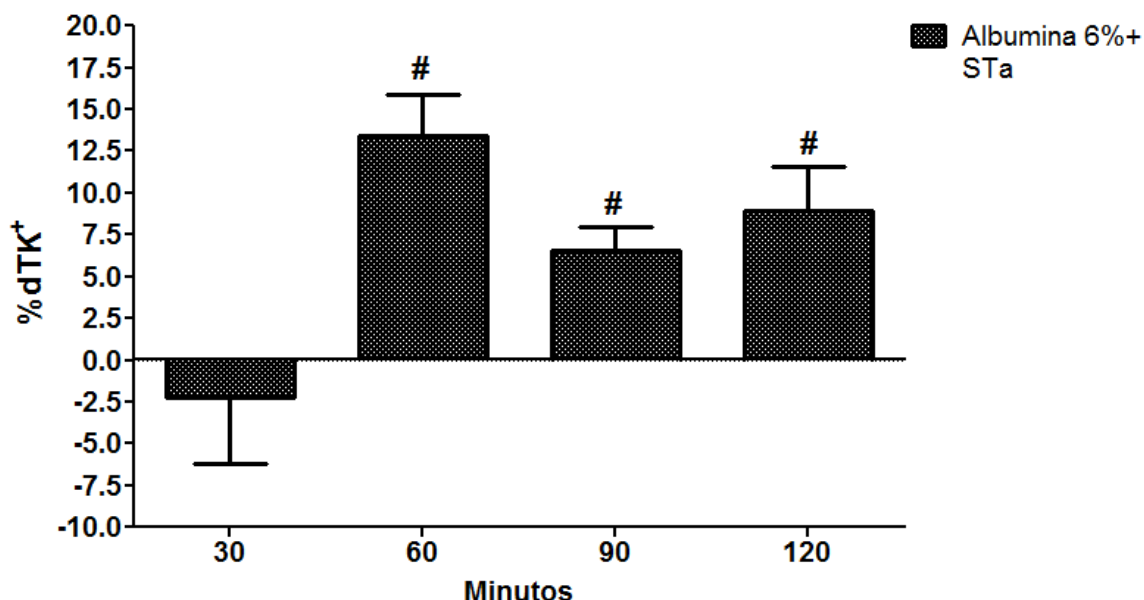
No início do tempo 30 min controle, obtivemos percentuais de Transporte Distal de Sódio do grupo Krebs albumina 6% + STa ( 7 ng/ml) em torno de valores de  $4,44 \pm 2,25 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 43).

A adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o Percentual de Transporte Distal de Sódio de modo estatisticamente significativo em 215 % no tempo de 60 min ( $13,89 \pm 1,70 \mu\text{Eq/g/min}$ ) (Figura 43).

O aumento verificado aos 60 min não se confirmou em tempos posteriores, 90 e 120 min, retornando a valores próximos ao tempo 30 min controle, de modo não estatisticamente significativo (Figura 43).

### 6.34 Percentual do Transporte Distal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 44: Percentual do Transporte Distal de Potássio (%dTK<sup>+</sup>) nos grupos Krebs Henseleit albumina 6% (n= 5) e Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.



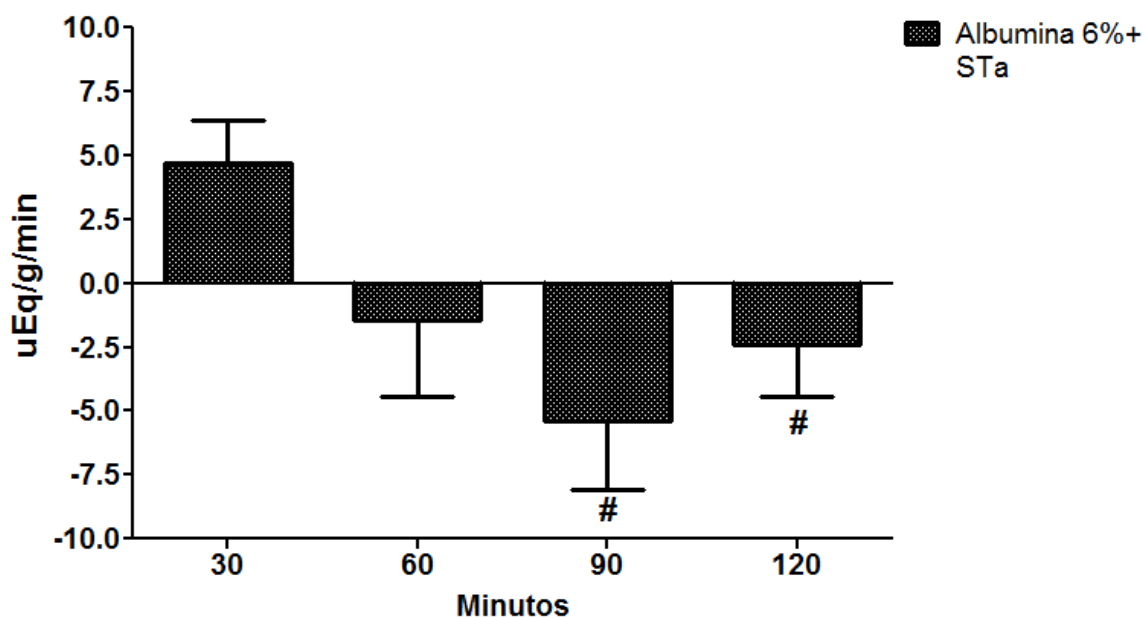
O Percentual do Transporte Distal de Potássio do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $6,66 \pm 3,26$  %dTK<sup>+</sup>. Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o Percentual do Transporte Distal de Potássio de  $-2,27 \pm 3,96$  %dTK<sup>+</sup> (Figura 44).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $-2,27 \pm 3,96$  %dTK) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o Percentual do Transporte Distal de Potássio de modo estatisticamente significativo no tempo de 60 min ( $13,41 \pm 2,45$  %dTK<sup>+</sup>) (Figura 44).

O aumento do Percentual do Transporte Distal de potássio, verificado em 60 min, permaneceu aos 90 min ( $6,59 \pm 1,37$  %dTK<sup>+</sup>), e aos 120 min ( $8,90 \pm 2,64$  %dTK<sup>+</sup>) sendo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle 30 min.

### 6.35 Transporte Proximal de Sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 45: Transporte Proximal de Sódio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



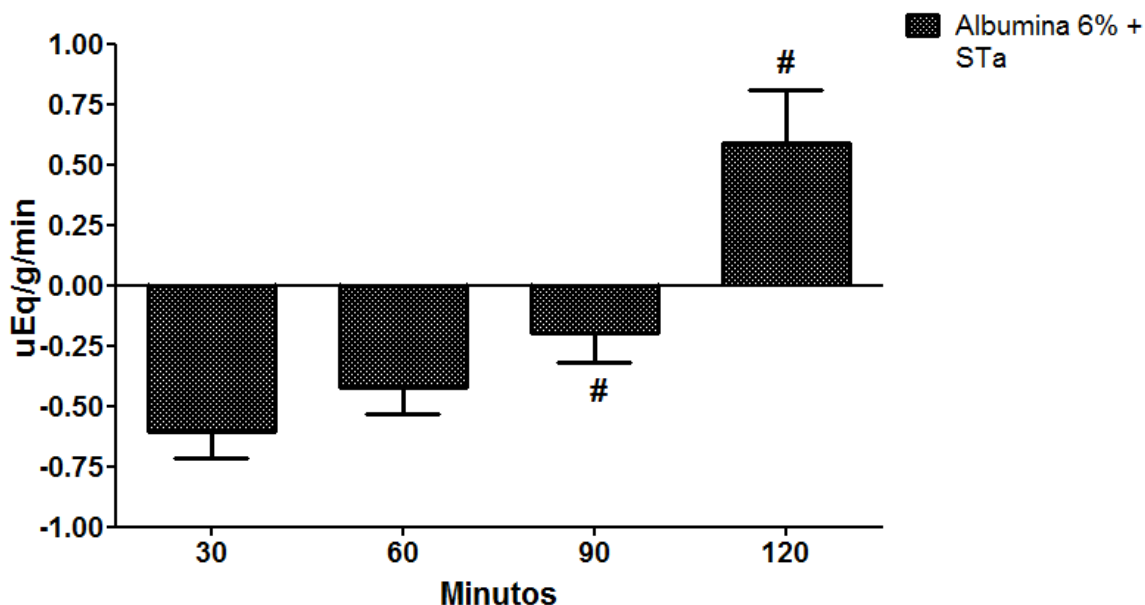
O Transporte Proximal de Sódio do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) iniciou em valores controle de  $4,69 \pm 1,65 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 45).

A adição de STa 7 ng/ml aos 40 min promoveu uma redução do transporte proximal de sódio em 214 % aos 90 min, de modo estatisticamente significativo (Figura 45).

Aos 120 min, a redução do Transporte Proximal de Sódio ainda é observada, de modo menos intenso, 150%, porém ainda estatisticamente significativo, quando comparado ao tempo controle 30 min.

### 6.36 Transporte Proximal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 46: Transporte Proximal de Potássio ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.

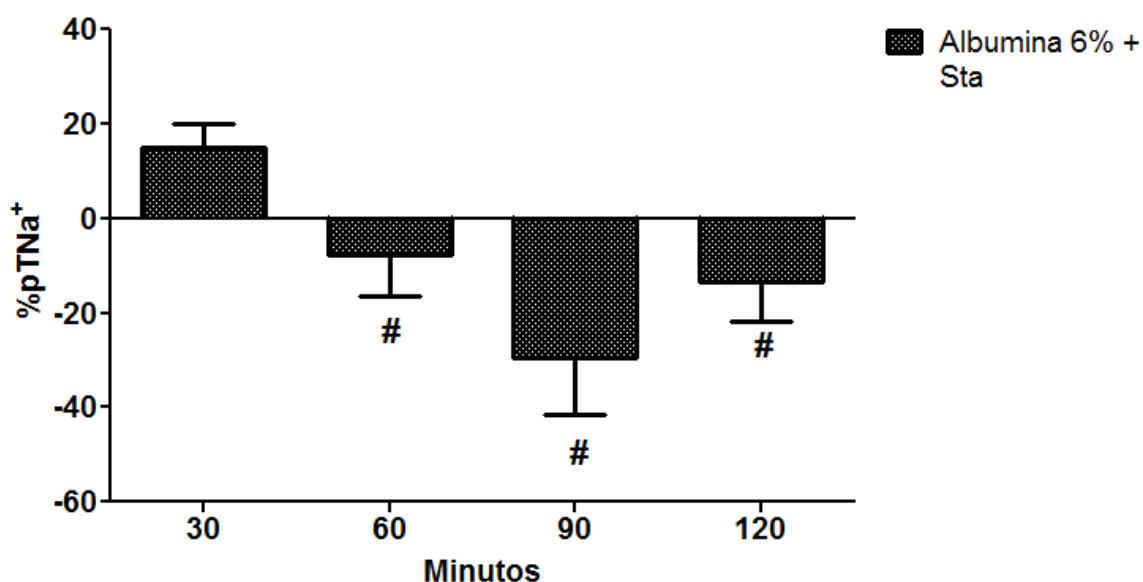


Inicialmente, no tempo controle 30 min, foi observado uma secreção de potássio ( $-0,61 \pm 0,11 \%TK^+$ ) no segmento proximal. Posteriormente, após a adição de STa (7 ng/ml) aos 40 min, houve uma diminuição progressiva da secreção de potássio neste mesmo segmento.

A partir do tempo de 90 min, a adição de STa (7 ng/ml) aos 60 min, promoveu um aumento no transporte proximal de potássio de 28,33%, de modo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 min (Figura 46). A redução da secreção de potássio continua aos 120 ( $0,59 \pm 0,21 \%TK^+$ ) min, ocorrendo a interrupção da secreção, e ocorrência da reabsorção de potássio em segmento proximal (Figura 46).

### 6.37 Percentual do Transporte Proximal de Sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 47: Percentual do Transporte Proximal de Sódio (%pTNa<sup>+</sup>) no Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=4). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.

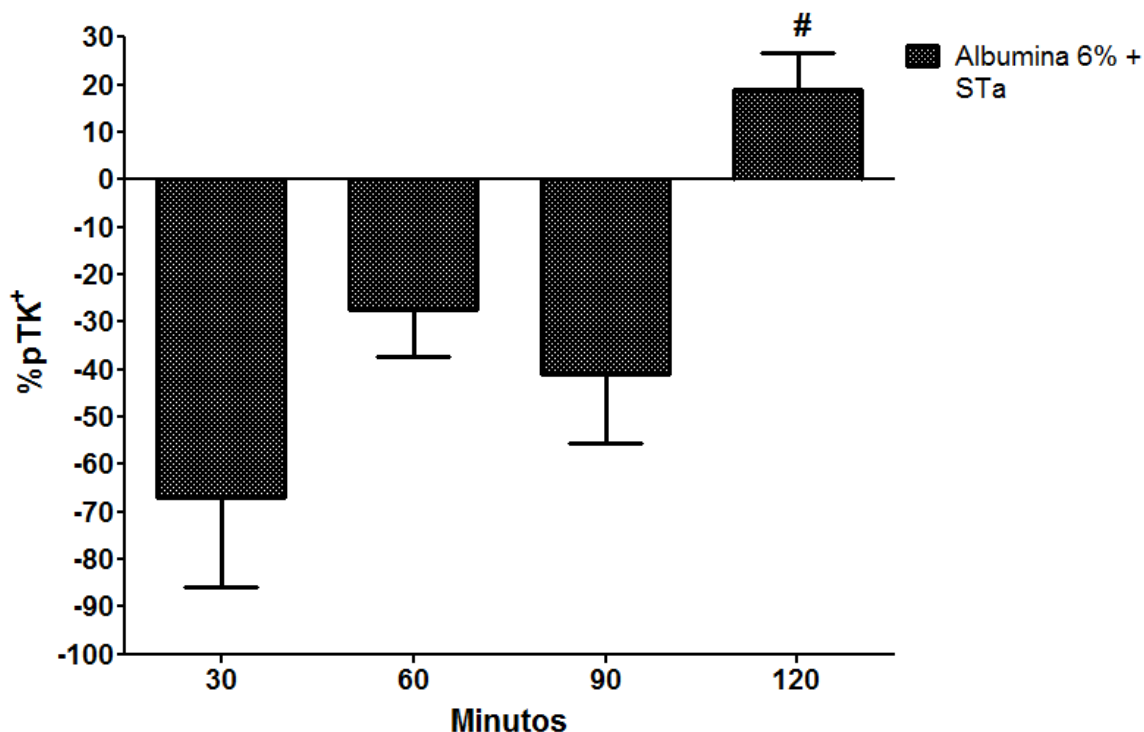


O Transporte Proximal de Sódio do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) iniciou em valores controle de  $14,93 \pm 4,93$  %pTNa<sup>+</sup> (Figura 47).

A adição de STa 7 ng/ml aos 40 min promoveu uma redução progressiva ao longo do tempo de experimentação, do percentual de transporte proximal de sódio. STa promoveu uma redução de 214 % aos 60 min ( $-7,82 \pm 8,49$  %pTNa<sup>+</sup>), 297% aos 90 min ( $-29,45 \pm 12,22$  %pTNa<sup>+</sup>) e ,188% aos 120 min ( $-13,93 \pm 8,45$  %pTNa<sup>+</sup>), de modo estatisticamente significativa (Figura 47).

### 6.38 Percentual do Transporte Proximal de Potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 48: Percentual do Transporte Proximal de Potássio (%pTK<sup>+</sup>) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.

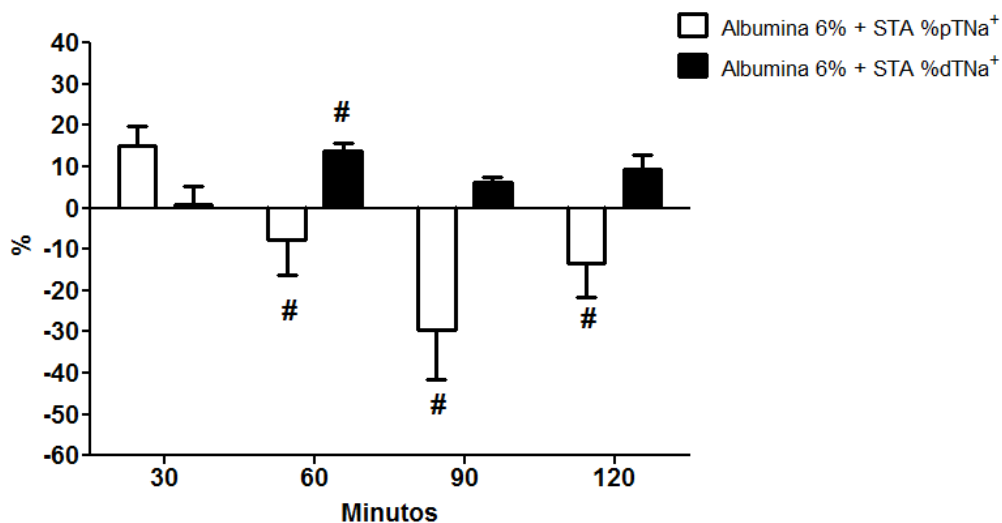


Inicialmente, no tempo controle 30 min, o percentual de reabsorção de potássio foi observado em valores negativos ( $-66,98 \pm 18,91$  %pTK<sup>+</sup>), indicando secreção de potássio em segmentos proximais. Posteriormente, após a adição de STa (7 ng/ml) aos 40 min, houve uma diminuição progressiva da secreção de potássio neste mesmo segmento.

Somente a partir do tempo de 120 min, a adição de STa (7 ng/ml) aos 60 min, promoveu um aumento no transporte proximal de potássio de 128,33%, de modo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 min (Figura 48).

### 6.39 Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 49: Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de sódio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.



Para efeitos de comparação, foi plotado graficamente o percentual de transporte distal e proximal de sódio em todos os tempos experimentais. Inicialmente, aos 30 min, o percentual de transporte proximal estava em  $14,93 \pm 4,97$  %pTNa<sup>+</sup>, enquanto o percentual de transporte distal estava em  $0,90 \pm 4,44$  %dTNa<sup>+</sup>.

A adição de 7 ng/ml em solução perfusora aos 40 min promove, de modo estatisticamente significativo, uma secreção de sódio na região proximal ( $-7,82 \pm 8,49$  %pTNa), e um aumento no percentual de transporte distal ( $13,87 \pm 1,90$  %dTNa).

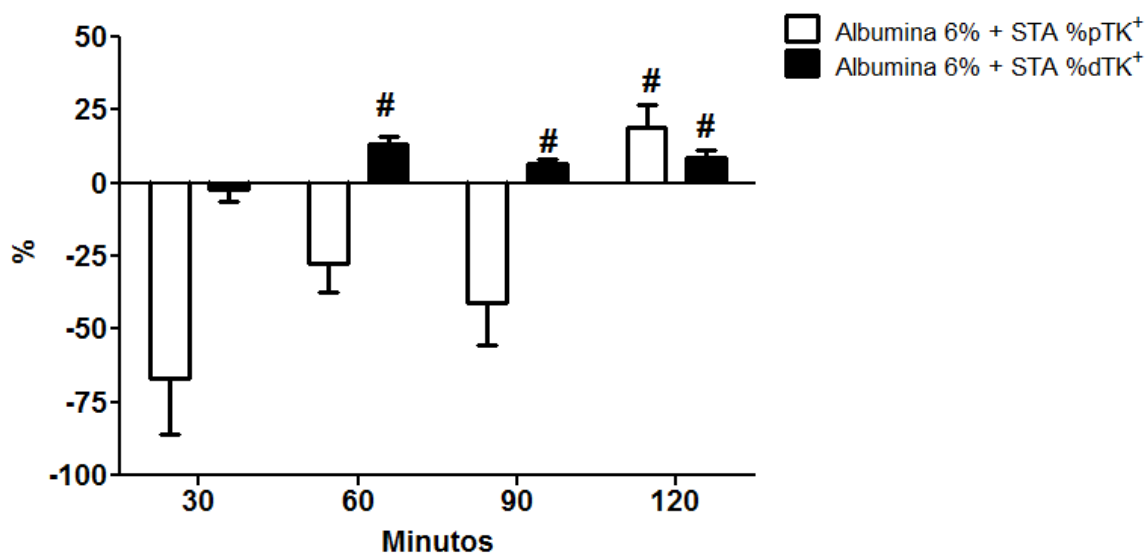
Aos 90 min, a secreção de sódio na região proximal permanece aumentada, atingindo valores de  $-29,45 \pm 11,90$  %pTNa, enquanto o percentual de transporte distal retorna a valores perto do controle ( $6,03 \pm 1,42$  %dTNa).

Aos 120 min, o efeito na secreção de sódio na região proximal diminui, com o retorno do percentual de transporte proximal a valores próximos ao controle ( $-13,30 \pm 8,43$  %pTNa), porém ainda significantes, enquanto o percentual de transporte distal ainda se mantém em valores perto do controle ( $9,42 \pm 3,48$  %dTNa).



#### 6.40 Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho.

Figura 50: Comparação entre o percentual de transporte distal e proximal de potássio no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 5). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



Para efeitos de comparação, foi plotado graficamente o percentual de transporte distal e proximal de potássio em todos os tempos experimentais. Inicialmente, aos 30 min, o percentual de transporte proximal estava em  $-66,98 \pm 18,91$  %pTK<sup>+</sup>, enquanto o percentual de transporte distal estava em  $-2,27 \pm 3,96$  %dTK<sup>+</sup>.

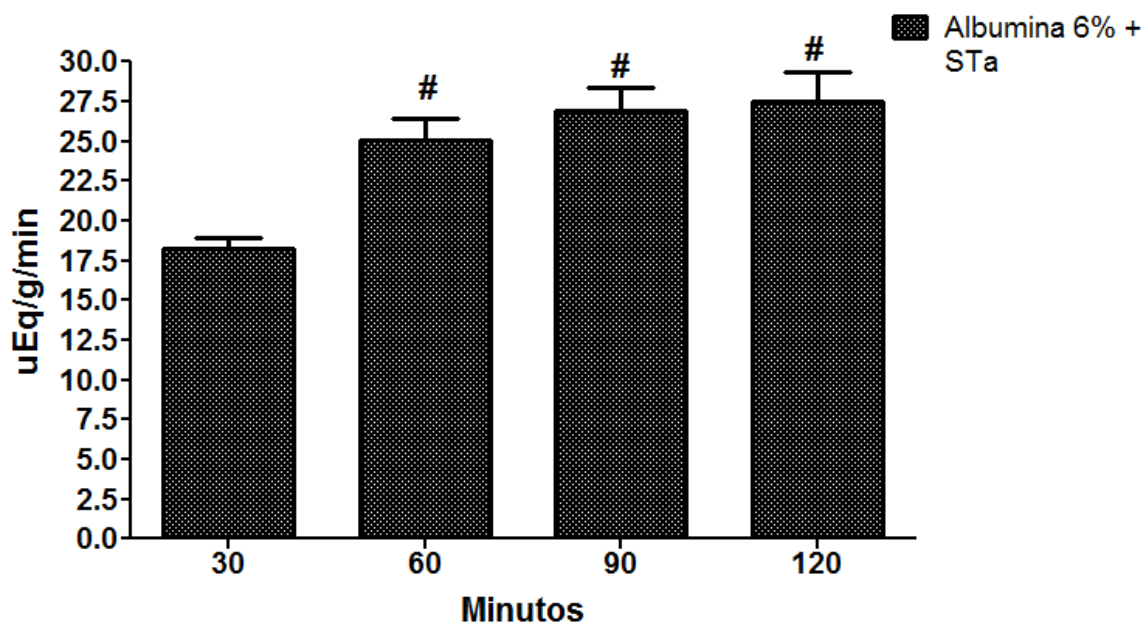
A adição de 7 ng/ml em solução perfusora aos 40 min promove uma redução da secreção de sódio na região proximal ( $-27,35 \pm 9,91$  %pTK), e um aumento, de modo estatisticamente significativo, no percentual de transporte distal ( $13,41 \pm 2,45$  %dTK).

Aos 90 min, a reabsorção de sódio na região proximal oscila, atingindo valores de  $-41,45 \pm 14,90$  %pTK, enquanto o percentual de transporte distal permanece alto em relação ao controle ( $6,59 \pm 1,37$  %dTK).

Aos 120 min, ocorre a reabsorção de sódio no segmento proximal, ( $19,03 \pm 7,62$  %pTK), estatisticamente significativa, enquanto o percentual de transporte distal ainda se mantém em valores altos em relação ao controle ( $8,90 \pm 2,64$  %dTK<sup>+</sup>).

#### 6.41 Sódio excretado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 51: Sódio excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



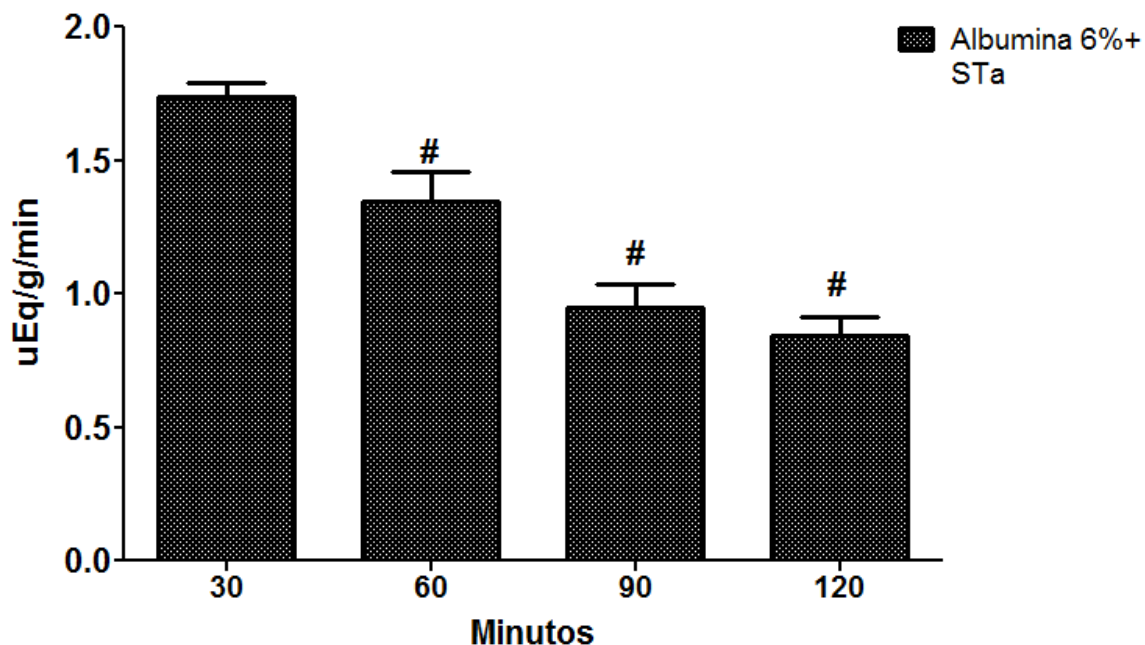
O sódio excretado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $24,42 \pm 0,82 \mu\text{Eq/g/min}$ . Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o sódio excretado de  $18,27 \pm 0,62 \mu\text{Eq/g/min}$ .

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $18,27 \pm 0,62 \mu\text{Eq/g/min}$ ) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o sódio excretado de modo estatisticamente significativo em 37% no tempo de 60 min ( $25,04 \pm 1,93 \mu\text{Eq/g/min}$ ).

De modo semelhante, o aumento do sódio excretado verificado em 60 min permaneceu aos 90 min ( $26,91 \pm 1,43 \mu\text{Eq/g/min}$ ), atingindo 47,29% de aumento, e sendo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 min. Aos 120 min, o sódio excretado atingiu ao ápice dos valores ( $27,43 \pm 1,91 \mu\text{Eq/g/min}$ ) do tempo controle 30 min, havendo significância estatística quando comparado ao tempo controle.

#### 6.42 Potássio excretado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 52: Potássio excretado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.

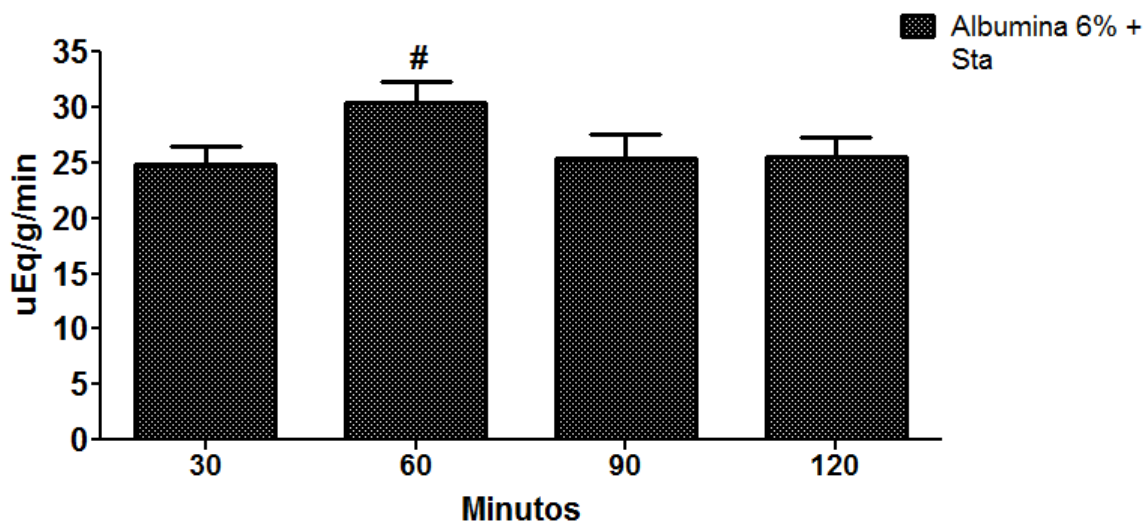


O potássio excretado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) durante o tempo controle atingiu valores de  $1,73 \pm 0,04 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 52).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $1,73 \pm 0,04 \mu\text{Eq/g/min}$ ) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min alterou o potássio excretado de modo estatisticamente significativo, havendo uma redução de 21,38% (Figura 52). A diminuição do potássio excretado se deu de forma progressiva aos 90 min ( $0,94 \pm 0,09 \mu\text{Eq/g/min}$ ) e aos 120 min ( $0,84 \pm 0,065 \mu\text{Eq/g/min}$ ) de modo significativo estatisticamente quando comparado ao tempo controle de 30 min (Figura 52).

### 6.43 Sódio filtrado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 53: Sódio filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



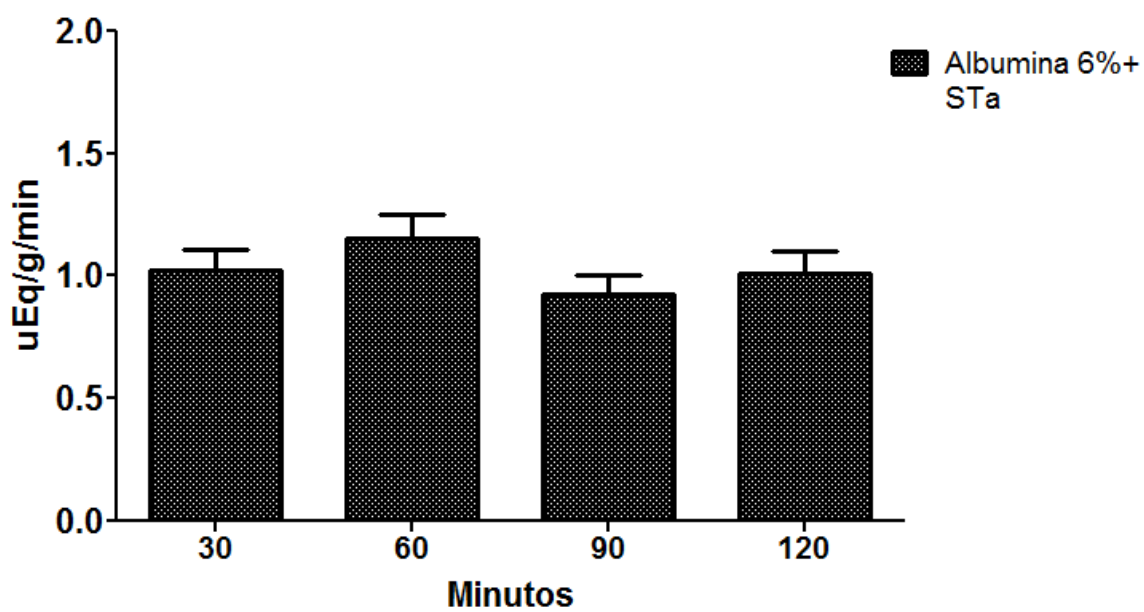
O sódio filtrado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) variou em torno de valores médios de  $26,58 \pm 1,29 \mu\text{Eq/g/min}$ . Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min, o sódio filtrado de  $24,86 \pm 1,59 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 53).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $24,86 \pm 1,59 \mu\text{Eq/g/min}$ ) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou o sódio filtrado de modo estatisticamente significativo em 22,48% no tempo de 60 min ( $30,45 \pm 1,83 \mu\text{Eq/g/min}$ ) (Figura 53).

Os valores de sódio filtrado retornaram a valores basais nos tempos de 90 ( $25,45 \pm 2,11 \mu\text{Eq/g/min}$ ) e 120 min ( $25,54 \pm 1,71 \mu\text{Eq/g/min}$ ) (Figura 53).

#### 6.44 Potássio filtrado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 54: Potássio filtrado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM.

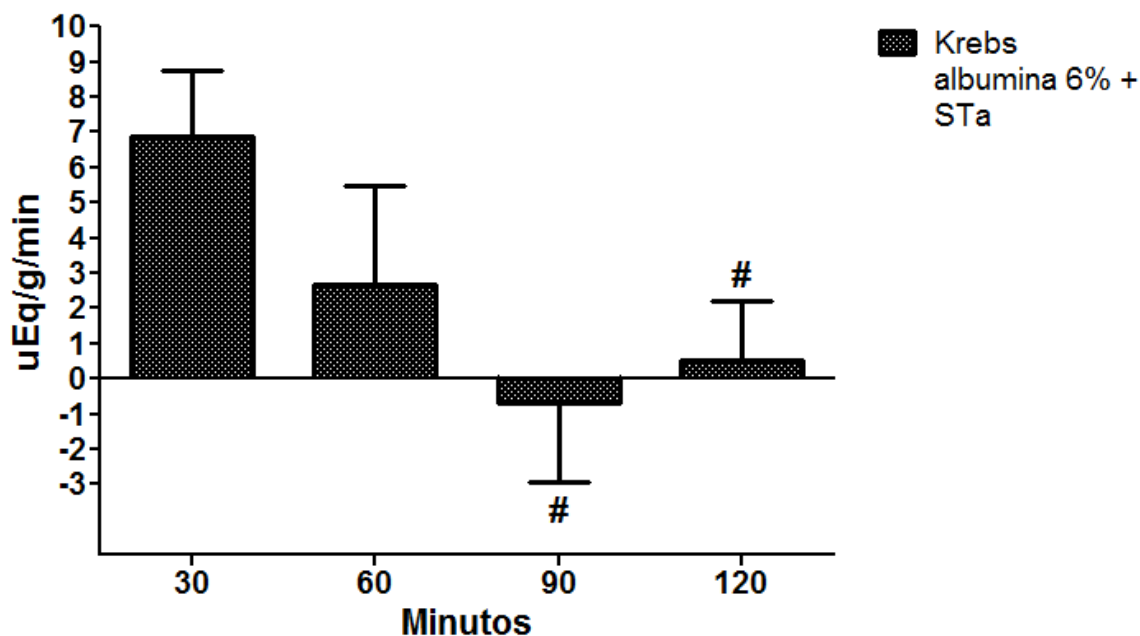


O potássio filtrado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) apresentou valores médios de  $1,02 \pm 0,04 \mu\text{Eq/g/min}$ . Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o potássio filtrado de  $1,02 \pm 0,08 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 54).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $1,02 \pm 0,08 \mu\text{Eq/g/min}$ ) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min não promoveu alterações no potássio filtrado aos 60, 90 ou 120 min (Figura 54).

### 6.45 Sódio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 55: Sódio transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) ( $n= 6$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.



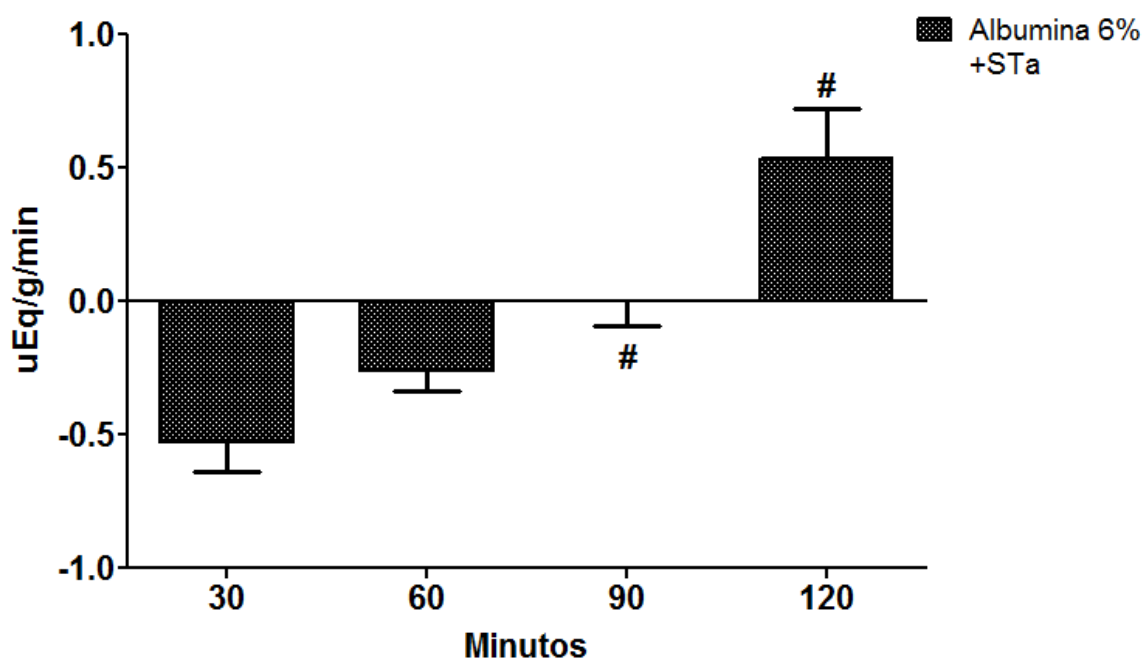
O sódio Transportado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) demonstrou oscilar nos tempos experimentais , variando em torno de valores médios de  $2,33 \pm 1,61 \mu\text{Eq/g/min}$ . Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o Sódio Transportado de  $6,86 \pm 1,89 \mu\text{Eq/g/min}$  (Figura 55).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $6,86 \pm 1,89 \mu\text{Eq/g/min}$ ) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min diminuiu o Sódio Transportado de modo estatisticamente significante em 61,37% no tempo de 90 min ( $-0,69 \pm 2,24 \mu\text{Eq/g/min}$ ) (Figura 55).

O efeito de excreção de Sódio verificado em 90 min permaneceu aos 120 min ( $0,50 \pm 1,70 \mu\text{Eq/g/min}$ ), mas em maior escala, atingindo 92,81% , sendo estaticamente significante quando comparado ao tempo controle de 30 min (Figura 55).

#### 6.46 Potássio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 56: Potássio transportado ( $\mu\text{Eq/g/min}$ ) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) ( $n=5$ ). Os resultados estão expressos em Média  $\pm$  EPM. #  $p < 0.05$  em comparação ao Tempo 30 min.

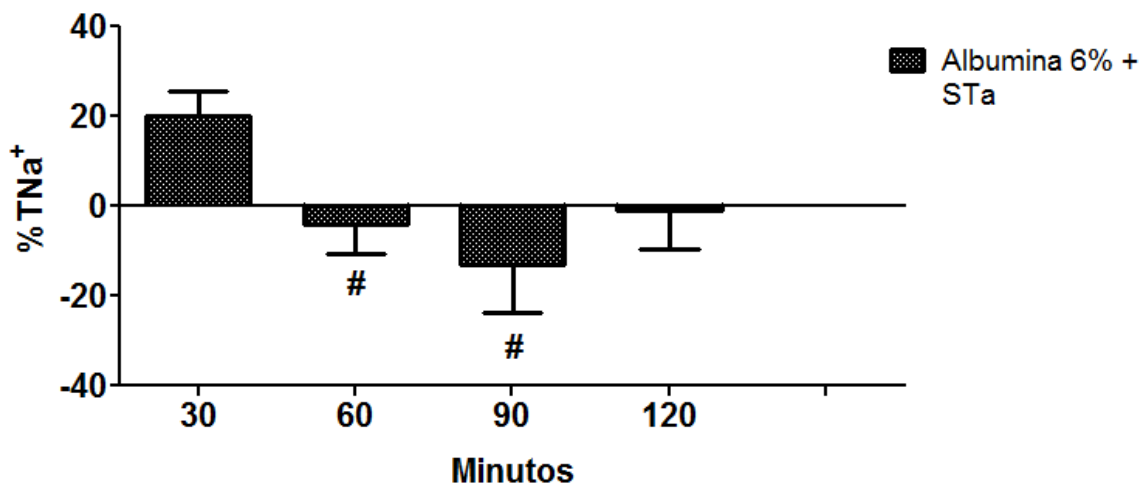


O potássio transportado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) apresentou durante o tempo 30 min controle uma caliurese inata ( $-0,53 \pm 0,10 \mu\text{Eq/g/min}$ ). A adição de STa (7 ng/ml) promoveu uma diminuição da excreção de potássio ao longo do período de experimentação. Aos 90 min, houve uma redução de 100% do potássio transportado ( $-0,0006 \pm 0,08 \mu\text{Eq/g/min}$ ) de modo estatisticamente significativo, quando comparado ao tempo controle 30 min (Figura 56).

A adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min aumentou, posteriormente, aos 120 min a reabsorção de potássio ( $0,53 \pm 0,18 \mu\text{Eq/g/min}$ ) de modo estatisticamente significativo, quando comparado ao tempo controle 30 min (Figura 56).

### 6.47 Percentual de sódio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 57: Percentual de sódio transportado (%TNa<sup>+</sup>) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n= 4). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.



O percentual de sódio transportado do grupo Krebs albumina 6% + STa (7 ng/ml) demonstrou uma diminuição gradual ao longo do tempo experimental. Os experimentos mostraram no tempo controle 30 min o Percentual de Sódio Transportado de  $20,20 \pm 5,44$  %TNa<sup>+</sup> (Figura 57).

Comparativamente ao tempo controle 30 min ( $27,04 \pm 5,74$  %TNa<sup>+</sup>) a adição de 7 ng/ml de STa aos 40 min diminuiu o Percentual de sódio transportado de modo estatisticamente significativo em 120% no tempo de 60 min ( $-4,9 \pm 6,71$  %TNa<sup>+</sup>) (Figura 57).

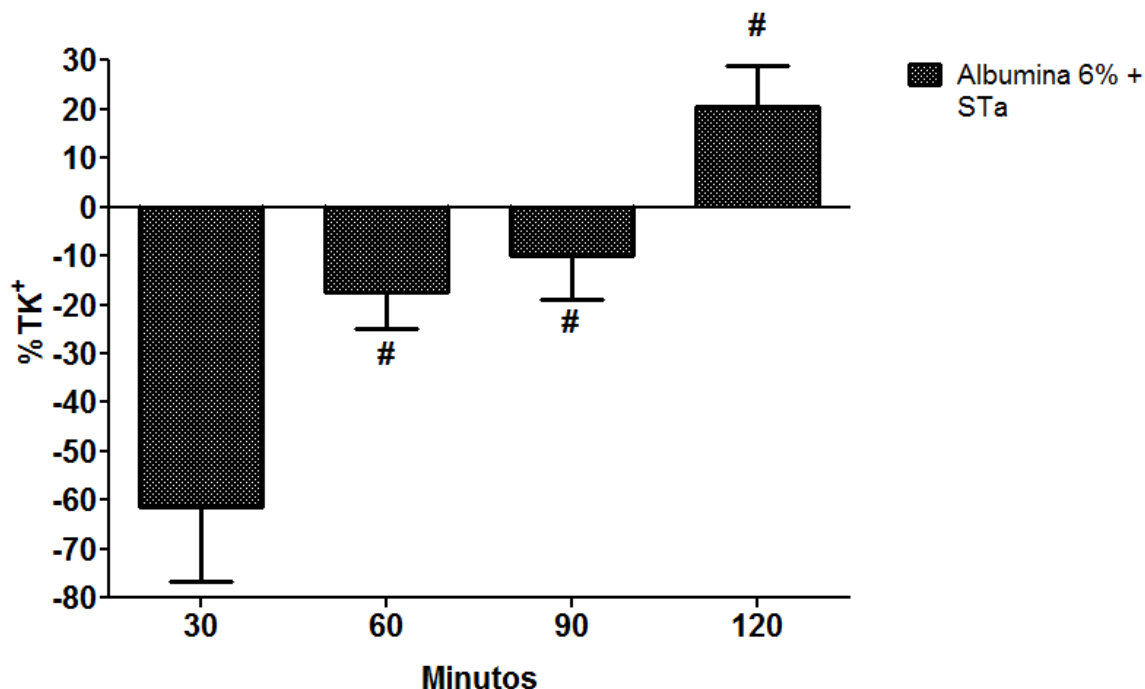
O efeito de diminuição do transporte fracionado de sódio verificado em 60 min aumentou aos 90 min ( $-13,07 \pm 10,49$  %TNa<sup>+</sup>), atingindo 164% , sendo estaticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 min.

Aos 120 min, STa perde o efeito sobre a reabsorção, e o percentual de reabsorção de sódio volta a valores próximos ao controle ( $-1,07 \pm 8,72$  %TNa<sup>+</sup>) (Figura 57).



#### 6.48 Percentual de potássio transportado no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) em rim isolado perfundido de coelho

Figura 58: Percentual de potássio transportado (%TK<sup>+</sup>) no grupo Krebs-Henseleit albumina 6% + STa (7 ng/ml) (n=6). Os resultados estão expressos em Média ± EPM. # p < 0.05 em comparação ao Tempo 30 min.



Inicialmente, no tempo controle 30 minutos, foi observado uma secreção de potássio ( $-61,29 \pm 15,48$  %TK<sup>+</sup>). Posteriormente, após a adição de STa (7 ng/ml) aos 40 minutos, houve uma diminuição progressiva da secreção de potássio.

A partir do tempo de 60 minutos, a adição de STa (7 ng/ml) promove uma reabsorção 71,74%, de modo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 minutos (Figura 34). A redução da secreção de potássio continuou aos 90 ( $-9,85 \pm 9,02$  %TK<sup>+</sup>) e 120 ( $20,66 \pm 8,43$  %TK<sup>+</sup>) minutos de modo estatisticamente significativo quando comparado ao tempo controle de 30 minutos (Figura 58).

## 7 DISCUSSÃO

### 7.1 Efeitos da variação da concentração de albumina no rim perfundido do coelho.

O início da experimentação utilizando um grupo com solução perfusora na ausência de albumina foi feita como um passo inicial para a verificação dos efeitos da ausência de coloide nos parâmetros de função renal do coelho, o que permitiu a comparação posterior com grupos com variações nas concentrações de albumina e sua contribuição para os processos absorptivos tubulares.

A adição de albumina em proporções de 2%, até o máximo de 6%, alterou significativamente o parâmetro fluxo de perfusão renal, aumentando-o em relação ao grupo sem albumina com resultados semelhante aos dados de Moraes (1984). De modo análogo aos experimentos de Schurek (1981), foi necessário aumentar a pressão de perfusão para 140 mmHg, favorecendo assim a pressão hidrostática e que se contrapunha à pressão osmótica.

A relação positiva entre o aumento da concentração de albumina plasmática e o fluxo de perfusão renal, também foi descrita por Schurek (1981), porém, seu modelo experimental, a perfusão do rim de rato, que salvo as diferenças entre modelos animais, corroboram nossos dados do ponto de vista da hemodinâmica renal.

Antagonicamente, o fluxo urinário e o ritmo de filtração glomerular diminuíram proporcionalmente ao aumento da concentração de albumina, o que pode ser explicado pelo aumento da pressão coloidosmótica ao nível dos capilares glomerulares (SCHUREK; ALT, 1981). Ainda assim, o fluxo urinário e o ritmo de filtração glomerular se encontram dentro de parâmetros de normalidade, como relatado por Segal e colaboradores (1979) para coelhos, e Torelli e colaboradores (1966) para ratos.

O aumento da concentração de albumina de 2 a 6% na solução perfusora impactou diretamente na osmolaridade do perfusato e da urina, o que influenciou claramente no clearance osmolar e no clearance de água livre.

A ausência de albumina impacta inteiramente nos transportes tubulares, visto que a pressão coloidosmótica luminal é importante componente para a reabsorção fracionada. Imai e Kokko (1972) demonstraram um decréscimo de 38% no transporte fracionário, quando a concentração de proteínas era diminuída de 6.6

para 0 g/100 ml, ao passo esses autores verificaram também, em 1974, a importância destas forças nas diversas membranas do néfron.

A adição de 2 a 6% de albumina aumentou significativamente a osmolaridade tanto na urina quanto no perfusato, contribuindo para a alteração dos parâmetros de clerances osmolares e de água livre. Desse modo, os valores de clearance osmolar e de água livre se mostraram diminuídos quando houve aumento nas concentrações de albumina na solução perfusora.

A albumina na fisiologia é um componente importante na manutenção da pressão coloidosmótica, no processo de filtração glomerular. A ausência desta na solução perfusora explica a baixa osmolaridade de  $138 \pm 4,6$  mmol/Kg presente na urina e  $232 \pm 4,4$  mmol/Kg no perfusato.

Ambos os percentuais de reabsorção de sódio e potássio de segmentos distais e proximais do rim de coelho aumentaram para valores significativos, quando atingimos 6% a porcentagem de albumina total na solução perfusora. Resultados semelhantes foram obtidos por Moraes (1984), em concentração de albumina a 6%, obtendo frações de sódio no segmento distal  $16,40 \pm 8,89$  %dTNa<sup>+</sup> e proximal em torno de  $57,52 \pm 7,74$  %pTNa<sup>+</sup>.

A adição de 2 a 6% de albumina impactou diretamente nos parâmetros de excreção e filtração de sódio e potássio, diminuindo-os, pois a excreção e a filtração estão relacionados com diminuição do fluxo urinário e o ritmo de filtração glomerular, respectivamente. Em comparação com o modelo animal de rato, encontramos diferenças quanto à excreção de potássio. No coelho, o aumento da concentração de albumina na solução perfusora promove a diminuição da excreção de potássio.

Houve aumentos na reabsorção de sódio e potássio quando adicionada albumina, atingindo até 80% de reabsorção de sódio, e 60% de potássio, nesta concentração maior de albumina.

Variações em parâmetros de transporte iônico nos túbulos renais em função da variação da concentração de albumina também foram alvos de estudo por parte de Bowman e Mack (1974), os quais descreveram o aumento da reabsorção de água e sódio, com o aumento proporcional da concentração de albumina, utilizando uma concentração que variou de 2,5 a 7,5 g/100 ml de solução, na perfusão de rins de rato. No mesmo ano, Litter e Cohen (1974), de modo semelhante à Bowman e Mack, em perfusões renais com 0, 2, 4, 6 e 8 g/100 ml de albumina,

descreveram o aumento do fluxo do perfusato, e da reabsorção fracionada de água e sódio.

Porém, os autores, verificaram no rim perfundido do rato, não foram demonstradas modificações significantes na excreção de potássio, que geralmente variam proporcionalmente com o aumento da concentração de albumina na solução.

De acordo com Zack e colaboradores (1954), o rim realiza no néfron, a separação entre a água e o material osmoticamente ativo presente no plasma em segmentos diluidores e concentradores da urina. O constante aumento da concentração de albumina nos capilares peritubulares diminuiu gradativamente o clearance osmolar, e o volume de água livre de solutos excretado pelo rim. Portanto, a reabsorção de água livre de solutos, aumentou proporcionalmente ao crescimento da concentração de albumina na solução.

A anatomia renal observada do coelho, cujas 66% das alças de Henle são longas e 34% curtas (BREWER; CRUISE, 1994), e o aumento progressivo do diâmetro luminal do ducto coletor da medula interna, excedendo 100  $\mu$ m, favorecerem a capacidade concentradora de urina, e o diferem de outros modelos animais como o rato, cujo diâmetro é mantido constante (KNEPPER, 1977). Diferentemente do rato, o túbulo conector do coelho, segmento após o túbulo distal, é distinto em estrutura e função, sendo composto de células do túbulo conector e células intercaladas (BREWER; CRUISE, 1994).

Condizente com resultados da literatura (MAACK, 1980), mostra a pressão oncótica, presente nos capilares pós- glomerulares se apresenta então, como um fator crucial para a regulação dos processos absorptivos em diferentes segmentos do néfron de coelho.

É importante salientar que o túbulo proximal de coelhos é capaz de acumular a albumina filtrada no lado luminal, diferentemente de segmentos corticais distais (CARONE, 1979). A captação e degradação da albumina nesses locais ocorre em virtude da existência de mecanismo endocítico e de hidrólise em lisossomos pré-existentes (PARK, 1984). Também foi descrito por Park, em 1984, que em fluidos tubulares lentos, a taxa de hidrólise intracelular da albumina acompanha , passo a passo, a taxa de reabsorção de albumina, e que os catabólitos resultantes são rapidamente transferidos à solução peritubular. Assim, o rim de coelho é um dos órgãos mais ativos na degradação de albumina, quando cotejamos o peso de albumina por grama de tecido renal (YEDGAR, 1983).

A literatura acima corrobora nossos dados, pois, demonstra a capacidade do túbulo proximal do coelho em acumular e degradar a albumina no lado luminal, permitindo o acúmulo da mesma nos capilares peritubulares ao longo do tempo de experimentação, e influenciando o percentual de transportes tubulares proximais e distais de sódio e potássio.

De modo semelhante, o acúmulo de albumina nos capilares peritubulares ao longo do túbulo coletor, aliada à porcentagem de alças longas localizadas na medula interna, torna o rim de coelho um modelo experimental superior para o estudo do metabolismo e transporte de água e íons.

## **7.2 Efeitos da toxina termo estável da *Escherichia coli* no rim perfundido do coelho.**

A avaliação dos parâmetros de função renal com experimentos realizados com a concentração de 6g% de albumina em solução perfusora permitiu-nos defini-la como a mais indicada para os estudos com a enterotoxina termo estável de *Escherichia coli* no sistema renal do coelho. Concentração essa que corresponde àquela observada em vários trabalhos com metodologia de rim isolado perfundido de coelhos e ratos (LIMA, 1983; TAFT; SWEENEY, 1995; SILVA, 2016).

No presente trabalho, utilizamos uma baixa concentração de STa (7ng/ml), a qual não foi capaz de promover alterações do ponto de vista hemodinâmico em parâmetros como fluxo plasmático renal ou ritmo de filtração glomerular. Porém, esta toxina foi capaz de promover redução no percentual de transporte proximal de sódio (Figura 47), causando efeito natriurético visível e produzindo aumento no percentual de transporte proximal de potássio (Figura 48).

A adição de STa também foi capaz de aumentar o percentual de transporte de sódio e potássio em segmentos distais do néfron do coelho (Figuras 43 e 44). O percentual de transporte de sódio, portanto, abrangendo segmentos distais, e proximais, partiu de uma reabsorção de  $20,20 \pm 5,44$  %TNa<sup>+</sup> para uma expressão negativa de nítida natriurese,  $-13,07 \pm 10,49$  %TNa<sup>+</sup>, em 90 minutos de experimentação (Figura 57), demonstrando grande potencial natriurético da STa na atuação na fisiologia tubular do rim de coelho. De modo semelhante, o percentual de transporte de potássio, partiu de  $-61,29 \pm 15,48$  %TK<sup>+</sup> para valores positivos de  $20,66 \pm 8,43$  %TK<sup>+</sup> em 90 minutos de experimentação (Figura 58).

Portanto, STa (7 ng/ml) obteve papel marcante no aumento da excreção de sódio, atuando prioritariamente pelo segmento proximal, ao mesmo tempo em que diminuiu a reabsorção inata, vista no período controle experimental. É necessário relatar que devido ao volume de solução usado durante a perfusão renal do rim de coelho, 250 ml, esta determina a quantidade total de toxina presente na solução perfusora em 1,75 µg.

Os resultados vistos no coelho são corroborados por Lima e colaboradores (1992), cujos experimentos foram realizados em ratos hooded em concentrações maiores de STa (17 e 100 ng/ml), e 6g% de Albumina em solução perfusora, também não sofreram alterações no fluxo plasmático renal ou ritmo de filtração glomerular. No referido trabalho, STa (100 ng/ml) promoveu uma diminuição no percentual de transporte proximal de sódio de 45%. De modo antagônico, em virtude da prevalência da diferença entre espécies, STa (100 ng/ml) causou uma diminuição de 50,6% no percentual de transporte de potássio, enquanto STa (17 ng/ml) promoveu uma diminuição de 71 %pTNa<sup>+</sup> para 67 %pTNa<sup>+</sup>. Vale ressaltar que os autores do referido trabalho usam 100 ml de solução perfusora, totalizando a quantidade de STa em 1,7 µg e 10 µg.

Comparando-se a quantidade de toxina termo estável de *Escherichia coli* utilizada no presente trabalho (1,75 µg) e no trabalho de Lima e colaboradores (1992) (1,7 µg), podemos inferir um potencial natriurético maior, diante da ação de toxinas bacterianas no sistema renal de coelho, quando comparado a outros mamíferos, como o rato.

Outros peptídeos natriuréticos, como uroguanilina e guanilinas, também podem ser comparados a STa em virtude de sua similaridade estrutural e funcional, possuindo 53% de homologia na sua sequência primária entre STa, uroguanilina e guanilina (LIMA; FONTELES, 2014; SINDIC, 2013; FONTELES; NASCIMENTO, 2011).

Fonteles e colaboradores (1998), utilizando rim perfundido de rato e concentrações de guanilina (0,33, 0,66 e 1,32 µM) e uroguanilina (0,19, 0,62 e 1,90 µM), foram capazes de demonstrar alterações em parâmetros renais, semelhantemente a STa. Corroborando nossos dados, peptídeos semelhantes à STa foram capazes de diminuir o percentual de transporte de sódio de modo dose dependente e produzir aumento na excreção de sódio.

Uma das diferenças entre nosso trabalho e a literatura acerca dos efeitos de peptídeos natriuréticos é o fato de que, por exemplo, a adição de Guanilina (1,32  $\mu\text{M}$ ) ou Uroguanilina (1,90  $\mu\text{M}$ ) aumentou a excreção de potássio em ratos, culminando em caliurese, assim como alteraram o ritmo de filtração glomerular e fluxo urinário (FONTELES, 1998).

Santos-Neto e colaboradores (2006), também utilizando rim perfundido de rato, verificaram os efeitos das variações de concentrações entre guanilinas, uroguanilina, urodilatina e ANP. Utilizando guanilina (0,19  $\mu\text{M}$ ) e uroguanilina (0,06 e 0,31  $\mu\text{M}$ ), estes demonstraram efeitos natriuréticos, caliuréticos e cloruréticos a partir da administração de guanilinas à perfusão, porém, uroguanilina só demonstrou os efeitos citados na maior dose. Corroborando nossos dados e estudos anteriores, nem guanilina ou uroguanilina foram capazes de alterar fluxo plasmático renal e ritmo de filtração glomerular.

A utilização de análogos aos peptídeos da classe das guanilinas, como Lis-1 Guanilina, ainda conserva propriedades natriuréticas e caliuréticas, conforme observado por Fonteles e colaboradores (1996), ao qual Lis-1 Guanilina (2,5  $\mu\text{M}$ ) foi capaz de causar diminuição de 22% no percentual de transporte de sódio, e 39% no percentual de transporte de potássio. Posteriormente, Santos-Neto (2003) utilizando a mesma dose, verificou os efeitos natriuréticos e caliuréticos, assim como o pré-tratamento dos rins com um inibidor de quimiotripsina, quimostatina, potenciou sua ação natriurética e caliurética.

### **7.3 Receptores para STa**

O campo do entendimento sobre a existência de receptores para STa e sua ligação teve grande avanço com experimentos de Field e colaboradores (1989<sup>a</sup>; 1989<sup>b</sup>) e White e colaboradores (1989), no qual estes demonstraram a existência de receptores para STa em borda em escova no rim de gambá (*Didelphis virginiana*) (1989) e posteriormente em outros tecidos, como testis e intestino delgado (FORTE; KRAUSE; FREEMAN, 1989). Existem evidências de receptores específicos para STa também em outros tecidos como intestino delgado (BHATTACHARYA; CHAKRABARTI, 1999), epitélio respiratório, fígado, estômago, cérebro, glândulas adrenais, epidídimo e corpo cavernoso (KRAUSE; FREEMAN; FORT, 1990; KRAUSE *et al.*, 1994). Fonteles e Lima (1983) estudando a toxina de STa de forma

semi-purificada e toxina da cólera, demonstraram efeitos natriuréticos, cloruréticos e caluréticos, postulando a existência de um receptor para um mediador endógeno, com estrutura e função semelhante à STa no sistema renal.

O receptor alvo para STa e peptídeos natriuréticos é um receptor da família da guanilato ciclase tipo C, com atividade enzimática na conversão de GTP a GMPc, presente em membranas de borda em escova em tecidos renais e intestinais (VAANDRAGER, 2006). A ação contínua de STa em tecidos renais ao longo de 120 minutos de experimentação se deve também à ausência de um segmento tirosina-alanina na sua estrutura primária (CARPICK; GARIÉPY, 1993), conferindo resistência à enzimas proteases presentes na borda em escova de tecidos intestinais e renais (DREYFUS, 1983; GIANELLA; DRAKE, 1979; DE JONGE, 1975). Somente Guanilina é susceptível às proteases presentes na borda em escova de epitélios intestinais e renais, possuindo ação curta quando comparada à uroguanilina e STa (VAANDRAGER, 2006).

A ligação de STa ao domínio extracelular de GC-C leva à hidrólise de guanosina-5-fosfato e ao acúmulo celular de GMPc, ao qual seu aumento ativa uma proteína quinase tipo II dependente de GMPc, resultando na fosforilação de um canal de cloreto, CFTR, presente nas células crípticas (LIMA, 2014; KUHN, 2016). Outro efeito resultante é a inibição de fosfodiesterase tipo III, a qual aumenta os níveis de AMPc, ativando PKA, que também é capaz de fosforilar canais de cloreto CFTR.

Cerca de 50% dos canais CFTR estão localizados em vesículas, nos enterócitos presentes em tecidos intestinais (AIMEEN *et al.*, 2000) e borda em escova do túbulo proximal (JOURET; COURTOY; DEVUYST, 2011). Toxinas bacterianas e outros agonistas para AMPc estimulam a translocação e inserção desses canais na membrana plasmática de criptas e vilos jejunais (AIMEEN, 2003; 1999; 2000), como corroborado por Golin-Bisello e colaboradores (2005), os quais verificam uma rápida translocação de canais CFTR para a membrana apical, associado à secreção de fluidos, após 30 minutos do uso de STa em alças de jejuno de ratos.

Em última instância esses eventos celulares levam à diminuição da reabsorção de sódio e fosforilação do trocador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  isoforma 3 (WEIGLMEIER, 2010), atuando especificamente, nos sítios de ligação Ser554, Ser607 e Ser663 (CHEN *et al.*, 2014).



Outros autores como Carrinthers (2004) e Sindic (2005) propõem uma atuação de peptídeos natriuréticos no fenômeno de natriurese em tecidos renais por um via de sinalização independente de guanilato ciclase C, assim como Potthast (2001) e Sindice (2002) já havia propostos vias de sinalização celulares e fisiológicas independentes de GC-C. No intestino de camundongos knockout para receptores guanilato ciclase C, 10% dos sítios de ligação para STa, comparados ao controle, ainda estavam presentes (CHARNEY *et al.*, 2001; MANN *et al.*, 1997). Guanilina, nestes camundongos, ainda foi capaz de provocar efeitos natriuréticos, caliuréticos e diuréticos, além de aumentar o conteúdo de GMPc (CARRINTHERS, 2004).

Autores como Matsuhita (2001), Maguire (2002) e Liu (1999) havia descrito a existência de um receptor ligado à proteína G GPR14, amplamente expresso no corpo humano, em tecidos como coração, rim, pâncreas, musculo esquelético e tecido endócrino. Lehner e colaboradores (2007) investigaram a ação de peptídeos natriuréticos guanilinas e uroguanilinas e sua interação com GPR14, demonstrando que guanilinas e uroguanilina poderiam despolarizar células transfectadas com GPR14, ativando PLA<sub>2</sub> e inibindo canais de potássio medulares externos renais.

Um dos transportadores envolvidos no mecanismo de reabsorção de sódio no epitélio renal do túbulo contorcido proximal é o trocador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> isoforma 3 (WEINMAN; STEPLOCK; SHENOLIKAR, 2001; DONOWITZ; LI, 2007; LESSA *et al.*, 2012), o qual está associado à outras proteínas citoplasmáticas (BAUM *et al.*, 1995; BIEMESDERFER, 1999; GIRARDI *et al.*, 2001). Anteriormente, Weiman e colaboradores (1993; 2000) e Yun e colaboradores (1997) haviam demonstrado a inibição do trocador Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> isoforma 3 mediada por AMPc e proteína quinase A em borda em escova de túbulos proximais de coelhos. Sabe-se que peptídeos análogos de STa, inibem a atividade de trocador Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> isoforma 3, via GMPc seguida por ativação de proteína quinase G, e aumento de AMPc, e ativação de proteína quinase A. Ambas as proteínas quinases são capazes de fosforilar trocador Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> isoforma 3 na membrana apical dos enterócitos, posteriormente, reduzindo sua expressão (LESSA *et al.*, 2012).

Atualmente, a aplicação prática do conhecimento gerado a partir da compreensão da ação de toxinas bacterianas no transporte de eletrólitos no sistema intestinal e renal permitiu-nos avançar na terapêutica de doenças prevalentes no ocidente (CHANG, 2006), como síndrome do intestino irritável com constipação,

constipação idiopática crônica (ROTHSTEIN; FRIEDENBERG, 2013), fibrose cística, insuficiência pancreática, íleo meconial, síndrome obstrutiva intestinal distal e constipação (MCHUGH *et al.*, 2018 )

Linaclotide, um análogo de STa e agonista de receptores GC-C (CORSETTI; TACK, 2013) foi aprovado pela indústria farmacêutica como uma nova terapêutica. Este medicamento é aprovado pela agência do departamento de saúde e serviços humanos dos Estados Unidos, FDA, e tem indicação para o tratamento de síndromes intestinais como a síndrome do intestino irritável com constipação e constipação idiopática crônica.

Ahsan e colaboradores (2017) demonstraram a capacidade de linaclotide produzir efeito secretório no intestino grosso de rato, através da ativação da via de sinalização GC-C/GMPc/PKGII e PKA, estimulando assim, a translocação de canais CFTR para a superfície do epitélio intestinal.

Porém Mchugh e colaboradores (2018), corroborado por Pattison (2016) demonstraram uma via de ação para linaclotide independente de CFTR. Neste trabalho, o uso de linaclotide em camundongos com fibrose cística, foi capaz de promover aumentos na retenção de fluido no lúmen intestinal, hidratando-o e aumentando o trânsito intestinal, assim como o uso de linaclotide em camundongos knockout para CFTR, não o impediu de promover melhoras significantes em camundongos com fibrose cística.

## 8 CONCLUSÃO

A metodologia do rim isolado e perfundido de coelho, com uma solução do tipo extracelular, permitiu-nos a caracterização de parâmetros funcionais renais em vista da variação da concentração de albumina na solução perfusora, demonstrando o aumento de parâmetros renais como percentual de transporte de sódio e potássio para segmentos proximais e distais do néfron. Isso delimitou uma concentração ótima de albumina para a avaliação de efeitos renais da toxina termo estável de *Escherichia coli*, uma vez que os percentuais de reabsorção de sódio e potássio de segmentos distais e proximais do rim de coelho aumentaram para valores significantes quando atingimos 6g% a porcentagem de albumina total na solução perfusora.

O uso da toxina termo estável de *Escherichia coli* no rim perfundido do coelho demonstra pela primeira vez nesta metodologia, alterações em parâmetros de função renal, com efeitos natriuréticos de grande magnitude no segmento proximal do néfron, assim como aumento da reabsorção de eletrólitos nos segmentos distais e aumento do fluxo urinário, com efeito diurético.

O uso da toxina termo estável de *Escherichia coli* no rim perfundido do coelho demonstrou também ineditamente nos segmentos distais do néfron um aumento da reabsorção de potássio, diminuindo a caliurese natural presente no sistema renal do coelho.

## REFERÊNCIAS

AHSAN, K *et al.* Linaclotide activates guanylate cyclase-C/cGMP/protein kinase-II-dependent trafficking of CFTR in the intestine. **Physiological Reports**, [s.l.], v. 5, n. 11, p.13299-13317, jun. 2017.

AIRES, Margarida de Mello. **Fisiologia**. 4. ed. Rio de Janeiro- Guanabara Koogan, 2012. 1352 p.

ALPERN, Robert; CAPLAN, Michael; MOE, Orson W. **Seldin and Giebisch's The Kidney- Physiology & Pathophysiology**. 5. ed. Cambridge- Academic Press, 2012. 3290 p.

AMEEN, N.A.; MARINO, C; SALAS, P.J.I. cAMP-dependent exocytosis and vesicle traffic regulate CFTR and fluid transport in rat jejunum in vivo. **American Journal of Physiology-cell Physiology**, [s.l.], v. 284, n. 2, p.429-438, fev. 2003.

AMEEN, N.A. *et al.* CFTR channel insertion to the apical surface in rat duodenal villus epithelial cells is upregulated by VIP in vivo. **Journal of Cell Science**, [s.l.], v. 112, n. 2, p.887-894, 1999.

AMEEN, N.A. *et al.* Subcellular distribution of CFTR in rat intestine supports a physiologic role for CFTR regulation by vesicle traffic. **Histochemistry and Cell Biology**, [s.l.], v. 3, n. 144, p.219-228, 2000.

ARTHUR, Benjamin. **Practical Anatomy of the Rabbit- An Elementary Laboratory Textbook in Mammalian Anatomy**. Orange- Wentworth Press, 2016. 310 p.

BAHLMANN, J *et al.* Micropuncture study of isolated perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 212, n. 1, p.77-82, jan. 1967.

BALDISSEROTTO, Bernardo; MANCERA, Juan Miguel; B.G.KAPOOR (Ed.). **Fish Osmoregulation**. New Hampshire: Science Publishers, 2007. 540 p

BAUM, M. *et al.* Ontogeny of rabbit renal cortical NHE3 and NHE1: effect of glucocorticoids. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, [s.l.], v. 268, n. 5, p.815-820, maio 1995.

BENNETT, C.M.; CLAPP.; BERLINER, R.W. Micropuncture study of the proximal and distal tubule in the dog. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 213, n. 5, p.1254-1262, nov. 1967.

BENOS, D.J. Sensing tension- recognizing ENaC as a stretch sensor. **Hypertension**, v. 44, n. 5, p.616-617, jan. 2004.

BERLINER, R.W.; KENNEDY, T. J.; HILTON, J.G. Renal mechanisms for excretion of potassium. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 162, n. 2, p.348-367, ago. 1950.

BHATTACHARYA, J; CHAKRABARTI, MK.. Binding of Escherichia coli heat-stable toxin and rise of guanylyl cyclase activity in the brush-border membranes of rabbit intestinal epithelial cells. **Journal Diarrhoeal Disease Research**, v. 1, n. 17, p.28-33, mar. 1999.

BIEMESDERFER, Daniel et al. Specific Association of Megalin and the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>Exchanger Isoform NHE3 in the Proximal Tubule. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 25, p.17518-17524, 18 jun. 1999.

BIJVELDS, M.J. C. *et al.* Inhibition of Heat-Stable Toxin–Induced Intestinal Salt and Water Secretion by a Novel Class of Guanylyl Cyclase C Inhibitors. **Journal of Infectious Diseases**, v. 212, n. 11, p.1806-1815, 21 maio 2015.

BLAS, Carlos.; WISEMAN, Julian. **Nutrition of the Rabbit**. 2. ed. Oxfordshire- Cabi, 2010. 333 p.

BOTHA, G. S. M. Histological observations on the gastro-oesophageal junction in the rabbit. **Journal of Anatomy**, v. 92, p.441-446, jul. 1958.

BOWMAN, R. H. Gluconeogenesis in the Isolated Perfused Rat Kidney. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 245, p.1604-1612, 10 abr. 1970

BOWMAN, R.H.; MAACK, T. Effect of albumin concentration and ADH on H<sub>2</sub>O and electrolyte transport in perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 226, n. 2, p.426-430, fev. 1974.

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.

BREWER, Nathan R; CRUISE, Leon J. Anatomy. In- MANNING, Patrick (Ed.). **The Biology of the Laboratory Rabbit**. 2. ed. San Diego- Academic Press, 1994. Cap. 3. p. 47-60.

BURG, M. *et al.* Preparation and study of fragments of single rabbit nephrons. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 210, n. 6, p.1293-1298, jun. 1966.

CAPRICK, B.W.; GARIEPY, J. The Escherichia coli heat-stable enterotoxin is a long-lived superagonist of guanylin. **Infect Immunology** v.61,p. 4710–4715, 1993

CAREY, R.M; SMITH; ORTT, E.M. Gastrointestinal control of sodium excretion in sodium-depleted conscious rabbits. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 230, n. 6, p.1504-1508, jun. 1976.

CARONE, Frank A. et al. Renal tubular transport and catabolism of proteins and peptides. **Kidney International**, [s.l.], v. 16, n. 3, p.271-278, set. 1979.

CARPICK, B.W.; GARIEPY, J. Structural characterization of functionally important regions of the Escherichia coli heat-stable enterotoxin STIb. **Biochemistry**, [s.l.], v. 30, n. 19, p.4803-4809, maio 1991.

CARRITHERS, S. L. *et al.* Increased urinary excretion of uroguanylin in patients with congestive heart failure. **American Journal of Physiology-heart And Circulatory Physiology**, v. 278, n. 2, p.538-547, fev. 2000.

CARRITHERS, S.I. *et al.* Renal effects of uroguanylin and guanylin in vivo. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 32, n. 11, p.1337-1344, nov. 1999.

CARTER, M. J.; PARSONS, D. S. The isoenzymes of carbonic anhydrase- tissue, subcellular distribution and functional significance, with particular reference to the intestinal tract. **The Journal of Physiology**, v. 215, n. 1, p.71-94, 1 maio 1971.

CHABARDÈS, D. *et al.* PTH sensitive adenyl cyclase activity in different segments of the rabbit nephron. **Pflügers Archiv**, p.229-239, set. 1975.

CHANG, L *et al.* Gender, Age, Society, Culture, and the Patient's Perspective in the Functional Gastrointestinal Disorders. **Gastroenterology**, [s.l.], v. 130, n. 5, p.1435-1446, abr. 2006.

CHEN, T, *et al.* Cyclic GMP Kinase II (cGKII) Inhibits NHE3 by Altering Its Trafficking and Phosphorylating NHE3 at Three Required Sites. **Journal of Biological Chemistry**, [s.l.], v. 290, n. 4, p.1952-1965, 5 dez. 2014.

CHROUSOS, G. P. The Concepts of Stress and Stress System Disorders. **Jama**, v. 267, n. 9, p.1244-1250, 4 mar. 1992.

CLAUSS, W. Circadian rhythms in Na transport. In- SKADHAUGE, E, HEINTZE K (Eds) Intestinal absorption and secretion. MTP Press, Lancaster, 1984, p 273-283.

CLAUSS, W. *et al.* Segmental differences in electrical properties and Na-transport of rabbit caecum, proximal and distal colon in vitro. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 403, n. 3, p.278-282, mar. 1985.

COGAN, M G. Renal Effects of Atrial Natriuretic Factor. **Annual Review of Physiology**, v. 52, n. 1, p.699-708, out. 1990.

COHEN, M.B. *et al.* Immunohistochemical Localization of Guanylin in the Rat Small Intestine and Colon. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 209, n. 3, p.803-808, abr. 1995.

CORSETTI, M; TACK, J. Linaclotide: A new drug for the treatment of chronic constipation and irritable bowel syndrome with constipation. **United European Gastroenterology Journal**, [s.l.], v. 1, n. 1, p.7-20, fev. 2013.

CUNHA, Tony J.; CHEEKE, Peter R. **Rabbit Feeding and Nutrition** . Cambridge-Elsevier, 2012. 376 p.

CURRIE, M. G. *et al.* Guanylin- an endogenous activator of intestinal guanylate cyclase. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 89, n. 3, p.947-951, 1 fev. 1992.

CURRIE, M.G. *et al.* Purification and sequence analysis of bioactive atrial peptides (atriopeptins). **Science**, v.223,p.76–69,1984

DAVIDSON, D. G.; LEVINSKY, N. G.; BERLINER, R.W.. Maintenance of potassium excretion despite reduction of glomerular filtration during sodium diuresis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 37, n. 4, p.548-555, 1 abr. 1958.

DAVIES, R. R., DAVIES, J. A. R. Rabbit gastrointestinal physiology. **Veterinary Clinics of North America- Exotic Animal Practice**, v.6,n.1,p. 139-153, 2003.

DE BOLD, A. Atrial natriuretic factor- a hormone produced by the heart. **Science**, v. 230, n. 4727, p.767-770, 15 nov. 1985.

DE JONGE, H.R. The localization of guanylate cyclase in rat small intestinal epithelium. **Febs Letters**, [s.l.], v. 53, n. 2, p.237-242, 1 maio 1975.

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.

DREYFUS, L.A; FRANTZ, J.C; ROBERTSON, D.C. Chemical properties of heat-stable enterotoxins produced by enterotoxigenic *Escherichia coli* of different host origins. **Infect Immunology.**, [s.l.], v. 2, n. 42, p.539-548, 1983.

DUBREUIL, J. Daniel. *Escherichia coli* heat-stable enterotoxins. In: ALOUF, Joseph; LADANT, Daniel; POPOFF, Michel R.. **The Comprehensive Sourcebook of Bacterial Protein Toxins**. Amsterdam: Elsevier, 2015. Cap. 31. p. 874-875.

DUBREUIL, J. The Whole Shebang- The Gastrointestinal Tract, *Escherichia coli* Enterotoxins and Secretion. **Current Issues in Molecular Biology**, v. 14, n. 2, p.71-82, jan. 2012.

DUFFIELD, Amy; CAPLAN, Michael J.; MUTH, Theodore R. Chapter 4 Protein Trafficking in Polarized Cells. **International Review of Cell and Molecular Biology**, p.145-179, 2008.

DWYER, T. M.; SCHMIDT-NIELSEN, B. The Renal Pelvis- Machinery That Concentrates Urine in the Papilla. **Physiology**, v. 18, n. 1, p.1-6, fev. 2003.

EATON, Douglas; POOLER, John. **Fisiología renal de Vander**. 8. ed. Porto Alegre- Grupo A Educação, 2015. 216 p.

ENGELMAN, D. M. Membranes are more mosaic than fluid. **Nature**, v. 438, n. 7068, p.578-580, dez. 2005.

EVANS, G.O. **Animal Clinical Chemistry- A Practical Handbook for Toxicologists and Biomedical Researchers**. 2. ed. Boca Raton- Crc Press, 2009. 368 p.

FAN, X.Y.; WANG, R.M.; LONDON *et al.* "Signaling pathways for guanylin and uroguanylin in the digestive, renal, central nervous, reproductive, and lymphoid systems," **Endocrinology**, vol. 138, n. 11, p. 4636–4648, 1997.

FARTHING, M. *et al.* Acute Diarrhea in Adults and Children. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 47, n. 1, p.12-20, jan. 2013.

FAWCUS, K *et al.* Stimulation of Three Distinct Guanylate Cyclases Induces Mucosal Surface Alkalinisation in Rat Small Intestine in vitro. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A- Physiology**, v. 118, n. 2, p.291-295, out. 1997.

FESSLER, D.M.T. An evolutionary explanation of the plasticity of salt preferences- Prophylaxis against sudden dehydration. **Medical Hypotheses**, v. 61, n. 3, p.412-415, set. 2003.

FIELD *et al.* Heat-stable enterotoxin of Escherichia coli: in vitro effects on guanylate cyclase activity, cyclic GMP concentration, and ion transport in small intestine. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, [s.l.], v. 6, p.2800-2804, jun. 1978.

FIELD, M. *et al.* Heat-stable enterotoxin of Escherichia coli- in vitro effects on guanylate cyclase activity, cyclic GMP concentration, and ion transport in small intestine. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 75, n. 6, p.2800-2804, 1 jun. 1978.

FONTELES M.C *et al.* The lysine-1 analog of guanylin induces intestinal secretion and natriuresis in the isolated perfused kidney. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, [s.l.], v. 2, n. 29, p.267-271, 1996.

FONTELES, M. C. *et al.* Support of kidney function by long-chain fatty acids derived from renal tissue. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 244, n. 3, p.235-246, mar. 1983.

FONTELES, M.C. *et al.* The presence of ANF like material in the perfused rabbit kidney. **European Journal of Pharmacology**, v. 183, n. 3, p.1052-1053, jul. 1990.

FONTELES, M.C.*et al.* Partial characterization of an ANF/urodilatin-like substance released from perfused rabbit kidney under hypoxia. **Braz. J. Med. Biol. Res.** V.26 (n.1),p. 75–79,1993

FONTELES, M.C; NASCIMENTO, N.R.F. Guanylin peptide family: history, interactions with ANP, and new pharmacological perspectives. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, [s.l.], v. 89, n. 8, p.575-585, ago. 2011.

FONTELES, Manassés C. *et al.* Natriuretic and kaliuretic activities of guanylin and uroguanylin in the isolated perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 275, n. 2, p.191-197, ago. 1998.

FONTELES, Manassés Claudino *et al.* A lys-1 Analog of Guanylin Mimics the Effects of Escherichia coli heat-stable Enterotoxin Sta in the Isolated Perfused Rat Kidney.



In- Twenty-Seventh Joint Conference on Cholera and Related Diarrheal Diseases, 27., 1993, charlottesville. **Proceedings of the Twenty-Seventh Joint Conference on Cholera and Related Diarrheal Diseases**. Charlottesville- Oxford University Press, 1993. p. 100 - 105.

FONTELES, Manassés Claudino *et al.* Effect of STa and Cholera toxin on renal electrolyte transport- possible roles of endogenous ST-like compound in the isolated kidney. In- twenty-fifth Joint Conference on Cholera and Related Diarrheal Diseases, 27., 1991, charlottesville. **Proceedings of the twenty-fifth Joint Conference on Cholera and Related Diarrheal Diseases**. Charlottesville- Oxford University Press, 1991. p. 100 - 105.

FONTELES, Manassés Claudino. Efeitos do ácido 2-tetradecilglicídio no rim isolado- papel dos lipídios endógenos no transporte de sódio e função renal. 1980. Tese (Mestrado)- Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, UFC, Fortaleza.

FONTELES, Manassés Claudino; NASCIMENTO, Nilberto Robson Falcão do. Guanylin peptide family- history, interactions with ANP, and new pharmacological perspectives. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 89, n. 8, p.575-585, ago. 2011.

FORTE L.R. Uroguanylin and guanylin peptides- pharmacology and experimental therapeutics. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 104, n. 2, p.137-162, nov. 2004.

FORTE, L. R. *et al.* Lymphoguanylin- Cloning and Characterization of a Unique Member of the Guanylin Peptide Family. **Endocrinology**, v. 140, n. 4, p.1800-1806, abr. 1999.

FORTE, L. R. Uroguanylin- Physiological Role as a Natriuretic Hormone. **Journal of The American Society of Nephrology**, v. 16, n. 2, p.291-292, 12 jan. 2005.

FORTE, L. R.; KRAUSE, W. J.; FREEMAN, R. H. Receptors and cGMP signalling mechanism for E. coli enterotoxin in opossum kidney. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 255, n. 5, p.1040-1046, nov. 1988.

FORTE, L.R.; KRAUSE, W.J.; FREEMAN, R.H. Escherichia coli enterotoxin receptors: localization in opossum kidney, intestine, and testis. **American Journal of Physiology- renal Physiology**, [s.l.], v. 257, n. 5, p.874-881, nov. 1989.

FOX, R.R., LAIRD, C.W. **The rabbit**. In- The clinical chemistry of laboratory animals. Loeb, W.F., Quimby, F.W. (Ed) Taylor and Francis, Philadelphia, 1999, p. 71–83.

FOX, R.R.; LAIRD, C.W. Diurnal variations in rabbits- hematological parameters. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 218, n. 6, p.1609-1612, jun. 1970.

FRENCH, P.J *et al.* Isotype-specific activation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-chloride channels by cGMP dependent protein kinase II. **Journal of Biology Chemistry**. V.270,p.26626–31,1995

FRIZZELL, R.A.; KOCH, M.J.; SCHULTZ, S.G. Ion transport by rabbit colon. **The Journal of Membrane Biology**, v. 27, n. 1, p.297-316, dez. 1976.

FU, Y.; VALLON, V. Mineralocorticoid-Induced Sodium Appetite and Renal Salt Retention- Evidence for Common Signaling and Effector Mechanisms. **Nephron Physiology**, v. 128, n. 1-2, p.8-16, 6 nov. 2014.

FUDGE, Alan M. **Laboratory Medicine- Avian and Exotic Pets**. Philadelphia-Sauders, 2000. 486 p.

FUJIMOTO, S. *et al.* Immunohistochemical Localization of Uroguanylin in the Human Kidney. **Nephron**, v. 84, n. 1, p.88-89, 2000.

GARBERS, D. L.; DUBOIS, S.K. The Molecular Basis of Hypertension. **Annual Review of Biochemistry**, v. 68, n. 1, p.127-155, jun. 1999.

GIRARDI, Adriana C. C. *et al.* Association of Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>Exchanger Isoform NHE3 and Dipeptidyl Peptidase IV in the Renal Proximal Tubule. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 49, p.46671-46677, 5 out. 2001.

GOLDSMITH, C.; RECTOR, F.C.; SELDIN, D.W. Evidence for a direct effect of serum sodium concentration on sodium reabsorption. **Journal of Clinical Investigation**, v. 41, n. 4, p.850-859, 1 abr. 1962.

GOLIN-BISELLO, F.; BRADBURY, N.; AMEEN, N. STa and cGMP stimulate CFTR translocation to the surface of villus enterocytes in rat jejunum and is regulated by protein kinase G. **American Journal of Physiology- cell Physiology**, v. 289, n. 3, p.708-716, set. 2005.

GRANTHAM, J.J.; BURG, M.B.; ORLOFF, J. The nature of transtubular Na and K transport in isolated rabbit renal collecting tubules. **Journal of Clinical Investigation**, v. 49, n. 10, p.1815-1826, 1 out. 1970.

GREENBERG, R.N. *et al.* Comparison of effects of uroguanylin, guanylin, and Escherichia coli heat-stable enterotoxin STa in mouse intestine and kidney- evidence that uroguanylin is an intestinal natriuretic hormone. **Journal of Investigative Medicine**, Chicago, v. 45, n. 5, p.276-282, abr. 1997.

GRIFFITHS, M.; DAVIES, D. The Role of the Soft Pellets in the Production of Lactic Acid in the Rabbit Stomach. **The Journal of Nutrition**, v. 80, n. 2, p.171-180, 1 jun. 1963.

GROSS, C.G. Claude Bernard and the Constancy of the Internal Environment. **The Neuroscientist**, v. 4, n. 5, p.380-385, set. 1998.

GUANDALINI, S. *et al.* CGMP modulation of ileal ion transport: in vitro effects of Escherichia coli heat-stable enterotoxin. **American Journal of Physiology-gastrointestinal and Liver Physiology**, [s.l.], v. 243, n. 1, p.36-41, jul. 1982.

GUBA, M.; KUHN, M.; FORSSMANN, W.G.; CLASSEN, M.; GREGOR, M. ; SEIDLER, U. Guanylin strongly stimulates rat duodenal  $\text{HCO}_3^-$  secretion- proposed mechanism and comparison with other secretagogues. **Gastroenterology**, n.111, p. 1558- 1568,1996.

GUERRANT, R.L. *et al.* Activation of Intestinal Guanylate Cyclase by Heat-Stable Enterotoxin of Escherichia coli- Studies of Tissue Specificity, Potential Receptors, and Intermediates. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 142, n. 2, p.220-228, ago. 1980.

HAMILTON, R. L. *et al.* A simple and inexpensive membrane "lung" for small organ perfusion. **Lipid Research**, v. 15, p.182-186, mar. 1974.

HAMRA, F. K. *et al.* Uroguanylin- structure and activity of a second endogenous peptide that stimulates intestinal guanylate cyclase. **Proceedings of The National Academy of Sciences**, v. 90, n. 22, p.10464-10468, 15 nov. 1993.

HANSON, R.W; BALLARD, F.J. Citrate, piruvate and lactate contaminants of commercial serum albumin. **Journal of Lipid Research**, v.9, p. 667-668, 1968.

HARDMAN, J.G.; SUTHERLAND, E.W. Guanilyl cyclase, an enzyme catalyzing the formation of guanosine 3',5' -monophosphate from guanosine triphosphate. **Journal of Biology Chemistry**, n. 244, p.6363–70,1969.

HAYASHI, M. *et al.* Phosphodiesterase isozymes involved in regulation of  $\text{HCO}_3^-$  secretion in isolated mouse duodenum in vitro. **Biochemical Pharmacology**, v. 74, n. 10, p.1507-1513, nov. 2007.

HENRY, J.P.; GAUER, O.H.; REEVES, J. L. Evidence of the Atrial Location of Receptors Influencing Urine Flow. **Circulation Research**, v. 4, n. 1, p.85-90, jan. 1956.

HOLLENBERG, N .K. *et al.* What mediates the renal vascular response to a salt load in normal man? **Journal of Applied Physiology**, v. 33, n. 4, p.491-495, out. 1972.

HOLMES, Frederic L.. Claude Bernard, The "Milieu Intérieur", and Regulatory Physiology: History and Philosophy of the Life Sciences. **Stazione Zoologica Anton Dohrn**, Napoli, v. 8, n. 1, p.3-25, 1986.

HOWARDS, S.S. *et al.* Depression of fractional sodium reabsorption by the proximal tubule of the dog without sodium diuresis. **Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 7, p.1561-1572, 1 jul. 1968.

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.

HU, G.; QIAO, Q.; TUOMILEHTO, J. Nonhypertensive cardiac effects of a high salt diet. **Current Hypertension Reports**, v. 4, n. 1, p.13-17, fev. 2002.

HUGHES, J.M. *et al.* Role of cyclic GMP in the action of heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli*. **Nature**, v. 271, n. 5647, p.755-756, fev. 1978.

IMAI, M. The connecting tubule- A functional subdivision of the rabbit distal nephron segments. **Kidney International**, v. 15, n. 4, p.346-356, abr. 1979.

IMAI, M; KOKKO, J. P. Effect of Peritubular Protein Concentration on Reabsorption of Sodium and Water in Isolated Perfused Proximal Tubules. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 51, n. 2, p.314-325, 1 fev. 1972.

IMAI, M; KOKKO, J.P. Transtubular oncotic pressure gradients and net fluid transport in isolated proximal tubules. **Kidney International**, [s.l.], v. 6, n. 3, p.138-145, set. 1974.

JOHNSON-DELANEY, C. A. Anatomy and physiology of the rabbit and rodent gastrointestinal system. **Proceedings Association Avian Veterinary**, p. 9-17, 2006.

JONES, A. *et al.* Human Macrophage SCN5A Activates an Innate Immune Signaling Pathway for Antiviral Host Defense. **Journal of Biological Chemistry**, v. 289, n. 51, p.35326-35340, 3 nov. 2014.

JORGE, Antonio Rafael Coelho. Interações entre a ingestão alta de sódio e os peptídeos urodilatina e uroguanilina na função renal de ratos. 2013. 117 f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, José. **Histologia Básica**- Texto e Atlas. 13. ed. Rio de Janeiro- Guanabara Koogan, 2017. 568 p.

KAPLAN, B.L.; SMITH, H.W. Excretion of inulin, creatinine, xylose and urea in the normal rabbit. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 113, n. 2, p.354-360, 30 set. 1935. American Physiological Society. <http://dx.doi.org/10.1152/ajplegacy.1935.113.2.354>.

KAPLAN, J,H. Biochemistry of Na,K-ATPase. **Annual Review of Biochemistry**, [s.l.], v. 71, n. 1, p.511-535, jun. 2002

KATZUNG, Bertran G; MASTERS, Susan B; TREVOR, Anthony J. **Farmacologia Básica E Clínica**. 12. ed. Porto Alegre- Grupo A Educação, 2013. 1242 p.

KELLEY, J.L. *et al.* The life aquatic- advances in marine vertebrate genomics. **Nature Reviews Genetics**, v. 17, n. 9, p.523-534, set. 2016.

KINOSHITA, H. *et al.* Urine and plasma levels of uroguanylin and its molecular forms in renal diseases. **Kidney International**, v. 52, n. 4, p.1028-1034, out. 1997.

KITA, T. *et al.* Characterization of human uroguanylin- a member of the guanylin peptide family. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 266, n. 2, p.342-348, fev. 1994.

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.; KAISLING, W.K. Structural Analysis of the Rabbit Kidney. **Physiological Zoology**, v. 53, n. 2, p.240-240, abr. 1980.

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

KRAUSE, W.J *et al.* Guanylyl cyclase receptors and guanylin-like peptides in reptilian intestine. **General and Comparative Endocrinology**. n.107,p.229–239,1997

KRAUSE, W.J.; FREEMAN, R.H.; FORT, L.R. Autoradiographic demonstration of specific binding sites for E. coli enterotoxin in various epithelia of the North American opossum. **Cell and Tissue Research**, [s.l.], v. 260, n. 2, p.387-394, maio 1990.

KRIZ, W.; KAISLING, B.; PSZOLLA, M. Morphological characterization of the cells in Henle's loop and the distal tubule, in **-New Aspects of Renal Function** VOGEL HG, ULLRICH KJ(Eds) Amsterdam and Oxford, Excerpta Medica, 1978a, vol.6, p. 67-79 .

KRIZ, W. Anatomical and ultrastructural studies upon heterogeneity of nephrons in the rabbit kidney. In- 7TH MT CONGRESS NEPHROLOGY, 7, 1978b, Montreal. **Proceedings**. Montreal- S. Karger, 1978. p. 217 - 223.

KRIZ, Wilhelm . *et al.* A standard nomenclature for structures of the kidney. **Pflugers Archiv European Journal of Physiology**, v. 411, n. 1, p.113-120, jan. 1988.

KUHN, M. Molecular Physiology of Membrane Guanylyl Cyclase Receptors. **Physiological Reviews**, [s.l.], v. 96, n. 2, p.751-804, abr. 2016.

KURTZ, David M.; TRAVLOS, Gregory S.. **The Clinical Chemistry of Laboratory Animals**. 3. ed. Boca Raton- Crc Press, 2017. 1162 p.

LEHNER, U *et al.* Ligands and Signaling of the G-Protein-Coupled Receptor GPR14, Expressed in Human Kidney Cells. **Cellular Physiology and Biochemistry**, [s.l.], v. 20, n. 1-4, p.181-192, 2007.

LENNANE, R. J. *et al.* A Comparison of Natriuresis after Oral and Intravenous Sodium Loading in Sodium-Depleted Rabbits- Evidence for a Gastrointestinal or Portal Monitor of Sodium Intake. **Clinical Science**, v. 49, n. 5, p.433-436, nov. 1975.

LESSA, L.M. A. *et al.* Mechanisms underlying the inhibitory effects of uroguanylin on NHE3 transport activity in renal proximal tubule. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 303, n. 10, p.1399-1408, 15 nov. 2012.

LIMA, A.A. M.; MONTEIRO, H.S. A.; FONTELES, M.C. The Effects of Escherichia coli Heat-Stable Enterotoxin in Renal Sodium Tubular Transport. **Pharmacology & Toxicology**, v. 70, n. 3, p.163-167, mar. 1992.

LIMA, A.A.M.; FONTELES, M.C. From Escherichia coli heat-stable enterotoxin to mammalian endogenous guanylin hormones. **Brazilian Journal Of Medical And Biological Research**, [s.l.], v. 47, n. 3, p.179-191, 3 mar. 2014.

LIMA, Aldo Angelo Moreira ;FONTELES, , Claudino;. Efeitos das toxinas do *V. Cholerae* e da *E. coli* no rim perfundido. In- XVIII CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA, 18., 1983, São Lourenço. **Proceedings of the XVIII Congresso Brasileiro de Fisiologia**. São Lourenço- Fesbe, 1983. p. 31 - 46.

LIMA, ALDO ANGELO. Estudos dos efeitos das toxinas do *V.cholerae* e *E.coli* no rim isolado de rato. Tese (mestrado)-Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza,1983

LITTLE; COHEN, JJ. Effect of albumin concentration on function of isolated perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 226, n. 3, p.512-517, mar. 1974.

LIU, Q *et al.* Identification of Urotensin II as the Endogenous Ligand for the Orphan G-Protein-Coupled Receptor GPR14. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [s.l.], v. 266, n. 1, p.174-178, dez. 1999.

LORETZ, C. A. Drinking and alimentary transport in teleost osmoregulation. **Perspective in comparative endocrinology: unity and diversity (eds HJT Goos, RK Rastogi, H. Vaudry & R. Pierantoni)**, p. 723-732, 2001.

LOWENSTEIN, T. K. Oscillations in Phanerozoic Seawater Chemistry- Evidence from Fluid Inclusions. **Science**, v. 294, n. 5544, p.1086-1088, 2 nov. 2001.

MAACK, T. Physiological evaluation of the isolated perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, v. 238, n. 2, p.71-78, fev. 1980.

MAGUIRE, J.J; DAVENPORT, A.P. Is urotensin-II the new endothelin? **British Journal of Pharmacology**, [s.l.], v. 137, n. 5, p.579-588, nov. 2002.

MALNIC, G; KLOSE, R.M.; GIEBISCH, G. Micropuncture study of renal potassium excretion in the rat. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 206, n. 4, p.674-686, abr. 1964.

MALNIC, G; KLOSE, R.M; GIEBISCH, G. Micropuncture study of distal tubular potassium and sodium transport in rat nephron. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 211, n. 3, p.529-547, set. 1966.

MARTIN, W. *et al.* Hydrothermal vents and the origin of life. **Nature Reviews Microbiology**, v. 6, n. 11, p.805-814, 29 set. 2008.

MATLIN, K.S. The sorting of proteins to the plasma membrane in epithelial cells. **J Cell Biol**, Boston, v. 103, n. 6, p.2565-2568, 1 dez. 1986.

MATLIN, K.S.; VALENTICH, J.D. **Functional Epithelial Cells in Culture**. Michingan-Liss, 1989. 463 p.

MATSUSHITA M *et al.* Co-expression of urotensin II and its receptor (GPR14) in human cardiovascular and renal tissues. **Journal of Hypertension.**, [s.l.], v. 12, n. 19, p.2185-2190, 2001

MCHUGH, D.R. *et al.* Linaclotide improves gastrointestinal transit in cystic fibrosis mice by inhibiting sodium/hydrogen exchanger 3. **American Journal of Physiology-gastrointestinal And Liver Physiology**, [s.l.], v. 315, n. 5, p.868-878, nov. 2018.

MCINTOSH, T.J.; SIMON, S.A. Roles of bilayer material properties in function and distribution of membrane proteins. **Annual Review of Biophysics And Biomolecular Structure**, v. 35, n. 1, p.177-198, jun. 2006.

MEERVELD, Beverley Greenwood-van. Gastrointestinal Pharmacology. In- MEERVELD, Beverley Greenwood-van. **Gastrointestinal Pharmacology**. New York- Springer, 2017. Cap. 5. p. 147-176.

MELILLO, A. Rabbit Clinical Pathology. **Journal of Exotic Pet Medicine**, v. 16, n. 3, p.135-145, jul. 2007.

MELLO, L.G ; MAACK, T. Nephron function of the isolated perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 231, n. 6, p.1699-1707, dez. 1976.

MELO, L.G. *et al.* ANP in regulation of arterial pressure and fluid-electrolyte balance-lessons from genetic mouse models. **Physiological Genomics**, v. 3, n. 1, p.45-58, 29 jun. 2000.

MITCHELL, Mark A.; TULLY, Thomas N. **Manual of Exotic Pet Practice**. Cambridge- Elsevier Health Sciences, 2009. 546 p.

MORAES, Maria Elisabete Amaral de. **Perfusão do rim isolado de coelho: estudo comparativo de aminoglicosídeos**.1984. 148 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmacologia, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1984.

MOREL, F. *et al.* Functional segmentation of the rabbit distal tubule by microdetermination of hormone-dependent adenylate cyclase activity. **Kidney International**, v. 9, n. 3, p.264-277, mar. 1976.

MOSS, N.G. *et al.* Uroguanylin, an Intestinal Natriuretic Peptide, Is Delivered to the Kidney as an Unprocessed Propeptide. **Endocrinology**, v. 149, n. 9, p.4486-4498, set. 2008.

MUELLER, T.; DIEPLINGER, B. The guanylin peptide family and the proposed gastrointestinal–renal natriuretic signaling axis. **Kidney International**, v. 82, n. 12, p.1253-1255, dez. 2012.

MUTH, T.R.; CAPLAN, M.J. Transport Protein Trafficking in Polarized Cells. **Annual Review of Cell and Developmental Biology**, v. 19, n. 1, p.333-366, nov. 2003.

NAKAZATO, M.H.; YAMAGUCHI, Y.; DATE et al., "Tissue distribution, cellular source, and structural analysis of rat immunoreactive uroguanylin," **Endocrinology**, v. 139, n. 12, p. 5247–5254, 1998.

NANDI, A; BHANDARI, R; VISWESWARIAH, S.S. Epitope conservation and immunohistochemical localization of the guanylin/stable toxin peptide receptor, guanylyl cyclase C. **Journal of Cellular Biochemistry**, [s.l.], v. 66, n. 4, p.500-511, 15 set. 1997.

NETTER, Frank H. **Atlas de Anatomia Humana**. 2. ed. Porto Alegre- Artmed, 2000. 624 p.

NISBET, E. G.; SLEEP, N. H.. The habitat and nature of early life. **Nature**, v. 409, n. 6823, p.1083-1091, fev. 2001.

NODA, M.; HIYAMA, T.Y. Sodium sensing in the brain. **Pflügers Archiv - European Journal of Physiology**, v. 467, n. 3, p.465-474, 10 dez. 2014.

O'GRADY, S.M. *et al.* Cyclic AMP-dependent Cl Secretion Is Regulated by Multiple Phosphodiesterase Subtypes in Human Colonic Epithelial Cells. **Journal of Membrane Biology**, v. 185, n. 2, p.137-144, 1 jan. 2002.

O'MALLEY, Bairbre (Ed.). **Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species-** Structure and function of mammals, birds, reptiles, and amphibians. Philadelphia-Saunders, 2005. 272 p.

ORLOV, S.N.; MONGIN, A.A. Salt-sensing mechanisms in blood pressure regulation and hypertension. **American Journal of Physiology-heart And Circulatory Physiology**, v. 293, n. 4, p.2039-2053, out. 2007.

OSATHANDONH, V.; POTTER, E. L. Development of human kidney as shown by microdissection- III. Formation and interrelationship of collecting tubules and nephrons. **Archive Pathology** , v.76, p.290-302, 1963

OSTEDGAARD, L.S.; BALDURSSON, O.; WELSH, M.J. Regulation of the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Cl-Channel by Its R Domain. **Journal of Biological Chemistry**, v. 276, n. 11, p.7689-7692, 23 jan. 2001.

PARK, C H; MAACK, T. Albumin absorption and catabolism by isolated perfused proximal convoluted tubules of the rabbit. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 73, n. 3, p.767-777, 1 mar. 1984.

PATTISON, A.M *et al.* Intestinal Enteroids Model Guanylate Cyclase C-Dependent Secretion Induced by Heat-Stable Enterotoxins. **Infection and Immunity**, [s.l.], v. 84, n. 10, p.3083-3091, 1 ago. 2016.

PEGG, D.E. Vascular resistance of the isolated rabbit kidney. **Cryobiology**, v. 8, n. 5, p.431-440, out. 1971.



PFEIFER, A. *et al.* Intestinal secretory defects and dwarfism in mice lacking cGMP-dependent protein kinase II. **Science** v.274,p-2082-2086,1996

PISANI, D. *et al.* The colonization of land by animals- molecular phylogeny and divergence times among arthropods. **Bmc Biology**, v. 2, n. 1, p.1-10, 2004.

POTTHAST, R. *et al.* High Salt Intake Increases Uroguanylin Expression in Mouse Kidney1. **Endocrinology**, v. 142, n. 7, p.3087-3097, jul. 2001.

QIAN, X. *et al.* Circulating Prouroguanylin Is Processed to Its Active Natriuretic Form Exclusively within the Renal Tubules. **Endocrinology**, v. 149, n. 9, p.4499-4509, set. 2008.

QUESENBERRY, Katherine; CARPENTER, James W.. **Ferrets, Rabbits, and Rodents- Clinical Medicine and Surgery**. 3. ed. Boca Raton- Elsevier Health Sciences, 2011. 608 p.

RAHBI, H. *et al.* The uroguanylin system and human disease. **Clinical Science**, v. 123, n. 12, p.659-668, 1 dez. 2012.

RANG, H. P.; DALE, M. M. **Rang & Dale Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro- Elsevier, 2016. 784 p.

RODRIGUEZ-BOULAN, E.; NELSON, W. Morphogenesis of the polarized epithelial cell phenotype. **Science**, v. 245, n. 4919, p.718-725, 18 ago. 1989.

ROSENFELD, S; SELLERS, A.L.; KATZ, J. Development of an isolated perfused mammalian kidney. **American Journal of Physiology- legacy Content**, [s.l.], v. 196, n. 5, p.1155-1159, maio 1959.

ROTHSTEIN, R.D; FRIEDENBERG, F.K. Linaclotide: a novel compound for the treatment of irritable bowel syndrome with constipation. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 14, n. 15, p.2125-2132, 5 set. 2013.

RUDOLPH, J.A.; HAWKINS, J.A.; COHEN, M.B.. Proguanylin secretion and the role of negative-feedback inhibition in a villous epithelial cell line. **American Journal of Physiology- gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 283, n. 3, p.695-702, set. 2002.

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.

SAGNELLA, G.A. Practical implications of current natriuretic peptide research. **Journal of the Renin-angiotensin-aldosterone System**, v. 1, n. 4, p.304-315, dez. 2000.

SANTOS-NETO, M.S. *et al.* Guanylin and its Lysine-Containing Analogue in the Isolated Perfused Rat Kidney: Interaction with Chymotrypsin Inhibitor. **Pharmacology and Toxicology**, [s.l.], v. 92, n. 3, p.114-120, mar. 2003.

SANTOS-NETO, M.S. *et al.* Interaction of atrial natriuretic peptide, urodilatin, guanylin and uroguanylin in the isolated perfused rat kidney. **Regulatory Peptides**, [s.l.], v. 136, n. 1-3, p.14-22, set. 2006.

SANTOS-NETO, Messias S. *et al.* Guanylin and its Lysine-Containing Analogue in the Isolated Perfused Rat Kidney: Interaction with Chymotrypsin Inhibitor. **Pharmacology and Toxicology**, v. 92, n. 3, p.114-120, mar. 2003.

SCHØNHEYDER, H.C.; MAUNSBACH, A.B.. Ultrastructure of a specialized neck region in the rabbit nephron. **Kidney International**, v. 7, n. 3, p.145-153, mar. 1975.

SCHRIER, R.W.; EARLEY, L.E. Effects of hematocrit on renal hemodynamics and sodium excretion in hydropenic and volume-expanded dogs. **Journal of Clinical Investigation**, v. 49, n. 9, p.1656-1667, 1 set. 1970.

SCHULTHEIS, P.J. *et al.* Renal and intestinal absorptive defects in mice lacking the NHE3 Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger. **Nature Genetics**, v. 19, n. 3, p.282-285, jul. 1998.

SCHULTZ S.G. Ion transport by mammalian large intestine. In- JOHNSON LR (Ed) **Physiology of the gastrointestinal tract**. New York, Raven Press, 1981b, p.991 - 1002

SCHULTZ, S. G. Homocellular regulatory mechanisms in sodium-transporting epithelia- avoidance of extinction by "flush-through". **American Journal of Physiology- renal Physiology**, v. 241, n. 6, p.579-590, dez. 1981a.

SCHULTZ, S. G.; FRIZZELL, R.A.; NELLANS, H.N. Active sodium transport and the electrophysiology of rabbit colon. **The Journal of Membrane Biology**, v. 33, n. 1, p.351-384, dez. 1977.

SCHULTZ, S.G.; FIELD, M.; FRIZZELL, R.A. **Intestinal Absorption and Secretion**. Rockville- American Physiological Society, 1991. 662 p

SCHULZ, S. *et al.* Disruption of the guanylyl cyclase-C gene leads to a paradoxical phenotype of viable but heat-stable enterotoxin-resistant mice. **Journal of Clinical Investigation**, v. 100, n. 6, p.1590-1595, 15 set. 1997.

SCHULZ, S. *et al.* Guanylyl cyclase is a heat-stable enterotoxin receptor. **Cell**, v. 63, n. 5, p.941-948, nov. 1990.

SCHULZ, S; CHRISMAN, T D; GARBERS, D L. Cloning and expression of guanylin. Its existence in various mammalian tissues. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 267, p.16019-16021, 15 ago. 1992.

SCHUREK, H. J.; ALT, J. M. Effect of albumin on the function of perfused rat kidney. **American Journal of Physiology-renal Physiology**, [s.l.], v. 240, n. 6, p.569-576, jun. 1981.

SCHUREK, Hans Joachim. Application of the Isolated Perfused Rat Kidney in Nephrology1. **Contributions to Nephrology**, p.176-190, 1980.

SCHWARZ, M.A. *et al.* Desmosomes and Hemidesmosomes- Constitutive Molecular Components. **Annual Review of Cell Biology**, v. 6, n. 1, p.461-491, nov. 1990.

SEGAL, N. B.; GUTTMAN, F. M. Function of rabbit kidneys during normothermic in vitro perfusion. **Cryobiology**, v. 16, n. 6, p. 616-617, 1979.

SELDEN, P.A.; EDWARDS, D. Colonisation of the Land. Evolution and the fossil record, p. 122-152, 1989.

SELLERS, Z.M. *et al.* Heat-stable enterotoxin of *Escherichia coli* (STa) can stimulate duodenal HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> secretion via a novel GC-C- and CFTR-independent pathway. **The FASEB Journal**, v. 22, n. 5, p.1306-1316, maio 2008.

SELLIN, J. H.; DESOIGNIE, R.. Rabbit proximal colon- a distinct transport epithelium. **American Journal of Physiology-gastrointestinal And Liver Physiology**, v. 246, n. 5, p.603-610, maio 1984.

SHARP, G.W. G.; HYNIE, S. Stimulation of Intestinal Adenyl Cyclase by Cholera Toxin. **Nature**, v. 229, n. 5282, p.266-269, jan. 1971.

SHEEHAN, H. L.; DAVIS, J. C.. Anatomy of the pelvis in the rabbit kidney. **Journal of Anatomy**, v. 94, n. 4, p.499-502, out. 1959.

SILVA, N.A. *et al.* Effects of *Tityus stigmurus* (Thorell 1876) (Scorpiones: Buthidae) venom in isolated perfused rat kidneys. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [s.l.], v. 88, n. 1, p.665-675, 29 abr. 2016.

SILVERMAN, Sam; TELL, Lisa. **Radiology of Rodents, Rabbits and Ferrets- An Atlas of Normal Anatomy and Positioning**. Boca Raton- Elsevier Health Sciences, 2004. 320 p.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia humana- uma abordagem integrada**. 5. ed. Porto Alegre- Artmed, 2009. 992 p.

SIMON, Alexander M.. Gap junctions- more roles and new structural data. **Trends in Cell Biology**, v. 9, n. 5, p.169-172, maio 1999.

SIMON, Alexander M; A GOODENOUGH, Daniel. Diverse functions of vertebrate gap junctions. **Trends In Cell Biology**, v. 8, n. 12, p.477-483, dez. 1998.

SINDIC, A. Current Understanding of Guanylin Peptides Actions. **Isrn Nephrology**, v. 2013, p.1-17, 2013.

SINDIC, A.; SCHLATTER, E.. Mechanisms of action of uroguanylin and guanylin and their role in salt handling. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 21, n. 11, p.3007-3012, 12 set. 2006.

SINDIC, Aleksandra. Current Understanding of Guanylin Peptides Actions. **Isrn Nephrology**, [s.l.], v. 2013, p.1-17, 2013.

SMIEJA, Marek; GOLDFARB, David M.. Molecular Detection of Diarrheal Pathogens. **Clinical Microbiology Newsletter**, v. 38, n. 17, p.137-145, set. 2016.

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

SNIPES, R.I. *et al.* Structural and functional differences in various divisions of the rabbit colon. **Cell and Tissue Research**, v. 225, n. 2, p.331-346, jul. 1982.

STARLING, E. H.; VERNEY, E. B.. The Secretion of Urine as Studied on the Isolated Kidney. **Proceedings of The Royal Society B- Biological Sciences**, v. 97, n. 684, p.321-363, 2 fev. 1925.

STEINHAUSEN, Michael; ENDLICH, Karlhans; WIEGMAN, David L.. Glomerular blood flow. **Kidney International**, v. 38, n. 5, p.769-784, nov. 1990.

SUCKOW, Mark A.; STEVENS, Karla A.; WILSON, Ronald P.. **The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents**. Cambridge- Academic Press, 2012. 1268 p.

SUDOH, T *et al.* A new natriuretic peptide in porcine brain. **Nature** v.332,p.78–81,1988

SUDOH, T *et al.* C-type natriuretic peptide (CNP) - a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. **Biochemical. Biophysics. Research. Community**. V.168,p. 863–70,1990

TAFT, D.R; SWEENEY,K.R. The influence of protein binding on the elimination of acetazolamide by the isolated perfused rat kidney: evidence of albumin-mediated tubular secretion. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic**, [s.l.], v. 2, n. 274, p.752-760, 1995.

TAKEI, Yoshio; MCCORMICK, Stephen D.. HORMONAL CONTROL OF FISH EURYHALINITY. In- MCCORMICK, Stephen D.; FARRELL, Anthony P.; BRAUNER, Colin J. (Ed.). **EURYHALINE FISHES**. Oxford- Academic Press, 2013. Cap. 3. p. 78-80.

TAKEI, Yoshio; YUGE, Shinya. The intestinal guanylin system and seawater adaptation in eels. **General and Comparative Endocrinology**, [s.l.], v. 152, n. 2-3, p.339-351, jun. 2007.

TEIXEIRA, Mda. *et al.* Uroguanylin induces electroencephalographic spikes in rats. **Brazilian Journal of Biology**, v. 73, n. 3, p.623-627, ago. 2013.

THOMPSON, M.R; GIANNELLA, R.A. Revised amino acid sequence for a heat-stable enterotoxin produced by an Escherichia coli strain (18D) that is pathogenic for humans. **Infect Immun**, [s.l.], v. 3, n. 47, p.834-836, 1985.

TIAN, X *et al.* STa peptide analogs for probing guanylyl cyclase C. **Biopolymers**, [s.l.], v. 90, n. 5, p.713-723, 2008.

TITZE, Jens; MACHNIK, Agnes. Sodium sensing in the interstitium and relationship to hypertension. **Current Opinion in Nephrology And Hypertension**, v. 19, n. 4, p.385-392, jul. 2010.

TORELLI, G *et al.* Energy requirement for sodium reabsorption in the in vivo rabbit kidney. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 211, n. 3, p.576-580, set. 1966.

TORIANO, Roxana *et al.* Uroguanylin Regulates Net Fluid Secretion via the NHE2 Isoform of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchanger in an Intestinal Cellular Model. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 28, n. 4, p.733-742, 2011.

TURNBERG, L.A. Electrolyte absorption from the colon. **Gut**, v. 11, n. 12, p.1049-1054, 1 dez. 1970. BMJ. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.11.12.1049>.

VANDER, Arthur J. Potassium secretion and reabsorption in distal nephron. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 201, n. 3, p.505-510, set. 1961.

VENGESA, P B; HOPFER, U. Cytochemical localization of alkaline phosphatase and Na<sup>+</sup>-pump sites in adult rat colon. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 27, n. 9, p.1231-1235, set. 1979.

VLOTIDES, George; MERTENS, Peter R. Sodium-glucose cotransport inhibitors-mechanisms, metabolic effects and implications for the treatment of diabetic patients with chronic kidney disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 30, n. 8, p.1272-1276, 17 set. 2014.

WALDMAN', S.A.; O'HANLEY, P. Influence of a glycine or proline substitution on the functional properties of a 14-amino-acid analog of Escherichia coli heat-stable enterotoxin. **Infect Immunology.**, [s.l.], v. 57, n. 8, p.2420-2424, 1989.

WALKER, W. Gordon *et al.* Mechanism of renal potassium secretion studied by a modified stop-flow technique. **American Journal of Physiology-legacy Content**, v. 200, n. 6, p.1133-1138, jun. 1961.

WALSER, Mackenzie; DAVIDSON, Douglas G.; ORLOFF, Jack. The renal clearance of alkali-stable inulin. **The Journal of Clinical Investigation**, Cambridge, p.1520-1523, jan. 1955.

WEIGLMEIER, Philipp R.; RÖSCH, Paul; BERKNER, Hanna. Cure and Curse: E. coli Heat-Stable Enterotoxin and Its Receptor Guanylyl Cyclase C. **Toxins**, [s.l.], v. 2, n. 9, p.2213-2229, 26 ago. 2010.

WEINMAN, E.J; STEPLOCK, D; SHENOLIKAR, S. cAMP-mediated inhibition of the renal brush border membrane Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> exchanger requires a dissociable phosphoprotein cofactor. **Journal of Clinical Investigation**, [s.l.], v. 92, n. 4, p.1781-1786, 1 out. 1993.

WEINMAN, Edward J. et al. NHERF Associations with Sodium–Hydrogen Exchanger Isoform 3 (NHE3) and Ezrin Are Essential for cAMP-Mediated Phosphorylation and Inhibition of NHE3†. **Biochemistry**, [s.l.], v. 39, n. 20, p.6123-6129, maio 2000.

WEISBROTH, Steven H.; FLATT, Ronald E.; KRAUS, Alan L.. **The Biology of the Laboratory Rabbit**. 3. ed. Cambridge- Academic Press,, 2013. 510 p.

WELSH, M. *et al.* Crypts are the site of intestinal fluid and electrolyte secretion. **Science**, v. 218, n. 4578, p.1219-1221, 17 dez. 1982.

WHITE, Arnold A. *et al.* Opossum kidney contains a functional receptor for the Escherichia, coli heat-stable enterotoxin. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 159, n. 1, p.363-367, fev. 1989.

WOODHALL, Philip B.; TISHER, C. Craig. Response of the Distal Tubule and Cortical Collecting Duct to Vasopressin in the Rat. **Journal of Clinical Investigation**, v. 52, n. 12, p.3095-3108, 1 dez. 1973.

XU, Wei *et al.* Sodium channel Na<sub>x</sub> is a regulator in epithelial sodium homeostasis. **Science Translational Medicine**, v. 7, n. 312, p.312177-312177, 4 nov. 2015.

YANG, Jian; JOSE, Pedro A.; ZENG, Chunyu. Gastrointestinal–Renal Axis- Role in the Regulation of Blood Pressure. **Journal of The American Heart Association**, v. 6, n. 3, p.1-15, 15 mar. 2017.

YEDGAR, S. *et al.* Tissue sites of catabolism of albumin in rabbits. **American Journal Of Physiology-endocrinology And Metabolism**, [s.l.], v. 244, n. 1, p.101-107, jan. 1983.

YUGE, Shinya; TAKEI, Yoshio. Regulation of Ion Transport in Eel Intestine by the Homologous Guanylin Family of Peptides. **Zoological Science**, v. 24, n. 12, p.1222-1230, dez. 2007

YUN, C. H. Chris et al. cAMP-mediated inhibition of the epithelial brush border Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger, NHE3, requires an associated regulatory protein. **Proceedings of Natural Academy of Science USA**, [s.l.], v. 7, n. 95, p.3010-3015, mar. 1997.

ZACK, G.A.; BRUN, C; SMITH, H.W. The mechanism of formation of osmotically concentrated urine during the antidiuretic state. **Journal of Clinical Investigation**, v. 33, n. 7, p.1064-1074, 1 jul. 1954.

ZHOU, Xin Jin (joseph) *et al* (Ed.). **Silva's Diagnostic Renal Pathology**. Cambridge- Cambridge University Press, 2017. 690 p.

