

**LILLIANE CURY PRATES**

**Errata:**

**Onde se lê:**

Obtenção do título de Mestre em Pediatria;

**Lê-se:**

Obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e o Adolescente, área de concentração Pediatria.

***ESTUDO DOS EFEITOS DA PUROMICINA EM RATOS  
UNINEFRECTOMIZADOS.***

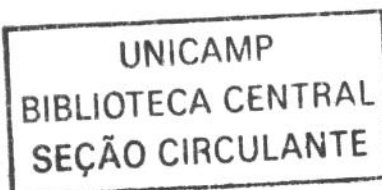
Este exemplar corresponde a versão final do exemplar da Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Pediatria.

Campinas, 31 de agosto de 2001.

  
Prof.ª Dra. Vera Maria Santoro Belangero  
Orientadora

**CAMPINAS**

**2001**



***LILIANE CURY PRATES***

***ESTUDO DOS EFEITOS DA PUROMICINA EM RATOS  
UNINEFRECTOMIZADOS.***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Curso de Pós-graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança e do Adolescente, área de concentração Pediatria.

***ORIENTADORA: PROFA. DRA. VERA MARIA SANTORO BELANGERO***

***CAMPINAS***

***2001***

|            |                                     |
|------------|-------------------------------------|
| UNIDADE    | BC                                  |
| Nº CHAMADA | TUNICAMP                            |
|            | P887e                               |
| V          | EX                                  |
| TOMBO BC/  | 51853                               |
| PROC.      | 16-837-02                           |
| C          | <input type="checkbox"/>            |
| D          | <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO      | R\$ 11,00                           |
| DATA       | 16/12/02                            |
| Nº CPD     |                                     |

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS  
UNICAMP**

CM00177405-9

113 10 276258

P887e Prates, Liliane Cury  
Estudos dos efeitos da puromicina em ratos uninefrectomizados /  
Liliane Cury Prates. Campinas, SP : [s.n.], 2002.

Orientador : Vera Maria Santoro Belangero  
Dissertação ( Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.  
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Nefrologia. I. Vera Maria Santoro Belangero. II. Universidade  
Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título.

---

## Banca Examinadora da Tese de MESTRADO

---

Orientadora:

Profa. Dra. Vera Maria Santoro Belangero

---

Membros:

1. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vera Maria Santoro Belangero

3. Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Márcia Riyuzo

2. Prof. Dr. Gentil Alves Filho

Curso de Pós-Graduação em Pediatria da Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas.

Data: 2001

## ***DEDICATÓRIA***

**Á Deus e aos meus pais, Olavo e Dulcinéia, pelo amor e incentivo constantes.**

Aos meus irmãos, Lucrécia, Olavo, Luciana e Lucila; meus cunhados Sérgio e João, minha cunhada Fátima, e meus sobrinhos Lucas e Mateus:

pela FAMÍLIA.

### ***AGRADECIMENTO ESPECIAL***

À **Profa. Dra. Vera**, minha orientadora, pela amizade, pelo estímulo e participação na concretização deste projeto.

Às crianças nefróticas que motivaram este estudo.

Às colegas de trabalho e amigas Sumara, Anna Cristina, Rosângela e Christine, pelo companheirismo.

À amiga Juliana pela importante ajuda com o computador.

À Marise Mello C. Brunelli, bióloga responsável pelo Laboratório de Pediatria pela ajuda na realização dos exames laboratoriais.

À Nilza, Willian e Ana, do laboratório do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP, pela importante colaboração nos cuidados com os animais e por serem responsáveis por todo meu conhecimento no manejo dos animais

Ao laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Unicamp pela realização de alguns exames laboratoriais.

Ao laboratório de Anatomia Patológica, Dras Izilda e Luciana, pela análise histológica.

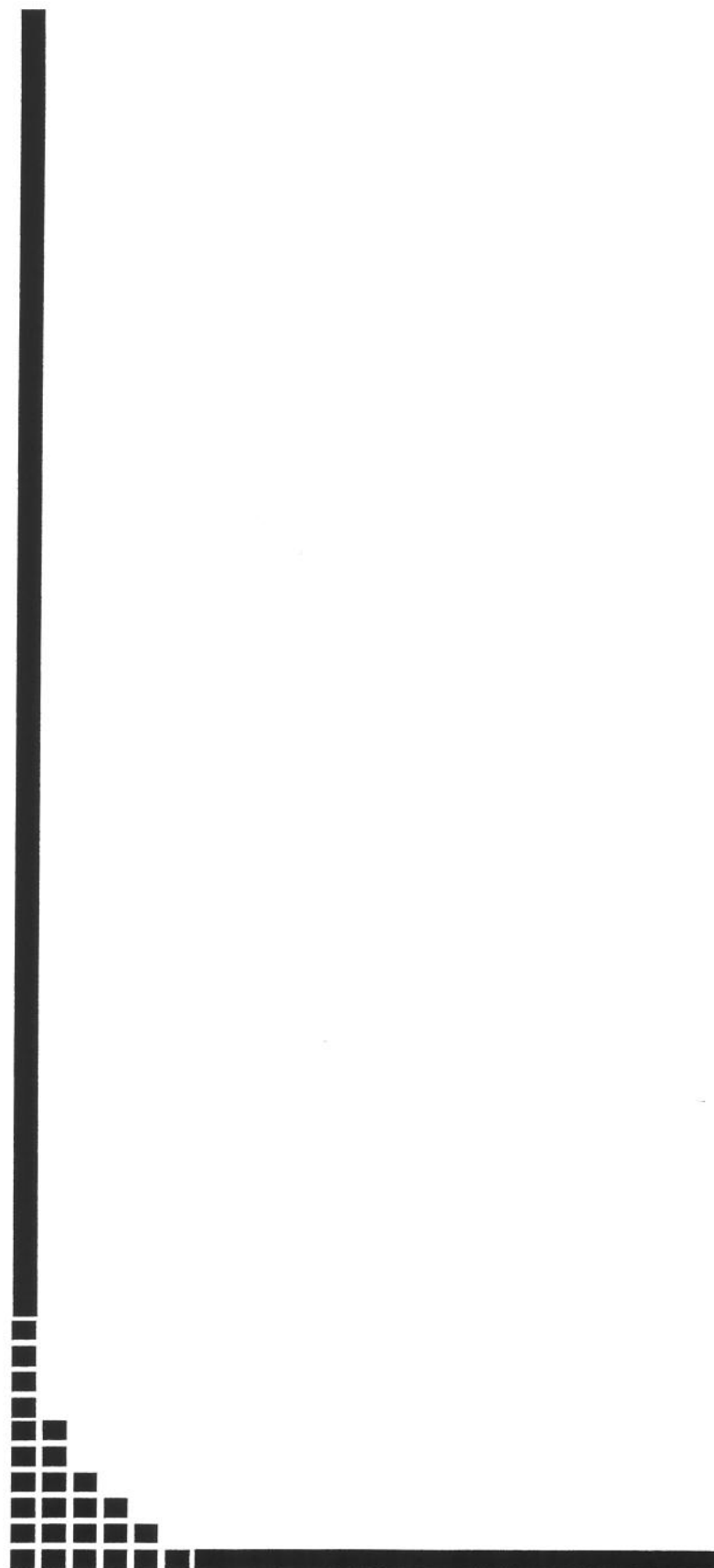
|                                                                              | <b>PÁG</b>   |
|------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| <b>RESUMO.....</b>                                                           | <b>xxiii</b> |
| <b>1. INTRODUÇÃO.....</b>                                                    | <b>27</b>    |
| 1.1. Definição.....                                                          | 29           |
| 1.2. Classificação histopatológica.....                                      | 29           |
| 1.3. Epidemiologia.....                                                      | 30           |
| 1.4. Etiopatogenia.....                                                      | 30           |
| 1.5. Fisiopatologia.....                                                     | 31           |
| 1.5.1. Hipoalbuminemia.....                                                  | 31           |
| 1.5.2. Alterações nas imunoglobulinas.....                                   | 34           |
| 1.5.3. Deficiência de oligoelementos, vitaminas e carreadores protéicos..... | 34           |
| 1.5.4. Desnutrição.....                                                      | 37           |
| 1.5.5. Lesão tubular.....                                                    | 37           |
| 1.5.6. Susceptibilidade aumentada à infecção.....                            | 38           |
| 1.5.7. Fenômenos tromboembólicos.....                                        | 38           |
| <b>2. OBJETIVOS.....</b>                                                     | <b>43</b>    |
| <b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>                                            | <b>47</b>    |
| 3.1. Material.....                                                           | 49           |
| 3.2. Métodos.....                                                            | 51           |
| <b>4. RESULTADOS.....</b>                                                    | <b>57</b>    |
| 4.1. Evolução do peso.....                                                   | 59           |
| 4.2. Evolução da diurese.....                                                | 61           |

|                                                             |            |
|-------------------------------------------------------------|------------|
| 4.3. Evolução da proteinúria.....                           | 63         |
| 4.4. Evolução da proteína sérica total.....                 | 65         |
| 4.5. Evolução da albuminemia.....                           | 67         |
| 4.6. Evolução do colesterol e triglicérides.....            | 70         |
| 4.7. Evolução do clearance de creatinina.....               | 73         |
| 4.8. Evolução da fração de excreção de sódio e fósforo..... | 74         |
| 4.9. Avaliação histológica.....                             | 75         |
| <b>5. DISCUSSÃO .....</b>                                   | <b>77</b>  |
| 5.1. Escolha do modelo.....                                 | 79         |
| 5.2. Desenvolvimento ponderal.....                          | 79         |
| 5.3. Desenvolvimento da síndrome nefrótica.....             | 81         |
| <b>6. CONCLUSÃO.....</b>                                    | <b>85</b>  |
| <b>7. SUMMARY.....</b>                                      | <b>89</b>  |
| <b>8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                   | <b>93</b>  |
| <b>9. APÊNDICE.....</b>                                     | <b>107</b> |

|                                                                                                                            | <b>PÁG</b> |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Tabela 1:</b> Mediana dos pesos, nas semanas, com os resultados estatísticos.....                                       | 60         |
| <b>Tabela 2:</b> Mediana dos valores da diurese, nas semanas, com os resultados estatísticos.....                          | 62         |
| <b>Tabela 3:</b> Mediana dos valores de proteinúria de 24 horas, nas semanas, com os resultados estatísticos.....          | 64         |
| <b>Tabela 4:</b> Mediana dos valores de proteinemia, nas semanas, com os resultados estatísticos.....                      | 67         |
| <b>Tabela 5:</b> Mediana e variação da albumina sérica na semana 1.....                                                    | 68         |
| <b>Tabela 6:</b> Mediana dos valores de albuminemia, nas semanas, com os resultados estatísticos.....                      | 68         |
| <b>Tabela 7:</b> Mediana dos valores de colesterolemia e trigliceridemia, nas semanas, com os resultados estatísticos..... | 71         |
| <b>Tabela 8:</b> Modelos experimentais utilizando puromicina, encontrados na literatura.....                               | 109        |
| <b>Tabela 9:</b> Valores dos pesos dos 64 ratos estudados.....                                                             | 115        |
| <b>Tabela 10:</b> Valores dos volumes de diurese dos 64 ratos estudados.....                                               | 117        |
| <b>Tabela 11:</b> Valores da dosagem de creatinina sérica dos 64 ratos estudados.....                                      | 119        |
| <b>Tabela 12:</b> Valores da dosagem de creatinina urinária dos 64 ratos estudados.....                                    | 121        |
| <b>Tabela 13:</b> Valores dos clearances de creatinina dos 32 ratos onde se realizou este exame.....                       | 123        |
| <b>Tabela 14:</b> Valores da proteína sérica dos 32 ratos onde se realizou este exame.....                                 | 125        |
| <b>Tabela 15:</b> Valores da proteinúria de 24 horas dos 32 ratos onde se realizou este exame.....                         | 127        |

|                   |                                                                                        |     |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabela 16:</b> | Valores da albuminemia dos 32 ratos onde se realizou este exame.....                   | 129 |
| <b>Tabela 17:</b> | Valores da colesterolemia dos 32 ratos onde se realizou este exame.....                | 131 |
| <b>Tabela 18:</b> | Valores da trigliceridemia dos 32 ratos onde se realizou este exame.....               | 133 |
| <b>Tabela 19:</b> | Valores da fração de excreção de sódio dos 32 ratos onde se realizou este exame.....   | 135 |
| <b>Tabela 20:</b> | Valores da fração de excreção de fósforo dos 32 ratos onde se realizou este exame..... | 137 |

|                                                                                                                                       | <b>PÁG</b> |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>Figura 1:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana do peso.....                                                              | 59         |
| <b>Figura 2:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana do volume urinário.....                                                   | 63         |
| <b>Figura 3:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana da proteinúria.....                                                       | 65         |
| <b>Figura 4:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana da proteinemia.....                                                       | 66         |
| <b>Figura 5:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana da albuminemia.....                                                       | 69         |
| <b>Figura 6:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana de colesterolemia e<br>Trigliceridemia.....                               | 72         |
| <b>Figura 7:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana de clearance de creatinina..                                              | 73         |
| <b>Figura 8:</b> Gráfico da evolução dos valores da mediana da fração de excreção de<br>sódio e da fração de excreção de fósforo..... | 74         |



## ***RESUMO***

Síndrome nefrótica (SN) é caracterizada por um conjunto de manifestações clínico-laboratoriais incluindo edema, proteinúria intensa, hipoproteïnemia, hiperlipidemia e lipidúria. As anormalidades metabólicas que acompanham a SN são responsáveis por muito da morbidade e mortalidade desta condição. Considerando-se as dificuldades em estudos clínicos, vários modelos de SN experimental têm sido desenvolvidos, a maioria utilizando a Puromicina e a Adriamicina.

A finalidade do presente estudo foi obter um modelo de SN de instalação aguda, utilizando-se infusão única endovenosa de Puromicina em ratos com uninefrectomia.

Foram utilizados 64 ratos machos, Wistar, com 6 a 8 semanas de idade, peso médio de 230,8 gramas, divididos em 4 grupos:

SS- Grupo onde se realizou cirurgia simulada e se infundiu salina

SP- Grupo onde se realizou cirurgia simulada e se infundiu puromicina

NS- Grupo onde se realizou nefrectomia a direita e se infundiu salina

NP- Grupo onde se realizou nefrectomia a direita e se infundiu puromicina

A Puromicina foi utilizada em dose única de 7,5 mg/ 100 g de peso do animal, realizada uma semana após a nefrectomia. Os animais foram seguidos por 12 semanas.

Os resultados foram apresentados tendo em conta os dados de todos os animais ao longo do tempo e, em determinados momentos, comparando-se: animais com e sem nefrectomia e animais com e sem puromicina. Pode-se observar que quanto ao:

1) PESO: a nefrectomia e a infusão de puromicina associadamente tiveram efeito adverso potencializado sobre o ganho de peso dos animais. Fatores como o próprio procedimento cirúrgico, efeito antimetabólico da puromicina e as repercussões metabólicas que ocorrem na síndrome nefrótica devem ser responsáveis por este resultado.

2) DIURESE: animais SP e NP apresentaram diminuição significativa no volume de diurese coincidente com o período onde a proteinúria foi significativamente elevada. A nefrectomia não levou a redução da diurese.

3) PROTEINÚRIA: animais SP e NP apresentaram elevação da proteinúria a partir da semana 4, com pico na semana 5 e queda a partir da semana 6. Não houve diferença significativa entre os grupos NP e SP embora a mediana da proteinúria no grupo NP seja maior que a do grupo SP.

4) PROTEÍNA SÉRICA TOTAL: durante a semana 5 houve queda significativa da proteinemia nos grupos NP e SP, sem diferença significativa em função da uninefrectomia.

5) ALBUMINEMIA: houve diminuição significativa da albuminemia nos grupos NP e SP, sem diferença significativa em função da uninefrectomia.

6) COLESTEROL E TRIGLICÉRIDES: os grupos SP e NP apresentaram elevação significativa nos valores de colesterol e triglicérides na semana 5. Esta elevação foi rápida, coincidente com o pico da hipoalbuminemia, e normalizou-se na semana seguinte.

7) CLEARANCE DE CREATININA, FRAÇÃO DE EXCREÇÃO DE SÓDIO E DE FÓSFORO: não houve diferença significativa nestes parâmetros nos diferentes subgrupos sugerindo que não houve repercussão hemodinâmica da hipoalbuminemia.

8) ANÁLISE HISTOLÓGICA: a microscopia óptica mostrou alterações tubulares degenerativas, sem alterações glomerulares.

Este modelo de síndrome nefrótica mostrou-se útil para estudos dos efeitos da proteinúria e hipoalbuminemia em situações sem alterações hemodinâmicas.



## ***1. INTRODUÇÃO***



## 1.1. DEFINIÇÃO:

A Síndrome Nefrótica (SN) é caracterizada por proteinúria ( $\geq 50$  mg/Kg/dia ou  $40$  mg/hora/m<sup>2</sup>), hipoalbuminemia ( $\leq 2,5$  g%) e edema (DAVISON et al., 1998; TOPOROVSKI et al., 1991).

A proteinúria ocorre por aumento da permeabilidade do capilar glomerular às proteínas plasmáticas que é a anormalidade primária inicial.

## 1.2. CLASSIFICAÇÃO HISTOPATOLÓGICA:

Em crianças com síndrome nefrótica o padrão histopatológico mais freqüente é o de Lesões Mínimas (LM). À microscopia óptica os glomérulos são normais, as paredes dos capilares glomerulares são finas e não há proliferação celular. Na microscopia eletrônica há fusão dos pedicelos difusamente. A membrana basal glomerular (MBG) apresenta estrutura e espessura normais (DANTAS & COSTA, 1999; DAVISON et al., 1998; HABIB et al., 1971).

Outra alteração histopatológica encontrada em crianças com síndrome nefrótica é a Proliferação Mesangial Difusa onde não há alterações das paredes dos capilares glomerulares nem depósitos extramembranosos, mas fusão dos pedicelos dos podócitos e aumento da matriz mesangial associado com hiper celularidade. A proliferação mesangial difusa pode ou não progredir, ou ser associada, na evolução, com glomeruloesclerose segmentar e focal (DAVISON et al., 1998).

Glomeruloesclerose segmentar e focal (GEFS) é a lesão histológica encontrada em 7 a 15% das crianças nefróticas. À microscopia óptica as lesões acometem uma minoria dos glomérulos, sendo que, nos segmentos escleróticos existe colapso das membranas basais, aumento da matriz mesangial e depósitos hialinos (hialinose), muitas vezes com gotículas lipídicas. À microscopia eletrônica encontra-se perda difusa dos pedicelos nas áreas não escleróticas e, nas áreas escleróticas encontram-se depósitos de material amorfo eletrodenso e grânulos lipídicos. À imunofluorescência, IgM e C3 estão presentes dentro

dos depósitos hialinos nas áreas escleróticas. Além da esclerose focal, muitas vezes existe espessamento das arteríolas aferentes, existindo ocasionalmente glomérulos completamente esclerosados (esclerose global) (DAVISON et al., 1998; HOWIE, 1993; TOPOROVSKI et al., 1991).

### **1.3. EPIDEMIOLOGIA:**

É estimado que 2 a 6 casos novos de Síndrome Nefrótica sejam diagnosticados anualmente, por 100.000 crianças abaixo de 16 anos (DAVISON et al., 1998; TOPOROVSKI et al., 1991).

Em geral, a SN por Lesões Mínimas tem início entre os dois e seis anos de idade, com maior prevalência no sexo masculino. Entre irmãos, a incidência é 1.000 vezes maior do que na população em geral, não estando bem claro se o fator desencadeante é genético ou ambiental. Quanto à influência racial, apesar de não comprovado, vários autores sugerem ser mais freqüente em brancos e amarelos (DAVISON et al., 1998; TOPOROVSKI et al., 1991).

Na infância, 90% dos casos de SN são primários, portanto sem causa definida, enquanto que no adulto, geralmente, o processo é secundário a patologias não correlacionadas ao aparelho urinário (TOPOROVSKI et al., 1991).

### **1.4. ETIOPATOGENIA:**

Aceita-se que a síndrome nefrótica idiopática tem base imunológica.

Vários aspectos apontam neste sentido:

- associação a infecções respiratórias e imunizações profiláticas; resposta ao tratamento com corticosteróides e imunossuppressores; associação a distúrbios atópicos como eczemas e rinite; maior prevalência de HLA-B12, HLA-B8 ou HLA-DRw7 em pacientes com lesões mínimas; associação à atopia (sugerindo uma predisposição genética); maior freqüência de lesões mínimas em pacientes com Doença de Hodgkin, nos quais são bem reconhecidos os defeitos na imunidade mediada pela célula T; relatos de elaboração de

substâncias com atividade semelhante a linfocinas pelos linfócitos de pacientes com lesões mínimas (BRENNER & STEIN, 1982; DANTAS & COSTA, 1999; DAVISON et al., 1998).

Os dados acima sugerem que na Síndrome Nefrótica Idiopática possa haver disfunção da célula T, resultando na elaboração de substâncias circulantes tipo citocinas, que poderiam neutralizar os sítios de eletronegatividade da membrana basal glomerular (WASHIZAWA et al., 1993). Essa redução da carga negativa poderia levar a dois efeitos:

- aumento da filtração de poliânions, principalmente albumina, resultando em proteinúria
- alterações no prolongamento das células epiteliais, levando ao desaparecimento dos pedicelos.

## **1.5. FISIOPATOLOGIA:**

Muitas das manifestações metabólicas da SN surgem como resultado do aumento da permeabilidade glomerular às proteínas plasmáticas.

As principais alterações metabólicas que ocorrem na SN são:

### **1.5.1. Hipoalbuminemia**

Na gênese da hipoalbuminemia distinguem-se a perda urinária e o aumento do catabolismo intratubular de albumina (DAVISON et al., 1998; ROSENMAN et al., 1956).

A hipoalbuminemia é responsável por várias das manifestações clínicas e laboratoriais da síndrome que incluem:

### **-Edema:**

A formação do edema na SN tem sido motivo de grande número de estudos, que com grande frequência mostram resultados não concordantes. Enquanto que a teoria clássica sugere que a hipoalbuminemia e a pressão oncótica diminuída permitem que o fluido intravascular saia para o compartimento intersticial, levando a hipovolemia e estimulando o sistema renina angiotensina aldosterona, com aumento da reabsorção tubular distal de sódio, teorias mais recentes sugerem que a retenção de sódio e, portanto, a formação de edema dependa de fatores intra renais (DORHOUT et al., 1984; DORHOUT et al., 1979; METCOFF & JANEWAY, 1961). Muitos estudos sugerem que ambos os mecanismos estejam presentes em momentos diversos da fase de retenção de sódio (BELANGERO, 1989; BRENNER & STEIN, 1982; DORHOUT et al., 1984, DORHOUT et al., 1979).

### **-Hiperlipidemia:**

A hiperlipidemia é outra alteração metabólica frequentemente encontrada. Sua etiologia é controversa sendo sugerido que ocorra devido a estímulo secundário àquele que leva ao aumento da produção hepática de albumina ou por defeitos no catabolismo das lipoproteínas (AGBEDANA et al., 1993; GOLDBERG et al., 1982; GUTMAN & SHAFRIR, 1963; MARSH & SPARKS, 1979; MARSH & DRABKIN, 1960). A albumina e as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) compartilham no hepatócito a mesma via de síntese. Assim, ao mesmo tempo que o organismo tenta repor as perdas protéicas urinárias, elevam-se as VLDL, participando sem finalidade, do mecanismo homeostático protéico (FURUKAWA et al., 1990). Por outro lado há sugestões que o aumento dos lipídeos plasmáticos decorreria de uma diminuição de sua remoção e incremento da mobilização das gorduras dos depósitos (BRENNER & STEIN, 1982; MORIN et al., 1977).

A lipidúria estaria relacionada mais à proteinúria que a hiperlipidemia. Resultaria provavelmente do aumento da permeabilidade da MBG às moléculas de baixo peso molecular. As lipoproteínas de alta densidade (HDL) filtradas em maior quantidade seriam reabsorvidas pelo túbulo proximal e após sofrerem processo catabólico retornariam à luz tubular e na urina sob a forma de gordura livre, corpos gordurosas ovais ou em células degeneradas repletas de gordura (SESTAK et al., 1989).

A literatura sobre os efeitos patológicos da hiperlipidemia na infância é controversa. Estudos prospectivos longos não existem e os relatos de aumento da incidência de doença cardíaca são mais frequentes em pacientes adultos ou como relatos de caso, em crianças (CAMERON et al., 1979). Estudos recentes tem avaliado o tratamento da hiperlipidemia na SN (HIRANO & MOROHOSHI, 1992; HIRANO et al., 1991, HIRANO et al., 1990).

#### **-Hipovolemia e insuficiência renal aguda:**

A possibilidade de ocorrer hipovolemia com repercussões graves como a insuficiência renal aguda não é rara em SN (BRENNER & STEIN, 1982).

A hipoalbuminemia leva à diminuição generalizada da pressão oncótica efetiva do sangue. Embora as concentrações de certas proteínas plasmáticas sejam aumentadas, como  $\alpha_2$  e  $\beta$  globulinas, estas proteínas têm grande peso molecular e, assim, não restauram efetivamente a pressão oncótica plasmática, que pode levar inclusive a diminuição da perfusão tecidual com sinais e sintomas relativos a este distúrbio. Outra consequência da diminuição do volume sanguíneo efetivo é a hemoconcentração, que se expressa com aumento do hematócrito e da viscosidade sangüínea, que pode ser um fator favorecedor do aparecimento de complicações trombóticas na SN. Assim hipoperfusão renal prolongada ou crítica pode levar a necrose tubular aguda (NTA) e insuficiência renal aguda. Obstrução tubular por proteínas pode ser um fator adicional (ESPARZA et al. 1981; IMBASCIATI et al. 1981) (DAVISON et al., 1998). Em presença de insuficiência renal aguda (IRA), trombose de veia renal e nefrite intersticial secundária à terapia diurética devem ser consideradas no diagnóstico diferencial (BRENNER & STEIN, 1982; DAVISON et al., 1998).

#### **-Conseqüências farmacológicas:**

Considerando-se que a albumina é a proteína mais utilizada como transportadora de drogas ácidas (drogas básicas são ligadas a uma variedade de proteínas plasmáticas tal como lipoproteínas,  $\alpha_1$  glicoproteínas ácidas e  $\beta$  globulinas), com a hipoalbuminemia, níveis elevados de droga livre podem ocorrer (RADDE, 1993; MEISMAN et al., 1994). Isto poderá aumentar o potencial de toxicidade da droga, além de diminuir a eficácia daquelas que necessitam da ligação protéica para chegarem ao seu sítio de ação.

### **1.5.2. Alterações nas imunoglobulinas**

São descritos níveis diminuídos de imunoglobulinas (Ig) G séricas em nefróticos. Os mecanismos responsáveis incluem a perda urinária de Ig G e modificações primárias e secundárias da síntese e catabolismo. O nível reduzido de Ig G sérica nestes pacientes é importante, diminuindo a resistência do paciente e pode ser, em parte, responsável pela alta incidência de infecção nesta síndrome (BRENNER & STEIN, 1982; FUJIMURA, 1990; MISHRA, 1997).

Outras imunoglobinas são menos estudadas: há descrição de diminuição de Ig A, aumento de Ig M e Ig E (BRENNER & STEIN, 1982).

### **1.5.3. Deficiência de oligoelementos, vitaminas e carreadores protéicos**

#### **-Deficiência de oligoelementos:**

Vários autores reportaram níveis diminuídos de cobre e ferro séricos em nefróticos (BRENNER & STEIN, 1982; CARTWRIGHT, 1954). Isto foi associado com aumento na excreção destes metais ligados à proteínas. Desde que o cobre no plasma é ligado quase inteiramente a ceruloplasmina, a qual tem um peso molecular de 151.000, e o ferro é similarmente ligado a transferrina, com peso molecular de 80.000, parece razoável propor que a perda urinária destas duas proteínas carreadoras seja responsável pelo baixo nível sangüíneo, destes metais (ALFREY & HAMMOND, 1990; DAVISON et al., 1998).

O metabolismo do zinco também tem sido estudado, encontrando-se nível plasmático reduzido deste metal, embora a perda urinária possa estar aumentada (em estudos experimentais), ou normal (em seres humanos) (BRENNER & STEIN, 1982). Desde que 2/3 do zinco no plasma é normalmente ligado a albumina, este é presumivelmente perdido na urina em SN, resultando hipozincemia. O achado de baixos níveis de zinco em cabelos de nefróticos, mesmo persistentes por muitos meses após a remissão, e com níveis plasmáticos normais deste metal, sugere que possa existir um distúrbio mais profundo no seu metabolismo e que outros estudos sejam necessários para estabelecer a base para esta anormalidade e para determinar a necessidade de reposição de zinco (BRENNER & STEIN, 1982).

### **-Alteração no metabolismo dos hormônios:**

A síndrome nefrótica pode determinar perdas urinárias de hormônios e pró-hormônios ligados às proteínas transportadoras afetando seus mecanismos normais de metabolismo, regulação e produção (BRENNER & STEIN, 1982; DAVISON et al., 1998).

Perda urinária de globulinas carreadoras de tiroxina (TBG), globulinas ligadoras de corticosteróides (CBG) e globulinas ligadoras de vitamina D têm sido descritas em SN, embora existam poucos dados sobre este assunto (AFRASIABIET et al., 1979; GAVIN et al., 1978; RASCHER et al., 1986) .

Dados mais recentes tem salientado o papel do hormônio de crescimento (GH) e dos fatores de crescimento insulina-símile (IGFs) na SN. Resultados em estudos experimentais em ratos com síndrome nefrótica e em seres humanos têm sido semelhantes demonstrando aumento da excreção urinária de IGF 1, IGF 2 e níveis séricos diminuídos destas substâncias (GARIN et al., 1989). Quanto aos fatores de crescimento insulina-símile (IGFs) BPs foi observado aumento de IGF B P 2 e diminuição de IGF BP 3. A repercussão destes achados nos distúrbios de crescimento que ocorrem na síndrome nefrótica da infância são bastante controversos visto que outros fatores significativos, como a corticoterapia, repercutem também no distúrbio de crescimento (DAVISON et al., 1998).

### **-Anormalidades do cálcio e do metabolismo da vitamina D:**

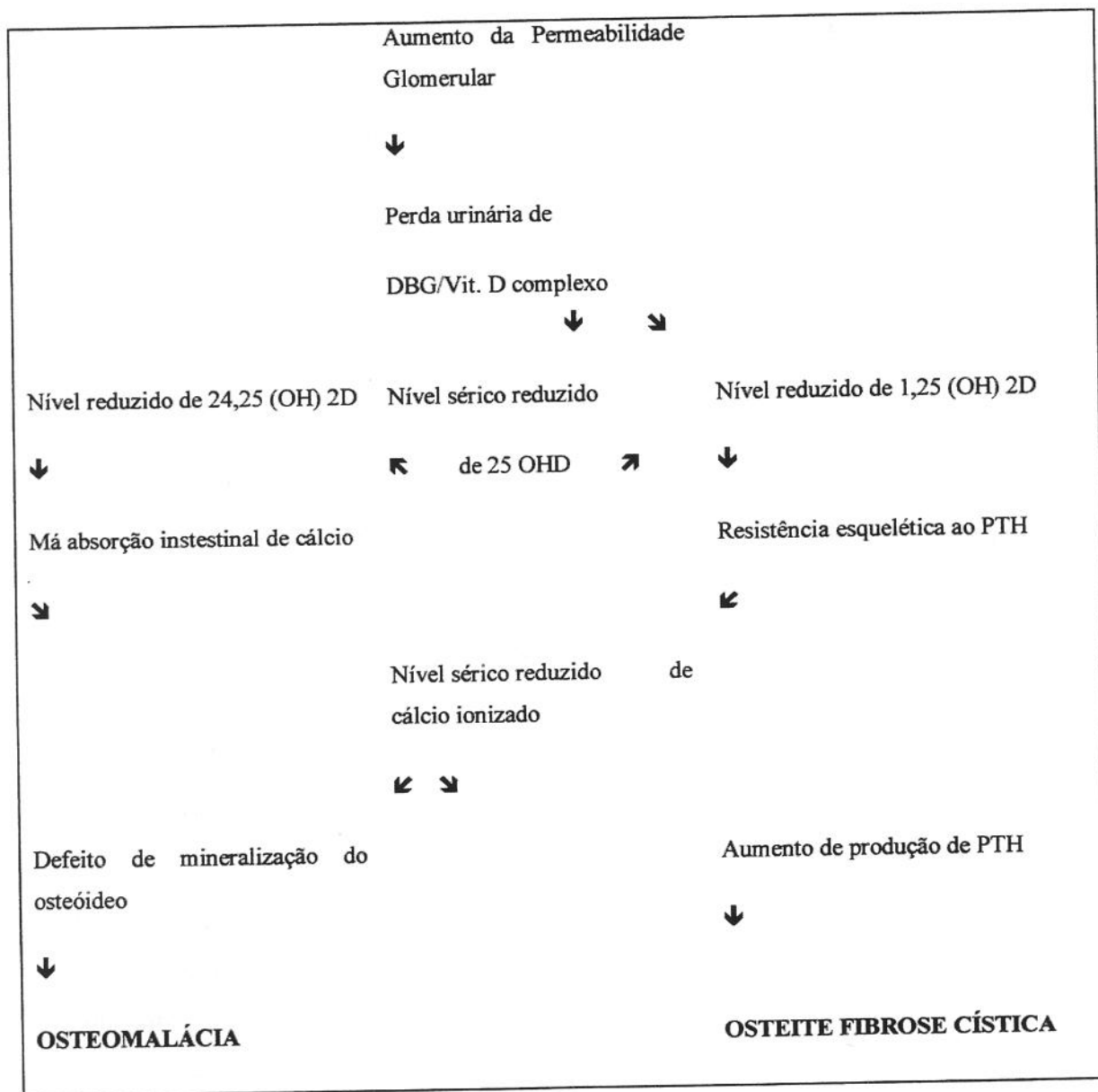
Na SN o metabolismo do cálcio é marcadamente anormal. Bioquimicamente, hipocalcemia, hipocalciúria e nível reduzido de vitamina D ocorrem. A absorção intestinal de cálcio é diminuída, a resposta calcêmica ao hormônio paratireóide (PTH) é bloqueada, e há algumas evidências de osteomalácia e hiperparatireoidismo secundário (BRENNER & STEIN, 1982).

Recentemente, mostrou-se que estas alterações são devidas a deficiência de vitamina D. A vitamina D e seus metabólitos circulam no plasma ligados a globulinas de peso molecular 65.000 (vitamina D globulina ligadora, DBG). Desde que uma proteína deste peso molecular pode ser perdida em urina na SN, perda urinária de complexo DBG/VITD parece uma boa explicação para o desenvolvimento da deficiência de vitamina D (DAVISON et al., 1998). A corticoterapia prolongada tem efeito potencializador, elevando a calciúria e diminuindo a deposição de cálcio no osso.

A deficiência de vitamina D leva a anormalidades que são de grande importância ainda mais se é acrescida de falência renal (KORKOR et al., 1983; TESSITORE et al., 1984).

### Quadro 1

#### Patogênese do defeito do metabolismo de cálcio e vitamina D na SN



#### **1.5.4. Desnutrição**

As perdas protéicas nas crianças com síndrome nefrótica córtico-sensíveis são moderadas ou intensas, porém transitórias, não comprometendo seu crescimento. Já as crianças com síndrome nefrótica córtico-resistente, que apresentam perdas constantes e maciças de proteínas, poderão desenvolver desnutrição protéica-calórica, tanto por perdas protéicas quanto por fatores associados a doença de base como infecções de repetição, perda de apetite, edema intratável, diarreia e fatores emocionais (DAVISON et al., 1998). A diminuição da absorção intestinal de nutrientes é ainda questionável (DUARTE et al, 1987; JENSEN et al., 1966). Os efeitos adversos da má nutrição protéica calórica podem ser refletidos no mau desenvolvimento pôndero estatural, além da susceptibilidade aumentada a infecção (DAVISON et al., 1998).

#### **1.5.5. Lesão tubular**

Dados sobre acometimento tubular proximal têm sido descritos em alguns pacientes com SN na ausência de qualquer doença conhecida que afete o túbulo renal. O mecanismo para estas alterações têm sido relacionado à lesão da célula tubular epitelial, conseqüente à reabsorção exagerada de proteínas filtradas. As manifestações mais comuns são glicosúria e aminoacidúria generalizadas (BRENNER & STEIN, 1982).

Vários estudos têm sugerido que a disfunção tubular renal na SN tem valor diagnóstico e prognóstico. Um estudo mostrou a presença de glicosúria e acidose hiperclorêmica como indicativa de trombose de veia renal (BRENNER & STEIN, 1982).

A presença de glicosúria ou elevação da  $\beta$  2- microglobulinúria podem auxiliar na diferenciação de crianças com glomeruloesclerose segmentar e focal daquelas com lesões mínimas (PORTMAN et al., 1986).

### **1.5.6. Suscetibilidade aumentada à infecção**

Antes do advento dos antibióticos e corticosteróides, a infecção era a principal causa de óbito em SN. Os organismos implicados mais freqüentemente eram germes encapsulados como o *S. pneumoniae*, *Klebsiella* sp, *H. influenza* e *E. coli*. Quanto à localização, infecções de pulmão, tecido celular subcutâneo, peritônio eram particularmente comuns (TONELLI, 1994; TOPOROVSKI et al., 1991). Atualmente a incidência de infecção fatal é muito reduzida, devido a ambos, uso de antibióticos efetivos e resposta à terapêutica com corticóide. Os antibióticos representaram o maior avanço no tratamento da síndrome nefrótica reduzindo a mortalidade em mais de 50% (DAVISON et al., 1998).

Os fatores associados ao risco aumentado de infecção são relacionados à deficiência da imunidade humoral e celular, à perda do fator B através da urina (crucial na via alternativa do sistema de complemento), com prejuízo da opsonização de organismos encapsulados (FUJIMURA, 1980; MISHRA et al., 1997), além do uso frequente de imunossupressores, da desnutrição, de fatores clínicos como edema e ascite (BELANGERO et al., 2000).

### **1.5.7. Fenômenos tromboembólicos**

Uma associação entre SN e trombose de veia renal, assim como de outros fenômenos tromboembólicos, têm sido conhecida por muitos anos. Os estudos indicam uma incidência de trombose de veia renal que varia entre 5 a 54% em adultos (BRENNER & STEIN, 1982; CADE et al., 1977). A maioria destes pacientes são assintomáticos e o diagnóstico é freqüentemente perdido. A presença de estado de hipercoagulabilidade no paciente nefrótico tem sido descrito por vários investigadores, entretanto, nenhuma correlação clínica entre tal estado e o desenvolvimento de complicações tromboembólicas têm sido feita (ROSTOKER et al., 1995). A presença de hipercoagulabilidade pode estar associada a baixos níveis de fatores zimogênicos; ao grande aumento de co-fatores (fator V e VIII); aos níveis elevados de fibrinogênio plasmático; à diminuição no nível de antitrombina III, pela trombocitose; por aumento da agregação plaquetária e aumento nos níveis de  $\beta$  tromboglobulinas (BRENNER & STEIN, 1992). Fatores associados à trombofilia parecem estar envolvidos também (FABRI et al., 1998).

Considerando-se as dificuldades em estudos clínicos, vários modelos de SN experimental têm sido desenvolvidos, com a finalidade de maior esclarecimento da fisiopatologia da doença e possível aplicação no controle clínico dos pacientes. Dentre os meios utilizados para se desenvolver SN em animais de laboratório, a **Puromicina** e a **Adriamicina** são as drogas mais comumente utilizadas.

A **Puromicina** foi a primeira droga utilizada em modelos experimentais de síndrome nefrótica.

Puromicina é o nome genérico da acromicina descrita em 1952 (HOYER et al., 1975; HOYER et al., 1976; MYNDERSE et al., 1983) , obtida de uma espécie de actomiceto denominado *streptomyces alboniges*, capaz de agir não somente contra certas bactérias, mas também contra algumas espécies de protozoários (*Trypanosomas*). É um aminonucleosídeo (6-Dimethylomino-9 3' deoxyriboxi purina), aparentemente inibidor da síntese protéica por ligar-se ao grupo amino do aminoácido peptidil t - RNA, produzindo, desse modo, a liberação precoce da cadeia polipeptídica antes dela se completar. A semelhança de sua estrutura com a porção terminal do RNA seria a explicação para tal efeito.

Inicialmente esta droga foi introduzida como agente antineoplásico e, posteriormente, descobriu-se que ela induzia síndrome nefrótica em ratos e, desde então, passou a ser usada em modelos experimentais de SN (BOHRER et al., 1977; ANDREWS, 1977; AVASTHI & ALBUQUERQUE, 1979; CAUFIELD & FARQUHAR, 1978).

Vários mecanismos parecem estar envolvidos na gênese da SN desencadeada pela puromicina. É observado aumento da permeabilidade da membrana basal, cujo mecanismo exato não é conhecido mas acredita-se que seja por redução da sua síntese (MYNDERSE et al., 1983). Histologicamente, ocorre a perda de pedicelos por provável alteração do metabolismo do podócito (ANDREWS, 1977). A maioria dos autores concorda que a proteinúria é secundária às alterações dos podócitos; outros, entretanto, propõem que as alterações das células epiteliais e dos podócitos e a formação de grandes vacúolos promovem uma via para que moléculas protéicas alcancem o espaço urinário (ABE et al., 1988; MIMURA et al., 1996; RYAN & KARNOVSKY, 1975).

ICHIKAWA et al., 1983, fazendo perfusão de rim isolado com puromicina, demonstraram que a albuminúria nesta doença é uma consequência de mecanismos intra-renais e não secundária a fatores sistêmicos circulantes. Dependendo da dose e esquema preconizado, o tecido renal de ratos tratados com puromicina e sacrificados seriadamente durante o desenvolvimento da SN, não mostram anormalidades quando examinados à microscopia óptica. À microscopia eletrônica, as alterações iniciais compreendem: perda dos pedicelos; presença de grânulos por absorção de proteína; separação ou destacamento das células epiteliais da MBG; atenuação citoplasmática pela formação de vacuolos e aumento da matriz e das células mesangiais (HIRANO & MOROHOSHI, 1992; SEEFELDT et al., 1981; OLSON et al., 1981).

A presença de microvilos, grânulos de reabsorção e a obliteração dos podócitos têm sido atribuídos ao aumento da concentração de proteínas no ultrafiltrado. O destacamento da célula epitelial da MBG pode ser secundária à perda de um ou mais componentes dos poliânions glomerulares (GLASSER et al., 1977; VELOSA et al., 1977; VENKATACHALAM et al., 1970).

Assim, os modelos que utilizam a puromicina produzem quadro de SN que se assemelham, dependendo da dose utilizada, a SN por lesões mínimas ou a esclerose focal. Desta forma, constituem modelos potencialmente úteis para serem utilizados no esclarecimento de diversos problemas que freqüentemente são vistos na prática médica.

Em 1979 um novo modelo experimental de doença renal foi reportado utilizando-se **Adriamicina** (Adriablastine, Laboratoire Roger Bellon, Nevilly sur Seine, France). Esta droga foi inicialmente utilizada como agente quimioterápico para câncer com eficácia comprovada em leucemias agudas, linfomas e alguns tumores sólidos. Ela apresentava como único inconveniente a cardiotoxicidade até que em 1979 foi aventada a suspeita de sua nefrotoxicidade (POGGI et al., 1979). Em 1982, BERTANI et al., descreveram a sequência de eventos patológicos da síndrome nefrótica induzida por adriamicina sendo as alterações morfológicas e a proteinúria consequência de um evento primário comum que era a perda de cargas negativas da MBG. Em 1983, WEENING & RENNKE concluíram que a proteinúria induzida pela adriamicina era devida a um efeito da droga na função de seletividade da MBG. Estes autores demonstraram o caráter crônico da

proteinúria induzida por esta droga, diferentemente do modelo com puromicina que, para indução de nefrose crônica, necessitava de injeções subsequentes da droga (GROND et al., 1984).

Considerando que os dados sobre a Puromicina são melhor estabelecidos na literatura e que a finalidade do estudo era obter um modelo agudo e com toxicidade específica renal, optou-se pelo uso da **Puromicina**.





## ***2. OBJETIVOS***



Descrever os efeitos da infusão única de puromicina sobre o ganho ponderal e avaliações laboratoriais em ratos com nefrectomia unilateral.





### ***3. MATERIAL E MÉTODOS***



### 3.1. MATERIAL

Foram utilizados 64 ratos Wistar machos, com 6 a 8 semanas de idade, pesando de 181 a 277 gramas, média de 230,8 gramas, provenientes do Biotério Central da UNICAMP.

Os animais eram trazidos ao Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da UNICAMP, onde eram mantidos em gaiola comum com ração e água a livre demanda por 1 semana, para adaptação ambiental.

Delineamento Global e Definição de Grupos:

Foram utilizados 64 animais divididos em 4 grupos assim definidos:

|          |                                             |                                                |
|----------|---------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Grupo SS | Grupo controle                              | Cirurgia simulada + infusão de salina          |
| Grupo SP | Grupo Controle com puromicina               | Cirurgia simulada + infusão puromicina         |
| Grupo NS | Grupo Nefrectomia Unilateral                | Nefrectomia Unilateral + infusão salina        |
| Grupo NP | Grupo Nefrectomia Unilateral com puromicina | Nefrectomia Unilateral + infusão de puromicina |

Tendo em vista a necessidade de grande volume sanguíneo para realizar os exames laboratoriais propostos, o estudo foi realizado em 2 etapas. Em cada uma os animais eram acompanhados por 12 semanas. Os 32 animais de cada etapa foram comparados na semana inicial não sendo encontradas diferenças estatisticamente significativas.

Na primeira etapa, metade dos animais (32, sendo 8 de cada subgrupo acima definidos) foram estudados em relação ao:

- Peso
- Diurese de 24 horas
- Clearance de creatinina
- Excreção urinária de sódio (Na) em 24 horas
- Dosagem de sódio sérico

Na segunda etapa a outra metade dos animais, com a mesma distribuição entre os grupos e mesmas etapas anteriores, foi estudada segundo os seguintes parâmetros:

- Peso
- Diurese 24 horas
- Clearance de Creatinina
- Dosagem de fósforo sérico
- Excreção urinária de fósforo em 24 horas
- Dosagem de proteínas totais séricas
- Dosagem de proteinúria de 24 horas
- Dosagem de albumina sérica
- Dosagem sérica de colesterol e de triglicerídes

#### **Descrição de protocolo:**

No dia zero (D0), da semana 1, os ratos eram colocados em gaiola metabólica, recebendo apenas água, para coleta de urina de 24 horas. No dia seguinte (D1), era anotado o volume de urina coletado, e guardada uma alíquota. Os ratos eram pesados e o sangue coletado (Peso 1, sangue e urina 1).

No D7 (semana 2) os animais tinham a ingestão sólida suspensa às 8:00 horas e, 2 horas após, realizava-se nefrectomia à direita nos grupos NS e NP e cirurgia simulada nos grupos SS e SP. Nos dias D14 e D15 (semana 3) eram realizados os mesmos procedimentos dos dias D0 e D1 respectivamente (Peso 2, sangue e urina 2) e, no dia seguinte (D 15) era feita a infusão endovenosa de puromicina (7,5 mg/100 mg peso do animal) nos grupos SP e NP e o mesmo volume de solução fisiológica nos grupos SS e NS. Repetia-se os procedimentos dos dias D0-D1 respectivamente nos seguintes dias: D21-22 (semana 4), D28-29 (semana 5), D35-36 (semana 6), D49-50 (semana 8), D63-64 (semana 10) ,D77-78 (semana 12). (respectivamente peso, sangue e urina 3,4,5,6,7,8).

### Diagrama do estudo:

|                   |     |                                      |    |                                  |       |       |       |       |       |       |
|-------------------|-----|--------------------------------------|----|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| DIA               | 0-1 | 7                                    | 14 | 15                               | 21-22 | 28-29 | 35-36 | 49-50 | 63-64 | 77-78 |
| SEMANA            | 1   | 2                                    | 3  | 3                                | 4     | 5     | 6     | 8     | 10    | 12    |
| PESO              | 1   |                                      | 2  |                                  | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     |
| SANGUE<br>E URINA |     |                                      | 2  |                                  | 3     | 4     | 5     | 6     | 7     | 8     |
| PROCED<br>I-MENTO |     | NEFRECTOMIA/<br>CIRURGIA<br>SIMULADA |    | PUROMICINA/<br>SOLUÇÃO<br>SALINA |       |       |       |       |       |       |

## 3.2. MÉTODOS

### 3.2.1. Peso corpóreo

Os animais eram pesados, nos tempos pré-determinados, em balança Filizola, model L, com capacidade de 2.000 gramas, sensibilidade 0,1 g, após a balança ser equilibrada por trinta minutos.

### 3.2.2. Coleta de urina de 24 horas

Os ratos eram colocados em gaiola metabólica individual, recebendo apenas água e a urina era coletada colocando-se uma proveta de vidro graduada embaixo do funil da gaiola metabólica. Após 24 horas, o volume coletado era anotado, a urina agitada para homogeneização e uma alíquota de 2 ml era guardada em flaconete e congelada em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ .

### **3.2.3. Coleta de sangue**

Os ratos eram colocados individualmente em uma caixa aquecedora que continha dois compartimentos (um para o animal e outro para uma fonte de luz). Após 10 minutos de aquecimento os ratos eram imobilizados em um compartimento plástico perfurado que expunha apenas a cauda, a qual era cortada e o sangue ordenhado levemente até que se conseguisse em torno de 1,5 ml de sangue total. Após a centrifugação o soro era guardado em flaconete o qual era congelado. A cauda era limpa com álcool iodado e fazia-se a homeostasia com fio de algodão 3.0. A última coleta era realizada por punção cardíaca após o sacrifício do animal.

### **3.2.4. Preparo da solução de puromicina**

A puromicina (aminonucleoside puromicina - Sigma Chemical Company, St Louis - Missouri), na forma de pó, era conservada em geladeira a temperatura de + 4°C. No dia da infusão era calculada a dose total que seria usada (7,5 mg/100 g de peso para cada rato). A dose referente ao número total de animais para cada experimento era pesada em balança semianalítica Meltler H 54AR e diluída em solução salina na proporção de 1 ml de solução para cada 40 mg de puromicina.

### **3.2.5. Infusão endovenosa**

A puromicina previamente preparada era infundida lentamente em veia da cauda através de butterfly no. 27 nos grupos SP e NP. A solução salina era infundida da mesma forma, em volume proporcional ao utilizado para a puromicina, nos grupos SS e NS ( 0,1875 ml/ 100 g peso animal).

### **3.2.6. Nefrectomia e cirurgia simulada**

Após jejum de refeição sólida de 2 horas os animais eram anestesiados com éter etílico inalatório em campânula. O animal era colocado em decúbito lateral esquerdo e, após tricotomia da região lombar direita, realizava-se anti-sepsia com álcool iodado. Era feita incisão de 1,5 a 2,0 cm de extensão, em sentido transversal, logo abaixo do último rebordo costal, a partir do final da musculatura paravertebral, compreendendo pele e subcutâneo e, a seguir, parede muscular, chegando-se a loja renal. O rim era exposto, desencapsulado e identificado o hilo, o qual era amarrado com fio de algodão 2.0. O rim era retirado, a fascia muscular era aproximada e a pele e tecido celular subcutâneo suturados em planos separados por sutura não contínua. Na cirurgia simulada os passos foram idênticos até a exposição da loja renal. Neste ponto, o rim era somente identificado e se iniciava o fechamento da parede da mesma forma.

### **3.2.7. Sacrifício do animal**

Após 12 semanas de seguimento os animais eram sacrificados, ficando em campânula com éter etílico até apresentar parada respiratória. Era então feita incisão tóraco-abdominal mediana, com visualização cardíaca e coleta de sangue. Os rins eram também retirados para análise histológica.

### **3.2.8. Conservação e preparo dos rins**

Os rins obtidos na nefrectomia inicial e final eram conservados por 24 horas em formol e, a seguir, em álcool a 70° até que as lâminas fossem preparadas com coloração para hematoxilina eosina.

### **3.2.9. Métodos Laboratoriais**

Os seguintes exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Investigações Pediátricas do Hospital das Clínicas da UNICAMP, de acordo com as seguintes técnicas:

#### **1. Dosagem de creatinina**

- 1.1. Sérica: Medida pelo método do picrato alcalino, com desproteinização, segundo reação de Jaffé, com leitura em espectofotômetro Carl Zeiss, modelo PML. Os resultados foram definidos em mg%, tendo controle com humantrol (média 0,82).
- 1.2. Urinária: mesmo método, porém com diluição prévia 1:10 com água destilada.
- 1.3. Clearance de creatinina: calculado a partir das variáveis acima descritas seguindo a fórmula  $\text{Clearance creatinina} = \frac{\text{creatinina urinária}}{\text{creatinina sérica}} \times \frac{\text{volume (ml)}}{1440 \text{ minutos}}$ . O resultado foi apresentado em ml/min/100g de rato.

#### **2. Dosagem de sódio**

- 2.1. Sérico: Avaliado através de fotômetro de chama em modelo FC 280 - Celm. (sendo padrão sódio = 144).
- 2.2. Urinário: Mesmo método, com urina diluída com água deionizada 1:5.
- 2.3. Fração de excreção de sódio: calculada seguindo a fórmula:  $\frac{\text{sódio urinário}}{\text{sódio sérico}} / \frac{\text{creatinina urinária}}{\text{creatinina sérica}}$ .

#### **3. Dosagem de fósforo**

- 3.1. Sérico: Avaliado pelo método colorimétrico com "kit Sea-pak Ames", com leitura em espectofotômetro Carls Zeiss, modelo PML em 555 nm. Os resultados foram definidos em mg%, tendo controle com humantrol (média 8,68).

3.2. Urinário: mesmo método anterior, com diluição da amostra 1:10 com água deionizada.

3.3. Fração de excreção de fósforo: calculada seguindo a fórmula: (fósforo urinário/ fósforo sérico)/ (creatinina urinária/ creatinina sérica).

#### **4. Dosagem de proteínas sérica totais**

Avaliado por método colorimétrico, utilizando “Kit Merck”, com leitura em espectrofotômetro Carl Zeiss, modelo PML em 545 mm. Os resultados foram definidos em g/dl, tendo controle com humanrol (média 7).

#### **5. Dosagem de albumina sérica**

Avaliada por método colorimétrico, utilizando “Kit Labtest”, com leitura em espectrofotômetro Carl Zeiss, modelo PML em 630 mm. Os resultados foram definidos em g/dl, tendo controle com humanrol (média 3,4).

#### **6. Dosagem de colesterol**

Avaliado por método colorimétrico com “Kit Boehringer” e leitura em espectrofotômetro Carl Zeiss, modelo PML em 500 mm. Os resultados foram definidos em mg%, tendo controle com humanrol (média 150).

#### **7. Dosagem de triglicérides**

Avaliado por método colorimétrico com “Kit Merck” e leitura em espectrofotômetro Carl Zeiss, modelo PML em 550 mm. Os resultados foram definidos em mg%, tendo controle com humanrol (média 176).

O seguinte exame laboratorial foi realizado no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da UNICAMP.

#### **8. Dosagem de proteinúria 24 horas**

Teste de turvação por ácido sulfossalicílico 3% e leitura em espectrofotômetro a 550 mm.

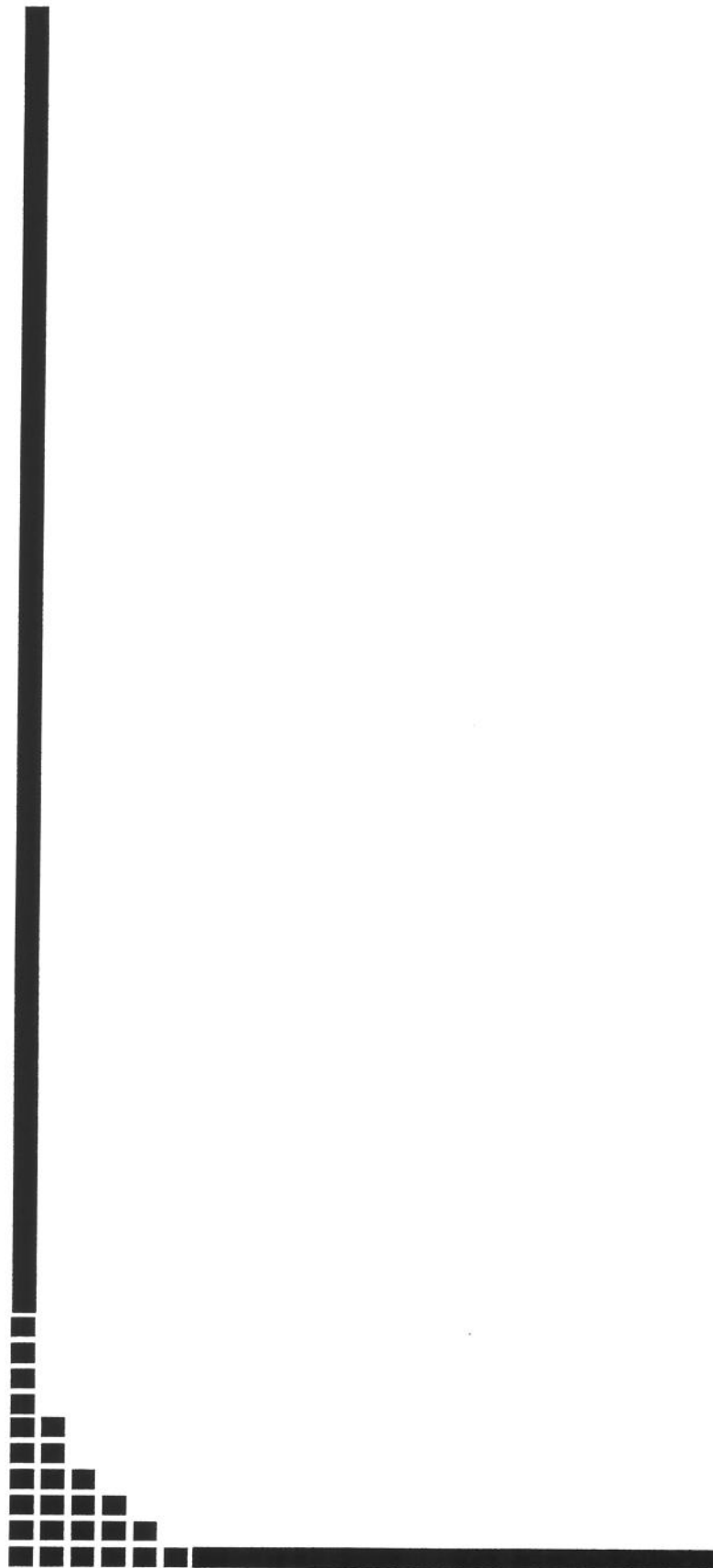
### **3.2.10. Avaliação histológica**

A avaliação histológica foi realizada no Laboratório de Anatomia Patológica da UNICAMP.

Foram realizadas lâminas dos rins direitos de 16 ratos nefrectomizados na primeira semana do estudo e; após o sacrifício do animal, foram realizadas lâminas dos rins esquerdos dos animais nefrectomizados previamente e lâminas de um dos rins dos animais não nefrectomizados. As lâminas foram coradas pela hematoxilina eosina e analisadas ao microscópio óptico comum.

### **3.2.11. Análise Estatística**

Foi utilizado Teste de Kruskal-Wallis para comparação de 4 subgrupos e a Prova U de Mann Whitney para comparação de 2 subgrupos. O valor de significância foi 0,05.



## ***4. RESULTADOS***

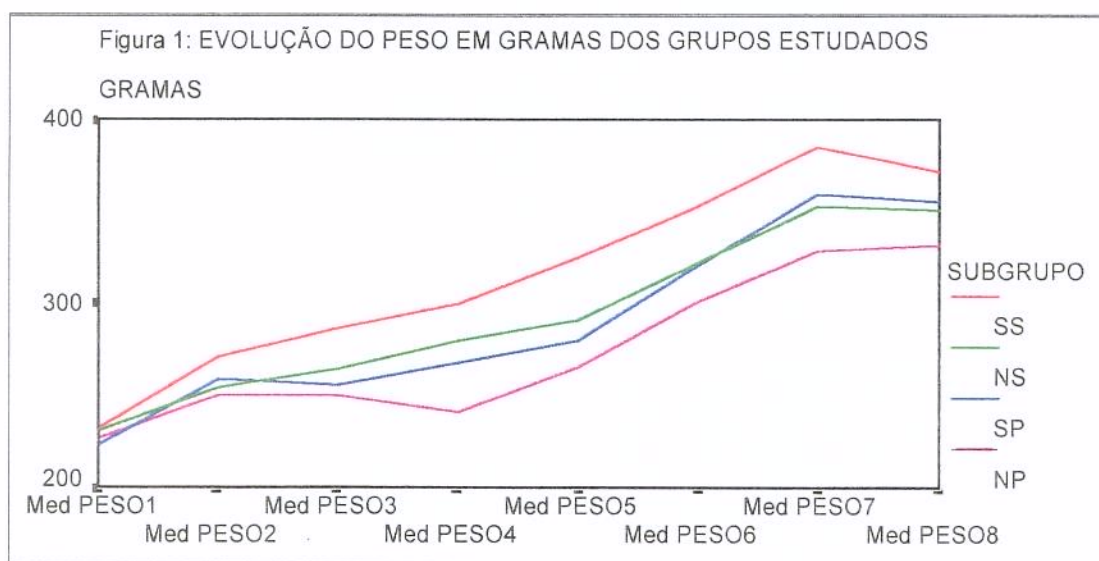


Os resultados serão apresentados tendo em conta os dados de todos os animais ao longo do tempo (12 semanas de seguimento) e, em determinados momentos, comparando-se:

- a) animais com e sem nefrectomia
- b) animais com e sem puromicina

#### 4.1. EVOLUÇÃO DO PESO

Todos animais ganharam peso no transcorrer do experimento, sendo que nas três primeiras semanas (peso 1 e 2) não houve diferença do ganho de peso entre os grupos, o que passou a ocorrer a partir da quarta semana de experimento (1 semana após infusão de puromicina ou salina) (peso 3), até o fim do experimento (Figura 1).



**Figura 1:** Evolução dos valores da mediana do peso, em gramas, dos ratos pertencentes aos grupos simulado-salina (SS); simulado-puromicina (SP); nefrectomia-salina (NS); nefrectomia-puromicina (NP) durante as 12 semanas de observação.

Na tabela I são apresentados os resultados da Prova U de Mann Whitney, em relação a evolução do peso nos 4 grupos de animais, comparados 2 a 2.

**Tabela 1:** Mediana dos pesos (em gramas) de ratos submetidos a cirurgia simulada e salina (SS), cirurgia simulada e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP) nas semanas que apresentaram diferença estatisticamente significativa pelo teste U de Mann Whitney.

| Semana        | Grupo de comparação | Mediana         | P      |
|---------------|---------------------|-----------------|--------|
| Semanas 1,2,3 | Sem diferença       |                 |        |
| Semana 4      | SS x SP             | 285,32 x 255,45 | 0,017  |
|               | SS x NP             | 285,32 x 249,50 | 0,0007 |
| Semana 5      | SS x NS             | 299,57 x 279,70 | 0,0418 |
|               | SS x SP             | 299,57 x 267,90 | 0,0019 |
|               | NS x NP             | 279,70 x 241,35 | 0,0018 |
|               | SP x NP             | 267,90 x 241,35 | 0,0023 |
|               | SS x NP             | 299,57 x 241,35 | 0,0000 |
|               |                     |                 |        |
| Semana 6      | SS x SP             | 325,20 x 280,05 | 0,031  |
|               | NS x NP             | 290,20 x 265,25 | 0,038  |
|               | SP x NP             | 280,05 x 265,25 | 0,050  |
|               | SS x NP             | 325,20 x 265,25 | 0,0005 |
| Semana 8      | SS x NS             | 352,05 x 321,15 | 0,026  |
|               | SS x SP             | 352,05 x 320,70 | 0,024  |
|               | SS x NP             | 352,05 x 300,00 | 0,005  |
| Semana 10     | SS x NS             | 385,30 x 351,90 | 0,041  |
|               | SS x NP             | 385,30 x 327,60 | 0,0037 |
| Semana 12     | SS x NS             | 371,40 x 349,9  | 0,005  |
|               | SS x SP             | 371,40 x 354,50 | 0,019  |
|               | NS x NP             | 349,90 x 331,00 | 0,045  |
|               | SP x NP             | 354,50 x 331,00 | 0,045  |
|               | SS x NP             | 371,40 x 331,00 | 0,0008 |

Destes dados pode-se observar que o procedimento de nefrectomia não repercutiu, agudamente, no ganho de peso, visto que na terceira semana (peso 2) não houve diferença neste parâmetro entre os 4 grupos de animais. Porém, após esta semana os ratos nefrectomizados tiveram ganho de peso significativamente menor que os não nefrectomizados ( $p < 0,05$ ).

O efeito negativo da nefrectomia sobre o ganho do peso foi de magnitude semelhante ao da infusão de puromicina, visto que as curvas de evolução de peso dos animais dos grupos NS e SP são muito semelhantes.

A nefrectomia e a infusão de puromicina associadamente tiveram efeitos adversos potencializados sobre o ganho de peso dos animais (evolução da curva do grupo NP).

Embora o edema pudesse ter ocorrido nos animais com puromicina, isto não ocorreu clinicamente e nem pode ser sugerido pelas curvas de evolução do peso.

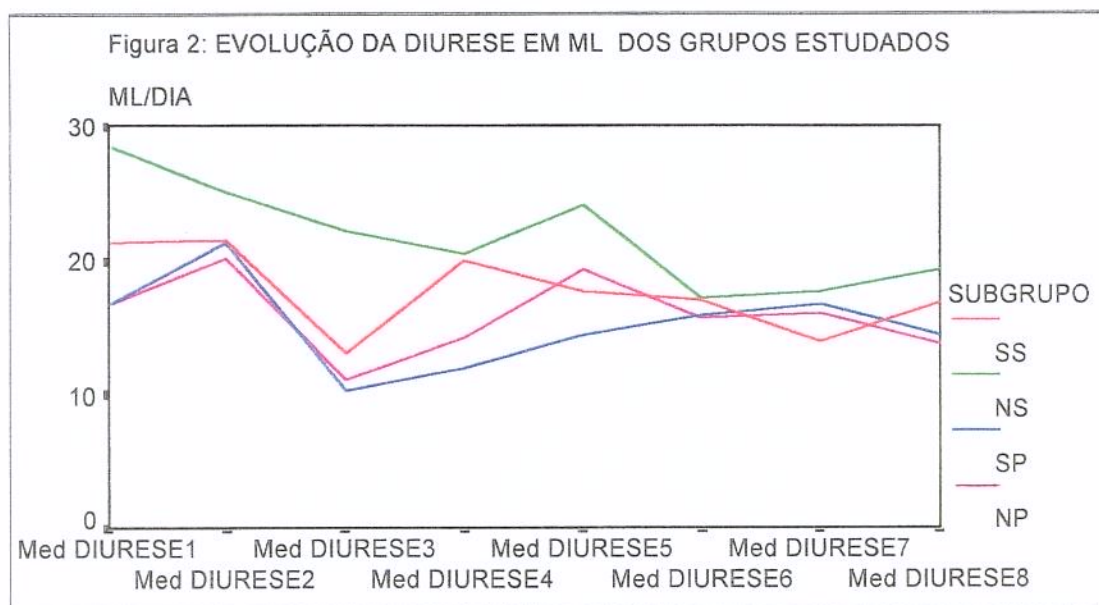
#### **4.2. EVOLUÇÃO DA DIURESE**

Na semana 1 a diurese dos animais variou de 2,8 a 38 ml/dia (mediana 18,8ml/dia). Houve diminuição estatisticamente significativa no volume de diurese de alguns grupos em relação a outros na primeira semana após infusão de puromicina ou salina (diurese 3 e 4), nas semanas 4 e 5 do experimento. Estes dados são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Mediana dos valores da diurese (ml) de ratos submetidos a cirurgia simulada e salina (SS), cirurgia simulada e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP) nas semanas que apresentaram diferença estatisticamente significativa pelo teste U de Mann Whitney.

| Semana        | Grupo de comparação         | Mediana     | P      |
|---------------|-----------------------------|-------------|--------|
| Semanas 1,2,3 | Sem diferença significativa |             |        |
| Semana 4      | SS x NS                     | 13,1 x 22,2 | 0,0194 |
|               | NS x NP                     | 22,2 x 11,2 | 0,0003 |
|               | NS x SP                     | 22,2 x 10,3 | 0,0007 |
| Semana 5      | NS x NP                     | 20,5 x 14,3 | 0,0122 |
|               | SS x SP                     | 20,1 x 11,9 | 0,0014 |
|               | NS x SP                     | 20,5 x 11,9 | 0,0011 |
|               | SS x NP                     | 20,1 x 14,3 | 0,02   |

Pode-se observar destes resultados que os animais que receberam puromicina tiveram diminuição significativa no volume de diurese coincidente com o período onde a proteinúria também foi significativamente elevada (semana 4). A nefrectomia não levou a redução da diurese visto que não houve diferença significativa entre os grupos SP x NP (Figura 2)



**Figura 2:** Evolução dos valores da mediana do volume urinário de 24 horas, em ml, dos ratos pertencentes aos grupos simulado e salina (SS), simulado e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP) durante as 12 semanas de observação.

#### 4.3. EVOLUÇÃO DA PROTEINÚRIA

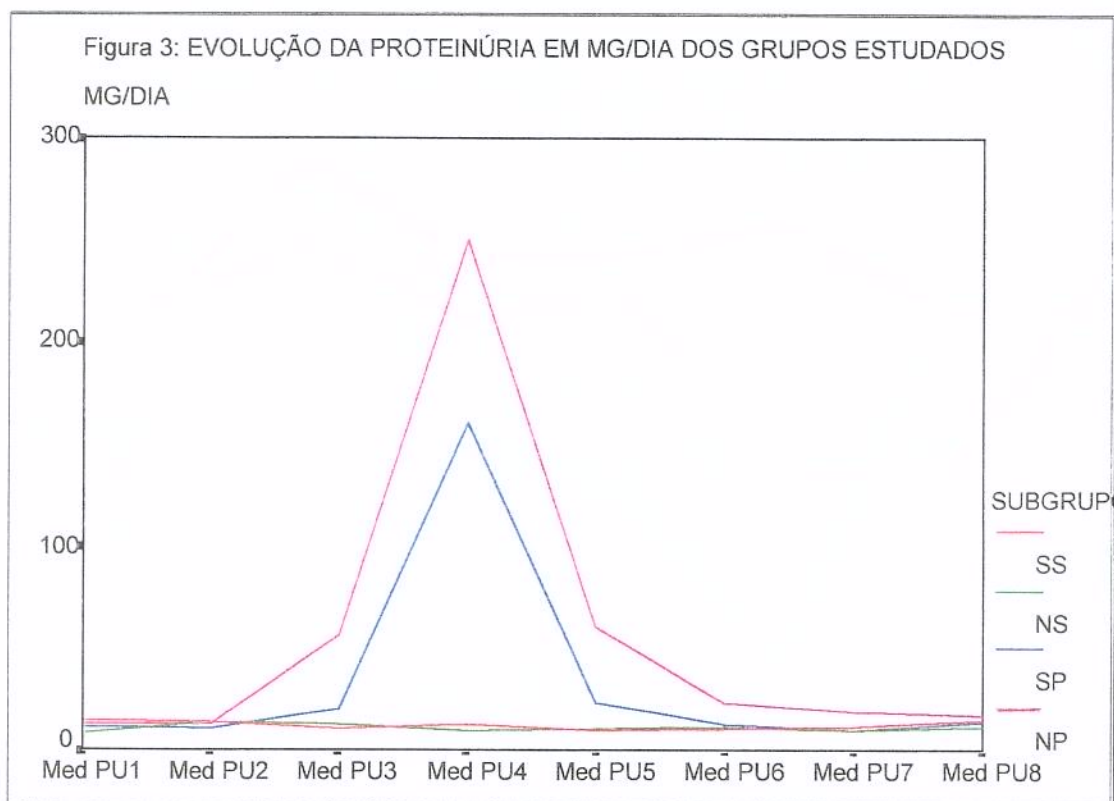
Na semana 1 os animais apresentaram proteinúria, que variou de 1,7 a 22,4 mg/dia, com mediana de 12,14 mg/dia.

No decorrer do experimento houve elevação significativa da proteinúria nas semanas 4, 5 e 6 nos grupos que receberam puromicina (respectivamente proteinúrias 3,4 e 5) (Figura 3). Os grupos que receberam puromicina tiveram elevação significativa da proteinúria a partir da semana 4, com pico máximo na semana 5 (mediana 217,88 mg/dia; variação de 43,68 mg/dia a 384,38 mg/dia, comparado com o grupo sem puromicina que apresentou mediana 10,58 mg/dia; variação de 6,03 mg/dia a 20,67 mg/dia), com queda a partir da semana 6, embora ainda com valores significativamente elevados em relação aos grupos que não receberam puromicina (Tabela 3).

**Tabela 3:** Mediana dos valores de proteinúria em mg/24 horas, de ratos submetidos a cirurgia simulada e salina (SS), cirurgia simulada e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP) nas semanas que apresentaram diferença estatisticamente significativa pelo teste U de Mann Whitney.

| Semana        | Grupo de comparação         | Mediana        | P      |
|---------------|-----------------------------|----------------|--------|
| Semanas 1,2,3 | Sem diferença significativa |                |        |
| Semana 4      | NS x NP                     | 13,49 x 56,6   | 0,001  |
|               | SS x SP                     | 10,96 x 19,86  | 0,011  |
|               | SS x NP                     | 10,96 x 56,6   | 0,0008 |
| Semana 5      | NS x NP                     | 9,65 x 250,25  | 0,008  |
|               | SS x SP                     | 11,93 x 160,42 | 0,008  |
|               | SS x NP                     | 11,93 x 250,25 | 0,0008 |
|               | NS x SP                     | 9,65 x 160,42  | 0,0008 |
| Semana 6      | NS x NP                     | 10,93 X 60,64  | 0,001  |
|               | SS x SP                     | 9,46 X 23,12   | 0,003  |
|               | SS x NP                     | 9,46 X 60,64   | 0,0008 |

Em nenhum momento houve diferença significativa entre os grupos NP e SP, embora a mediana dos valores do grupo NP sejam maiores que a do grupo SP (no pico, mediana de 247mg/dia no grupo NP e 132,08mg/dia no grupo SP).

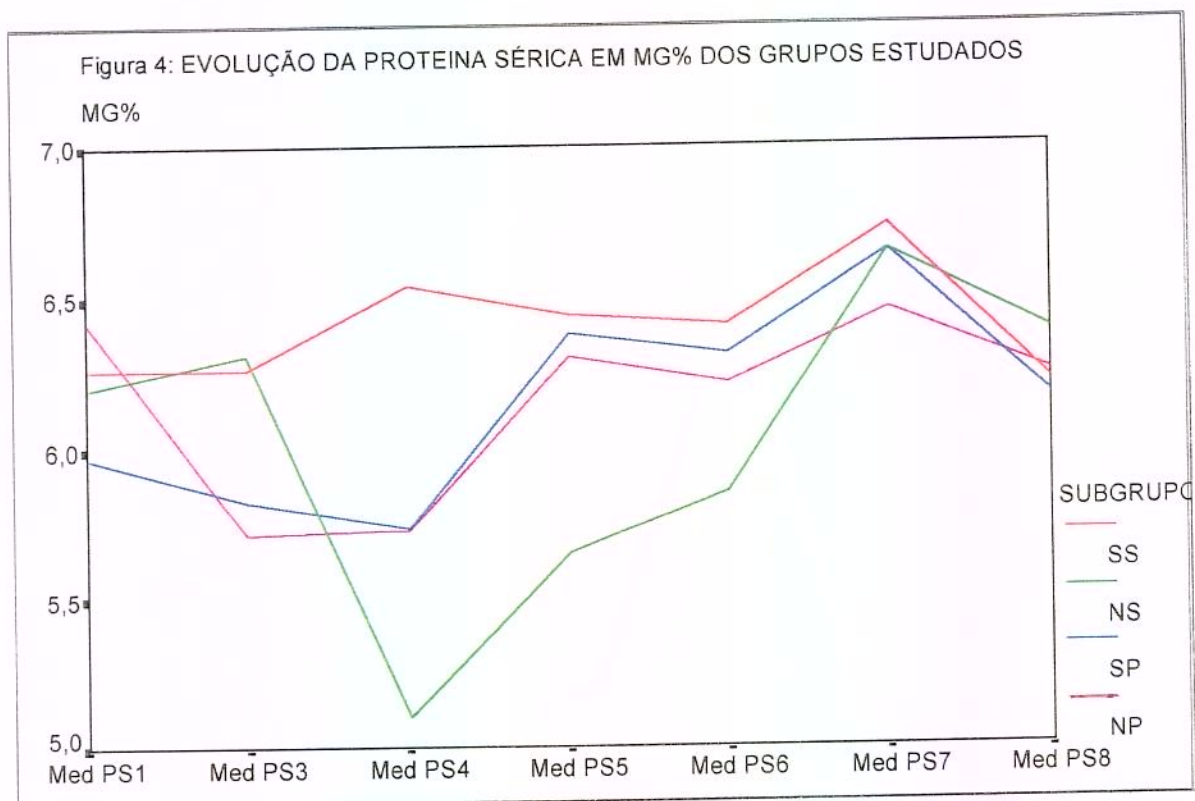


**Figura 3:** Evolução dos valores da mediana da proteinúria, mg/dia, dos ratos pertencentes aos grupos simulado e salina (SS), simulado e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP), durante as 12 semanas de observação.

#### 4.4. EVOLUÇÃO DA PROTEÍNA SÉRICA TOTAL

A proteinemia inicial dos ratos estudados variou de 4,76 a 6,72 g/dl (mediana de 6,21 g/dl).

Durante a semana 5 (sangue 4) de estudo, houve queda significativa da proteinemia nos grupos com puromicina (mediana de 5,74 mg/dl e variação de 3,66 mg/dl a 6,62 mg/dl) em relação aos grupos sem puromicina (mediana 6,16mg/dl e variação de 4,72mg/dl a 7,02 mg/dl). Foi observado também diferença significativa entre os grupos SS e NS na mesma semana.



**Figura 4:** Evolução dos valores da mediana da proteinemia, mg/dl, dos ratos pertencentes aos grupos simulado-salina (SS), simulado-puromicina (SP), nefrectomia-salina (NS), nefrectomia-puromicina (NP), durante as 12 semanas de observação.

Não houve diferença significativa entre os animais nefrectomizados que receberam ou não puromicina, mostrando que não houve efeito deletério adicional da nefrectomia sobre a diminuição da proteinemia (NS x NP). O encontro de diferença significativa, na semana 5 entre os grupos SS e NS foi inesperada.

Na tabela 4 são apresentados os grupos de animais que apresentaram valores de proteinemia significativamente diferente ao longo do experimento.

**Tabela 4:** Mediana dos valores de proteinemia (mg/dl), de ratos submetidos a cirurgia simulada e salina (SS), cirurgia simulada e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP), nas semanas que apresentaram diferença estatisticamente significativa pelo teste U de Mann Whitney.

| Semana   | Grupos de comparação | Mediana     | P      |
|----------|----------------------|-------------|--------|
| Semana 5 | SS x NS              | 6,54 x 5,69 | 0,0208 |
|          | SS x SP              | 6,54 x 5,74 | 0,0046 |
|          | SS x NP              | 6,54 x 5,73 | 0,0274 |

#### 4.5. EVOLUÇÃO DA ALBUMINEMIA

Os valores da albumina sérica da semana 1 dos animais variou de 2,1 g/dl a 3,7 g/dl (mediana de 3,23 g/dl), sendo que não houve diferença significativa entre os grupos (tabela 5). No entanto, houve diminuição significativa na albuminemia entre os animais que receberam puromicina, de forma semelhante ao ocorrido com os valores da proteinemia, na semana 5, com a exceção de que a hipoalbuminemia foi mais precoce (início na semana 4) (Tabela 6). Nas semanas 4 e 5 as medianas da albuminemia nos grupos sem puromicina foram de 3,08 g/dl e 3,17 g/dl, respectivamente, e nos grupos com puromicina as medianas foram de 2,465 g/dl e 2,21 g/dl respectivamente.

**Tabela 5:** Mediana e variação da albumina sérica (g/dl) na semana 1, nos 4 grupos estudados.

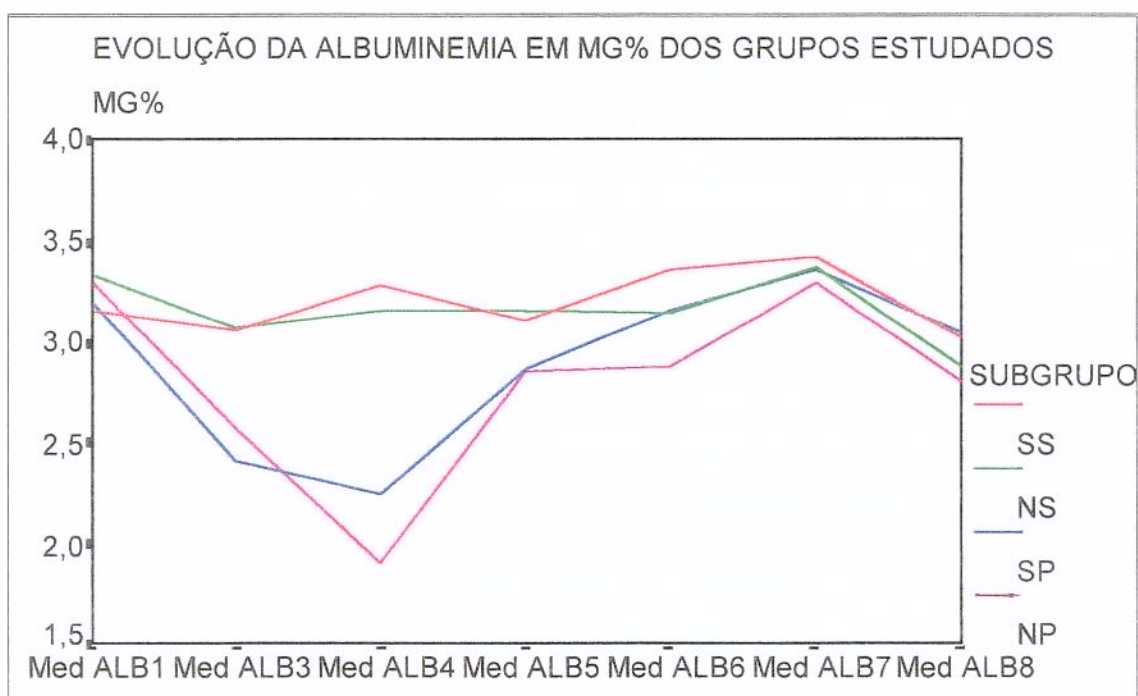
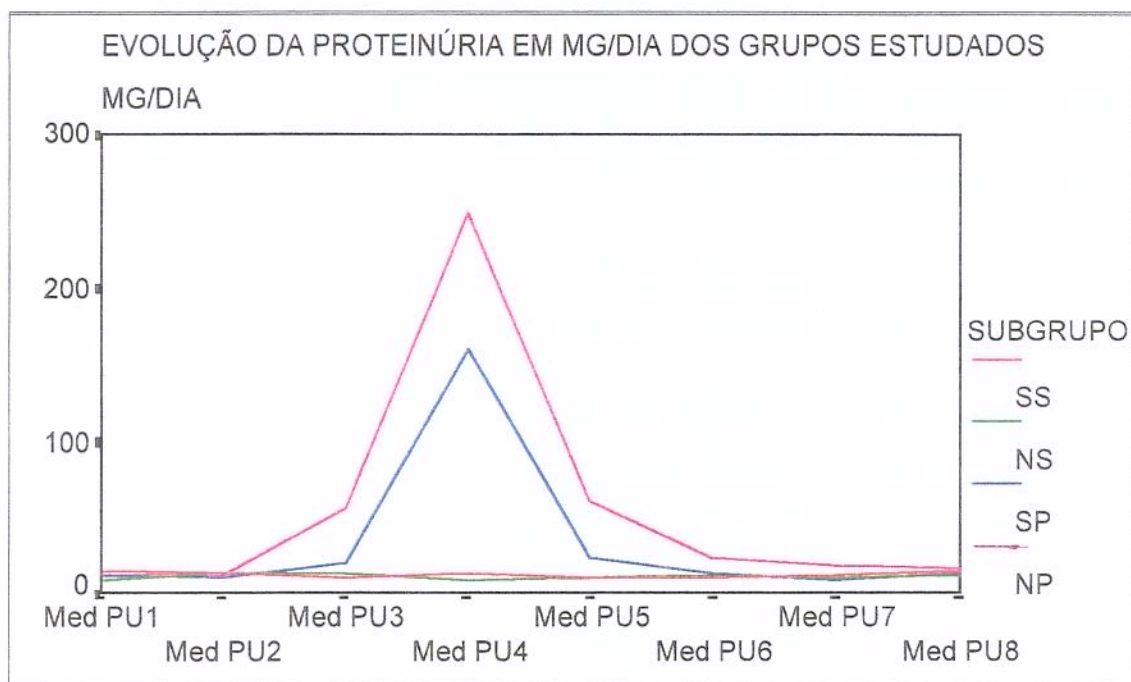
|          | Grupo SS (cirurgia simulada e salina) | Grupo NS (nefrectomia e salina) | Grupo SP (cirurgia simulada e puromicina) | Grupo NP (nefrectomia e puromicina) |
|----------|---------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------|
| Mediana  | 3,2                                   | 3,32                            | 3,2                                       | 3,3                                 |
| Variação | 3,02-3,54                             | 2,85-3,68                       | 2,32-3,44                                 | 2,89-3,63                           |

Não houve diferença entre os grupos SP e NP nestas semanas, indicando que a nefrectomia não potencializou a queda da albuminemia.

Sobrepondo-se o gráfico da evolução da proteinúria com o da albuminemia pode-se observar a concomitância entre a elevação dos valores da primeira e a diminuição dos valores da segunda.(Fig 5)

**Tabela 6:** Mediana dos valores de albuminemia (mg%), de ratos submetidos a cirurgia simulada e salina (SS), cirurgia simulada e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP), nas semanas que apresentaram diferença estatisticamente significativa pelo teste U de Mann Witney.

| Semana   | Grupos de comparação | Mediana     | P      |
|----------|----------------------|-------------|--------|
| Semana 4 | SS x NP              | 3,08 x 2,47 | 0,0045 |
|          | NS x NP              | 3,01 x 2,47 | 0,0086 |
| Semana 5 | SS x NP              | 3,18 x 2,47 | 0,0008 |
|          | SS x SP              | 3,18 x 2,37 | 0,0008 |
|          | NS x SP              | 3,01 x 2,37 | 0,0008 |
|          | NS x NP              | 3,01 x 2,47 | 0,0008 |
| Semana 8 | SS x SP              | 3,32 x 2,77 | 0,018  |
| Seman 12 | SS x NP              | 3,02 x 2,47 | 0,033  |



**Figura 5:** Evolução dos valores da mediana da albuminemia, mg%, dos ratos pertencentes aos grupos simulado e salina (SS), simulado e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP) durante as 12 semanas de observação e a comparação com a evolução da proteinúria.

## 4.6. EVOLUÇÃO DO COLESTEROL E TRIGLICÉRIDES

### 4.6.1. Colesterol

Os valores de colesterol da semana 1 dos animais estudados apresentou mediana de 42,39 mg% com variação de 22 mg% a 76,37 mg%.

Os animais que receberam puromicina apresentaram elevação estatisticamente significativa na semana 5 do estudo ( $P=0,0002$ ), sendo que, nesta semana, os valores variaram de 35,4 mg% a 78,22 mg% no grupo sem puromicina e de 57,56 mg% a 286,34 mg% no grupo com puromicina (Figura 6). As medianas dos valores dos grupos que apresentaram diferenças estatisticamente significativas são apresentados na tabela 7.

### 4.6.2. Triglicérides

Os valores de triglicérides da semana 1 dos animais estudados apresentou mediana de 74,58 mg% com variação de 13,78 mg% a 192,9 mg%.

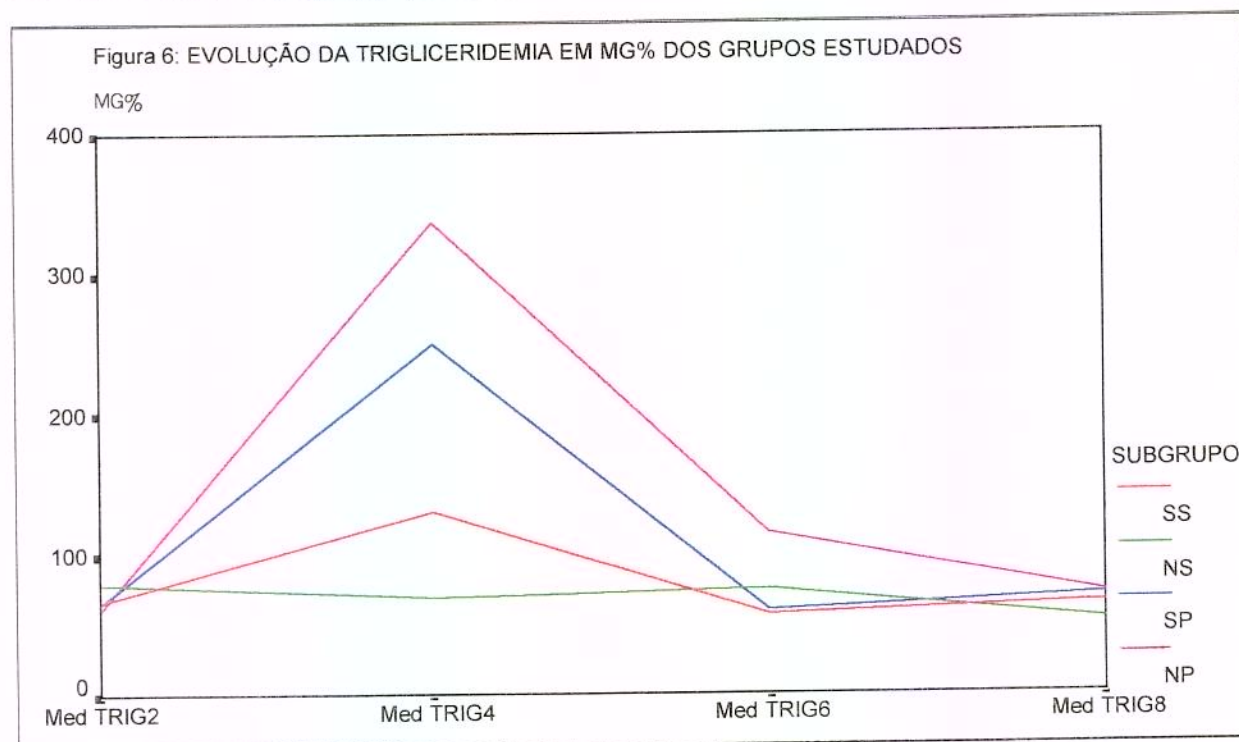
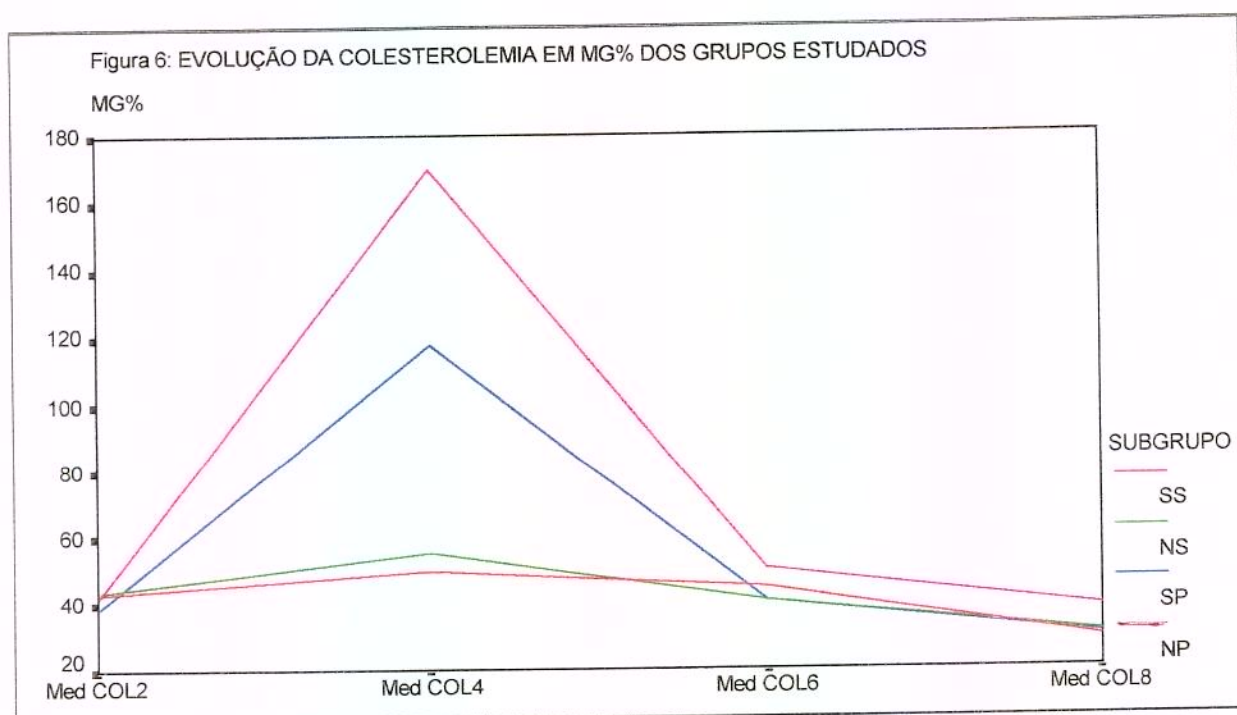
Os animais que receberam puromicina apresentaram elevação estatisticamente significativa na semana 5 do estudo ( $p=0,014$ ), sendo que, nesta semana, os valores variaram de 4,3 mg% a 196,8 mg% no grupo sem puromicina e de 52,1 mg% a 562,1 mg% no grupo com puromicina (Figura 6).

As medianas dos valores da colesterolemia e trigliceridemia que apresentaram diferenças estatisticamente significativas são apresentados na tabela 7.

**Tabela 7:** Mediana dos valores de colesterolemia (mg%) e trigliceridemia (mg%), de ratos submetidos a cirurgia simulada e salina (SS), cirurgia simulada e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP), nas semanas que apresentaram diferença estatisticamente significativa pelo teste U de Mann Whitney.

| Semana        | Grupos de comparação | Mediana        | P      |
|---------------|----------------------|----------------|--------|
| Colesterol    | NS x NP              | 59,04 x 170,1  | 0,0046 |
|               | SS x SP              | 48,81 x 117,81 | 0,0016 |
|               | SS x NP              | 49,81 x 170,1  | 0,008  |
|               | NS x SP              | 59,04 x 117,81 | 0,0063 |
| Triglicérides | SS x NP              | 120,0 x 291,87 | 0,0372 |
|               | NS x NP              | 76,89 x 291,87 | 0,0117 |
|               | NS x SP              | 76,89 x 239,34 | 0,0274 |
|               | SS x SP              | 120,0 x 239,34 | 0,0491 |

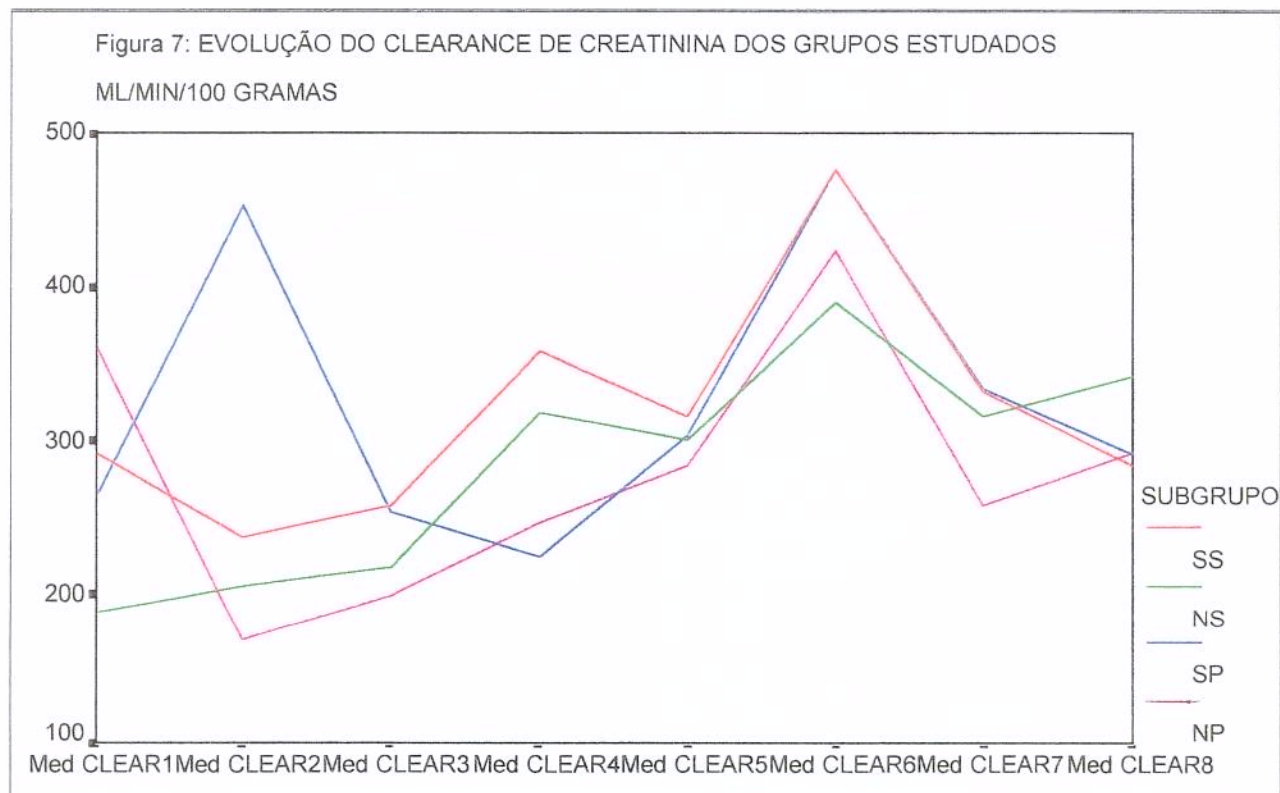
Em ambas, avaliações do colesterol e triglicérides, a elevação foi rápida, coincidente com a elevação da proteinúria e com a queda da albuminemia (semana 5) apresentando normalização já na semana seguinte (semana 6).



**Figura 6:** Evolução dos valores da mediana de colesterolemia e trigliceridemia, mg%, dos ratos pertencentes aos grupos simulado e salina (SS), simulado e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puomicina (NP), durante as 12 semanas de observação.

#### 4.7. EVOLUÇÃO DO CLEARANCE DE CREATININA

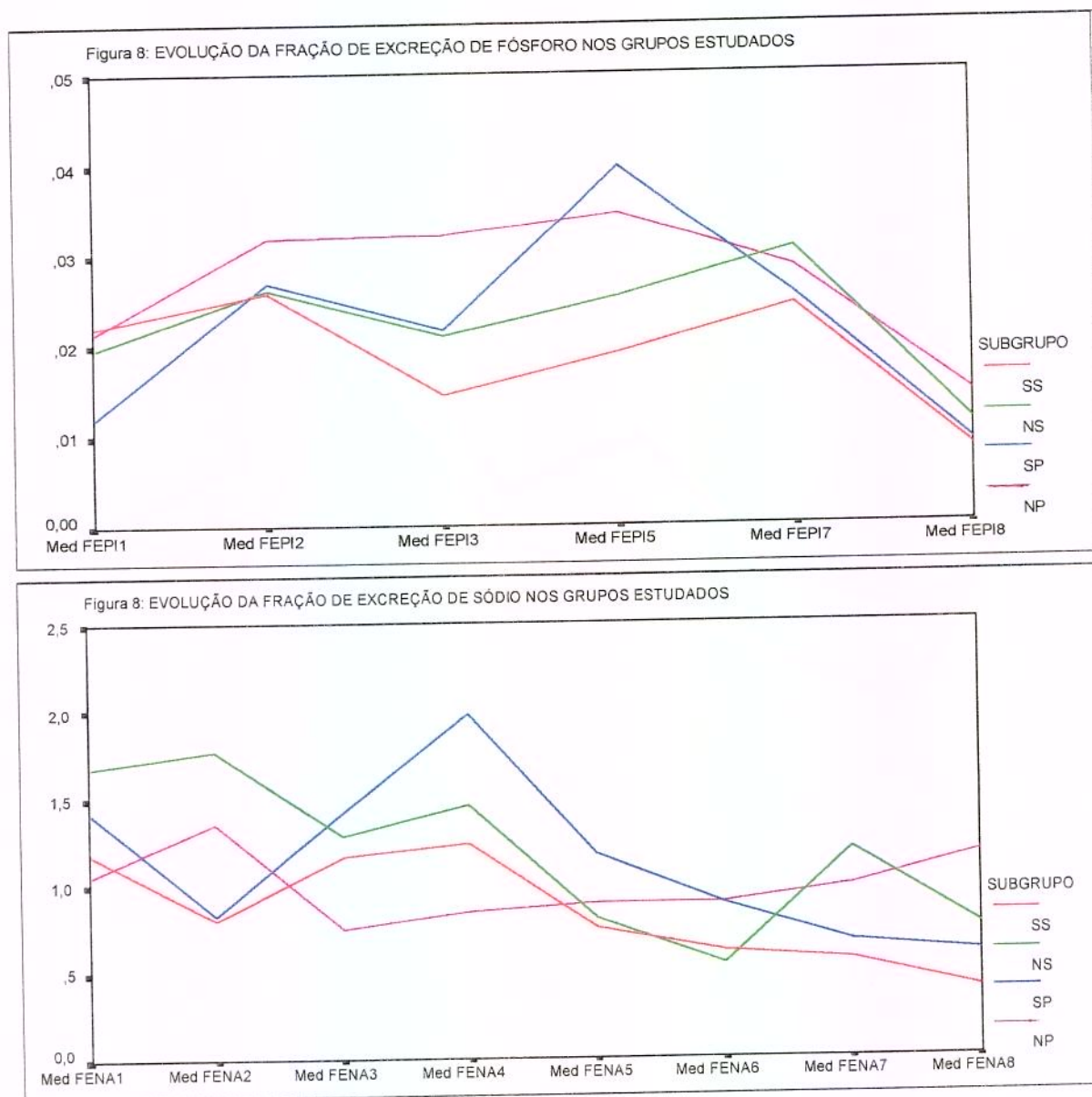
O clearance de creatinina variou de 85,89 ml/min/100g a 706,4 ml/min/100g durante todo o estudo com mediana de 271,69 ml/min/100g. Não houve diferença significativa nos valores de clearance de creatinina dos 4 grupos durante todo o estudo.



**Figura 7:** Gráfico da evolução dos valores da mediana de clearance de creatinina, ml/min/100g, dos ratos pertencentes aos grupos simulado e salina (SS), simulado e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP), durante as 12 semanas de observação.

#### 4.8. EVOLUÇÃO DA FRAÇÃO DE EXCREÇÃO DE SÓDIO E FÓSFORO

Não houve diferença significativa na fração de excreção de sódio e de fósforo no transcorrer do estudo em nenhum dos grupos estudados.



**Figura 8:** Gráfico da evolução dos valores da mediana da fração de excreção de sódio e fósforo, dos ratos pertencentes aos grupos simulado e salina (SS), simulado e puromicina (SP), nefrectomia e salina (NS), nefrectomia e puromicina (NP), durante as 12 semanas de observação.

#### 4.9.AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

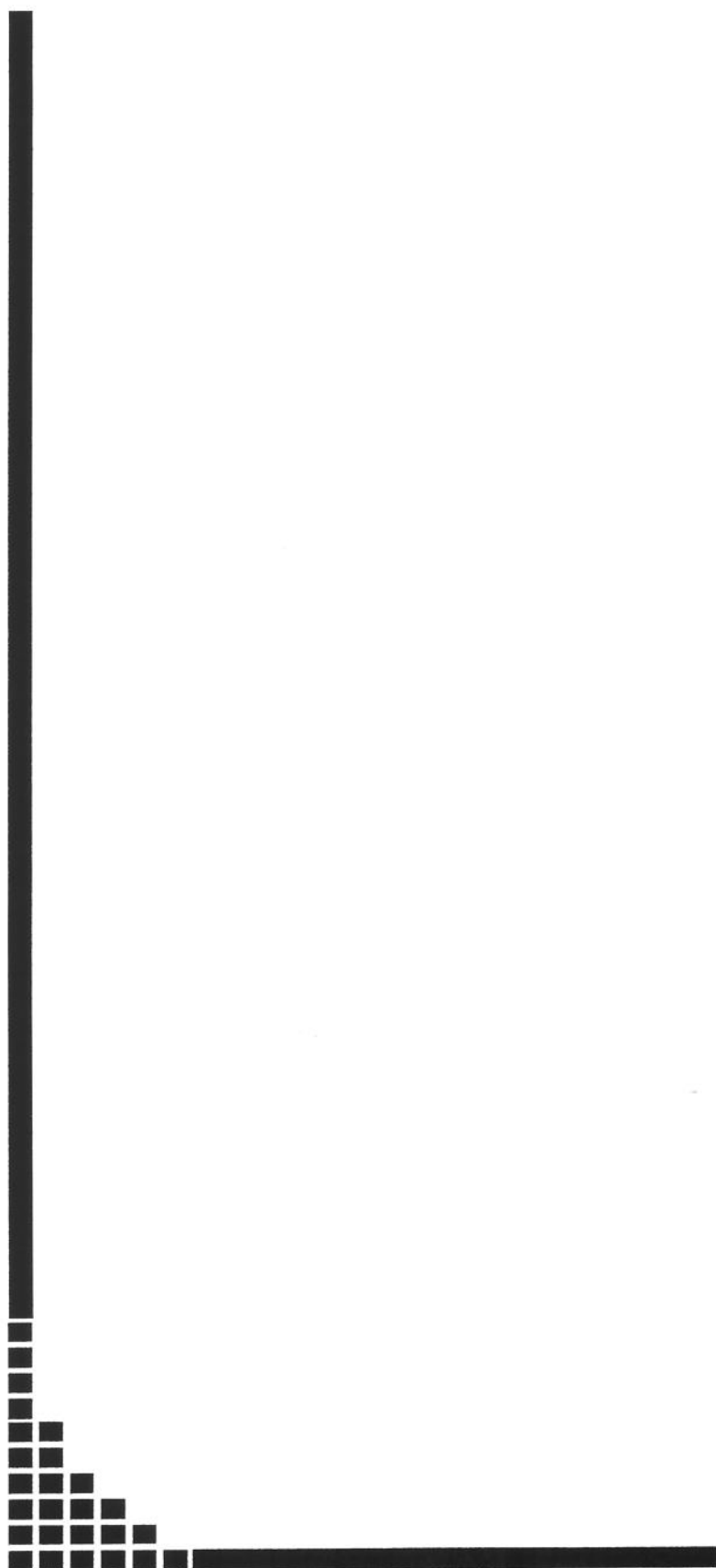
As lâminas do rim direito de 16 ratos dos 32 submetidos a nefrectomia (grupos NS e NP) na primeira semana do estudo evidenciou alterações degenerativas tubulares leves.

As lâminas do rim esquerdo dos mesmos animais referidos acima, ao final do estudo (sacrifício) mostraram alterações tubulares degenerativas sendo que, nos ratos que receberam puromicina (grupo NP) ocorreu, também, dilatação tubular com acúmulo de substância amorfa eosinofílica.

As lâminas do rim esquerdo de 16 ratos dos grupos não nefrectomizados (grupo SS e SP), ao final do estudo (sacrifício) mostraram alterações tubulares degenerativas leves.

Em nenhum caso foi notado proliferação de células glomerulares.





## ***5. DISCUSSÃO***



## 5.1. ESCOLHA DO MODELO

O modelo de SN induzido por puromicina tem sido extensivamente empregado, em doses variadas, utilizando via endovenosa, intraperitoneal ou subcutânea, desde sua primeira descrição em 1955, para fins de análise de diferentes aspectos da SN.

Didaticamente poderia-se analisar os estudos, considerando-se dois grandes grupos: o modelo de indução aguda e o modelo de indução crônica de SN. Os modelos de indução aguda são aqueles onde apenas 1 ou 2 doses de puromicina são aplicadas. Os modelos crônicos de indução correspondem àqueles onde se aplicam doses seriadas de puromicina, com intervalos variados e por tempo prolongado (DIAMOND & KARNOVSKY, 1987; HIRANO & MOROHOSHI, 1992; GROND et al., 1985; SAITO & ATKINS, 1990; WU et al., 1996).

Poucos estudos analisaram a evolução clínico-laboratorial da síndrome nefrótica induzida por puromicina (AGBEDANA et al., 1993; ALFREY & HAMMOND, 1990; AVASHI & ALBUQUERQUE, 1979; HOYER et al., 1975) e mesmo assim, o maior tempo de observação foi de 11 dias.

Na Tabela 8, em apêndice, é apresentada a literatura encontrada, com as doses, vias de administração, evolução da proteinúria e da albuminemia com os respectivos objetivos de estudo, em diferentes modelos experimentais de SN.

No presente estudo utilizou-se um modelo de indução aguda de SN, com dose única de puromicina, que correspondia à metade da dose mais frequentemente referida na literatura (15 mg/100 g peso do animal), ou seja, 7,5 mg/100 g peso do animal. Para contrapor a esta dose reduzida, e objetivando que a proteinúria fosse significativa, realizou-se previamente nefrectomia unilateral.

## 5.2. DESENVOLVIMENTO PONDERAL

Pode-se observar que os animais nefrectomizados tiveram menor ganho de peso quando comparados com os não nefrectomizados a partir da terceira semana do procedimento (quarta semana de estudo), sem que houvesse recuperação deste parâmetro até o final do período observado. Este fato não deve ter relação com o procedimento

cirúrgico, visto que a diferença somente se iniciou na segunda semana após o procedimento. É possível que este fato reflita a própria adaptação do animal à nefrectomia ou expresse fatores tardios relacionados à nefrectomia, como aderências retroperitoneais.

Os animais que utilizaram puromicina tiveram menor ganho de peso quando comparado com os controles, fato observado a partir da quarta semana do experimento (primeira semana após puromicina). Na semana 4 este resultado não pode ser imputado às alterações glomerulares que provocam a proteinúria visto que os animais ainda não a apresentavam. Então, o próprio efeito antimetabólico da puromicina poderia ser aventado para justificar este encontro, supondo que o bloqueio de síntese protéica perdurasse por certo tempo após a infusão endovenosa (GLASSER et al., 1977). Apesar da expectativa de que estes animais pudessem ganhar peso, pela formação de edema, secundário a SN, isto não ocorreu. Na quinta semana o ganho de peso do grupo puromicina foi ainda menor e, a partir de então, evoluiu paralelamente ao grupo controle até o final do estudo, não havendo recuperação de peso e nem aumento na diferença do mesmo. Este perfil de desenvolvimento de peso poderia ser justificado pelas repercussões metabólicas que ocorrem na síndrome nefrótica e, que quando presentes ao longo do tempo, poderiam afetar o crescimento. Assim, distúrbios gastrintestinais como anorexia e vômito são frequentemente citados no paciente nefrótico descompensado (BRENNER & STEIN, 1992; DAVISON et al., 1998; DUARTE et al., 1987). Distúrbio do metabolismo dos carboidratos com grau acelerado de neoglicogênese, aumento da síntese e catabolismo protéico no fígado, são fatores importantes (FEEHALLY et al., 1988; LOSCHIAVO et al., 1983). O catabolismo da albumina é grandemente aumentado nos pacientes nefróticos, sendo que mais de 50% do conteúdo intravascular de albumina é renovado em 24 horas, devido às perdas urinárias e ao aumentado catabolismo tubular da albumina filtrada. Enfim, estes fatores atuando sinergicamente tem sido salientados como responsáveis pelo mau desenvolvimento pômbero-estatural em SN (BRENNER & STEIN, 1992; DAVISON et al., 1998).

Na análise da curva de desenvolvimento ponderal pode-se observar que os animais dos grupos SP e NS tiveram menor ganho ponderal que não se recuperou ao longo do tempo. Pode-se sugerir que as condições do ambiente experimental não favoreçam uma recuperação nutricional adequada. De qualquer forma nos animais do grupo NP estas

anormalidades foram significativamente mais importantes que a dos outros subgrupos, o que somente pode ser explicada em face das repercussões metabólicas decorrentes do desenvolvimento da SN. Em estudos clínicos, as repercussões da SN em si sobre o crescimento são dificilmente avaliadas devido aos efeitos associados da corticoterapia, dificultando a avaliação da magnitude das próprias alterações metabólicas da SN no crescimento (DAVISON et al., 1998).

Desta forma, este modelo poderá ser útil para a avaliação dos efeitos exclusivos das alterações metabólicas da SN sobre o crescimento, sem que haja interferência da própria terapêutica.

### 5.3. DESENVOLVIMENTO DA SÍNDROME NEFRÓTICA

Este modelo de desenvolvimento da síndrome nefrótica seguiu o referido pela literatura, com proteinúria iniciando-se na primeira semana após infusão de puomicina, pico na segunda semana e queda a partir da terceira semana, com normalização na quarta semana após o uso de puomicina. Coincidente com a proteinúria ocorreram hipoproteinemia, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia.

Conforme apresentado na tabela 8, os valores da proteinúria referidos pela literatura são variáveis, mesmo quando a dose e via de administração da puomicina foram as mesmas. Assim, nos estudos de AVASHI & ALBUQUERQUE, 1979; OLSON et al., 1981 e RYAN & KARNOVSKY, 1975, que utilizaram a dose endovenosa de 15 mg/100 g peso do animal, foram obtidos valores de proteinúria que variaram de 18 a 175 mg/dia. Neste estudo, utilizando metade da dose de puomicina (7,5 mg/100 g peso do animal) e realizando nefrectomia unilateral em metade dos animais, foi observado que a proteinúria dos animais não nefrectomizados teve valores da mediana dentro do intervalo referido na literatura para a dose de 15 mg/100 g peso (mediana de 247 mg/dia) (AVASHI & ALBUQUERQUE, 1979; OLSON et al., 1981), embora menor que a obtida em animais uninefrectomizados.

Na literatura o único estudo que utilizou a mesma dose endovenosa de 7,5 mg/100 g foi o de UEDA et al., 1996, porém sem realizar nefrectomia. Os autores encontraram níveis de proteinúria superiores aos encontrados no presente estudo. Não foi

encontrado na literatura modelo agudo com nefrectomia associado. Apenas 3 estudos, utilizando modelo crônico, com infusões seriadas de puromicina realizaram nefrectomia unilateral (GLASSER et al., 1977; VELOSA et al., 1977 e FOGO et al., 1988) e encontraram valores maiores de proteinúria no grupo nefrectomizado quando comparados com o grupo não nefrectomizado, como ocorreu no presente estudo. Porém, aqueles estudos utilizaram doses cumulativas muito maiores que as utilizadas no presente estudo e, como a puromicina promove proteinúria por efeito direto no rim e não por alterações no meio sistêmico (HOYER et al., 1975), deveriam realmente apresentar alterações mais significativas.

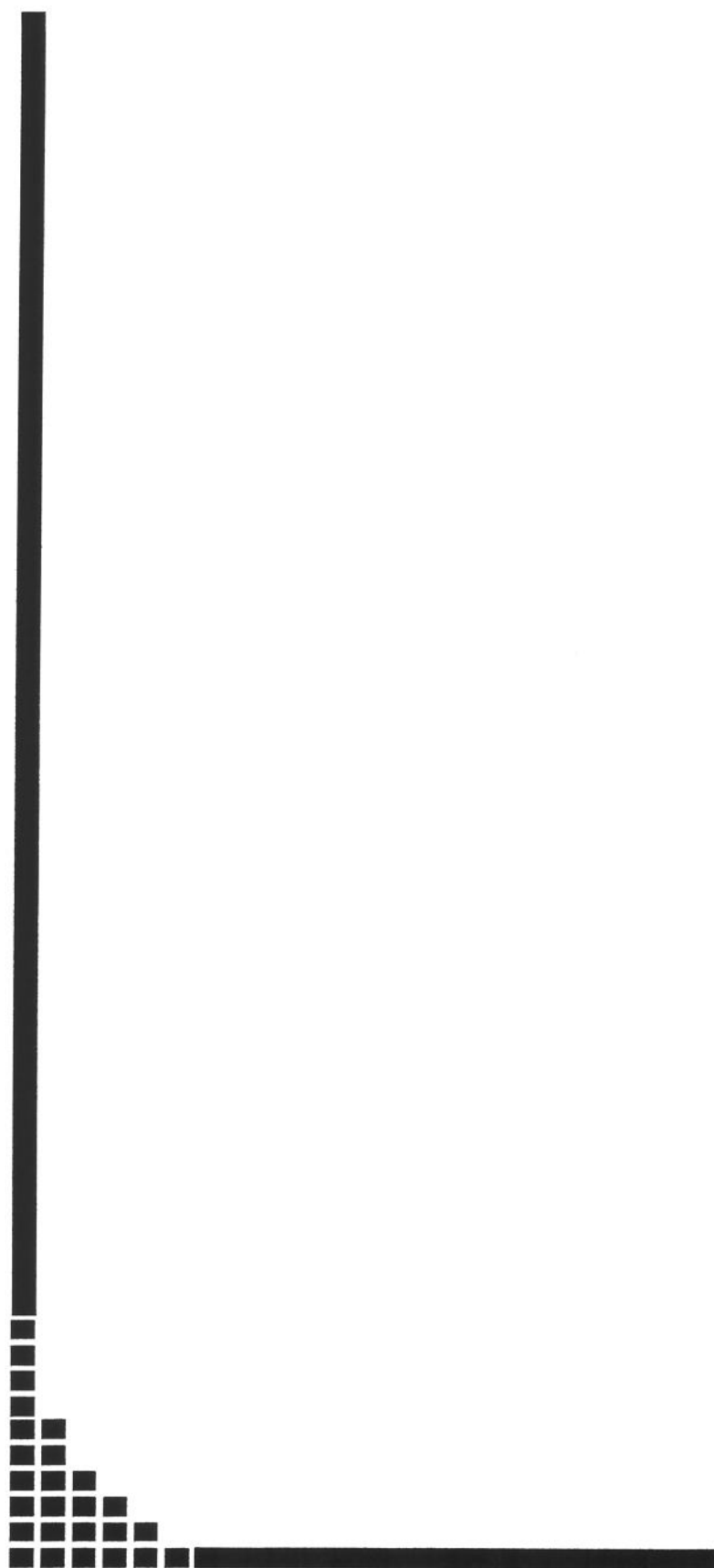
Embora os valores de proteinúria e hipoalbuminemia encontrados caracterizem um quadro laboratorial compatível com síndrome nefrótica, os animais não apresentaram edema e não foi observada repercussão hemodinâmica da hipoalbuminemia, visto que não houve diminuição na fração de excreção de sódio em nenhum momento analisado, o que de acordo com DORHOUT MEES et al, 1979 significa que a hipoalbuminemia não foi suficientemente grande para levar à hipovolemia e secundariamente estimular o sistema renina-angiotensina-aldosterona e levar à diminuição da fração de excreção de sódio.

Concomitante à proteinúria, nos grupos que receberam puromicina, encontrou-se hipoproteinemia na semana 5 (mediana 5,74 mg/dl) e hipoalbuminemia nas semanas 4 e 5 de estudo (2,46 g/dl e 2,21 g/dl, respectivamente), corroborando com o esperado em síndrome nefrótica. Na literatura analisada os estudos com modelo agudo de indução e via endovenosa de administração de puromicina e que avaliaram a albuminemia encontraram os seguintes valores: 0,72 $\pm$ 0,14 g/dl após receberem dose 6 mg/ 100g (HOYER et al., 1975); 2,5 $\pm$  0,53 g/dl após receberem dose de 3 mg/ 100g (AGBEDANA et al., 1993) e 1,11 $\pm$  0,25 g/dl após receberem dose de 5 mg/ 100g (ALFREY & HAMMOND, 1990). Da mesma forma, a proteinemia encontrada na literatura foi de 6,2 $\pm$ 0,9 g/dl com dose de 3 mg/100g (AGBEDANA et al., 1993); 4,09 g/dl com dose de 15 mg/100g (AVASHI & ALBUQUERQUE, 1979) e 3,28 a 4,88 g/dl com dose de 15mg/100g (AVASHI & ALBUQUERQUE, 1979). É difícil compararmos estes dados com os encontrados neste estudo pelo curto tempo de seguimento dos ratos nos estudos referidos (1 a 2 semanas).

Neste modelo foram encontradas alterações lipídicas, com elevação nos níveis de colesterol e triglicérides, de início rápido, coincidente com o pico de proteinúria e de curta duração, visto que se normalizaram na semana seguinte, inclusive precedendo a normalização da hipoalbuminemia. Nas muitas teorias utilizadas para explicar a hiperlipidemia na síndrome nefrótica, a hipoalbuminemia tem papel chave na patogênese ou atuando sobre a pressão oncótica que cria um estímulo para aumentar a produção hepática de lipoproteínas (AGBEDANA et al., 1993; BRENNER & STEIN, 1982; DIAMANT & SHAFRIR, 1974; GOLDBERG et al., 1982), ou por seu papel no defeito do catabolismo das lipoproteínas como a reduzida atividade da LPL (lipoproteína lipase) e da LCAT (lecitina aciltransferase) (BRENNER & STEIN, 1982). Embora este modelo pudesse ser interessante para o melhor esclarecimento da relação hipoalbuminemia/hiperlipidemia, deve-se lembrar que a puromicina é capaz de influenciar diretamente a atividade das enzimas hepáticas por pelo menos 10 a 14 dias após sua aplicação, devendo-se ter cautela na interpretação das alterações lipídicas neste modelo (BRENNER & STEIN, 1982). Porém, neste estudo a hiperlipidemia ocorreu após 14 dias sendo provavelmente secundária a hipoalbuminemia e não aos efeitos da puromicina na atividade das enzimas hepáticas como descrito.

De acordo com os dados aqui apresentados, este modelo de síndrome nefrótica induzida por puromicina pode ser útil em situações onde se deseje estudar efeitos da proteinúria e hipoalbuminemia, sem que haja alterações hemodinâmicas; os efeitos sobre o crescimento pândero/estatural (diferenciando os efeitos deletérios próprios da proteinúria e hipoalbuminemia daqueles que são observados na clínica, quando o paciente é submetido a diferentes propostas terapêuticas); e estudar os efeitos do acúmulo de colesterol nos diferentes órgãos e suas consequências clínicas, através de modelo crônico, utilizando-se doses seriadas de puromicina.





## ***6. CONCLUSÃO***



Neste modelo de SN induzida por puromicina após a realização de uninefrectomia pode-se observar no grupo de animais que utilizaram a droga que:

- houve queda significativa da proteinemia, da albuminemia e da diurese
- a proteinúria de 24 horas e os níveis séricos de colesterol e triglicérides foram significativamente maiores que os dos animais controles
- o ganho ponderal foi significativamente menor que os dos animais controles, e ainda significativamente menor que os dos animais com nefrectomia
- não houve alterações significativas quanto ao clearance de creatinina, o clearance de fosfato e a fração de excreção de sódio entre todos os subgrupos estudados.

Estes dados sugerem que o modelo pode ser empregado em situações onde se deseje estudar anormalidades secundárias aos efeitos da hipoalbuminemia, mas onde não haja interesse das repercussões hemodinâmicas da hipoalbuminemia.





## ***7. SUMMARY***



Nephrotic syndrome is characterized by edema, increased proteinuria, hypoproteinemia, hyperlipidemia and lipidic factors.

Metabolic changes following Nephrotic Syndrome (NS) cause a great ratio of deaths in this condition. Several models of experimental NS have been developed to clear many aspects that are difficult to understand in clinical studies. Among the ways to develop NS in laboratory animals, Puromycin and Adriamycin are the most used drugs.

This present study shows a NS model using an unique perfusion of Puromycin intravenously in rats with unilateral nephrectomy.

64 male Wistar rats, 6 to 8 weeks old, with median weight of 220 grams were studied. They were divided into 4 groups:

SS – group of rats with sham surgery and saline.

SP – group of rats with sham surgery plus puromycin.

NS – group of rats with nephrectomy in the right kidney and saline.

NP- group of rats with nephrectomy in the right kidney and puromycin.

Puromycin was used as an unique dose of 7,5 mg/100gr/ body weight, carried out one week after nephrectomy.

Results were presented after evaluating the ratios in all animals all the time, or comparing animals with and without puromycin.

The results showed that:

- 1- Weight: Nephrectomy and Puromycin associated caused a positive effect on the weight gain. Factors, such as the surgery itself, antimetabolic effect of the puromycin and the metabolic changes of the NS must be involved.
- 2- Diuresis: SP and NP presented a significant decrease in diuresis coincident to the period where the proteinuria was markedly increased. The nephrectomy did not decrease diuresis.

- 3- Proteinuria: SP and NP groups presented increased proteinuria from the 4th week on, reaching the highest level on the 5th week and decrease on the 6th one. There was no significant difference between the NP and SP groups, although the average of the proteinuria in the group NP was higher than in SP.
- 4- Proteinaemia: during the 5th week there was a significant decrease of proteinuria in the groups NP and SP, without any significant difference to the uninephrectomy.
- 5- Albuminemia: There was a significant decrease in albuminemia in NP and SP groups regarding controls. There isn't significant differences between NP and SP.
- 6- Cholesterol and triglycerides: SP and NP groups presented significant increase of the cholesterol and triglycerides on the 5th week. That was a transient, coincidently to the lowest level of hypoalbuminemia, and they returned to normal in the next week.
- 7- Creatinine clearance, sodium excretion fraction and phosphorus excretion fraction : There weren't significant difference in these parameters in the different subgroups. We can conclude that there was no hemodynamic reflections of hypoalbuminemia.
- 8- Histological analysis: Light microscopy showed tubular degenerative alterations, with no glomerular changes.

This NS model can be useful for the studies of proteinuria and hypoalbuminemic effects in situations where not be wanted hemodynamic alterations.



## ***8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***



- ABE, H.; SHIBUYA, T.; ODASHIMA, S.; ARICHI, S. & NAGASE, S. – Alterations in the glomerulus in aminonucleoside nephrosis in analbuminemic rats. **Nephron**, **50**: 351-355, 1988.
- AFRASIABI, M. A.; VAZIRI, N. D.; GWINUP, G.; MAYS, D. M.; BARTON, C. H.; NESS, R. L. & VALENTA, L. J. – Thyroid function studies in the nephrotic syndrome. **Annals of Internal Medicine**, **90**: 335-338, 1979.
- AGBEDANA, E. D.; YAMAMOTO, T.; MORIWAKI, Y.; SUDA, M.; TAKAHASHI, S. & HIGASHINO, K. – Studies on abnormal lipid metabolism in experimental nephrotic syndrome. **Nephron**, **64**: 256-261, 1993.
- ALFREY, A. & HAMMOND, W. S. – Renal iron handling in the nephrotic syndrome. **Kidney International**, **37**: 1409-1413, 1990.
- ANDERSON, S.; MEYER, T. W.; RENNKE, H. G. & BRENNER, B. M. – Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. **J. Clin. Invest.**, **76**: 612-619, 1985.
- ANDREWS, P. M. – A scanning and transmission electron microscopic comparison of puromycin aminonucleoside-induced nephrosis to hyperalbuminemia-induced proteinuria with emphasis on kidney podocyte pedicel loss. **Laboratory Investigation**, **36**: 183-197, 1977.
- AVASTHI, P. S. & ALBUQUERQUE A. P. E. – Effects of aminonucleoside on rat blood-peritoneal barrier permeability. **J. Lab. Clin. Med.**, **94**: 295-302, 1979.
- AVASTHI, P. S. & ALBUQUERQUE, A. P. E. – Glomerular permeability in aminonucleoside-induced nephrosis in rats. A proposed role of endothelial cells. **J. Lab. Clin. Med.**, **93**: 266-276, 1979.
- BELANGERO, V.M.S.- **Papel do sistema renina-angiotensina no mecanismo de formação do edema na síndrome nefrótica em crianças: avaliação através do efeito do captopril sobre a retenção de sódio.** Tese de mestrado, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de Campinas, 1989.

- BELANGERO, V.M.S.; TRESOLDI, A.T.; RIGATTO, S.Z.; BRITO, A.C.G.; SANTOS, C.P.; BANZATO, A.V.; PRATES, L.C. – Peritonite primária e síndrome nefrótica na infância. **Revista Paulista Pediatria**, **18**: 22-26, 2000.
- BERTANI, T.; POGGI, A.; POZZONI, R.; DELAINI, F.; SACCHI, G.; THOUA, Y.; MECCA, G.; REMUZZI, G. & DONATI, M. B. – Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats. Sequence of pathologic events. **Laboratory Investigation**, **46**: 16-23, 1982.
- BOHLER, T.; LINDERKAMP, O.; LEO, A.; WINGEN, A. M. & SCHARER, K. – Increased aggregation with normal surface charge and deformability of red blood cells in children with nephrotic syndrome. **Clinical Nephrology**, **38**: 119-124, 1992.
- BOHRER, M. P.; BAYLIS, C.; ROBERTSON, C. R. & BRENNER, B. M. – Mechanisms of the puromycin-induced defects in the transglomerular passage of water and macromolecules. **The Journal of Clinical Investigation**, **60**: 152-161, 1977.
- BRENNER, B.M.; STEIN, J.H. – Nephrotic Syndrome: **Contemporary issues in nephrology**, vol 9, 1982.
- CADE, R.; SPOONER, G.; JUNCOS, L.; FULLER, T.; TARRANT, D.; RAULERSON, D.; MAHONEY, J.; PICKERING, M.; GRUBB, W.; MARBURY, T. – Chronic renal vein thrombosis. **The American Journal of Medicine**, **63**: 387, 1977.
- CAMERON, J. S.; WASS, V.; JARRET, R. J.; CHILVERS, C. – Nephrotic syndrome and cardiovascular disease. **The Lancet**, **10**: 1017, 1979.
- CARTWRIGHT, G.E.; GUBLER, C.J. & WINTROBE, M.M.- Studies on copper metabolism. XI. Copper and iron metabolism in the nephrotic syndrome. **Journal of Clinical Investigation**, **33**: 685, 1954.
- CAULFIELD, J. P. & FARQUHAR, M. G. – Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. **Laboratory Investigation**, **39**: 505- 512, 1978.

- COUSER, W. G. & STILMANT, M. M. – Mesangial lesions and focal glomerular sclerosis in the aging rat. **Laboratory Investigation**, **33**: 491-501, 1975.
- DANTAS M., COSTA R. S. –Glomerulopatia de Lesões Mínimas e Glomerulosclerose Segmentar e Focal. **Glomerulopatias- patogenia, clínica, tratamento**, editora Sarvier, 47-65, 1999.
- DAVISON, A. M.; CAMERON, J. S.; GRUNFELD, J. P.; KERR, D. N. S.; RITZ, E. & WINEARLS, C. G. -**Oxford textbook of clinical nephrology**, second edition, 1998.
- DESASSIS, J. F.; RAATS, C. J. I.; BAKKER, M. A. H.; BORN, J. V. D. & BERDEN, J. H. M. – Antiproteinuric effect of ciclosporin A in adriamycin nephroty in rats. **Nephron**, **75**: 336-341, 1996.
- DIAMANT, S. & SHAFRIR, E. – Lipogenesis in aminonucleoside-induced nephrotic syndrome. **Biochimica et Biophysica Acta**, **360**: 241-251, 1974.
- DIAMOND, J. R. & KARNOVSKY, M. J. – Exacerbation of chronic aminonucleoside nephrosis by dietary cholesterol supplementation. **Kidney International**, **32**: 671-677, 1987.
- DORHOUT MEES, E. J.; GEERS, A. B. & KOOMANS, H. A. –Blood volume and sodium retention in the Nephrotic Syndrome: A controversial pathophysiological concept. **Nephron**, **36**: 201-211, 1984.
- DORHOUT MEES, E. J.; ROOS, J. C.; BOER, P.; YOE, O. H.; SIMATUPANG, T. A. – Observations on edema formation in the nephrotic syndrome in adults with minimal lesions. **The American Journal of Medicine**, **67**: 378-384, 1979.
- DUARTE, M. A.; LIMA, E. M.; PENNA, F. J.; DINIZ, J. S. S. & BRASILEIRO, G. F. – Estudo da absorção intestinal e histologia da mucosa jejunal em crianças com síndrome nefrótica descompensada e diarreia. **Jornal de Pediatria**, **63** (2): 89-91, 1987.

- EDDY, A. A. & WARREN, J. S. – Expression and function of monocyte chemoattractant protein-1 in experimental nephrotic syndrome. **Clinical Immunology and Immunopathology**, **78**: 140-151, 1996.
- ELEMA, J. D. & ARENDS, A. – Focal and segmental glomerular hyalinosis and sclerosis in the rat. **Laboratory Investigation**, **33**: 554-561, 1975.
- FABRI, D.; BELANGER, V.M.; ANNICHINO-BIZZACHI, J.M.; ARRUDA, V.R. – Inherited risk factors for thrombophilic in children with nephrotic syndrome. **Eur J Pediatr**, **157** (11): 939-42, 1998.
- FEEHALLY, J.; BAKER, F. & WALLS, J. – Dietary protein manipulation in experimental nephrotic syndrome. **Nephron**, **50**: 247-252, 1988.
- FLOEGE, J.; HACKMANN, B.; KLIEM, V.; KRIZ, W.; ALPERS, C. E.; JOHNSON, R. J.; KUHN, K. W.; KOCH, K. M. & BRUNKHORST, R. – Age-related glomerulosclerosis and interstitial fibrosis in milan normotensive rats: A podocyte disease. **Kidney International**, **51**: 230-243, 1997.
- FOGO, A.; YOSHIDA Y.; GLICK, A. D.; HOMMA, T. & ICHILAWA, L. – Serial micropuncture analysis of glomerular function in two rat models of glomerular sclerosis. **J. Clin. Invest.**, **82**: 322-330, 1988.
- FUJIMURA, M.D. – Níveis das subclasses da imunoglobulina G em crianças normais e nefróticas. Tese de doutorado, Faculdade de Ciências Médicas da Universidade de São Paulo, 1990.
- FURUKAWA, S.; HIRANO, T.; MAMO, J. C. L.; NAGANO, S. & TAKAHASHI, T. – Catabolic defect of triglyceride is associated with abnormal very-low-density lipoprotein in experimental nephrosis. **Metabolism**, **39**: 101-107, 1990.
- GARIN, E. H.; GRANT, M. B.; SILVERSTEIN, J. H. – Insulinlike Growth Factors in Patients with active nephrotic syndrome. **American Journal Disease Child**, **143** (7): 865-7, 1989.

- GAVIN, L. A.; MCMAHON, F. A.; CASTLE, J. N. & CAVALIERI, R. R. – Alterations in serum thyroid hormones and thyroxine-binding globulin in patients with nephrosis. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, **46**: 125-129, 1978.
- GLASSER, R. J.; VELOSA, J. A. & MICHAEL, A. F. –Experimental model of focal sclerosis I- Relationship to protein excretion in aminonucleoside nephrosis. **Laboratory Investigation**, **36**: 519-526, 1977.
- GOLDBERG, A. C. R. K.; OLIVEIRA, H. C. F.; QUINTÃO, E. C. R. & MCNAMARA, D. J. – Increased hepatic cholesterol production due to liver hypertrophy in rat experimental nephrosis. **Biochimica et Biophysica Acta**, **710**: 71-75, 1982.
- GROND, J. & ELEMA, J. D. – Glomerular Mesangium Analysis of the increased activity observed in experimental acute aminonucleoside nephrosis in the rat. **Laboratory Investigation**, **45**: 400-409, 1981.
- GROND, J.; KOUDSTAAL, J. & ELEMA, J. D. – Mesangial function and glomerular sclerosis in rats with aminonucleoside nephrosis. **Kidney International**, **27**: 405-410, 1985.
- GROND, J.; SCHILTHUIS, M. S.; KOUDSTAAL, J. & ELEMA, J. D. – Mesangial function and glomerular sclerosis in rats after unilateral nephrectomy. **Kidney International**, **22**: 338-343, 1982.
- GROND, J.; WEENING, J. J. & ELEMA, J. D. – Glomerular sclerosis in nephrotic rats. Comparison of the long-term effects of adriamycin and aminonucleoside. **Laboratory Investigation**, **51**: 277-285, 1984.
- GUTMAN, A. & SHAFRIR, E. – Adipose tissue in experimental nephrotic syndrome. **Am. J. Physiol.**, **205**: 702-706, 1963.
- HABIB, R.; KLEINLSNECHT, C.L.; RAYER, P. – Le syndrome nephrotique primitif de l'enfant- Classification et estude anátomo-clinique de 406 observations. **Arch Fr Pediatr**, **23**: 277-319, 1971.

- HIRANO, T. & MOROHOSHI, T. – Treatment of hyperlipidemia with probucol supresses the development of focal and segmental glomerulosclerosis in chronic aminonucleoside nephrosis. **Nephron**, **60**: 443-447, 1992.
- HIRANO, T.; MAMO, J. C. L.; NAGANO, S. & SUGISAKI, T. – The lowering effect of probucol on plasma lipoprotein and proteinuria in puromycin aminonucleoside-induced nephrotic rats. **Nephron**, **58**: 95-100, 1991.
- HIRANO, T.; MAMO, J. C. L.; OHNAMO, K. & SUGISAKI, T. – Treatment of hyperlipidemia with probucol reduces proteinuria in puromycin aminonucleoside-induced nephrotic rats. **Nephron**, **54**: 358-359, 1990.
- HOWIE, A. J. – Segmental sclerosing glomerular lesions. **Pediatr Nephrol**, **7**: 370-374, 1993.
- HOYER, J. R.; MAUER, S. M. & MICHAEL, A. F. – Unilateral renal disease in the rat. I. Clinical, morphologic, and glomerular mesangial functional features of the experimental model produced by renal perfusion with aminonucleoside. **J. Lab. Clin. Med.**, **85**: 756-768, 1975.
- HOYER, J.R.; ELEMA, J.D. & VERNIER, R.L. – Unilateral renal disease in the rat II. Glomerular mesangial uptake of colloidal carbon in nephrotoxic serum nephritis. **Laboratory Investigation**, **34**: 250-255, 1976.
- ICHIKAWA, I.; RENNKE, H. G.; HOYER, J. R.; BADR, K. F.; SCHOR, N. & TROY, J. L. – Role for intrarenal mechanisms in the impaired salt excretion of experimental nephrotic syndrome. **J. Clin. Invest.**, **71**: 91-103, 1983.
- JENSEN H., JARNUM S. & HANSEN J. P. HART – Gastrointestinal protein loss and intestinal function in the Nephrotic Syndrome. **Nephron**, **3**: 209-220, 1966.
- KORKOR, A.; SCHWARTZ, J.; BERGFELD, M.; TEITELBAUM, S.; AVIOLI, L.; KLAHR, S. & SLATOPOLSKY, E. – Absence of metabolic bone disease in adult patients with the nephrotic syndrome and normal renal function. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, **56**: 496-500, 1983.

- LLAMA, P. F.; ANDREWS, P.; NIELSEN, S.; ECELBARGER, C. A. & KNEPPER, M. A. – Impaired aquaporin and urea transporter expression in rats with adriamycin-induced nephrotic syndrome. **Kidney International**, **53**: 1244-1253, 1998.
- LOSCHIAVO, C.; LUPO, E.; VALVO, E.; TESSITORE, N. FERRARI, S.; CORGBATI, A. & MASCHIO, G. – Carbohydrate metabolism in patients with nephrotic syndrome and normal renal function. **Nephron**, **33**: 257-261, 1983.
- MARSH, J. & SPARKS, C. E. – Hepatic secretion of lipoproteins in the rat and the effect of experimental nephrosis. **J. Clin. Invest.**, **64**: 1229-1237, 1979.
- MARSH, J. B. & DRABKIN, D. L. – Experimental reconstruction of metabolic pattern of lipid nephrosis: Key role of hepatic protein synthesis in hyperlipemia. **Metabolism**, **9**: 946, 1960.
- METCOFF J. & JANEWAY C. A. – Studies on the pathogenesis of nephrotic edema. **The journal of Pediatrics**, **58**: 640-685, 1961.
- MIMURA, K.; ZHAO, B.; MUGURUMA, K.; FRENKEL, R. A. & JOHNSTON, J. M. – Changes in glycerophospholipid profile in experimental nephrotic syndrome. **Metabolism**, **45**: 822-826, 1996.
- MISHRA, O.P.; GARG, R.; USHA, A.L. ; DAS, B.K. – Immunoglobulins and circulating immune complexes in nephrotic syndrome. **J. trop. Pediatric**, **43**: 93-97, 1997.
- MORIN, R. J.; DAVIDSON, W. D.; RORKE, S. J. & GUO, L. S. S. – Lipid metabolism in plasma, liver, and adipose tissue of rats with experimental chronic nephrotic syndrome. **Lipids**, **12**: 208-213, 1977.
- MYNDERSE L. A.; HASSELL, J. R.; KLEINMAN, H. K.; MARTIN, G. R. & HERNANDEZ, A. M. – Loss of heparan sulfate proteoglycan from glomerular basement membrane of nephrotic rats. **Laboratory Investigation**, **48**: 292-302, 1983.

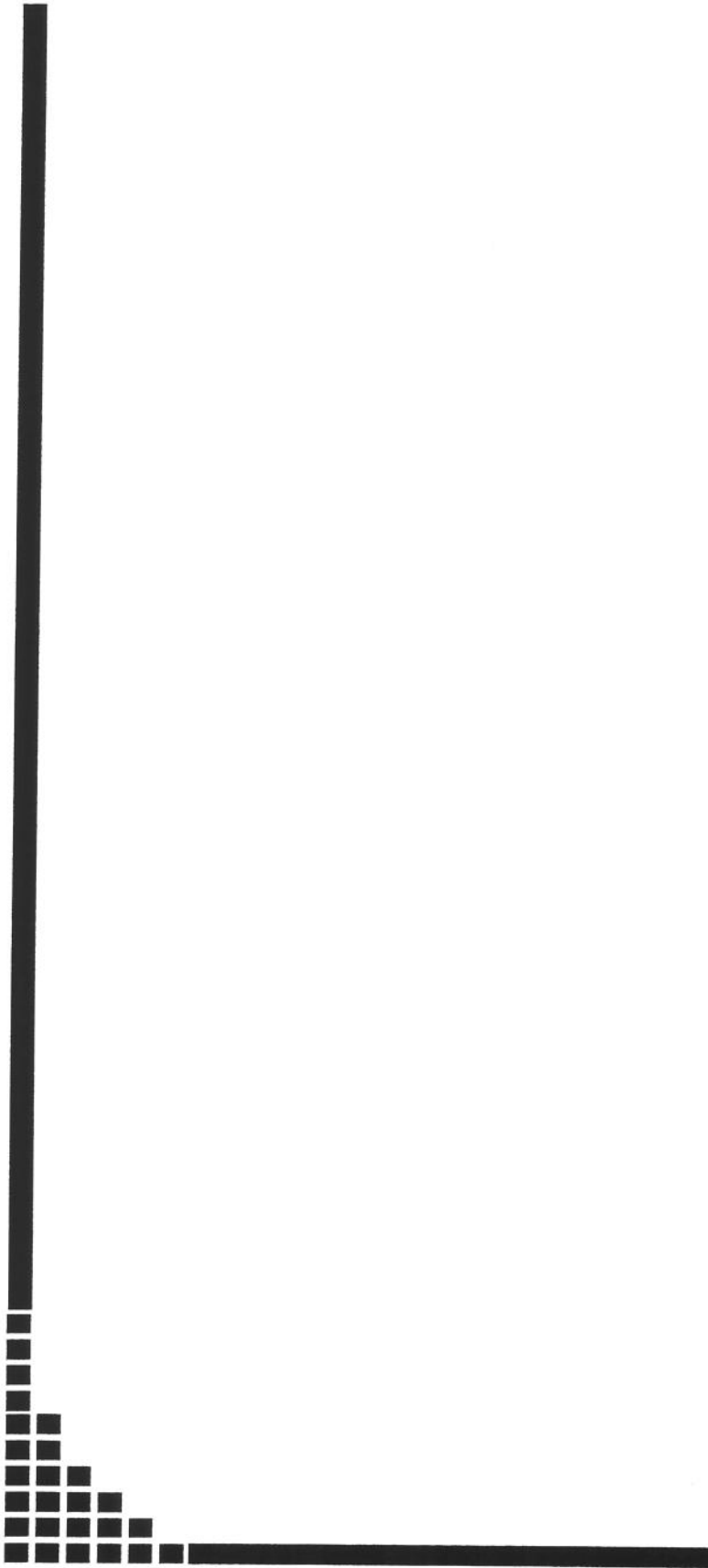
- OHSAWA, H.; YAMABE, H.; OZAWA, K.; FUKUSHI, K.; KUBOTA, H.; CHIBA, N.; SOHMA, Y.; KANAZAWA, T. & ONODERA, K. – Intraglomerular lipid deposition in experimental focal glomerular sclerosis in the rat. **Nephron**, **50**: 66, 1988.
- OLIVET, G.; KITHIER, K.; GIACOMELLI, F. & WIENER, J. – Glomerular permeability to endogenous proteins in the rat. **Laboratory Investigation**, **44**: 127-137, 1981.
- OLMER, M.; PAIN, C.; DUSSOL, B. AND BERAND, Y. – Protein diet and nephrotic syndrome. **Kidney International**, **36**: 152-153, 1989.
- OLSON, J. L.; HOSTETTER, T. H.; RENNKE, H. G.; BRENNER, B. M. & VENKATACHALAM, M. A. – Altered glomerular permselectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. **Kidney International**, **22**: 112-126, 1982.
- OLSON, J. L.; RENNKE, H. G. & VENKATACHALAM, M. A. - Alterations in the charge and size selectivity barrier of the glomerular filter in aminonucleoside nephrosis in rats. **Laboratory Investigation**, **44**: 271-279, 1981.
- POGGI, A.; KORNBLIHTT, L.; DELAINI, F.; COLOMBO, T.; MUSSONI, L.;
- REYERS, I.; DONATI, M.B. – Delayed hypercoagulability after a single dose of adriamycin to normal rats. **Thromb Res**, **16**: 639, 1979.
- PORTMAN, R. J.; KISSANE, J. M. & ROBSON, A. M. – Use of b2 microglobulin to diagnose tubulo-interstitial renal lesions in children. **Kidney International**, **30**: 91-98, 1986.
- RADDE I. C. – Drugs and protein binding. *Pediatric Pharmacology Therapeutics*. Second edition, 31-42, 1993.
- RASCHER, W.; TULASSAY, T.; SEYBERTH, H. W.; HIMBERT, U.; LANG, V.; LANG, U. AND SCHARER, K. – Diuretic and hormonal responses to head out water immersion in nephrotic syndrome. **Journal of Pediatrics**, **109**: 609-614, 1986.

- ROSENMAN, R. H.; FRIEDMAN, M. & BYERS, S. O. – The causal role of plasma albumin deficiency in experimental nephrotic hyperlipemia and hypercholesteremia. **Journal clin. Invest.** **35**: 522-531, 1956.
- ROSTOKER, G.; ZALESKI, I. D.; PHAR, M. P.; MAADI, A. B.; JAZAERLI, N.; RADIER, C.; RAHMOUNI, A.; MATHIEU, D.; VASILE, N.; ROSSO, J.; MEIGNAN, M.; RÉMY, P.; LANG, P. & WEIL, B. – Prevention of thrombotic complications of the nephrotic syndrome by the low-molecular-weight heparin enoxaparin. **Nephron**, **69**: 20-28, 1995.
- RYAN, G. B. & KARNOVSKY M. J. – An ultrastructural study of the mechanisms of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. **Kidney International**, **8**: 219-232, 1975.
- SAITO, T. & ATKINS R. C. – Contribution of mononuclear leucocytes to the progression of experimental focal glomerular sclerosis. **Kidney International**, **37**: 1076-1083, 1990.
- SEEFELDT, T.; BOHMAN, S.O.; GUNDERSEN, H. J. G.; MAUNSBACH, A. B.; PETERSEN, V. P. & OLSEN, S. – Quantitative relationship between glomerular foot process width and proteinuria in glomerulonephritis. **Laboratory Investigation**, **44**: 541-546, 1981.
- SESTAK, T.L.; ALAVI, N. & SUBBAIAH, P.V.–Plasma lipids and acyltransferase activities in experimental nephrotic syndrome. **Kidney International**, **36**: 240-248, 1989.
- SMOYER, W. S.; GUPTA, A.; MUNDEL, P.; BALLEW, J. D. & WELSH, M.J. – Altered expression of glomerular heat shock protein 27 in experimental nephrotic syndrome. **J.Clin. Invest.**, **12**: 2697-2704, 1996.
- SQUIRE J.R.–The nephrotic syndrome. **Advances in Internal Medicine**, **7**:201-204, 1956.
- SRIVASTAVA, R. N.; DIVEN, S.; KALIA, A.; TRAVIS, L. B. & ANSARI, N. H. – Increased glomerular and urinary malondialdehyde in puromycin aminonucleoside-induced proteinuria in rats. **Pediatr Nephrol**, **9**:48-51, 1995.

- SUZUKI, J.; WATANABE, K.; KOBAYASHI, T.; YOSHIDA, K.; WATANABE, Y.; KUMADA, K.; SUZUKI, S.; KUME, K. & SUZUKI, H. – Effect of sairei-to on prostaglandin E2-induced phosphatidylinositol breakdown in aminonucleoside nephrotic rat. **Nephron**, **75**: 208-212, 1997.
- TENCER, J.; FRICK, I. M.; OQUIST, B. W.; ALM, P. & RIPPE, B. – Size-selectivity of the glomerular barrier to high molecular weight proteins: Upper size limitations of shunt pathways. **Kidney International**, **53**: 709-715, 1998.
- TESSITORE, N.; BONUCCI, E.; D'ANGELO, A.; LUND, B.; CORGNATI, A.; BIRGER, L.; VALVO, E.; LUPO, A.; LOSCHIAVO, C.; FABRIS, A. & MASCHIO, G. – Bone histology and calcium metabolism in patients with nephrotic syndrome and normal or reduced renal function. **Nephron**, **37**: 153-159, 1984.
- TONELLI, E. – Doenças infecciosas na infância. MEDSI, 1994.
- TOPOROVSKI, J.; MELLO, V.R.; PERRONE, H.C.; MARTINI FILHO, D. . Nefrologia Pediátrica- São Paulo: Savier, 1991.
- UEDA, N.; BALIGA, R. & SHAH, S. V. – Role of “catalytic”iron in na animal model of minimal change nephrotic syndrome. **Kidney International**, **49**: 370-373, 1996.
- VELOSA, J. A.; GLASSER, R. J.; NEVINS, T. E. & MICHAEL, A. F. – Experimental model of focal sclerosis II- Correlation with immunopathologic changes, macromolecular kinetics, and polyanion loss. **Laboratory Investigation**, **36**: 527-534, 1977.
- VENKATACHALAM, M. A.; COTRAN, R. S. & KARNOVSKY, M. J. – An ultrastructural study of glomerular permeability in aminonucleoside nephrosis using catalase as a tracer protein. **Journal Exp. Med.**, **132**: 1168-1180, 1970.
- WASHIZAWA, K.; KASAI, S.; MORI, T.; KOMIYAMA, A. & SHIGEMATSU, H. – Ultrastructural alteration of glomerular anionic sites in nephrotic patients. **Pediatr Nephrol**, **7**: 1-5, 1993.

- WEENING, J. J. & RENNKE, H. G. – Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. **Kidney International**, **24**: 152-159, 1983.
- WEISMAN R. S., HOWLAND M. A., REYNOLDS J. R. & SMITH C. – Pharmacokinetic and toxicokinetic principles. Goldfrank's toxicologic emergencies. Fifth edition, 85-98, 1994.
- WEST, C. D.; HONG, R. & HOLLAND, N. H. – Effect of cyclophosphamide on lipid nephrosis in the human and on aminonucleoside nephrosis in the rat. **The Journal of Pediatrics**, **68**: 516-524, 1966.
- WU, J. C.; FAN, G. M.; KITAZAWA, K. & SUGISAKI, T. – The relationship of adhesion molecules and leukocyte infiltration in chronic tubulointerstitial nephritis induced by puromycin aminonucleoside in wistar rats. **Clinical immunology and immunopathology**, **79**: 229-235, 1996.
- YOSHIDA, Y.; FOGO, A. & ICHIKAWA, I. – Glomerular hemodynamic changes vs. Hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. **Kidney International**, **35**: 654-660, 1989.





## ***9. APÊNDICE***



**Tabela 8:** Diferentes modelos experimentais utilizando-se puromicina, referidos na literatura. Dose, via de administração, resultados e objetivos.

## MODELOS AGUDOS

| Referências          | Abe et al.(1988)                                                                             | Agbedana et al.(1993)                                                                  | Alfrey & Hammond (1990)                                                                                    | Andrews (1977)                                                                                                   |
|----------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dose puromicina      | 1,5 por 6 dias                                                                               | 3                                                                                      | 5 e 33                                                                                                     | 18                                                                                                               |
| Via administração    | IP                                                                                           | EV                                                                                     | EV e IP                                                                                                    | EV                                                                                                               |
| Intervalo observação | 15 dias                                                                                      | 10-14 dias                                                                             |                                                                                                            | 6 dias                                                                                                           |
| Proteinúria 24 horas | 427,6+/-61,4                                                                                 |                                                                                        | 558+/-204                                                                                                  | 400-600                                                                                                          |
| Albuminúria 24 horas |                                                                                              |                                                                                        |                                                                                                            |                                                                                                                  |
| Proteinemia          |                                                                                              | 6,2+/-0,9                                                                              |                                                                                                            |                                                                                                                  |
| Albuminemia          |                                                                                              | 2,5+/-0,53                                                                             | 1,11+/-0,25                                                                                                |                                                                                                                  |
| Objetivo             | Avaliação das alterações nos glomérulos de ratos analbuminêmicos com nefrose por puromicina. | Estudo das anormalidades do metabolismo de lípidos em síndrome nefrótica experimental. | Manipulação do ferro renal em síndrome nefrótica em 3 modelos: puromicina, adriamicina e soro nefrotóxico. | Comparação das alterações à microscopia eletrônica da nefrose por puromicina e proteinúria por hiperalbuminemia. |
|                      |                                                                                              |                                                                                        |                                                                                                            |                                                                                                                  |

Legenda: SC:subcutâneo  
PRE:perfusão renal esquerda  
IP:intraperitoneal  
EV:endovenoso

Unidades: Dose:mg/100g peso do animal  
Proteinúria de 24 horas e albuminúria de 24 horas: mg/dia  
Proteinemia e albuminemia: g/dl

## Continuação

| Avasthi & Albuquerque (1979)                                                             | Avasthi & Albuquerque (1979)                                                                                                | Bohrer et al. (1977)                                                                                              | Caulfield & Farquhar (1978)                                                                                             |
|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 15                                                                                       | 15                                                                                                                          | 1,67 por 6 a 7 dias                                                                                               | 1,67 por 5 a 7 dias                                                                                                     |
| EV                                                                                       | EV                                                                                                                          | SC                                                                                                                | SC                                                                                                                      |
| 4 dias                                                                                   | 3-4 dias                                                                                                                    |                                                                                                                   |                                                                                                                         |
| 50 (20 a 105,6)                                                                          | 18 a 105                                                                                                                    |                                                                                                                   |                                                                                                                         |
|                                                                                          |                                                                                                                             |                                                                                                                   |                                                                                                                         |
| 4,09                                                                                     | 3,28 a 4,88                                                                                                                 |                                                                                                                   |                                                                                                                         |
|                                                                                          |                                                                                                                             |                                                                                                                   |                                                                                                                         |
| Estudo da permeabilidade da barreira peritônio-sangue em ratos que receberam puromicina. | Análise da permeabilidade glomerular em nefrose induzida por puromicina, em ratos. Estudo do papel das células endoteliais. | Análise dos mecanismos pelo qual a puromicina induz defeito na passagem transglomerular de água e macromoléculas. | Desenvolvimento da nefrose por puromicina em ratos e análise da perda de sítios aniônicos da membrana basal glomerular. |
|                                                                                          |                                                                                                                             |                                                                                                                   |                                                                                                                         |
|                                                                                          |                                                                                                                             |                                                                                                                   |                                                                                                                         |

## Continuação

| Diamant & Shafir (1974)                                             | Diamond & Karnovsky (1987)                                                                                  | Eddy & Warren (1996)                                                                                     | Furukawa et al. (1990)                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2 por 7 dias                                                        | 5                                                                                                           | 15                                                                                                       | 10                                                                                       |
| SC                                                                  | EV                                                                                                          | IP                                                                                                       | IP                                                                                       |
|                                                                     | 18 semanas                                                                                                  |                                                                                                          |                                                                                          |
|                                                                     | 119,7±17,7                                                                                                  |                                                                                                          | 200                                                                                      |
|                                                                     |                                                                                                             | 202±16/ 100 mg                                                                                           |                                                                                          |
|                                                                     |                                                                                                             |                                                                                                          | 3,1±1                                                                                    |
|                                                                     |                                                                                                             |                                                                                                          |                                                                                          |
| Estudo da lipogênese na Síndrome nefrótica induzida por puromicina. | Análise da exacerbação da nefrose induzida por puromicina através da suplementação dietética de colesterol. | Estudo da expressão e função da proteína 1 quimoatrante de monócitos em síndrome nefrótica experimental. | Avaliação do defeito catabólico de triglicérides em nefrose experimental por puromicina. |
|                                                                     |                                                                                                             |                                                                                                          |                                                                                          |
|                                                                     |                                                                                                             |                                                                                                          |                                                                                          |

## Continuação

| Grond & Elema (1981)                                                                                       | Gutman & Shafrir (1963)                                                                           | Hirano et al. (1991)                                                                                                    | Hirano et al. (1990)                                                                                                  | Hoyer et al. (1976)                                                                                                                       |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6                                                                                                          | 1,5 por 9 a 11 dias                                                                               | 10                                                                                                                      | 10                                                                                                                    | 6                                                                                                                                         |
| EV                                                                                                         | SC                                                                                                | IP                                                                                                                      | IP                                                                                                                    | EV e PRE                                                                                                                                  |
| 7 dias                                                                                                     |                                                                                                   |                                                                                                                         | 10 dias                                                                                                               | 10 dias                                                                                                                                   |
| 53+/-12,1                                                                                                  |                                                                                                   | 300-500                                                                                                                 | 343+/-6                                                                                                               |                                                                                                                                           |
|                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                                                                         |                                                                                                                       | 296+/-43 e 104+/-8                                                                                                                        |
|                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                                                                         |                                                                                                                       |                                                                                                                                           |
|                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                                                                         |                                                                                                                       |                                                                                                                                           |
| Estudo da função me-<br>sangial e ultraestru-<br>tura em ratos com ne-<br>frose aguda por puro-<br>micina. | Estudo do metabolismo<br>do tecido adiposo em<br>síndrome nefrótica indu-<br>zida por puromicina. | Avaliação do efeito do<br>probucol na lipoproteína<br>plasmática em ratos ne-<br>fróticos induzido por pu-<br>romicina. | Avaliação do tratamen-<br>to da hiperlipidemia com<br>probucol em ratos nefró-<br>ticos induzido por puro-<br>micina. | Analisar "uptake" me-<br>sangial de carbono<br>coloidal em nefrose<br>unilateral com puromi-<br>cina e nefrite com so-<br>ro nefrotóxico. |
|                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                                                                         |                                                                                                                       |                                                                                                                                           |
|                                                                                                            |                                                                                                   |                                                                                                                         |                                                                                                                       |                                                                                                                                           |

## Continuação

| Hoyer et al. (1975)                                                                                                                                      | Marsh & Sparks (1979)                                                                                        | Mimura et al. (1996)                                                                                    | Mynderse et al. (1983)                                                                                  | Olson et al. (1981)                                                                                                                                           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 6                                                                                                                                                        | 10                                                                                                           | 10                                                                                                      | D1=15 D8=5 D15=2,5                                                                                      | 15                                                                                                                                                            |
| EV e PRE                                                                                                                                                 | IP                                                                                                           | IP                                                                                                      | EV                                                                                                      | EV                                                                                                                                                            |
| 11 dias                                                                                                                                                  |                                                                                                              | 7 dias                                                                                                  |                                                                                                         | 9 dias                                                                                                                                                        |
|                                                                                                                                                          |                                                                                                              |                                                                                                         |                                                                                                         | 175                                                                                                                                                           |
| 279+/-95 e 107+/-35                                                                                                                                      |                                                                                                              | 534+/-142                                                                                               |                                                                                                         |                                                                                                                                                               |
|                                                                                                                                                          |                                                                                                              |                                                                                                         |                                                                                                         |                                                                                                                                                               |
| 0,72+/-0,14 e 1,18+/-0,22                                                                                                                                |                                                                                                              | 1,88+/-0,21                                                                                             |                                                                                                         |                                                                                                                                                               |
| Desenvolver síndrome<br>Nefrótica através de per-<br>fusão renal com puromi-<br>cina e analisar fatores<br>clínicos, morfológicos e<br>função mesangial, | Estudo da secreção<br>hepática de lipoprotei-<br>nas em ratos com<br>nefrose experimental<br>com puromicina. | Mudanças no perfil<br>Glicerofosfolípidios<br>em síndrome experi-<br>mental induzida por<br>puromicina. | Avaliação da perda<br>de Heparan Sulfate<br>Proteoglycan da mem-<br>brana basal de ratos<br>nefróticos. | Análise das laterções<br>da barreira de carga e<br>seletividade de tama-<br>nho do filtro glomeru-<br>lar em nefrose induzi-<br>da por puromicina em<br>Ratos |
|                                                                                                                                                          |                                                                                                              |                                                                                                         |                                                                                                         |                                                                                                                                                               |

## Continuação

| Ryan & Karnovsky (1975)    | Smoyer et al. (1996)  | Srivastava et al. (1995) | Suzuki et al. (1997)  |
|----------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| 15                         | 15                    | 5                        | 9                     |
| EV                         | IP                    | EV                       | IP                    |
| 5 dias                     | 10 dias               | 7-12 dias                | 14 dias               |
| 72 (45 a 99)               | 506+/-96              | 132,06+/-30,1            | 48                    |
|                            |                       | 8,6+/-0,62               |                       |
|                            |                       |                          |                       |
| Estudo ultraestrutural dos | Descrição da alterada | Aumentado malondialdeí-  | Descrição do efeito   |
| Mecanismos de proteinú-    | exorressão da Protei- | do glomerular e urinário | do Sairei-to, uma er- |
| ria em nefrose por puro-   | na 27 Heat Shock glo- | em proteinúria induzida  | va medicinal chinesa, |
| micina.                    | merular em síndrome   | por puromicina em ratos, | em ratos nefróticos   |
|                            | nefrótica por puromi- | indicativo de peroxida-  | Induzido por puromi-  |
|                            | cina.                 | ção lipídeos.            | Cina.                 |
|                            |                       |                          |                       |

## Continuação

| Tencer et al. (1998)  | Ueda et al. (1996)     | Venkatachalam et al. (1970)    | West et al. (1966)     |
|-----------------------|------------------------|--------------------------------|------------------------|
| 15                    | 7,5                    | 1,67 por 10 dias               | 1,5 por 13 a 14 dias   |
| IP                    | EV                     | SC                             | SC                     |
|                       | 7 dias                 |                                |                        |
|                       | 279+/-37               |                                |                        |
|                       |                        |                                |                        |
|                       |                        |                                |                        |
| 4,937 (3,2 a 6,72)    |                        |                                |                        |
| Seletividade de tama- | Análise do papel do    | Estudo ultraestrutural da per- | Análise do efeito da   |
| nho da barreira glo-  | ferro catalítico em um | meabilidade glomerular em      | ciclofosfamida na ne-  |
| merular a proteínas   | modelo animal de sín-  | nefrose por puromicina,        | frose lipídica em hu-  |
| de alto peso glomeru- | drome nefrótica le-    | usando catalase como um        | manos e na nefrose     |
| lar em ratos nefrótí- | sões mínimas por pu-   | marcador de proteína.          | induzida por puromici- |
| cos por puromicina.   | romicina.              |                                | na em ratos.           |
|                       |                        |                                |                        |

## MODELOS CRÔNICOS

| Referências             | Fogo et al. (1988)                                                                                               | Glasser et al. (1977)                                                                        |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| Dose puromicina         | 10 + 4 nas semanas 4,5,6                                                                                         | 13; 22 dias após nefrectomia mais 4,3 nos dias 27,34 e 41                                    |
| Via administração       | IP                                                                                                               | IP                                                                                           |
| Intervalo observação    | 8 semanas                                                                                                        | 50 dias                                                                                      |
| Proteinúria de 24 horas | 348                                                                                                              | Nefrectomia= 350 Não nefrectomia= 250                                                        |
| Albuminúria de 24 horas |                                                                                                                  |                                                                                              |
| Proteinemia             |                                                                                                                  |                                                                                              |
| Albuminemia             |                                                                                                                  |                                                                                              |
| Objetivo                | Análise micropunção da função glomerular em 2 modelos de esclerose glomerular, por puromicina e por adriamicina. | Modelo experimental de esclerose focal induzida por Puromicina- estudo da excreção proteica. |
|                         |                                                                                                                  |                                                                                              |
|                         |                                                                                                                  |                                                                                              |
|                         |                                                                                                                  |                                                                                              |
|                         |                                                                                                                  |                                                                                              |
|                         |                                                                                                                  |                                                                                              |
|                         |                                                                                                                  |                                                                                              |

## Continuação

| Grond et al. (1985)                                                                                                                       | Hirano & Morohoshi (1992)                                                                                                      |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 2,semanal (3 doses); 2 em semanas alternadas (12 doses)                                                                                   | 100; 25 em semanas alternadas (5 doses)                                                                                        |
| SC                                                                                                                                        | IP                                                                                                                             |
| 4 semanas                                                                                                                                 | 12 semanas                                                                                                                     |
| 190+/-80                                                                                                                                  | 428+-95                                                                                                                        |
|                                                                                                                                           |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                           | 1,93+/-0,27                                                                                                                    |
| Estudo da possível relação entre disfunção mesangial e Desenvolvimento de esclerose focal em modelo de síndrome nefrótica por puromicina. | Observação se o tratamento a longo prazo Da hiperlipidemia com probucol em síndrome Nefrótica por puromicina suprime desenvol- |
|                                                                                                                                           | Vimento de glomeruloesclerose focal e Segmentar.                                                                               |
|                                                                                                                                           |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                           |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                           |                                                                                                                                |

## Continuação

|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Saito & Atkins (1990)                                                                                                                                      | Wu et al. (1996)                                                                                                               |
| 1 por 4 dias; 10 dias após 0,5 por 4 dias                                                                                                                  | 2 por 3 semanas; 2 semanas alternadas (12 doses)                                                                               |
| SC                                                                                                                                                         | SC                                                                                                                             |
|                                                                                                                                                            | 12 semanas                                                                                                                     |
|                                                                                                                                                            | 96,7 +/-34,3                                                                                                                   |
|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |
| Análise da contribuição dos leucócitos para a progressão da glomeruloesclerose focal experimental após administração de puromicina e sulfato de protamina. | A relação das moléculas de adesão e infiltração de leucócitos em nefrite túbulo intersticial induzida por puromicina em ratos. |
|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |
|                                                                                                                                                            |                                                                                                                                |

Legenda para as Tabelas de 9 à 20:

Sub-Grupo1(SS): Ratos submetidos a cirurgia simulada e salina

Sub-Grupo2(NS): Ratos submetidos a nefrectomia e salina

Sub-Grupo3(SP): Ratos submetidos a cirurgia simulada e puromicina

Sub-Grupo4(NP): Ratos submetidos a nefrectomia e puromicina

**Tabela 9:** Valores dos pesos, gramas, dos 64 ratos estudados.

| Rato | Sub-Grupo | Peso 1 | Peso 2 | Peso 3 | Peso 4 | Peso 5 | Peso 6 | Peso 7 | Peso 8 |
|------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1    | 1         | 233    | 293    | 284,4  | 321,5  | 332,5  | 389,8  | 446,4  | 413    |
| 2    | 2         | 192    | 251,3  | 242    | 256,3  | 278,6  | 323,7  | 377,6  | 356    |
| 3    | 3         | 214    | 272,1  | 265,6  | 273    | 280,3  | 332,9  | 380    | 346    |
| 4    | 4         | 221    | 281,6  | 283,6  | 273,5  | 295,5  | 338,2  | 398,2  | 385    |
| 5    | 1         | 205    | 272,9  | 255,6  | 281    | 299,2  | 329,4  | 383,8  | 364    |
| 6    | 2         | 195    | 244,9  | 233,2  | 259,6  | 275,3  | 307,4  | 357,2  | 324    |
| 7    | 3         | 220    | 273    | 290,8  | 278    | 279,4  | 348,7  | 410,1  | 385    |
| 8    | 4         | 225    | 243,9  | 245,6  | 231,8  | 246,5  | 299,1  | 350,2  | 329    |
| 9    | 4         | 206    | 256,2  | 258,1  | 247,7  | 288,7  | 322,6  | 391,5  | 381    |
| 10   | 3         | 217    | 259,2  | 243,2  | 269    | 297,4  | 336,2  | 387,8  | 361    |
| 11   | 2         | 241,5  | 240,7  | 251    | 222    | 238    | 281    | 308,9  | 330    |
| 12   | 1         | 240,7  | 252,9  | 276    | 280,7  | 279    | 332    | 360,2  | 370    |
| 13   | 4         | 250,8  | 239    | 251    | 239    | 240    | 291    | 319,5  | 333    |
| 14   | 3         | 229,7  | 240,8  | 236    | 241,4  | 241    | 284    | 302,5  | 307    |
| 15   | 2         | 230,2  | 247,5  | 260    | 266    | 288    | 321    | 342,5  | 355    |
| 16   | 1         | 213,8  | 252,6  | 265    | 276,5  | 277    | 322    | 338,5  | 347    |
| 17   | 4         | 226,5  | 233,6  | 251    | 242,2  | 252    | 300    | 328,7  | 350    |
| 18   | 3         | 217    | 237,2  | 242    | 244,7  | 258    | 308    | 339,7  | 354    |
| 19   | 2         | 230,5  | 220,7  | 240    | 262,2  | 262    | 297    | 320,1  | 337    |
| 20   | 1         | 217,2  | 233,1  | 251    | 260    | 273    | 307    | 323    | 353    |
| 21   | 1         | 252,2  | 275,5  | 246    | 279,8  | 294,2  | 325,7  | 350,3  | 347    |
| 22   | 2         | 231    | 264,6  | 239    | 266,6  | 281,8  | 319,4  | 336,2  | 340    |
| 23   | 3         | 260    | 287,6  | 249    | 280,1  | 298,3  | 326,7  | 331,6  | 347,7  |
| 24   | 4         | 246    | 271,1  | 251,3  | 270,5  | 288,3  | 318,2  | 326,5  | 324    |
| 25   | 1         | 223,7  | 247,9  | 250,4  | 262,3  | 269,8  | 298,1  | 321,5  | 361    |
| 26   | 2         | 226,4  | 257,7  | 252,8  | 277,2  | 292,4  | 329,1  | 351,8  | 334    |
| 27   | 3         | 239,1  | 269,5  | 275,8  | 266,8  | 272,4  | 314,7  | 335,4  | 353    |
| 28   | 4         | 222    | 236,6  | 226,4  | 209,7  | 243,7  | 294,2  | 314,3  | 326    |
| 29   | 1         | 261,4  | 306    | 317,4  | 334,5  | 355,3  | 396,8  | 421,3  | 413    |
| 30   | 2         | 253,4  | 273    | 270,6  | 282,2  | 300,4  | 334,6  | 351,5  | 354    |
| 31   | 3         | 224,9  | 250    | 261,9  | 271,3  | 278,5  | 308,6  | 351,1  | 355    |

|    |   |       |       |       |       |       |       |       |       |
|----|---|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 32 | 4 | 238,6 | 252,8 | 238,7 | 223,2 | 257,5 | 312,5 | 325,6 | 345   |
| 33 | 2 | 232   | 269,6 | 285,9 | 310,7 | 330,2 | 366,7 | 401,5 | 403,1 |
| 34 | 1 | 230,9 | 269,4 | 288,1 | 309,2 | 331,1 | 366,6 | 404,7 | 420   |
| 35 | 2 | 192,9 | 203,2 | 222,3 | 243,1 | 252,2 | 277   | 316,5 | 329,3 |
| 36 | 3 | 221,3 | 258,5 | 263,3 | 285,9 | 300,8 | 332,5 | 367,6 | 377,1 |
| 37 | 4 | 180,9 | 214,5 | 217,8 | 222,6 | 247,4 | 288,4 | 321,7 | 333,1 |
| 38 | 1 | 236,3 | 294,8 | 320,6 | 346,3 | 359,3 | 382,3 | 427,7 | 437,1 |
| 39 | 4 | 251,3 | 248,7 | 248   | 246,2 | 269,2 | 316,4 | 311,9 | 311,7 |
| 40 | 1 | 200,5 | 279   | 287,3 | 309,6 | 319,1 | 338,5 | 364,5 | 361,5 |
| 41 | 2 | 247,4 | 276,2 | 294,4 | 303,5 | 282,3 | 321,3 | 365,4 | 379,6 |
| 42 | 3 | 184   | 237,7 | 241,1 | 259,5 | 318,2 | 308,5 | 365,9 | 376   |
| 43 | 4 | 240,2 | 268,4 | 279,4 | 328,3 | 341,7 | 379,2 | 403   | 413,8 |
| 44 | 3 | 237,7 | 261,6 | 302   | 261,4 | 286,9 | 327,2 | 370,3 | 385   |
| 45 | 1 | 247,9 | 284,2 | 303,1 | 296,8 | 333,6 | 363,1 | 395,3 | 379,5 |
| 46 | 2 | 255,4 | 272,9 | 301,9 | 289,7 | 323,8 | 342,8 | 363,3 | 345,8 |
| 47 | 3 | 244   | 302,3 | 335,2 | 321,5 | 347,1 | 387,3 | 405,4 | 403,4 |
| 48 | 2 | 255,3 | 277,5 | 304,6 | 306,7 | 339,8 | 376,8 | 414,6 | 406,2 |
| 49 | 4 | 238,5 | 283,3 | 230,6 | 217,7 | 249,8 | 288,4 | 310,5 | 296,7 |
| 50 | 1 | 199,1 | 219,6 | 304,9 | 302,5 | 338,4 | 368,1 | 385,6 | 372,8 |
| 51 | 1 | 277,4 | 301,2 | 317,8 | 320,5 | 347,5 | 371,6 | 400,7 | 397,7 |
| 52 | 2 | 255,6 | 298,8 | 325,8 | 319,5 | 360   | 388,8 | 400,5 | 389,1 |
| 53 | 3 | 252,5 | 284,6 | 285,6 | 292,8 | 327,5 | 353,7 | 368,9 | 360,4 |
| 54 | 4 | 232,5 | 250,2 | 262,9 | 235,9 | 280,1 | 291,7 | 329,6 | 320,6 |
| 55 | 4 | 227,1 | 261,7 | 280,5 | 240,5 | 298   | 336,1 | 366,6 | 355   |
| 56 | 3 | 211,5 | 248,8 | 248,8 | 250,4 | 279,8 | 304,6 | 313,8 | 327,5 |
| 57 | 4 | 222,2 | 220,3 | 238   | 251,3 | 265,7 | 300   | 340   | 321   |
| 58 | 3 | 230,4 | 232,1 | 248,8 | 265,4 | 274,8 | 307   | 340   | 329   |
| 59 | 2 | 241,4 | 245,1 | 277   | 287,5 | 296,5 | 314,1 | 346   | 335   |
| 60 | 1 | 244,7 | 260   | 305,1 | 325,6 | 336,4 | 382   | 425   | 406,3 |
| 61 | 2 | 224,3 | 234,4 | 267,8 | 286,1 | 296,5 | 320   | 352   | 358,7 |
| 62 | 3 | 206,4 | 226,5 | 245,2 | 266,1 | 277,9 | 311   | 345   | 335,6 |
| 63 | 4 | 226,7 | 228,5 | 238,6 | 255,9 | 264,8 | 274,2 | 285   | 287,6 |
| 64 | 1 | 217   | 238,5 | 276,5 | 286,4 | 297,8 | 341   | 385   | 367   |

**Tabela 10:** Valores do volume de diurese, em ml, dos 64 ratos estudados.

| Rato | Sub-Grupo | Diurese1 | Diurese2 | Diurese3 | Diurese4 | Diurese5 | Diurese6 | Diurese7 | Diurese8 |
|------|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 1    | 1         | 37       | 45,8     | 45       | 42,2     | 32,8     | 39       | 38,2     | 38       |
| 2    | 2         | 31,8     | 28,8     | 23,6     | 35,4     | 25,2     | 27       | 19,4     | 20,8     |
| 3    | 3         | 29,2     | 21       | 26,2     | 8        | 28,4     | 24,8     | 19,6     | 26       |
| 4    | 4         | 35,6     | 31,8     | 11,2     | 17,6     | 18,8     | 37       | 25,2     | 34       |
| 5    | 1         | 15,4     | 18       | 12,8     | 13,4     | 13,4     | 21,4     | 12,4     | 19,2     |
| 6    | 2         | 13,6     | 21       | 16,2     | 23       | 25,2     | 19,2     | 14,2     | 15,2     |
| 7    | 3         | 31       | 18,2     | 8,4      | 12,6     | 17,2     | 22,2     | 19,8     | 19       |
| 8    | 4         | 19,6     | 18       | 12,4     | 6,9      | 11,6     | 12       | 9        | 8,4      |
| 9    | 4         | 12,6     | 18,4     | 13,8     | 11,8     | 12,2     | 12,8     | 15,2     | 10,2     |
| 10   | 3         | 33,2     | 26,8     | 4,8      | 13,4     | 22,4     | 22,6     | 26,4     | 32       |
| 11   | 2         | 29,2     | 32,2     | 5,2      | 12       | 32,5     | 19,4     | 26       | 31       |
| 12   | 1         | 33,2     | 21       | 15       | 16,2     | 13,1     | 17,2     | 16,2     | 16       |
| 13   | 4         | 16,6     | 15,2     | 13,4     | 14,2     | 24,2     | 18,2     | 17,4     | 16,8     |
| 14   | 3         | 35       | 36,8     | 18,4     | 20,4     | 22       | 32       | 31       | 28,4     |
| 15   | 2         | 29,2     | 38       | 22       | 19       | 29       | 26,2     | 33       | 32,8     |
| 16   | 1         | 22,8     | 21,4     | 19       | 19,2     | 20,6     | 23,2     | 14,8     | 25       |
| 17   | 4         | 17       | 20       | 8,8      | 13       | 4        | 9        | 23,8     | 16,2     |
| 18   | 3         | 17       | 28,6     | 10,2     | 5,2      | 14,2     | 22,2     | 16       | 27,4     |
| 19   | 2         | 28       | 21,2     | 19       | 9,2      | 5,4      | 12,8     | 12,4     | 19,6     |
| 20   | 1         | 14,4     | 21,4     | 11       | 11,4     | 9        | 15       | 15,6     | 16,8     |
| 21   | 1         | 26,4     | 25       | 4,2      | 21       | 19,2     | 17       | 12,4     | 14       |
| 22   | 2         | 36,6     | 37       | 15,8     | 32       | 24       | 34       | 33,2     | 21,8     |
| 23   | 3         | 19       | 19,4     | 13,6     | 13       | 6,8      | 7        | 20,2     | 10,6     |
| 24   | 4         | 12,2     | 27,2     | 12,2     | 14,4     | 8,6      | 11       | 15,2     | 6,8      |
| 25   | 1         | 5        | 15       | 12,6     | 13,2     | 10       | 10,2     | 7        | 9,8      |
| 26   | 2         | 37,2     | 35,6     | 32,2     | 33       | 32,3     | 24,8     | 34,6     | 30,2     |
| 27   | 3         | 2,8      | 24,2     | 13,2     | 13       | 12       | 16,6     | 14       | 7,6      |
| 28   | 4         | 23       | 40       | 16,4     | 15,8     | 23       | 19,4     | 24,2     | 13,2     |
| 29   | 1         | 13,8     | 24,8     | 13,4     | 29,4     | 24,6     | 15,8     | 20       | 18,4     |
| 30   | 2         | 30,4     | 24,4     | 15       | 20       | 11,8     | 15,8     | 7        | 8,2      |
| 31   | 3         | 15,8     | 21,8     | 13,2     | 13,8     | 14,8     | 15,2     | 5,2      | 6        |
| 32   | 4         | 17       | 20,4     | 11,2     | 11,4     | 14,6     | 16,4     | 7,2      | 8        |
| 33   | 2         | 18,6     | 17,6     | 9,2      | 14,8     | 8,4      | 12,4     | 15,9     | 9        |
| 34   | 1         | 29       | 24,2     | 20,2     | 18,2     | 20,6     | 25,4     | 11,3     | 7,2      |
| 35   | 2         | 16       | 24,4     | 22,4     | 18,6     | 17,8     | 9,6      | 21       | 17       |
| 36   | 3         | 9,6      | 7,2      | 3,4      | 14,6     | 18       | 21,2     | 24       | 12,2     |
| 37   | 4         | 13,8     | 9        | 5        | 6        | 11,4     | 11,4     | 15       | 12,1     |
| 38   | 1         | 14,2     | 7        | 5,2      | 12       | 5,4      | 3        | 16       | 17       |
| 39   | 4         | 11       | 19,8     | 9,6      | 17,8     | 20,4     | 13       | 21       | 9,3      |
| 40   | 1         | 7,8      | 10,8     | 10,4     | 25       | 11,8     | 24,4     | 23       | 22,9     |
| 41   | 2         | 11,2     | 9,8      | 29,6     | 25,4     | 24,4     | 13,8     | 24,6     | 23       |

|    |   |      |      |      |      |      |      |      |      |
|----|---|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 42 | 3 | 7,4  | 7,8  | 4    | 14,2 | 15   | 15,2 | 16,9 | 9,8  |
| 43 | 4 | 12,2 | 10,6 | 12   | 20,2 | 23,2 | 32,4 | 35   | 31   |
| 44 | 3 | 22,6 | 27,4 | 10,4 | 11,2 | 14   | 13,2 | 13,1 | 17,2 |
| 45 | 1 | 33   | 9    | 10,1 | 5    | 10   | 11   | 13   | 13,8 |
| 46 | 2 | 31   | 19,8 | 22   | 13,7 | 11,4 | 6,6  | 6    | 12   |
| 47 | 3 | 8,2  | 36   | 15   | 11   | 7    | 12,2 | 16,4 | 4,2  |
| 48 | 2 | 17   | 24   | 22,9 | 21   | 13   | 11   | 5,7  | 11,4 |
| 49 | 4 | 7,4  | 33   | 11,1 | 19,5 | 35,2 | 20,2 | 16,8 | 15,2 |
| 50 | 1 | 35   | 36   | 29   | 31,2 | 28,8 | 15   | 11,9 | 22,2 |
| 51 | 1 | 33   | 36   | 18,9 | 34,5 | 30,8 | 35,4 | 34,2 | 24,8 |
| 52 | 2 | 38   | 35   | 35   | 26,5 | 33   | 18,8 | 13   | 19,2 |
| 53 | 3 | 19   | 17   | 7,8  | 8    | 11,8 | 4,4  | 13,3 | 5,8  |
| 54 | 4 | 10   | 23   | 8,9  | 10   | 16,8 | 15,2 | 4    | 12,8 |
| 55 | 4 | 23,2 | 33   | 9,7  | 18   | 20   | 17,2 | 12,2 | 20,2 |
| 56 | 3 | 4,8  | 23,4 | 22   | 11   | 16,8 | 20   | 17,2 | 31,2 |
| 57 | 4 | 26   | 3    | 16   | 19   | 28   | 21,8 | 12,8 | 23   |
| 58 | 3 | 16   | 17   | 3    | 4,2  | 5,3  | 10,4 | 3,2  | 16   |
| 59 | 2 | 23   | 34   | 29   | 35,2 | 33,8 | 23,4 | 20,8 | 25,3 |
| 60 | 1 | 19,8 | 33,8 | 8,9  | 30   | 26   | 21   | 7    | 16,8 |
| 61 | 2 | 8,2  | 26   | 22,5 | 5,2  | 22,8 | 9,4  | 2,5  | 16,4 |
| 62 | 3 | 16,6 | 4,9  | 4,8  | 7,1  | 9,3  | 14,2 | 13,8 | 13   |
| 63 | 4 | 22   | 23,8 | 4,5  | 5,8  | 29,8 | 1    | 18,6 | 14,2 |
| 64 | 1 | 13,2 | 21,5 | 16,8 | 28,6 | 16,2 | 12   | 11,4 | 11,8 |

**Tabela 11:** Valores da dosagem de creatinina sérica, em mg% dos 64 ratos estudados

| Rato | Sub-Grupo | Creat.1 | creat.2 | creat.3 | creat.4 | creat.5 | creat.6 | creat.7 | creat.8 |
|------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1    | 1         | 0,43    | 0,39    | 0,49    | 0,53    | 0,34    | 0,73    | 0,59    | 0,28    |
| 2    | 2         | 0,68    | 0,53    | 0,43    | 0,63    | 0,39    | 0,92    | 1,1     | 0,5     |
| 3    | 3         | 0,44    | 0,4     | 0,43    | 0,54    | 0,34    | 0,65    | 0,31    | 0,64    |
| 4    | 4         | 0,72    | 0,54    | 0,59    | 0,67    | 0,45    | 0,64    | 0,73    | 0,55    |
| 5    | 1         | 0,41    | 0,4     | 0,44    | 0,4     | 0,28    | 0,47    | 0,4     | 0,48    |
| 6    | 2         | 0,5     | 0,74    | 0,39    | 0,5     | 0,43    | 0,56    | 0,39    | 0,53    |
| 7    | 3         | 0,48    | 1,1     | 0,43    | 0,55    | 0,5     | 0,76    | 0,7     | 0,42    |
| 8    | 4         | 0,32    | 0,59    | 0,96    | 0,83    | 0,38    | 0,66    | 0,71    | 0,52    |
| 9    | 4         | 0,9     | 0,49    | 0,73    | 0,69    | 0,4     | 0,55    | 0,79    | 0,61    |
| 10   | 3         | 1,8     | 0,36    | 0,59    | 0,68    | 0,41    | 0,38    | 0,67    | 0,47    |
| 11   | 2         | 0,55    | 0,63    | 0,61    | 0,37    | 0,49    | 0,43    | 0,63    | 0,49    |
| 12   | 1         | 0,71    | 0,48    | 0,4     | 0,27    | 0,29    | 0,35    | 0,53    | 0,51    |
| 13   | 4         | 0,47    | 0,64    | 0,64    | 0,32    | 0,42    | 0,38    | 0,46    | 0,51    |
| 14   | 3         | 0,47    | 0,42    | 0,46    | 0,9     | 0,33    | 0,33    | 0,38    | 0,48    |
| 15   | 2         | 0,5     | 0,53    | 0,46    | 0,45    | 0,4     | 0,51    | 0,46    | 0,51    |
| 16   | 1         | 0,5     | 0,42    | 0,53    | 0,3     | 0,3     | 0,35    | 0,43    | 0,44    |
| 17   | 4         | 0,49    | 0,58    | 0,54    | 0,45    | 0,41    | 0,38    | 0,42    | 0,4     |
| 18   | 3         | 0,53    | 0,49    | 0,43    | 0,39    | 0,36    | 0,36    | 0,46    | 0,52    |
| 19   | 2         | 0,58    | 0,52    | 0,5     | 0,43    | 0,45    | 0,41    | 0,64    | 0,49    |
| 20   | 1         | 0,45    | 0,5     | 0,44    | 0,32    | 0,41    | 0,3     | 0,39    | 0,51    |
| 21   | 1         | 0,58    | 0,48    | 0,43    | 0,46    | 0,39    | 0,28    | 0,34    | 0,28    |
| 22   | 2         | 0,77    | 0,62    | 0,49    | 0,53    | 0,33    | 0,37    | 0,37    | 0,36    |
| 23   | 3         | 0,48    | 0,3     | 0,42    | 0,44    | 0,45    | 0,25    | 0,4     | 0,4     |
| 24   | 4         | 0,54    | 0,31    | 0,47    | 0,61    | 0,5     | 0,41    | 0,43    | 0,42    |
| 25   | 1         | 0,39    | 0,23    | 0,48    | 0,37    | 0,47    | 0,29    | 0,3     | 0,27    |
| 26   | 2         | 0,42    | 0,39    | 0,43    | 0,47    | 0,47    | 0,42    | 0,37    | 0,46    |
| 27   | 3         | 0,44    | 0,25    | 0,49    | 0,46    | 0,43    | 0,36    | 0,39    | 0,32    |
| 28   | 4         | 0,42    | 0,4     | 0,55    | 0,63    | 0,5     | 0,33    | 0,35    | 0,29    |
| 29   | 1         | 0,48    | 0,17    | 0,48    | 0,37    | 0,57    | 0,33    | 0,4     | 0,31    |
| 30   | 2         | 0,6     | 0,33    | 0,54    | 0,54    | 0,4     | 0,5     | 0,46    | 0,35    |
| 31   | 3         | 0,49    | 0,24    | 0,45    | 0,42    | 0,66    | 0,36    | 0,32    | 0,27    |
| 32   | 4         | 0,45    | 0,43    | 0,57    | 0,6     | 0,57    | 0,57    | 0,67    | 0,35    |
| 33   | 2         | 0,33    | 0,31    | 0,34    |         | 0,35    |         | 0,45    | 0,35    |
| 34   | 1         | 0,23    | 0,24    | 0,23    |         | 0,27    |         | 0,53    | 0,23    |
| 35   | 2         | 0,28    | 0,29    | 0,24    |         | 0,39    |         | 0,42    | 0,28    |
| 36   | 3         | 0,3     | 0,34    | 0,23    |         | 0,29    |         | 0,29    | 0,27    |
| 37   | 4         | 0,26    | 0,21    | 0,32    |         | 0,28    |         | 0,33    | 0,3     |
| 38   | 1         | 0,29    | 0,28    | 0,29    |         | 0,26    |         |         |         |
| 39   | 4         | 0,38    |         |         |         | 0,57    |         | 0,4     | 0,27    |
| 40   | 1         | 0,33    | 0,27    | 0,39    |         | 0,29    |         | 0,46    | 0,28    |
| 41   | 2         | 0,33    | 0,32    | 0,34    |         | 0,29    |         | 0,24    | 0,2     |

|    |   |      |      |      |   |      |   |      |      |
|----|---|------|------|------|---|------|---|------|------|
| 42 | 3 | 0,47 | 0,61 | 0,31 | , | ,    | , | 0,32 | 0,26 |
| 43 | 4 | 0,31 | 0,21 | 0,37 | , | 0,22 | , | 0,58 | 0,23 |
| 44 | 3 | 0,35 | 0,3  | 0,71 | , | 0,34 | , | 0,59 | 0,27 |
| 45 | 1 | 0,19 | 0,19 | 0,24 | , | 0,25 | , | 0,44 | 0,29 |
| 46 | 2 | 0,18 | 0,31 | 0,3  | , | 0,32 | , | 0,49 | 0,33 |
| 47 | 3 | 0,15 | 0,22 | 0,32 | , | 0,34 | , | 0,34 | 0,31 |
| 48 | 2 | 0,15 | 0,3  | 0,36 | , | 0,31 | , | 0,73 | 0,37 |
| 49 | 4 | 0,31 | 0,42 | 0,64 | , | 0,38 | , | 0,42 | 0,32 |
| 50 | 1 | 0,18 | 0,24 | 0,23 | , | 0,24 | , | 0,52 | ,    |
| 51 | 1 | 0,16 | 0,33 | 0,24 | , | 0,34 | , | 0,36 | 0,24 |
| 52 | 2 | 0,26 | 0,34 | 0,33 | , | 0,36 | , | 0,39 | 0,23 |
| 53 | 3 | 0,19 | 0,22 | 0,24 | , | 0,24 | , | ,    | 0,35 |
| 54 | 4 | 0,18 | 0,27 | 0,78 | , | 0,33 | , | 0,34 | 0,31 |
| 55 | 4 | ,    | 0,39 | 0,68 | , | 0,42 | , | 0,61 | 0,34 |
| 56 | 3 | 0,12 | 0,68 | 0,21 | , | 0,36 | , | 0,51 | 0,26 |
| 57 | 4 | 0,26 | 0,3  | 0,38 | , | ,    | , | ,    | 0,39 |
| 58 | 3 | 0,24 | 0,21 | 0,28 | , | 0,16 | , | 0,4  | 0,36 |
| 59 | 2 | 0,28 | 0,3  | 0,28 | , | 0,32 | , | 0,37 | 0,26 |
| 60 | 1 | 0,26 | 0,36 | 0,33 | , | 0,27 | , | 0,53 | 0,34 |
| 61 | 2 | 0,23 | 0,36 | 0,3  | , | 0,3  | , | 0,47 | ,    |
| 62 | 3 | 0,27 | 0,35 | 0,27 | , | 0,3  | , | 0,31 | 0,22 |
| 63 | 4 | 0,26 | 0,28 | 0,33 | , | 0,34 | , | 0,38 | 0,31 |
| 64 | 1 | 0,28 | 0,27 | 0,22 | , | 0,26 | , | 0,28 | 0,21 |

**Tabela 12:** Valores da dosagem de creatinina urinária, em mg%, dos 64 ratos estudados.

| Rato | Sub-Grupo | Creat.uri.1 | creat.uri.2 | creat.uri.3 | creat.uri.4 | creat.uri.5 | creat.uri.6 | creat.uri.7 | creat.uri.8 |
|------|-----------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 1    |           | 11,1        | 9,51        | 12,1        | 15,8        | 24,1        | 24,1        |             | 18,1        |
| 2    |           | 13          | 18,47       | 25          | 16,4        | 31,9        | 31          |             | 47,5        |
| 3    |           | 18,6        | 23          | 25,4        | 52,7        | 25,8        | 30,5        |             | 23,9        |
| 4    |           | 13,3        | 19,3        | 48,5        | 33,7        | 34,5        | 19,7        |             | 29          |
| 5    |           | 29,8        | 17,4        | 53,3        | 32,7        | 56,9        | 40,7        |             | 46,8        |
| 6    |           | 29          | 23,5        | 25,7        | 23,5        | 28,4        | 41,4        |             | 50,3        |
| 7    |           | 13,7        | 23,3        | 50,5        | 49,9        | 40,9        | 35,4        |             | 34,8        |
| 8    |           | 19,6        | 18,3        | 34,8        | 50,8        | 32,7        | 51,9        |             | 78,1        |
| 9    |           | 32,7        | 27          | 29,4        | 37,3        | 36,1        | 48,8        |             | 34,1        |
| 10   |           | 17,8        | 24          | 88,5        | 40,3        | 36,67       | 36,5        |             | 31,8        |
| 11   |           | 17          | 13,9        | 75,9        | 43,5        | 10,9        | 34,1        | 21,6        | 23,5        |
| 12   |           | 12,5        | 19,3        | 17,9        | 38,5        | 32,3        | 46,7        | 47,4        | 39,9        |
| 13   |           | 9,3         | 24,5        | 27,6        | 39,6        | 15,8        | 42,1        | 31,4        | 20,2        |
| 14   |           | 10,8        | 12,7        | 16,3        | 24,1        | 16,1        | 20,6        | 19,1        | 23,6        |
| 15   |           | 9,1         | 14          | 16,6        | 37,9        | 15          | 15,5        | 26,2        | 29,5        |
| 16   |           | 22,3        | 18,2        | 20,9        | 9,9         | 21,3        | 31,1        | 47,5        | 13,2        |
| 17   |           | 24,4        | 13          | 36,8        | 29,7        | 67,6        | 77,3        | 24,9        | 10,7        |
| 18   |           | 26,4        | 9,8         | 34,2        | 22,7        | 30          | 27,7        | 46,9        | 19,5        |
| 19   |           | 12,8        | 15,9        | 20,1        | 26,7        | 63,2        | 56,3        | 51,3        | 37,7        |
| 20   |           | 26,3        | 12,4        | 40,7        | 16,7        | 49,9        | 43,1        | 38,4        | 20,6        |
| 21   |           | 28,2        | 16,9        | 102,6       | 32,7        | 30,5        | 53,1        | 46,7        | 44,5        |
| 22   |           | 8,5         | 18,2        | 24,7        | 20,7        | 19          | 27          | 20,5        | 24,4        |
| 23   |           | 34,2        | 37,5        | 30,3        | 39,9        | 84,4        | 118,7       | 25,6        | 50,1        |
| 24   |           | 56,8        | 10,7        | 48,1        | 42,9        | 71,4        | 58,7        | 41,6        | 84,2        |
| 25   |           | 79,6        | 23,2        | 37,6        | 39,9        | 45,9        | 57,9        | 69,8        | 58,4        |
| 26   |           | 7,05        | 4,6         | 17,1        | 17,7        | 20,7        | 35,3        | 21,8        | 58          |
| 27   |           |             | 28,7        | 39,9        | 30,8        | 41,2        | 39,8        | 31,8        | 52,8        |
| 28   |           | 40,58       | 4,8         | 21,8        | 20,3        | 22,1        | 37,6        | 12          | 47,6        |
| 29   |           | 15,64       | 7,3         | 39,7        | 21,1        | 22,9        | 50,5        | 26          | 33,4        |
| 30   |           | 21,17       | 7,9         | 29,8        | 19,4        | 52,9        | 56,5        | 84          | 90,2        |
| 31   |           | 25,88       | 26          | 54,6        | 41,6        | 32,9        | 49,1        | 104,2       | 88,7        |
| 32   |           | 39,17       | 18,7        | 41,3        | 34,6        | 41,1        | 37,9        | 65,3        | 71,5        |
| 33   |           | 16,2        | 15,17       | 41,17       |             | 47,64       |             | 49,83       | 79,42       |
| 34   |           | 10,97       | 22,11       | 18,27       |             | 20,67       |             | 55,07       | 88,87       |
| 35   |           | 17,06       | 19,37       | 10,82       |             | 15,7        |             | 15,82       | 20,14       |
| 36   |           | 27,77       | 8,91        | 78,09       |             | 13,68       |             | 5,55        | 56,09       |
| 37   |           | 20,31       | 37,54       | 59,35       |             | 32,02       |             | 38,42       | 39,04       |
| 38   |           | 25,63       | 29,66       | 76,15       |             | 71,19       |             | 52,29       | 51,37       |
| 39   |           | 30,68       | 49,63       | 25,57       |             | 17,64       |             | 21,88       | 36,16       |
| 40   |           | 38,4        | 9,94        | 40,15       |             | 23,31       |             | 23,01       | 28,46       |
| 41   |           | 30          | 41,05       | 15,51       |             | 13,99       |             | 24,66       | 24,45       |

|    |  |       |       |       |   |       |   |       |        |
|----|--|-------|-------|-------|---|-------|---|-------|--------|
| 42 |  | 27,94 | 38,57 | 57,51 | , | 25,96 | , | 37,29 | 71,81  |
| 43 |  | 25,8  | 29,48 | 28,98 | , | 19,89 | , | 16,64 | 13,56  |
| 44 |  | 15,42 | 41,14 | 43,84 | , | 25,41 | , | 42,74 | 34,73  |
| 45 |  | 11,36 | 49,9  | 14,55 | , | 39,49 | , | 22,41 | 125,87 |
| 46 |  | 8,84  | 19,85 | 21,57 | , | 36,39 | , | 59,9  | 43,66  |
| 47 |  | 34,85 | 13,18 | 17,13 | , | 61,95 | , | 31,33 | 91,75  |
| 48 |  | 10,92 | 15,6  | 11,8  | , | 26,45 | , | 56,58 | 50,95  |
| 49 |  | 27,57 | 15,43 | 19,52 | , | 8,34  | , | 11,66 | 18     |
| 50 |  | 35,29 | 9,45  | 14,11 | , | 14,82 | , | 14,16 | 22,75  |
| 51 |  | 11,53 | 11,79 | 14,11 | , | 15,09 | , | 12,83 | 20,25  |
| 52 |  | 4,77  | 2,86  | 13,76 | , | 17,39 | , | 28,66 | 19,24  |
| 53 |  | 10,92 | 23,32 | 45,26 | , | 35,5  | , | 27,58 | 13,33  |
| 54 |  | 23,15 | 12,14 | 15,97 | , | 22    | , | 90,46 | 51,08  |
| 55 |  | 12,4  | 15,26 | 23,52 | , | 12,96 | , | 30,08 | 27,33  |
| 56 |  | 39,97 | 1,04  | 11,63 | , | 15,18 | , | 25,75 | 36,41  |
| 57 |  | 11,78 | 69,38 | 24,85 | , | 15,51 | , | 37,35 | 13,09  |
| 58 |  | 21,44 | 7,55  | 88,34 | , | 56,03 | , | 44,22 | 40,37  |
| 59 |  | 11,41 | 6,16  | 11,32 | , | 12,55 | , | 21,95 | 16,41  |
| 60 |  | 15,83 | 4,42  | 53,38 | , | 17,54 | , | 96,04 | 51,34  |
| 61 |  | 22,91 | 8,83  | 11,04 | , | 14,4  | , | 99,56 | 40,67  |
| 62 |  | 21,9  | 54,66 | 41,32 | , | 33,78 | , | 36,95 | 44,8   |
| 63 |  | 13,8  | 4,6   | 77,85 | , | 17,17 | , | 14,8  | 21,34  |
| 64 |  | 25,03 | 1,84  | 18,96 | , | 16,89 | , | 58,19 | 60,2   |

**Tabela 13:** Valores dos clearances de creatinina, em ml/mim/100mg, dos 32 ratos onde se realizou o exame

| Rato | Sub-Grupo | CLEAR.1 | CLEAR.2 | CLEAR.3 | CLEAR.4 | CLEAR.5 | CLEAR.6 | CLEAR.7 | CLEAR.8 |
|------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1    | 1         | 284,6   | 264,7   | 271,3   | 271,7   | 485,5   | 229,3   |         | 413     |
| 2    | 2         | 219,8   | 277,3   | 393,7   | 249,7   | 513,7   | 195,1   |         | 385,4   |
| 3    | 3         | 400,5   | 308,2   | 404,6   | 198,6   | 533,9   | 242,7   |         | 194,8   |
| 4    | 4         | 206,6   | 280,3   | 225,4   | 224,7   | 338,7   | 233,8   |         | 323,3   |
| 5    | 1         | 379,1   | 199,2   | 421,2   | 270,7   | 632     | 390,6   |         | 357,1   |
| 6    | 2         | 280,9   | 189,1   | 317,9   | 289,1   | 419,8   | 320,6   |         | 309,2   |
| 7    | 3         | 279,2   | 98      | 235,5   | 285,5   | 349,7   | 205,9   |         | 283,9   |
| 8    | 4         | 370,5   | 158,9   | 127     | 126,5   | 281,2   | 219,1   |         | 266,3   |
| 9    | 4         | 154,3   | 274,8   | 149,5   | 178,8   | 264,8   | 244,4   |         | 103,9   |
| 10   | 3         | 105     | 478,6   | 205,5   | 205     | 467,8   | 448,3   |         | 416,4   |
| 11   | 2         | 259,5   | 204,9   | 179     | 441,3   | 210,9   | 210,9   | 200,4   | 312,8   |
| 12   | 1         | 168,6   | 231,8   | 168,9   | 571,4   | 363,1   | 480     | 279,3   | 234,9   |
| 13   | 4         | 90,9    | 169     | 159,8   | 510,6   | 263,4   | 481,2   | 258,1   | 138,7   |
| 14   | 3         | 243,1   | 320,9   | 191,8   | 157,1   | 309,2   | 488,4   | 357,7   | 315,8   |
| 15   | 2         | 160,3   | 281,6   | 212     | 417,7   | 262,2   | 172,2   | 381,1   | 371,1   |
| 16   | 1         | 330,3   | 254,9   | 196,3   | 159,1   | 366,6   | 444,6   | 335,4   | 150     |
| 17   | 4         | 259,5   | 133,2   | 165,9   | 246     | 181,7   | 423,8   | 298,1   | 85,9    |
| 18   | 3         | 271     | 167,4   | 232,8   | 85,89   | 318,5   | 385,1   | 333,4   | 201,5   |
| 19   | 2         | 186     | 203,9   | 221     | 151,3   | 201     | 410,9   | 215,6   | 310,7   |
| 20   | 1         | 269,1   | 158,1   | 281,5   | 158,9   | 278,6   | 487,4   | 330,2   | 133,5   |
| 21   | 1         | 353,4   | 221,8   | 282,9   | 370,5   | 354,4   | 687,3   | 337,6   | 445,2   |
| 22   | 2         | 121,4   | 285     | 231,4   | 325,5   | 340,5   | 539,4   | 379,9   | 295,7   |
| 23   | 3         | 361,5   | 585,5   | 273,6   | 292,2   | 296,9   | 706,4   | 270,7   | 265,1   |
| 24   | 4         | 362,2   | 240,4   | 345     | 259,9   | 295,8   | 343,7   | 312,7   | 292,1   |
| 25   | 1         | 316,96  | 423,8   | 273,7   | 376,8   | 251,3   | 474,4   | 351,8   | 407,7   |
| 26   | 2         | 191,5   | 113,1   | 351,7   | 311,3   | 337,8   | 439,8   | 402,4   | 791,7   |
| 27   | 3         |         | 715,8   | 270,6   | 226,5   | 293,1   | 404,9   | 236,3   | 246,6   |
| 28   | 4         | 695,14  | 140,8   | 199,3   | 168,5   | 289,6   | 521,7   | 183,3   | 461,5   |
| 29   | 1         | 119,4   | 241,6   | 242,4   | 348     | 193,1   | 423,1   | 214,2   | 333,3   |
| 30   | 2         | 293,9   | 148,5   | 212,4   | 176,8   | 360,7   | 370,5   | 252,5   | 414,5   |
| 31   | 3         | 257,6   | 656     | 424,6   | 349,8   | 183,9   | 466,5   | 334,9   | 385,5   |
| 32   | 4         | 430,6   | 243,7   | 236     | 204,5   | 283,9   | 242,3   | 149,6   | 328,9   |



**Tabela 14:** Valores da proteína sérica (PS), em mg/%, dos 32 ratos onde se realizou o exame

| Rato | Sub-Grupo | PS.1 | PS.2 | PS.3 | PS.4 | PS.5 | PS.6 | PS.7 | PS.8 |
|------|-----------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| 33   | 2         | 6,72 |      | 6,26 | 6,15 | 4,25 | 5,7  | 7    | 6,71 |
| 34   | 1         | 6,26 |      | 6,27 | 6,45 | 6,54 | 5,96 | 6,7  | 6,57 |
| 35   | 2         | 4,76 |      | 6,44 | 4,92 | 6,55 | 6,56 | 6,75 | 6,59 |
| 36   | 3         | 5,81 |      | 5,97 | 6,08 | 6,72 | 6,78 | 7,17 | 7,06 |
| 37   | 4         | 6,4  |      | 5,56 | 6,38 | 5,88 | 6,71 | 6,43 | 6,13 |
| 38   | 1         | 6,13 |      | 6,4  | 7,02 | 6,13 | 6,87 | 6,85 |      |
| 39   | 4         | 6,45 |      | 6,27 | 5,64 | 7,21 | 6,35 | 7,11 | 6,66 |
| 40   | 1         | 6,26 |      | 5,58 | 6,86 | 6,87 | 7,43 | 6,94 | 6,61 |
| 41   | 2         | 5,74 |      | 5,26 | 6,15 |      | 6,73 | 6,9  | 6,19 |
| 42   | 3         | 5,46 |      | 6,1  | 6,02 | 5,88 | 6,29 | 6,9  | 6,64 |
| 43   | 4         | 6,06 |      | 5,88 | 5,39 | 6,74 | 7,41 | 6,43 | 6,82 |
| 44   | 3         | 6,44 |      | 4    | 5,65 | 5,39 | 6,75 | 6,29 | 6,45 |
| 45   | 1         | 5,44 |      | 6,63 | 6,42 | 5,97 | 6,33 | 5,46 | 4,87 |
| 46   | 2         | 6,07 |      | 6,45 | 5,23 | 5,82 | 5,86 | 6,33 | 6,34 |
| 47   | 3         | 6,34 |      | 4,51 | 5,73 | 6,96 | 6,02 | 6,45 | 5,34 |
| 48   | 2         | 6,39 |      | 5,21 | 4,72 | 5,49 | 5,78 | 5,64 | 6,04 |
| 49   | 4         | 5,78 |      |      | 6,47 | 5,26 | 6,09 | 6,49 | 6,38 |
| 50   | 1         | 5,75 |      | 6,29 | 6,13 | 5,89 | 4,43 | 6,58 |      |
| 51   | 1         | 6,27 |      | 6,09 | 5,68 | 5,12 | 5,73 | 6,54 | 6,33 |
| 52   | 2         | 6,34 |      | 5,86 | 4,99 | 5,05 | 6,27 | 6,56 | 6,25 |
| 53   | 3         | 5,68 |      | 5,82 | 4,78 | 5,89 | 6,02 | 6,51 | 6,2  |
| 54   | 4         | 5,62 |      |      | 5,28 | 5,86 | 5,82 | 6,78 | 5,17 |
| 55   | 4         | 6,74 |      | 4,09 | 3,66 | 5,78 | 5,84 | 6,18 | 6,38 |
| 56   | 3         | 5,61 |      | 5,59 | 4,33 | 6,45 | 6,34 | 6,13 | 6,15 |
| 57   | 4         | 6,83 |      | 6,14 | 6,62 | 7,04 | 6,89 | 6,95 | 5,61 |
| 58   | 3         | 6,14 |      | 5,84 | 6,05 | 6,49 | 6,07 | 6,8  | 6,14 |
| 59   | 2         | 5,56 |      | 6,37 | 6,57 | 7,2  | 5,86 | 7,01 | 6,45 |
| 60   | 1         | 6,48 |      | 6,52 | 6,75 | 6,95 | 6,64 | 6,78 | 6,03 |
| 61   | 2         | 6,16 |      | 6,09 | 6,18 | 6,19 | 6,7  | 6,49 |      |
| 62   | 3         | 6,46 |      | 6,42 | 5,75 | 6,32 | 6,86 | 7,23 | 5,97 |
| 63   | 4         | 6,53 |      | 5,94 | 5,83 | 6,91 | 5,48 | 5,64 | 5,86 |
| 64   | 1         | 6,37 |      | 6,27 | 6,64 | 6,36 | 6,49 | 6,8  | 6,12 |



**Tabela 15:** Valores da proteinúria de 24 horas (PU), em mg/24 horas, dos 32 ratos onde se realizou o exame

| Rato | Sub-Grupo | PU.1  | PU.2  | PU.3   | PU.4   | PU.5   | PU.6   | PU.7  | PU.8  |
|------|-----------|-------|-------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|
| 33   | 2         | 17,48 | 22    | 16,74  | 10,06  | 14,45  | 12,52  | 16,69 | 15,66 |
| 34   | 1         | 15,37 | 14,52 | 16,76  | 19,84  | 18,13  | 13,21  | 14,69 | 15,91 |
| 35   | 2         | 8,16  | 4,39  | 14,56  | 9,11   | 9,79   | 19     | 7,35  | 12,24 |
| 36   | 3         | 17,47 | 11,59 | 8,84   | 273,31 | 20,16  | 13,99  | 3,84  | 17,81 |
| 37   | 4         | 11,73 | 13,32 | 41,6   | 148,2  | 59,28  | 15,16  | 19,05 | 14,52 |
| 38   | 1         | 16,61 | 11,48 | 10,81  | 10,56  | 9,83   | 4,53   | 9,76  | 12,42 |
| 39   | 4         | 15,4  | 19,6  | 19,97  | 370,24 | 254,59 | 145,34 | 23,52 | 74,96 |
| 40   | 1         | 6,78  | 16,52 | 16,22  | 13,25  | 11,33  | 7,32   | 8,05  | 12,59 |
| 41   | 2         | 15,12 | 19,4  | 12,43  | 19,17  | 29,77  | 10,72  | 12,05 | 9,66  |
| 42   | 3         | 8,29  | 11,54 | 52     | 132,08 | 19,05  | 8,66   | 14,53 | 19,4  |
| 43   | 4         | 15,86 | 22,89 | 24,96  | 273,1  | 36,19  | 11,01  | 17,85 | 9,61  |
| 44   | 3         | 19,66 | 16,98 | 17,89  | 384,38 | 149,24 | 49,76  | 61,31 | 67,08 |
| 45   | 1         | 15,18 | 12,42 | 8,58   | 7,55   | 9,1    | 8,03   | 5,07  | 10,76 |
| 46   | 2         | 9,61  | 5,15  | 9,24   | 6,03   | 6,38   | 8,91   | 4,68  | 9,36  |
| 47   | 3         | 12,14 | 9,36  | 351    | 257,4  | 81,9   | 12,69  | 8,53  | 6,3   |
| 48   | 2         | 1,7   | 9,12  | 7,78   | 9,24   | 7,15   | 7,7    | 4,45  | 11,28 |
| 49   | 4         | 11,54 | 5,94  | 253,97 | 253,5  | 82,37  | 22,62  | 22,68 | 15,81 |
| 50   | 1,        |       | 10,44 | 11,31  | 10,61  | 7,77   | 7,8    | 3,69  | 5,1   |
| 51   | 1         | 22,44 | 22,32 | 8,67   | 17,94  | 8,01   | 10,97  | 12,31 | 15,37 |
| 52   | 2         | 4,94  | 24,5  | 20,65  | 20,67  | 22,44  | 17,11  | 13,91 | 21,88 |
| 53   | 3         | 5,13  | 11,05 | 17,24  | 120,64 | 26,08  | 8,45   | 9,04  | 10,84 |
| 54   | 4         | 11,7  | 12,19 | 168,92 | 247    | 109,2  | 43,47  | 7,48  | 33,28 |
| 55   | 4         | 10,67 | 8,58  | 242,11 | 327,6  | 62     | 38,01  | 19,03 | 26,26 |
| 56   | 3         | 11,57 | 8,42  | 54,34  | 188,76 | 56,78  | 14     | 9,8   | 9,05  |
| 57   | 4         | 14,82 | 12,09 | 58,24  | 113,62 | 43,68  | 23,32  | 20,35 | 7,13  |
| 58   | 3         | 15,04 | 12,75 | 21,84  | 43,68  | 11,71  | 18,93  | 8,32  | 17,92 |
| 59   | 2         | 12,65 | 27,54 | 9,86   | 14,78  | 7,1    | 8,19   | 20,8  | 15,18 |
| 60   | 1         | 17,42 | 32,45 | 11,12  | 19,5   | 17,16  | 24,57  | 14,77 | 16,13 |
| 61   | 2         | 8,77  | 0     | 16,87  | 8,63   | 12,08  | 20,21  | 7,75  | 11,97 |
| 62   | 3         | 7,64  | 4,85  | 13,1   | 107,07 | 16,92  | 11,07  | 11,18 | 10,14 |
| 63   | 4         | 14,3  | 16,66 | 54,99  | 87,46  | 18,18  | 5,2    | 12,09 | 19,17 |
| 64   | 1         | 12,54 | 6,23  | 10,41  | 7,43   | 8,26   | 15,6   | 17,21 | 17,82 |



**Tabela 16:** Valores da albuminemia (ALB), em mg%, dos ratos onde se realizou o exame.

| Rato | Sub-Grupo | ALB.1 | ALB.2 | ALB.3 | ALB.4 | ALB.5 | ALB.6 | ALB.7 | ALB.8 |
|------|-----------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 33   | 2         | 3,6,  |       | 3,26  | 3,58  | 3,75  | 3,63  | 3,37  | 3,03  |
| 34   | 1         | 3,54, |       | 3,12  | 3,54  | 3,9   | 3,45  | 3,37  | 2,87  |
| 35   | 2         | 3,18, |       | 3,08  | 3,33  | 3,58  | 3,38  | 3,5   | 2,84  |
| 36   | 3         | 2,84, |       | 3,39  | 2,26  | 3,48  | 3,24  | 3,69  | 3,14  |
| 37   | 4         | 3,63, |       | 2,69  | 2,75  | 3,11  | 3,64  | 3,76  | 2,87  |
| 38   | 1         | 3,49, |       | 3,14  | 3,7   | 3,66  | 3,58  | 2,49, |       |
| 39   | 4         | 3,32, |       | 2,47  | 1,23  | 3,54  | 2,69  | 3,07  | 2,34  |
| 40   | 1         | 3,21, |       | 3,54  | 3,71  | 3,53  | 3,54  | 3,75  | 2,96  |
| 41   | 2         | 3,67, |       | 3,01  | 3,21  | 3,55  | 3,24  | 2,97  | 2,63  |
| 42   | 3         | 3,19, |       | 3,5   | 2,24  | 3,31  | 3,29  | 3,23  | 2,63  |
| 43   | 4         | 2,89, |       | 3,06  | 1,86  | 2,85  | 3,65  | 3,03  | 2,9   |
| 44   | 3         | 3,37, |       | 1,06  | 1,38  | 2,07  | 3,17  | 2,84  | 2,56  |
| 45   | 1         | 2,09, |       | 2,83  | 3,04  | 3,29  | 3,4   | 3,39  | 3,03  |
| 46   | 2         | 3,31, |       | 3,49  | 2,94  | 3,16  | 3,1   | 3,38  | 3,11  |
| 47   | 3         | 3,44, |       | 1,46  | 1,61  | 2,9   | 2,97  | 3,26  | 3,03  |
| 48   | 2         | 2,85, |       | 2,74  | 3,16  | 2,97  | 3,06  | 3,69  | 2,86  |
| 49   | 4         | 3,13, |       | 1,27  | 1,83  | 2,51  | 2,99  | 3,17  | 2,88  |
| 50   | 1         | 3,19, |       | 3,14  | 3,12  | 3,03  | 3,29  | 3,39, |       |
| 51   | 1         | 3,11, |       | 3,04  | 3,18  | 2,66  | 3,13  | 3,42  | 3,02  |
| 52   | 2         | 3,68, |       | 3,17  | 3,04  | 2,74  | 2,74  | 3,33  | 2,88  |
| 53   | 3         | 3,22, |       | 2,1   | 2,37  | 2,51  | 2,99  | 3,48  | 3,05  |
| 54   | 4         | 3,04, |       | 1,21  | 1,68  | 2,29  | 2,56  | 3,44  | 2,67  |
| 55   | 4         | 3,28, |       | 1,33  | 1,96  | 2,69  | 2,66  | 3,08  | 2,74  |
| 56   | 3         | 2,32, |       | 2,46  | 2,52  | 2,82  | 3,17  | 2,96  | 3,05  |
| 57   | 4         | 3,4,  |       | 3     | 2,8   | 2,86  | 3,27  | 3,97  | 2,52  |
| 58   | 3         | 3,15, |       | 2,37  | 2,67  | 2,46  | 2,94  | 4,01  | 3,05  |
| 59   | 2         | 3,34, |       | 3     | 3,11  | 2,69  | 3,15  | 3,83  | 3,25  |
| 60   | 1         | 3,02, |       | 3,08  | 3,41  | 1,66  | 3,32  | 3,44  | 3,06  |
| 61   | 2         | 3,    |       | 2,96  | 3,02  | 2,79  | 3,12  | 3,62, |       |
| 62   | 3         | 3,25, |       | 3,11  | 2,18  | 2,91  | 3,35  | 3,77  | 3,19  |
| 63   | 4         | 3,4,  |       | 2,74  | 2,61  | 2,95  | 2,77  | 3,54  | 3,28  |
| 64   | 1         | 3,25, |       | 2,94  | 2,91  | 2,94  | 3,25  | 3,48  | 3,34  |



**Tabela 17:** Valores da colesterolemia (COL), em mg% dos 32 ratos onde foi realizado o exame.

| Rato | Sub-Grupo | COL.1 | COL.2  | COL.3 | COL.4   | COL.5 | COL.6  | COL.7 | COL.8 |
|------|-----------|-------|--------|-------|---------|-------|--------|-------|-------|
| 33   | 2,        |       | 47,89, |       | 62,73,  |       | 62,69, |       | 57,7  |
| 34   | 1,        |       | 29,12, |       | 47,97,  |       | 46,39, |       | 43,28 |
| 35   | 2,        |       | 41,42, |       | 55,35,  |       | 48,27, |       | 42,62 |
| 36   | 3,        |       | 38,18, |       | 57,56,  |       | 36,36, |       | 20,98 |
| 37   | 4,        |       | 31,71, |       | 162,36, |       | 68,34, |       | 58,36 |
| 38   | 1,        |       | 55,66, |       | 35,42,  |       | 42,63, |       |       |
| 39   | 4,        |       | 64,07, |       | 286,34, |       | 97,18, |       | 78,03 |
| 40   | 1,        |       | 25,24, |       | 48,7,   |       | 42,63, |       | 34,09 |
| 41   | 2,        |       | 44,66, |       | 42,06,  |       | 40,75, |       | 30,82 |
| 42   | 3,        |       | 29,77, |       | 146,86, |       | 47,65, |       | 30,82 |
| 43   | 4,        |       | 40,77, |       | 110,7,  |       | 52,04, |       | 28,85 |
| 44   | 3,        |       | 22,    |       | 190,4,  |       | 66,45, |       | 47,87 |
| 45   | 1,        |       | 51,13, |       | 65,84,  |       | 36,55, |       | 19,31 |
| 46   | 2,        |       | 42,07, |       | 70,15,  |       | 31,03, |       | 23,45 |
| 47   | 3,        |       | 38,83, |       | 184,61, |       | 34,48, |       | 29,65 |
| 48   | 2,        |       | 35,59, |       | 67,69,  |       | 36,55, |       | 22,07 |
| 49   | 4,        |       | 33,65, |       | 208,61, |       | 46,89, |       | 41,38 |
| 50   | 1,        |       | 37,54, |       | 62,15,  |       | 32,41, |       |       |
| 51   | 1,        |       | 45,3,  |       | 55,38,  |       | 31,72, |       | 25,52 |
| 52   | 2,        |       | 43,36, |       | 49,23,  |       | 29,65, |       | 19,31 |
| 53   | 3,        |       | 63,43, |       | 94,77,  |       | 28,96, |       | 19,31 |
| 54   | 4,        |       | 53,72, |       | 183,38, |       | 69,65, |       | 35,17 |
| 55   | 4,        |       | 62,13, |       | 177,84, |       | 47,58, |       | 51,03 |
| 56   | 3,        |       | 76,37, |       | 128,61, |       | 13,79, |       | 33,79 |
| 57   | 4,        |       | 38,19, |       | 66,42,  |       | 48,27, |       | 34,75 |
| 58   | 3,        |       | 47,25, |       | 70,11,  |       | 45,14, |       | 29,51 |
| 59   | 2,        |       | 60,84, |       | 53,87,  |       | 48,9,  |       | 51,8  |
| 60   | 1,        |       | 40,77, |       | 50,92,  |       | 47,65, |       | 32,78 |
| 61   | 2,        |       | 45,95, |       | 78,22,  |       | 52,66, |       |       |
| 62   | 3,        |       | 36,89, |       | 107,01, |       | 47,65, |       | 34,75 |
| 63   | 4,        |       | 42,72, |       | 69,37,  |       | 38,87, |       | 36,06 |
| 64   | 1,        |       | 48,54, |       | 39,85,  |       | 48,27, |       | 19,67 |



**Tabela 18:** Valores da trigliceridemia (TRIG), em mg%, dos 32 ratos onde se realizou o exame.

| Rato | Sub-Grupo | TRIG.1 | TRIG.2  | TRIG.3 | TRIG.4  | TRIG.5 | TRIG.6  | TRIG.7 | TRIG.8 |
|------|-----------|--------|---------|--------|---------|--------|---------|--------|--------|
| 33   | 2,        |        | 80,13,  |        | 123,15, |        | 95,45,  |        | 29,8   |
| 34   | 1,        |        | 80,13,  |        | 137,36, |        | 65,45,  |        | 66,54  |
| 35   | 2,        |        | 76,02,  |        | 47,36,  |        | 97,27,  |        | 77,82  |
| 36   | 3,        |        | 70,89,  |        | 325,26, |        | 110,91, |        | 109,39 |
| 37   | 4,        |        | 61,64,  |        | 416,84, |        | 114,54, |        | 115,04 |
| 38   | 1,        |        | 97,6,   |        | 90,     |        | 89,99,  |        |        |
| 39   | 4,        |        | 52,39,  |        | 562,1,  |        | 154,54, |        | 106,01 |
| 40   | 1,        |        | 30,82,  |        | 131,05, |        | 57,27,  |        | 63,1   |
| 41   | 2,        |        | 76,02,  |        | 135,79, |        | 55,45,  |        | 14,66  |
| 42   | 3,        |        | 32,87,  |        | 334,73, |        | 108,18, |        | 120,67 |
| 43   | 4,        |        | 101,71, |        | 339,47, |        | 126,36, |        | 73,31  |
| 44   | 3,        |        | 17,46,  |        | 363,16, |        | 98,18,  |        | 74,43  |
| 45   | 1,        |        | 73,14,  |        |         |        | 94,41,  |        | 35,29  |
| 46   | 2,        |        |         |        | 83,39,  |        | 66,17,  |        | 56,47  |
| 47   | 3,        |        | 19,08,  |        | 251,26, |        | 54,7,   |        | 52,06  |
| 48   | 2,        |        |         |        | 60,65,  |        | 91,76,  |        | 82,94  |
| 49   | 4,        |        | 13,78,  |        | 337,9,  |        | 172,94, |        | 103,23 |
| 50   | 1,        |        | 13,78,  |        | 67,14,  |        | 90,88,  |        |        |
| 51   | 1,        |        | 95,4,   |        | 95,3,   |        | 132,35, |        | 116,47 |
| 52   | 2,        |        | 95,4,   |        | 70,39,  |        | 75,88,  |        | 52,94  |
| 53   | 3,        |        | 192,93, |        | 164,62, |        | 60,88,  |        | 71,47  |
| 54   | 4,        |        | 80,56,  |        | 115,88, |        | 53,82,  |        | 52,94  |
| 55   | 4,        |        | 172,79, |        | 245,85, |        | 116,47, |        | 30,88  |
| 56   | 3,        |        | 60,42,  |        | 227,43, |        |         |        | 20,29  |
| 57   | 4,        |        | 48,28,  |        | 154,73, |        | 43,63,  |        | 43,98  |
| 58   | 3,        |        | 65,75,  |        | 52,1,   |        | 49,09,  |        | 16,91  |
| 59   | 2,        |        | 165,41, |        | 67,89,  |        | 39,09,  |        | 75,56  |
| 60   | 1,        |        | 66,78,  |        | 120,    |        | 50,91,  |        | 43,98  |
| 61   | 2,        |        | 89,38,  |        | 296,84, |        | 70,91,  |        |        |
| 62   | 3,        |        | 80,13,  |        | 138,95, |        | 60,91,  |        | 71,05  |
| 63   | 4,        |        | 95,54,  |        | 97,89,  |        | 43,63,  |        |        |
| 64   | 1,        |        | 58,56,  |        | 257,36, |        | 25,45,  |        | 87,97  |



**Tabela 19:** Valores da fração de excreção de sódio (FE NA) dos 32 ratos onde se realizou o exame

| Rato | Sub-Grupo | FE NA.1 | FE NA.2 | FE NA.3 | FE NA.4 | FE NA.5 | FE NA.6 | FE NA.7 | FE NA.8 |
|------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1    | 1         | 2,05    | 1,31    | 0,84    | 0,72    | 1,11    | 1,08    |         | 0,9     |
| 2    | 2         | 1,28    | 1,13    | 0,84    | 1,34    | 1,38    | 1,62    |         | 0,73    |
| 3    | 3         | 1,3     | 0,43    | 0,55    | 1,75    | 0,77    | 1,18    |         | 0,66    |
| 4    | 4         | 2,77    | 1,87    | 0,95    | 1       | 1,64    | 1,18    |         | 0,75    |
| 5    | 1         | 1,11    | 1,53    | 0,49    | 1,1     | 0,61    | 1,15    |         | 0,89    |
| 6    | 2         | 1,06    | 0,85    | 0,66    | 1,11    | 1,11    | 1,27    |         | 1,01    |
| 7    | 3         | 1,28    | 4,87    | 0,63    | 1,13    | 1,82    | 2,31    |         | 0,72    |
| 8    | 4         | 0,57    | 2,69    | 1,79    | 2,36    | 1,38    | 1,34    |         | 1,22    |
| 9    | 4         | 0,96    | 1,11    | 2,27    | 1,55    | 1,12    | 0,96    |         | 2,02    |
| 10   | 3         | 3,25    | 1,08    | 0,33    | 1,27    | 0,91    | 1,06    |         | 1,02    |
| 11   | 2         | 1,3     | 3,49    | 1,28    | 1,46    | 3,24    | 0,45    | 1,33    | 0,76    |
| 12   | 1         | 6,02    | 1,6     | 1,43    | 1,19    |         | 0,5     | 1,04    | 0,5     |
| 13   | 4         | 3,54    | 2,65    | 0,65    | 0,85    | 1,33    | 0,82    | 0,99    | 2,38    |
| 14   | 3         | 3,36    | 1,95    | 1,61    | 4,25    | 2,95    | 0,72    | 1,23    | 0,59    |
| 15   | 2         | 1,54    | 1,84    | 1,18    |         | 3,17    | 3,8     | 1,68    | 1       |
| 16   | 1         | 1,13    | 2,69    | 1,4     | 3,76    |         | 1,06    | 1,34    | 1,98    |
| 17   | 4         | 0,16    | 2,01    | 1,81    | 3,3     | 0,96    | 0,38    | 1,65    | 3,17    |
| 18   | 3         | 1,18    | 0,69    | 1,24    | 2,21    | 1,32    | 1,22    | 0,48    | 2,04    |
| 19   | 2         | 1,96    | 1,77    | 0,86    | 1,04    | 0,81    | 0,54    | 1,2     | 1,3     |
| 20   | 1         | 0,12    | 2,92    | 0,93    | 2,93    |         | 0,82    | 1,12    | 3,47    |
| 21   | 1         | 1,18    | 1,16    | 0,26    | 1,79    | 0,6     | 0,42    | 0,57    | 0,4     |
| 22   | 2         | 1,68    | 1,46    | 1,31    | 1,89    | 0,44    | 0,61    | 0,72    | 0,47    |
| 23   | 3         | 0,95    | 0,88    | 0,28    | 1,36    | 0,8     | 0,47    | 0,85    | 0,62    |
| 24   | 4         | 1,06    | 1,15    | 0,75    | 1,82    | 0,89    | 1,4     | 0,82    | 0,72    |
| 25   | 1         | 0,73    | 0,74    | 1,28    | 1,23    | 0,88    | 0,62    | 0,73    | 0,81    |
| 26   | 2         | 2,98    | 6,01    | 2,05    | 1,68    | 1,24    | 1,17    |         | 0,36    |
| 27   | 3         |         | 0,77    | 1,84    | 2,15    | 1,47    | 0,83    | 1,2     | 0,67    |
| 28   | 4         | 0,82    | 1,36    | 0,69    | 0,38    | 0,8     | 0,89    | 0,69    | 0,37    |
| 29   | 1         | 3,24    | 0,8     | 1,17    | 0,93    | 0,75    | 0,65    | 0,56    | 0,34    |
| 30   | 2         |         | 1,71    | 0,71    | 0,5     | 0,63    | 1,11    | 0,8     | 0,56    |
| 31   | 3         | 1,67    | 0,78    | 1,88    | 1,75    | 1,03    | 1,06    | 0,2     | 0,24    |
| 32   | 4         | 1,71    | 1,05    | 1,51    | 0,38    | 0,89    | 0,95    | 2,58    | 1,18    |



**Tabela 20:** Valores da fração de excreção de fósforo (FE PI) dos 32 ratos onde se realizou o exame

| Rato | Sub-Grupo | Fe Pi.1 | FE Pi.2 | Fe Pi.3 | Fe Pi.4 | Fe Pi.5 | Fe Pi.6 | Fe Pi.7 | Fe Pi.8 |
|------|-----------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 33   | 2         | 0,03    | 0,04    | 0,02    | ,       | 0,03    | ,       | 0,02    | 0,01    |
| 34   | 1         | 0,01    | 0,02    | 0,01    | ,       | 0,01    | ,       | 0,02    | 0,01    |
| 35   | 2         | 0,02    | 0,02    | 0,02    | ,       | 0       | ,       | 0,05    | 0,03    |
| 36   | 3         | 0,01    | 0,08    | 0,01    | ,       | 0,07    | ,       | 0,05    | 0,01    |
| 37   | 4         | 0,01    | 0,02    | 0,02    | ,       | 0,03    | ,       | 0,02    | 0,02    |
| 38   | 1         | 0,01    | 0,03    | 0       | ,       | 0,02    | ,       | ,       | ,       |
| 39   | 4         | 0,02    | ,       | ,       | ,       | 0,06    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 40   | 1         | 0       | 0,07    | 0,02    | ,       | 0,02    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 41   | 2         | 0,01    | 0,03    | 0,02    | ,       | 0,02    | ,       | 0,01    | 0,01    |
| 42   | 3         | 0       | 0,03    | 0,01    | ,       | ,       | ,       | 0,02    | 0,01    |
| 43   | 4         | 0,02    | 0,06    | 0,03    | ,       | 0,02    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 44   | 3         | 0,01    | 0,01    | 0,05    | ,       | 0,02    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 45   | 1         | 0,02    | 0,01    | 0,03    | ,       | 0,02    | ,       | 0,03    | 0       |
| 46   | 2         | 0,02    | 0,02    | 0,03    | ,       | 0,03    | ,       | 0,04    | 0,01    |
| 47   | 3         | 0,01    | 0,01    | 0,05    | ,       | 0,04    | ,       | 0,02    | 0,01    |
| 48   | 2         | 0,01    | 0,02    | 0,04    | ,       | 0,03    | ,       | 0,04    | 0,01    |
| 49   | 4         | 0,02    | 0,02    | 0,05    | ,       | 0,04    | ,       | 0,06    | 0,02    |
| 50   | 1         | 0,01    | 0,02    | 0,02    | ,       | 0,02    | ,       | 0,07    | ,       |
| 51   | 1         | 0,03    | 0,02    | 0,01    | ,       | 0,03    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 52   | 2         | 0,02    | 0,06    | 0,02    | ,       | 0,03    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 53   | 3         | 0,03    | 0,01    | 0,02    | ,       | 0,02    | ,       | ,       | 0,04    |
| 54   | 4         | 0,02    | 0,03    | 0,05    | ,       | 0,04    | ,       | 0,02    | 0,01    |
| 55   | 4         | ,       | 0,01    | 0,06    | ,       | 0,03    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 56   | 3         | 0,01    | 0,24    | 0,02    | ,       | 0,05    | ,       | 0,02    | 0       |
| 57   | 4         | 0,03    | 0,02    | 0,01    | ,       | ,       | ,       | ,       | 0,02    |
| 58   | 3         | 0,03    | 0,03    | 0,01    | ,       | 0,01    | ,       | ,       | 0,01    |
| 59   | 2         | 0,04    | 0,03    | 0,02    | ,       | 0,01    | ,       | 0,02    | 0,01    |
| 60   | 1         | 0,04    | 0,03    | 0,01    | ,       | 0,02    | ,       | 0,01    | 0,01    |
| 61   | 2         | 0,03    | 0,05    | 0,03    | ,       | 0,02    | ,       | 0,02    | ,       |
| 62   | 3         | 0,02    | 0,03    | 0,01    | ,       | 0,02    | ,       | 0,03    | 0       |
| 63   | 4         | 0,04    | 0,08    | 0,02    | ,       | 0,01    | ,       | 0,03    | 0,01    |
| 64   | 1         | 0,03    | 0,25    | 0,02    | ,       | 0,01    | ,       | 0,01    | 0,01    |