

JOSIANE BERNARTT ZANELATO

**ALTERAÇÕES GLOMERULARES E FUNCIONAIS TARDIAS EM  
RATOS SUBMETIDOS A NEFRECTOMIA UNILATERAL PRECOCE**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau acadêmico de Mestre. Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Ângelo Agulham  
Coordenador: Prof. Dr. Jorge E. F. Matias

CURITIBA

2005

Zanellato, Josiane Bernatt

Alterações glomerulares e funcionais tardias em ratos submetidos a nefrectomia unilateral precoce / Josiane Bernatt Zanellato.- Curitiba, 2005.

Dissertação (Mestrado). - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

1. Nefrectomia - Infância. 2. Glomeruesclerose - Ratos Wistar. I. Título.

CDD. 617.461

CDU. 616.61

## TERMO DE APROVAÇÃO

JOSIANE BERNATT ZANELATO

### ALTERAÇÕES GLOMERULARES E FUNCIONAIS TARDIAS EM RATOS SUBMETIDOS A NEFRECTOMIA UNILATERAL PRECOCE

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná pela seguinte banca examinadora:

Orientador: Prof. Dr. Miguel Ângelo Agulham  
Clínica cirúrgica

Curitiba, 27 de janeiro de 2006

## AGRADECIMENTOS

Ao meu marido Ricardo, pelo carinho, colaboração e superação, nos momentos difíceis ao longo deste trabalho, e ao meu filho Bernardo que, mesmo sem compreender os fatos suportou a minha ausência, em casa, e instintivamente soube ser a razão do meu retorno.

Aos meus pais, Antelmo e Erondina, que embora distantes, deram-me a certeza de que estavam orgulhosos por mim neste momento.

Ao Professor Dr. Miguel Ângelo Agulham, amigo e orientador, meu reconhecimento pela atenção e incentivo na realização deste trabalho.

Ao Professor Dr. Sérgio Ossamu Ioshii, co-orientador, pelas horas de estudo anatomopatológico dispensadas e sua orientação.

Ao Professor Dr. Jorge Eduardo Fouto Mathias, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Clínica Cirúrgica da UFPR, pela oportunidade do aprendizado e da evolução em minha carreira universitária.

Ao Professor Oldemir Mangille, Diretor do Setor de Ciências Biológicas da UFPR, pelo acolhimento de nossos pedidos de ajuda.

À Professora Dra. Maria de Lourdes Pessole Biondo Simões, pelo apoio na realização do estudo experimental no Laboratório de Técnica Operatória da UFPR.

À Juliana Elizabeth Jung, residente do Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da UFPR, pela dedicação e colaboração em muitas etapas desta pesquisa.

Ao Dr. Gustavo Justo Schulz, médico e amigo, pela solidariedade e resolutividade nos momentos de dúvidas ao longo deste trabalho.

Ao Professor Dr. Clóvis Eurico Röhrig, pela experiência e auxílio em muitas etapas conclusivas desta pesquisa.

A todos os funcionários do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFPR, especialmente, ao Sr. Álvaro Roberto Machado, pela sempre pronta colaboração no manuseio e cuidados dispensados aos animais de experimentação.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram da elaboração deste trabalho, contribuindo para a sua conclusão.

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE GRÁFICOS.....	vii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	viii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
1.1 OBJETIVOS.....	2
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>	<b>3</b>
<b>3. MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>9</b>
3.1 MODELO ANIMAL.....	9
3.1.1 Grupos.....	10
3.2 EQUIPAMENTO E INSTRUMENTAL.....	10
3.3 DETERMINAÇÃO DO PESO DOS ANIMAIS.....	11
3.4 DESENHO DO EXPERIMENTO.....	11
3.4.1 Ato anestésico.....	11
3.4.2 Descrição do primeiro procedimento operatório.....	12
3.4.3 Cuidados e observação pós-operatórios.....	13
3.4.4 Descrição do segundo procedimento operatório e ortotanásia.....	14
3.5 ANÁLISE FUNCIONAL.....	15
3.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	15
3.6.1 Avaliação macroscópica.....	15
3.6.2 Avaliação microscópica.....	16
3.6.2.1 Exame microscópico.....	17
3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	22
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>23</b>
4.1 VARIÁVEIS RELACIONADAS AO RATO.....	23
4.2 ANÁLISE FUNCIONAL.....	24
4.3 VARIÁVEIS DO RIM DIREITO, REMANESCENTE E CONTROLE.....	25
4.3.1 Análise histológica.....	27
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	31
<b>5. DISCUSSÃO.....</b>	<b>33</b>
5.1 ANÁLISE FUNCIONAL.....	34
5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	37
<b>6. CONCLUSÕES.....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>47</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>52</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>56</b>

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – Exposição do pedículo renal esquerdo, identificação da artéria, veia e ureter.....	13
FIGURA 2 – Rim esquerdo extirpado.....	13
FIGURA 3 – Técnica de anestesia por inalação e imobilização do rato.....	14
FIGURA 4 – Avaliação do peso do rim direito .....	16
FIGURA 5 – Avaliação do comprimento do rim direito.....	16
FIGURA 6 – Diâmetro interno, entre os limites do tufo glomerular.....	17
FIGURA 7 – Diâmetro externo da cápsula de Bowman.....	18
FIGURA 8 – Medida da área interna ou do tufo glomerular.....	19
FIGURA 9 – Área glomerular externa.....	19
FIGURA 10 – Exemplo de esclerose glomerular.....	20
FIGURA 11 – Glomérulo com esclerose parcial.....	21
FIGURA 12 – Demonstração de infiltrado inflamatório de monomorfo-nucleares.....	21

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Distribuição aleatória dos animais em grupos.....	10
TABELA 2 – Distribuição dos ratos por sexo.....	23
TABELA 3 – Representação do peso e da estatura nos grupos unirrenais e controles.....	23
TABELA 4 – Distribuição de ratos com e sem esclerose glomerular.....	31

## LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1	– Comparação das concentrações séricas da creatinina entre os grupos A e B.....	24
GRÁFICO 2	– Comparação das concentrações séricas da uréia entre grupos A e B.....	25
GRÁFICO 3	– Comparação do peso do rim direito entre grupos.....	26
GRÁFICO 4	– Comparação da estatura renal entre grupos.....	26
GRÁFICO 5	– Representação dos diâmetros externos e internos dos glomérulos dos grupos A e B.....	27
GRÁFICO 6	– Representação das áreas externas e interna dos glomérulos dos grupos A e B.....	28
GRÁFICO 7	– Representação dos volumes externo e interno dos glomérulos dos grupos A e B.....	29
GRÁFICO 8	– Representação da diferença entre os diâmetros externo e interno dos glomérulos dos grupos A e B.....	29
GRÁFICO 9	– Diferença entre as áreas externa e interna dos glomérulos nos grupos A e B.....	30
GRÁFICO 10	– Diferença entre o volume externo e o interno dos glomérulos nos grupos A e B.....	31

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

HEGFS – hialinose e esclerose glomerular focal e segmentar

H&E – hematoxilina eosina

IFG – índice de filtração glomerular

g – gramas

GH – hormônio de crescimento

mg/dl – miligrama por decilitro

NUE – nefrectomia unilateral esquerda

PAH – paraaminoipurato

PVPI – polivinil pirrolidona

PAS – ácido periódico de Schiff

RFG – regime de filtração glomerular

$\mu\text{m}$  – micrômetro

$\mu\text{m}^2$  – micrômetro quadrado

$\mu\text{m}^3$  – micrômetro cúbico

## RESUMO

Quando um rim está ausente congenitamente ou foi removido cirurgicamente durante a infância, o rim remanescente usualmente cresce e se torna maior que o normal. Este mecanismo de hipertrofia renal compensatória cursa com alterações na histologia e função renal. Partindo desse princípio, realizou-se este estudo com o objetivo de analisar grupos de ratos recém-nascidos submetidos à nefrectomia esquerda, correlacionando as repercussões morfológicas e funcionais glomerulares nestes animais após 450 dias de vida, ocasionadas pela hipertrofia e pelo hiperfluxo capilar glomerular que podem ser causas de glomeruloesclerose, com conseqüente insuficiência renal. Os animais utilizados, ratos albinos Wistar, foram divididos em dois grupos, um controle (B), com vinte e cinco animais e, outro experimental (A), com vinte e quatro animais. Todos foram submetidos a nefrectomia unilateral esquerda (NUE), com 15 dias de vida e ao final do período de 435 dias foi realizada a nefrectomia direita, isto é a remoção das unidades renais remanescentes. Foram coletadas amostra de sangue imediatamente antes da nefrectomia direita, por meio de uma punção no ventrículo direito para análise da uréia e creatinina sérica para correlaciona-las à função renal. O rim remanescente foi submetido à análise do peso e estatura, e análise microscópica para avaliação da hipertrofia glomerular e presença ou não de esclerose glomerular. Os dois grupos foram submetidos a observação temporal e análise estatística por meio do estudo de amostras independentes, t de Student e o teste exato de Fisher para a comparação entre os grupos. A avaliação da função renal residual, por meio da dosagem da uréia sérica (mg/dl) evidenciou alteração, o mesmo não ocorreu com a avaliação quanto à creatinina sérica (mg/dl). A análise morfológica do rim remanescente revelou alteração histológica sugestiva de dano renal nos grupos de estudo, principalmente aquelas relacionadas ao diâmetro ( $\mu\text{m}$ ), área ( $\mu\text{m}^2$ ) e volume ( $\mu\text{m}^3$ ). Pode-se concluir que após nefrectomia unilateral precoce com observação das unidades renais remanescentes por um período prolongado, 435 dias, a função renal e principalmente a morfologia sofrem alterações, conforme demonstram os achados bioquímicos e histológicos neste estudo.

**Palavras-chave:** Nefrectomia ; infância ; Glomeruesclerose; Ratos Wistar ;

## ABSTRACT

When one kidney is congenitally absent, or surgically removed during childhood, the remnant organ generally grows up, becoming larger than the normal one. This compensatory hypertrophy mainly promotes glomerular structural and functional alterations, in the course of time. Many theories try to explain the causes that initiate these glomerular alterations: from the classical, systemic and glomerular tuft hypertensive regimen, to the recently salt, hormonal and special growing factors dependence hypothesis. To better understand this phenomenon, the left kidney of 25, two weeks old, Wistar rats was removed, the function and histology of the remaining one were observed, and measured, at the end of 435 days of follow-up. The result obtained from this test A group was compared to 25 sham operated animals (group B), at the end of a similar observation period of time. At that time, functional parameters were tested as serum urea and creatinine; morphological variants were kidney and body weight, kidney length; qualitative histological changes, as glomerular segmental or diffuse hyalinosis and sclerosis, tubular and interstitial alterations, were also evaluated; and finally, quantitative parameters as glomerular external and internal diameter, areas and volume, were electronically computed. There was no difference in serum creatinine between groups A and B; significant difference was observed for serum urea nitrogen, higher in experimental group. Significant changes, similar to nephrosclerosis, had been seen in less than 8% of the glomeruli of each rat, but in all of them, pertaining to the same sample in the experimental group (A). Diameter, area and volume of glomeruli were significantly greater in group A than in B. Contrariwise, as there was a significantly greater growth in these glomerular absolute dimensions, in group A, there was a lesser growth in proportional parameters, such as percentile, for instance. In a general comparative surveying one can suggest that the renal hypertrophy, of tissue and function, is not great enough to substitute the role of both kidneys of sham operated control group.

Key words: Nephrectomy; Glomerulosclerosis; Wistar rats.



## 1. INTRODUÇÃO

Estima-se que uma a duas crianças entre cada 100 internadas nos serviços de cirurgia infantil tenha afecção renal complexa, tal como: hidronefrose, neoplasma, pielonefrite, displasia cística unilateral, doenças obstrutivas, traumatismo e trombose da veia renal (ADAMSON et al., 1992; MORLEY, 1992). Nessas circunstâncias, a nefrectomia unilateral é freqüentemente a única forma de tratamento adequado, impondo-se já no primeiro ano de vida (VALENTIN et al., 1993).

O rim remanescente sofre hipertrofia e modificação no regime de filtração glomerular (RFG) suficientes para suprir a falta do órgão gêmeo. Apregoa-se que esses mecanismos causam, amiúde, esclerose glomerular focal tardia, principalmente quando a extirpação do rim se dá na fase precoce da vida, (WIKSTAD et al., 1986; MORLEY, 1992; DONCKERWOLCKE e COPPES, 2001). Essas observações sugerem que os neonatos submetidos a nefrectomia, ou aqueles com agenesia renal unilateral, desenvolvam glomerulosclerose, tornando-se reféns de inexorável insuficiência renal, limitante para o período de vida adulta (KIPROV et al., 1982; BATHENA et al., 1985; WIKSTAD et al., 1986). A associação de proteinúria ao aumento da função glomerular, em alguns pacientes, corrobora a sugestão de que o excesso funcional crônico do glomérulo promove o dano renal estrutural que, por sua vez, deteriora progressivamente a própria função, e é a causa primeira da disfunção (HOSTETTER et al., 1981; BRENNER et al., 1982; FOGO e ISHIKAWA, 1989; DONCKERWOLCKE e COPPES, 2001).

Por outro lado, estudos prospectivos bem conduzidos sugerem que não ocorre deterioração funcional no órgão remanescente da nefrectomia, quer por doença renal unilateral quer por doação para transplante (ANDERSON et al., 1985; WATNICK et al., 1988, NOVICK et al., 1991). Para explicar os danos estruturais observados por WIKSTAD et al. (1986) e por DONCKERWOLCKE e COPPES (2001), postulam alguns autores (ELEMA, 1976; BATHENA et al., 1985) que sejam as atitudes complementares ao tratamento cirúrgico do nefroblastoma – essencialmente quimioterapia, radioterapia, ou ambas – responsáveis por esses inconvenientes, ainda que as contradições sejam flagrantes (FOTINO, 1989).

De qualquer forma, aceitando-se ou não o aumento funcional compensatório como responsável pelas alterações anatômicas subseqüentes, indutoras da deterioração fisiológica final do círculo vicioso, evidencia-se que pelo menos a intensidade desse processo é nitidamente maior nos neonatos do que nos adultos que sofrem nefrectomia unilateral (DICKER e SHIRLEY, 1973; SHIRLEY, 1976; HAYSLETT, 1979).

Nos casos em que as dúvidas da prática médica são intransponíveis, os modelos experimentais com animais de laboratório podem contribuir para o bem-estar da humanidade, às vezes de maneira decisiva. Assim, nesses modelos, a ablação renal costuma produzir esclerose glomerular grave, capaz de resultar na falência do rim réliquo, provavelmente por hipertensão e excesso de filtração glomerular crônica (HOSTETTER et al., 1981; OLSON et al., 1982; BRENNER, 1985; GROND et al., 1986a; NOVICK et al., 1991). Ratos que sofrem nefrectomia no período neonatal apresentam maiores índices de proteinúria e esclerose glomerular do que, no momento da mesma operação, esta é praticada no murídeo adulto (CELSI et al., 1987). Como esses achados são similares àqueles encontrados em humanos, torna-se aconselhável o aprofundamento, no estudo experimental, no intuito de se obterem parâmetros que possam propiciar melhor grau de compreensão das alterações anatômicas e funcionais após a nefrectomia em tenra idade.

## 1.1. OBJETIVOS

O presente estudo experimental tem por objetivos:

1. Analisar a função do rim remanescente da ablação renal unilateral em ratos neonatos, através da mensuração da concentração da creatinina e da uréia séricas.
2. Determinar as alterações morfológicas do rim que permanece ao final do período de observação.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

Por mais de um século, investigadores têm estudado as conseqüências da redução da massa renal sobre a função do órgão, na esperança de melhor se entenderem e se desenvolverem estratégias que previnam ou diminuam a progressão para a falência renal. Ao longo dos anos, vários estudos experimentais têm procurado esclarecer o significado clínico dessas alterações em animais e em humanos, e os mesmos ainda permanecem incertos, mostrando a necessidade de maiores esclarecimentos.

ARATAKI, em 1926, já constatava aumento do volume glomerular na hipertrofia renal compensatória, estabelecida quando realizou o estudo experimental em ratos albinos, nefrectomizando-os com 20 e 50 dias de vida e analisando os efeitos no rim remanescente após 30, 50 e 80 dias. Relatou ter havido aumento maior quanto maior era o intervalo entre a operação e o sacrifício. Esse aumento foi devido à hipertrofia das unidades glomerulares, do comprimento dos túbulos coletores e da hiperplasia do tecido de sustentação.

Em 1932, CHANUTIN e FERRIS descreveram que a ablação renal de dois terços de um rim, associado à nefrectomia contralateral, em ratos, provocaria doença renal progressiva, cursando com proteinúria e hipertensão, em seu trabalho intitulado Insuficiência Renal Experimental Após Nefrectomia Parcial.

KOLETSKY e GOODSIT (1960) mostraram, em seu estudo sobre a história natural e patogenia da hipertensão após ablação renal, lesões glomerulares focais, incluindo trombose capilar e acúmulo de material amorfo nos glomérulos.

Relatos a respeito das alterações glomerulares, seguidas de redução da massa renal são controversos. DEEN et al. (1974) não encontraram diferença significativa no diâmetro glomerular no rato submetido a nefrectomia unilateral após 28 dias. Seus achados sugerem que há um aumento adaptativo no índice de filtração glomerular (GFR), resultante primariamente no aumento do fluxo plasmático glomerular, correspondendo aproximadamente a um aumento de três quartos no índice de filtração glomerular dos néfrons da camada cortical.

Em 1976, PURKERSON et al. tentaram caracterizar a extensão e patogenia das lesões glomerulares que ocorreram após infarto renal parcial, demonstrando que ratos com lesão renal de dois terços de um rim tornaram-se hipertensos,

porém, menos de 4% de lesões glomerulares foram observadas em ambos os rins. E aqueles submetidos à ablação renal em dois terços associado à nefrectomia contralateral desenvolveram proteinúria e hipertensão com 37% de lesões glomerulares, após 28 dias de observação em ambos os grupos. No mesmo estudo, o Autor relata aumento do número de células mesangiais e/ou celularidade vistos nos rins remanescentes e interpretados como sinais morfológicos iniciais de dano glomerular agudo.

GROND et al. (1982), analisando histologicamente o rim remanescente de ratos submetidos à nefrectomia unilateral, observaram que a esclerose glomerular focal estava presente em 10% dos animais após um período de 4 meses de observação. Em 1986, esses mesmos autores publicaram também um estudo descrevendo a ocorrência variável de lesões tipo glomeruloesclerose, em ratos Wistar, após nefrectomia unilateral, onde analisam as diferenças individuais na suscetibilidade para desenvolver glomeruloesclerose focal e segmentar. Esses ratos foram submetidos a nefrectomia aos 3 meses e a avaliação ocorreu após 30 dias. Os autores concluíram que uma relativa diminuição no número de néfrons, no rim, não aumenta a suscetibilidade de desenvolver glomeruloesclerose focal e segmentar. Neste mesmo ano, em outro estudo, os autores comparam ratos Wistar susceptíveis à glomeruloesclerose com ratos PVG/c resistentes a desenvolver glomeruloesclerose após nefrectomia unilateral, e encontraram um aumento de 23% no volume dos glomérulos dos ratos Wistar susceptíveis, sendo que nos ratos PVG/c não houve alteração no volume glomerular, após o período de 1 ano de observação. Relataram, ainda, que o volume glomerular pode ser usado como um marcador de risco para o controle da função renal em longo prazo pós-ablação renal.

FRIES et al., em 1989, em seu estudo, analisam o tamanho glomerular após ablação renal induzida pelo uso de Adriamicina, observando que os efeitos da droga aumentam desproporcionalmente o risco de desenvolver ou acelerar lesões, como glomeruloesclerose. Neste modelo, houve hipertrofia glomerular às custas do aumento do volume do tufo glomerular, sugerindo que o processo de glomeruloesclerose pode ser progressivo e tanto maior quanto maior e mais agressiva for a lesão que desencadeie o processo inicial. Nesse estudo, esses autores descrevem os métodos de análise morfométrica quantitativa do diâmetro,

da área e do volume glomerular. Métodos estes que, em conjunto, permitem uma análise acurada da hipertrofia glomerular decorrente de uma agressão renal.

FOGO e ICHIKAWA (1989) relatam a presença de esclerose glomerular em ratos submetidos a ablação renal em mais de 50% da massa renal. Concomitantemente, parece haver proliferação celular que contribuiria para a progressão da esclerose glomerular.

A hipertrofia glomerular compensatória, após nefrectomia unilateral, que se desenvolve às custas do aumento do volume celular e da matriz mesangial, sem um componente hiperplásico, foi descrita por SCHWARTZ e BIDANI, em 1991, no estudo da estrutura e função mesangial no rim remanescente.

A hipertrofia renal compensatória é descrita por NAGATA et al. (1992), como evento inicial do dano glomerular e apresenta relação direta com esclerose glomerular; e a injúria será tanto mais freqüente quanto maior for o diâmetro do glomérulo. A redução de massa renal associada ao aumento do diâmetro dos glomérulos remanescentes sugere hipertrofia compensatória. Esses autores descrevem as alterações glomerulares observadas nos animais nefrectomizados, aos dez dias de vida, e observados por um período de 4, 12 e 24 semanas. Concluem que, após 12 semanas, já existem alterações glomerulares, que são lesões precedentes àquelas encontradas no final do experimento: as lesões de glomeruloesclerose focal. As alterações encontradas foram: a adesão do tufo glomerular à cápsula de Bowman, com ou sem lesão de esclerose segmentar; alteração da forma e diâmetro dos capilares glomerulares; alterações na estrutura dos podócitos, sugerindo que a dilatação dos capilares representa o evento inicial do desenvolvimento das outras lesões mais severas como a adesão do tufo e a glomeruloesclerose focal.

Os estudos de LAX et al. (1992) analisaram o crescimento renal e as alterações do volume glomerular em ratos submetidos a nefrectomia direita, e infarto de dois terços do rim esquerdo, quando na vigência de dieta pobre em sal, e demonstraram que, após 8 semanas, animais com dieta normal de sal apresentaram 25% de lesões glomerulares, e os que tiveram uma dieta com restrição de sal se apresentaram com menos lesões glomerulares, indicando que a hipertrofia renal e glomerular se correlacionou com o desenvolvimento da injúria glomerular após redução da massa renal, e que a restrição de sal causa menos danos renais, em parte pela inibição do crescimento renal compensatório.

Observações relatadas por REMUZZI et al. (1995) indicam que a extensão da esclerose glomerular em ratos e humanos é qualitativa e quantitativamente comparável, se igual proporção de parênquima renal for removida. Esses achados demonstraram que o rato é um modelo válido para o estudo da lesão renal secundária a ablação.

KLIEM et al., conforme relato publicado em 1996, observam a significância da proliferação mesangial e glomerular como eventos precedentes à glomeruloesclerose e também às alterações tubulointersticiais concomitantes, após uma semana da ablação renal significativa, concluindo que as alterações dos túbulos são semelhantes àquelas que ocorrem nos glomérulos.

Em 1998, ZEIER et al. relataram o crescimento renal e glomerular como fatores importantes e factíveis na avaliação da progressão da falência renal. Nesse estudo é demonstrado que ratos do sexo feminino, (Sprague-Dawley), têm maior susceptibilidade de desenvolver glomeruloesclerose após uninefrectomia, e que estímulos ao crescimento glomerular podem favorecer ao desenvolvimento da glomeruloesclerose após ablação renal.

Ao avaliar os efeitos isquêmicos sobre o rim remanescente de ratos submetidos à nefrectomia unilateral, PAGTALUNAN et al. (1999) relataram que, após o clampeamento da artéria renal durante 30 minutos, foi observado um aumento significativo na creatinina sérica, tendo este aumento persistido após 20 semanas, o que indica incompleta recuperação da função renal após o evento agudo. Nesse estudo foram encontradas alterações morfológicas compatíveis com doença túbulo-intersticial e glomerular.

ESPOSITO et al., também em 1999, demonstraram que redução no número de néfrons funcionantes leva a hipertrofia, a hipertensão e a hiperfiltração glomerular, com adicional perda de néfrons. Essa perda de néfrons será tanto mais severa quanto mais precoce se instalar a lesão inicial, (glomeruloesclerose), e que a predisposição genética agravaria a redução da massa renal funcionante, com diminuição do número de néfrons e aumento do volume glomerular. Não há observação do aumento do número de células glomerulares, fazendo referência ainda à impossibilidade de diferenciar os tipos celulares do glomérulo. Os autores estudaram ratos mutantes com uma redução congênita de 50% do número de néfrons, realizando uninefrectomia, aos 10 dias de vida, com um período de observação entre 12 a 18 semanas.

O estudo de GRIFFIN et al., em 2000, mostrou que o efeito da sobrecarga resultante de alterações hemodinâmicas sobre os glomérulos remanescentes leva, inicialmente, a um fenômeno comum de adaptação, que se traduz por hipertensão e aumento do volume do glomérulo. Não há evidência, porém, de que tal aumento seja fator de risco independente a influenciar a progressão da doença.

As evidências de susceptibilidade genética, na progressão do dano renal após nefrectomia unilateral, foram descritas, em 2000, por SHIOZAWA et al., ao estudarem ratos geneticamente hipertensos, com hipertensão glomerular e glomeruloesclerose focal com progressão para falência renal. Os animais foram submetidos à nefrectomia unilateral com cinco semanas, e a análise foi realizada após oito semanas. O estudo demonstrou cinco *loci* envolvidos na doença renal progressiva, sugerindo a necessidade de se correlacionarem esses dados aos humanos, no entendimento da falência renal.

Com o propósito de determinar os mecanismos que levam ao desenvolvimento precoce do crescimento renal compensatório, após nefrectomia unilateral em ratas adultas, MULRONEY e PESCE (2000), estudaram a associação dos fatores de crescimento: GH e fator de crescimento insulino-dependente. Dosando essas substâncias vinte e quatro horas após a nefrectomia nos animais adultos do sexo feminino, observaram que a fase inicial do crescimento renal compensatório não é dependente de GH, mas associado com aumento significativo do fator de crescimento insulino-dependente no rim remanescente das ratas, com o que se indica, também, uma diferença sexual no desenvolvimento precoce da hiperplasia renal, pois, no rato, esse crescimento inicial parece ser mediado pelo GH.

HAYLOR et al., em 2000, em seu estudo sobre a ação do fator de crescimento insulino-dependente I, pós uninefrectomia constataram que essa substância é um mediador da hiperperfusão e hiperfiltração no rim remanescente de ratos masculinos.

WOODS et al. (2001) estudaram se a hipertensão no rato adulto, causada pela redução do número de néfrons ao nascimento, é precedente à lesão glomerular. Os animais foram uninefrectomizados com um dia de vida e observados por 20 semanas. Concluíram que uma remoção cirúrgica de 50% dos néfrons, ainda em desenvolvimento, causa redução na função renal e hipertensão

dependente de sal, na vida adulta, sendo a hipertensão antecedente as lesões glomerulares.

Nos estudos de KANG et al. (2001), observou-se resposta angiogênica precoce no rim remanescente, com aumento da proliferação peritubular após uma semana, e glomerular, com aumento das células endoteliais, após duas semanas de observação pós nefrectomia unilateral e ablação renal de cinco sextos do rim contralateral. Subseqüentemente, todavia, houve redução do número de células endoteliais aos valores normais, associado ao decréscimo também dos fatores de crescimento vascular e de expressão tubular, que pode ser correlacionado com a perda capilar, fibrose intersticial e glomeruloesclerose.

A observação de que a nefrectomia em cinco sextos promove hipertensão glomerular, glomeruloesclerose, fibrose intersticial foi relatada por BOBADILLA et al. (2001). Revelaram, também, alterações morfométricas com um aumento do volume glomerular em 46%, e da área mesangial em 94%, além de uma diminuição da área do capilar glomerular em 24%.

### 3. MATERIAL E MÉTODO

Este estudo foi desenvolvido nas dependências do Instituto de Pesquisa em Cirurgia “Dr Egas Penteado Isique”, da Disciplina de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), no Laboratório de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR). Utilizou-se a Nômina Anatômica Veterinária de 1987, e sua execução foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da UFPR (CEPA-CCBS) – anexo 1.

A manipulação dos animais seguiu as diretrizes de WAYNFORTH e FLECKNELL (1992) e, também, de WOLFENSOHN e LLOYD (1995), obedecendo às disposições do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1999) quanto à criação e ao uso de animais para atividade de ensino e pesquisa.

#### 3.1 MODELO ANIMAL

Alocaram-se 50 ratos albinos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus norvegicus*), com 15 dias de vida, peso médio de 16 gramas e estatura de três centímetros, provenientes do Biotério do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná.

Após a pesagem, todos os animais foram operados e, em seguida, confinados em caixas próprias para manterem o convívio materno até o 21.º dia de vida. Após esse período inicial, os animais da amostra foram rearranjados em cinco ratos por gaiola, separando-os das respectivas matrizes. Todos foram mantidos em condições padronizadas de laboratório: temperatura entre 20 e 24°C,

umidade relativa entre 50 e 60%, ciclo dia/noite de 12 horas (8:00 e 20:00 h), recebendo ração padrão para a espécie (Nuvilab-CR1, Nuvital® – Colombo, Paraná, Brasil) e água *ad libitum*, por um período de 435 dias (1ano, 2 meses e 10 dias). Permitiu-se o acesso à água potável somente, nas 12 horas que precederam cada procedimento cirúrgico.

Os animais recém-nascidos que morreram, durante o procedimento, foram substituídos; aqueles que faleceram no período de observação do experimento foram simplesmente excluídos.

### 3.1.1 Grupos

Distribuíram-se os 50 ratos, com 15 dias de vida, por sorteio, em dois grupos: A e B. O Grupo A, chamado “experimento” ou “teste”, foi constituído inicialmente por 25 animais, todos submetidos à nefrectomia esquerda. O grupo B, chamado “controle”, contou com 25 animais submetidos a lombotomia, isolamento do pedículo renal esquerdo, mas sem a retirada do órgão.

Após o período de observação de 435 dias, todos sofreram eutanásia e seus rins direitos foram retirados para estudo macro e microscópico. Um animal do Grupo A morreu, durante o seguimento, e não foi substituído (tabela 1).

**TABELA 1 – DISTRIBUIÇÃO ALEATÓRIA DOS ANIMAIS EM GRUPOS.**

GRUPOS	NÚMERO DE ANIMAIS
A – experimento	24
B – controle	25

### 3.2 EQUIPAMENTO E INSTRUMENTAL

Realizaram-se os procedimentos cirúrgicos em ambiente de laboratório destinado à manipulação de animais de experimentação, utilizando-se do seguinte material:

- a- instrumentos para pequena cirurgia;
- b- fios de algodão 3-0 Ethicon®;

- c- degermante pvpi(polivinil pirrolidona);
- d- seringa de 10 e de 20 ml Injex®;
- e- agulhas 1,6 x 4,0 cm BD®;
- f - agulhas 0,7 x 2,5 cm BD®;
- g - solução de formol a 10%, tamponada;
- h - balança Ohaus®;
- i - régua graduada;
- j - tubos de coleta de sangue;
- l - vasilhame com formol a 10% para coleta de órgãos;
- m- fio de nylon 5-0 Ethicon®;

### 3.3 DETERMINAÇÃO DO PESO DOS ANIMAIS

Todos os ratos foram pesados com balança eletrônica de alta precisão (Ohaus® Precision Standard-modelo TS-2KS,Bradford,UK) antes do decesso.

### 3.4 DESENHO DO EXPERIMENTO

Todos os procedimentos, nos animais da amostra, foram realizados sob anestesia geral.

#### 3.4.1 Ato anestésico

Colocaram-se os animais em recipiente de vidro, cujo ambiente estava saturado por éter etílico, evaporado de chumaço de algodão. Desse modo, atingiu-se o plano anestésico em poucos minutos. Manteve-se o nível da anestesia com éter, administrado através de campânula-máscara e respiração espontânea, conforme a idealização de GOLDEMBERG et al. (1997), demonstrado na figura 3.

### 3.4.2 Descrição do primeiro procedimento operatório

Em todos os animais, anestesiados da maneira acima descrita, realizou-se a tricotomia do flanco ao hipocôndrio esquerdo, imobilizando-os, em seguida, em decúbito lateral direito, cuja anti-sepsia da região de interesse foi com solução tópica de polivinil-pirrolidona (PVPI), finalmente delimitada por campos cirúrgicos estéreis.

A incisão foi subcostal esquerda, da pele ao peritônio, em todos os ratos, seguida da exposição do pedículo renal, identificação da artéria e da veia renais, assim como do ureter correspondente (figura 2). No grupo A, completou-se a nefrectomia unilateral esquerda (NUE), enquanto, no grupo B, a operação foi simulada, preservando-se o rim ao final. A parede abdominal dos ratos de ambos os grupos foi fechada em plano único com fio Mononylon<sup>®</sup> 5-0.

Os rins extirpados foram mergulhados e mantidos em solução tamponada de formaldeído a 10%.



Figura 1 - Exposição do pedículo renal esquerdo, identificação da artéria, veia e ureter.



Figura 2 - Rim esquerdo extirpado.

### 3.4.3 Cuidados e observação pós-operatórios

Após esses procedimentos – nefrectomia esquerda (grupo A) ou simulação (grupo B) – todos os animais voltaram ao convívio materno até completarem 21 dias de vida, como acima mencionado, observadas as condições próprias para o bem-estar dos animais. Verificaram-se, diariamente, os parâmetros clínicos de nutrição e de saúde, medidos e comparados, semanalmente, com curvas ponderais-padrão e índices de saúde próprios da espécie, quando sadia.

Houve uma única morte ao longo do período de observação de 435 dias: o animal pertencia ao grupo teste (A) e, por conseguinte, não foi substituído.

### 3.4.4 Descrição do segundo procedimento operatório e ortotanásia

A anestesia foi semelhante à do procedimento anterior, mas o preparo regional com tricotomia e anti-sepsia interessou toda a face anterior do abdome e do tórax. Para tanto, cada animal foi imobilizado em decúbito dorsal, facilitando a delimitação do campo com lençóis esterilizados.



Figura 3 – Técnica da anestesia por inalação e imobilização do rato no segundo procedimento operatório.

A ampla laparotomia foi realizada através de incisão longitudinal xifopubiana. Identificaram-se o rim direito e o seu pedículo, reparando-se os vasos e o ureter com fio de algodão 3-0.

Punção da cava inferior para a colheita do sangue necessário às determinações das concentrações de creatinina e uréia. A agulha foi posicionada de tal modo que a sua extremidade se situava aproximadamente na aurícula direita. Uma vez colhido o sangue, a seringa foi desconectada da agulha que, mantida na posição, facilitou a saída do conteúdo fluido a fim de tornar o murídeo exangue.

Esse intuito foi completado através de rápida remoção da parte anterior do gradil torácico, introdução de agulha no ventrículo esquerdo e perfusão de formalina a 4%, tamponada. O seu volume total é aproximadamente três vezes o volume sangüíneo presumido, assumido como correspondente a 21% do peso corpóreo do rato, expresso em volume de água; a velocidade de infusão não ultrapassou 1/3 do volume calculado, a cada minuto. O volume total da solução infundida foi, geralmente, suficiente para tornar todos os órgãos pálidos ou lívidos, concomitante ao aparecimento de tremores e fasciculações nos membros e cauda. Para facilitar a perfusão, e evitar um regime de hipertensão, acrescentou-se a auriculotomia direita sistemática ao procedimento.

Finalmente, o pedículo direito era ligado e o rim retirado, pesado e mergulhado em formalina a 10%, tamponada, por 24 horas. Depois desse intervalo

e fixação, a posição das peças era orientada e, cada uma delas, colocada em blocos de parafina para posterior procedimento.

### 3.5 ANÁLISE FUNCIONAL

Após a colheita do sangue, separou-se o soro como preparo para as determinações das concentrações séricas da uréia e da creatinina.

Na dosagem da creatinina, empregou-se o método colorimétrico e cinético de JAFFÉ, com o auxílio do auto-analisador ADVIA (BAYER® - Alemanha). Os seus valores de referência para a espécie foram definidos entre as concentrações de 0,10 a 1,30mg/dl (LOEB, 1997). Para a dosagem da uréia sérica, utilizou-se o método enzimático da uréase UV, através do mesmo auto-analisador, cujos valores de referência do nitrogênio da uréia são:  $20 \pm 11,8$  mg/dl, para os fêmeos com mais de 18 meses, e  $29 \pm 12,6$  mg/dl, para os machos (WOLFORD et al., 1986).

### 3.6 ANÁLISE MORFOLÓGICA

A análise foi comparativa entre o rim direito remanescente, no grupo A, e o rim do mesmo lado, no grupo B, todos removidos no segundo procedimento cirúrgico.

Nesse sentido, observaram-se eventuais alterações da aparência macroscópica, mediram-se o peso e a estatura de cada rim destinado às comparações propostas. Optou-se pela microscopia óptica para a avaliação qualitativa dos glomérulos e para a morfometria eletrônica correspondente. Os túbulos renais foram estudados apenas qualitativamente.

#### 3.6.1 Avaliação macroscópica

Utilizaram-se os critérios descritos por INDOLFI et. al. (2001), essencialmente, o peso absoluto, o peso relativo a 100 g do peso corpóreo e a estatura do rim direito (figuras 4 e 5).



Figura 4 – Avaliação do peso do rim direito.



Figura 5 – Avaliação do comprimento do rim direito.

### 3.6.2 Avaliação microscópica

A preparação do material para a histologia seguiu as técnicas habituais (PROPHET et al., 1994). Depois do período de fixação de 24 horas, os tecidos das

amostras foram processados: por desidratações sucessivas, com álcool etílico com concentrações crescentes de 70 a 100%; tornados diáfanos em xilol; impregnados por parafina, a 58°C, para a constituição do bloco. Na seqüência, esse bloco foi cortado com intervalos de 3µm de espessura, cujo produto foi colocado em lâminas de vidro, corado por hematoxilina-eosina (H&E) e pela técnica do PAS (ácido periódico de Schiff), com digestão enzimática.

A análise histológica foi realizada por um único observador, diferente da autora, sem conhecimento prévio dos grupos.

### 3.6.2.1 Exame microscópico

Os parâmetros histológicos e morfométricos foram obtidos por microscopia óptica, com auxílio do microscópio Olympus® Bx50 (Olympus, Tóquio, Japão).

Todos os glomérulos, de cada corte, foram analisados qualitativamente, perfazendo mais de 100 por lâmina. Observaram-se os dez glomérulos de cada lâmina para cada rato. As medidas foram restringidas aos glomérulos que demonstraram, num único corte, ambos os pólos, o vascular e o urinário. Essa disposição indica a secção coincidente com a região equatorial do glomérulo. Esses glomérulos, assim selecionados ao acaso, foram utilizados para as mensurações.

Efetuuou-se a morfometria por meio de câmera de Vídeo Sony® (Sony Inc., Japão), acoplada ao microscópio Olympus® Bx50. A leitura eletrônica foi realizada através de aplicativo, chamado Morfometria de Linhas, calibrado em micrômetros, associado ao do programa Optimas® 6.2 para Windows®.

Através desse equipamento, estabeleceram-se os seguintes parâmetros da histologia para o estudo: diâmetro, área e volume glomerular; presença ou não de esclerose glomerular.

Para obter o diâmetro do tufo capilar glomerular, mediu-se a porção equatorial do glomérulo, fazendo, com o cursor do *mouse*, um traçado entre os limites do tufo, na região equatorial (DANILEWICZ et al., 1998), chamando-se doravante de diâmetro interno (figura 6).

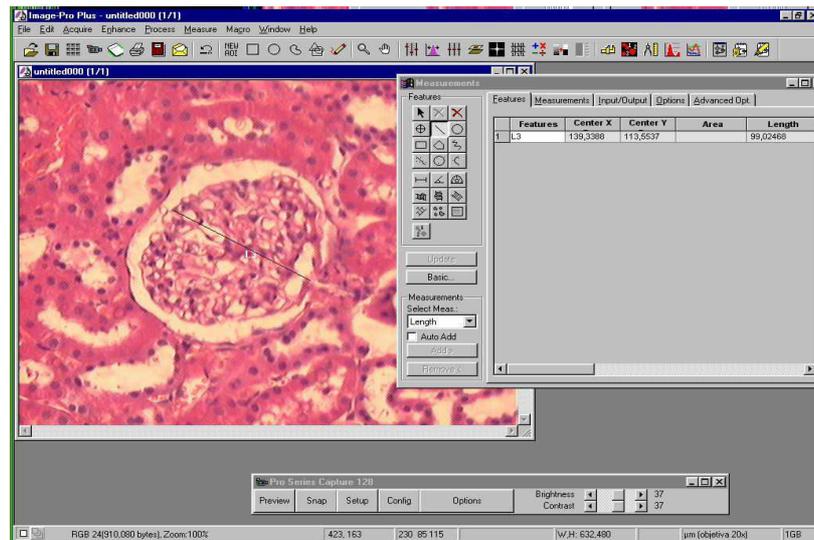


Figura 6 – Diâmetro interno, entre os limites do tufo glomerular (H&E). A imagem da tela do computador demonstra as ferramentas do programa Optimas<sup>®</sup> utilizado na morfometria.

Utilizou-se o mesmo procedimento para a mensuração do diâmetro da cápsula de Bowman, intitulado de diâmetro externo (figura 7).

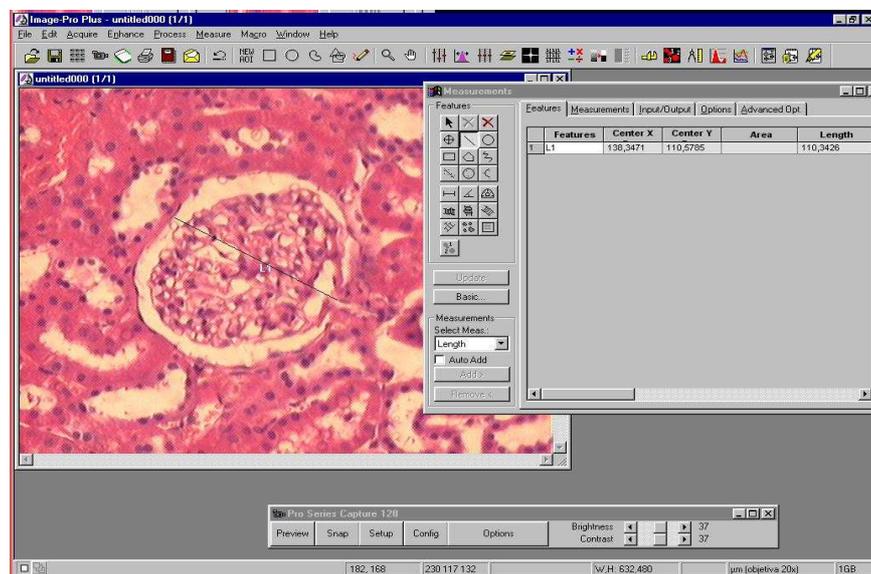


Figura 7 – Diâmetro externo (cápsula de Bowman) H&E. A imagem demonstra as ferramentas do programa Optimas<sup>®</sup> utilizado para a morfometria.

Calculou-se a área do tufo glomerular por meio da captura da imagem de cada glomérulo, posicionamento do cursor na área central, estabelecendo-se, a

partir daí, uma linha circular externa, coincidente com os limites do tufo glomerular (AKAOKA et al., 1994), conforme demonstra a figura 8. Conferiu-se o dado eletrônico pela equação  $\pi r^2$ , em que  $r$  = diâmetro do glomérulo/2 ou raio.

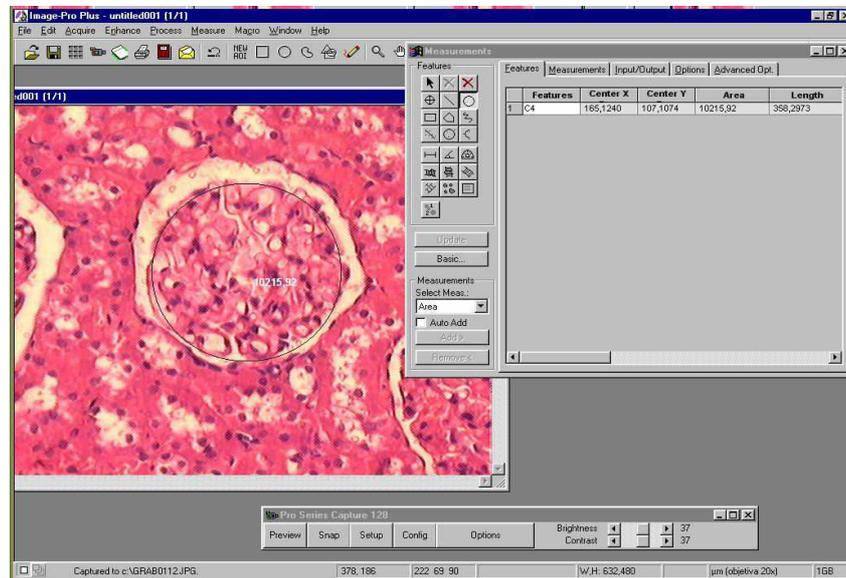


Figura 8 – Medida da área interna ou do tufo glomerular (H&E). Demonstração das ferramentas do programa Optimas<sup>®</sup> destinado a morfometria.

A mensuração da área externa, nominalmente do glomérulo, foi realizada da maneira anterior, como demonstra a figura 9.

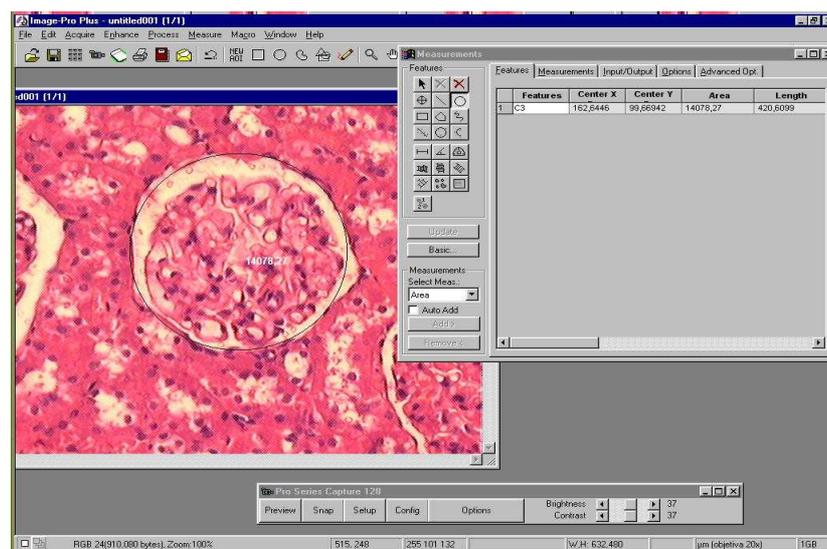


Figura 9 – Área glomerular externa (H&E). Demonstração das ferramentas do programa Optimas<sup>®</sup> utilizados na morfometria.

Calculou-se o volume glomerular de acordo com os critérios preconizados por Van DAMME e KOUDSTAAL (1976). Para essa estimativa, lançou-se mão da equação  $4/3\pi r^3$ , destinada ao cálculo do volume da esfera, na qual “r” representa o raio (PAGTALUNAN et al., 2000).

Para estimar a quantidade de glomérulos com alteração parcial ou completa, foi necessário definir a esclerose glomerular como: existência de alteração segmentar ou total de um glomérulo, causada por deposição mesangial de material hialino, aumento da matriz dessa estrutura, colapso de capilares glomerulares e adesão do tufo à cápsula de Bowman (GROND et al., 1986b; LAFERTY, BRENNER, 1990), conforme se visualiza nas figuras 10 e 11.

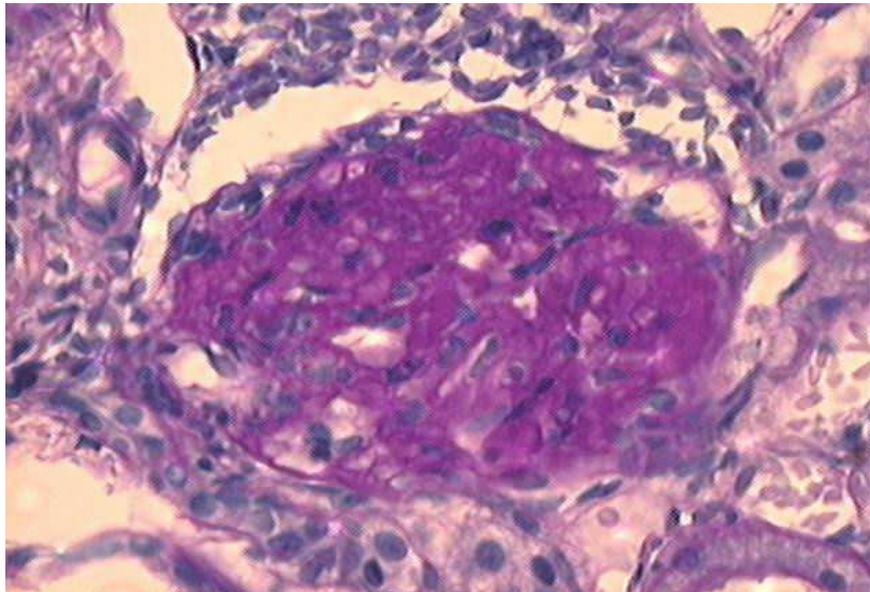


Figura 10 – Exemplo de esclerose glomerular (PAS-400x).

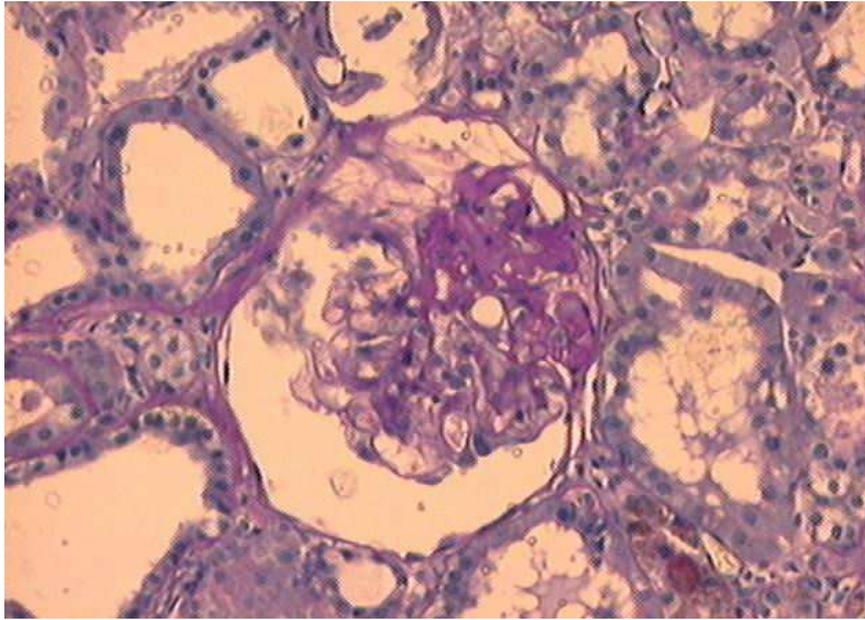


Figura 11 – Glomérulo com esclerose parcial (PAS-200X).

Observou-se, ainda: alterações tubulares adjacentes aos glomérulos comprometidos, infiltração inflamatória intersticial de monomorfonucleares, sem a computação quantitativa (figura 12).

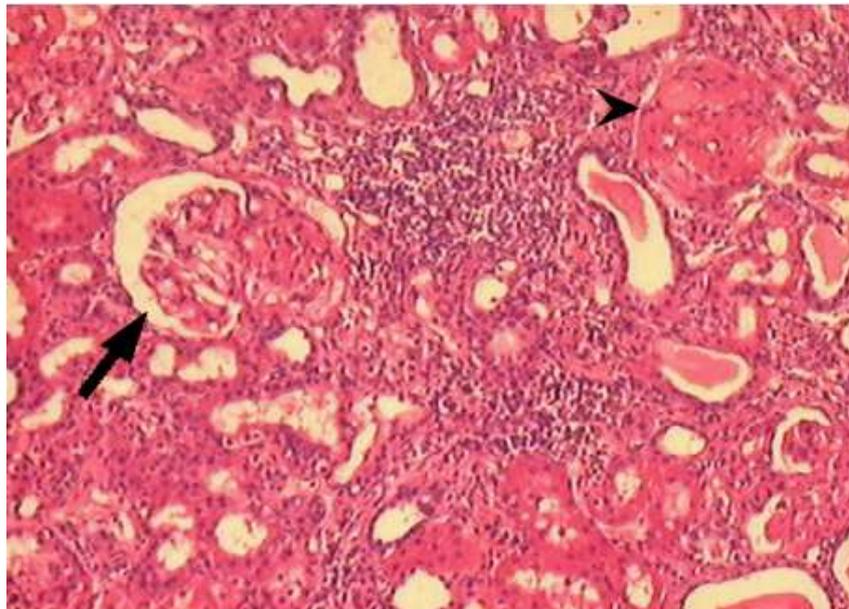


Figura 12 – Demonstração de infiltrado inflamatório de monomorfonucleares no tecido intersticial peritubular, próximo a glomérulo com alteração segmentar e, outro, com comprometimento total (H&E – 200x).

### 3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise descritiva dos dados, recorreu-se a tabelas e gráficos. Para a comprovação dos objetivos, propostos neste trabalho, testou-se a hipótese nula, de médias iguais, versus a hipótese alternativa, de médias diferentes. Para tanto, considerou-se o teste *t de Student* para as amostras independentes, levando em conta a homogeneidade ou não das variâncias. Para a comparação dos grupos, em relação a presença de esclerose glomerular, foi usado o teste exato de Fisher (SIEGEL, 1975). Valores de  $p < 0,05$  (5%) indicaram significância estatística.

## 4. RESULTADOS

### 4.1 VARIÁVEIS RELACIONADAS AO RATO

No grupo estudo A, composto por 25 ratos, perdeu-se um, sendo os restantes representados por 12 machos (50%) e 12 fêmeos (50%). No grupo controle B, com um contingente de 25 ratos, formado por 13 machos (52%) e 12 fêmeos (48%), conforme demonstra a tabela 2.

TABELA 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS RATOS POR SEXO.

SEXO	GRUPO A n = 24	GRUPO B n = 25
MACHOS	12 (50%)	13 (52%)
FÊMEOS	12 (50%)	12 (48%)

No final do período de seguimento, o peso médio dos ratos do grupo teste (A) foi  $308,25 \pm 60,48$  g, variando de 218 a 400 g. No grupo controle (B), o peso médio foi de  $306,4 \pm 57,33$  g, e os extremos foram de 205 a 388 g (tabela 3).

TABELA 3 – REPRESENTAÇÃO DO PESO E DA ESTATURA NOS GRUPOS UNIRRENAIS E CONTROLES.

VARIÁVEL	GRUPO	n	MÉDIA (D.P)	MÍNIMO	MÁXIMO	VALOR p
Peso	Estudo (A)	24	$308,25 \pm 60,48$	218,00	400,00	0,9148
	Controle (B)	25	$306,44 \pm 57,33$	205,00	388,00	
Estatura do corpo	Estudo (A)	24	$22,65 \pm 1,85$	19,00	26,50	0,9779
	Controle (B)	25	$22,66 \pm 1,71$	19,50	26,00	

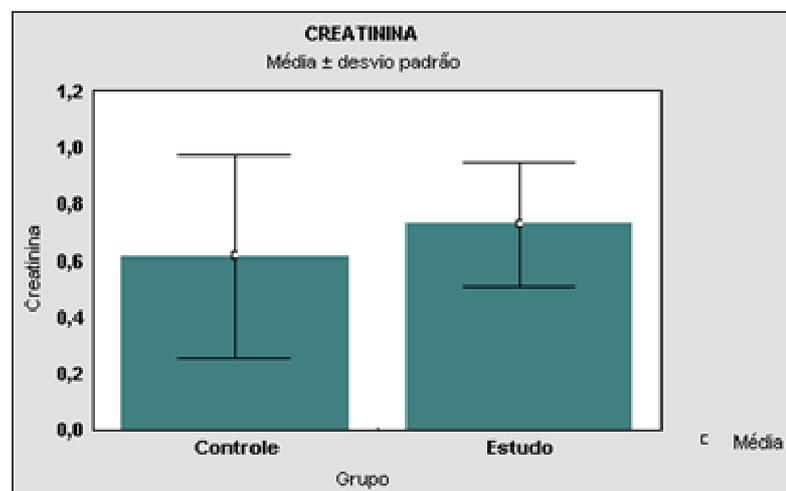
D.P. = desvio padrão.

A estatura média dos ratos do grupo de estudo, isto é, da cabeça ao fim do corpo, também está representada na tabela 3. Nenhum dos dados da tabela acima é suficiente para afastar a hipótese da igualdade entre grupos.

#### 4.2 ANÁLISE FUNCIONAL

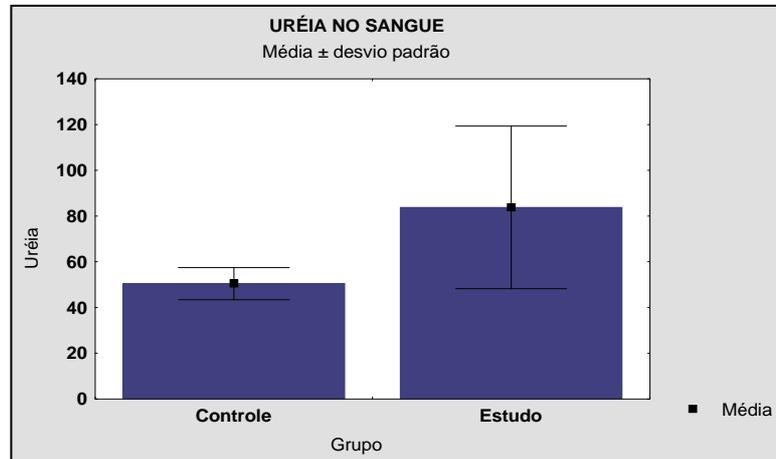
As concentrações séricas da creatinina, nos grupos de estudo (A) e controle (B), apresentaram médias, respectivamente, de 0,73 e 0,61mg/dl, representados no apêndice 1 e no gráfico 1. Não houve diferença significativa entre os grupos, mantendo-se, por consequência, a hipótese da nulidade ( $p=0,1923$ ).

GRÁFICO 1 – COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DA CREATININA ENTRE OS GRUPOS A e B.



Os valores médios encontrados nas mensurações da uréia sérica foram: 83,79 mg/dl, no grupo experimental A, cujos extremos variaram de 44 a 194 mg/dl; no grupo controle B, a média foi de 50,40 mg/dl e os extremos 36 e 77 mg/dl. Esses dados estão representados no gráfico 2.

GRÁFICO 2 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DA URÉIA ENTRE OS GRUPOS A e B.

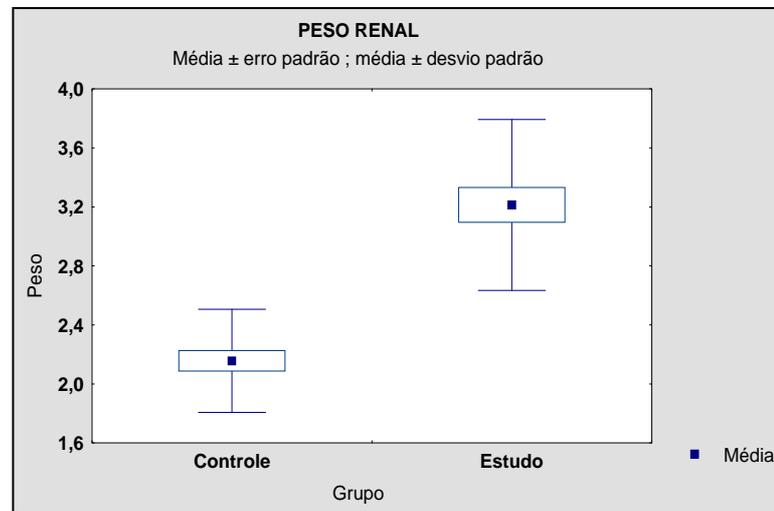


No estudo comparativo entre os níveis da uréia sérica, nos dois grupos, houve significância estatística nas diferenças ( $p < 0,001$ ), sendo os níveis mais elevados encontrados no grupo estudo A.

#### 4.3 VARIÁVEIS DO RIM DIREITO, REMANESCENTE E CONTROLE

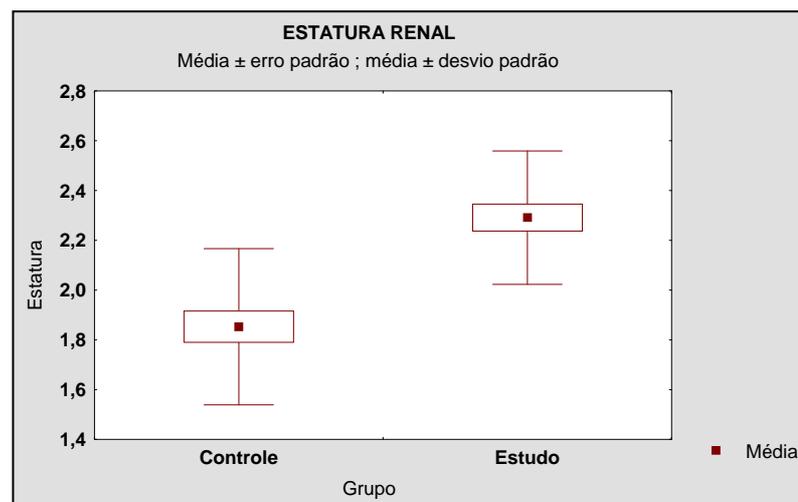
No grupo A, o peso renal variou de 2,0 g até 4,16 g, sendo a média e a dispersão  $3,21 \pm 0,28$ g. Para o grupo controle (B), o valor médio do peso renal foi de  $2,16 \pm 0,35$ g, cujos limites inferior e superior foram 1,37 e 2,86g (apêndice 2 e gráfico 3). Nesta comparação, a diferença foi significativa, maior em favor do grupo experimental ( $p < 0,001$ ).

GRÁFICO 3 – COMPARAÇÃO DO PESO DO RIM DIREITO ENTRE GRUPOS.



A comparação das medidas da estatura renal (comprimento longitudinal) mostrou comportamento semelhante ao do seu peso, predominando significativamente a maior dimensão no grupo experimental A ( $p < 0,001$ ). Esse comportamento está demonstrado no gráfico 4.

GRÁFICO 4 – COMPARAÇÃO DA ESTATURA RENAL ENTRE OS GRUPOS.



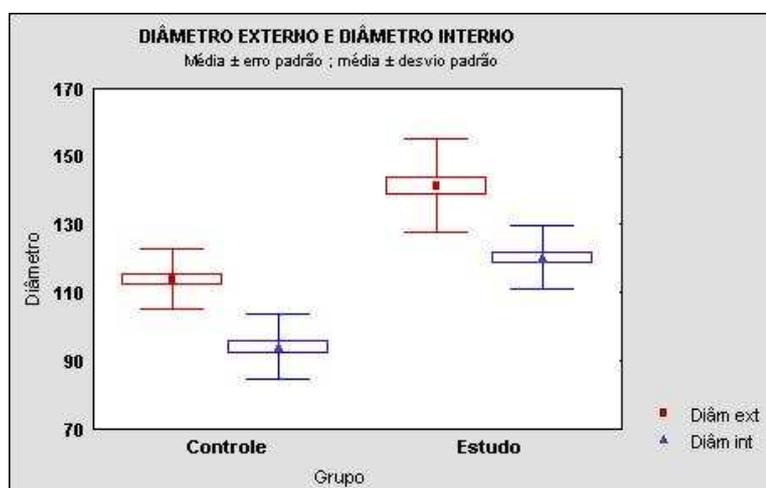
#### 4.3.1 Análise histológica

As variações da anatomia microscópica traduziram-se, essencialmente, por dimensões variadas e correspondentes (histomorfometria).

As médias e a dispersão correspondente nos diâmetros externos dos glomérulos foram:  $141,40 \pm 13,69 \mu\text{m}$  (extremos: de 121,53 a  $183,38 \mu\text{m}$ ), no grupo A; no grupo B, o valor médio foi de  $113,86 \pm 8,85 \mu\text{m}$  (extremos: de 95,67 a  $130,60 \mu\text{m}$ ). A diferença foi significativa entre os dois grupos ( $p < 0,001$ ), implicando a rejeição da hipótese de igualdade (apêndice 3 e gráfico 5).

O grupo experimental A teve  $120,25 \pm 9,36 \mu\text{m}$ , como média e dispersão do diâmetro interno dos glomérulos, ao passo que o grupo controle B apresentou  $94,18 \pm 9,53 \mu\text{m}$ . A diferença entre os dois grupos foi significativa ( $p < 0,001$ ), rejeitando-se, desse modo, a hipótese da igualdade (apêndice 4 e gráfico 5).

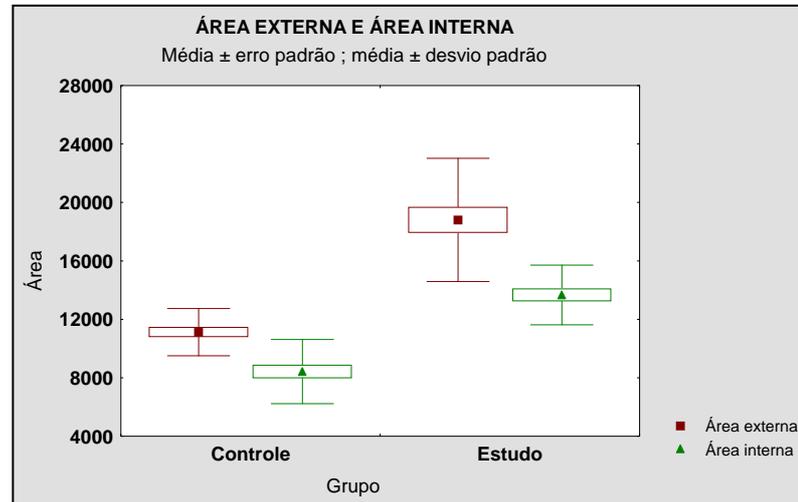
GRÁFICO 5 – REPRESENTAÇÃO DOS DIÂMETROS EXTERNOS E INTERNOS DOS GLOMÉRULOS, NOS GRUPOS A e B.



A área externa dos glomérulos foi de  $18798,77 \pm 4219,30 \mu\text{m}^2$ , no grupo estudo A, e de  $11118,05 \pm 1617,68 \mu\text{m}^2$ , no grupo controle B. A flutuação foi de  $13339,32$  e  $8836,75 \mu\text{m}^2$ , entre as menores áreas, até  $31519,98$  e  $14485,59 \mu\text{m}^2$ , entre as maiores, respectivamente nos grupos A e B. A diferença entre os grupos é

nitidamente significativa ( $p < 0,001$ ), como estão representados no gráfico 6 e nos apêndices 3 e 4.

GRÁFICO 6 – REPRESENTAÇÃO DAS ÁREAS EXTERNA E INTERNA DOS GLOMÉRULOS DOS GRUPOS A e B.

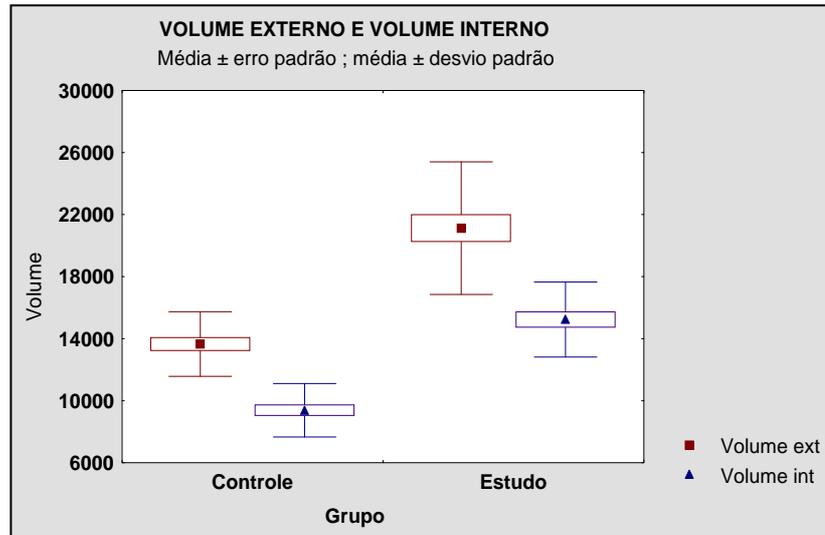


É significativa, também, a diferença entre as áreas internas dos dois grupos ( $p < 0,001$ ). As respectivas médias foram  $13667,66 \pm 2039,81$  e  $8421,35 \pm 2197,19 \mu\text{m}^2$  para os grupos A e B, sendo que os dados estão igualmente representados nos apêndices 3 e 4, assim como na figura 6.

O volume glomerular externo, correspondente ao volume da cápsula de Bowman e, conseqüentemente, do próprio glomérulo, foi de  $2112628 \pm 427737 \mu\text{m}^3$ , no grupo teste A, e de  $1365414 \pm 208810 \mu\text{m}^3$ , no grupo controle B. Os extremos foram respectivamente  $1,1526 \times 10^6$  e  $2,1464 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ , no grupo A, e  $0,9585 \times 10^6$  e  $1,7861 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ , no grupo B. A diferença entre os grupos foi notável ( $p < 0,001$ ), afastando, destarte, a hipótese  $H_0$ .

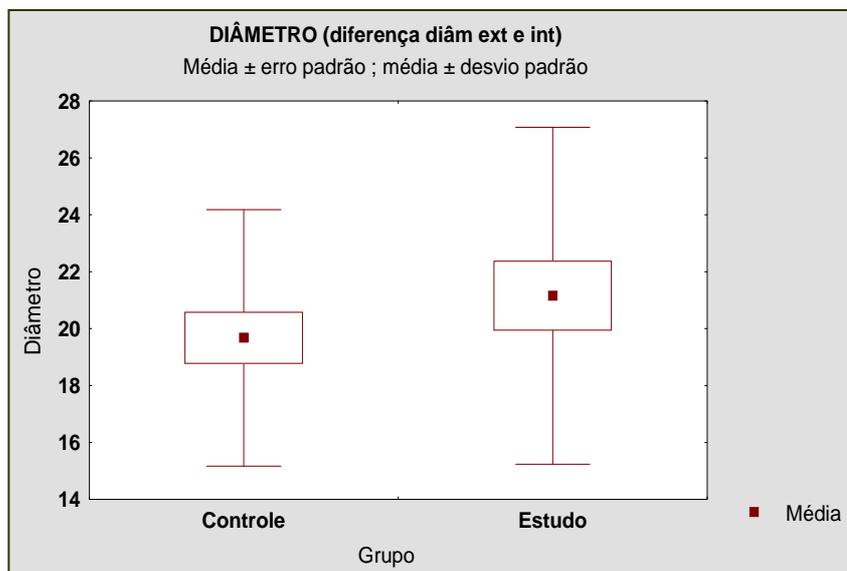
O estudo comparativo entre os grupos, no parâmetro volume glomerular interno, demonstrou valor médio maior para o grupo A do que para o grupo B, respectivamente  $1523001 \pm 241959 \mu\text{m}^3$  e  $938016 \pm 172319 \mu\text{m}^3$ . Os valores mínimos e máximos correspondentes foram: 1152579 e  $2146359 \mu\text{m}^3$ , no grupo A, e, no grupo controle, o menor 409978 e maior  $1188806 \mu\text{m}^3$ . A diferença foi, também, estatisticamente significativa, com  $p < 0,001$ . Esses dados estão representados nos apêndices 3 e 4, e no gráfico 7.

GRÁFICO 7 - REPRESENTAÇÃO DOS VOLUMES EXTERNO E INTERNO DOS GLOMÉRULOS DOS GRUPOS A e B.



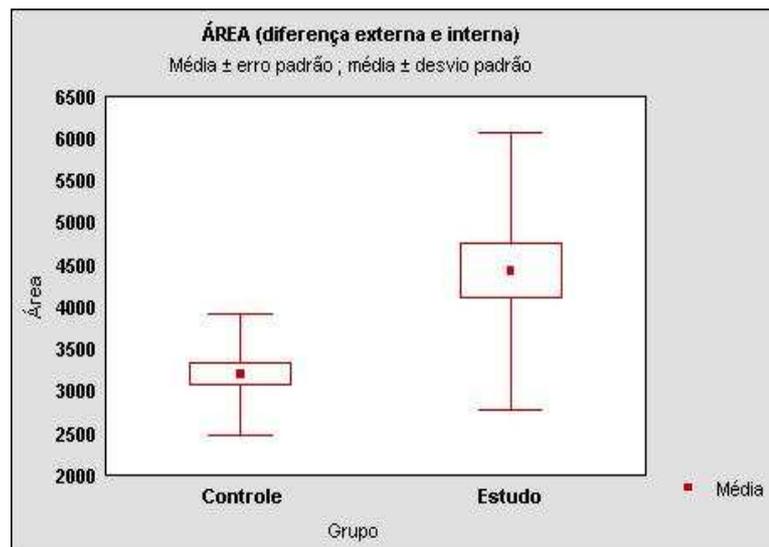
Realizou-se a avaliação da variável obtida com a diferença entre o diâmetro externo e o diâmetro interno do glomérulo, resultando numa média de  $21,15 \pm 4,33 \mu\text{m}$  e extremos de  $11,86$  e  $40,21 \mu\text{m}$ , no grupo A. No grupo controle B, a variação foi de  $11,56 \mu\text{m}$  até  $34,29 \mu\text{m}$ , e média de  $19,68 \pm 1,68 \mu\text{m}$ . Não houve diferença significativa na comparação entre os grupos (apêndice 5 e gráfico 8).

GRÁFICO 8 – REPRESENTAÇÃO DA DIFERENÇA ENTRE OS DIÂMETROS EXTERNO E INTERNO DOS GLOMÉRULOS DOS GRUPOS A e B.



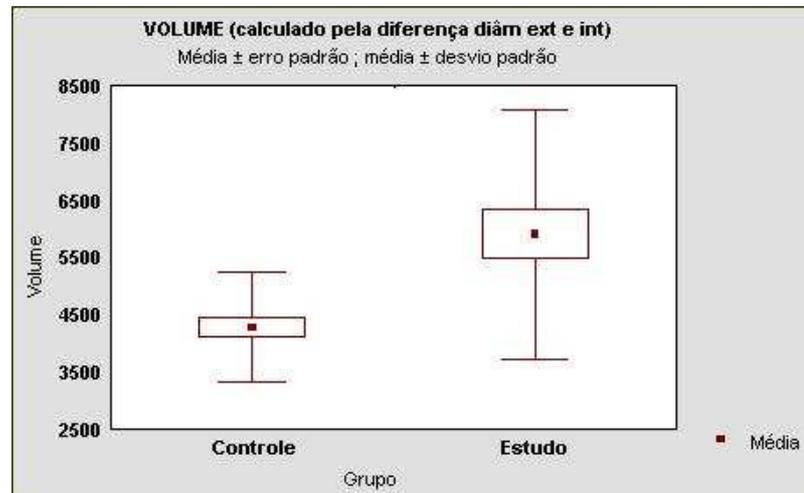
A diferença entre a área externa e a área interna variou de 2152,97 a 10313,28  $\mu\text{m}^2$ , no grupo teste A, cujo valor médio e dispersão correspondente foram:  $4422,20 \pm 1641,87 \mu\text{m}^2$ . No grupo controle B, a média foi  $3205,49 \pm 720,10 \mu\text{m}^2$ , sendo a variação entre 1907,48 e  $5046,26 \mu\text{m}^2$ . Na comparação entre os grupos, o predomínio do grupo estudo A sobre o grupo controle B foi nítido, entretanto, houve significância estatística, apesar da grande dispersão nas medidas calculadas. Esses dados estão representados no apêndice 5 e no gráfico 9.

GRÁFICO 9 – DIFERENÇA ENTRE AS ÁREAS EXTERNA E INTERNA DOS GLOMÉRULOS, NOS GRUPOS A e B.



Para a diferença entre o volume externo e o interno, no grupo A, as médias foram  $0,590 \pm 0,219 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ , sendo os limites inferior e superior  $287063 \mu\text{m}^3$  e  $1375104 \mu\text{m}^3$ , respectivamente. No grupo B, a variação foi de  $254330 \mu\text{m}^3$  a  $672835 \mu\text{m}^3$ , sendo a média de  $0,427 \pm 0,096 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ . Novamente, a diferença entre os volumes, externo e interno, foi maior no grupo de estudo A, sendo significativa (apêndice 5 e gráfico 10).

GRÁFICO 10 – DIFERENÇA ENTRE O VOLUME EXTERNO E O INTERNO DOS GLOMÉRULOS, NOS GRUPOS A e B.



A variável esclerose glomerular foi pesquisada nos dois grupos, através da coloração por PAS, observando-se o predomínio dessas lesões no grupo experimental A. Nesse grupo, observou-se de 1 a 31 glomérulos alterados, em cada rato, ao passo que, no grupo controle B, surpreendeu-se um único glomérulo alterado, entre toda a amostra (apêndice 6). A simples ocorrência de alterações, no sentido afirmativo ou negativo, está representada na tabela 4.

TABELA 4 – DISTRIBUIÇÃO DE RATOS COM E SEM ESCLEROSE GLOMERULAR.

Esclerose glomerular	Estudo	Controle
Sim	24(100%)	1(4%)
Não	0(0%)	24(96%)
Total	24	25

#### 4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição por sexo consta da tabela 2; o peso (em gramas) e a estatura (em centímetros) corporais estão na tabela 3.

Do apêndice 1, constam: concentrações da uréia (mg/dl) e da creatinina (mg/dl) no soro, expressas por média e desvio padrão; extremos, mínimo e máximo, e decisão estatística baseada no nível de significância.

O apêndice 2 representa as variáveis do rim direito (remanescente): peso (g) e estatura ou comprimento longitudinal (cm), com as mesmas formas de representação anterior.

No apêndice 3, encontram-se os dados obtidos da morfometria da cápsula de Bowman: diâmetro ( $\mu\text{m}$ ), área ( $\mu\text{m}^2$ ) e volume ( $\mu\text{m}^3$ ) externos, observando-se os mesmos itens anteriores de representação.

O apêndice 4 detalha todos os elementos do apêndice anterior, em relação aos limites do tufo glomerular, ou parâmetros internos: diâmetro, área e volume internos.

O apêndice 5 demonstra os resultados das variáveis internas subtraídas das externas.

Finalmente, no apêndice 6, encontra-se a discriminação do número de glomérulos afetados, por rato estudado, pertencente a cada grupo.

## 5. DISCUSSÃO

Os ratos do presente estudo sofreram a ablação do rim esquerdo, tendo sido conservado o maior. Sabe-se que, entre os órgãos duplos, sempre há pequenas diferenças. O rato tem o rim direito ligeiramente maior do que o esquerdo, enquanto o homem e o coelho, por exemplo, apresentam a situação inversa (ROBINSON, 1988). A variação dessas dimensões contralaterais, porém, é tão insignificante que pode ser desprezada, considerando-se os órgãos gêmeos como macroscopicamente idênticos (ARATAKI, 1926). Pode-se, assim, considerar indiferente o lado escolhido para a ablação.

Após 450 dias de vida e 435 dias da nefrectomia unilateral, todos os ratos apresentaram o rim remanescente significativamente maior do que o ipsilateral do grupo controle. Esse comportamento coincide com o encontrado por outros autores, em murídeos submetidos às mesmas condições (ARATAKI, 1926; DEEN et al., 1974; GROND et al., 1986a; GROND et al., 1986b; FRIES et al., 1989), ou em jovens que sofreram nefrectomia unilateral antes de um ano de idade (APERIA et al., 1977; APERIA et al., 1978; BRENNER, 1985; WIKSTAD et al., 1986; LAFERTY e BRENNER, 1990; ENGLUND et al., 1997; INDOLFI et al., 2001).

Da mesma forma, as alterações glomerulares focais e segmentares encontradas no grupo experimental são compatíveis com o que GROND et al. (1986a) chamam de hialinose e esclerose glomerular focal e segmentar (HEGFS). O comportamento glomerular no grupo controle é o esperado, de acordo com o que reza o conceito de normalidade do animal escolhido.

Esse conjunto de observações corrobora os parâmetros necessários para a aceitação das cepas Wistar ou *Rattus norvegicus norvegicus* como adequadas ao modelo para o desenvolvimento dessa alteração glomerular focal e segmentar (GROND et al., 1986a). Variantes dessas linhagens, como os subgrupos Munich Wistar, Munich Wistar Frömter (MWF), Wistar-Kyoto (WKY), LEW/Ztm (HACKBARTH et al., 1983; SCHWARTZ e BIDANI, 1991), também se prestam ao mesmo modelo, pois desenvolvem respostas qualitativa e quantitativamente parecidas, embora variem em alguns detalhes que devem ser considerados nas comparações. Outras variantes, contudo, podem até ser refratárias a quaisquer respostas, como ocorre com a cepa PVG/c (GROND et al., 1986a).

O presente estudo se torna singular por dois aspectos: pela ablação renal unilateral aos 15 dias de vida e pelo longo período de observação.

De um modo geral, a nefrectomia unilateral experimental é praticada em ratos com aproximadamente dois a três meses de vida (DEEN et al., 1974; PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1982; GROND et al., 1986a; GROND et al., 1986b; FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991; LAX et al., 1992; GRIFFIN et al., 2000; MULRONEY e PESCE, 2000; WOODS et al., 2001). Como o rim remanente sofre repercussões mais acentuadas e deterioração mais severa, quando a nefrectomia unilateral se realiza antes de um ano de vida, simulam-se as circunstâncias no modelo experimental, procedendo-se à nefrectomia entre a segunda – como no presente estudo – e a terceira semanas de vida (ARATAKI, 1926; HACKBARTH et al., 1983; NAGATA et al., 1992). Consegue-se dessa forma aprimorar o modelo, simulando as circunstâncias encontradas na prática médica.

O período de observação do nosso modelo ultrapassa sobremaneira aqueles relatados na literatura. Pesquisadores que procedem à nefrectomia unilateral experimental em ratos, de poucas horas até 20 dias de existência, observam-nos por tempo variável de 30 a 168 dias (ARATAKI, 1926; NAGATA et al., 1992; WOODS et al., 2001). Entre os autores que realizam a nefrectomia em ratos com mais de dois meses de vida, o período de observação varia de horas a 360 dias, cujas informações obtidas são variáveis de acordo com os objetivos de cada um (DEEN et al., 1974; PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1982; GROND et al., 1986a; GROND et al., 1986b; FRIES et al., 1989; LAX et al., 1992; KLIEM et al., 1996; ZEIER et al., 1998; PAGTALUNAN et al., 1999; GRIFFIN et al., 2000).

## 5.1 ANÁLISE FUNCIONAL

Não se observou diferença nos níveis plasmáticos de creatinina entre os grupos controle e experimental, ainda que as médias dos respectivos níveis tenham sido  $0,61 \pm 0,36$  mg/dl e  $0,73 \pm 0,22$  mg/dl. Neste Laboratório, ao contrário, SANTOS (2004) encontrou diferença entre grupos controle e experimental, cujas médias não ultrapassaram 0,5 mg/dl. Com ou sem diferenças estatísticas entre controles e grupos experimentais, a análise desses dados é difícil porque se

encontram na faixa de normalidade, considerada de 0,1 a 1,30 mg/dl por SANTOS (2004), de 0,37 a 0,92 por SCHWARTZ e BIDANI (1991), de 0,4 a 1,5 mg/dl por KLIEM et al. (1996). Para se compreender a amplitude da faixa dita normal, contudo, é necessário considerar que essas concentrações variam com a idade do animal. Com menos de seis meses é de  $0,6\pm 0,12$  mg/dl, subindo para  $0,7\pm 0,11$  mg/dl entre os seis e 18 meses, atingindo  $1,0\pm 0,67$  mg/dl nas idades maiores (WOLFORD et al., 1986). Esses dados da literatura sugerem que a diferença na concentração da creatinina sérica, entre o presente estudo e o de SANTOS (2004), nada mais é do que a representação do seu comportamento nas diferentes idades, pois o primeiro teve a leitura aos 450 dias e o segundo dos 148 aos 176 dias de idade.

As médias plasmáticas só ultrapassam os limites superiores da faixa de normalidade quando a perda da massa renal total ultrapassa 65 a 90%. A superposição dessas concentrações, à faixa de normalidade, contudo, é significativa, pois seus níveis médios variam de  $0,86\pm 0,21$  a  $1,7\pm 0,4$  mg/dl (MITRUKA et al., 1976; SCHWARTZ e BIDANI, 1991; LAX et al., 1992; KLIEM et al., 1996; LOEB, 1997).

Alguns autores encontram, após ablações e isquemia de 92% da massa renal, níveis crescentes de creatinina ao longo do tempo pós-operatório (SCHWARTZ e BIDANI, 1991; KLIEM et al., 1996). Após seis semanas, seus extremos superiores dobram a média normal, chegando a quadruplicar ou sextuplicar no final de dez semanas. Suas médias, porém, são mais baixas, respectivamente  $1,18\pm 0,43$  e  $3,1\pm 1,3$  mg/dl. Nota-se, outrossim, que essas médias correspondem a um subgrupo de ratos que desenvolveu hipertensão. Os animais normotensos apresentam média ( $0,86\pm 0,21$  mg/dl) que pode ser confundida com a dos normais da literatura, ainda que seja 80% maior do que a dos controles do mesmo experimento (SCHWARTZ e BIDANI, 1991). Em análise do conjunto de ratos com nefrectomia e isquemia de 5/6 do rim remanescente, PAGTALUNAN et al. (1999) encontram média ligeiramente superior ( $1,03\pm 0,2$  mg/dl) no final do mesmo período. Esses autores demonstram, por outro lado, um súbito aumento septúplice da creatinina, no primeiro dia do pós-operatório, que decai, rapidamente, atingindo 1mg/dl no final de duas semanas de evolução. Essa curva da creatinina coincide com o comportamento dos índices de proliferação celular do rim remanente, essencialmente nos túbulos corticais e interstício correspondente

(KLIEM et al., 1996). Não obstante, à semelhança do nosso modelo, esses autores praticam somente a nefrectomia unilateral, a creatinina e a proliferação celular pouco se alteram (KLIEM et al., 1996; PAGTALUNAN et al., 1999). Pode-se inferir daí que, nas destruições de cerca de 90% da massa renal total, a creatinina sérica reflete somente a extensão da perda de tecido por nefrectomia e isquemia, nos primeiros três dias, ou, dito de outra maneira, traduz a capacidade de depuração do tecido renal restante da operação (LAX et al., 1992; KLIEM et al., 1996; PAGTALUNAN et al., 1999). Da mesma forma, a participação da secreção dos túbulos em proliferação pode desempenhar um papel indissociável do primeiro (ROBINSON, 1988; KLIEM et al., 1996). Existe, pois, paridade possível entre o nível de creatinina e a quantidade de tecido renal que permanece em funcionamento somente nos primeiros dias, depois da ablação de um dos rins e isquemia de cerca de 40% do que resta.

Considerando-se, ainda, o mesmo modelo de destruição ampla do tecido renal, depois de três semanas, os níveis de creatinina que retornaram quase ao normal têm tendência a se elevar novamente, chegando a triplicar a concentração sérica dos controles (KLIEM et al., 1996; PAGTALUNAN et al., 1999). Esses autores demonstram, ainda, a ocorrência de alterações nos glomérulos e intensas e progressivas distorções tubulares, causadas ou associadas a deposições intersticiais de colágeno do tipo I e, posteriormente, do tipo IV. Por outro lado, para alguns, a creatinina sérica reflete a redução no volume de filtração glomerular, mas isso só ocorre quando os túbulos correspondentes possuem segmentos obstruídos, distorcidos, atróficos, estreitados por cicatriz ou destruídos (KLIEM et al., 1996; PAGTALUNAN et al., 1999). Isso sugere que o comportamento dos túbulos e do interstício peritubular pode ser até mais importante do que o dos glomérulos na regulação das concentrações séricas da creatinina no rato.

A História ensina que o chamado "*clearance* da creatinina endógena" era considerado semelhante ao da inulina como indicador da depuração em humanos e cães (REHBERG, 1926). Com o aprimoramento dos procedimentos colorimétricos, contudo, verificou-se que a depuração da creatinina é 30% maior do que a da inulina. Para que esses dois procedimentos se igualem é necessária a administração de grandes quantidades de creatinina exógena. Verificou-se posteriormente que os túbulos proximais do cão secretam creatinina e há diferença significativa entre machos e fêmeos. Nos ratos, também, a depuração da creatinina

excede a da inulina, nos machos, mas não nos fêmeos (ROBINSON, 1988). Para a melhor compreensão da importância da secreção tubular da creatinina, estudaram-se peixes aglomerulares e alguns pássaros, comprovando índices de depuração da creatinina até seis vezes superiores aos de outros animais (ROBINSON, 1988).

Do exposto, conclui-se que, no rato, não se pode correlacionar as concentrações séricas de creatinina com a anatomia e a função glomerular, sem ter especial cuidado com as alterações de trânsito dos fluidos pelos túbulos.

Os níveis de uréia deste estudo corresponderam aos respectivos grupos, baixos no controle e elevados no experimental. As médias dessas concentrações têm comportamento semelhante ao encontrado por FRIES et al. (1989). Sabe-se que, em ratos, aproximadamente metade da uréia filtrada e dois terços da água filtrada são sempre absorvidos no túbulo proximal. Uma pequena parte da uréia absorvida, em torno de 10%, é novamente adicionada ao filtrado através da secreção na alça de Henle. Desse modo, por volta de 55% da uréia filtrada chega aos tubos coletores. Aproximadamente 57% dessa uréia que aí chega é reabsorvida nos dutos coletores papilares, fazendo com que somente 15 a 25% da uréia filtrada efetivamente seja eliminada na urina (ROBINSON, 1988). Essas funções são variáveis e se ajustam automaticamente de acordo com a produção de uréia pelo animal ou pelas variações no grau de filtração glomerular. Neste modelo murídeo isso provavelmente aconteceu, mas a redução na filtração glomerular no grupo experimental fez com que o total de uréia no filtrado glomerular fosse menor e, apesar dos mecanismos de auto-regulagem, acumulasse no sangue. Ainda assim, a sua concentração média foi apenas 1,7 vezes superior à dos controles.

## 5.2 ANÁLISE MORFOLÓGICA

O peso corpóreo e a estatura dos ratos foram idênticos nos dois grupos, após os 435 dias de observação. Surpreende esse comportamento ponderal, pois a literatura sugere aumento menor no peso dos ratos submetidos a nefrectomia em comparação aos indenes (GROND et al., 1986a; FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991). A partir do nascimento, o crescimento ponderal do rato Wistar é nitidamente não-linear: aumenta rapidamente o seu peso, que se atenua aos três

meses e se estabiliza após os sete meses de vida. O padrão se mantém no grupo experimental, porém, em proporções geralmente menores (GROND et al., 1986a). Embora sem diferença entre grupos, o peso final dos ratos do presente estudo traduz a projeção teórica dessa curva, cuja média final é compatível com a idade adulta.

O peso renal, contudo, foi significativamente maior no grupo submetido a nefrectomia (149%) do que no grupo controle, semelhante aos relatos de outros pesquisadores (ARATAKI, 1926; DEEN et al., 1974; GROND et al., 1986a; GROND et al., 1986b). A comparação entre os dois grupos, todavia, realizou-se no final de um longo período de observação. O cotejo desses parâmetros com os dados da literatura merece especial atenção, porque as idades em que se fazem as leituras nos diversos laboratórios são variáveis, assim como são as idades em que se preparam os modelos. Alguns autores notaram, por exemplo, que a nefrectomia unilateral em ratos com três meses de idade favorece um aumento de cerca de 80% no rim remanescente, no fim de 13 meses (GROND et al., 1986b). Como nos variados períodos de observação, os animais estão em diferentes estágios na curva de crescimento corporal, deve-se imaginar que o desenvolvimento dos rins acompanhe o do corpo. No intervalo relatado, o aumento no peso do rim poderia representar simplesmente o reflexo do crescimento corpóreo próprio da idade. Transformando-se esse crescimento renal em unidades proporcionais à variação do peso corpóreo, surpreende-se um comportamento concorde do rim e do corpo, mantendo-se, por conseguinte, a mesma proporção durante todo o tempo de acompanhamento. Torna-se incontestável a necessidade do uso de dados proporcionais para se evitarem interpretações falaciosas.

Assim, o peso do rim do rato Wistar, por exemplo, sofre um aumento progressivo natural, mais rápido nos primeiros 60 dias (12 vezes) e mais lento nos dois meses que se seguem (1,27 vezes). O aumento do peso corporal é de aproximadamente 14 vezes, nos primeiros dois meses, e 1,59 vezes nos dois meses seguintes (HACKBARTH et al., 1983; NAGATA et al., 1992). Como ambos – rim e corpo – crescem aparentemente o mesmo tanto, pode-se inferir falsamente que o paralelismo é absoluto. Quando, contudo, transforma-se o peso do rim em percentual do peso do corpo, tem-se uma noção diferente. Verifica-se, no mesmo relato, que o peso do rim representa 1,30% do peso corporal, aos dez dias de vida, flutua entre 1,27% e 1,21%, do 20º ao 45º dia, atingindo 0,87% nos três a cinco

meses que se seguem. A representação do peso do rim do nosso grupo controle, considerado 0,71% do peso corporal, aos 450 dias de vida, é compatível com a projeção dos dados anteriores para o período em apreço. Com a mesma maneira de representar, após 435 dias da nefrectomia unilateral, o aumento renal médio foi de 47%, sendo que o rim passa a representar 1,04% do peso corporal.

Este aumento proporcional do rim, no grupo experimental, parece confirmar, de modo genérico, a doutrina do aumento compensador do volume do rim remanescente, amplamente aceita por cirurgiões, clínicos e fisiologistas (APERIA et al., 1977; APERIA et al., 1978; BRENNER, 1985; GROND et al., 1986b; WIKSTAD et al., 1986; ROBINSON, 1988; LAFERTY e BRENNER, 1990; ENGLUND et al., 1997; INDOLFI et al., 2001). Curiosamente, porém, ainda que essa constatação seja da literatura, o percentual do peso do rim/corpo dos respectivos grupos experimentais é geralmente menor do que aquele observado no grupo controle do presente estudo. Os dados experimentais bibliográficos variam, pois, entre 0,45 e 0,69%, sem relação muito forte com o tempo de observação (ARATAKI, 1926; DEEN et al., 1974; GROND et al., 1986a; GROND et al., 1986b). A exceção pertence a FRIES et al. (1989), que relatam, no seu grupo experimental, percentual que excede ligeiramente (0,77%) o do nosso grupo controle, mas muito aquém do grupo experimental correspondente. Esses dados proporcionais da literatura, portanto, não são suficientemente uniformes e fortes na comparação com os controles, para se aceitar a hipertrofia compensatória como fato incontestável.

O interesse nesse comportamento do rim solitário se prende, em parte, à demonstração de que a função de filtração glomerular total é proporcional ao aumento do volume do rim (DEEN et al., 1974). Em modelo semelhante ao deste Laboratório, ao compararem rim a rim com o controle, NAGATA et al. (1992) observam aumento funcional de 40 a 60% no rim remanente, proporcional ao aumento do peso do rim ao longo de 168 dias de pós-operatório. Entretanto, ao ser comparado na mesma publicação, o índice de filtração glomerular (IFR) de rato com rim único com o de rato controle, verifica-se que o aumento do tamanho e da função do rim solitário não é suficiente para igualar a função do animal controle com órgãos duplos. Quando se transforma essa função em filtração glomerular por grama de rim, os ratos com ablação unilateral do rim e os indenes se igualam (DEEN et al., 1974; LAX et al., 1992; NAGATA et al., 1992). Esse comportamento

funcional eqüipolente, na representação relativa à unidade de massa renal, sugere a expansão numérica das unidades funcionais no rim remanescente ou a hipertrofia de cada uma delas.

Nesse sentido, o número de glomérulos por rim sadio é variável na literatura, indo de 17100 a 36080, cujas médias estão em torno de 28850, aos dois meses, e 25997, aos três meses de idade (ARATAKI, 1926; GROND et al., 1986b; WOODS et al., 2001). Nessa idade, a densidade média é de aproximadamente 32,4 glomérulos por  $\text{mm}^2$  (HACKBARTH et al., 1983). Com essa densidade em mente, esperar-se-ia que, numa mesma época da vida, rins de maior massa tivessem maior número de glomérulos. Em análise por regressão linear do rim sadio, porém, essa relação presumida não se confirma (GROND et al., 1986b). Essa falta de relação entre população de glomérulos e peso do rim, todavia, restringe-se a uma única idade de três meses. Quando se compara a densidade de glomérulos num rato de 10 dias com um de 150 dias, nota-se que enquanto o peso do rim aumenta 12 vezes, a densidade glomerular decresce 10 vezes (HACKBARTH et al., 1983). Por outro lado, o IFG também aumenta com a idade. Depois de seis meses da realização de operação fictícia, em rato de 10 dias, o IFG é aproximadamente 4,6 vezes maior do que no primeiro mês. Aumenta para 4,9 vezes no rim que fica da ablação unilateral realizada na mesma idade. Comparando-se a evolução do IFG por unidade de peso do órgão nos dois grupos, da operação simulada e da nefrectomia unilateral, verifica-se que, depois de seis meses, a função dobra igualmente em ambos (ARATAKI, 1926; NAGATA et al., 1992). Essas observações sugerem que o crescimento funcional do rim normal não depende, grosso modo, do número de glomérulos. O comportamento anatomofuncional do rim solitário, destarte, não está ainda totalmente esclarecido.

Pode-se, então, conjecturar que, se o aumento funcional renal da idade provavelmente não depende do número de glomérulos, deve depender de outros fatores. Perquirindo novamente o comportamento anatômico do rim normal, em relação à idade do rato, nota-se que dos 10 aos 150 dias de idade os glomérulos aumentam o seu diâmetro médio em aproximadamente 2,56 vezes ou 256%. O diâmetro do tufo capilar glomerular o acompanha proporcionalmente (HACKBARTH et al., 1983). O crescimento glomerular é absolutamente linear até os três meses ( $a = 46,4$  e  $b = 1,61$ ), atenuando-se depois ( $a = 110,8$  e  $b = 0,33$ ). O crescimento glomerular dos rins remanescentes também se relaciona com a idade

do animal, mas é mais acentuado e não sofre a atenuação da idade adulta encontrada nos controles. A semelhança do que ocorre nos controles, o número total de glomérulos permanece estável ao longo do tempo (ARATAKI, 1926; NAGATA et al., 1992).

No estudo atual, o diâmetro glomerular externo médio foi significativamente maior (24,2%) no rim remanescente do grupo experimental do que no rim ipsilateral do grupo controle. Estes achados coincidem com o de outros autores (ARATAKI, 1926; FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991; NAGATA et al., 1992; GRIFFIN et al., 2000; WOODS et al., 2001; SANTOS, 2004).

O diâmetro do tufo glomerular do grupo experimental também foi significativamente maior (27,7%) do que o do grupo controle. Observações semelhantes são também partilhadas por outros pesquisadores (FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991; LAX et al., 1992; NAGATA et al., 1992; ZEIER et al., 1998), embora alguns não tenham observado diferenças marcantes (DEEN et al., 1974; PAGTALUNAN et al., 1999; SANTOS, 2004). A análise das observações dos dois diâmetros, externo e interno, permite destacar que a razão entre eles, no grupo experimental, é proporcionalmente menor do que a correspondente do grupo controle. Isso sugere que o tufo glomerular, no grupo teste A, cresceu relativamente mais, em relação à cápsula correspondente, do que no controle.

Para testar a importância dessa diferença de proporção, realizou-se, inicialmente, a subtração do diâmetro médio interno do externo de cada glomérulo, do total de dez observados em cada rim. A média das diferenças foi mais acentuada, apesar disso, no grupo experimental, e menos expressiva no grupo controle, em flagrante contradição com o afirmado anteriormente, insinuando a redução do espaço glomerular. Essa incoerência, sem embargo, pode ser considerada sobremaneira aparente.

Para melhor compreender os seus motivos, torna-se necessário retornar às representações lineares. A média dos diâmetros, externo e interno, do grupo experimental A é 24,2 e 27,7% maior, respectivamente, em relação ao grupo controle; a razão entre o diâmetro externo e interno, de um mesmo grupo, ou A ou B, é 1,1759 e 1,2090 ou 17,59% e 20,90%, respectivamente. Percebe-se, imediatamente, que as representações proporcionais projetam a possibilidade de espaços glomerulares proporcionalmente menores, no grupo experimental, e

relativamente maiores no grupo controle. Essas diferenças de proporções se tornam mais marcantes ao serem representadas por progressões matemáticas, a partir das medidas lineares acima consideradas. Dessa maneira, a diferença do diâmetro glomerular de apenas 24,2% passa a ser de 54,72%, na comparação dos grupos através das duas dimensões calculadas, plana e volumétrica. Isso se repete em relação ao tufo glomerular, que de 27,7% passa para 62,36%, respectivamente, em ambas as considerações dimensionais progressivas. Da mesma forma, a diferença proporcional entre diâmetro externo e interno de 17,59 e 20,90%, respectivamente nos grupos experimental e controle, torna-se 38,72 e 45,56% nas representações progressivas. As variações, nas proporções, contudo, não afetam a significância estatística das dimensões lineares progressivas, ou destas.

A diferença volumétrica entre a medida externa e interna do glomérulo permite que se avalie o volume médio do filtrado existente entre a cápsula e o tufo: aproximadamente  $589627 \mu\text{m}^3$  nos glomérulos do grupo experimental e  $427398 \mu\text{m}^3$  nos do grupo controle. Apesar do maior volume do filtrado na representação numérica do grupo teste, torna-se menor (38,72%) do que o do controle (45,56%), na representação proporcional correspondente. É provável que a redução relativa do espaço glomerular do rim solitário seja devida, em parte, à extensão da aderência entre tufo e cápsula glomerulares, comum nesse tipo de experimento, em parte ao volume de depósito de material hialino, principalmente na matriz mesangial (PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1982; GROND et al., 1986a; FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991). A redução esperada seria ainda maior por causa da retração e enrugamento dos tufos, membranas basais pregueadas e capilares colapsados, muitas vezes com preenchimento do espaço de Bowman por fibrina (SCHWARTZ e BIDANI, 1991). Essa expectativa teve influência modesta na média volumétrica dos espaços de Bowman, do presente estudo, porque a densidade dos glomérulos, parcial ou totalmente alterados, foi de  $8,95 \pm 7,68$  em mais de 100 glomérulos observados em cada corte longitudinal de rim remanescente. Apesar dessa prevalência relativamente baixa, muitos relacionam fortemente o aparecimento da glomerulosclerose ao aumento do volume glomerular (FRIES et al., 1989). Essa correlação é negada por outros (DEEN et al., 1974; PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1986b), parecendo estar a glomerulopatia mais relacionada com o grau de hipertensão arterial do que

com as dimensões dos glomérulos (FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991; WOODS et al., 2001). Nem sempre, entretanto, encontra-se hipertensão arterial em ratos que desenvolvem alterações glomerulares nos rins solitários (PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1986a; SCHWARTZ e BIDANI, 1991; LAX et al., 1992). Essas discrepâncias só reforçam a máxima de que o relacionamento de um parâmetro com outro fator – isolado ou múltiplo – não estabelece, como conseqüência necessária, correferência da causa com o efeito.

De fato, nos rins remanentes, a maioria (mais de 90%) dos glomérulos considerados inalterados à microscopia óptica também aumenta notavelmente de volume. Esse maior volume glomerular pode ser atribuído a um alongamento persistente dos capilares do tufo glomerular, além da idade de atenuação de 12 semanas, como bem demonstram NAGATA et al. (1992). Esses autores ressaltam, ainda, a presença de dilatações segmentares nos capilares glomerulares, da 12.<sup>a</sup> até o final da observação na 24.<sup>a</sup> semana, tanto em rins indenes ( $\pm 20\%$ ) quanto em rins solitários ( $\pm 50\%$ ). Consideram essas distorções prenúncio de glomerulosclerose. No presente estudo, essas dilatações foram infreqüentes, ao final das 64 semanas de observação, correspondendo – com reservas – ao quadro de baixa densidade de glomérulos afetados, no grupo experimental, e a um único glomérulo doente no grupo controle, o que põe em quarentena a hipótese da distorção prodrômica.

Por outro lado, todas as alterações que se instalam, progressivamente, em períodos de tempo variáveis – de horas a meses –, e se repetem, podem ser consideradas prodrômicas. O que mais surpreende, nesse sentido, é a demonstração de que, vinte e quatro horas depois da nefrectomia unilateral, executada em ratos jovens ou adultos, o peso do rim remanescente aumenta aproximadamente 20%, subindo para quase 30% no final de 48 horas, estabilizando-se nas 72 horas que se seguem (MULRONEY e PESCE, 2000). O aumento do peso renal não pode ser considerado um simples intumescimento por pletora sangüínea, porque há um acréscimo de 30% de proteínas incorporadas em relação ao controle, de 5 a 10% no DNA total e 40 a 50% na quantidade de mitoses, nos túbulos corticais, respectivamente, nos adultos e nos jovens (KLIEM et al., 1996; MULRONEY e PESCE, 2000). É provável que os glomérulos, em si, sofram o mesmo processo, com dilatação brusca dos capilares, propiciando a perda do entrelaçamento e do contato dos podócitos com a membrana basal

capilar. Com isso, há uma redução no poder restritivo imposto pela membrana basal, facilitando expansões segmentares dos capilares glomerulares, aumentando a sua permeabilidade (FRIES et al., 1989). Essa pode ser a primeira alteração importante para o desencadeamento das demais.

Nessas circunstâncias, o súbito aumento das necessidades funcionais, por certo, aumenta o diâmetro, o volume e a pressão dos capilares glomerulares (SCHWARTZ e BIDANI, 1991; GRIFFIN et al., 2000). A subida nos níveis da pressão e o aumento do diâmetro capilar são suficientes para determinar um significativo aumento da tensão nas suas paredes, pois a lei de La Place ensina que a tensão da parede é diretamente proporcional à pressão e ao raio (HENEINE, 1987). Isso significa que um aumento inicial de 5% na pressão e no diâmetro do capilar propicia um acréscimo de cerca de 10% na tensão da sua parede. Sem a perfeita contensão do epitélio visceral e a sua baixa capacidade de multiplicação, aumenta a permeabilidade capilar. Com isso, moléculas maiores, como proteínas e macromoléculas, ultrapassam os capilares, provocam reação nas células do mesângio, aumentando a matriz mesangial na forma de depósito de material hialino que geralmente cora com PAS. A facilidade de migração dessas moléculas maiores permite o eventual deslocamento do endotélio, provocando oclusão do lume capilar (FRIES et al., 1989). A partir daí, pode haver deterioração progressiva dos glomérulos ou pode haver regressão até a cura, com *restitutio ad integrum* (PURKERSON et al., 1976).

Em condições normais, populações de néfrons diferentes contribuem de forma diversa para a manutenção da filtração glomerular total adequada. Supõe-se que vários capilares de tufo glomerulares estejam temporariamente desativados, sendo considerados por isso glomérulos “de reserva funcional” (BRENNER, 1983). Depois da nefrectomia, à semelhança dos demais capilares, a solicitação funcional plena pode criar diferentes padrões de perfusão, capazes de afetar glomérulos inteiros ou parte deles com intensidades diferentes (GROND et al., 1982; GROND et al., 1986a; GROND et al., 1986b). Explica-se, pelo menos em parte, a tendência de se encontrarem menos de 8% dos glomérulos do rim réliquo alterados neste Laboratório e em outros (DEEN et al., 1974; PURKERSON et al., 1976; FRIES et al., 1989; LAX et al., 1992).

Ainda mais, no estudo atual, observaram-se alterações tubulares que vão da redução da altura do epitélio à obliteração do lume tubular. Ao mesmo tempo, foi

freqüente a infiltração peritubular de monomorfonucleares inflamatórios, essencialmente nas proximidades de glomérulos parcial ou totalmente alterados. Não foi rara a percepção de aumento na quantidade de colágeno intersticial. Embora não fosse o foco da presente investigação, essas alterações tubulares são parecidas com aquelas encontradas por KLIEM et al. (1996). Num estudo mais cuidadoso, PAGTALUNAN et al. (1999): comparam os efeitos da nefrectomia unilateral com um grupo em que também associam a isquemia parcial ao rim remanescente; verificam que, no rim que fica da nefrectomia, há aproximadamente 85% de glomérulos associados com túbulos normais, enquanto essa conexão entre glomérulos e tubos inalterados é de apenas 37% no segundo grupo; confirmam que, no rim solitário – sem isquemia –, o volume dos glomérulos conectados a túbulos normais é significativamente maior ( $3.3 \pm 0.1 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ ) do que aqueles túbulos anormais ( $2,1 \pm 1,0 \times 10^6 \mu\text{m}^3$ ); estabelecem, com isso, uma correlação positiva e forte entre o número de glomérulos conectados com túbulos normais e o IFG total; inferem, conclusivamente, que a lesão do túbulo é a causa primordial da redução na filtração glomerular após a nefrectomia.

O que parece abrir um leque de possibilidades é o estabelecimento dos mecanismos de produção das alterações glomerulares e tubulares. Intriga, no momento, porém, a observação, no presente estudo, e na literatura, da relativa discrepância entre o número aparentemente reduzido de glomérulos comprometidos (PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1986b; FRIES et al., 1989; SCHWARTZ e BIDANI, 1991), conseguindo, muitos dos quais, sofrer reversão parcial ou total do processo (PURKERSON et al., 1976; GROND et al., 1986a; LAX et al., 1992; NAGATA et al., 1992; PAGTALUNAN et al., 1999; WOODS et al., 2001). Os dados do presente estudo abrem espaço para reflexões futuras, mas, ao mesmo tempo, demonstram as alterações intensas esperadas em longos períodos de observação. Especulativamente, podem ser considerados frutos de reação inflamatória, tanto na membrana basal e tecido perivascular do tufo glomerular, quanto na cápsula de Bowman, no tecido intersticial adjacente e nos túbulos renais. O depósito de material PAS positivo, nos glomérulos, a infiltração inflamatória monomorfonuclear e as alterações estruturais conspícuas, nos túbulos, sugerem esta concepção.

## 6. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo – que analisa a função, a anatomia e a morfometria do rim remanescente da ablação unilateral contralateral – permitem as seguintes conclusões:

1. A concentração da creatinina sérica não demonstrou ser indicativa do déficit funcional do rim remanescente, ao passo que a concentração da uréia sérica indicou claramente o grupo com disfunção conseqüente à ablação renal.
2. A análise morfológica do rim remanescente revelou: baixa densidade nas alterações glomerulares, compatíveis com nefrosclerose, presente em todos os animais do grupo; glomérulos com dimensões lineares, bidimensionais e de volume aumentadas; maior espaço entre a cápsula e o tufo glomerular, em relação ao grupo controle.

## REFERÊNCIAS

ADAMSON, A.S., NADJMALDIN, A.S., ATWELL, J.D. Total nephrectomy in children: a clinicopathological review. **Brit. J. Urol.**, Oxford, v. 70, p. 550-553, 1992.

AKAOKA, K.; WHITE, R.H.; RAAFAT, F. Human glomerular growth during childhood: a morphometric study. **J. Pathol.**, Chichester, v. 173, p. 261-268, 1994.

ANDERSON, S.; MEYER, T.W.; BRENNER, B.M. The role of haemodynamic factors in the initiation and progression of renal disease. **J. Urol.**, Baltimore, v. 133, p. 363-368, 1985.

APERIA, A.; BROBERGER, O.; WIKSTAD, I.; WILTON, P. Renal growth and function in patients nephrectomized in childhood. **Acta Paediatr. Scand.**, Stockholm, v. 66, p. 185-192, 1977.

APERIA, A.; BROBERGER, O.; WILTON, P. Renal functional adaptation in the remnant kidney in patients with renal agenesis and in patients nephrectomized in childhood. **Acta Paediatr. Scand.**, Stockholm, v. 67, p. 611-615, 1978.

ARATAKI, M. Experimental researches on the compensatory enlargement of the surviving kidney after unilateral nephrectomy (albino rat). **Am. J. Anat.**, Philadelphia, v.36, p.437-450, 1926

BATHENA, D.B.; JULIAN, B.A.; McMORROW, R.G.; BAEHLER, R.W. Focal sclerosis of hypertrophied glomeruli in solitary functioning kidneys of humans. **Am. J. Kidney Dis.**, Philadelphia, v. 5, p. 226-232, 1985.

BOBADILLA, N.A.; TACK, I.; TAPIA, D.; SANCHEZ-LOZADA, L.G.; SANTAMARIA, J.; JIMÉNEZ, STRIKER, L.; STRIKER, G.; HERRERA-ACOSTA, J. Pentosan polysulfate prevents glomerular hypertension and structural injury despite persisting hypertension in 5/6 nephrectomy rats. **J. Am Soc Nephrol.**, Baltimore, v. 12, p. 2080-2087, 2001.

BRENNER, B.M. Hemodynamically mediated glomerular injury and the progressive nature of kidney disease. **Kidney Int.**, New York, v. 23, p. 647-652, 1983.

BRENNER, B.M. Nephron adaptation to renal injury or ablation. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v. 249, p. 324-337, 1985.

BRENNER, B.M.; MEYER, T.W.; HOSTETTER, T.H. Dietary protein intake and progressive nature of kidney disease: The role of hemodinamically mediate glomerular injury in pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation and intrinsic renal disease. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 307, p. 652-759, 1982.

CELSI, G.; BOHMMAN, S.O.; APERIA, A. Development of focal glomerulosclerosis after unilateral nephrectomy in infant rats. **Pediatr. Nephrol.**, Berlin, v. 1, p. 290-296, 1987.

CHANNUTIN, S.; FERRIS, E. Experimental renal insufficiency produced by partial nephrectomy: control diet. **Arch. Intern. Med.**, Chicago, v. 49, p. 767-787, 1932.

Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), Rio de Janeiro, 1999.

DAMME, B. van; KOUDSTAAL, J. Measuring glomerular diameters in tissue sections. **Virchow Arch. Pathol. Anat.**, Berlin, v. 369, p. 283-285, 1976.

DANILEWICZ, M.; WAGROWSKA-DANILEWICZ, M. Diffuse idiopathic mesangial proliferative glomerulonephritis in re-biopsied patients: a quantitative study. **Med. Sci. Monit.**, New York, v. 4, p. 955-959, 1998.

DEEN, W.M; MADDOX, D.A.; ROBERTSON, C.R.; BRENNER, B. M. Dynamics of glomerular ultrafiltration in the rat. Response to reduce renal mass. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v. 227, p. 556-562, 1974.

DICKER, S.E.; SHIRLEY, D.G. Compensatory renal growth after unilateral nephrectomy in the newborn rat. **J. Physiol.**, London, v. 228, p. 193-197, 1973.

DONCKERWOLCKE, R.M.; COPPES, M.J. Adaptation of renal function after unilateral nephrectomy in children with renal tumors. **Pediatr. Nephrol.**, Berlin, v. 16, p. 568-574, 2001.

ELEMA, J.D. Is one kidney sufficient? **Kidney Int.**, New York, v. 9, p. 308-312, 1976.

ENGLUND, M.S.; BERG, U.B.; ARFWIDSON, K. Renal functional reserve in transplanted and native single kidneys of children and adults. **Pediatr. Nephrol.**, Berlin, v. 11, p. 312-317, 1997.

ESPOSITO, C.; HE, C.; STRIKER, G.E.; ZALUPS, R.K.; STRIKER, L.J. Nature and severity of the glomerular response to nephron reduction is strain-dependent in mice. **Am. J. Pathol.**, Bethesda, v. 154, p. 891-897, 1999.

FOGO, A.; ICHIKAWA, I. Evidence for the central role of glomerular growth promoters in the development of sclerosis. **Semin. Nephrol.**, Philadelphia, v. 9, p.329-342, 1989.

FOTINO, S. The solitary kidney: A model of chronic hyperfiltration in humans. **Am. J. Kidney Dis.**, New York, v. 13, p. 88-91, 1989.

FRIES, J.W.U.; SANDSTROM, D.J.; MEYER, T.W.; RENNKE, H.G. Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. **Lab. Invest.**, Baltimore, v.60, p.205-218, 1989.

GOLDENBERG, A.; LOBO, E.J.; MARCONDES, W.; LOUZADA, M.; BARBOSA, C.D.L. Proposição de videolaparoscopia em ratos. **Acta Cir. Bras.**, São Paulo, v.12, p.219-220, 1997.

GRIFFIN, K.A.; PICKEN, M.M.; CHURCHILL, M.; CHURCHILL, P.; BIDANI, A.K. Functional and structural correlates of glomerulosclerosis after renal mass reduction in the rat. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v.11, p.497-506, 2000.

GROND, J., BEUKERS, J.Y.B.; SCHILTHUIS, M.S.; WEENING, J.J.; ELEMA, J.D. Analysis of renal structural and functional features in two rat strains with a different susceptibility to glomerular sclerosis. **Lab. Invest.**, Baltimore, v.54, p.77-83, 1986a.

GROND, J.; SCHILTHUIS, M.S.; KOUDSTAAL, J.; ELEMA, J. D. Mesangial function and glomerular sclerosis in rats after unilateral nephrectomy. **Kidney Int.**, New York, v.22, p.338-343, 1982.

GROND, J.; VAN GOOR, H.; ERKELENS, W.; ELEMA, J.D. Glomerular sclerosis in Wistar rats: analysis of its variable occurrence after unilateral nephrectomy. **Br. J. Exp. Pathol.**, London, v.67, p.473-479, 1986b.

HACKBARTH, H.; BÜTTNER, D.; JARCK, D.; POTHMANN, M.; MESSOW, C.; GÄRTNER, K. Distribution of glomeruli in the renal cortex of Munich Wistar Fromter rats. **Ren. Physiol.**, New York, v.6, p.63-71, 1983.

HAYLOR, J.L.; MCKILLOP, I.H.; OLDROYD, S.D.; NAHAS, M. A. et al. IGF-I inhibitors reduce compensatory hyperfiltration in the isolated rat kidney following unilateral nephrectomy. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 15, p. 87-92, 2000.

HAYSLETT, J.P. Functional adaptation to reduction in renal mass. **Physiol. Rev.**, Bethesda, v. 59, p. 137-164, 1979.

HENEINE IF. **Biofísica básica**. Rio de Janeiro: Atheneu, 1987, p. 258.

HOSTETTER, T.H.; OLSON, J.L.; RENNKE, H.G.; VENKATACHALAM, M.A.; BRENNER, B.M. Hyperfiltration in remnant nephrons: a potentially adverse response to renal ablation. **Am. J. Physiol.**, Bethesda, v. 241, p. 85-93, 1981.

INDOLFI, P.D.I.; TULLIO, M.T.; CASALE, F.; ROSA, E. de; POLITO, C. Kidney size and function after unilateral nephrectomy for Wilms tumor: a longitudinal study. **Med. Pediatr. Oncol.**, New York, v. 37, p. 485-486, 2001.

KANG, D.H.; JOLY, D.H.; JOLY, A.H.; OH, S.W.; HUGO, C.; KERJASCHKI, D.; GORDON, K.L.; MAZZALI, M.; JEFFERSON, A.J.; HUGHES, J.; MADSEN, K.M.; SCHEREINER, G.F.; JOHNSON, R.J. Impaired angiogenesis in the remnant kidney model; potential role of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1. **J. Am Soc Nephrol.**, Baltimore, v. 12, p.1434-1447, 2001.

KIPROV, D.D.; COLVIN, R.B.; McCLUSKY, R.T. Focal and segmental glomerulosclerosis and proteinuria associated with unilateral agenesis. **Lab Invest.**, Baltimore, v. 46, p.275, 1982.

KLIEM, V.; JOHNSON, R.J.; ALPERS, C.E.; YOSHIMURA, A.; COUSER, W.G.; KOCH, K.M.; FLOEGE, J. Mechanisms involved in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis in 5/6-nephrectomized rats. **Kidney Int.**, New York, v.49, p.666-678, 1996.

KOLETSKY, S.; GOODSITT, A.M. Natural history and pathogenesis of renal ablation hypertension. **Arch. Pathol.**, Chicago, v. 69, p. 654-662, 1960.

LAFERTY, H.M.; BRENNER, B.M. Are glomerular hypertension and hypertrophy independent risk factors for progression of renal disease? **Semin. Nephrol.**, Philadelphia, v. 10, p. 294-304, 1990.

LAX, D.S.; BENSTEIN, J.A.; TOLBERT, E.; DWORKIN, L.D. Effects of salt restriction on renal growth and glomerular injury in rats with remnant kidneys. **Kidney Int.**, New York, v.41, p.1527-1534, 1992.

LOEB, W.F. Clinical biochemistry of laboratory rodents and rabbits. In: KANEKO, J.J.; HARVEY, J.W.; BRUSS, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animal**. 5. ed. San Diego: Academic Press, 1997, p. 845-855.

MITRUKA, B.M.; RAWNSLEY, H.M.; VODDEHRA, D.V. **Animals for medical research models for the study of human disease**. New York: J. Wiley, 1976, p.1-64; 291-340.

MORLEY, A.R. Congenital diseases of the kidney. In: McGEE JO'D, ISAACSON PG, WRIGHT N.A. eds. **Oxford textbook of pathology**. v. 2a. Oxford: Oxford University, 1992. p. 1452-1453.

MULRONEY, S.E.; PESCE, C. Early hyperplastic renal growth after uninefrectomy in adult female rats. **Endocrinology**, New York, v. 141, p. 932-937, 2000.

NAGATA, M.; SCHÄRER, K.; KRIZ, W. Glomerular damage after uninephrectomy in young rats: hypertrophy and distortion of capillary architecture. **Kidney Int.**, New York, v. 42, p. 136-147, 1992.

**NOMINA ANATÔMICA**. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1987.

NOVICK, A.C.; GEPHARDT, G.; GUZ, B.; STEINMULLER, D.; TURBS, R. Long term follow-up after partial removal of solitary kidney. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v. 325, p. 1058-1062, 1991.

OLSON, J.L.; HOSTETTER, T.H.; RENNKE, H.G.; BRENNER, B.M.; VENKATACHALAM, M.A. Mechanisms of altered glomerular permeability, selectivity and progressive sclerosis following extreme ablation of renal mass. **Kidney Int.**, New York, v. 22, p. 112-116, 1982.

PAGTALUNAN, M.E.; DRACHMAN, J.A.; MEYER, T.W. Methods for estimating the volume of individual glomeruli. **Kidney Int.**, New York, v. 57, p. 2644-2649, 2000.

PAGTALUNAN, M.E.; OLSON, J.L.; TILNEY, N.L.; MEYER, T.W. Late consequences of acute ischemic injury to a solitary kidney. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v.10, p. 366-373, 1999.

PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. (eds.) **Laboratory methods in histotechnology**. Washington: American Registry of Pathology, 1994.

PURKERSON, M.L.; HOFFSTEN, P.E.; KLAHR, S. Pathogenesis of the glomerulopathy with renal infarction in rats. **Kidney Int.**, New York, v. 9, p. 407-417, 1976.

REHBERG, P. B. Studies in kidney function. 1. The rate of filtration and reabsorption in human kidney. **Biochem. J.**, Philadelphia, v. 20, p. 447-460, 1926.

REMUZZI, A.; MAZERSKA, M.; GEPHARDT, G.N.; NOVICK, A.C.; BRENNER, B.M.; REMUZZI, G. Three-dimensional analysis of glomerular morphology in patients with subtotal nephrectomy. **Kidney Int.**, New York, v.48, p.155-162, 1995.

ROBINSON, J. R. **Reflections on renal function**. 2. ed. Oxford: Blackwell, 1988, p. 37-145.

SANTOS, L.S. **Efeitos do pneumoperitônio em ratos submetidos a nefrectomia unilateral: análise morfológica e funcional do rim remanescente**. Curitiba, UFPR, 2004, pp. 68. Tese de doutorado.

SCHWARTZ, M.M.; BIDANI, A.K. Mesangial structure and function in the remnant kidney. **Kidney Int.**, New York, v. 40, p. 226-237, 1991.

SHIOZAWA, M.; PROVOOST, A.P.; DOKKUM, R.P.E. van; MAJEWSKI, R.R.; JACOB, H.J. Evidence of gene-gene interactions in the genetic susceptibility to renal impairment after unilateral nephrectomy. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v. 11, p. 2068-2078, 2000.

SHIRLEY D.G. Development and compensatory renal growth in the guinea pig. **Biol Neonate**, Basel, v. 30, p. 169, 1976.

SIEGEL, S. **Estatística não-paramétrica**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1975, p. 107-116.

VALENTIN, J.P. RIBSTEIN, J. NEUSER, D. Effect of monoclonal anti-ANP antibodies on the acute functional adaptation to unilateral nephrectomy. **Kidney Int.**, New York, v. 43, p. 1260-1266, 1993.

WATNICK, T.J.; JENKINS, R.R.; RACKOFF, P.; BAUMGARTEN, A.; BIA, M.J. Microalbuminuria and hypertension in long-term renal donors. **Transplantation**, Baltimore, v. 45, p.59-65, 1988.

WAYNFORTH, H.B.; FLECKNELL, P.A. **Experimental and surgical technique in the rat**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. p. 328.

WIKSTAD, I.; PETTERSSON, B.A.; ELINDER, G.; SÖKÜCÜ, S.; APERIA, A. A comparative study of size and function of the remnant kidney in patients nephrectomized in childhood for Wilms' tumor and hydronephrosis. **Acta Paediatr. Scand.**, Stockholm, v. 75, p. 408-414, 1986.

WOLFENSOHN, S.; LLOYD, M. **Handbook of laboratory animal management and welfare**. Oxford: Oxford University, 1995. p. 47-51; 61-63,116.

WOLFORD, S.T.; SCHROER, R.A.; GOHS, F.X.; GALLO, P.P.; BRODECK, M.; FALK, H.B.; RUHREN, R. Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. **J. Toxicol. Environm. Health**, New York, v. 18, p. 161-188, 1986.

WOODS, L.; WEEKS, D.A.; RASCH, R. Hypertension after neonatal uninephrectomy in rats precedes glomerular damage. **Hypertension**, Portland, v. 38, p. 337-342, 2001.

ZEIER, M.; SCHÖNHERR, R.; AMANN, K.; RITZ, E. Effects of testosterone on glomerular growth after uninephrectomy. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v.13, p. 2234-2240, 1998.

## APÊNDICES

## APÊNDICES

TABELA 1 – RESULTADO DO ESTUDO ESTATÍSTICO DAS VARIÁVEIS DO RATO.

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
Peso	Controle	25	306,44	285,00	205,00	388,00	57,33	0,9148
	Estudo	24	308,25	306,00	218,00	400,00	60,48	
Estatura do corpo	Controle	25	22,66	22,00	19,50	26,00	1,71	0,9779
	Estudo	24	22,65	23,00	19,00	26,50	1,85	
Uréia no sangue	Controle	25	50,40	50,00	36,00	67,00	7,01	<b>0,0001</b>
	Estudo	24	83,79	72,00	44,00	194,00	35,57	
Creatinina no sangue	Controle	25	0,61	0,50	0,50	2,32	0,36	0,1923
	Estudo	24	0,73	0,70	0,50	1,40	0,22	

TABELA 2 – RESULTADO DO ESTUDO ESTATÍSTICO, ENTRE OS GRUPOS, REFERENTE OS PARÂMETROS MACROSCÓPICOS DO RIM REMANESCENTE.

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
Peso renal	Controle	25	2,16	2,19	1,37	2,86	0,35	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	3,21	3,12	2,00	4,16	0,58	
Estatura renal	Controle	25	1,85	2,00	1,02	2,50	0,31	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	2,29	2,25	2,00	3,00	0,27	

TABELA 3 – RESULTADO DO ESTUDO ESTATÍSTICO DOS PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS MICROSCÓPICOS DAS MEDIDAS EXTERNAS DO GLOMÉRULO.

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
Área externa	Controle	25	11118,05	10697,04	8836,75	14485,59	1617,68	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	18798,77	17810,26	13339,32	31519,98	4219,30	
Diâmetro externo	Controle	25	113,86	115,32	95,67	130,60	8,85	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	141,40	139,41	121,53	183,38	13,69	
Volume (diâm ext)	Controle	25	13654,14	13926,61	9585,34	17861,38	2088,10	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	21126,28	20351,80	15467,65	35214,63	4277,37	
Área (diâm ext)	Controle	25	10240,61	10444,96	7189,00	13396,03	1566,07	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	15844,71	15263,85	11600,73	26410,97	3208,03	

TABELA 4 – RESULTADO DO ESTUDO ESTATISTICO DOS PARAMETROS MORFOMETRICOS MICROSCOPICOS DAS MEDIDAS INTERNAS GLOMERULO

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
Área interna	Controle	25	8421,35	8046,94	5925,38	16035,21	2197,19	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	13667,66	13739,64	10610,24	18450,76	2039,81	
Diâmetro interno	Controle	25	94,18	96,26	62,57	106,55	9,53	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	120,25	118,67	104,91	143,17	9,36	
Volume (diâm int)	Controle	25	9380,16	9702,51	4099,78	11888,06	1723,19	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	15230,01	14747,36	11525,79	21463,59	2419,59	
Área (diâm int)	Controle	25	7035,12	7276,88	3074,84	8916,05	1292,39	<b>&lt;0,0001</b>
	Estudo	24	11422,51	11060,52	8644,34	16097,69	1814,70	

TABELA 5 – DEMONSTRAÇÃO ESTATISTICA DO ESTUDO DAS DIFERENÇAS DOS PARÂMETROS MORFOMÉTRICOS MICROSCOPICOS DO GLOMERULO.

Variável	Grupo	n	Média	Mediana	Mínimo	Máximo	Desvio padrão	Valor de p
Volume (diferença ext-int)	Controle	25	4273,98	4084,94	2543,30	6728,35	960,14	<b>0,0022</b>
	Estudo	24	5896,27	5721,42	2870,63	13751,04	2189,16	
Área (diferença ext-int)	Controle	25	3205,49	3063,70	1907,48	5046,26	720,10	<b>0,0022</b>
	Estudo	24	4422,20	4291,06	2152,97	10313,28	1641,87	
Diferença diâmetro (ext – int)	Estudo	25	19,68	19,35	11,56	34,29	4,51	<b>0,3292</b>
	Controle	24	21,15	21,02	11,86	40,21	5,92	

TABELA 6 – NÚMERO DE GLOMÉRULOS ESCLEROSADOS NAS LÂMINAS DO RIM REMANESCENTE, NOS GRUPOS, CORADAS COM PAS.

Grupo Controle	Grupo Estudo	N. glomérulos escleróticos
Rato-09		01
	Rato-01	19
	Rato-02	08
	Rato-03	09
	Rato-04	01
	Rato-05	18
	Rato-06	05
	Rato-07	31
	Rato-08	08
	Rato-09	06
	Rato-10	06
	Rato-11	09
	Rato-12	01
	Rato-13	04
	Rato-14	02
	Rato-15	08
	Rato-16	01
	Rato-17	06
	Rato-18	20
	Rato-19	09
	Rato20	13
	Rato-21	11
	Rato-22	02
	Rato-23	09
	Rato-24	16

**ANEXOS**