

ENVOLVIMENTO DE ALTERAÇÕES DA HEMODINÂMICA RENAL NA HIPERTENSÃO INDUZIDA PELA INFLAMAÇÃO MATERNA EM RATOS: PAPEL NA NADPH OXIDASE

Manoel Marcelino de Lima Filho¹; Leucio Duarte Vieira Filho²

¹Estudante do Curso de Farmácia – CCS – UFPE; E-mail: manoelmarcelino1@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Fisiologia e Farmacologia – CBB - UFPE. E-mail: leucio_filho@hotmail.com

Sumário: A inflamação materna pode programar hipertensão e disfunções renais na idade adulta, através de alterações na atividade da NADPH oxidase, inclusive devido a alterações em sua resposta à angiotensina II (ANG II). Desse modo, investigamos a participação do estresse oxidativo placentário e da NADPH oxidase nas alterações da hemodinâmica renal programadas pela inflamação materna induzida por lipopolissacarídeo (LPS). O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE (nº 23076.015422/2012-43). A inflamação materna programa alterações da resposta da hemodinâmica renal à ANGII associadas com hiperresponsividade vascular da arteríola eferente. Essas alterações ocorrem em paralelo a um aumento da expressão proteica da subunidade gp91^{phox} da NADPH oxidase e do receptor AT₁ de ANGII (AT₁R). O tratamento materno com α -tocoferol previne as alterações na resposta da hemodinâmica renal à ANGII, em conjunto com recuperação da expressão do AT₁R. Além de recuperar essas alterações, o tratamento com apocinina também recupera a expressão normal da gp91^{phox}. A inflamação materna programa hiperresponsividade da arteríola eferente à ANG II, através de alterações que podem envolver aumento da expressão da NADPH oxidase e de sua via regulatória mediada pelo AT₁R.

Palavras-chave: α -tocoferol; angiotensina II; inflamação; hemodinâmica renal; NADPH oxidase,

INTRODUÇÃO

Perturbações do ambiente intrauterino, como processos inflamatórios maternos, têm sido correlacionadas com surgimento de doenças na vida adulta, como hipertensão e doença renal (Fowden *et al.*, 2006). Um fator comum a essas alterações das funções fisiológicas relacionadas com a programação intrauterina é a elevação do estresse oxidativo durante o desenvolvimento (Luo *et al.*, 2006). A elevação do estresse oxidativo também tem sido observado em paralelo com alterações de função renal e hipertensão na vida adulta (Touyz *et al.* 2004; Vieira-Filho *et al.*, 2009). Uma forma do estresse oxidativo perturbar os níveis pressóricos envolve o aumento da resistência vascular renal e alteração da hemodinâmica renal (Kopkan & Majid, 2006). A NADPH oxidase é a principal fonte de produção de espécies reativas do oxigênio em diversos tipos celulares não-fagocíticos, como o tecido vascular (Kitada *et al.*, 2003), e pode ser modulada por diversos autacóides, inclusive a angiotensina II (ANGII). Desse modo, investigamos a participação do estresse oxidativo placentário e da NADPH oxidase na hipertensão e nas alterações da hemodinâmica renal programadas pela inflamação materna induzida por lipopolissacarídeo (LPS).

MATERIAIS E MÉTODOS

O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE (nº 23076.015422/2012-43). Ratas Wistar (90 dias – 200-250 g; n=10/grupo)

foram tratadas com NaCl 0,9% (Controle – C; 500 μ L/kg de peso corpóreo, via subcutânea) ou LPS (L; 0,5 mg/kg de peso corpóreo, via subcutânea) nos dias 13, 15, 17 e 19 de prenhez (Graciarena et al., 2010). Simultaneamente, a partir do 13º dia de gestação, fêmeas de ambos os grupos (n=5/grupo) foram submetidas ao tratamento diário com óleo de milho (Veículo – V; 1 mL/kg de peso corpóreo, por gavagem) ou com o antioxidante α -tocoferol (T; 350 mg/kg de peso corpóreo, por gavagem). Dessa forma, foram formados 4 grupos experimentais (n=7–10/grupo): CV, LV, CT e LT. A partir das 30 semanas de vida, durante 4 semanas, parte da prole Controle e LPS (n=7-10/grupo) foi tratada diariamente com o inibidor da NADPH oxidase, apocinina (A; 100 mg/kg de peso corpóreo, na água de beber), formando os grupos CVA e LVA. A pressão arterial sistólica (PAS) foi avaliada, em todos os grupos experimentais, antes e após esse período. Na 34ª semana de vida, a prole (n=7–10/grupo) foi submetida à avaliação da hemodinâmica renal, sob condições basais e na presença de ANGII (100 ng/kg de peso corpóreo por minuto, i.v.). Foram avaliados parâmetros como: fluxo plasmático renal (FPR), ritmo de filtração glomerular (RFG), resistência vascular renal (RVR) e fração de filtração (FF). Ao fim do procedimento, foi realizada a coleta do tecido renal cortical para avaliação da expressão das subunidades gp91^{phox} da NADPH oxidase e do receptor AT₁ da ANGII (AT₁R).

RESULTADOS

Na 30ª semana de vida, os ratos obtidos de fêmeas que receberam tratamento com LPS durante a gestação (grupo LV) apresentaram PAS 12% maior (P<0,05) do que o grupo CV. Essa alteração ainda pode ser observada na 34ª semana de vida. O tratamento materno com o α -tocoferol impediu a programação da elevação da PAS induzido pela inflamação materna (LT < LV; P<0,05), da mesma forma que o tratamento com apocinina (LVA < LV; P<0,05). Na 34ª semana de vida, os animais foram submetidos ao procedimento experimental para avaliação dos parâmetros de hemodinâmica renal em condições basais e na presença de ANGII. Sob condições basais, não foi observada nenhuma diferença estatística nos parâmetros de hemodinâmica renal dos grupos experimentais. Por outro lado, a hemodinâmica renal dos grupos experimentais apresentaram diferentes respostas à ANGII (Figura 1). O grupo CV apresentou 20% diminuição no RFG durante a infusão de ANGII, enquanto que o grupo LV apresentou elevação de 15% (P<0,05) do RFG. Dessa forma, a variação do RFG (Δ RFG) em resposta à ANGII foi diferente entre os grupos CV e LV (Figura 1A). Além disso, o grupo LV apresentou maior elevação da FF (Δ FF) em resposta à ANGII do que o grupo CV (Figura 1D). A resposta dos demais parâmetros (RVR e FPR) à angiotensina II foi semelhante em todos os grupos experimentais (Figura 1B e C). Tanto o tratamento materno com α -tocoferol, como o tratamento com apocinina na vida adulta, foram capazes de prevenir/recuperar as alterações na Δ RFG e Δ FF em resposta à ANGII induzidas pelo LPS (Figura 1A e D). Adicionalmente, os ratos obtidos de fêmeas que receberam o tratamento com LPS durante a gestação (grupo LV) apresentaram maior expressão (cerca de 50% P<0,05) da gp91^{phox} e do AT₁R do que o grupo CV (Figura 2A e B). O grupo LT apresentou expressão da gp91^{phox} semelhante ao grupo LV (Figura 5A), contudo apresentou menor expressão do AT₁R (Figura 2B). Por outro lado, os animais LPS tratados com apocinina (LVA) apresentaram menor expressão tanto da gp91^{phox}, como do AT₁R, em relação ao grupo LV (Figura 2A e B).

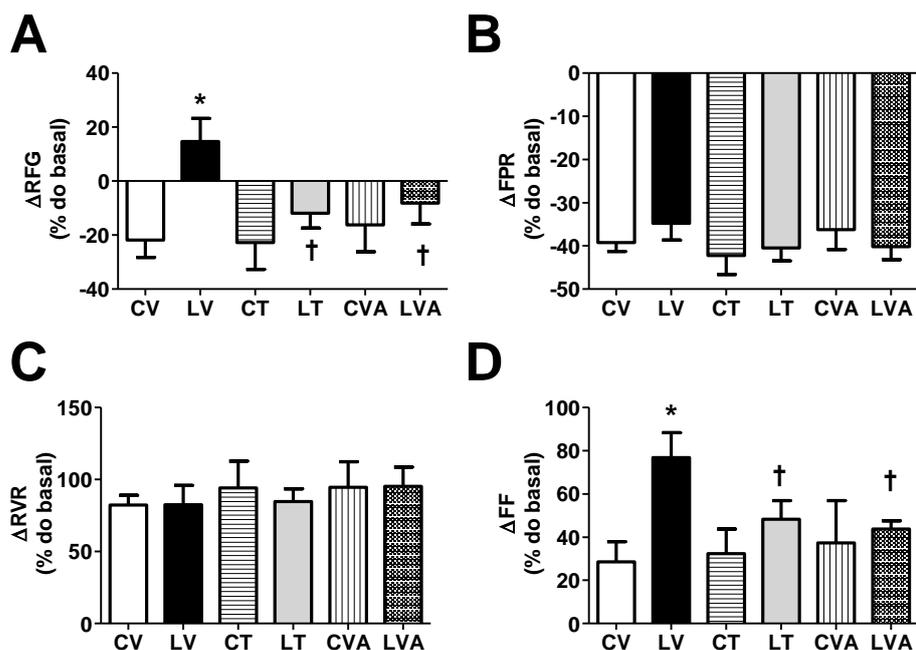


Figura 1. Variação (Δ) dos valores dos parâmetros da hemodinâmica renal em resposta a infusão contínua endovenosa de angiotensina II (100 nmol/kg de peso corpóreo) avaliada às 34 semanas de vida. **A.** Variação do ritmo de filtração glomerular (Δ RFG). **B.** Variação do fluxo plasmático renal (Δ FPR). **C.** Variação da resistência vascular renal (Δ RVR). **D.** Variação da fração de filtração (Δ FF). Resultados expressos como média \pm EPM. Diferenças estatística entre grupos avaliada através da análise de variância de duas vias seguida pelo teste de Bonferroni: * $P < 0,05$ Vs. CV; † $P < 0,05$ Vs. LV.

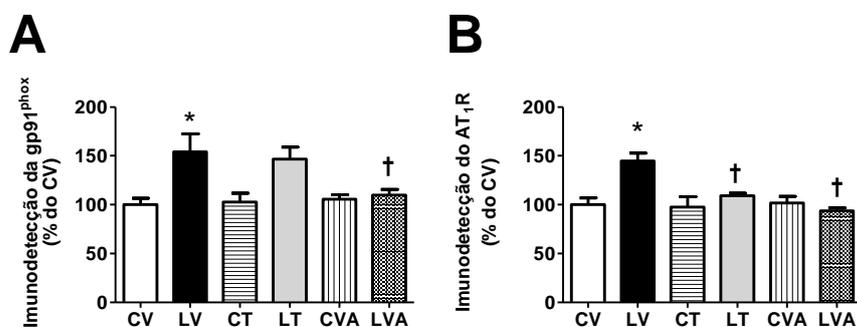


Figura 2. Expressão proteica da subunidade gp91^{phox} da NADPH oxidase (**A**) e do receptor AT₁ da ANGII (**B**) no córtex renal. Resultados expressos como média \pm EPM. Diferenças estatística entre grupo avaliadas através da ANOVA de duas vias seguido pelo teste de Bonferroni: * $P < 0,05$ Vs. CV; † $P < 0,05$ Vs. LV.

DISCUSSÃO

O efeito protetor do α -tocoferol sobre a elevação dos níveis pressóricos induzida pelo LPS reforça a participação do estresse oxidativo no ambiente intrauterino como mecanismo de programação da hipertensão. Além disso, esses resultados indicam que a hipertensão é mediada pela produção de superóxido mediada pela NADPH oxidase. A NADPH oxidase

apresenta uma grande importância para modulação da pressão arterial tanto por efeitos sistêmicos como por efeitos na função renal (Kitada et al., 2003). O aumento do RFG e a maior FF em resposta à ANGII apresentados pelo grupo programado pelo tratamento intrauterino com LPS sugerem a presença de uma hiperresponsividade da arteríola eferente à ANGII. Além disso, o efeito protetor da apocinina indica que a hiperresponsividade é mediada por um aumento na atividade da NADPH oxidase. Podemos perceber que o efeito protetor do tratamento materno com α -tocoferol pode ter envolvido reprogramação da expressão proteica do AT₁R no córtex renal, enquanto que os efeitos da apocinina envolveram tanto a recuperação da expressão normal da gp91^{phox} quanto do AT₁R.

CONCLUSÕES

A inflamação materna programa elevação dos níveis pressóricos e hiperresponsividade da arteríola eferente à ANG II. Essas disfunções parecem envolver alterações na via de produção de superóxido mediada pela NADPH oxidase. No tecido renal, essa mudança pode decorrer de alterações na expressão da subunidade catalítica da oxidase, bem como, por alterações na via de sinalização da ANGII. Além disso, é reforçada a hipótese de que o estresse oxidativo é um dos fenômenos subjacentes ao mecanismo de programação da hipertensão e da disfunção renal na vida adulta.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os membros dos Laboratório de Fisiopatologia Renal e Laboratório de Fisiologia e Farmacologia Renal/UFPE que sempre estiveram disponíveis a ajudar, e também a UFPE, CAPES, FACEPE e CNPQ pelo apoio estrutural e financeiro para a toda realização do projeto.

REFERÊNCIAS

- FOWDEN, A. L.. Intrauterine Programming of Physiological Systems: Causes and Consequences. **Physiology**, [s.l.], v. 21, n. 1, p.29-37, 1 fev. 2006. American Physiological Society. DOI: 10.1152/physiol.00050.2005.
- KITADA, M. et al. Translocation of Glomerular p47phox and p67phox by Protein Kinase C- Activation Is Required for Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy. **Diabetes**, [s.l.], v. 52, n. 10, p.2603-2614, 26 set. 2003. American Diabetes Association. DOI: 10.2337/diabetes.52.10.2603.
- KOPKAN, L.; MAJID, D. S.a.. Enhanced Superoxide Activity Modulates Renal Function in NO-Deficient Hypertensive Rats. **Hypertension**, [s.l.], v. 47, n. 3, p.568-572, 9 jan. 2006. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). DOI: 10.1161/01.hyp.0000200027.34925.93.
- LUO, Z.c. et al. Tracing the origins of “fetal origins” of adult diseases: Programming by oxidative stress?. **Medical Hypotheses**, [s.l.], v. 66, n. 1, p.38-44, jan. 2006. Elsevier BV. DOI: 10.1016/j.mehy.2005.08.020.
- VIEIRA-FILHO, Leucio D et al. Placental oxidative stress in malnourished rats and changes in kidney proximal tubule sodium ATPases in offspring. **Clinical And Experimental Pharmacology And Physiology**, [s.l.], v. 36, n. 12, p.1157-1163, dez. 2009. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2009.05212.x.
- TOUYZ, R. M.. Reactive Oxygen Species, Vascular Oxidative Stress, and Redox Signaling in Hypertension: What Is the Clinical Significance?. **Hypertension**, [s.l.], v. 44, n. 3, p.248-252, 19 jul. 2004. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). DOI: 10.1161/01.hyp.0000138070.47616.9d.