

TELMA BAZZANO DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA RENAL PRODUZIDA
POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO, EM *Rattus norvegicus* WISTAR

CAMPO GRANDE

2015

TELMA BAZZANO DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA RENAL PRODUZIDA
POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO, EM *Rattus norvegicus* WISTAR

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-
Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul, para obtenção do título de Doutor.

Áreas de Concentração: Tecnologia e Saúde
Linha de Pesquisa: Modelos Animais de Doença
Orientadora: Profa. Dra. Iandara Schettert Silva

Campo Grande/ MS

2015

FOLHA DE APROVAÇÃO
TELMA BAZZANO DA SILVA

CARACTERIZAÇÃO DE UM MODELO ANIMAL DE DOENÇA RENAL PRODUZIDA
POR ISQUEMIA E REPERFUSÃO, EM *Rattus norvegicus* WISTAR

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação
em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-
Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do
Sul, para obtenção do título de Doutor.

Resultado _____

Campo Grande (MS), 9 de abril de 2015.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Iandara Schettert Silva

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul-UFMS

Prof. Dr. Carlos Alberto do Nascimento Ramos

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul-UFMS

Dr. Rondon Tosta Ramalho

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul-UFMS

Prof. Dra. Juliana Loprete Cury

Centro Universitário da Grande Dourados - UNIGRAN

Profa. Dra Lenir Cardoso Porfírio

Universidade Federal do Espírito Santo - UFES

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família e aos meus verdadeiros amigos, por compartilharem comigo tudo o que a vida e o tempo nos proporcionam, tanto nos momentos bons quanto nos momentos ruins e, em cada um destes, estarem sempre ao meu lado, rindo, brincando, sofrendo ou chorando.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)**, por me proporcionar a oportunidade de desenvolvimento e qualificação profissional.

À **Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul (FUNDECT)**, pela concessão da bolsa de Doutorado.

Ao querido **Professor Doutor Marcelo Augusto Santos Turine**, pela simplicidade e costumeira presteza, principalmente durante o período do Doutorado.

A **Direção anterior do CCBS**, na pessoa da **Professora Doutora Edna Scremin Dias**, pelo incentivo e apoio desde o início do meu Doutorado.

A **Direção atual e Coordenação Administrativa do CCBS**, nas pessoas da **Professora Doutora Dulce Lopes Ribas** e da **Administradora Mestre Fabrícia Teixeira Sanches**, pelo apoio e autorização de minha liberação, para a conclusão do Doutorado.

Ao **Professor Doutor Albert Schiaveto de Souza**, pelo seu carinho, paciência e disponibilidade, tão peculiar, na realização das análises estatísticas.

A **Professora Doutora Lenir Cardoso Porfirio**, pelo exemplo de docência por vocação e pela disponibilidade de ensinar e transformar as dificuldades em oportunidade de aprendizado.

À **orientadora, Professora Doutora Iandara Schettert Silva** por me conceder a oportunidade de participar de sua linha de pesquisa.

Ao **Laboratório de Análises Clínicas da Universidade Federal do Espírito Santo – UFES**, na pessoa do **Técnico Jorge Pinto da Silva Filho**, pela realização das análises bioquímicas urinárias.

À **Professora Doutora Louisiane de Carvalho Nunes**, Patologista Animal da **Universidade Federal do Espírito Santo – UFES**, pela leitura das lâminas.

Ao **Laboratório de Bioquímica do Núcleo do Hospital Universitário** na pessoa do Farmacêutico **Paulo César Lourenzo** pela realização das análises bioquímicas séricas.

Ao **Laboratório de Hematologia do Núcleo do Hospital Universitário**, pelo auxílio na realização das análises hematológicas, em especial à Técnica **Mara Lúcia Bellinate**.

À querida **Vera Nascimento Silva (Verinha)**, secretária do Programa de Pós-Graduação, pela costumeira atenção, paciência e carinho.

Ao **Coordenador, Docentes e Servidores do Programa de Pós-Graduação**, pela atenção, presteza e pelos ensinamentos.

Aos amigos da UFMS pelo incentivo e apoio prestados.

Aos amigos do Biotério, Eder, Amanda e Marieta, que em algum momento me auxiliaram na execução e/ou finalização da tese.

À amiga **Adriana Conceição Guercio** pela força e apoio técnico laboratorial, para a execução da parte experimental desta tese.

E, em especial, as queridas e eternas amigas Rosalina Aparecida Ferreira de Rezende (Tuka) e Tamy Ingrid Restel que além de todo o apoio técnico laboratorial para a execução da tese, não mediram esforços para me auxiliarem em todos os momentos, principalmente nos piores momentos, sem as quais não seria possível a realização deste trabalho.

Senhor ,

Eu pedi sabedoria ... e o senhor me deu problemas para resolver.

Eu pedi força ... e o senhor me deu dificuldades.

Eu pedi coragem ... e o senhor me deu perigos para superar.

Eu pedi favores ... e o senhor me deu oportunidades.

Sinceramente...

.... eu não recebi nada do que pedi.

.Mas realmente

..... recebi tudo o que precisava.

(autor desconhecido)

BAZZANO, T S. Caracterização de um modelo animal de doença renal produzida por isquemia e reperfusão, em *Rattus norvegicus* WISTAR

Com o objetivo de caracterizar um modelo animal de doença renal, foram utilizados oito machos e oito fêmeas de ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem WISTAR, entre 60 e 81 dias de idade, os quais foram submetidos à cirurgia para o clampeamento do pedículo renal (artéria e veia) unilateral esquerdo por 10 minutos, para isquemia, com restabelecimento do fluxo para reperfusão. Foram avaliados os biomarcadores: atividade urinária da fosfatase alcalina (FAU) e da gama glutamiltransferase (gGTU); glicose urinária (GliU); proteína urinária (PrU); creatinina urinária (CrU); relação proteína urinária e creatinina urinária (PrU:CrU) às 24 horas, aos 5, 7, 14 e 21 dias. Pôde-se observar que a isquemia unilateral por 10 minutos, mostrou na avaliação da urina, às 24 horas, o aumento significativo da atividade enzimática da gGTU e da FAU, além do aumento da GliU, o que denota lesão tubular aguda. Estas enzimas apresentaram decréscimo de seus valores, após as 24 horas, e equipararam-se aos valores do grupo controle dos cinco aos sete dias. A partir do quinto dia observou-se o aparecimento da proteína (albumina), tanto na Urina tipo I quanto na espectrofotometria. Aos sete dias, na avaliação do sedimento também apareceram cilindros granulosos. Tanto a proteína e os cilindros granulosos se mantiveram na urina até o 21º dia e, aliados a glicosúria, em valores com ascendência, demonstraram que a lesão cronicou, como observado aos 21 dias, e que pode evoluir para lesão tubular crônica. O modelo de isquemia por 10 minutos se mostrou viável, pois foi caracterizado pelas alterações dos parâmetros bioquímicos urinários analisados, e pela evolução da doença.

Palavras-chave: Isquemia, Reperfusão, Renal, Ratos

ABSTRACT

BAZZANO, T S. Characterization of an animal model of kidney disease produced ischemia-reperfusion, in WISTAR *Rattus norvegicus*

In order to characterize an animal model of kidney disease, they were used eight male and eight female rats (*Rattus norvegicus*) of the Wistar strain, between 60 and 81 days of age, who underwent surgery for clamping the renal pedicle (artery and vein) unilateral left for 10 minutes to ischemia with restoration of flow to reperfusion. Biomarkers were evaluated: urinary alkaline phosphatase activity (FAU) and gamma glutamyltransferase (gGTU); urinary glucose (GliU); Urinary protein (PRV); urinary creatinine (CRU); relative urinary protein and urinary creatinine (PRU: Raw) at 24 hours, at 5, 7, 14 and 21 days. It was observed that the unilateral ischemia for 10 min showed the evaluation of urine at 24 hours, a significant increase in enzymatic activity of gGTU and FAU, besides increasing the GliU, which indicates acute tubular injury. These enzymes showed a decrease of their values, after 24 hours, and equated to the control group values from five to seven days. From the fifth day it was observed the appearance of protein (albumin) in both the urine type I and in spectrophotometry. Seven days in sediment assessment also appeared granular cylinders. Both the protein and granular cylinders remained in urine until the 21st day and, together with glucosuria in descent values demonstrated that chronic injury, as seen at 21 days, and can evolve into chronic tubular injury. The model of ischemia for 10 minutes proved feasible, because it was characterized by changes in urinary biochemical parameters analyzed, and the evolution of the disease.

Key words: Ischemia. Reperfusion. Renal. Rats

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Formação dos grupos Controle e Experimental-I/R	48
Tabela 2	Quantitativo de análises laboratoriais realizadas para a avaliação do procedimento de I/R, nos diferentes momentos, no grupo Experimento – I/R e Controle	51
Tabela 3	Distribuição percentual das alterações histopatológicas renais (rim esquerdo) dos animais submetidos a Isquemia de 10 minutos e análise às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após reperfusão.....	77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Valores Médios e Erro Padrão da Fosfatase Alcalina urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média..... 58
- Figura 2 Valores Médios e Erro Padrão da Gama Glutamiltransferase urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.... 60
- Figura 3 Valores Médios e Erro Padrão da Glicose Urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média..... 62
- Figura 4 Valores Médios e Erro Padrão da Proteína Urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média. 64
- Figura 5 Valores Médios e Erro Padrão da Ureia urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média..... 66
- Figura 6 Valores Médios e Erro Padrão de Creatinina urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média..... 67

Figura 7	Valores Médios e Erro Padrão da Fração de Excreção de Potássio nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental).....	70
Figura 8	Valores Médios e Erro Padrão da Relação Proteína urinária: creatinina urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E= experimental).....	71
Figura 10	Esquema da evolução da lesão renal em relação as análises da urina.	75

Lista de Abreviaturas e Siglas

ADH	Hormônio Antidiurético
ADQI	<i>Acute Dialysis Quality Initiative</i>
Alb	Albumina Sérica
A:G	Relação Albumina/ Globulina
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Aminotransferase
Baso	Basófilos
BPM	Proteína de Baixo Peso Molecular
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
Clcr	<i>Clearance</i> de creatinina
Col	Colesterol
Cr	Creatinina
CrU	Creatinina Urinária
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
Eo	Eosinófilos
EUA	Excreção Urinária de Albumina
FA	Fosfatase Alcalina
FEK	Fração de Excreção de Potássio
FENa	Fração de Excreção de Sódio
FEUr	Fração de Excreção da Ureia
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
FU	Fluxo Urinário
gGT	Gama Glutamiltransferase Sérica
gGTU	Gama Glutamiltransferase Urinária
Gli	Glicose
GliU	Glicose Urinária
Glob	Globulina Sérica
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
Hm	Hemácia
Ht	Hematócrito

HE	Hematoxilina e Eosina
I/R	Isquemia / Reperfusão
IRA	Insuficiência Renal Aguda
KU	Potássio urinário
Lt	Leucócitos Totais
Linf	Linfócitos
Mono	Monócitos
NaU	Sódio Urinário
Neut	Neutrófilos
NTA	Necrose Tubular Aguda
pH	Potencial Hidrogênioônico
PLT	Plaquetas
Ps	Proteína Sérica
PU	Proteína urinária
PU/CrU	Relação Proteína Urinária / Creatinina Urinária
RDW-CV	Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos / Coeficiente de Variação
RDW-SD	Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos / Desvio Padrão
TFG	Taxa de Filtração Glomerular
TNF-a	Fator de Necrose Tumoral-a
Trig	Triglicérides
Ur	Ureia
UrU	Ureia Urinária
VCM	Volume Corpuscular Médio
VMP	Volume Médio das Plaquetas

Lista de Símbolos

Ca ⁺⁺	Cálcio
CO ₂	Dióxido de carbono
fL	Fentolitros
K ⁺	Potássio
µg/min	Microgramas por minuto
mEq/24 h	Miliequivalente / 24 horas
mEq/L	Miliequivalente / Litro
mg/dL	Miligrama / decilitro
mg/24 h	Miligrama / 24 horas
mg/kg	Miligrama / Kilograma
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro / minuto
mm ³	Milímetro cúbico
mmol/L	Milimol / Litro
Na	Sódio sérico
PCR	Proteína C reativa
Pg	picogramas
pH	Potencial Hidrogeniônico
Rpm	Rotações por minuto
U/L	Unidade internacional por litro
µL	microlitros

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
2	REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1	Modelo Animal e Experimentação	22
2.2	Isquemia e Reperfusão Renal	23
2.2.1	Tempos de Isquemia e Reperfusão	26
2.3	Insuficiência x Lesão Renal Aguda	31
2.4	Avaliação Laboratorial da Lesão Renal	32
2.4.1	Parâmetros Urinários	33
2.4.2	Parâmetros Bioquímicos	37
2.4.3	Parâmetros Hematológicos	40
2.5	Histopatologia	45
3	OBJETIVOS	47
3.1	Objetivo Geral	47
3.2	Objetivos Específicos	47
4	METODOLOGIA	48
4.1	Comissão de Ética no Uso de Animais	48
4.2	Formação dos Grupos Experimentais	48
4.3	Procedimentos Realizados	49
4.3.1	Anestesia	49
4.3.2	Cirurgia: Isquemia e Reperfusão Renal	50
4.3.3	Coleta das Amostras e Análises Laboratoriais	50
4.3.3.1	Coleta de urina	51
4.3.3.1.1	Urinálise	52
4.3.3.1.2	Bioquímica Urinária	52
4.3.3.2	Obtenção de amostra de sangue	54
4.3.3.2.1	Hematologia	55
4.3.3.2.2	Bioquímica Sérica	55
4.4	Eutanásia	56
4.5	Análise Histopatológica	56
4.6	Análise Estatística	56
5	RESULTADOS e DISCUSSÃO	58

5.1	Fosfatase Alcalina urinária	58
5.2	Gama Glutamiltransferase urinária	59
5.3	Glicose urinária	61
5.4	Proteína urinária	63
5.5	Ureia urinária	65
5.6	Creatinina urinária	67
5.7	Frações de Excreção de Potássio (FEK)	69
5.8	Relação Proteína urinária / Creatinina urinária (PU/CrU).....	70
5.9	Urinálise	72
5.10	Avaliação macro e microscópica dos Rins	76
5.11	Parâmetros Bioquímicos séricos	77
5.12	Parâmetros Hematológicos	82
6	CONCLUSÃO	85
7	REFERÊNCIAS	86
8	ANEXOS	101
8.1	Certificado CEUA/UFMS nº 378/2011.....	102
9	APÊNDICES	103
9.1	APÊNDICE A – Tabela 4 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Série Branca de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.	104
9.2	APÊNDICE B – Tabela 5 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Série Vermelha de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.....	105
9.3	APÊNDICE C – Tabela 6 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Plaquetas de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e	

	análise da reperfusão após 24horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.	107
9.4	APÊNDICE D - Tabela 7 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Séricos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas , 5, 7, 14 e 21 dias após experimento	108
9.5	APÊNDICE E - Tabela 8 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Urinários de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.	111
9.6	APÊNDICE F - Tabela 9 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão das frações de excreção, volume e fluxo urinário e clearance de creatinina de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.....	113
9.7	APÊNDICE G – Tabela 10 - Valores mínimos e máximos dos Parâmetros Hematológicos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento..	114
9.8	APÊNDICE H – Tabela 11 - Valores mínimos e máximos dos parâmetros Bioquímicos Séricos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental-I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.	115
9.9	APÊNDICE I – Tabela 12 - Valores mínimos e Máximos dos parâmetros Bioquímicos Urinários de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental	

	submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento	116
9.10	APÊNDICE J – Tabela 13 – Urinálise das Fêmeas (Cf) do Grupo Controle	117
9.11	APÊNDICE K – Tabela 14 – Urinálise das fêmeas (Ef)) do grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.....	118
9.12	APÊNDICE L – Tabela 15 – Urinálise dos animais do grupo controle Machos (Cm)	120
9.13	APÊNDICE M – Tabela 16 – Urinálise de machos (Em) do Grupo Experimental-I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.....	121
9.14	APÊNDICE N – Figura 9 – Cirurgia de Isquemia e Reperfusão Renal: A - Tricotomia e assepsia, B - Marcação da incisão, C - Início do ato cirúrgico, D - Incisão lateral esquerda, E - Exposição para clampeamento, F - Clampeamento de 5 minutos, G - Clampeamento de 10 minutos, H - Fim Isquemia e Início Reperfusão, I - Sutura da incisão.....	125

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a busca do entendimento de fatores etiológicos, mecanismos e tratamento das doenças têm levado ao desenvolvimento de vários modelos animais (MONTEIRO et al., 2009). A escolha do modelo animal é imprescindível para a obtenção de resultados experimentais confiáveis e deve ser feita de acordo com o protocolo experimental, com espécies disponibilizadas com qualidade adequada e, em menor número possível (FERREIRA et al., 2005).

A pesquisa animal conduzida com ética e responsabilidade oferece sempre expectativas para o desenvolvimento de novos métodos de prevenção, tratamento e controle de doenças, do sofrimento e da dor (*American College of Laboratory Animal Medicine - ACLAM*, 2004).

O *Rattus norvegicus* é o animal de laboratório mais usado como modelo de doença renal, porque apresenta facilidade de trabalho e adequabilidade ao protocolo, além de sua constituição anatômica visceral ser bastante similar à do homem (RIBEIRO e YOSHIDA, 2005). Segundo Konopka (1998) os rins isquêmicos dos ratos, notadamente, simulam as lesões observadas em humanos, até mesmo nos menores detalhes, sendo este o fator decisivo na escolha do rato como modelo. Bezerra et al. (2008) ressalta que os ratos da linhagem Wistar apresentam maturidade funcional renal a partir de peso corporal de 150g, que corresponde à idade de 35 a 40 dias.

A experimentação animal é fonte de referência para a busca de soluções de problemas renais, apesar da variabilidade de tipos de animais, do tempo de Isquemia e Reperusão (I/R), dos parâmetros utilizados para avaliação das variáveis e dos tratamentos utilizados (RIBEIRO e YOSHIDA, 2005).

Um dos modelos de I/R mais estudados é a oclusão temporária da artéria renal (ARAÚJO et al., 2002) e são caracterizados por, no mínimo, duas fases distintas: uma fase de isquemia, com oclusão de um vaso ou dos vasos nutridores de um determinado órgão ou tecido a ser estudado e uma segunda fase, a de reperusão, com a desobstrução do vaso previamente ocluído de

forma a reperfundir adequadamente o tecido até então isquêmico (RIBEIRO e YOSHIDA, 2005).

A perda do suprimento sanguíneo por redução do fluxo arterial de um tecido, em que há comprometimento da oferta de substratos metabólicos refere-se ao termo isquemia (COTRAN et al., 2000), pelo fluxo sanguíneo arterial ser insuficiente às necessidades metabólicas teciduais (CUNHA e BANDEIRA, 2007), e se instala toda vez que essa oferta for menor do que as necessidades básicas do órgão (CAZARIN e SARIDAKIS, 2007). Está presente em diferentes situações como em cirurgias renais, vasculares e no transplante renal, onde algum grau de lesão por isquemia renal é inevitável, como durante o preparo do órgão antes do implante cirúrgico (DE MENEZES et al., 2010) e tem papel fundamental em muitas situações clínicas perioperatórias (CUNHA e BANDEIRA, 2007).

Quanto maior o tempo de isquemia, maior a repercussão clínica e pior o prognóstico (COSTA et al., 2003; CUNHA e BANDEIRA, 2007). As consequências anatômicas, metabólicas e fisiopatológicas da isquemia foram investigadas desde a década de setenta e permanecem em foco até os dias de hoje. Em casos mais graves, com tempos maiores de perfusão reduzida, pode haver necrose cortical (COSTA et al., 2003; CUNHA e BANDEIRA, 2007).

Sabe-se que as consequências da isquemia, em diferentes tecidos, dependem de sua duração, e que muitas das lesões são desenvolvidas durante o estágio de reoxigenação decorrente da reperfusion tecidual (AALTO e RAVIO, 1993; ZHANG et al., 1994; SZABO et al., 1996). O tempo de isquemia talvez seja a variável mais óbvia de proteção, ou seja, quanto menor o tempo, menor o dano isquêmico. Na maioria dos processos patológicos, porém, não há o controle do tempo de isquemia (BERNARDI, 2007). Assim, quanto maior o tempo de isquemia, maior a repercussão clínica (COSTA et al., 2003).

Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo caracterizar um modelo animal de doença renal produzido por isquemia de dez minutos de clampeamento da artéria e veia renal, com análise em diferentes tempos da reperfusion, descrevendo as alterações relacionadas à bioquímica urinária, sérica e hematologia.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Modelo Animal e Experimentação

A experimentação animal nas pesquisas científicas tem contribuído sobremaneira para o desenvolvimento da ciência e tecnologia, e promover ao longo dos anos descobertas de medidas profiláticas e tratamentos de enfermidades que acometem os seres humanos (CHORILLI et al., 2007). Os focos principais têm sido aprimorar o conhecimento acerca dos mecanismos fisiopatológicos de doenças, empreender ensaios terapêuticos com novos fármacos, estudar marcadores biológicos e avaliar novas técnicas com perspectivas de aplicabilidade na espécie humana (TARDINI et al., 2003; CAVALCANTI et al., 2009).

Os modelos animais são utilizados em todos os campos da pesquisa biológica (FERREIRA e FERREIRA, 2003) e tem sido importante, não só para o aperfeiçoamento, comprovação e desenvolvimento de novas técnicas e procedimentos (FERREIRA et al., 2005), mas, principalmente, por garantirem grandes descobertas biomédicas e acompanharem o desenvolvimento tecnológico globalizado (SEELIG, 2007).

Cavalcanti et al. (2009) reportaram que a busca por modelos que reproduzam condições mórbidas da espécie humana, fez com que a pesquisa cirúrgica em animais de laboratório tenha se expandido nas últimas décadas. Costa et al. (2009) afirmaram que com frequência se encontram vasta literatura sobre intervenções cirúrgicas utilizando modelo animal no intuito de causar a isquemia renal, dentre as quais sobressaem aquelas que preconizam nefrectomias nos ratos em diferentes proporções, com predomínio de ressecções 4/5 ou 5/6 e a obstrução ureteral.

Há dois tipos básicos de modelos, induzido e espontâneo, habitualmente referidos na literatura científica. O modelo induzido refere-se à situação na qual a condição/doença a ser investigada é induzida experimentalmente, ao se considerar como a única categoria que teoricamente permite a escolha livre de espécies (FAGUNDES e TAHA, 2004).

A importância do conhecimento e a divulgação dos valores de parâmetros fisiológicos dos animais de experimentação, considerando as variações influenciadas por diferentes fatores, devem ser estimuladas nas pesquisas experimentais (BRANCO et al., 2011). Para Andrade et al. (2002), o controle do estado de saúde de cada animal que fará parte de um experimento é essencial para prevenir falsa interpretação dos resultados experimentais.

Segundo Bittencourt et al. (2001) os experimentos com animais, muitas vezes utilizam o grupo controle para confirmar os efeitos de fatores independentes sobre os animais experimentais. Portanto, a avaliação da condição normal de valores bioquímicos do sangue animal e as diferenças de sexo e idade são necessárias para experimentação animal.

2.2 Isquemia e Reperfusão Renal

Os rins exercem múltiplas funções, como filtração, reabsorção, secreção e funções endócrina e metabólica. A função primordial é a manutenção da homeostasia, regulando o meio interno pela reabsorção de substâncias e íons filtrados nos glomérulos e excreção de outras substâncias, tudo isso regulado por uma série de hormônios (SODRÉ et al., 2007).

No interior do rim existem três regiões. A mais externa é denominada de córtex, a intermediária de medula e a mais interna é o seio renal (BENDER, 2006). O rim é revestido externamente pela cápsula renal, a qual é facilmente descolável, em um rim doente (MOORE, 2001). O córtex renal é constituído pelo néfron, o qual é a unidade morfofuncional do rim, ou seja, local onde ocorre a filtração do sangue. O néfron é constituído pela arteríola aferente, pela cápsula glomerular e pela arteríola eferente. No glomérulo é onde ocorre o fenômeno da filtração (BENDER, 2006).

O córtex renal recebe aproximadamente 90% do fluxo sanguíneo renal e, a medular aproximadamente 10%, isto torna o córtex particularmente vulnerável a toxinas circulantes na corrente sanguínea e a medular é mais suscetível a isquemia (GOBE e JOHNSON, 2007). No interior do córtex, as células dos Túbulos Contorcidos Proximais (TCP) e o ramo ascendente

espesso da Alça de Henle são mais frequentemente afetadas por lesões isquêmicas e induzidas por tóxicos em virtude de suas funções de transporte e altas taxas metabólicas (GRAUER, 2005; LUNN, 2011).

A isquemia é a principal causa de insuficiência renal aguda (IRA) e crônica (IRC) pós-operatória renal em pacientes submetidos à cirurgia poupadora de néfrons, para o qual nenhuma modalidade de tratamento médico específico está desenvolvida até esta data. As consequências anatômicas, metabólicas e fisiopatológicas da isquemia foram e são intensamente investigadas, e permanecem em foco até os dias de hoje. Quanto maior o tempo de isquemia, pior o prognóstico (CUNHA e BANDEIRA, 2007).

O intervalo de tempo para que ocorra a lesão irreversível vai depender das características metabólicas do tecido envolvido. A lesão dos tecidos não está limitada a isquemia, mas estende-se ao processo de reperfusão (PINHEIRO et al., 2000; ROBBINS, 2005).

Simmons et al. (2008), em revisão da literatura referente a lesão renal isquêmica a quente no período de 1947-2007, compararam e avaliaram dados relevantes de estudos clínicos em animais. Segundo os autores, estudos em animais têm descrito a relação entre a duração da isquemia quente e a magnitude da disfunção renal subsequente.

Segundo Secin (2008), existem três mecanismos principais de lesão renal isquêmica, incluindo vasoconstrição persistente com uma resposta anormal de células endoteliais compensatórias, obstrução tubular com refluxo de urina e lesão de reperfusão. A controvérsia persiste na tolerabilidade máxima do rim a isquemia quente, a qual pode ser influenciada pela técnica cirúrgica, a idade do paciente e presença de vascularização colateral.

A restauração do fluxo sanguíneo em adição à reversão da isquemia pode resultar em um número de efeitos deletérios. A reperfusão é o termo utilizado para definir o restabelecimento do fluxo após um período de isquemia. Os tecidos mantidos em isquemia, quando reperfundidos apresentam um agravamento da lesão (CAZARIN e SARIDAKIS, 2007), pois, apesar da revascularização sanguínea a um órgão isquêmico ser essencial para prevenir

a irreversibilidade da lesão celular, a reperfusão pode agravar as lesões produzidas na fase isquêmica isolada (JÚNIOR et al., 2002).

A isquemia seguida da reperfusão (I/R) pode ser considerada um evento comum a diversas doenças da prática clínico-cirúrgica; tem sido amplamente reconhecida como uma fonte importante de danos e consequências deletérias para órgãos (RHODEN et al., 1997; RHODEN et al., 1998; LEAL et al., 2001; SILVA et al., 2002) e descrita na literatura em diferentes condições clínicas como o infarto do miocárdio, isquemia cerebral e isquemia renal (RHODEN et al., 1997; RHODEN et al., 1998; SILVA et al., 2002). No rim, a lesão induzida por isquemia e reperfusão é o principal fator etiológico da insuficiência renal aguda (IRA), que se caracteriza, dentre outros achados, por uma elevação transitória nas taxas séricas de creatinina (LEAL et al., 2001).

O entendimento dos mecanismos envolvidos nos danos da isquemia/reperfusão é essencial para definir estratégias terapêuticas e minimizar suas consequências (DE MENEZES et al., 2010).

Konopka (1998) trabalhou com o objetivo de desenvolver um modelo experimental para o estudo da isquemia renal crônica e caracterizar as alterações funcionais, morfológicas e ultraestruturais presentes nos ratos como modelo animal; afirmou que, apesar de outros modelos que têm sido utilizados para examinar a progressão das doenças renais, há grandes diferenças em susceptibilidade entre as espécies animais.

Muller et al. (2002), em trabalho com ratos Wistar machos e fêmeas, relataram que a disfunção orgânica pós-isquêmica é influenciada pelo gênero e esteróides sexuais. Para comparar a susceptibilidade dos rins a falha pós-isquêmica entre os sexos, o pedículo vascular esquerdo foi pinçado por 50 minutos. A taxa de sobrevivência e hemodinâmica sistêmica e renal foram medidas e 8% dos machos, em comparação aos 75% das fêmeas, sobreviveram por mais de sete dias.

A vasoconstrição renal grave foi observada após isquemia apenas em animais machos, o que segundo Muller et al. (2002), Robert et al. (2011) e Tanaka et al. (2013) indicam que a susceptibilidade isquêmica renal varia entre machos e fêmeas, pois há evidências que sugerem efeito protetor dos

hormônios sexuais femininos em diversos órgãos submetidos a lesão de isquemia-reperfusão. Muller et al. (2002) reportam que ratas fêmeas demonstram relativa proteção contra falência renal pós-isquêmica, e demonstram que o sexo tem impacto importante na lesão renal induzida por isquemia, pois os hormônios sexuais desempenham papel crucial nesta diferença.

Robert et al. (2011) submeteram ratos machos sexualmente maduros a 60 min de isquemia renal unilateral por clampeamento do pedículo renal com nefrectomia contralateral. Concluíram que após a isquemia e reperfusão avaliada após um e cinco dias, a recuperação da função renal e lesão tecidual foi dependente do gênero, pois as fêmeas foram mais resistentes aos efeitos deletérios da reperfusão. Estas diferenças estão associadas a uma modulação da produção de hormônios sexuais e uma modificação da remodelação de tecidos e processos celulares proliferativos.

Para Tanaka et al. (2013) a disfunção renal e o dano renal histológico foram observados um dia após a reperfusão em ambos os ratos machos e fêmeas, embora estas lesões renais tenham sido mais marcantes nos ratos machos do que em fêmeas. Fekete et al. (2003) reportaram que os hormônios sexuais femininos melhoram a sobrevida e atenuam a lesão renal e que as bases moleculares e celulares para essa diferença entre os sexos necessitam de mais pesquisas.

2.2.1 Tempos de Isquemia e Reperfusão (I/R)

O modelo de I/R renal consiste no clampeamento da artéria renal ou do pedículo renal por um período variado de 15 a 60 minutos com subsequente reperfusão, reproduzindo o cenário clínico de um transplante renal (HEYMAN et al., 2010).

No entendimento da fisiopatologia da isquemia e reperfusão renal percebe-se que existem vários mecanismos entrelaçados que favorecem o dano renal (BERNARDI, 2007). Os mecanismos da injúria isquêmica são comuns para todos os órgãos sólidos, mas existem algumas características

específicas para cada órgão. A insuficiência renal assume importância no transplante renal (PERCÁRIO, 2010).

A duração máxima de isquemia a quente permitida antes do início da lesão renal irreversível continua a ser um tema de debate, independentemente da técnica cirúrgica (SECIN, 2008), uma vez que o tempo de isquemia é importante na determinação da lesão (BERNARDI et al., 2012).

A produção experimental de estenose em artérias renais para a indução de isquemia tem sido utilizada em várias espécies animais (KONOPKA, 2007). O tempo de isquemia e o momento da reperfusão provocam a lesão celular que podem abranger desde alterações bioquímicas, a necrose celular (CASTRO e SILVA et al., 2002) até falência de órgãos (FRANCISCHETTI et al., 2010).

Dados clínicos descritos por Simmons et al. (2008), indicam que há limite de tempo seguro de isquemia quente por 30 minutos em pacientes com função renal pré-operatória normal. A elevação na creatinina e ureia sérica é um sinal de deterioração da função glomerular, que resulta em uma disfunção renal de acordo com esse tempo.

Segundo Meyer et al. (2011), medições inferiores a 20 minutos possuem ausência de resultados significativos em decorrência de dificuldades técnicas. Ressalta, em razão disso, há necessidade de novos estudos para a definição do melhor parâmetro que mensure a lesão de isquemia/reperfusão.

Fekete et al. (2003) trabalharam em modelo de insuficiência renal aguda (IRA) pós-isquêmica, em ratos Wistar, fêmeas sexualmente maduras e peso de 240 ± 30 g e machos com 300 ± 35 g. A isquemia renal foi realizada por pinçamento da artéria renal esquerda e da veia durante 55 minutos; o rim contralateral foi removido e a reperfusão analisada após 2 e 16 horas.

Andrade et al. (2004) em trabalho com IRA isquêmica observaram os efeitos comparativos do Alopurinol e N-Acetilcisteína como antioxidantes utilizando 14 ratos machos, Wistar, adultos, com peso de 294 ± 54 g e submetidos à I/R mediante clampeamento bilateral dos pedículos renais por 30 minutos.

Brito et al. (2005) utilizaram 18 ratos Wistar, fêmeas, adultas, entre 90 e 120 dias de idade, pesando entre 200g e 250g, em trabalho para avaliar o efeito

do óleo de copaíba nos níveis séricos de ureia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal de ambos os rins, por 50 minutos, seguida de reperfusão por 24, 48 e 72 horas.

Pompermayer et al. (2005) realizaram nefrectomia esquerda e isquemia total no rim contralateral por 45 minutos e após a reperfusão renal ser restabelecida, retiraram, 4 e 24 horas após, os rins e os pulmões para análise da permeabilidade vascular e acúmulo de neutrófilos.

Tucci Junior et al. (2008) avaliaram a influência da clorpromazina (CPZ) na função renal e na peroxidação lipídica num modelo de lesão de isquemia/reperfusão renal em ratos, utilizando 48 exemplares de Wistar, os quais foram submetidos à laparotomia para clampeamento da artéria renal esquerda durante 60 minutos, seguido da reperfusão e nefrectomia contralateral. Destes, 22 animais foram considerados controle isquêmico. Realizaram dosagens de ureia e creatinina sérica no 1º, 4º e 7º dias pós-operatório e concluíram que a clorpromazina conferiu proteção parcial da função renal aos rins submetidos a lesão de I/R, aparentemente independente da inibição da peroxidação lipídica.

Bezerra et al. (2008) ao avaliarem o efeito renoprotetor da *Vitis vinifera* sobre a função renal de ratos com lesão renal aguda isquêmica (LRAi) utilizaram ratos Wistar, adultos, machos, pesando entre 250 a 315 g, os quais foram submetidos a isquemia renal por 40 minutos por meio do clampeamento dos pedículos renais bilaterais e reperfusão espontânea.

Hosseini et al. (2009) em estudo sobre os efeitos do pré-tratamento com betacaroteno na lesão de I/R, utilizaram ratos machos com 250 g a 300 g expostos a lesão de I/R, bilateral por 45 minutos; os resultados demonstraram que a I/R causa elevação do BUN, creatinina e subsequente redução da TFG os quais mostram deficiência da função glomerular.

Vinagre (2011) avaliou a proteção renal com antioxidante durante isquemia e reperfusão e hiperglicemia transitória, mediante o clampeamento temporário da artéria por 25 minutos, em 6 ratos Wistar machos (n=36), com peso de 380,0±35,8 g, os quais também foram submetidos à nefrectomia direita de todos os animais. Souza (2013), por sua vez, avaliou possível proteção

renal de altas doses de melatonina em modelo experimental de nefrectomia direita, com I/R contralateral de 25 minutos; utilizou 44 ratos Wistar, machos, com peso superior a 300g, destes, cinco animais foram para o grupo isquemia/reperfusão.

Meyer et al. (2011) promoveram isquemia/reperfusão do rim esquerdo em dois tempos diferentes de clampeamento do pedículo renal: 30 e 60 minutos em 20 ratos Wistar, machos, com 90 dias e pesos médios de 250-300 g, com o objetivo de avaliar o fluxo sanguíneo renal, por meio do fluxômetro a laser. Analisaram o fluxo sanguíneo nos períodos de um, cinco e 20 minutos após o início da reperfusão renal e concluíram que rins submetidos à oclusão renal por 30 minutos têm maior restabelecimento do fluxo que rins submetidos a períodos de 60 minutos de oclusão.

Vattimo e Silva (2011) provocaram lesão renal aguda isquêmica induzida com o objetivo de avaliar o efeito renoprotetor da *Uncaria tomentosa* sobre a lesão renal aguda isquêmica. Utilizaram 35 ratos Wistar, adultos, machos, os quais sofreram o clampeamento dos pedículos renais por 45 minutos. Em igual tempo, Behera et al. (2012) induziram a isquemia por oclusão dos pedículos renais bilaterais, seguida por reperfusão de 3 horas.

Formiga (2011) reporta que o limite de tempo de isquemia renal sem causar dano permanente à função ainda é um questionamento pertinente na prática cirúrgica urológica. Algumas cirurgias requerem um campo cirúrgico com menor perda de sangue, e necessitam de interrupção temporária do fluxo sanguíneo para o parênquima renal por meio de clampeamento do pedículo.

Barreira-Chimal et al. (2011), avaliaram se a proteína HSP72 é um biomarcador precoce e sensível para detectar lesão renal aguda, bem como para monitorar estratégia renoprotetora, para isso, utilizaram 72 ratos Wistar divididos em seis grupos submetidos a diferentes tempos de isquemia bilateral (10, 20, 30, 45 e 60 minutos) e reperfusão de 24 horas. Diferentes tempos de reperfusão (3, 6, 9, 12, 18, 24, 48, 72, 96 e 120 h) também foram avaliados em outros 30 ratos submetidos à isquemia por 30 minutos.

Teshima et al. (2012) investigaram a ação renoprotetora da sinvastatina em modelo animal de isquemia/reperfusão e utilizaram ratos pesando entre 250

a 300 g, mediante clampeamento dos pedículos renais bilaterais, por igual período.

Ramalho et al. (2012) analisaram os efeitos da oxigenoterapia hiperbárica no rim em modelo animal de isquemia e reperfusão, mediante a oclusão dos pedículos renais bilaterais em 38 ratos Wistar machos, durante 45 minutos, seguido de 48 horas de reperfusão.

Tanaka et al. (2013) induziram a lesão renal aguda isquêmica em ratos machos e fêmeas, mediante clampeamento da artéria e veia renal esquerda por 45 e 60 minutos seguida de reperfusão, duas semanas após a nefrectomia contralateral.

Todorovic et al. (2014) com o objetivo de analisar os efeitos agudos de cloroquina (medicamento conhecido por seus efeitos antiinflamatórios, anticoagulante e ações vasculares), em modelo experimental de lesão de I/R, submeteram ratos a isquemia renal bilateral por 45 minutos seguido de reperfusão por quatro horas.

Si et al. (2014) realizaram trabalho experimental com o propósito de determinar o papel da dexmedetomidina em lesão renal I/R com ratos Wistar machos, submetidos a isquemia renal bilateral durante 45 minutos. A isquemia foi avaliada pela alteração da cor e o fluxo sanguíneo renal foi medido por Doppler antes e depois da isquemia às 0, 12, 24 e 48 h após a reperfusão.

Gonullu et al. (2014), compararam os efeitos da dexmedetomidina administrada em dois momentos diferentes para lesão de isquemia/reperfusão renal em 26 ratos machos adultos, Wistar, com peso 230-300 g, como modelo de IR renal, e induziram a isquemia renal por oclusão dos pedículos renais bilaterais por clampeamento durante 60 minutos seguida por reperfusão durante 24 horas.

Para Schrier et al. (2004) a IRA é um grande desafio da medicina clínica, pois na prática clínica apresenta altas taxas de morbidade e mortalidade. A insuficiência renal aguda (IRA) é definida como perda rápida da função renal, com elevação dos valores séricos de ureia e creatinina (KELLUM, 2008).

2.3 Insuficiência x Lesão Renal Aguda

Existem mais de 35 definições na literatura para IRA. O termo Lesão Renal Aguda tem sido sugerido em substituição a IRA por ser mais amplo e abranger desde pequenas alterações na função renal até mudanças que necessitam de terapia de substituição renal (TSR) (KELLUM et al., 2002). Na tentativa de normatização da definição e classificação da IRA a *Acute Dialysis Quality Initiative* (ADQI) desenvolveu o critério de RIFLE (*Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage*). Os três estágios de gravidade são baseados nas alterações da creatinina sérica ou no volume urinário, sendo considerados os piores resultados. Os dois critérios de evolução são definidos pela duração da perda de função renal (BELLOMO et al., 2004).

A IRA resulta na incapacidade em excretar compostos nitrogenados (MELCHERT et al., 2007; ROSS, 2009), acompanhada ou não da diminuição da diurese (COSTA et al., 2003) que ocorre quando a reserva renal, ou seja, a porcentagem de néfrons necessária para manter a função renal normal é perdida, isto é, dois terços a três quartos dos néfrons de ambos os rins param de funcionar (LUNN, 2011).

De acordo com Ross (2011) e Lunn (2011) a IRA possui quatro fases distintas: a iniciação, extensão, manutenção e a recuperação. Porém, nem sempre é possível distinguir clinicamente cada fase. A fase de iniciação começa com o insulto renal e continua até que haja alteração detectável da função renal. Nessa fase, as medidas terapêuticas que reduzem a agressão renal podem impedir o desenvolvimento e progressão da IRA. Na fase de extensão, o insulto renal inicial é ampliado pela inflamação mediada por citocinas e hipóxia renais contínuas que produzem lesão epitelial tubular e endotelial, fatos que levam a necrose ou apoptose celular. Alterações clínicas ou laboratoriais podem não ser evidentes durante as duas primeiras fases.

A fase de manutenção é caracterizada por lesões tubulares e o estabelecimento da disfunção dos néfrons. E, por último, a fase de recuperação, período de resolução das lesões e melhora da função renal (ROSS, 2011; LUNN, 2011). É importante evitar quaisquer outras injúrias renais durante a fase de recuperação (ROSS, 2009).

A IRA pode ser causada por desordens pré-renais que provocam redução da perfusão renal, desordens renais intrínsecas, como nefrotoxinas e doenças infecciosas parenquimais e desordens pós-renais como a obstrução do trato urinário (MELCHERT et al., 2007).

A IRA pré-renal é a etiologia mais comum e representa resposta fisiológica à hipoperfusão renal leve a moderada, onde não há defeito estrutural nos rins (NUNES et al., 2010) e sim falta de perfusão adequada no leito capilar renal, portanto é definida como IRA isquêmica. O diagnóstico precoce é extremamente importante, pois se a perfusão renal for restabelecida dentro de pouco tempo o quadro será reversível, caso contrário os danos isquêmicos provocam Necrose Tubular Aguda (NTA). Para preservar a circulação em órgãos vitais, como o cérebro e o coração, níveis elevados de norepinefrina e hormônio antidiurético provocam vasoconstrição e retenção de sódio, cloro e água, na tentativa de restabelecer o volume circulante efetivo (COSTA et al., 2003).

2.4 Avaliação Laboratorial da Lesão Renal

Os rins são susceptíveis aos efeitos da isquemia e de agentes tóxicos em decorrência das características anatômicas e fisiológicas únicas. O grande fluxo sanguíneo renal, aproximadamente 25% do débito cardíaco, resulta em maior afluência de tóxicos provenientes do sangue para os rins, quando comparado com outros órgãos (LUNN, 2011). O estudo da função e dos processos patológicos renais tem despertado o interesse de muitos pesquisadores, principalmente no campo do desenvolvimento de testes que auxiliem no diagnóstico precoce, na classificação da doença de base, na obtenção de prognóstico seguro e no monitoramento terapêutico medicamentoso (STEFFEN et al., 2010).

Para Sodré et al. (2007) a avaliação da função renal é um dos mais antigos desafios da medicina laboratorial.

2.4.1 Parâmetros Urinários

A análise laboratorial da urina é inquestionavelmente um importante exame não invasivo disponível para estudo das diferentes patologias renais. Quando bem executado e propriamente interpretado, o exame de urina auxilia no diagnóstico, tratamento e monitoramento de patologias que podem evoluir para insuficiência renal (GONÇALVES et al., 2007).

A função mais importante dos rins é a filtração glomerular. Através da ultrafiltração passiva do plasma pela membrana glomerular, o rim é capaz de regular a quantidade total de sal e água do organismo, assim como regular o equilíbrio eletrolítico e eliminar os produtos do metabolismo proteico (SHOSKES, 2007).

Existem determinadas condições fisiológicas e sinalizadoras, como exercícios e febre, que podem levar ao aumento da excreção de proteína na urina (FICHBACH, 2002; MOTTA, 2003). A urina normal, formada e excretada pelo sistema renal e trato urinário saudável, não contém proteína ou contém apenas vestígios desta (LIMA et al., 2001).

A avaliação da função renal apresenta dados impressionantes desde a filtração até a formação final da urina. A cada minuto esses órgãos recebem cerca de 1.200 a 1.500 mL de sangue, que são filtrados pelos glomérulos e geram 180 mL/min de um fluido praticamente livre de células e proteínas, e essa membrana biológica permite a passagem de moléculas de até 66 kDa (SODRÉ et al., 2007).

O rim, por ser um órgão compensatório, não mostra mudanças na proteinúria, ureia ou creatinina sérica, mesmo com 50% de perda da capacidade funcional. As alterações dos valores de ureia sanguínea e creatinina sérica ocorrem com a perda de dois terços da função renal. Devido a relativa insensibilidade dos testes clínicos tradicionais de avaliação da função renal para a detecção de injúria precoce ou função renal alterada, há um considerável interesse sobre potenciais biomarcadores de efeito precoce de injúria renal (GONÇALES et al., 2008).

Os túbulos proximal e distal, a alça de Henle e o ducto coletor se encarregam de reabsorver e secretar íons e outras substâncias, garantindo o equilíbrio homeostático, tudo isso regulado por uma série de hormônios, destacando-se o sistema renina-angiotensina-aldosterona e o hormônio antidiurético (ADH), além de outras substâncias, como o óxido nítrico (SODRÉ et al., 2007).

Mais de 20 biomarcadores de IRA foram estudados e são extremamente valiosos especialmente na lesão isquêmica, tanto experimentalmente como em cenários clínicos em que a isquemia é comum como na sepse, derivação cardiopulmonar, dentre outros (CULLEN et al., 2012).

Estudos mostram, devido à diversidade etiológica, um painel de biomarcadores para diagnosticar IRA que pode ser uma melhor estratégia do que usar um único biomarcador. No entanto, são necessárias análises de custo-benefício para se estabelecer um painel de biomarcadores com reduzidos custos extras (PERES et al., 2013). Um biomarcador de IRA ideal seria aquele que fosse facilmente mensurável, sem interferência de outras variáveis biológicas e capazes tanto de detectar precocemente uma lesão renal, quanto de estratificar seu risco (CULLEN et al., 2012).

Genericamente, os biomarcadores são ferramentas que podem fornecer alguma informação necessária, especialmente quando usado em conjunto com dados clínicos e laboratoriais (DE GRUTTOLA et al., 2001; MAGRO e VATTIMO, 2007). Um biomarcador deve consistir em indicador de processos biológicos, patogênicos ou resposta farmacológica para um tratamento terapêutico (DE GRUTTOLA et al., 2001).

Durante o curso da insuficiência renal, há elevações progressivas da ureia e creatinina e concentrações normais, ou muito próximas do normal, de Na, K, Ca, P com queda progressiva principalmente do bicarbonato plasmático, e queda do pH menos evidente. Com a progressão da doença, o P se eleva e Ca mostra tendência a reduzir. Outros exames bioquímicos podem sofrer alterações decorrentes do quadro etiológico da insuficiência renal (DRAIBE e CENDOROGLO, 2001).

A presença de quantidades elevadas de proteína na urina pode ser um indicador de doença renal, algumas vezes precede quaisquer outros sintomas clínicos (GONÇALVES et al., 2007). Assim, a proteinúria é um marcador de doença renal e constitui um fator de risco independente para a sua progressão. Aumentos ou decréscimos no valor de proteinúria (ou albuminúria) são importantes marcadores do prognóstico renal do paciente. Dessa forma, a pesquisa de proteinúria constitui um elemento importante no diagnóstico e no acompanhamento de pacientes com doença renal. A sua quantificação é importante também para o diagnóstico e indicação terapêutica. Quanto maior for a proteinúria mais rápida é a perda de função renal. Pode ser realizada em urina de 24 horas ou em amostra isolada corrigida por creatinina urinária (ALVES, 2004).

Para Kirsztajn (2009), a presença de proteinúria constitui fator preditor muito relevante de presença de nefropatia, se persistente e, conforme o tipo de proteinúria, intensidade e duração, pode evoluir para insuficiência renal crônica.

A mensuração da albumina urinária, por exemplo, permite uma detecção precoce do dano renal em situações onde, muitas vezes, os níveis séricos de creatinina permanecem inalterados, incluindo a nefropatia associada ao diabetes (STEFFEN et al., 2010). Uma vez presente, na ausência de infecção urinária ou outras anormalidades renais, a albuminúria expressa fator de risco de disfunção e lesão endotelial na macro e microcirculação. É dividida em três estágios evolutivos: microalbuminúria ou nefropatia incipiente ($EUA \leq 20\mu\text{g}/\text{min}$), macroalbuminúria ou nefropatia clínica ou proteinúria ($EUA \geq 20\mu\text{g}/\text{min}$ e $\leq 199\mu\text{g}/\text{min}$) e insuficiência renal terminal ($EUA \geq 200\mu\text{g}/\text{min}$) (LAGRANHA, 2007; RODRIGUES et al., 2009). A utilização clínica da microalbuminúria como marcador inicial de lesão renal começou na década de 1980, após o desenvolvimento de metodologias com melhor sensibilidade analítica para a dosagem de albumina (STEFFEN et al., 2010).

A triagem de lesões orgânicas pode ser feita por avaliação das enzimas específicas de determinados tecidos como a mensuração das enzimas liberadas na circulação pelas células lesionadas. A concentração das enzimas urinárias liberadas por células lesadas do epitélio tubular é sensível para detecção da lesão tubular precoce. O aumento da atividade das enzimas

urinárias é altamente específico de doença tubular renal. Estas enzimas também têm o potencial de determinar o local primário de dano renal porque seções diferentes do néfron têm um complemento característico de enzimas. Aumentos em enzimas, incluindo gama glutamiltransferase e fosfatase alcalina, foram associados com dano tubular proximal renal em cães (CLEMO, 1998).

As enzimas urinárias e as proteínas de baixo peso molecular (BPM) têm sido usadas como biomarcadores de lesão tubular, são úteis na detecção de pequenas alterações na função da célula epitelial tubular. O aumento da excreção urinária destes biomarcadores acontece precocemente e antes de alterações de marcadores renais clássicos e consagrados, tal como a creatinina plasmática (VIANNA, 2006).

Heiene et al. (2001) demonstraram que os marcadores de enzima urinária de dano renal, fosfatase alcalina, gama glutamiltransferase e N-acetil- β -glucosaminidase são utilizadas para avaliar o estado renal em cães com piometra e que altos valores das enzimas urinárias refletem frequentemente extensas lesões dos túbulos renais proximal.

Rivers et al. (1996) reportaram que o potencial de diagnóstico da gama glutamiltransferase (gGT) urinária e a relação com creatinina urinária foi avaliada em modelo experimental canino de nefrotoxicidade induzida com aminoglicosídeo e resultou em aumento duplicado dessa relação na urina quando associado clinicamente com nefrotoxicidade significativa.

A função renal de limpar, depurar, é conhecida como *clearance* de uma substância que seja livremente filtrada pelos glomérulos, que não se ligue às proteínas plasmáticas e que não seja secretada ou reabsorvida pelos túbulos renais é igual à filtração glomerular. Assim, a taxa de filtração glomerular pode ser aferida calculando-se o *clearance* de algum produto ou substância que se encontra no plasma e é filtrado pelo glomérulo. O *clearance* é interpretado como a quantidade de plasma que é purificado desta substância por unidade de tempo (RIELLA, 2003).

Algumas substâncias têm sido usadas para estimar a taxa de filtração glomerular, como a inulina, um polissacarídeo exógeno que é 100% filtrado no glomérulo (BERNARDI, 2007). Apesar de ser, a inulina, vista como marcador

ideal de filtração glomerular, seu uso não se destina à prática clínica (KIRSZTAIN, 2007). Outro método mais simples é a medida de substâncias plasmáticas que são marcadores de função renal, como o *clearance* de creatinina de 24h, é o método mais utilizado, por ser endógena e produzida de forma constante, e varia menos de 10% em cada indivíduo (BERNARDI, 2007).

A creatinina, ao contrário da ureia, é filtrada livremente no glomérulo e ativamente secretada em uma pequena parcela, mas o suficiente para superestimar a TFG. A quantidade secretada não é constante e depende do indivíduo e da concentração plasmática desse analito, dificultando sobremaneira a determinação de uma constante de secreção. Em termos gerais, 7%-10% da creatinina presente na urina é secretada (SODRÉ et al., 2007). Em geral, os exames laboratoriais que avaliam a função renal tentam estimar essa taxa que é uma das mais importantes ferramentas na análise da função renal; é também um indicador do número de néfrons funcionais. Como medida fisiológica, ela já provou ser o mais sensível e específico marcador de mudanças dessa função (SODRÉ et al., 2007).

Em relação à fração de excreção de sódio (FENa), Costa et al. (2003) afirmaram que esta, expressa a fração de sódio filtrado que escapa da reabsorção e, eventualmente, aparece na urina. Na IRA pré-renal, o rim está hipoperfundido; portanto, reabsorve ativamente sódio e a FENa é frequentemente baixa ($< 1\%$), e a concentração, geralmente, é menor que 20 mEq/L. Ao contrário, quando há lesão do parênquima ou IRA pós-renal, a FENa está usualmente $> 3\%$ e a concentração acima de 40 mEq/L. Infelizmente, há uma faixa de valores intermediários que, às vezes, não auxiliam no diagnóstico.

2.4.2 Parâmetros Bioquímicos

A determinação dos parâmetros bioquímicos fornece importantes informações em relação ao estado clínico do animal, balanço nutricional, situações deficitárias, monitorações de tratamentos e prognósticos (GONZÁLEZ et al., 2001). O exame bioquímico tem a finalidade de avaliar as

funções metabólicas desempenhadas pelos órgãos e tecidos, bem como evidenciar patologias ocultas (FELDMAN et al., 2000). Na prática clínica avaliam as funções renal, hepática, pancreática e cardíaca, bem como evidenciam alterações no equilíbrio hídrico, eletrolítico e de minerais e também determinam alterações no metabolismo endócrino e da atividade muscular (BERGONSO, 2007).

Os perfis bioquímicos do sangue têm sido utilizados extensivamente em medicina veterinária não somente para a avaliação clínica individual, mas também para avaliar populações de animais (GONZÁLEZ et al., 2001).

A ureia sérica é o principal metabólito nitrogenado derivado da degradação de proteínas pelo organismo, pois 90% excretados pelos rins e corresponde a aproximadamente 75% do nitrogênio não-proteico excretado. O restante da ureia é eliminado basicamente pelo trato gastrointestinal e pela pele, além de ser um fraco preditor da TFG, pois 40%-70% retornam para o plasma por um processo de difusão passiva, que é dependente do fluxo urinário (SODRÉ et al., 2007). Gerada no fígado, é também utilizada para avaliar funções renais uma vez que é a principal fonte de excreção do nitrogênio do organismo, principalmente pela urina. Sua produção e excreção são extremamente variáveis e dependem de fator como estado de hidratação, dieta e lesão tecidual, por isso não é um marcador definitivo de função renal isoladamente e deve ser analisada em conjunto com outros parâmetros (BERNARDI, 2007; BURTIS et al., 2008). A principal utilidade clínica da ureia parece estar na determinação em conjunto com a creatinina. A razão ureia sérica/creatinina sérica pode indicar estados patológicos diferentes (SODRÉ et al., 2007).

A creatinina plasmática é o marcador mais usado de função renal. Embora a creatinina seja produzida em uma taxa constante, existe uma variação de indivíduo para indivíduo (SHOSKES, 2007). É um produto nitrogenado não proteico, resultante do fosfato de creatina, existente em grande quantidade nos músculos (esquelético e cardíaco), fígado e rins, resultando na produção de fosfato inorgânico e creatinina, e esta é normalmente excretada pelos rins, principalmente por filtração glomerular (KERR, 2003; GUYTON e HALL, 2006). A transformação de creatina em

creatinina acontece no tecido muscular, no qual 1% - 2% da creatina livre se converte espontânea e irreversivelmente em creatinina todos os dias. Logo, a quantidade de creatinina produzida é dependente da massa muscular e não apresenta grandes variações diárias (SODRÉ et al., 2007).

O aumento da taxa de creatinina no sangue ocorre em todas as patologias renais em que há diminuição da filtração glomerular. A dosagem de creatinina deve ser realizada em paralelo com a de ureia para uma melhor avaliação da reversibilidade da lesão (KERR, 2003). Animais jovens apresentam concentrações mais baixas enquanto indivíduos adultos, de massa muscular desenvolvida, tendem a apresentar concentrações séricas mais elevadas (CHEW e CAROTHERS, 1989). A taxa absoluta vai depender da massa muscular a qual é influenciada pela idade, sexo e massa corpórea (SHOSKES, 2007).

Em geral, como parâmetro de referência para a função renal, a creatinina sérica deve ser considerada com certa cautela, uma vez que as concentrações não se alteram até que uma quantidade significativa da função renal já tenha sido perdida, quando já ocorreu um maior grau de lesão renal com redução de pelo menos 30% da TFG, o que significa que a lesão renal já estava presente ou ocorreu antes que a creatinina estivesse elevada. Mesmo assim, é o marcador sorológico padrão utilizado para detectar IRA, pois sua análise é muito barata e a molécula mostra boa estabilidade química na rotina clínica, apesar das marcantes limitações (PERES et al., 2013).

As proteínas totais são encontradas em todos os componentes celulares, pois são fundamentais na estrutura e funções celulares. Elas sofrem alterações de importância clínica, principalmente nos processos inflamatórios (bacterianos e imunológicos), parasitários e metabólicos (RAVEL, 1995).

A degradação das proteínas inicia-se com o processo de proteólise que, na maioria das vezes, é mediado enzimaticamente. Várias enzimas têm a capacidade de degradar as proteínas, algumas delas com ações bem específicas, outras agindo em sítios comuns a todas as proteínas. Após a lise das proteínas em aminoácidos, a biossíntese da ureia se dá exclusivamente em processo hepático intracelular, no qual o nitrogênio contido no aminoácido é convertido em ureia por um ciclo enzimático (SODRÉ et al., 2007).

A enzima alanina aminotransferase (ALT) é encontrada abundantemente no fígado, em quantidades moderadas no rim e em pequenas quantidades no coração e na musculatura esquelética. Sua origem é predominantemente plasmática, o que faz com que se eleve rapidamente após a lesão hepática (SCHUMANN, 2002). A enzima aspartato aminotransferase (AST) é encontrada em diversos órgãos e tecidos, incluindo coração, fígado, músculo esquelético e eritrócitos. A sua avaliação mede as respostas às alterações anatômicas ou bioquímicas do fígado (YEN et al., 2005). Está presente no citoplasma e mitocôndrias, portanto sua elevação indica um comprometimento celular mais profundo (SCHUMANN, 2002). Em pequenos animais, o aumento desta enzima é verificado em situações de desordens inflamatórias e degenerativas da musculatura esquelética, bem como em cardiomiopatias, por exemplo, isquemia, congestão, necrose, neoplasia, trauma (COLES, 1986).

A fosfatase alcalina (FAL) é composta por um grupo de isoenzimas associadas à membrana, localizada em vários tecidos, mas somente dois são importantes para o diagnóstico, o tecido ósseo e hepatobiliar. Estão presentes no fígado (células epiteliais do ducto biliar), ossos (osteoblastos), intestinos, rins e placenta. Com exceção dos animais em crescimento ou pacientes com doença óssea, a atividade sérica elevada de fosfatase alcalina tem origem hepatobiliar, principalmente devido a colestase e necrose por obstrução biliar intra-hepática (FELDMAN et al., 2000).

A enzima gama glutamiltransferase (gGT) está presente no fígado (epitélio biliar e hepatócitos), pâncreas e rins (CARVALHO et al., 2011). Apesar de muito sensível para doença hepatobiliar, é pouco específica (FELDMAN et al., 2000).

2.4.3 Parâmetros Hematológicos

A hematologia básica envolve a análise da concentração, estrutura e funções dos elementos que compõem o sangue e seus produtos. Dentre os três maiores componentes do sangue estão glóbulos vermelhos (eritrócitos,

hemácias), glóbulos brancos (leucócitos) e plaquetas (trombócitos) (LEWIS et al., 2006).

O hemograma reflete o momento da sua coleta. Quando analisamos as alterações nos leucócitos, percebemos que analisamos a produção, liberação e o trânsito destas células; sempre será um dado complementar a interpretação clínica, muito útil quando adequadamente realizado e corretamente interpretado (HOKAMA e MACHADO, 1997).

Os parâmetros hematológicos são utilizados como biomarcadores, uma vez que podem sugerir lesões em outros órgãos ou tecidos e ainda, por auxiliarem na criação animal, dado que as alterações neste perfil podem indicar infestações e infecções ou até mesmo mudanças ambientais, auxiliando nos diagnósticos (SHAHSAVANI et al., 2010).

Para Troiano et al. (2008) a caracterização correta destes parâmetros como valores de referência deve considerar algumas características próprias da espécie como sexo, linhagem, idade, genótipo, condições de saúde, estresse, dentre outros. O conhecimento dos valores sanguíneos referentes a parâmetros hematológicos e bioquímicos, segundo Almeida et al. (2008), possibilita a caracterização adequada do perfil de cada espécie e suas variações genéticas.

Por meio da comparação destes parâmetros obtidos de um indivíduo ou de um grupo de indivíduos com o perfil estabelecido, é possível diagnosticar doenças no início do processo, mesmo antes do aparecimento dos sinais clínicos das mesmas. Desta forma, as condições de saúde e bem-estar dos animais são atestadas e permitem a obtenção de resultados científicos mais consistentes e confiáveis. Neste contexto, a caracterização desses parâmetros permite correta validação dos experimentos (TROIANO et al., 2008).

A massa de glóbulos vermelhos do sangue é mensurada por meio de três parâmetros: número de glóbulos vermelhos (Hm), percentual de hematócrito (Ht) e valor de hemoglobina (Hb) (HEDRICH, 2004). A relação entre os parâmetros da série vermelha pode ser obtida pela análise dos índices hematimétricos - volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) que

irão fornecer informações adicionais sobre as hemácias e hemoglobina (BAIN, 2006). Sua principal função é o transporte de oxigênio aos tecidos e, toda a energia acumulada é direcionada à manutenção da forma das células, da estrutura das membranas, das funções enzimáticas, da redução do ferro na hemoglobina, dentre outras (HOFFBRAND, 2001). Os eritrócitos maduros de ratos são arredondados, anucleados, com discos centrais bicôncavos, diâmetro médio em adultos entre 5 e 7 μm , espessura de 2,1 a 2,13 μm e volume variando entre 40 e 50 fL (WEISS e WARDROP, 2010).

A hemoglobina é o principal componente dos eritrócitos e tem como função o transporte de oxigênio (O_2) dos pulmões aos tecidos e o retorno do dióxido de carbono (CO_2) para os pulmões. É responsável também pelo transporte de elétrons. A concentração de hemoglobina é mensurada pelo volume total da mesma nos eritrócitos e todas as suas formas, funcionais ou não, são incluídas na determinação (TURGEON, 2005).

A hemoglobina corpuscular média (HCM) corresponde à média da quantidade de hemoglobina em cada eritrócito. Por sua vez a concentração da hemoglobina corpuscular média (CHCM) mensura a concentração de hemoglobina nos eritrócitos (WEISS e WARDROP, 2010). O volume corpuscular médio (VCM) avalia a média do tamanho (volume) das hemácias, que podem estar em seu tamanho normal (normocíticas), diminuídas (microcíticas) ou aumentadas (macrocíticas). O hematócrito é mensurado por meio do percentual relativo das hemácias no volume de sangue total (BAIN, 2006).

Segundo Monteiro et al. (2009), o termo anisocitose indica o grau de variação do tamanho dos eritrócitos observado ao microscópio. Essa expressão é observada no hemograma automatizado por meio de dois parâmetros: RDW-CV (Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos, medido como Coeficiente de Variação) e RDW-SD (o mesmo medido como Desvio Padrão), que são calculados a partir do volume corpuscular médio (VCM), que representa a média do tamanho dos eritrócitos. Juntos, os dois parâmetros RDW e o VCM podem auxiliar no diagnóstico diferencial de diversas enfermidades, em especial nas anemias.

A amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW) representa, no hemograma automatizado, a presença de anisocitose ou variação do tamanho dos eritrócitos, que pode ocorrer por causas variadas, desde anemias até a presença de doenças crônicas, leucemias e uso de medicamentos. O índice RDW tem sido utilizado como ferramenta complementar no diagnóstico de alguns tipos de anemias microcíticas (ALMEIDA et al., 2006).

Os hemogramas automatizados avaliam a média do tamanho dos eritrócitos (VCM) através da impedância, impulsos elétricos emitidos pela passagem de cada célula individualmente em um fluxo, cuja intensidade é proporcional ao tamanho das células. Esses pulsos elétricos são posteriormente, convertidos em fentolitros (fL). O RDW é então calculado como coeficiente de variação em relação à média do tamanho dos eritrócitos (VCM). Adicionalmente, o RDW-SD é calculado pela média dos tamanhos dos eritrócitos distribuídos até 20% acima da base do histograma, do eritrograma automatizado, onde se localizam todos os tamanhos de hemácias que foram avaliados; logo, é na base do histograma que se encontra a maior variação do tamanho dos eritrócitos (VILLAS BOAS et al., 2003).

Os dois índices RDW são dados matemáticos e estatísticos que contribuem de forma complementar a avaliação do VCM, por serem mais precisos e menos subjetivos quando comparados às observações microscópicas de anisocitose (NASCIMENTO, 2003).

Dentre os índices hematimétricos, o VCM (Volume Corpuscular Médio) ainda é o mais largamente utilizado na avaliação das anemias, associado à análise das alterações morfológicas das hemácias, que também pode fornecer subsídios interessantes no reconhecimento de diversos tipos de anemia (GROTTO, 2009).

Os leucócitos são as principais células sanguíneas envolvidas na resposta inflamatória, embora plaquetas e eritrócitos também participem. São classificados em neutrófilos (40%-75%), linfócitos (20%- 50%), monócitos (2%-10%), eosinófilos (1%-6%) e basófilos (<1%). Destes, os neutrófilos são os mais importantes na patogênese da inflamação. São as células predominantes nas primeiras 6 a 24 horas nas inflamações agudas. Medem de 12 a 18

micrômetros, duram de 7-10 horas na circulação e sofrem apoptose em 24 horas (FERREIRA et al., 2012).

Os leucócitos (Leuc) participam dos processos imunes e inflamatórios e sua quantificação em roedores inclui a contagem total e diferencial. Geralmente sua contagem está entre 2 e $10 \times 10^3/\text{mm}^3$. Os principais tipos de leucócitos avaliados durante a contagem diferencial são linfócitos, neutrófilos, monócitos, eosinófilos e basófilos (HEDRICH, 2004; WEISS e WARDROP, 2010).

Os neutrófilos (Neut) apresentam a primeira linha de defesa contra a invasão de microrganismos, trauma nos tecidos ou algum sinal inflamatório como fagócitos circulantes e moduladores da resposta imune. Eles têm como mecanismo básico de ação a fagocitose e posterior destruição dos agentes estranhos via mecanismos enzimáticos ou dependentes de oxigênio (SOUZA et al., 2006). Juntamente com os macrófagos atuam de forma eficaz na ligação entre a resposta imune inata e adaptativa (SCOTT e KRAUSS, 2011).

Os eosinófilos (Eo) são células mediadoras da patogênese de muitos processos inflamatórios juntamente com os basófilos, incluindo as infecções por helmintos e doenças alérgicas. Em resposta a estes diversos estímulos, os eosinófilos são recrutados da circulação para o foco da inflamação, onde modulam as respostas imunes por meio de uma série de mecanismos importantes na imunidade inata e também adaptativa (ROTHENBERG, 2006).

Os basófilos (Baso) são células idênticas aos mastócitos com relação à composição e função; no entanto, funcionam de forma independente e são distintas imunofenotipicamente umas das outras, bem como de outras células hematopoiéticas. São granulócitos polimorfonucleados que produzem citocinas em defesa contra parasitos e também são responsáveis pela inflamação alérgica mediada pela imunoglobulina IgE (ABBAS et al., 2008).

Os monócitos (Mono) juntamente com os macrófagos livres e fixados nos tecidos e suas células progenitoras na medula óssea compõem os fagócitos mononucleares. Estas células são responsáveis pela fagocitose e destruição de bactérias. A aderência dos monócitos à superfície bacteriana é a primeira etapa da ativação dessas células e início da resposta imunológica. Monócitos de camundongos são similares aos de outras espécies e possuem

núcleo pleomórfico, pode ser arredondado, recortado ou lobular e citoplasma extenso, frequentemente contendo vacúolos (BRANDT et al., 2003).

As plaquetas (PLT) estão diretamente envolvidas em diversas patologias importantes, sejam estas síndromes ou quadros trombóticos graves como a trombose arterial (CASTRO et al., 2006). São células fragmentadas, anucleadas, derivadas do citoplasma de megacariócitos. Além da função hemostática, também possuem importante papel na manutenção da integridade do endotélio, por meio da liberação de citocinas pró-angiogênicas e fatores de crescimento (KAPLAN e JACKSON, 2011).

O processo de I/R tem efeito imediato na microcirculação. Os efeitos iniciais incluem ativação de plaquetas, ativação de células endoteliais e ativação de células da musculatura lisa endotelial. As plaquetas ativadas se aderem entre si e liberam mediadores pró-coagulantes levando a vasoconstrição e trombose dos pequenos vasos (BERNARDI, 2007).

2.5 Histopatologia

As lesões de isquemia e reperfusão culminam em diversos efeitos deletérios para os mais diferentes tipos de órgãos, mas, contraditoriamente, é a reperfusão a grande responsável pelas principais lesões nas células do órgão isquemiado (BRITO et al., 2005; CAZARIN e SARIDAKIS, 2007). Francischetti et al. (2010) em revisão retrospectiva realizada do período de 2000 a 2010, descreveram que os eventos de isquemia-reperfusão desencadeiam resposta inflamatória sistêmica que pode levar a lesões celulares e até falência de órgãos.

Neste contexto, o exame histopatológico é essencial para o diagnóstico definitivo da doença. Permite conhecer a morfologia e a fisiologia do órgão, e pode-se somar tal conhecimento com outras informações obtidas para definir o diagnóstico (CARVALHO et al., 2010).

A aplicabilidade e a viabilidade dos modelos de isquemia/reperfusão com oclusão temporária da artéria renal (ARAÚJO et al., 2002; HEYMAN et al.,

2010) são resultantes da similaridade da resposta inflamatória, congestão medular e lesão tubular apresentada quando comparados com dados obtidos por meio de biópsia renal em pacientes com LRA (HEYMAN et al., 2010).

A resposta do rim à isquemia é heterogênea, pois os efeitos são observados inicialmente nas regiões mais vulneráveis à hipóxia (BONVENTRE e ZUK, 2004). O que se poderia esperar após a lesão isquêmica de algum órgão é que, com o restabelecimento do fluxo sanguíneo, pela reperfusão (BRODSKY, 2002; MOLITORIS, 2004) e a adequada oxigenação dos tecidos, o dano fosse interrompido ou minimizado. As análises de estudos demonstraram que, no momento da reperfusão, pode haver uma extensão da lesão tecidual com início de uma série de mecanismos deletérios ao tecido adjacente (BONVENTRE e ZUK, 2004; MOLITORIS, 2004; BRITO et al., 2005).

A lesão tubular pode ser reversível se a membrana basal tubular estiver intacta e se células epiteliais viáveis estiverem presentes. Embora não possam ser produzidos novos néfrons e aqueles irreversivelmente lesados também não possam ser reparados, a hipertrofia funcional e morfológica dos néfrons sobreviventes frequentemente pode compensar de forma adequada essa redução do número de néfrons. Mesmo que a recuperação da função renal seja incompleta, o funcionamento adequado pode ser restabelecido (GRAUER, 2001).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Caracterizar um modelo animal de doença renal por meio de clampeamento venoso e arterial, unilateral por dez minutos, como indutor da lesão produzida por isquemia, descrevendo as alterações laboratoriais relacionadas à bioquímica urinária, sérica e hematologia, às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após reperfusão

3.2 Objetivos Específicos

Avaliar a isquemia de 10 minutos, seguida de reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias e comparar as alterações laboratoriais com o grupo controle, por meio dos:

- Parâmetros urinários para a glicose urinária, proteína urinária (PrU), creatinina urinária (CrU), atividade urinária da Fosfatase alcalina (FAU) e Gama glutamiltransferase (gGTU), exame químico e sedimentoscopia da urina tipo I e histopatologia
- Parâmetros bioquímicos séricos, da atividade enzimática no soro e dos parâmetros hematológicos.

4 METODOLOGIA

4.1 Comissão de Ética no Uso de Animais

O projeto foi aprovado no Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul e aprovado sob o protocolo CEUA/UFMS número 358/2011 (anexo, pág. 107).

4.2 Formação dos Grupos Experimentais

Foram utilizados 16 ratos (*Rattus norvegicus*), linhagem WISTAR de padrão convencional, provenientes do Biotério Central-UT do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos: Controle (C) e Experimental-I/R (E), e subdivididos em fêmeas (f) e machos (m), conforme Tab. 1.

Tabela 1 – Formação dos grupos Controle e Experimental-I/R

Grupos			
Controle (C) (n=8)		Experimental - I/R (E) (n=8)	
Machos (Cm) (60 dias) n= 4	Fêmeas (Cf) (60 dias) n= 4	Machos (Em) (60 dias) n= 4	Fêmeas (Ef) (60 dias) n= 4

I/R – isquemia e reperfusão, n – número de animais.

Cada animal foi avaliado dos 60 aos 81 dias de idade, em cinco momentos após o procedimento de isquemia e reperfusão experimental: 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.

Os animais foram distribuídos em gaiolas de polipropileno medindo 49x34x16 cm, com cama de maravalha. De acordo com a divisão acima, cada gaiola manteve quatro animais, até o momento do procedimento cirúrgico no grupo Experimental-I/R e/ou para as coletas de sangue e urina, nos dois

grupos (Controle e Experimental-I/R), momentos em que todos os animais foram transferidos para gaiolas metabólicas individuais, para coleta da urina de 24 horas, com jejum alimentar de 12 horas.

Todos os animais foram mantidos em estantes ventiladas com controle de temperatura e umidade, mediante uso de termohigrômetro. O fotoperíodo foi controlado mediante uso de timer, respeitando o ciclo diário dos roedores de 12 horas/dia e 12 horas/noite. Para cada caixa foi fornecida ração comercial balanceada CR-1 Nuvital/Nuvilab, própria para a espécie, e água “*ad libitum*” sem horário de jejum alimentar ou hídrico, para obtenção de amostra sanguínea.

Os animais foram pesados antes do início de cada procedimento, em balança eletrônica, de três dígitos da marca Gehaka®.

Após o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos no setor de experimentação do Biotério Central-UT do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal do Mato Grosso do SUL (UFMS).

Toda a rotina de higienização do macro e microambiente, a manutenção dos animais, assim como todos os procedimentos experimentais realizados nos diferentes momentos obedeceram aos procedimentos operacionais padronizados e estabelecidos pelo Biotério Central-UT/ CCBS/ UFMS, os quais estão de acordo com a Lei n.º 11.794, de 8 de outubro de 2008, as instruções normativas do Conselho Nacional de Experimentação Animal - CONCEA e a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos - DBCA.

4.3 Procedimentos Realizados

4.3.1 Anestesia

Como protocolo anestésico utilizou-se a associação de Quetamina 10,0 mg/Kg e Xilazina 2,0 mg/Kg, por via intramuscular, com seringa descartável de 1mL e agulha de 26 x 6mm. Os animais do grupo controle receberam a mesma anestesia para a obtenção de material biológico. Os animais do grupo

experimental-I/R foram submetidos a tricotomia da região do flanco lateral esquerdo com lâmina de barbear, para possibilitar o acesso cirúrgico.

4.3.2 Cirurgia: Isquemia e Reperfusão Renal

Foi realizada sob a técnica cirúrgica asséptica a laparotomia pelo flanco esquerdo, para acesso do rim esquerdo em quatro machos e quatro fêmeas do grupo Experimental-I/R. Após localização do mesmo, foi exteriorizado para o afastamento da gordura perirenal e isolamento do pedículo para o clampeamento da artéria e veia renal com pinças não traumáticas, com intuito de minimizar ou impedir a lesão da camada adventícia da artéria renal. O clampeamento foi mantido por 10 minutos e a isquemia verificada visualmente pela mudança na cor do rim. Transcorridos os 10 minutos, a reperfusão foi iniciada e confirmada, também visualmente, pelo retorno da coloração inicial do órgão. Após a verificação da hemostasia, o rim foi realocado e logo após, feito o fechamento por planos da laparotomia com fio mononylon 4.0. Os animais foram monitorados individualmente até recuperação da anestesia, quando começaram a apresentar comportamento normal em relação à locomoção e alimentação.

4.3.3 Coleta das Amostras e Análises Laboratoriais

Para cada momento experimental (24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias) os animais do grupo controle que não foram submetidos à cirurgia e os animais do grupo experimental-I/R, após o procedimento cirúrgico de isquemia e reperfusão realizou-se coleta de sangue, sob anestesia para a realização das análises laboratoriais: bioquímicas urinárias (8 analitos), urinálise (19 analitos), bioquímicas séricas (16 analitos), hematológicas (15 analitos), avaliação histopatológica dos rins, cálculos das excreções de fração de sódio, potássio e ureia (3 analitos), do fluxo urinário (1) e *clearance* de creatinina (1), além dos cálculos das médias das relações proteína urinária (mg/dL) e creatinina urinária (mg/dL), sódio sérico (mEq/L) e potássio sérico (mmol/L) e gGT sérica (U/L) e creatinina sérica (mg/dL). Assim, excluindo as relações, foram realizados 294 exames individuais totalizando para os 16 ratos (Controle e Experimento-I/R)

4720 exames tabulados e analisados estatisticamente. O quadro abaixo resume as análises realizadas de acordo com os momentos:

Tabela 2 – Quantitativo das análises laboratoriais realizadas para a avaliação do procedimento de I/R, nos diferentes momentos, no grupo Controle e Experimento–I/R

Análises Laboratoriais / Momentos								
Hematologia (15 analitos)	Bioquímica Sérica (16 analitos)	Bioquímica Urinária (8analitos)	Urinálise (19 analitos)	Frações de Excreção de Sódio, Potássio e Ureia	Fluxo Urinário e Clearance de creatinina	Necropsia Análise macroscópi ca dos RINS	Histopato logia	Nº analitos avaliados / animal
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
24 horas								58
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
5 dias								58
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
7 dias								58
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
14 dias								58
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
21 dias								62
Total de Analitos / animal								294
Total de analitos tabulados e analisados								4720

4.3.3.1 Coleta de Urina

Para a coleta de urina, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas individuais. Após jejum de 12 horas, os animais permaneceram por mais 24 horas em gaiolas metabólicas para a obtenção dessa amostra e em cada momento experimental semanalmente aos 7, 14 e 21 dias e após o procedimento experimental de isquemia/reperfusão. Todas as amostras foram devidamente identificadas.

4.3.3.1.1 Urinálise

Após a coleta da urina foi realizada a urinálise, onde 10 mL da amostra (quando possível) foram centrifugadas em tubos cônicos graduados a 2.000 rpm, por dez minutos em centrífuga de tubo (Fanen®). O sobrenadante obtido foi utilizado para o exame físico e para as dosagens bioquímicas. O sedimento com quantidade aproximada de 0,3 mL de urina foi analisado em microscopia de luz, no microscópio da marca Olympus®CX 41 e objetiva de 40x para a contagem dos elementos figurados.

Foram utilizadas tiras reagentes Combur-Test da marca Roche® para as determinações do pH, nitrito, proteína, glicose, corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina, hemácias e hemoglobina, os quais foram relacionados de forma semiquantitativa, tanto nos grupos controle e experimental-I/R, nos diferentes momentos. Para a densidade foi utilizada a técnica de refratometria com refratômetro Atago.

4.3.3.1.2 Bioquímica Urinária

Após as urinas serem descongeladas à temperatura ambiente, as análises bioquímicas urinárias foram realizadas com os Kits Labtest® de bioquímica no aparelho da marca Bioplus 2000®. Foram avaliados os parâmetros: proteína (PU), ureia (UrU) creatinina (CrU), glicose (GliU), sódio (NaU), potássio (KU), fosfatase alcalina (FAU), gama-glutamyltransferase (gGTU).

A atividade enzimática na urina da fosfatase alcalina (FAU) e Gama Glutamyltransferase (gGTU) foi determinada com os Kits comercial, de acordo com Hennemann et al. (1997); Clemo (1998) e Borges et al. (2013).

Clearance de Creatinina

A filtração glomerular foi avaliada por meio do *clearance* de creatinina (Clcr), a partir da dosagem das creatininas séricas e urinárias. O *clearance* de

creatinina foi calculado pela fórmula a seguir e os valores foram expressos em ml/min: $Cl_{cr} = \text{creatinina urinária (mg/dL)} \times \text{fluxo urinário (mL/min)} / \text{creatinina plasmática (mg/dL)}$

Fluxo urinário

O fluxo urinário foi calculado dividindo-se o valor do volume urinário (24 horas) por 1440, que corresponde aos minutos em 24 horas (60 min x 24h = 1.440): **Fluxo Urinário (ml/min) = Valor volume urinário (24h) / 1.440**

Cálculo das Frações de Excreção

Em razão de divergências observadas nas fórmulas dos artigos de referência, optou-se por utilizar o site da Sociedade de Terapia Intensiva do Estado do Rio de Janeiro: <http://www.sotierj.org.br/WebSite/Site/Calculos>

- Excreção Fracionada de Sódio (FENa)

Para cálculo da Fração de Excreção de Sódio (FENa), foram utilizados os valores das seguintes variáveis: Sódio urinário (mEq/L), Sódio sérico (mEq/L), Creatinina urinária (mg/dL) e creatinina sérica (mg/dL).

FENa (%) = (Sódio Urinário / Sódio Sérico) / (Creatinina Urinária / Creatinina Sérica) X 100

- Excreção Fracionada de Potássio

Para cálculo da Fração de Excreção de Potássio (FEK), foram utilizados os valores das seguintes variáveis: Potássio urinário (mEq/L), Potássio sérico (mEq/L), Creatinina urinária (mg/dL) e creatinina sérica (mg/dL).

FEK (%) = (Potássio urinário / Potássio sérico) / (Creatinina urinária / Creatinina sérica) X 100

- Excreção Fracionada de Ureia

Para o cálculo da Fração de Excreção da Ureia (FEUr), foram utilizados os valores das seguintes variáveis: Ureia urinária (mEq/L), Ureia sérica (mEq/L), Creatinina urinária (mg/dL) e Creatinina sérica (mg/dL).

$FEUr (\%) = [(Ureia\ urinária / Ureia\ Sérica) / (Creatinina\ urinária / Creatinina\ sérica)] \times 100$

Relação Proteína urinária / Creatinina urinária

A relação proteína urinária (mg/dL) e creatinina urinária (mg/dL) foi calculada mediante a divisão do valor da proteína urinária pelo valor da creatinina urinária nos momentos 24 horas, 5,7,14 e 21 dias.

4.3.3.2 Obtenção de Amostra de Sangue

As amostras de sangue foram coletadas 24 horas pós-procedimento experimental de isquemia por 10 minutos e semanalmente aos sete, 14 e 21 dias após a reperfusão. Os animais do grupo experimental-I/R e do grupo controle, foram contidos e sedados com associação de Xilazina e Quetamina e, após pesagem, 1,0 mL de sangue foi retirado do plexo retrorbital, com o auxílio de um tubo capilar de micro hematócrito.

Do volume total de sangue de cada amostra, 0,5 mL foram destinados à realização de hemograma, e colocadas em microtubo para centrífuga com capacidade de 0,5 mL, contendo 1,2 mg/mL de anticoagulante EDTA K3. Os outros 0,5 mL foram destinados à realização da bioquímica sérica, e acondicionados em tubos para centrífuga sem anticoagulante e com gel acelerador, para obtenção do soro.

As amostras referentes à hematologia foram encaminhadas imediatamente para o laboratório. As amostras destinadas à realização da bioquímica sérica foram submetidas a processo de centrifugação a 2000 rpm (centrífuga FANEN®) durante 10 minutos. Após a separação do soro, as amostras foram congeladas a -20°C, até a realização dos exames, quando foram descongeladas à temperatura ambiente.

4.3.3.2.1 Hematologia

Os parâmetros leucócitos totais (Lt), hemácias (Hm), hematócrito (Ht), hemoglobina (Hb), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), plaquetas (PLT), RDW-SD, RDW-CV, volume médio de plaquetas (VMP), neutrófilos (Neut), linfócitos (Linf), monócitos (Mono), eosinófilos (Eo), basófilos (Baso) foram quantificados com o aparelho da marca Sysmex XE 2100 do Laboratório de Análises Clínicas/ NHU/ UFMS que utiliza a tecnologia de citometria de fluxo fluorescente com laser semiconductor e foco hidrodinâmico.

A contagem diferencial de leucócitos foi realizada em lâminas de 26 x 76 mm e corada pelo método rápido Panótico, da marca Laborclin®. Para observação dos elementos figurados do sangue como o microscópio óptico, marca Olympus®CX 41 em objetiva de imersão, do Laboratório de Controle Sanitário do Biotério Central-UT/ CCBS.

4.3.3.2.2 Bioquímica sérica

Os analitos séricos - albumina (Alb), proteína sérica (Ps), globulina (Glob), relação albumina globulina (A:G), ureia (Ur), creatinina (Cr), glicose (Gli), sódio (Na), potássio (K), fosfatase alcalina (FAL), gama-glutamyltransferase (gGT), alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST) colesterol (Col), triglicérides (Trig) - foram quantificados no aparelho de bioquímica da marca Cobas® Integras 400, do Laboratório de Análises Clínicas/ NHU/ UFMS. O aparelho possui Kits específicos para o seu funcionamento e tem a capacidade para 90 tubos de cada vez (seis racks de 15) e a necessidade mínima de 100 µL de soro. Como princípio utiliza a tecnologia de citometria de fluxo fluorescente com laser semiconductor e foco hidrodinâmico. Sistema randômico de acesso contínuo com amostra seletiva e integração de quatro princípios de leitura como absorbância, turbidimetria, fluorescência polarizada e ISE para eletrólitos.

4.4 Eutanásia

Ao término da avaliação dos cinco momentos (21 dias), os animais foram submetidos a eutanásia com injeção na dose letal do barbitúrico tiopental sódico por via Intraperitoneal na dose de 150 mg/kg.

4.5 Análise Histopatológica

Após a eutanásia dos animais, ambos os rins foram retirados para pesagem e medição (comprimento e largura). Os rins foram encaminhados para processamento histológico e coloração pela técnica de Hematoxilina Eosina (HE), do Laboratório de Histologia do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/ UFMS.

As leituras das lâminas foram realizadas no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal do Espírito Santo-UFES. As lâminas histológicas foram avaliadas com microscópio de luz Nikon Eclipse E 200. As análises das lâminas foram utilizadas para constatar a presença ou ausência de lesões renais e alterações características de lesão renal.

Para a avaliação histopatológica de todos os rins do grupo experimental-I/R, foram consideradas as alterações microscópicas renais encontradas, de acordo com o estudo de Togoe et al. (2014), em que consta na tabela de distribuição percentual com as seguintes alterações: congestão, Infiltrado linfoplasmocitário, degeneração tubular discreta e degeneração tubular moderada, aumento do espaço de Bowmann, retração glomerular, repleção dos capilares glomerulares, atrofia glomerular e fibrose.

4.6 Análise Estatística

Neste estudo, a avaliação da distribuição normal das amostras de dados foi realizada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Como a maior parte das variáveis passou no teste de normalidade ($p > 0,05$), optou-se pelo uso de testes paramétricos para a comparação entre as amostras de dados. A comparação entre sexos, em cada um dos grupos experimentais, em cada momento de

análise, foi realizada por meio do teste t-student. O mesmo teste foi utilizado na comparação entre os grupos experimentais (grupo Controle e Experimental-I/R), em cada sexo e em cada momento de análise. A comparação entre os momentos de análise, em ambos os grupos experimentais e em ambos os sexos foi realizada por meio do teste ANOVA de uma via de medidas repetitivas, seguido pelo pós-teste de Tukey. Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva e na forma de tabelas ou gráficos. A análise estatística foi realizada utilizando-se o “Software” SigmaPlot, versão 12.0, considerando um nível de significância de 5%.

Os dados apresentados neste estudo foram expressos em média e erro padrão da média.

5 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os valores obtidos para os parâmetros bioquímicos urinários estão descritos nas Tab. 8 e 9 (Apêndice F e G, respectivamente) e serão discutidos aqueles que apresentaram diferença estatística e que caracterizaram o modelo animal de doença renal.

5.1 Fosfatase alcalina urinária

Os valores da atividade urinária da fosfatase alcalina aumentaram após a I/R em ambos os sexos (teste ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), mais evidente às 24 horas e 5 dias (Tukey, $p < 0,05$). No grupo controle, para ambos os sexos, não houve alteração da atividade da fosfatase urinária, em nenhum dos momentos avaliados ($p > 0,05$), conforme Fig. 1.

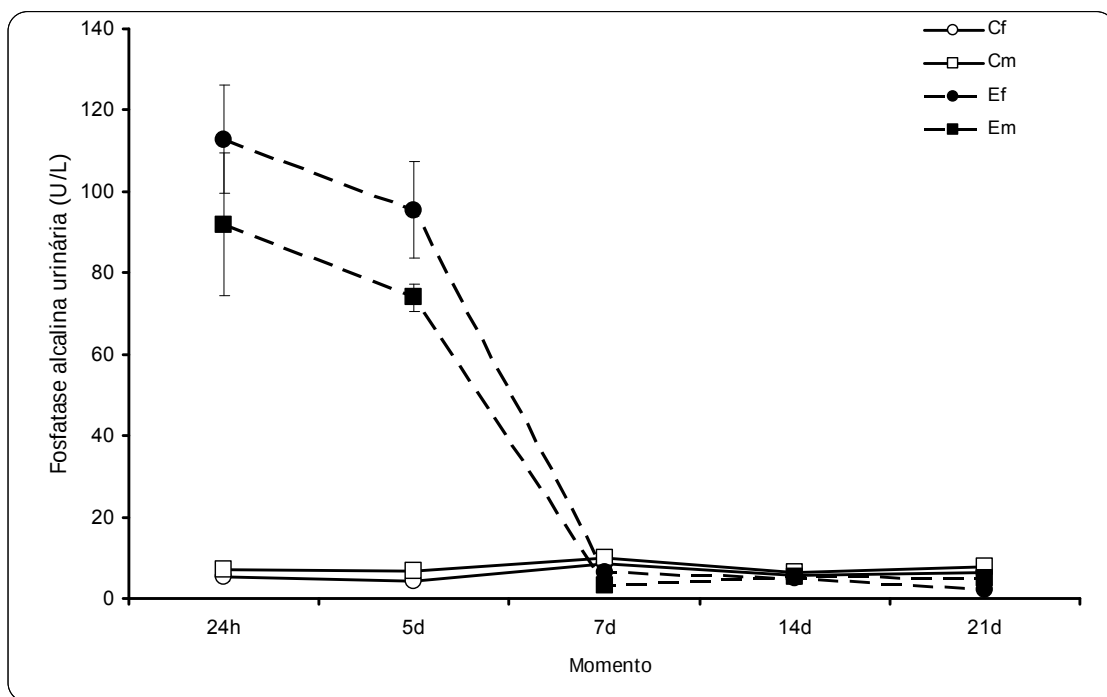


Figura 1: Valores Médios e Erro Padrão da Fosfatase Alcalina urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

O grupo experimental (EF e EM) apresentou aumento na atividade urinária de FAL já às 24 horas após a I/R. Os valores foram reduzindo até o

sétimo dia quando se igualaram aos valores dos animais controle (CF e CM), o que concorda com Clemon (1998) para quem a concentração das enzimas urinárias liberadas por células lesadas do epitélio tubular é sensível para detecção da lesão tubular precoce e têm o potencial de determinar o local primário de dano renal como a gama glutamiltransferase e fosfatase alcalina, que foram associados com dano tubular proximal renal em cães. Palacio et al. (1997) acreditam que dosagem de enzima na urina sejam testes mais sensíveis e fidedignos para avaliar dano renal, já que aumentam sua concentração na urina mais cedo que as concentrações de creatinina e ureia sérica. Heiene et al. (2001) relatam que altos valores dessas enzimas urinárias refletem frequentemente extensas lesões e, Vianna (2006) descreve que estas enzimas devem ser usadas como biomarcadores de lesão tubular, pois são úteis em detectar pequenas alterações na função da célula epitelial tubular. O aumento da excreção urinária destes biomarcadores acontece precocemente e muito antes de alterações de marcadores renais clássicos e consagrados, como a creatinina plasmática.

5.2 Gama glutamiltransferase urinária

Os níveis de gGT urinária aumentaram na urina dos animais submetidos à I/R, em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que este aumento foi mais evidente às 24 horas, 5 e 7 dias ($p < 0,05$), após a reperfusão, principalmente nas fêmeas. No grupo controle, para ambos os sexos, não houve alteração na atividade da gGT urinária, em nenhum dos momentos avaliados ($p > 0,05$).

Houve diferença significativa entre os momentos do grupo experimental-I/R fêmeas ($p = 0,003$) e machos ($p < 0,001$), bem como entre os machos dos grupos controle e experimental-I/R às 24 horas ($p = 0,003$) e aos 21 dias ($p = 0,028$), o que demonstra que os machos do grupo experimental-I/R apresentaram maior grau de lesão nas células tubulares renais que os outros animais após 24 h da I/R. Entre os sexos do grupo experimental-I/R, houve diferença às 24 horas ($p = 0,018$). Entre as fêmeas de ambos os grupos houve

diferença às 24 horas $p=0,034$), 5 dias $p=0,021$), 7 dias $p=0,034$) e 14 dias $p=0,043$).

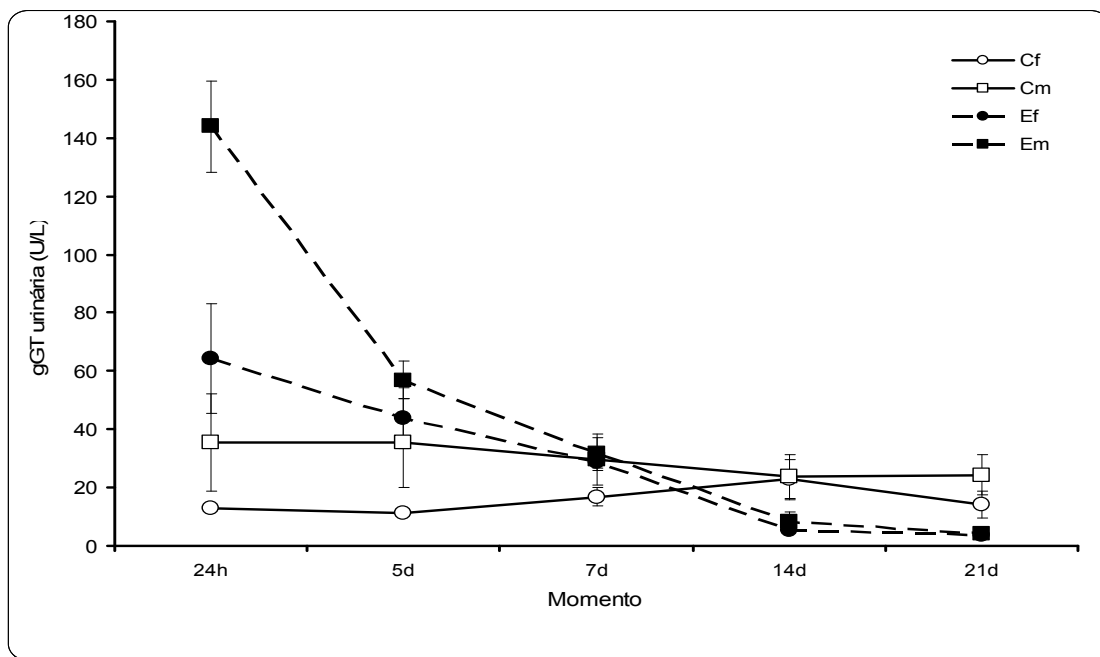


Figura 2: Valores Médios e Erro Padrão da Gama Glutamiltransferase urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Na Fig. 2 observa-se que os animais do grupo experimental-I/R apresentaram tendência a redução nos valores de gGT, após as 24 horas de isquemia e chegaram aos 21 dias com valores menores do que o grupo controle.

Recentemente Venial et al. (2013) obtiveram para Gama glutamiltransferase (gGT) urinária de três grupos de sete ratos Wistar normais, valores médios de $7,5 \pm 2,2$ U/L, de $12,6 \pm 6,1$ U/L e de $11,7 \pm 8,4$ U/L, os quais estão de acordo com os valores dos animais normais do experimento e aos 14 e 21 dias após a I/R nos animais do grupo experimental-I/R, provavelmente porque nestes últimos tenha ocorrido regeneração das células tubulares renais dos ratos que sofreram I/R.

O que ocorreu com os valores da atividade da enzima gGT urinária nos animais experimentais indica que mesmo que tenha sido um procedimento de I/R por apenas 10 minutos, foi tempo suficiente para lesar as células tubulares renais, uma vez que houve aumento no valor da excreção enzimática, principalmente nas primeiras horas, como descreve Clemon (1998). Heiene et al.

(2001) avaliaram a concentração das enzimas urinárias liberadas por células lesadas do epitélio tubular e reportaram que são mais sensíveis para detecção da lesão tubular precoce; concluíram que o aumento da atividade das enzimas urinárias é altamente específico de doença tubular renal, pois aumentos de enzimas, incluindo gama glutamiltransferase e fosfatase alcalina, foram associados ao dano tubular proximal renal em cães. Vianna (2006) e Palacio et al. (1997) relatam que as enzimas urinárias aumentam sua concentração na urina mais cedo que as concentrações de creatinina e ureia sérica.

Vianna (2006) descreve que as enzimas urinárias e as proteínas de baixo peso molecular (BPM) têm sido usadas como biomarcadores de lesão tubular, pois são úteis na detecção de pequenas alterações na função da célula epitelial tubular. Segundo Carvalho et al (2011), o aumento da excreção de gGT urinária fornece o diagnóstico da lesão da membrana da borda em escova com perda da estrutura da microvilosidade do túbulo contorcido proximal e, a lesão dessa estrutura causa a diminuição da reabsorção e aumento da excreção de proteínas, o que pode ser observado na Fig. 2, pois ocorreu aumento abrupto das enzimas na urina após 24 horas da I/R, provavelmente porque não foram reabsorvidas pela lesão das células dos túbulos contorcidos proximais renais, principalmente porque são os mais próximos do local da I/R.

Cutrín et al. (2000) relataram que a elevada atividade enzimática tem sido observada em células que apresentam intensas funções secretoras e absorção tais como células epiteliais do túbulo proximal, células do jejuno e do trato biliar, e em ratos após 25 minutos de isquemia unilateral, observaram que a atividade de gGT aumentaram o dobro em ambas as zonas cortical e medular do rim; concluíram que a isquemia renal a curto prazo (25 minutos) aumenta a atividade da gGT e também aumenta peroxidação lipídica, o que sugere que a injúria renal aguda pós-isquêmica esteja relacionada a aumento da atividade de gGT urinária.

5.3 Glicose urinária

Os níveis da glicose urinária aumentaram nos animais submetidos a I/R, em ambos os sexos (ANOVA, $p < 0,001$), sendo o aumento significativo dos valores entre os machos aos 7, 14 e 21 dias ($p < 0,05$). No grupo controle, para

ambos os sexos, não houve alteração dos níveis de proteínas, em nenhum dos momentos avaliados ($p>0,05$).

Ao observar a Fig. 3, os valores de glicose na urina dos machos do grupo experimental (I/R), apresentaram-se em ascendência a partir do 1º dia após a I/R até o 21º dia. Ao considerar que toda a glicose sérica é filtrada pelos glomérulos renais é reabsorvida pelos túbulos contorcidos proximais, há de se considerar que não houve 100% desta reabsorção, uma vez que apareceu na urina.

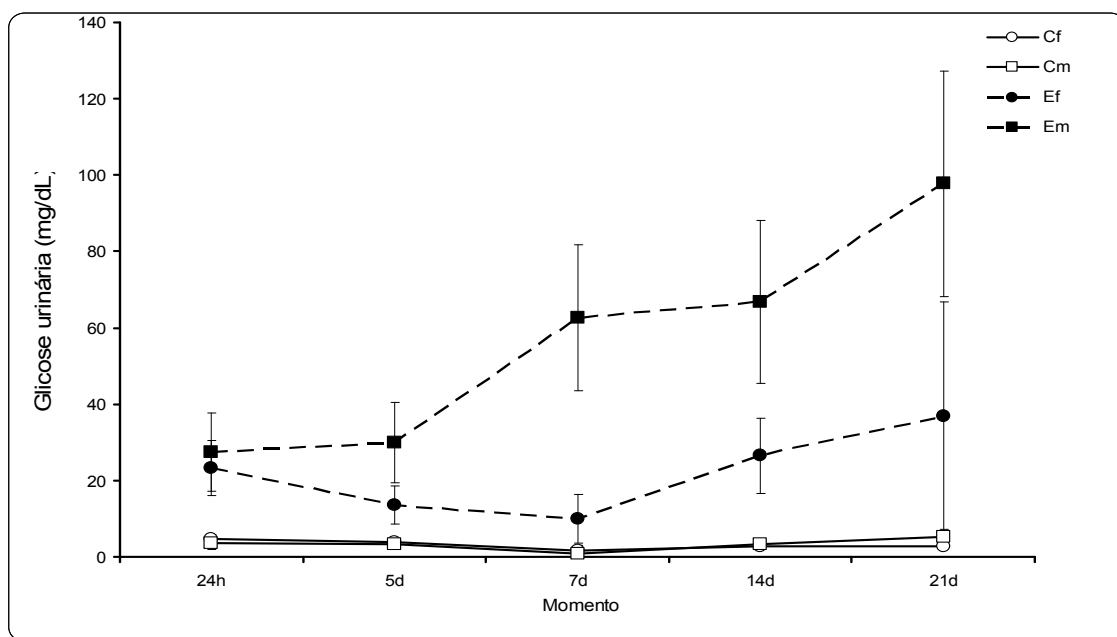


Figura 3: Valores Médios e Erro Padrão da Glicose Urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Este fato se torna verdadeiro ao analisar os valores médios da glicose sérica (Tab. 7, apêndice E), os quais apresentaram tendência à redução dos seus valores no grupo experimental (Ef e Em) ao longo do tempo, o que infere a sua não reabsorção e a sua eliminação com aumento gradativo pela urina. Este fato também confirma que houve lesão dos túbulos proximais nos animais submetidos a I/R experimental por 10 minutos. Estes resultados aliados aos valores das enzimas urinárias e albuminúria reforçam que houve lesão tubular após I/R por 10 minutos.

5.4 Proteína urinária

Houve o aumento dos níveis de proteína urinária nos animais experimentais I/R, em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$). Nas fêmeas este aumento foi mais evidente aos 21 dias, enquanto nos machos ocorreu aos sete dias ($p < 0,05$). No grupo controle, para ambos os sexos, não houve alteração significativa dos níveis de proteína urinária, em nenhum dos momentos avaliados ($p > 0,05$).

Estes resultados indicam que o efeito da I/R por 10 minutos, foi suficiente para provocar aumentados graduais nos valores de proteína na urina, principalmente nas fêmeas, mas, com tendência a redução nos valores da proteinúria nos machos após o sétimo dia, quando se observa a Fig. 4.

Ao considerar que a urina normal, formada e excretada pelo sistema renal e trato urinário saudável, não contém proteína ou contém apenas vestígios desta, a presença persistente de proteinúria é a indicação mais importante de estados patológicos e de doença renal (LIMA et al., 2001), o que justifica o aumento da excreção de proteína pela urina dos animais deste experimento que foram submetidos a I/R, mesmo que por 10 minutos. Segundo Alves (2004) a presença de proteinúria em pacientes com doença renal (sintomática ou assintomática) deve ser investigada; entretanto, existem determinadas condições fisiológicas e sinalizadoras, como exercícios e febre, que podem levar ao aumento da excreção de proteína na urina (FICHBACH, 2002; MOTTA, 2003); essa possibilidade se descarta nos animais, apesar de terem sido submetidos ao ato cirúrgico.

Para Alves (2004), a avaliação de proteinúria em volume de 24 horas é considerada o *Padrão Ouro* para a quantificação de proteinúria e de albuminúria, enquanto a razão proteína urinária/creatinina urinária ou albuminúria/creatininúria (mg/g), em amostra isolada, parece ser o método de mensuração menos sujeito a erros de coleta da urina de 24 horas.

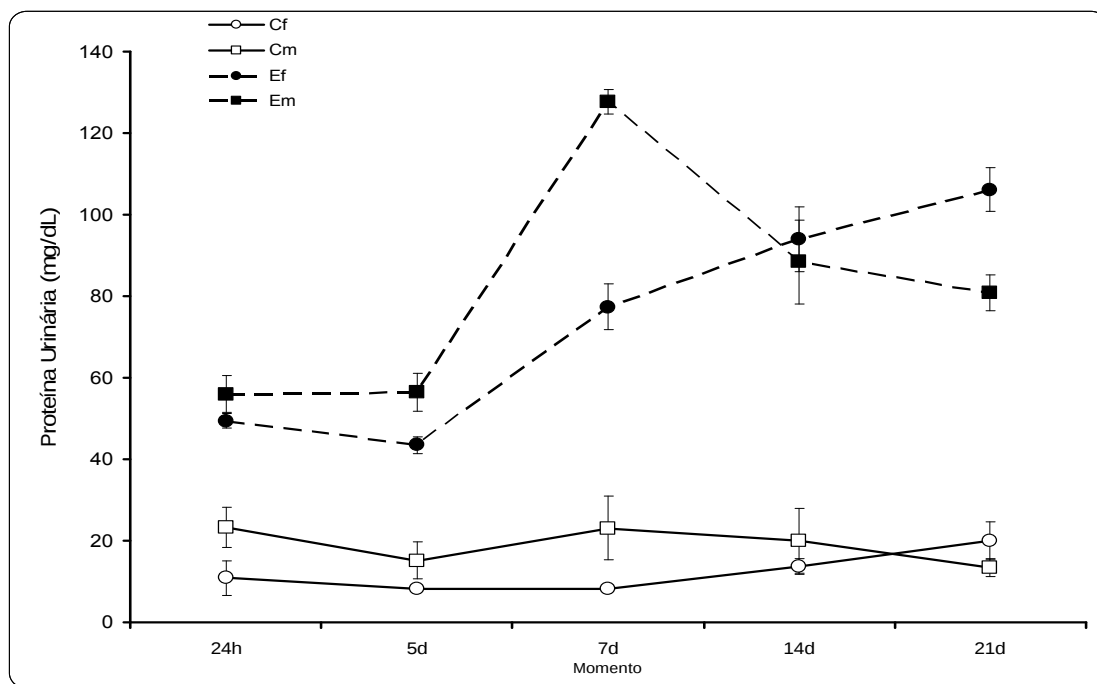


Figura 4: Valores Médios e Erro Padrão da Proteína Urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

O grupo controle apresentou valores mínimos de $8,20 \pm 0,52$ mg/dL nas fêmeas a $15,11 \pm 4,56$ mg/dL nos machos, semelhante ao controle de Castro et al. (2014) que obtiveram para proteína urinária de 24 horas, $8,8 \pm 5,3$ mg/dL. Venial et al. (2013) corrobora com estes valores, visto que para três grupos de sete ratos Wistar normais, obtiveram valores médios de $13,7 \pm 0,9$, $12,0 \pm 1,5$ e $13,0 \pm 0,6$ mg/dL. Ramalho et al. (2012) apresentaram valores de proteína urinária para o grupo *Sham* de $7,5 \pm 0,7$ mg/24h, abaixo dos valores obtidos no grupo controle.

No grupo que sofreu I/R por 10 minutos, as fêmeas apresentaram valores de $49,38 \pm 1,76$ mg/dL e os machos de $56,01 \pm 4,57$ mg/dL, 24 horas após serem submetidos a I/R. Aos 21 dias os valores para fêmeas foram de $106,16 \pm 5,46$ e para machos de $80,83 \pm 4,31$ mg/dL; Ramalho et al. (2012) obtiveram, em experimento sobre os efeitos da oxigenoterapia na função renal, proteinúria e bioquímica urinária com I/R de 45 minutos, valores de proteína urinária de $11,2 \pm 1,1$ mg/24h.

A presença de proteína na urina, em vista de novos parâmetros para classificação, como descrevem Zanella (2006) e Sodré et al. (2007) define a microalbuminúria como a presença de 30 a 300 mg de albumina na urina de 24 horas, ou uma taxa de excreção de 20 a 200 microgramas de albumina por minuto. De forma mais específica, Zanella (2006) considera que a normoalbuminúria ocorre com valores < 20 mg/mL, microalbuminúria com valores de 20 a 199 mg/mL e a macroalbuminúria com valores ≥ 200 mg/mL, em amostras isoladas. Para amostras de 24 horas, os valores estão estabelecidos para normoalbuminúria < 30 mg, microalbuminúria de 30 a 299 mg e a macroalbuminúria com valores ≥ 300 mg.

Por esse novo conceito, considera-se então que os animais do grupo controle fêmeas apresentaram valores de proteína na urina de 24 h, de $8,20 \pm 0,52$ a $20,01 \pm 4,76$ mg/dL e os machos de $13,45 \pm 2,20$ a $23,35 \pm 4,89$ mg/dL, considerados normoalbuminúricos, enquanto as fêmeas do grupo experimental-I/R apresentaram valores variando de $43,44 \pm 2,03$ a $106,16 \pm 5,46$ mg e, os machos valores de $56,01 \pm 4,57$ a $127,80 \pm 3,01$ mg, portanto classificados como microalbuminúricos. Estes valores indicam que houve efeito da I/R por 10 minutos, sobre o aumento da taxa de excreção da albumina na urina desses animais que ocorreu já após 24h. Sagiroglu et al. (2014) corroboram com o presente estudo, visto que obtiveram para proteína em urina de 24 h valores de $116,6 \pm 10,2$ mg, tão alto quanto os valores das fêmeas experimentais aos 21 dias após I/R.

5.5 Ureia urinária

Os valores da ureia foram reduzidos no grupo experimental após a I/R, em ambos os sexos, às 24 horas e 5 dias, comparados ao grupo Controle, e aumentaram a partir do 7º dia (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que nas fêmeas esta redução foi mais evidente aos 5 dias e nos machos as 24 horas. Por outro lado o aumento em ambos os sexos foi mais evidente aos 21 dias e com diferença significativa entre os machos ($p < 0,05$). No grupo controle, para ambos os sexos, houve aumento dos níveis de ureia urinaria, nos momentos avaliados de forma gradual ($p > 0,05$).

Observa-se diferença significativa entre os momentos dos animais machos do grupo controle ($p=0,003$) e nos momentos entre as fêmeas do grupo experimental ($p=0,047$) e nos machos do mesmo grupo ($p=0,002$). Também houve diferença entre as fêmeas de ambos os grupos no 5º dia após a isquemia ($p=0,001$) e entre os machos de ambos os grupos às 24 horas ($p=0,018$), 5 dias ($p=0,010$) e aos 21 dias ($p=0,040$).

Estas análises indicam que o efeito da I/R por 10 minutos, foi suficiente para provocar alterações significativas dos valores de ureia na urina entre as fêmeas e machos testados e, nos machos do grupo experimental houve aumento gradual e intenso da filtração de ureia, o que pode ser observado na Fig. 5.

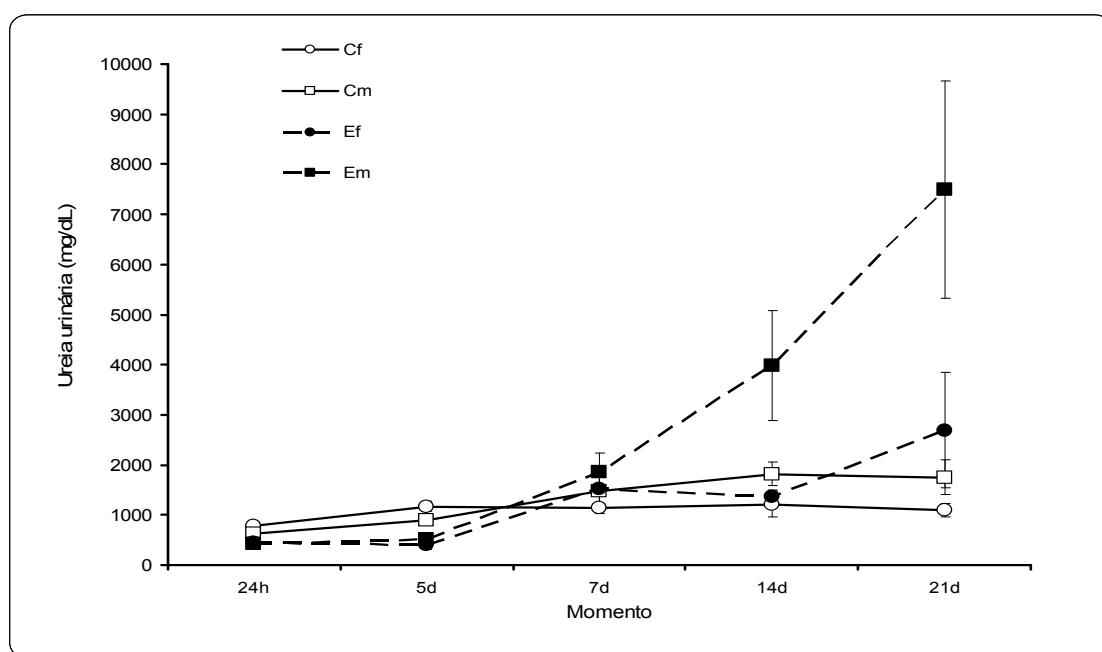


Figura 5: Valores Médios e Erro Padrão da Ureia urinária nos diversos momentos de análise em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Sagiroglu et al. (2014) obtiveram valores de 7398 ± 706 mg/24h para a ureia, semelhante ao presente trabalho, quando comparado com os machos do grupo experimental, após 21 dias da I/R.

Apesar da ureia ser filtrada livremente pelo glomérulo e não ser reabsorvida nem secretada ativamente, ela é um fraco preditor da TFG, pois 40%-70% retornam para o plasma por um processo de difusão passiva, que é

dependente do fluxo urinário. Logo, a estase urinária leva ao maior retorno de ureia ainda nos túbulos renais e a TFG calculada é subestimada pelo *clearance* de ureia (SODRÉ et al., 2007).

5.6 Creatinina urinária

Os níveis de creatinina urinária (CrU) foram reduzidos no grupo submetido a I/R, em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que nas fêmeas esta redução foi mais evidente aos 5 dias, enquanto nos machos ocorreu às 24 horas e aos 5 dias ($p < 0,05$), conforme Fig. 6. No grupo controle, para ambos os sexos, não houve alteração dos níveis de creatinina urinária, em nenhum dos momentos avaliados ($p > 0,05$).

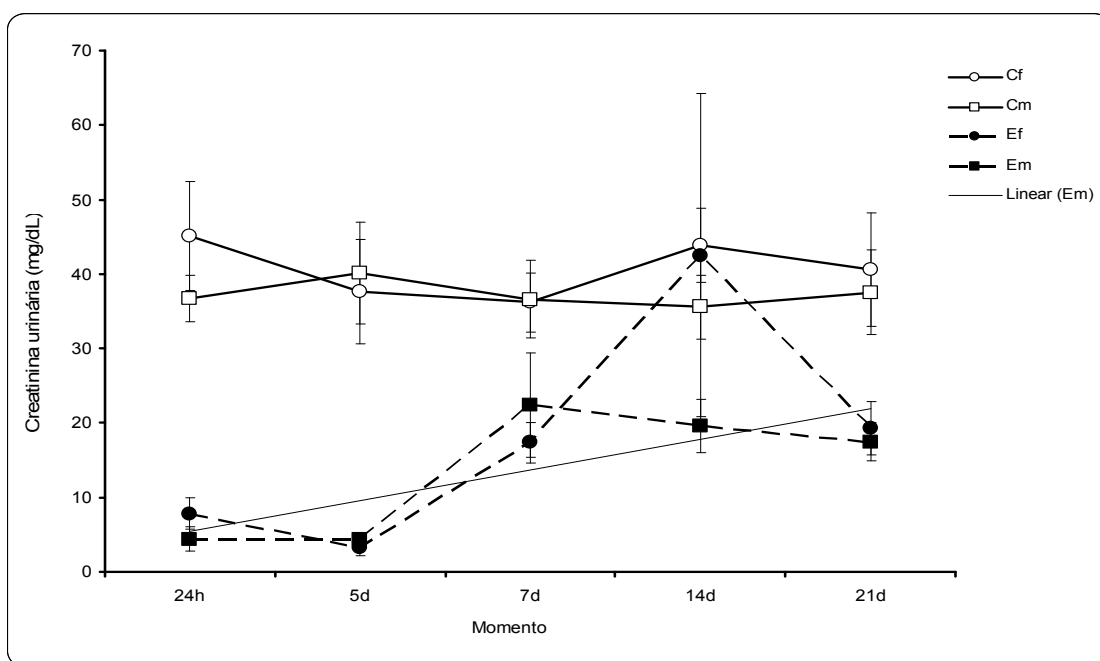


Figura 6: Valores Médios e Erro Padrão de Creatinina urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental). Cada símbolo representa a média e a barra o erro padrão da média.

Shoskes (2007) reporta que embora a creatinina seja produzida de forma constante, existe variação entre os indivíduos. A taxa absoluta depende da massa muscular a qual é influenciada pela idade, sexo, e massa corpórea, e que não há, portanto, um valor definitivo para o valor normal, o qual deve ser

individualizado para cada caso. Sobre isso, já havia relato de (CHEW e CAROTHERS, 1989) que animais jovens apresentam concentrações mais baixas, enquanto indivíduos adultos, de massa muscular desenvolvida, tendem a apresentar concentrações séricas mais elevadas. Em vista do exposto e das afirmações de que a constituição anatômica visceral do rato é bastante similar à do homem (RIBEIRO e YOSHIDA, 2005) e de que rins isquêmicos dos ratos, notadamente, simulam as lesões observadas em humanos, até mesmo nos menores detalhes (KONOPKA, 1998), justificam os valores obtidos neste trabalho os quais poderiam ser correlacionados com valores para outras espécies.

Andrade et al. (2004) obtiveram valores para creatinina urinária (CrU) de 73 ± 68 mg/dL, de animais com peso médio de 294 ± 54 g e que também sofreram I/R, o que corresponde, apesar de peso semelhante, a cinco vezes do valor obtido nas fêmeas I/R aos 14 dias quando apresentaram o aumento do valor desse analito. Da mesma forma Castro et al. (2014) obtiveram para animais normais a CrU de 24 horas, sem jejum, o valor de $88,5 \pm 11,1$ mg/dL. Considera-se desta maneira, que os animais experimentais- I/R, às 24 horas e 5 dias após I/R, apresentaram menor filtração renal ou até mesmo menor TFG. Do mesmo modo Venial et al. (2013) obtiveram para CrU de três grupos de sete ratos Wistar normais, valores médios de $77,2 \pm 41,2$; $77,7 \pm 39,7$ e $78,7 \pm 19,9$ mg/dL.

Observa-se também no trabalho de Andrade et al. (2004) que utilizaram 14 ratos machos, Wistar, adultos, com peso de 294 ± 54 g, submetidos à I/R, mediante clampeamento bilateral dos pedículos renais por trinta minutos, o valor de creatinina urinária de 73 ± 68 mg/dL. Nota-se, que independente dos modelos de I/R, os valores deste analito não diferiram; portanto, para este item, o clampeamento unilateral ou bilateral dos pedículos renais, por 30 minutos não diferem dos animais normais; provavelmente se avaliar este analito com menor espaço de tempo, após a I/R, haja um valor significativo na redução da filtração renal de creatinina, assim como ocorreu no presente estudo.

Watanabe (2010) em trabalho sobre a intervenção farmacológica na lesão renal aguda isquêmica em ratos: proteção funcional e histológica tempo dependente, obteve valores de $19,6 \pm 2,7$ de creatinina urinária no grupo isquemia 30 minutos e de $14,8 \pm 1,3$ no grupo isquemia 45 minutos. Conforme

a Tab. 8 (Apêndice F), estes valores são semelhantes aos obtidos para os animais machos e fêmeas do grupo experimental com 10 minutos de isquemia e reperfusão, aos 14 dias no grupo dos machos e aos 21 dias no grupo das fêmeas.

5.7 Fração de Excreção de Potássio (FEK)

Os níveis da FEK apresentaram aumento no grupo experimental I/R, em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo mais evidente às 24 horas e 5 dias ($p < 0,05$). No grupo controle, para ambos os sexos, não houve alteração desses níveis, em nenhum dos momentos avaliados ($p > 0,05$), conforme Fig 7. Esse parâmetro parece ser mais útil do que aqueles classicamente medidos, ou seja, a fração de excreção de sódio e a fração de excreção de ureia. A FEK pode sinalizar reduções da taxa de filtração glomerular, antes mesmo de aumentos da creatinina sérica, sendo uma intrigante linha de pesquisa que merece a pronta realização de estudos adicionais (MACIEL, PARK, MACEDO, 2014).

A avaliação sequencial da fração de excreção de potássio parece útil em pacientes graves em risco de lesão renal aguda que está relacionada à gravidade e à duração da lesão renal aguda. Seu aumento com a progressão da lesão renal aguda é resultado de diminuições da TFG e da ativação da aldosterona (em uma tentativa de manter a homeostase do potássio). A fração de excreção de potássio (FEK) e a concentração urinária desse eletrólito são alteradas pela aldosterona e variam conforme a ingestão de potássio (MACIEL, PARK, MACEDO, 2014).

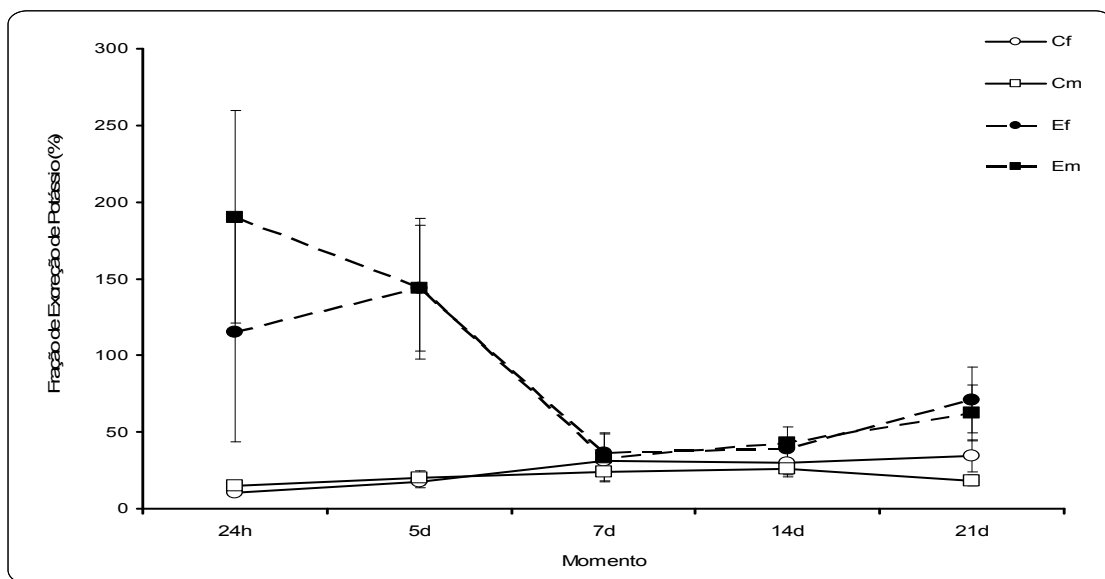


Figura 7: Valores Médios e Erro Padrão da Fração de Excreção de Potássio nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E=experimental).

Para Costa (2013), assim como o resultado da FENa, os valores nos quais o grupo I/R atinge níveis significativamente maiores de excreção de K^+ em relação ao grupo *Sham* ($134,4 \pm 54,94$ vs $7,5 \pm 2,9$, $p < 0,05$), reforça o resultado do grau lesivo tubular, os quais foram semelhantes aos valores do grupo experimental às 24 horas até os 5 dias.

Pompermayer et al. (2005) descreveram que após o rim esquerdo de ratos ser retirado, a isquemia foi realizada no rim contralateral com interrupção total da artéria renal por 45 minutos e analisados após reperusão em 4 e 24 horas mais tarde; assim obtiveram para FEK de I/R valores de 15 a 20%, e o grupo *Sham* apresentou valores de 3 a 3,5%. Ramalho et al. (2012) com o mesmo tempo de isquemia apresentaram para a excreção fracionada de K (%) 174 ± 47 , após IR, enquanto que para o grupo *Sham* foi de 33%; estes valores se aproximam mais do presente estudo nas primeiras 24 horas até o 5º dia após Isquemia.

5.8 Relação Proteína urinária / Creatinina urinária (PU/CrU)

A relação PU/CrU nos animais experimentais-I/R apresentaram valores mais significativos às 24 horas e cinco dias. Do 5º ao 14º dia, em ambos os sexos, houve um declínio dos valores; no entanto as fêmeas após os 14 dias

demonstraram tendência a novo aumento (Fig. 8). Isso pode indicar que nestes primeiros momentos houve excreção aumentada de proteína na urina, mas com regeneração subsequente, visto que o aumento da relação indica alteração mais precocemente. O grupo controle não apresentou diferença significativa.

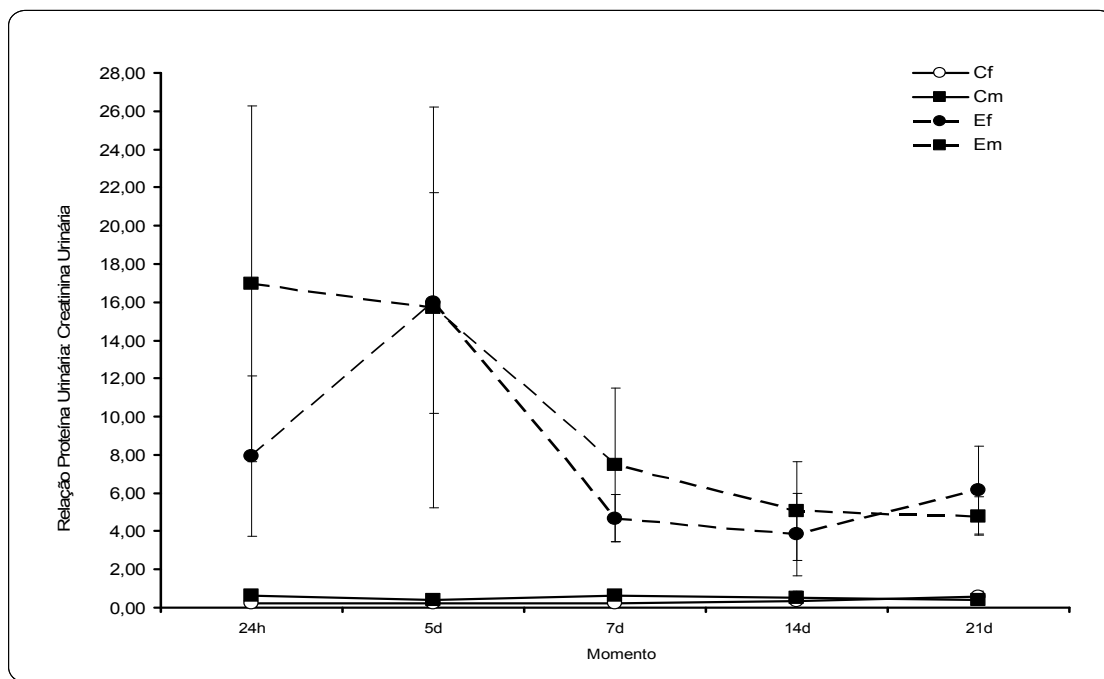


Figura 8: Valores Médios e Erro Padrão da Relação Proteína urinária: creatinina urinária nos diversos momentos de análise, em animais de ambos os sexos (F=fêmeas; M=machos), de cada um dos grupos experimentais (C=controle; E= experimental).

Venial et al. (2013) reportam que o valores da relação PU/CrU em 3 grupos de sete ratos controles foram de $0,16 \pm 0,02$; $0,17 \pm 0,002$ e $0,17 \pm 0,001$; assim como no presente trabalho, a relação ficou menor que 1, até mesmo menor que 0,5, no grupo controle.

Menezes et al. (2010) descreveram que a avaliação da relação proteína urinária/creatinina urinária (PU/CrU) e atividade da gGT urinária são exames mais sensíveis para detectar lesão tubular aguda (LTA) que o exame de urina de rotina, uma vez que estas variáveis apresentaram alteração mais precocemente quando comparados aos resultados da ureia e creatinina séricas.

Steffen et al. (2010) obtiveram valores maiores que 30 mg/g de creatinina ou 3,4 mg/mmol, que são indicativos de microalbuminúria. Mesmo determinações em urina obtida durante períodos de 12 ou 24 horas levam a

resultados mais fidedignos se expressos através da relação albumina/creatinina, uma vez que é difícil fazer a coleta de forma perfeita.

De acordo com Khan et al. (2005), comparando-se a concentração urinária de albumina e o índice albumina/creatinina com a excreção urinária de albumina na urina de 24 horas, ambos os exames realizados em amostra isolada são capazes de prever satisfatoriamente microalbuminúria de 24 horas. Outros estudos têm testado reprodutibilidade dos índices proteína/creatinina em amostra isolada de urina, comparando-os com a excreção urinária de proteína em 24 horas.

5.9 Urinálise

O exame de urina de rotina é composto de três etapas: o exame físico, o exame químico e a microscopia do sedimento (COSTAVAL et al., 2001). Os valores obtidos para a Urinálise estão descritos na Tab. 15 (Apêndice M) e Tab. 16 (Apêndice N).

No sedimento urinário analisado por microscopia de luz (Tab. 16, Apêndice N), foram observados cristais, células de transição, hemácias com presença dentro da normalidade para a espécie, no entanto ao observar a presença de cilindros, observa-se que os mesmos começam a aparecer no sedimento em todos os momentos em que há presença de proteína na urina, quando se considera a proteína quantificada tanto pela fita como por espectrofotometria, o que indica proteinúria renal, pois foram visualizados cilindros o que indica lesão tubular, nos animais experimentais, o que confirma que 10 minutos de isquemia foram suficientes para que houvesse lesão tubular, pois os animais do grupo controle não apresentaram essas alterações.

De acordo com Grauer (2005), as alterações no sedimento urinário podem ser indicativas de disfunção renal aguda, onde se observa aumento do número de leucócitos, hemácias, células epiteliais renais e cilindros celulares ou granulares. Para Reine e Langston (2005) o aumento do número das células epiteliais de transição na urina pode estar associado à infecção, inflamação, irritação e neoplasia de qualquer desses segmentos anatômicos. No presente

estudo, foram observados cilindros granulosos, constituídos de células tubulares que já sofreram degeneração o que confirma a lesão renal, mesmo com isquemia pelo período de 10 minutos.

As análises realizadas pelo método de tiras reagentes representam as observações principais do exame químico da urina (HENRY, 2008) e por esta análise verifica-se que a presença de nitrito apareceu a partir do 5º dia nos animais do grupo experimental-I/R fêmeas e machos e permaneceram positivos para esse analito até os 21 dias. Sato et al. (2005) reportaram que quando ocorre presença de nitrito no exame químico da urina, indica a presença de bactérias capazes de reduzir o nitrato a nitrito durante o seu metabolismo, e por isso esta análise é sugestiva de infecção urinária e que há precisão e exatidão nos testes rápidos por meio de tiras reagentes. No presente trabalho este fato é confirmado pela presença de leucócitos nos mesmos momentos do grupo de animais experimentais, de ambos os sexos, o que confirma a quimiotaxia dos leucócitos no trato urinário devido ao processo isquêmico renal, durante 10 minutos nestes animais. Para Colombeli, Falkenberg (2006), o exame de urina além de avaliar a função renal, de acordo como o resultado torna possível identificar doenças renais e do trato urinário.

A proteína na urina foi detectada na tira reagente em fêmeas e machos do grupo experimental às 24 horas após a I/R, com valores que foram de negativos a traços até os 21 dias quando apareceu traços a 1+ de proteína. Sodré et al. (2007) descreveram que a identificação de proteína na urina deve ser realizada por métodos mais precisos, visto que as tiras reagentes analisam apenas a albumina urinária e Cezar, Santos e Funchal (2012) reportaram que urinas com pH alcalino fornecem resultados positivos falsos; em virtude destes fatos, foram dosadas as proteínas urinárias do presente trabalho por técnica espectrofotométrica para melhor precisão dos resultados, como pode ser visto nas Tab. 8 (Apêndice F). No entanto, não se deve descartar a possibilidade de ser proteinúria pós-renal provavelmente, porque há inflamação no trato urinário.

Quanto à pesquisa de glicose na urina, os animais em todos os momentos experimentais não apresentaram positividade para a glicose. No entanto ao observar a Tab. 8 (Apêndice F) que mostra a dosagem de glicose por espectrofotometria, observou-se que no grupo experimental fêmea a glicosúria aos 21 dias foi de $37,00 \pm 29,69 \text{ mg/dL}$ e nos machos até

97,75±29,51mg/dL, o que deveria ser diferente, visto que a detecção de glicose nas tiras utilizadas é de 40mg/dL e não citam interferência para este analito. Este fato é importante para detectar distúrbio na reabsorção tubular, visto que a presença de glicosúria sem hiperglicemia está relacionada com essa alteração (FUNCHAL et al., 2011).

Os outros parâmetros analisados, corpos cetônicos, urobilinogênio, bilirrubina, hemácias e hemoglobina não apresentaram alterações dignas de nota em ambos os grupos, nos diferentes tempos experimentais.

O exame físico da urina dos ratos do grupo controle e do grupo submetido a I/R, apresentaram variação da cor da urina, de amarelo claro ao amarelo escuro; quanto ao aspecto variou de límpido a levemente turvo, tanto em machos quanto nas fêmeas de ambos os grupos, na maioria dos momentos de avaliação.

O volume da urina de 24 horas do grupo controle fêmea, variou de 2,5 mL/dia às 24 horas e 17 mL/dia, no momento zero e nos machos de 0,5 mL/dia aos 7 dias e 30 mL/dia às 24 horas. No grupo experimental o volume urinário nas fêmeas foi 2,0 mL/dia às 24 horas e 14 mL/dia aos 21 dias, enquanto no grupo dos machos foi de 1,0 mL/dia às 24 horas e aos 7 dias e de 17,0 mL/dia aos 5 dias após I/R.

A densidade na urina dos animais do grupo controle fêmea variou de 1.000 a 1.010, enquanto dos machos variou de 1.000 a 1.030; no grupo experimental-I/R fêmea variou de 1.005 a 1.025 e nos machos variou de 1.000 a 1.025, na maioria dos momentos.

Em relação ao pH da urina, nos animais do grupo controle fêmea o PH foi de 6,0 a 9,0 e para os machos de 5,0 a 9,0, ambos no momento zero. Para o grupo experimental fêmea o pH variou de 6,0 a 8,0 às 24 horas, 7 e 14 dias e para os machos a variação foi de 5,0 nos momentos 5 e 14 dias a 8,0 às 24 horas e 21 dias.

Em resumo (Fig. 10), pôde-se observar que a isquemia unilateral, mediante clampeamento do pedículo (artéria e veia) por 10 minutos, mostrou na avaliação da urina, às 24 horas, o aumento significativo da atividade enzimática da gGTU e da FAU, além do aumento da GliU, o que denota lesão tubular aguda. Estas enzimas apresentaram decréscimo de seus valores, após

as 24 horas, e equipararam-se aos valores do grupo controle dos cinco aos sete dias.

A partir do quinto dia, na Urina tipo I, com o uso das tiras reagentes, observou-se o aparecimento da proteína (albumina) que é um indicativo de lesão renal, uma vez que esta não é eliminada. A confirmação da albuminúria foi pela quantificação por espectrofotometria. Aos sete dias, na avaliação do sedimento, apareceram cilindros granulosos.

Tanto a proteína na urina I, por tira e espectrofotometria, e os cilindros granulosos na sedimentoscopia, se mantiveram até o 21º dia. Aliados a glicosúria em valores com ascendência, demonstram que a lesão cronicou, o que pode evoluir para lesão tubular crônica como observado aos 21 dias, estas observações sugerem a necessidade de avaliação da reperfusão após esse período.

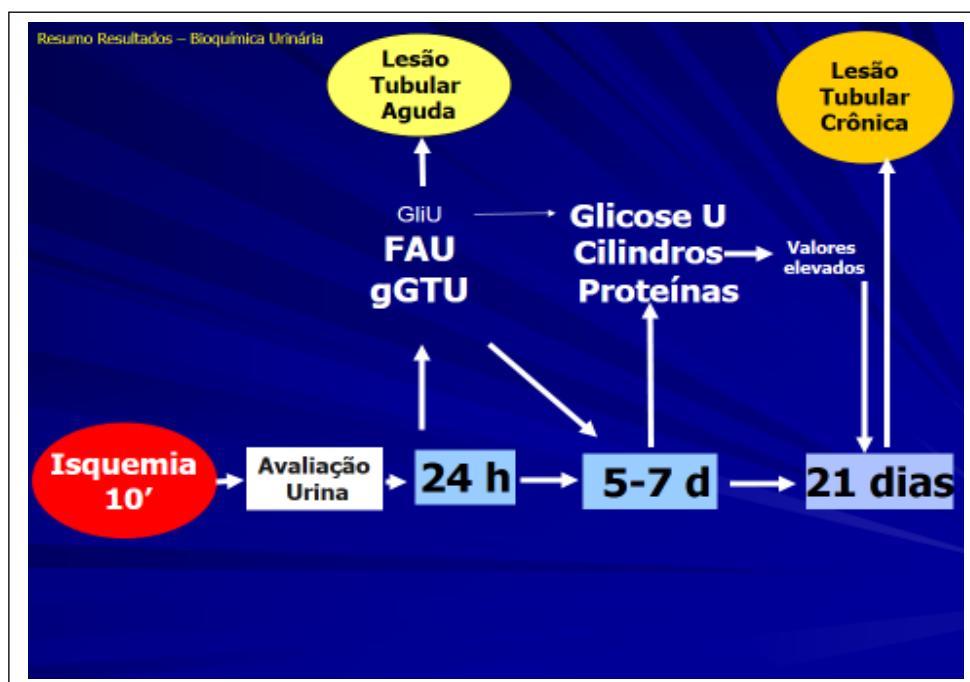


Figura 10: Esquema da evolução da lesão renal em relação às análises da urina.

5.10 Avaliação macro e microscópica dos Rins

A análise macroscópica dos rins não apresentou alterações macroscópicas quanto ao aspecto e tamanho, tanto nos machos quanto nas fêmeas dos animais submetidos a I/R. No período da cirurgia, a mudança de coloração dos rins que sofreram isquemia foi nítida. Na Fig. 9, pode ser visualizada a mudança na cor do rim esquerdo, aos 5 e 10 minutos, respectivamente, durante o procedimento cirúrgico.

Konopka et al. (2007) reportaram que o grupo submetido a I/R apresentou redução progressiva no peso, volume e espessura cortical renal a partir do 7º dia do experimento, atingindo grau máximo no 49º dia ($p < 0.05$), e concordaram com o presente estudo, aos 21 dias, quando se observa que houve valores menores do peso e comprimento de ambos os rins do grupo experimental quando comparado com o grupo controle.

Para a avaliação histopatológica, foram consideradas as alterações microscópicas nos rins dos animais do grupo I/R e comparadas com o rim contralateral do presente estudo. Quanto ao grupo Controle, não foram observadas alterações dignas de nota. As alterações microscópicas seguiram o modelo descrito por Togoe et al. (2014), conforme Tab. 3. Para Konopka et al. (2007), o modelo de isquemia renal crônica em ratos provoca atrofia renal progressiva, com preservação da estrutura glomerular, o que, de acordo com o presente estudo, depende proporcionalmente ao tempo em que os rins são submetidos à isquemia e aos efeitos deletérios da reperfusão.

Conforme Tab. 3 abaixo houve congestão na região cortical em 75% das amostras dos rins esquerdo das fêmeas que sofreram I/R, enquanto dos machos o percentual de congestão foi de 50%. A degeneração tubular discreta ocorreu em 50% na região medular e 25% na região cortical do rim esquerdo das fêmeas e o inverso ocorreu para os machos. Em relação à degeneração tubular moderada apresentou-se em 50% na região cortical e medular nos rins das fêmeas, enquanto houve 75% na região medular e 50% na cortical dos rins dos machos. Nos rins contralaterais e no grupo controle foram observadas somente congestão leve na região cortical quando comparado aos rins que foram submetidos a I/R por 10 minutos.

Tabela 3 – Distribuição percentual das alterações histopatológicas renais (rim esquerdo) dos animais submetidos a Isquemia de 10 minutos e Reperfusão após 21 dias.

Alterações histopatológicas	Rim esquerdo			
	Medular Fêmeas n=4	Cortical Fêmeas n=4	Medular Machos n=4	Cortical Machos n=4
Congestão	0	75	0	50
Infiltrado linfoplasmocitário	0	0	0	50
Degeneração tubular discreta	50	25	25	50
Degeneração tubular moderada	50	50	75	50
Aumento do espaço de Bowmann	0	0	0	0
Retração glomerular	0	0	0	0
Repleção dos capilares glomerulares	0	0	0	0
Atrofia glomerular	0	0	0	0
Fibrose	0	0	0	0

Fonte: Togoe et al. (2014)

5.11 Parâmetros Bioquímicos Séricos

Os valores obtidos para os parâmetros bioquímicos séricos estão descritos na Tab. 7 (Apêndice E).

Na análise dos resultados da bioquímica sérica observa-se diferença estatística significativa na maioria dos parâmetros analisados, quando comparado entre os momentos experimentais de machos e fêmeas e entre os grupos. No entanto, as maiores diferenças ocorreram nas primeiras 24 horas após os animais serem submetidos ao procedimento de isquemia renal unilateral esquerda, por 10 minutos, mesmo assim permaneceram no intervalo dos valores de normalidade. As alterações ocorreram mais nos machos, mas as fêmeas do grupo experimental também apresentaram menores variações.

Em relação aos valores médios obtidos para proteína sérica (Ps), não ocorreu diferença significativa entre os grupos. Os valores relativamente menores dos animais aos 60 dias quando comparados aos 81 dias podem ser explicados em razão da idade dos animais, uma vez que animais jovens

apresentam valores menores que animais adultos, que já desenvolveram o sistema imunológico, e assim as globulinas aumentam o valor total das proteínas. Lima et al. (2014) observaram valores de proteína total (g/dL), para machos $5,75 \pm 0,87$ g/dL e para as fêmeas $6,07 \pm 0,83$ g/dL, semelhantes aos valores obtidos no presente estudo, tanto para o grupo controle como experimental, o que indica que o processo de I/R não interferiu nos valores deste analito.

Os valores de albumina apresentaram diferença significativa entre os grupos, nos machos aos cinco dias ($p=0,009$) e nas fêmeas aos 14 dias. Este resultado está de acordo com Lima et al. (2014) que obtiveram para albumina de machos o valor de $2,65 \pm 0,30$ g/dL (2,0 a 3,5) e, para fêmeas o valor de $2,41 \pm 0,76$ g/dL, com variação de 1,3 a 3,8. Por outro lado, os valores obtidos para globulina sérica foram menores que os descritos pelos autores acima, que obtiveram para fêmeas o valor de $3,69 \pm 1,47$ g/dL (2,1 a 5,9). No entanto o Charles River (2008) apresentou valores de 1,5 a 2,5 g/dL, que estão de acordo com este trabalho, tanto para o grupo I/R, quanto para o grupo controle, o que indica que a submissão dos animais a I/R por 10 minutos não interferiu nos valores de globulina sérica.

Na avaliação da ureia, no presente trabalho, as fêmeas do grupo experimental apresentaram peso de 157 a 178 g, portanto, com menor massa muscular, o que pode ser considerado para que os valores de ureia tenham sido menores ($29,25 \pm 2,39$ mg/dL a $54,75 \pm 3,47$ mg/dL), e não diferirem dos animais do grupo controle fêmeas. Leal et al. (2001) descrevem os dados bioquímicos dos grupos na 24^a hora após reperfusão; para a ureia os valores de $60,43 \pm 11,32$ mg/dL estão próximos aos valores obtidos no presente estudo. Em 24 horas após reperfusão, as fêmeas apresentaram valores para ureia de $47,25 \pm 3,82$ mg/dL e machos de $47,00 \pm 6,32$ mg/dL. Todorovic et al. (2014) observaram em ratos submetidos a isquemia renal bilateral por 45 min, e depois de quatro horas de reperfusão, aumento da ureia, devido à lesão I/R; difere assim do presente trabalho por ser bilateral, o que pode justificar o aumento. Bezerra et al. (2008) em trabalho com I/R de 40 minutos obtiveram o valor de 23,8 mg/dL para a ureia. Os resultados demonstraram que o procedimento cirúrgico do grupo Sham (sem clampeamento renal) não

determinou comprometimento da função renal desses animais quando comparados com o grupo controle com 28 mg/dL de ureia e observaram que o grupo “*Sham*” pode ser utilizado como controle para este estudo.

Variações das concentrações de creatinina sérica, de acordo com Peres et al. (2013), ocorre conforme o sexo, idade, massa e metabolismo muscular, peso corporal, situação nutricional e estado de hidratação; este fato ocorreu no presente estudo visto que a creatinina sérica dos 60 dias de idade ($0,20 \pm 0,00$ mg/dL) variou até os 81 dias de vida ($0,48 \pm 0,03$ mg/dL) nas fêmeas e machos do grupo controle, e de $0,33 \pm 0,03$ a $0,55 \pm 0,03$ mg/dL nas fêmeas e machos do grupo experimental com as mesmas idades; todos os animais com metabolismo extremamente elevado. Esses valores médios estão de acordo com os resultados de Melo et al. (2012), os quais apresentaram valores de $0,44 \pm 0,64$ mg/dL, o que pode inferir que a I/R não afetou os valores de creatinina sérica de ratos submetidos a I/R por 10 minutos. Si et al. (2014) relatam que os animais que foram submetidos a I/R renal, em seus estudos, apresentaram elevação significativa de concentração de creatinina em 24, 48 h após Reperusão; fato que ocorreu no presente estudo às 24 horas, apesar de permanecerem dentro dos valores de normalidade.

Os valores médios de FAL nos animais experimentais foram semelhantes aos descritos por Dantas et al. (2006) com $124 \pm 6,1$ U/L. Provavelmente os valores mais elevados da FAL tanto no grupo controle como experimental, no início dos procedimentos, ocorreu pela presença da isoenzima óssea, visto que os animais estão em crescimento, uma vez que a fosfatase alcalina é composta por um grupo de isoenzimas associadas à membrana, localizada em vários tecidos, sobretudo no tecido ósseo e hepatobiliar. A tendência à redução dos valores da atividade da fosfatase alcalina pode indicar que os valores maiores foram apresentados pelos animais mais jovens ainda em crescimento.

Os níveis de gama glutamiltransferase não se alteraram no grupo submetido à I/R. As fêmeas deste estudo apresentaram valores para atividade sérica de GGT semelhantes a Barbosa et al. (2010) de 1,30 U/L; para os machos os valores foram semelhantes a Lima et al. (2014) com valores de 3,47

$\pm 1,74$ U/L, o que demonstra que não houve interferência da I/R nos valores deste analito.

Os machos do grupo experimental-I/R apresentaram níveis menores de AST em relação ao grupo controle aos cinco dias e, maiores aos 7, 14 e 21 dias. Esses valores estão semelhantes aos estudos de Lima et al. (2014) que obtiveram para machos valores de $131,33 \pm 43,98$ U/L e para fêmeas de $107,87 \pm 53,96$ U/L. Segundo Muller et al. (2002), ratas fêmeas demonstram relativa proteção contra falência renal pós-isquêmica, o que para Tanaka et al. (2013) e Robert et al. (2011) indicam que essa susceptibilidade isquêmica renal entre os sexos esteja relacionada ao efeito protetor dos hormônios sexuais femininos em diversos órgãos submetidos a lesão de isquemia-reperfusão. A AST é encontrada em diversos órgãos e tecidos, incluindo coração, fígado, músculo esquelético e eritrócitos. Assim, o fato de não ocorrer aumento da atividade enzimática sérica da AST sugere que não ocorreu lesão com gravidade significativa em consequência da I/R na célula hepática, tecido muscular ou eritrócitos.

Os níveis de ALT tiveram aumentos significativos nas fêmeas do grupo I/R somente aos 5 e 7 dias ($p < 0,05$) e nos machos somente as 24 horas. Após este período, houve tendência à diminuição. Behera et al. (2012) em trabalho com I/R bilateral por 45 minutos seguido de reperfusão durante 3 horas, obtiveram valores médios de ALT de $70,92 \pm 4,10$ U/L, maiores que no presente estudo, o que era esperado pelo tempo maior de isquemia. A ALT é encontrada abundantemente no fígado, em quantidades moderadas no rim e em pequenas quantidades no coração e na musculatura esquelética. Sua origem é predominantemente citoplasmática, o que faz com que se eleve rapidamente no sangue após a lesão hepática conforme descreve Schumann et al. (2002). Assim, como não houve aumento desta enzima, sugere que a lesão provocada pelo ensaio de I/R não foi suficientemente grave para desencadear elevação da atividade enzimática de ALT no soro.

No presente estudo a glicose sérica reduziu no sangue após 7 dias de I/R e aumentou a glicosúria. Park et al. (2008) reportam que o tempo de isquemia de 25 minutos, quando empregado, causam lesões de graus leves a moderadas; o presente estudo com apenas 10 minutos de isquemia, mostrou a

presença da glicosúria, que é fator para considerar lesão nos rins. Vinagre (2011), em estudo de isquemia e reperfusão após 25 minutos apresentou para glicose, no momento da isquemia, o valor de $157,7 \pm 16,5$ mg/dL; na retirada do *clamp* após 25min, o valor foi de $162,7 \pm 40,2$ mg/dL e após 24 horas o valor aumentou para $189,0 \pm 11,9$ mg/dL, semelhantes ao presente estudo, mas que apresentou redução nos valores da glicemia em ambos os gêneros igualando ao grupo controle no final dos trabalhos.

Para os valores de colesterol, houve diferença significativa entre os momentos no grupo I/R fêmeas ($p < 0,001$), mas não entre os machos. Lima et al. (2014) obtiveram valores semelhantes, sendo para machos de $60,68 \pm 6,51$ mg/dL com variação de 45 – 76 e para fêmeas de $64,86 \pm 11,17$ mg/dL com variação de 54 – 96. Desta forma pode-se inferir que a I/R por 10 minutos não alterou os valores de colesterol sérico.

Não houve variação significativa dos níveis de sódio sérico, em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$) entre os grupos. Ao comparar com Melo et al. (2012) que obtiveram valores de 135 – 144 mmol/L e Barbosa et al. (2010) com valor médio de 146,28 mEq/L, observa-se que corroboram com os valores obtidos no presente experimento.

Os níveis de potássio sérico não alteraram em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$) no grupo submetido a I/R. Sagioglu et al. (2014) obtiveram, para machos, valores de $5,1 \pm 0,65$ no grupo controle e $5,9 \pm 0,21$ mEq/L no grupo I/R de 45 minutos; este último superior ao encontrado no presente estudo, com isquemia de 10 minutos.

Este estudo provou ser uma ferramenta auxiliar de problemas renais em condições de isquemia e reperfusão (I/R), a ser utilizada pelos pesquisadores em ensaios pré-clínicos e/ou experimentais, uma vez que possibilitará o uso padronizado desse modelo estabelecido.

5.12 Parâmetros Hematológicos

Os valores obtidos para os parâmetros hematológicos estão descritos nas Tabelas 4, 5 e 6 (Apêndice B).

Apesar de haver diferença estatística nos parâmetros hematologia analisados, todos os animais do grupo experimental-I/R, machos e fêmeas permaneceram com os valores dentro da normalidade, quando comparados com os valores obtidos para os animais do grupo controle, machos e fêmeas.

No presente estudo o valor médio dos eritrócitos apresentou diferença entre os sexos dos grupos Ef e controle após a indução da I/R. Para Hedrich (2004), a massa de glóbulos vermelhos do sangue é mensurada por meio de três parâmetros: hemácias (Hm), hematócrito (Ht) e hemoglobina (Hb). A hipóxia sanguínea promove, nos rins, estímulo à produção de eritropoietina que é produzida pelo tecido intersticial renal, o que acontece fisiologicamente. Em estado de desequilíbrio da homeostasia e hipofunção do tecido renal, reduz a produção de estimulante eritropoiético o que pode ter levado a diferença nos valores do grupo experimental-I/R logo após a cirurgia, este fato pode ser observado nos momentos 5 e 7 dias após a cirurgia, nas fêmeas. No entanto, após esse período, os valores retornam a normalidade, o que indica que os rins não sofreram lesão suficiente para inibir a produção de eritropoietina. De maneira geral o comportamento dos valores das hemácias foi semelhante aos valores do Hematócrito e da Hemoglobina.

Houve uma constante nos valores de VCM em todos os momentos, em ambos os grupos. BAIN (2006) refere-se à relação entre os parâmetros da série vermelha, os quais podem ser obtidos pela análise dos índices hematimétricos, entre eles, o volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) que irão fornecer informações adicionais sobre a fisiologia das hemácias e hemoglobina, cujos valores, no presente estudo, não apresentaram variação para o grupo dos animais experimentais- I/R e controle.

Observa-se no grupo experimental-I/R uma tendência ao aumento dos valores de RDW-SD a partir dos 14 dias nos machos e a uma diminuição dos valores nas fêmeas. Para Karnad e Poskitt (1985) e Evans e Jehle (1991) valores aumentados do RDW refletem o aumento das variações de tamanho ou

eritrócitos, o que indica uma regeneração eritropoiética, o que pode ser observado a partir da primeira semana pós I/R.

Em relação aos valores das plaquetas sanguíneas, não houve alteração em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$). Nota-se uma variação muito semelhante entre todos os animais dos dois grupos, isto é, dentro dos valores padronizados durante todo o experimento.

Houve uma redução dos valores de leucócitos totais, em ambos os sexos no grupo I/R (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que nas fêmeas esta redução foi evidente aos 14 dias, enquanto que nos machos ocorreu às 24 horas ($p < 0,05$). Este fato pode indicar que houve utilização dos leucócitos circulantes pelo processo inflamatório provocado pelo ato cirúrgico de I/R, cuja cicatrização ocorre em torno de 14 a 21 dias, quando os animais já apresentam Lt em número próximo ao normal, indicando recuperação na homeostasia. Para essa diferença significativa, justificada pela redução de Lt e consumo destes, pelo processo inflamatório pós-cirúrgico, Francischetti et al. (2010) descrevem que os eventos de isquemia-reperusão desencadeiam resposta inflamatória sistêmica, onde os Lt são as principais células sanguíneas envolvidas nesta resposta, embora plaquetas e eritrócitos também participem. Destes Lt, os neutrófilos são os mais importantes na patogênese da inflamação, e são as células predominantes nas primeiras 6 a 24 horas nas inflamações agudas. Houve diferença entre os sexos do grupo controle aos 14 dias ($p = 0,027$), após I/R.

As fêmeas do grupo experimental (EF) apresentaram maior variação no número total de leucócitos circulantes, com valores menores aos 14 dias e retorno aos valores semelhantes aos animais controle com 21 dias. Os leucócitos participam dos processos imunes e inflamatórios e sua quantificação em roedores inclui a contagem total e diferencial (HEDRICH, 2004; WEISS e WARDROP, 2010). Tanto os valores do grupo controle quanto o grupo experimental encontram-se na faixa superior descrita, o que demonstra que a I/R não interferiu no número de Lt. Messias et al. (2010) obtiveram valores para Lt de $4,63 \pm 1,03 \times 10^3/\text{mm}^3$ no sangue de fêmeas de ratos, do grupo controle, com 280 g, estes valores diferem do presente estudo, no entanto quando

comparado como outros autores, encontra-se dentro dos valores de normalidade.

A isquemia/reperfusão reduziu os valores de neutrófilos (Tab. 14), em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que nas fêmeas este parâmetro apresentou maior redução aos 21 dias, enquanto nos machos ocorreu aos 5 dias ($p < 0,05$). A importância dos neutrófilos de acordo com Souza et al. (2006) é que representam a primeira linha de defesa contra microrganismos, trauma nos tecidos ou mesmo sinal inflamatório, pois atuam como fagócitos circulantes e moduladores da resposta imune. Os neutrófilos segmentados ou maduros são células móveis, fagocíticas, com a função especializada de destruir microrganismos, e são produzidos e armazenados na medula óssea, liberados para o sangue periférico através de mediadores químicos produzidos pelo processo inflamatório (HOKAMA e MACHADO, 1997). Pompermayer et al. (2005) descrevem que a I/R renal é uma síndrome complexa mediada por neutrófilos, o que se observa no presente estudo quando aos 5 dias após I/R houve redução do número de neutrófilos, provavelmente por consumo no local da lesão, mediada por neutrófilos.

Houve variação do número de linfócitos circulantes em todos os momentos para todos os animais deste trabalho. Enquanto o grupo controle apresentou elevação do número de linfócitos as 24 horas, o grupo experimental-I/R apresentou a redução dos valores, e o inverso ocorreu aos 5 dias. Aos 21 dias somente o grupo I/R fêmeas apresentou valores menores que os outros animais, os quais apresentaram valores semelhantes ao início dos trabalhos.

Houve aumento no número de monócitos, em ambos os sexos (ANOVA de uma via de medidas repetitivas, $p < 0,001$), sendo que nas fêmeas este aumento foi mais evidente às 24 horas, enquanto nos machos ocorreu aos 14 dias (Tukey, $p < 0,05$). Hokama e Machado (1997) relatam que os monócitos são células mononucleares produzidas na medula óssea e quando amadurecem, são liberados para o sangue e, após 36 a 106 horas em circulação se distribuem em diversos tecidos do organismo e se transformam em macrófagos teciduais.

6 CONCLUSÕES

O modelo de isquemia por 10 minutos se mostrou viável, pois foi caracterizado pelas alterações dos parâmetros bioquímicos urinários analisados, e pela evolução da doença, dentre eles: glicose, proteína, creatinina, atividade enzimática de fosfatase alcalina e gama glutamiltransferase urinária, dos parâmetros da urinálise, da relação proteína/creatinina urinária.

Os parâmetros bioquímicos séricos e hematológicos analisados permaneceram dentro dos valores de normalidade em todos os momentos experimentais, mesmo com a continuidade da doença até os 21 dias, conforme as observações realizadas dos parâmetros urinários e pela análise histopatológica do rim submetido a I/R.

7 REFERÊNCIAS

Aalto TK, Raivio KO. Nucleotide depletion due to reactive oxygen metabolites in endothelial cells: effects of antioxidants. *Pediatric Res.* 1993; 34:572-76.

Abbas AB, Lichtman AH, Pillai S. *Imunologia celular e molecular*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

Almeida AS, Faleiros ACG, Teixeira DNS, Cota UA, Chica JEL. Reference values for bloodbased biochemical parameters in BALB/c and C57BL/6 wild-type mice. *J Bras Patol Med Lab.* 2008; 44(6): 429-32.

Almeida S, Carvalho P, Salgado M. Importância clínica do RDW na criança com anemia. *Saúde Inf.* 2006; 28(2): 7-11.

Alves MAR. Diagnóstico de Doença Renal Crônica: Avaliação de Proteinúria e Sedimento Urinário. *J Bras Nefrol.* 2004; 26(3 suppl 1) (3): 6-8.

American College of Laboratory Animal Medicine (ACLAM). Position statement on animal experimentation [internet]. Illinois: United States; 2004 [acesso em dez 2011]. Disponível em: http://www.aclam.org/PDF/pub_animal_experimentation.pdf.

Andrade BH, Chaves MM, Ribeiro AM. Health status of male adult Wistar rats from two experimental animal houses of UFMG: Leukocyte counts, feces and lung histological exams. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2002; 45 (3): 287-291.

Andrade SC, Dezoti C, Shibuya CA, *et al.* Comparative roles of alopurinol and n-acetylcysteine in the ischemic acute renal failure. *J Bras Nefrol.* 2004; 2:69-75.

Araújo WM, Júnior ST, Costa RS, Ferreira RA, Pozza ML, Mazzeto SA, Alves P, Cologna AJ, Martins ACP. Animal model of ischemic injury, and chlorpromazine protector effect, evaluate by TC- 99M-MAG3 dynamic renal scan. *Acta Cir Bras.* 2002; 17(3):15-19.

Bain BJ. *Blood cells: a practical guide*. 4ª ed. Oxford, UK: Blackwell; 2006.

Barbosa CM, Sakate M, Camplesi AC, Vailati MCF, Moraes LF, Takahira RK. Evaluations hematological and biochemical by the use of sodium diclofenac, meloxicam and firocoxib in rats. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2010; 47(2): 118-126

Barrera-Chimal J, Villalva RP, Gonzalez CC, Cervantes MO, Gamba G, Buenrostro LEM, Bobadilla NA. Hsp72 is an early and sensitive biomarker to detect acute kidney injury. *EMBO Mol Med*. 2011 Jan; 3(1):5-20. doi: 10.1002/emmm.201000105.

Behera S, Babu SM, Ramani YR, Choudhury PK, Patra SK. Role of ocimum canum in prevention of reperfusion-induced renal ischemia in wistar albino rats. *IJBAR*. 2012; 03(07): 584-94.

Bellomo R, Ronco C, Kellum JA *et al.* - Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure—Definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: The Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Crit Care*, 2004; 8:204–12.

Bender A, Koch W, Elstner M, Schombacher Y, Bender J, Moeschl M, Gekeler F, Müller-Myhsok B, Gasser T, Tatsch K, Klopstock T. Creatine supplementation in Parkinson disease: a placebo-controlled randomized pilot trial. *Neurology*. 2006 Oct; 67(7): 1262-4.

Bergonso, THD. Valores bioquímicos referenciais de javali (*Sus scrofa scrofa*, Linnaeus, 1758), confinados em fazendas do estado de São Paulo (Dissertação). São Paulo: Universidade Estadual Paulista; 2007.

Bernardi RM, Constantino L, Machado RA, Vuolo F, Budni P, Ritter C, Dal-Pizzol F. N-acetilcisteína e deferoxamina protegem contra insuficiência renal aguda induzida por isquemia/reperfusão em ratos. *Rev. Bras. Ter. Intensiva* [online]. 2012; 24(3): 219-23. doi.org/10.1590/S0103-507X2012000300003.

Bernardi RM. Papel do estresse oxidativo no desenvolvimento da insuficiência renal isquêmica: possibilidade terapêutica do uso de antioxidantes (Dissertação). Universidade do Extremo Sul Catarinense. Santa Catarina; 2007.

Bezerra JS, Teixeira W, Vattimo MFF. Efeito Protetor da Vitis Vinifera na Lesão Renal Aguda Isquêmica em Ratos. *J Bras Nefrol*. 2008; 30(2): 99-104.

Bittencourt JAF, Lopes DP, Zago G, Gomes HB, Boeno AC, Dacanal F, Rhoden C, Rhoden EL, Lucas M. Lithium toxicity effects on rat locomotion evidenced by a surgical animal model of acute kidney failure. *Acta Cir Bras* [serial online] 2001 Jun;16(2): 86-90. Dói <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-86502001000200005>.

Bonventre JV, Zuk A. Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? *Kidney Int*. 2004; 66: 480-85.

Branco ACSC, Diniz MFFM, Almeida RN, Santos HB, Oliveira KM, Ramalho JA, Dantas JG. Parâmetros Bioquímicos e Hematológicos de Ratos Wistar e Camundongos Swiss do Biotério Professor Thomas George. R Bras Sci Saúde. 2011; 15(2): 209-14.

Brandt CT, Leite CRC, Manhães-de-Castro R, Brandt Filho C, Castro CMMB. Aderência e atividade microbicida de monócitos em portadores de esquistossomose mansônica cirúrgica. Acta Cir Bras. 2003 Abr; 18(2): 143-53.

Brito MVH, Moreira RJ, Tavares MLC, Carballo MCS, Carneiro TX, Santos AAS. Efeito do óleo de copaíba nos níveis séricos de ureia e creatinina em ratos submetidos à síndrome de isquemia e reperfusão renal. Acta Cir Bras. 2005; 20(3): 243-6.

Brodsky SV, Yamamoto T, Tada T. Endothelial dysfunction in ischemic acute renal failure: Rescue by transplanted endothelial cells. Am J Physiol Renal Physiol. 2002; 282: 1140-49.

Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (Eds). Tietz Fundamentos de Química Clínica. 6^a Ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2008.

Carvalho JAM, Piva SJ, Hausen BS, Bochi GV, Kaefer M, Coelho AC, Duarte MMMF, Moresco RN. Assessment of urinary α -glutamyltransferase and alkaline phosphatase for diagnosis of diabetic nephropathy. Clinica Chimica Acta 412 (2011) 1407–1411.

Carvalho APM, Salavessa CM, Silveira LS. Ultrassonografia e histopatologia renal em cães. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2010 Aug; 62(4): 1015-17.

Carvalho CCD, Rêgo EW, Queque M, Soares P.C. Avaliação da proteína C reativa, fibrinogênio e leucograma em cadelas com e sem piometra. Med. Vet. 2008 Jun; 2: 1-8.

Carvalho GD, Masseno APB, Zanini MS, Zanini SF, Porfírio LC, Machado JP, Mauad, H. Avaliação clínica de ratos de laboratório (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar): parâmetros sanitários, biológicos e fisiológicos. Rev Ceres. 2009; 56(1): 51-7.

Carvalho APM, Salavessa CM, Silveira LS. Ultrassonografia e histopatologia renal em cães. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 2010 Aug; 62(4): 1015-17.

Castro e Silva Jr OD, Centurion S, Pacheco EG, Brisotti JL, Oliveira AF, Sasso KD. Aspectos básicos da lesão de isquemia e reperfusão e do pré-condicionamento isquêmico. Acta Cir Bras. 2002; 17: 96-100.

Castro BBA, Colugnati FAB, Cenedeze MA, Suassuna PGA, Pinheiro HS. Standardization of renal function evaluation in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the Federal University of Juiz de Fora's colony. *J Bras Nefrol* 2014; 36(2): 139-49

Cavalcanti AL, Lucena RN, Martins VM; Granville-Garcia AF. Caracterização da pesquisa odontológica e experimental em animais. *RGO*. 2009; 57(1): 93-98.

Cazarin M, Saridakis HO. Ação dos antioxidantes na lesão por isquemia e reperfusão. *Interbio*; 2007, 1(1): 27-33.

Cezar GO, Santos VD, Funchal C. Avaliação da compatibilidade entre bulas de diferentes marcas de tiras reagentes de urina. *Rev Uniara*. 2012 Jul; 15(1).

Charles River Laboratories. Wistar rat biochemistry; North American Colonies; 2008 Dec. Disponível em: <http://www.criver.com/sitecollectiondocuments/rm_rm_r_wistar_rat_biochemistry_2008.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2012

Chew D J, Carothers M. Hypercalcemia. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1989; 19(2): 265-87.

Chorilli M, Michelin DC, Salgado HRN. Animais de laboratório: o camundongo. *Rev Ciênc Farm Básica Apl*. 2007; 28(1): 11-23.

Clemo FA. Urinary enzyme evaluation of nephrotoxicity in the dog. *Toxicol Pathol*, Philadelphia. 1998; 26(1): 29-32.

Coles, EH. *Veterinary Clinical Pathology*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1986.

Colombeli ASS, Falkenberg M. Comparação de bulas de duas marcas de tiras reagentes utilizadas no exame químico de urina. *J Bras Patol Médica Lab*. 2006; 42: 85-93.

Costa MFB. Estudo do efeito nefroprotetor do extrato alcoólico de *Própolis vermelha* em um modelo de Lesão Renal Aguda por Isquemia em ratos (Dissertação). Ceará: Universidade Federal do Ceará; 2013.

Costa AF, Pereira LP, Ferreira ML, Silva PC, Chgar VL, Schanaider A. Modelo cirúrgico de insuficiência renal crônica. Estudo em coelhos. *Rev Col Bras Cir*. 2009; 36(1): 78-84.

Costa JAC, Vieira-Neto OM, Moysés NM. Insuficiência renal aguda. *In*: Simpósio Urgências e Emergências em Clínica Médica. Medicina (Ribeirão Preto). 2003; 36: 307-24.

Costaval JA, Massote AP, Cerqueira CMM, Costaval AP, Auler A, Martins GJ. Is it worth-while doing urine sediment microscopy in dipstick physicochemical normal samples? *Jornal Brasileiro de Patologia*. 2001; 37 (4):261-66.

Cotran RS, Kumar V, Collins TR. Patologia estrutural e funcional. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, 2000; 1-26.

Cullen MR, Murray PT, Fitzgibbon MC. Establishment of a reference interval for urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Ann Clin Biochem*. 2012; 49:190-3.

Cunha MS, Bandeira NG. Isquemia e Reperfusão de Tecidos. *Rev Soc Bras Cir Plast*. 2007; 22(3): 170-5.

Cutrín JC, Zingaro B, Camandola S, Boveris A, Pompella A, Poli G. Contribution of g glutamyl transpeptidase to oxidative damage of ischemic rat kidney. *Kidney Int*, 2000; 57: 526–33.

Dantas JA, Ambiel CR, Cuma RKN, Baroni S, Bersani-amado CA. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Federal Estadual de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci Health Sci*. 2006; 28(2): 165-70.

De Gruttola VG, Clax P, DeMets DL *et al*. Considerations in the evaluation of surrogate endpoints in clinical trials: summary of a National Institutes of Health workshop. *Control Clin Trials*, 2001; 22:485-502.

De Menezes LB, Fioravanti MCS, Silva MSB, Franco LG, Sales, TP, Andrascko MM, Veado JCC, Araújo EG. Evaluation of chlorpromazine effect at renal function in dogs submitted to ischemia and reperfusion. *Pesq Vet Bras*. 2010; 30(2): 108-14.

Dezoti C, Andrade SC, Watanabe M, Shibuya CA, Vattimo MF. Alopurinol na Insuficiência Renal Aguda Isquêmica em Ratos: a Recuperação é Tempo-Dependente?. *J Bras Nefrol*. 2005 Dez; 27(4): 167-72.

Draibe AS, Cendoroglo M. Tratamento conservador da insuficiência renal crônica. *Diagn Tratamento*. 2001; 6(2): 17-23.

Eaton DC, Pooler JP. Fisiologia Renal de Vander. 6ª ed. Porto Alegre, Artmed, 2006.

Evans TC, Jehle D. "The red blood cell distribution width," J Emerg Med. 1991; 9(1): 71–4.

Fagundes DJ, Taha MO. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. Acta Cir Bras. 2004; 19(1): 59-65.

Fekete A, Vannay Á, Vér Á, Vásárhelyi B, Muller V, Ouyang N, Reusz G, Tulassay T, Szabó A. Sex differences in the alterations of Na⁺,K⁺-ATPase following ischaemia–reperfusion injury in the rat kidney. J Physiol. 2003; 555(2): 471–480. doi: 10.1113/jphysiol. 2003.054825.

Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Baltimore: 147 Lippincott Williams & Wilkins; 2000.

Ferreira LM, Ferreira LRK. Experimental model: historic and conceptual revision. Acta Cir Bras. 2003; 18: 1-3.

Ferreira LM, Hochman B, Barbosa MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. Acta Cir Bras. 2005 Nov; 20: 28-34.

Ferreira Soares, Bruno, Pessoa Cordeiro, Priscila, Barbosa de Sales, Bruno, dos Santos, Carlos Fernando. Estudo comparativo entre o hemograma humano e veterinário. Ensaios e C. 2012; 16(4): 87-100.

Fichbach F. Exames Laboratoriais e Diagnósticos. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2002.

Formiga CC. Comparação entre as modalidades de isquemia renal isotérmica seletiva, não-seletiva e intermitente em coelhos (Tese). São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

Franscischetti I, Moreno JB, Scholz M, Yoshida WB. Os leucócitos e a resposta inflamatória na lesão de isquemia-reperfusão. Rev Bras Cir Cardiovasc [online]. 2010, 25(4): 575-584. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-76382010000400023>

Funchal C, Mascarenhas M, Guedes R. Correlação Clínica e técnicas de uroanálise: teoria e prática. 2ed., Porto Alegre, Sulina, Editora Universitária Metodista IPA, 2011, 126p.

Gobe Gc, Johnson DW. Distal tubular epithelial cells of the kidney: Potential support for proximal tubular cell survival after renal injury. IJBCB. 2007; 39: 1551–61.

Gonçales LN, Paoliello MMB, Janeiro V, Machinski JM. N-acetil-β-D-glicosaminidase como biomarcador precoce de disfunção renal para a

exposição ocupacional ao chumbo inorgânico. J Bras Patol Med Lab. [serial on the Internet]. 2008 Aug [cited 2014 Aug 03]; 44(4): 241-47.

Gonçalves JBP, Miranda MC, Valcarenghi D, Bueno EC. Analise comparativa de metodologias para dosagem de proteinúria de 24 horas. RBAC. 2007; 39(1): 67-9.

Gonullu E, Ozkardeslerb S, Kumec T, Durub LS, Akanb M, Gunelid ME, Ergure BU, Meserif R, Dora R. Comparison of the effects of dexmedetomidine administered at two different times on renal ischemia/reperfusion injury in rats. Rev Bras Anesthesiol. 2014; 64(3):152-58.

González FHD, Carvalho V, Möller VA, Duarte FR. Perfil bioquímico sanguíneo de cães e gatos na cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Arq Fac Vet, UFRGS. 2001; 29:1- 6.

Grauer GF. Distúrbios urinários. In: Nelson RW; Couto CG. Fundamentos de medicina interna de pequenos animais. São Paulo: Guanabara Koogan, 2001; 331-85.

Grotto HZW Blood cell analysis: the importance for biopsy interpretation Rev Bras Hematol Hemoter. 2009; 31(3):178-82.

Guyton SC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 11a ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006. 148

Han WK, Bonventre JV - Biologic markers for the early detection of acute kidney injury. Curr Opin Crit Care, 2004; 10:476-82.

Hedrich HJ. (Ed). The Laboratory Mouse. London: Academic Press; 2004.

Heiene R, Moe L, Molmen G. Calculation of urinary enzyme excretion, with renal structure and function in dogs with pyometra. Res in Vet Sci. 2001; 70: 129–37.

Hennemann CRA, Silva CF, Schoenau W, Kommers GD, Polydor AS, Leitzke MR. atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. Ciência Rural, Santa Maria. 1997; 2: 237-44.

Henry JB. Diagnóstico Clínico e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20 ed. São Paulo, Manole, 2008.

Heyman SN, Rosenberger C, Rosen S. Experimental ischemia-reperfusion: biases and myths - the proximal vs. distal hypoxic tubular injury debate revisited. *Kidney Int.* 2010; 77(1): 9-16.

Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH. *Essential haematology*. 4th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2001.

Hokama NK, Machado PEA. Interpretação Clínica do Hemograma nas Infecções. *JBM.* 1997; 72(3): 38-49

Hosseini F, Naseri MK, Badavi M, Ghaffari MA, Shahbazian H, Rashidi, I. Protective effect of beta carotene pretreatment on renal Ischemia/Reperfusion Injury in Rat. *Pak J Biol Sci.* 2009 Aug; 12(16): 1140-45.

Junior OCS, Centurion S, Pacheco EG, Brisotti JL, Oliveira AF, Sasso KD. Aspectos básicos da lesão de isquemia e reperfusão e do précondicionamento isquêmico. *Acta Cir Bras.* 2002;17(3):96-100.

Khan DA, Ahmad TM, Qureshil AH, Halim A, Ahmad M, Afzal S. Assessment of proteinuria by using protein: creatinine index in random urine sample. *J Pak Med Assoc* 2005; 55:428-31.

Kaplan ZS, Jackson SP. The Role of Platelets in Atherothrombosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2011: 51-61.

Karnad A, Poskitt TR. The automated complete blood cell count. Use of the red blood cell volume distribution width and mean platelet volume in evaluating anemia and thrombocytopenia. *Arch Intern Med.* 1985; 145(7): 1270-72.

Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N. Developing a consensus classification system for acute renal failure. *Curr Opin Crit Care.* 2002; 8:509-14.

Kellum JA. Acute Kidney Injury. *Crit Care*, 2008; 36:141-5.

Kerr MG. *Exames Laboratoriais em Medicina Veterinária. Bioquímica Clínica e Hematologia.* 2 ed. São Paulo: Roca, 2003.

Kirsztajn GM. Avaliação de Função Renal. *J Bras Nefrol.* 2009; 31 (Supl 1):14-20.

Kirsztain GM. Avaliação do ritmo de filtração glomerular. *J Bras Patol Med Lab.* 2007; 43(4): 257-64.

Konopka CL, Jurach A, Wender OCB. Experimental model for the study of chronic renal ischemia in rats: morphologic, histological and ultra-structural analysis. *Acta Cir Bras.* 2007 Feb; 22(1): 12-21. doi.org/10.1590/S0102-86502007000100003.

Konopka CL. Modelo experimental em ratos para o estudo da isquemia renal crônica, análise das alterações funcionais, morfológicas e ultra-estruturais. (Dissertação). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1998.

Lagranha CJ, Fiorino P, Casarini DE, Schaan BD, Irigoyen MC. Bases moleculares da glomerulopatia diabética. *Arq Bras Endocrinol Metab* [serial on the Internet]. 2007 Aug; 51(6): 901-12.

Leal DM, Júnior ST, Suaid HJ, Cologna AJ, Martins ACP, Roselino JES. Proteção Funcional do Rim com Lovastatina após Isquemia e Reperusão Renal. *Acta Cir. Bras.* 2001; 16(1):23-6. Suppl.1. doi.org/10.1590/S0102-86502001000500009.

Lewis SM, Bain BJ, Bates I. Dacie and Lewis practical haematology. 10th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone/Elsevier; 2006.

Lima CM, Lima AK, Melo MGD, Dória GAA, Leite BLS, Serafini MR, Albuquerque-Júnior RLC, Araújo AAS. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem *Wistar*) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. *Scientia Plena.* 2014; 10(3):1-9.

Lima, O. Métodos de Laboratório Aplicados a Clínica. 8ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

Lunn KF. The kidney in critically ill small animals. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice.* 2011; 41: 727-44.

Maciel AT, Park M, Macedo E. Fração de excreção de potássio na evolução da lesão renal aguda em pacientes graves: um potencial marcador a ser onitorizado? *Rev. bras. ter. intensiva.* 2014 Apr./June; 26(2):143-7. doi: 10.5935/0103-507X. 2014002.

Magro MCS, Vattimo FF. Avaliação da Função Renal: Creatinina e outros Biomarcadores. *Rev. bras. ter. Intensiva.* 2007 Jun; 19(2): 182-85.

Melchert A, Laposy CB, Motta YP, Garcia ACFZ. Gama-glutamil transpeptidase urinária como indicador de insuficiência renal aguda induzida por gentamicina em cães. *Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar.* 2007; 10(2): 111-16.

Melo MGD, Dória GAA, Serafini MR, Araújo AAS. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. *Scientia Plena*. 2012; 8(4).

Hennemann CRA, Silva CF, Schoenau W, Kommers GD, Polydoro AS, Leitzke MRM. Atividade da gama glutamil transpeptidase urinária, dosagens séricas de uréia e creatinina como meios diagnósticos auxiliares na nefrotoxicidade induzida por aminoglicosídeo em cães. *Ciência Rural*, Santa Maria. 1997; 27(2): 237-244.

Menezes LB, Fioravanti MCS, Silva MSB, Franco LG, Sales TP, Andrascko MM, Veado JCC, Araújo EG. Avaliação do efeito da clorpromazina sobre a função renal de cães submetidos à isquemia e reperfusão. *Pesq. Vet. Bras*. 2010; 30(2):108-14. doi.10.1590/S0100-736X2010000200002.

Meyer F, Silva DS, Bombonato GM, Lizana JN, Dziedricki LF, Krieger ML. Histological analysis and the blood flux in kidneys submitted to different periods of ischemia/reperfusion. *Acta Cir. Bras*. 2011 Nov/Dec; 26(6): 451-55.

Molitoris BA; Sutton TA. Endothelial injury and dysfunction :Role in the extension phase of acute renal failure. *Kidney Int*. 2004 Aug; 66(2):496-9.

Monteiro R, Brandau R, Gomes RWJ, Braile DM. Tendências em experimentação animal. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*. 2009; 24(4): 506-13.

Moore K L, Dalley AF. *Anatomia Orientada para a Clínica*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

Motta VT. *Bioquímica clínica para o Laboratório: Princípios e interpretações*. 4ª ed. Porto Alegre: Editora Médica Missau, 2003.

Muller V, Losonczy G, Heeman U, Vannay, A, Fekete A, Reusz G, Tulassay T, Szabó AJ. Sexual dimorphism in renal ischemia-reperfusion injury in rats: Possible role of endothelin. *Kidney International*. 2002; 62: 1364–71.

Nascimento ML. Por que na relação entre a concentração de hemoglobina globular média e a contagem de hemácias a avaliação do RDW-SD é importante? *News Lab*. 2003; 61: 94-104.

Nunes TF, Brunetta DM, Leal CM, Pisi PCB, Roriz-Filho JS. Insuficiência renal aguda. *Rev. Medicina*. 2010; 43(3): 272-82.

Palacio J, Liste F, Gascon M. Enzymuria como um índice de dano renal em leishmaniasis canino. *The Veterinary Record*. 1997; 140(18): 477-80.

Park Y, Hirose R, Dang K, Xu F, Behrends M, Tan V, Roberts JP, Niemann CU. Increased severity of renal ischemia-reperfusion injury with venous clamping compared to arterial clamping in a rat modelo. *Surgery*. 2008; 143(2): 243-51.

Percário S. Prevenção antioxidante do dano de reperfusão. *Rev. Nutr.* 2010; 23(2): 259-67.

Peres LAB, Cunha JAD, Schäfer AJ, Silva AL, Gaspar AD; Scarpari DF; Alves JBF; Neto RG; Oliveira TFT. Biomarcadores da injúria renal aguda *J Bras Nefrol.* 2013; 35(3): 229-36.

Pompermayer K, Souza DG, Lara GG, Silveira KD, Cassalil GD, Andrade AA, Bonjardim CA, Passaglio KT, Assreuy J, Cunha FQ, Vieira MAR, Texeira M. The ATP-sensitive potassium channel blocker glibenclamide reverts renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Kidney International*. 2005; 67: 1785–96.

Ramalho R J, Oliveira PS, Cavaglieri RC, Silva C, Medeiros PR, Filho DM, Polide-Figueiredo LF, Noronha IL. Hyperbaric oxygen therapy induces kidney protection in an ischemia/reperfusion model in rats. *Transplant Proc.* 2012 Oct; 44(8):2333-36.

Reine NJ, Langston CE. Urinalysis Interpretation: How to Squeeze Out the Maximum Information from a Small Sample. *Clinical Techniques in small animal practice*. 2005; 2-8.

Ribeiro ME, Yoshida WB. Lesões intestinais decorrentes de isquemia e reperfusão: fisiopatologia e modelos experimentais. *J Vasc Br.* 2005; 4(2):183-94.

Riella MC, Pachaly MA, Zunino S. Avaliação clínica e laboratorial da função renal. In: RIELLA, M.C. *Princípios de nefrologia e distúrbios hidroeletrólíticos*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2003, p. 267-93.

Rivers BJ, Walter PA, O'brien TD, King VL, Polzin DJ. Evaluation of urine gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio as a diagnostic tool in an experimental model of aminoglycoside-induced acute renal failure in the dog. *Journal of Americam Animal Hospital Association*. 1996; 32(4): 323-36.

Robert R, Ghazali DA, Favreau F, Mauco G, Hauet T, Goujon JM. Gender difference and sex hormone production in rodent renal ischemia reperfusion injury and repair. *Journal of Inflammation*. 2011; 8:14.

Rodrigues TC, Pecis M, Azevedo MJ, Gross JL. Homeostase pressóricas e complicações microvasculares em pacientes diabéticos. *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* 2009 Dez.; 49(6): 882-90.

Ross L. Acute kidney injury in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*, Philadelphia, v. 41:1–14, 2011.

Ross S. Uremia aguda no gato. *Veterinary Focus*, London, 2009; 18: 23-30.

Rothenberg ME, Hogan SP. The eosinophil. *Annu Rev Immunol.* 2006; 24: 147–74.

Sagiroglu T, Sezer A, Torun N, Yalta T, Yagcil MA, Sagiroglu G; Copuroglu E. Protective Effect of Everolimus on Renal Ischemia Reperfusion Injury in rats. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2014; 25(2):294-302.

Santos LS, Chin EWK, Ioshii SO, Tambara FR. Surgical reduction of the renal mass in rats: morphologic and functional analysis on the remnant kidney. *Acta Cir Bras.* 2006 Aug; 21(4): 252-57.

Sato AF, Svidzinski AE, Consolaro MEL, Boer CG. Urinary nitrite and urinary-tract infection by gram-positive cocci. *J Bras Patol Med Lab.* 2005 Dez; 41(6): 397-404.

Schrier RW, Wang W, Poole B, Mitra A. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy. *J Clinical Invest.* 2004; 114: 5-14.

Schumann G, Bonora R, Ceriotti F, Férard G, Ferrero CA, Franck PF, et al. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentrations of enzymes at 37 degrees C. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. Part 5. Reference procedure for the measurement of catalytic concentration of aspartate aminotransferase. *Clin*

Chem Lab Med. 2002 Jul; 40(7): 725-33. Erratum in: *Clin Chem Lab 154 Med.* 2010 May; 48(5): 615-21.

Scott DA, Krauss J. Neutrophils in periodontal inflammation. *Front Oral Biol.* 2011 Nov; 15:56-83.

Secin FP. Importance and Limits of Ischemia in Renal Partial Surgery: Experimental and Clinical Research *Adv Urol.* 2008; 1-10.

Seelig VC. Questões atuais relacionadas ao uso de modelos animais em pesquisa científica (Monografia) - Especialização em Análises Clínicas

Veterinárias - Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2007.

Shahsavani D, Kazerani HR, Kaveh S, Gholipour-Kanani H. Determination of some normal serum parameters in starry sturgeon (*Acipenser stellatus* Pallas, 1771) during spring season. *Comp Clin Pathol*. 2010; 19: 57–61.

Shoskes DA; McMarrow AW. Renal Physiology and Pathophysiology. In: Campbell-Walsh Urology 9th ed. 2007.P.1131-55.

Si Y-N, Bao HG, Xu L, Wang XL, Shen Y, Wang JS, Yang XB. Dexmedetomidine protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidney. *European Review for Medical and Sciences*. 2014; 18:1843-51.

Simmons MN, Schreiber MJ, Gill IS. Surgical renal ischemia: a contemporary overview. *J Urol*. 2008;180:19–30

Sodré FL, Costa JCB, Lima JCC. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. *J Bras Patol Med Lab*. 2007 Out; 43(5): 329-37.

Souza C, Lopes STA, Batina PN, Cecim M, Cunha CM, Conrado AC, et al. Estresse parasitário em cabras saanen: Avaliação hematológica e da atividade oxidativa dos neutrófilos. *Vet Not*. 2006 Dez; 12(2): 17-23.

Souza, AVG. Avaliação da proteção renal de doses altas de melatonina em modelo de experimentação de isquemia e reperfusão renal em ratos submetidos à hiperglicemia. (Tese). Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2013.

Steffen EL, Oliveira CF, Bellé LP, Pereira RS, Piva SJ, Domingues VO, Moresco RN, Moretto MBZ. Novas Perspectivas Laboratoriais para a Detecção da Lesão Renal. *NewsLab*. 2010; (101):156-68.

Szabo C, Zingarelli B, Salzman AL. Role of poly- ADP ribosyltransferase activation in the vascular contractile and energetic failure elicited by exogenous and endogenous nitric oxide and peroxynitrite. *Circ Res* 1996;78: 1051-63.

Tanaka R, Takayama J, Takaoka M, Sugino Y, Ohkita M, Matsumura Y. Oligomycin, an F1FO-ATPase Inhibitor, Protects Against Ischemic Acute Kidney Injury in Male but Not in Female Rats. *J Pharmacol Sci*. 2013; 123: 227-34.

Tardini DMS, Yoshida WB, Novelli ELB, Sequeira JL. Avaliação de dois modelos experimentais de isquemia e reperfusão cerebral em ratos com

oclusão temporária carotídea associada ou não à oclusão vertebral. Acta Cir Bras. 2003 Dez; 18(6): 514-17.

Teshima CAS, Watanabe M, Fonseca CD, Vattimo MFF. Sinvastatina e lesão renal aguda isquêmica em ratos. Acta Paul Enferm. 2012; 25(1):86-9.

Teshima CAS, Watanabe M, Nakamura SH, Vattimo MFF Renoprotective effect of statin: a ischemia-reperfusion animal model. Rev Bras Ter Intensiva. 2010; 22(3):245-49.

Todorovic Z, Medic B, Basta-Jovanovic G, Skodric SR, Stojanovic R, Rovcanin B, Prostran M. Acute Pretreatment with Chloroquine Attenuates Renal I/R Injury in Rats. PLoS ONE. 2014; 9(3): e92673. doi:10.1371/journal.pone.0092673.

Togoe EB, Silva IS, Cury JL, Souza AS, Borges JHS, Saturnino KC. Animal model of chronic kidney disease using a unilateral technique of renal ischemia and reperfusion in White New Zealand rabbits. Acta Cir. Bras. [serial on the Internet]. 2014 Oct.; 29 (10): 651-57. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-8650201400160005>.

Troiano JC, Gould EG, Gould I. Hematological reference intervals in argentine lizard *Tupinambis merianae* (Sauria-Teiidae). Comp Clin Pathol. 2008; 17:93–7.

Tucci Junior S, Carvalho RM, Celini FM, Cologna AJ, Suaid HJ, Tirapelli LF, Martins ACP. Lesão de isquemia e reperfusão renal: influência da clorpromazina na função renal e na peroxidação lipídica. Acta Cir Bras. 2008; 23 (Suppl 1): 42-6.

Turgeon ML. Clinical hematology: theory and procedures. 4th ed. Hagerstown: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.

Vattimo MFF, Silva NO. *Uncária tomentosa* e a lesão renal aguda isquêmica em ratos. Rev Esc Enferm USP. 2011; 45(1):194-98.

Venial HJ, Cáo MA, Junior APSC, Filho JPS, Porfirio LC. Avaliação do perfil renal em ratos (*Rattus norvegicus*) tratados com glicocorticóides. Enciclopedia Biosfera, Centro Científico Conhecer. 2013; 9(17):393-401.

Vianna PTG. Marcadores Biomoleculares da Insuficiência Renal. Medicina Perioperatória. Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro. 2006; 57-61.

Villas Boas MVC, Araújo FMO, Gilberti MFP, Grotto HZW. Utilidade do RDW-SD como auxiliar na interpretação das alterações morfológicas dos eritrócitos. Roche Diagnóstica, 2003.

Vinagre RCO. Estudo da proteção renal com antioxidante durante isquemia e reperfusão e hiperglicemia transitória. (Tese). Botucatu: Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”; 2011.

Watanabe M. Intervenção farmacológica na lesão renal aguda isquêmica em ratos: resposta funcional e histológica tempo dependente (Tese). São Paulo: Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo; 2010.

Weiss DJ, Wardrop KJ (Eds). Schalm's Veterinary Hematology. 6th ed. Ames: Wiley Blackwell, 2010.

Yen MH, Weng TC, Liu SY, Chai CY, Lin CC. The hepatoprotective effect of Bupleurum kanoi, an endemic plant to Taiwan, against dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. Biol Pharm Bull. 2005 Mar; 28(3): 442-48.

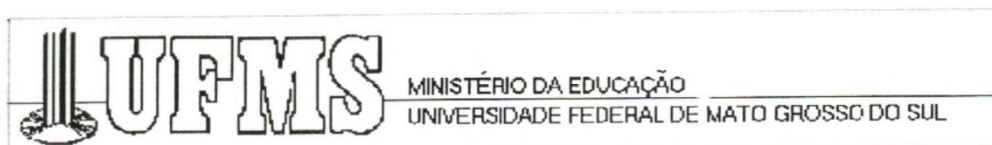
Zanella M T. Microalbuminúria: fator de risco cardiovascular e renal subestimado na prática clínica - Revisão. Arq Bras Endocrinol Metab. 2006; 50(2): 313-21.

Zárate P, Andrade SMO, Aydos RD. Diretrizes para Elaboração de Teses e Dissertação [manual]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na região Centro-Oeste. 2010.

Zhang J, Dawson VL, Dalson TM. Nitric oxide activation of poly (ADP-ribose) synthetase in neurotoxicity. Science. 1994; 263:687-89.

8 ANEXOS

8.1 ANEXO A – Certificado CEUA/UFMS n. 378 / 2011



C E R T I F I C A D O

Certificamos que o Protocolo nº 358 da Pesquisadora Telma Bazzano da Silva, **“Caracterização das alterações laboratoriais (bioquímica e urinária) em modelo animal (*Rattus norvegicus*, Wistar) portador de insuficiência renal crônica induzida por isquemia”**, está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião de 9 de novembro de 2011.

Campo Grande (MS), 21 de novembro de 2011.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Joice Stein', is written over a horizontal line.

Drª Joice Stein
Coordenadora da CEUA

9 APÊNDICES

9.1 APÊNDICE A

Tabela 4 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Série Branca de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

HEMATOLOGIA / Série Branca								
Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL- I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Leucócitos - LT ($10^3/\mu\text{L}$)								
24h	10,23 $\pm$ 0,53a	10,93 $\pm$ 1,29a	0,639	6,11 $\pm$ 0,98b	6,18 $\pm$ 0,45a	0,95	0,01	0,013
5d	9,42 $\pm$ 0,65a	10,59 $\pm$ 0,60a	0,232	6,28 $\pm$ 0,53abc	8,93 $\pm$ 0,40a	0,007	0,01	0,061
7d	10,41 $\pm$ 0,88 a	9,89 $\pm$ 0,21a	0,587	8,96 $\pm$ 0,68a	9,65 $\pm$ 0,36a	0,4	0,237	0,581
14d	8,78 $\pm$ 0,34 a	10,00 $\pm$ 0,88a	0,27	4,29 $\pm$ 0,26c	10,49 $\pm$ 2,11a	0,027	<0,001	0,838
21d	8,67 $\pm$ 0,29 a	9,40 $\pm$ 0,31a	0,13	7,97 $\pm$ 0,78ab	8,02 $\pm$ 0,64a	0,962	0,43	0,098
Valor de p	0,215	0,57		0,002	0,117			
Neutrófilos - Neut (%)								
24h	1,30 $\pm$ 0,27b	1,00 $\pm$ 0,22a	0,409	3,17 $\pm$ 0,46a	4,30 $\pm$ 0,51a	0,149	0,012	0,001
5d	3,87 $\pm$ 0,48 a	3,78 $\pm$ 0,82a	0,926	0,84 $\pm$ 0,17b	1,28 $\pm$ 0,18b	0,126	0,001	0,053
7d	1,38 $\pm$ 0,22b	1,08 $\pm$ 0,11a	0,264	1,20 $\pm$ 0,19b	2,50 $\pm$ 0,15ab	0,002	0,551	<0,001
14d	0,76 $\pm$ 0,08b	1,02 $\pm$ 0,07a	0,052	0,75 $\pm$ 0,05b	2,56 $\pm$ 0,74ab	0,05	0,879	0,084
21d	0,78 $\pm$ 0,30b	0,98 $\pm$ 0,13a	0,558	0,55 $\pm$ 0,06b	1,52 $\pm$ 0,17b	0,002	0,477	0,043
Valor de p	<0,001	0,001		<0,001	0,002			
Linfócitos - Linf (%)								
24h	6,15 $\pm$ 0,69 a	6,85 $\pm$ 0,40a	0,415	2,69 $\pm$ 0,43b	2,82 $\pm$ 0,79b	0,886	0,005	0,004
5d	4,01 $\pm$ 0,29b	3,74 $\pm$ 0,47b	0,642	6,22 $\pm$ 0,77a	7,19 $\pm$ 0,17a	0,264	0,036	<0,001
7d	6,48 $\pm$ 0,10 a	6,98 $\pm$ 0,90a	0,604	7,54 $\pm$ 0,49a	6,95 $\pm$ 0,25a	0,333	0,082	0,977
14d	5,68 $\pm$ 0,29ab	6,52 $\pm$ 0,13ab	0,036	3,20 $\pm$ 0,33b	6,39 $\pm$ 0,82a	0,011	0,001	0,876
21d	6,77 $\pm$ 0,25 a	6,34 $\pm$ 0,93ab	0,669	3,17 $\pm$ 0,73b	5,11 $\pm$ 0,55ab	0,077	0,003	0,299
Valor de p	0,004	0,019		<0,001	<0,002			
Monócitos - Mono (%)								
24h	0,12 $\pm$ 0,03 a	0,14 $\pm$ 0,02a	0,618	0,22 $\pm$ 0,03a	0,30 $\pm$ 0,06a	0,237	0,067	0,03
5d	0,11 $\pm$ 0,04 a	0,14 $\pm$ 0,04a	0,579	0,15 $\pm$ 0,02a	0,37 $\pm$ 0,18a	0,314	0,309	0,289
7d	0,14 $\pm$ 0,08 a	0,14 $\pm$ 0,02a	0,951	0,19 $\pm$ 0,05a	0,16 $\pm$ 0,06a	0,769	0,625	0,683
14d	0,10 $\pm$ 0,03 a	0,18 $\pm$ 0,01a	0,083	0,15 $\pm$ 0,03a	0,47 $\pm$ 0,14a	0,063	0,306	0,084
21d	0,14 $\pm$ 0,05 a	0,19 $\pm$ 0,02a	0,369	0,18 $\pm$ 0,01a	0,30 $\pm$ 0,05a	0,055	0,485	0,101
Valor de p	0,925	0,381		0,491	0,494			
Eosinófilos - Eo (%)								
24h	0,06 $\pm$ 0,01 a	0,05 $\pm$ 0,01a	0,134	0,03 $\pm$ 0,01a	0,02 $\pm$ 0,01a	0,458	0,014	0,028
5d	0,04 $\pm$ 0,01 a	0,04 $\pm$ 0,01a	0,58	0,05 $\pm$ 0,01a	0,05 $\pm$ 0,00a	0,816	0,57	0,153
7d	0,03 $\pm$ 0,01 a	0,04 $\pm$ 0,00a	0,331	0,02 $\pm$ 0,00a	0,02 $\pm$ 0,00a	0,62	0,413	0,013
14d	0,04 $\pm$ 0,01 a	0,03 $\pm$ 0,01a	0,267	0,19 $\pm$ 0,11a	0,05 $\pm$ 0,01a	0,275	0,243	0,175
21d	0,05 $\pm$ 0,01 a	0,14 $\pm$ 0,11a	0,46	0,05 $\pm$ 0,02a	0,03 $\pm$ 0,01a	0,234	0,911	0,324
Valor de p	0,074	0,482		0,135	0,048			
Basófilos - Baso (%)								
24h	0,03 $\pm$ 0,01 a	0,02 $\pm$ 0,00a	0,304	0,01 $\pm$ 0,00b	0,02 $\pm$ 0,00a	0,002	0,086	0,207
5d	0,01 $\pm$ 0,00a	0,01 $\pm$ 0,00a	0,097	0,02 $\pm$ 0,00ab	0,05 $\pm$ 0,02a	0,143	0,05	0,125
7d	0,02 $\pm$ 0,01 a	0,02 $\pm$ 0,00a	0,705	0,02 $\pm$ 0,00ab	0,02 $\pm$ 0,00a	0,705	1	1
14d	0,02 $\pm$ 0,01 a	0,01 $\pm$ 0,00a	0,67	0,01 $\pm$ 0,00b	0,02 $\pm$ 0,00a	0,356	0,468	0,537
21d	0,02 $\pm$ 0,00a	0,02 $\pm$ 0,00a	1	0,03 $\pm$ 0,00a	0,07 $\pm$ 0,04a	0,367	0,114	0,27
Valor de p	0,205	0,371		0,012	0,244			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

9.2 APÊNDICE B

Tabela 5 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Série Vermelha de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

HEMATOLOGIA / Série Vermelha								
Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL-I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Hemácia - Hm ($\cdot 10^6/\mu\text{L}$)								
24h	8,14 $\pm$ 0,10a	7,96 $\pm$ 0,13a	0,324	7,94 $\pm$ 0,15a	8,00 $\pm$ 0,19a	0,809	0,306	0,013
5d	8,21 $\pm$ 0,21a	8,07 $\pm$ 0,08a	0,551	6,36 $\pm$ 0,13c	7,50 $\pm$ 0,19a	0,003	<0,001	0,061
7d	8,17 $\pm$ 0,10a	8,62 $\pm$ 0,22a	0,11	6,33 $\pm$ 0,10c	7,78 $\pm$ 0,40a	0,013	<0,001	0,581
14d	8,12 $\pm$ 0,12a	8,32 $\pm$ 0,25a	0,496	7,04 $\pm$ 0,17b	7,38 $\pm$ 0,15a	0,188	0,002	0,838
21d	7,69 $\pm$ 0,07a	8,60 $\pm$ 0,22a	0,02	7,43 $\pm$ 0,14a	8,18 $\pm$ 0,17a	0,015	0,154	0,098
Valor de p	0,095	0,142		<0,001	0,095			
Hemoglobina - Hb (g/dL)								
24h	16,05 $\pm$ 0,23a	15,55 $\pm$ 0,25a	0,185	15,83 $\pm$ 0,35a	15,28 $\pm$ 0,43ab	0,355	0,606	0,596
5d	14,83 $\pm$ 0,11c	14,50 $\pm$ 0,25a	0,287	12,55 $\pm$ 0,20c	13,93 $\pm$ 0,23ab	0,004	<0,001	0,147
7d	15,10 $\pm$ 0,18bc	14,43 $\pm$ 0,17a	0,032	12,48 $\pm$ 0,17c	12,93 $\pm$ 0,22b	0,151	<0,001	0,002
14d	15,78 $\pm$ 0,13ab	15,60 $\pm$ 0,26a	0,568	14,68 $\pm$ 0,29b	13,95 $\pm$ 0,48ab	0,243	0,013	0,023
21d	15,50 $\pm$ 0,33abc	15,35 $\pm$ 0,45a	0,798	15,58 $\pm$ 0,15a	15,38 $\pm$ 0,43a	0,677	0,844	0,969
Valor de p	0,009	0,027		<0,001	<0,001			
Hematócrito - Ht (%)								
24h	46,40 $\pm$ 0,42a	45,58 $\pm$ 0,71a	0,356	46,30 $\pm$ 0,81a	44,83 $\pm$ 1,13a	0,33	0,916	0,595
5d	44,08 $\pm$ 0,26b	43,68 $\pm$ 0,63ab	0,576	38,23 $\pm$ 0,70b	41,35 $\pm$ 0,76b	0,023	<0,001	0,056
7d	45,18 $\pm$ 0,40ab	42,73 $\pm$ 0,45b	0,007	38,55$\pm$0,65b	38,73 $\pm$ 0,75b	0,866	<0,001	0,004
14d	44,88 $\pm$ 0,15b	45,28 $\pm$ 0,36ab	0,341	44,28 $\pm$ 0,87a	41,75 $\pm$ 1,15ab	0,13	0,522	0,026
21d	45,33 $\pm$ 0,32ab	45,13 $\pm$ 0,99ab	0,853	46,20 $\pm$ 0,83a	45,60 $\pm$ 1,05a	0,67	0,364	0,753
Valor de p	0,003	0,023		<0,001	<0,001			
Volume Corpuscular Médio - VCM (fL)								
24h	57,05 $\pm$ 0,30a	57,28 $\pm$ 0,39a	0,661	58,25 $\pm$ 1,01d	56,05 $\pm$ 0,79a	0,137	0,297	0,214
5d	57,40 $\pm$ 0,17a	57,45 $\pm$ 0,26a	0,877	60,15 $\pm$ 1,02c	55,18 $\pm$ 0,47a	0,004	0,038	0,006
7d	55,28 $\pm$ 0,35b	54,75 $\pm$ 0,47b	0,406	60,93 $\pm$ 0,83bc	55,05 $\pm$ 0,68a	0,002	0,001	0,729
14d	55,95 $\pm$ 0,56ab	54,40 $\pm$ 0,11b	0,035	62,90 $\pm$ 0,49a	56,55 $\pm$ 0,52a	<0,001	<0,001	0,007
21d	54,70 $\pm$ 0,50b	52,23 $\pm$ 0,13c	0,013	62,25 $\pm$ 0,66ab	55,75 $\pm$ 0,30a	<0,001	<0,001	<0,001
Valor de p	<0,001	<0,001		<0,001	0,043			
Hemoglobina Corpuscular Média - HCM (pg)								
24h	19,75 $\pm$ 0,37a	19,53 $\pm$ 0,22ab	0,619	20,05 $\pm$ 0,35bc	19,10 $\pm$ 0,12a	0,044	0,579	0,139
5d	19,65 $\pm$ 0,18a	20,25 $\pm$ 0,68a	0,425	19,75 $\pm$ 0,29c	18,58 $\pm$ 0,19ab	0,015	0,781	0,054
7d	19,58 $\pm$ 0,18a	19,63 $\pm$ 0,17ab	0,844	19,73 $\pm$ 0,24c	18,40 $\pm$ 0,20b	0,005	0,628	0,004
14d	19,15 $\pm$ 0,13a	18,90 $\pm$ 0,18ab	0,303	20,88 $\pm$ 0,41ab	18,90 $\pm$ 0,32ab	0,009	0,007	1
21d	17,70 $\pm$ 0,20b	17,98 $\pm$ 0,41b	0,566	20,98 $\pm$ 0,34a	18,80 $\pm$ 0,22ab	0,002	<0,001	0,125
Valor de p	<0,001	0,011		<0,001	0,014			
Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média - CHCM (%L)								
24h	34,60 $\pm$ 0,49a	34,10 $\pm$ 0,20a	0,384	34,15 $\pm$ 0,17a	34,10 $\pm$ 0,40a	0,913	0,42	1
5d	33,63 $\pm$ 0,25a	30,60 $\pm$ 2,38a	0,293	32,85 $\pm$ 0,13ab	33,68 $\pm$ 0,06a	0,001	0,031	0,243
7d	34,10 $\pm$ 0,25a	34,13 $\pm$ 0,20a	0,94	32,38 $\pm$ 0,23b	33,38 $\pm$ 0,17a	0,014	0,002	0,031
14d	34,63 $\pm$ 0,35a	34,53 $\pm$ 0,15a	0,804	33,33 $\pm$ 0,53ab	33,40 $\pm$ 0,30a	0,918	0,106	0,016
21d	31,63 $\pm$ 0,17b	33,05 $\pm$ 0,79a	0,128	33,75 $\pm$ 0,40ab	33,70 $\pm$ 0,22a	0,915	0,003	0,457
Valor de p	<0,001	0,164		0,021	0,279			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey
Cont...

Cont.. Tabela 5 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Série Vermelha, de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL-I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos / Desvio Padrão - RDW-SD (fL)								
24h	25,20 $\pm$ 0,91a	25,90 $\pm$ 0,59a	0,541	22,08 $\pm$ 0,27c	22,83 $\pm$ 0,53b	0,257	0,016	0,008
5d	25,90 $\pm$ 0,59a	24,90 $\pm$ 0,86ab	0,375	27,83 $\pm$ 1,24b	25,05 $\pm$ 0,69b	0,099	0,23	0,897
7d	24,73 $\pm$ 0,41a	25,68 $\pm$ 0,45ab	0,172	28,48 $\pm$ 1,21b	24,38 $\pm$ 0,17b	0,041	0,026	0,057
14d	24,65 $\pm$ 0,65a	23,53 $\pm$ 0,59b	0,246	33,05 $\pm$ 1,17a	30,53 $\pm$ 1,57a	0,245	0,001	0,006
21d	23,35 $\pm$ 0,38a	25,10 $\pm$ 0,37ab	0,016	30,40 $\pm$ 1,09ab	30,90 $\pm$ 1,05a	0,753	0,001	0,002
Valor de p	0,054	0,04		<0,001	<0,001			
Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos / Coeficiente de Variação - RDW-CV (fL)								
24h	13,58 $\pm$ 0,79a	13,65 $\pm$ 0,50b	0,939	11,40 $\pm$ 0,18b	12,23 $\pm$ 0,13b	0,01	0,037	0,06
5d	12,80 $\pm$ 0,21a	13,43 $\pm$ 0,45b	0,254	14,15 $\pm$ 0,52a	13,80 $\pm$ 0,32b	0,59	0,054	0,523
7d	12,75 $\pm$ 0,44a	13,95 $\pm$ 0,28b	0,06	14,45 $\pm$ 0,58a	13,78 $\pm$ 0,26b	0,328	0,057	0,662
14d	12,55 $\pm$ 0,21a	13,98 $\pm$ 0,27b	0,005	15,05 $\pm$ 0,55a	16,58 $\pm$ 0,64a	0,122	0,015	0,01
21d	13,45 $\pm$ 0,57a	15,88 $\pm$ 0,19a	0,007	13,85 $\pm$ 0,31a	17,48 $\pm$ 0,46a	0,001	0,562	0,018
Valor de p	0,475	<0,001		<0,001	<0,001			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

9.3 APÊNDICE C

Tabela 6 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Hematológicos/ Plaquetas de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL-I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Plaquetas - PLT ($\cdot 10^9/\mu\text{L}$)								
24h	736,50 $\pm$ 89,60a	672,25 $\pm$ 43,33a	0,542	728,00 $\pm$ 68,83a	798,50 $\pm$ 22,85a	0,369	0,942	0,042
5d	778,75 $\pm$ 46,46a	726,50 $\pm$ 29,07a	0,377	757,00 $\pm$ 50,88a	881,00 $\pm$ 57,60a	0,158	0,763	0,054
7d	690,50 $\pm$ 39,90a	602,75 $\pm$ 22,71a	0,105	703,00 $\pm$ 42,57a	736,00 $\pm$ 151,26a	0,841	0,837	0,417
14d	764,00 $\pm$ 19,72a	669,25 $\pm$ 114,02a	0,444	575,00 $\pm$ 88,11a	816,75 $\pm$ 55,11a	0,059	0,081	0,288
21d	684,00 $\pm$ 14,27a	606,75 $\pm$ 38,04a	0,106	663,50 $\pm$ 104,49a	757,25 $\pm$ 36,51a	0,429	0,852	0,029
Valor de p	0,399	0,595		0,552	0,641			
Volume Médio de Plaquetas - VMP (fL)								
24h	7,80 $\pm$ 0,06a	8,03 $\pm$ 0,06a	0,039	8,05 $\pm$ 0,12b	7,85 $\pm$ 0,06a	0,19	0,108	0,1
5d	7,85 $\pm$ 0,12a	7,98 $\pm$ 0,10a	0,458	7,60 $\pm$ 0,08c	7,63 $\pm$ 0,05b	0,801	0,134	0,022
7d	7,78 $\pm$ 0,05a	8,10 $\pm$ 0,08a	0,014	7,70 $\pm$ 0,08c	7,53 $\pm$ 0,02b	0,086	0,458	0,001
14d	7,70 $\pm$ 0,07a	8,08 $\pm$ 0,05a	0,005	8,33 $\pm$ 0,06a	8,03 $\pm$ 0,11a	0,057	0,001	0,693
21d	7,75 $\pm$ 0,10a	7,80 $\pm$ 0,04a	0,648	8,23 $\pm$ 0,05ab	7,93 $\pm$ 0,10a	0,039	0,004	0,303
Valor de p	0,688	0,112		<0,001	<0,001			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

9.4 APÊNDICE D

Tabela 7 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Séricos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

BIOQUÍMICA SÉRICA								
Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL-I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Proteínas totais- PT (g/dL)								
24h	5,13 $\pm$ 0,37b	5,53 $\pm$ 0,09c	0,364	5,23 $\pm$ 0,53a	5,90 $\pm$ 0,12ab	0,264	0,883	0,052
5d	5,60 $\pm$ 0,16ab	5,77 $\pm$ 0,09bc	0,389	5,25 $\pm$ 0,13a	5,60 $\pm$ 0,18b	0,166	0,141	0,44
7d	6,00 $\pm$ 0,15a	5,91 $\pm$ 0,16bc	0,709	5,68 $\pm$ 0,05a	5,78 $\pm$ 0,10ab	0,413	0,087	0,504
14d	6,30 $\pm$ 0,19a	5,81 $\pm$ 0,35ab	0,533	5,45 $\pm$ 0,28a	5,50 $\pm$ 0,24b	0,897	0,046	0,127
21d	6,38 $\pm$ 0,08a	6,50 $\pm$ 0,04a	0,194	6,10 $\pm$ 0,12a	6,40 $\pm$ 0,13a	0,143	0,104	0,488
Valor de p	0,001	0,002		0,229	0,006			
Albumina- Alb (g/dL)								
24h	3,80 $\pm$ 0,36a	4,30 $\pm$ 0,16 ^a	0,269	3,85 $\pm$ 0,40a	4,13 $\pm$ 0,13a	0,535	0,929	0,427
5d	3,94 $\pm$ 0,27a	4,20 $\pm$ 0,04a	0,405	3,93 $\pm$ 0,09a	3,88 $\pm$ 0,08a	0,675	0,967	0,009
7d	4,21 $\pm$ 0,09a	4,28 $\pm$ 0,06a	0,583	4,35 $\pm$ 0,03a	4,10 $\pm$ 0,11a	0,067	0,186	0,211
14d	4,38 $\pm$ 0,05a	4,18 $\pm$ 0,09a	0,087	4,05 $\pm$ 0,10a	3,78 $\pm$ 0,20a	0,264	0,023	0,117
21d	4,40 $\pm$ 0,14a	4,38 $\pm$ 0,05a	0,873	4,25 $\pm$ 0,12a	4,13 $\pm$ 0,09a	0,443	0,448	0,057
Valor de p	0,201	0,507		0,29	0,171			
Globulina- Glob (g/dL)								
24h	1,33 $\pm$ 0,03b	1,23 $\pm$ 0,07b	0,28	1,40 $\pm$ 0,15a	1,80 $\pm$ 0,11a	0,071	0,633	0,005
5d	1,60 $\pm$ 0,14ab	1,67 $\pm$ 0,19ab	0,777	1,33 $\pm$ 0,05a	1,75 $\pm$ 0,18a	0,09	0,112	0,756
7d	1,79 $\pm$ 0,18ab	1,64 $\pm$ 0,16ab	0,552	1,33 $\pm$ 0,03a	1,65 $\pm$ 0,18a	0,132	0,041	0,961
14d	2,13 $\pm$ 0,13a	1,93 $\pm$ 0,25ab	0,505	1,50 $\pm$ 0,20a	1,80 $\pm$ 0,18a	0,31	0,042	698
21d	1,98 $\pm$ 0,16ab	2,13 $\pm$ 0,06a	0,433	1,85 $\pm$ 0,03a	2,28 $\pm$ 0,09a	0,003	0,471	0,207
Valor de p	0,022	0,002		0,051	0,096			
Relação Albumina/ Globulina – A:G								
24h	2,85 $\pm$ 0,31a	3,65 $\pm$ 0,27a	0,096	2,72 $\pm$ 0,09ab	2,60 $\pm$ 0,17a	0,553	0,687	0,015
5d	2,54 $\pm$ 0,32a	2,62 $\pm$ 0,30b	0,861	2,95 $\pm$ 0,04b	2,29 $\pm$ 0,25a	0,076	0,252	0,425
7d	2,45 $\pm$ 0,31a	2,70 $\pm$ 0,31b	0,587	3,29 $\pm$ 0,06a	2,60 $\pm$ 0,35a	0,097	0,039	0,828
14d	2,08 $\pm$ 0,12a	2,28 $\pm$ 0,29b	0,555	2,79 $\pm$ 0,32ab	2,16 $\pm$ 0,29a	0,2	0,088	0,787
21d	2,29 $\pm$ 0,25a	2,07 $\pm$ 0,08b	0,445	2,29 $\pm$ 0,07ab	1,82 $\pm$ 0,07a	0,003	0,986	0,059
Valor de p	0,43	<0,001		0,018	0,204			
Uréia - Ur (mg/dL)								
24h	44,75 $\pm$ 2,39b	44,25 $\pm$ 4,03b	0,919	47,25 $\pm$ 3,82ab	47,00 $\pm$ 6,32ab	0,974	0,599	0,726
5d	54,50 $\pm$ 4,99a	52,50 $\pm$ 5,07ab	0,788	29,25 $\pm$ 2,39b	34,25 $\pm$ 1,80b	0,146	0,004	0,015
7d	51,00 $\pm$ 2,42ab	57,75 $\pm$ 1,75ab	0,064	36,25 $\pm$ 2,78ab	36,50 $\pm$ 1,50b	0,939	0,007	<0,001
14d	57,75 $\pm$ 2,59a	55,50 $\pm$ 1,55ab	0,485	51,00 $\pm$ 7,95a	61,50 $\pm$ 7,10a	0,363	0,45	0,465
21d	58,75 $\pm$ 3,12a	61,50 $\pm$ 0,65a	0,447	54,75 $\pm$ 3,47a	49,50 $\pm$ 1,71ab	0,224	0,424	0,001
Valor de p	0,003	0,002		0,013	0,003			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

Cont...

Cont... Tabela 7 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Séricos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL-I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Creatinina - Cr (mg/dL)								
24h	0,20 $\pm$ 0,00d	0,20 $\pm$ 0,00c	1	0,33 $\pm$ 0,03c	0,30 $\pm$ 0,00b	0,356	0,002	<0,001
5d	0,33 $\pm$ 0,02bc	0,33 $\pm$ 0,02b	1	0,30 $\pm$ 0,00c	0,33 $\pm$ 0,02b	0,356	0,356	1
7d	0,30 $\pm$ 0,00c	0,33 $\pm$ 0,03b	0,391	0,30 $\pm$ 0,00c	0,35 $\pm$ 0,05b	0,356	1	0,67
14d	0,40 $\pm$ 0,00ab	0,45 $\pm$ 0,03a	0,182	0,40 $\pm$ 0,00b	0,43 $\pm$ 0,02ab	0,356	1	0,537
21d	0,48 $\pm$ 0,03a	0,48 $\pm$ 0,03a	1	0,55 $\pm$ 0,03a	0,55 $\pm$ 0,03a	1	0,097	0,097
Valor de p	<0,001	<0,001		<0,001	<0,001			
Colesterol total- Col (mg/dL)								
24h	50,75 $\pm$ 5,14bc	64,00 $\pm$ 3,08a	0,069	48,25 $\pm$ 6,49c	67,25 $\pm$ 4,21a	0,049	0,773	0,556
5d	46,50 $\pm$ 7,24c	52,50 $\pm$ 5,98a	0,546	60,50 $\pm$ 3,52b	62,00 $\pm$ 6,36a	0,843	0,133	0,318
7d	54,75 $\pm$ 5,27bc	63,00 $\pm$ 3,49a	0,239	58,00 $\pm$ 2,86b	55,25 $\pm$ 4,13a	0,604	0,607	0,202
14d	72,50 $\pm$ 4,56ab	75,50 $\pm$ 2,72a	0,592	77,00 $\pm$ 4,36a	64,50 $\pm$ 5,52a	0,126	0,502	0,124
21d	78,50 $\pm$ 3,10a	60,00 $\pm$ 10,21a	0,134	72,25 $\pm$ 7,55ab	62,50 $\pm$ 4,92a	0,321	0,473	0,833
Valor de p	0,002	0,14		<0,001	0,399			
Triglicérides - Trig (mg/dL)								
24h	40,50 $\pm$ 2,10bc	43,00 $\pm$ 2,04b	0,426	33,75 $\pm$ 6,02a	29,25 $\pm$ 6,98b	0,643	0,354	0,142
5d	33,75 $\pm$ 5,02c	61,25 $\pm$ 14,17ab	0,117	32,75 $\pm$ 4,52a	38,00 $\pm$ 5,46ab	0,487	0,887	0,177
7d	46,25 $\pm$ 2,17c	77,25 $\pm$ 8,38a	0,012	54,50 $\pm$ 8,65a	56,50 $\pm$ 3,23a	0,836	0,39	0,06
14d	64,50 $\pm$ 4,21a	74,50 $\pm$ 4,92a	0,174	31,00 $\pm$ 5,52a	47,50 $\pm$ 8,77ab	0,162	0,003	0,036
21d	56,75 $\pm$ 5,75ab	65,00 $\pm$ 4,24ab	0,292	32,25 $\pm$ 2,66a	39,50 $\pm$ 2,66ab	0,102	0,008	0,002
Valor de p	0,003	0,03		0,05	0,042			
Fosfatase alcalina - FAL (U/L)								
24h	149,75 $\pm$ 14,97a	199,75 $\pm$ 23,03a	0,119	127,00 $\pm$ 22,35ab	177,50 $\pm$ 25,82a	0,19	0,43	0,544
5d	154,50 $\pm$ 6,40a	172,75 $\pm$ 10,59b	0,191	150,00 $\pm$ 7,58a	101,25 $\pm$ 13,69a	0,021	0,666	0,006
7d	85,00 $\pm$ 6,52b	145,25 $\pm$ 10,08ab	0,002	101,25 $\pm$ 13,69ab	159,00 $\pm$ 38,74a	0,21	0,325	0,743
14d	60,75 $\pm$ 6,57b	115,50 $\pm$ 3,23ab	<0,001	87,50 $\pm$ 3,38b	150,75 $\pm$ 6,68a	<0,001	0,011	0,003
21d	73,75 $\pm$ 9,99ab	141,25 $\pm$ 9,37ab	0,003	79,00 $\pm$ 1,08b	128,25 $\pm$ 2,02a	<0,001	0,637	0,224
Valor de p	<0,001	0,007		0,012	0,168			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

Cont...

Cont... Tabela 7 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Séricos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

BIOQUÍMICA SÉRICA								
Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL-I/R			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
Gama Glutamyltransferase – gGT (U/L)								
24h	1,75 $\pm$ 0,48a	2,00 $\pm$ 0,41a	0,705	2,00 $\pm$ 0,41a	2,25 $\pm$ 0,48a	0,705	0,705	0,705
5d	2,50 $\pm$ 0,29a	1,75 $\pm$ 0,25a	0,097	2,00 $\pm$ 0,41a	2,50 $\pm$ 0,29a	0,356	0,356	0,097
7d	2,00 $\pm$ 0,41a	2,25 $\pm$ 0,48a	0,705	2,50 $\pm$ 0,29a	2,00 $\pm$ 0,00a	0,134	0,356	0,62
14d	2,25 $\pm$ 0,48a	2,75 $\pm$ 0,25a	0,39	2,25 $\pm$ 0,25a	2,50 $\pm$ 0,29a	0,537	1	0,537
21d	1,75 $\pm$ 0,25a	2,25 $\pm$ 0,48a	0,39	2,25 $\pm$ 0,25a	2,25 $\pm$ 0,75a	1	0,207	1
Valor de p	0,619	0,416		0,808	0,924			
Aspartato Aminotransferase - AST (U/L)								
24h	87,50 $\pm$ 10,10ab	110,00 $\pm$ 23,76a	0,417	105,25 $\pm$ 8,50a	142,75 $\pm$ 11,14a	0,037	0,227	0,259
5d	81,25 $\pm$ 2,17b	121,50 $\pm$ 12,04a	0,042	96,75 $\pm$ 2,06a	85,25 $\pm$ 1,18b	0,003	0,002	0,024
7d	132,50 $\pm$ 13,11ab	73,00 $\pm$ 4,56a	0,005	98,75 $\pm$ 2,93a	87,00 $\pm$ 1,91b	0,015	0,046	0,03
14d	138,25 $\pm$ 16,50ab	82,50 $\pm$ 1,44a	0,015	140,00 $\pm$ 18,68a	163,25 $\pm$ 3,33a	0,266	0,946	<0,001
21d	142,75 $\pm$ 15,10a	79,75 $\pm$ 3,30a	0,007	116,75 $\pm$ 11,05a	111,25 $\pm$ 6,12b	0,678	0,214	0,004
Valor de p	0,013	0,047		0,085	<0,001			
Alanina Aminotransferase - ALT (U/L)								
24h	18,75 $\pm$ 2,43a	21,75 $\pm$ 3,52a	0,509	24,75 $\pm$ 4,31b	39,25 $\pm$ 4,59a	0,061	0,271	0,023
5d	22,50 $\pm$ 1,55a	32,00 $\pm$ 3,67a	0,075	37,50 $\pm$ 5,81ab	37,00 $\pm$ 3,03a	0,942	0,047	0,334
7d	24,75 $\pm$ 1,49a	40,75 $\pm$ 2,95a	0,003	50,25 $\pm$ 2,17a	44,50 $\pm$ 3,93a	0,247	<0,001	0,474
14d	21,00 $\pm$ 1,78a	32,25 $\pm$ 1,65a	0,004	33,00 $\pm$ 6,16b	40,50 $\pm$ 4,33a	0,358	0,111	0,125
21d	24,75 $\pm$ 0,85a	31,25 $\pm$ 3,54a	0,125	28,50 $\pm$ 1,50b	35,00 $\pm$ 4,95a	0,256	0,073	0,561
Valor de p	0,126	0,034		<0,001	0,63			
Sódio -Na (mEq/L)								
24h	135,50 $\pm$ 3,12c	141,25 $\pm$ 3,90a	0,294	137,75 $\pm$ 3,17b	139,75 $\pm$ 0,75c	0,562	0,631	0,719
5d	142,75 $\pm$ 1,49ab	139,50 $\pm$ 3,80a	0,456	138,00 $\pm$ 0,71b	138,75 $\pm$ 0,63c	0,458	0,028	0,852
7d	131,50 $\pm$ 1,94c	135,25 $\pm$ 1,80a	0,206	139,75 $\pm$ 0,48b	138,75 $\pm$ 0,85c	0,356	0,006	0,129
14d	146,25 $\pm$ 0,25a	146,25 $\pm$ 0,75a	1	143,25 $\pm$ 2,17ab	145,00 $\pm$ 1,15b	0,504	0,22	0,399
21d	145,50 $\pm$ 1,19a	146,50 $\pm$ 0,87a	0,522	148,50 $\pm$ 0,65a	149,00 $\pm$ 0,58a	0,585	0,069	0,053
Valor de p	<0,001	0,078		0,004	<0,001			
Potássio - K (mmol/L)								
24h	5,23 $\pm$ 0,28a	4,80 $\pm$ 0,50a	0,483	4,45 $\pm$ 0,13a	4,60 $\pm$ 0,20a	0,549	0,045	0,721
5d	4,10 $\pm$ 0,11c	5,50 $\pm$ 0,34a	0,008	4,30 $\pm$ 0,04a	4,63 $\pm$ 0,15a	0,089	0,134	0,058
7d	3,73 $\pm$ 0,24c	4,48 $\pm$ 0,18a	0,048	4,38 $\pm$ 0,13a	4,70 $\pm$ 0,18a	0,186	0,053	0,414
14d	4,28 $\pm$ 0,18bc	4,40 $\pm$ 0,15a	0,61	4,13 $\pm$ 0,18a	4,80 $\pm$ 0,24a	0,064	0,572	0,207
21d	4,95 $\pm$ 0,09ab	5,48 $\pm$ 0,21a	0,057	4,78 $\pm$ 0,33a	4,65 $\pm$ 0,15a	0,744	0,629	0,018
Valor de p	<0,001	0,08		0,267	0,804			
Glicose- Gli (mg/dL)								
24h	200,00 $\pm$ 26,85a	313,25 $\pm$ 41,10a	0,061	249,00 $\pm$ 48,45a	262,75 $\pm$ 44,54a	0,841	0,41	0,437
5d	186,50 $\pm$ 9,22a	289,25 $\pm$ 30,68a	0,039	231,50 $\pm$ 10,74a	224,50 $\pm$ 32,78a	0,846	0,019	0,199
7d	175,50 $\pm$ 10,94a	218,25 $\pm$ 7,36a	0,018	190,25 $\pm$ 11,66a	289,75 $\pm$ 43,77a	0,07	0,392	0,158
14d	197,25 $\pm$ 9,39a	251,50 $\pm$ 22,40a	0,089	180,00 $\pm$ 6,96a	183,25 $\pm$ 19,55a	0,881	0,191	0,061
21d	185,75 $\pm$ 13,68a	296,75 $\pm$ 30,46a	0,016	173,50 $\pm$ 6,89a	216,75 $\pm$ 11,24a	0,017	0,454	0,049
Valor de p	0,375	0,266		0,123	0,244			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

Cont...

9.5 APÊNDICE E

Tabela 8 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Urinários de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

BIOQUÍMICA URINÁRIA								
Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
PROTEÍNA Urinária - PU (mg/dL)								
24h	10,88 $\pm$ 4,17a	23,35 $\pm$ 4,89a	0,1	49,38 $\pm$ 1,76c	56,01 $\pm$ 4,57c	0,225	<0,001	0,003
5d	8,20 $\pm$ 0,52a	15,11 $\pm$ 4,56a	0,183	43,44 $\pm$ 2,03c	56,44 $\pm$ 4,74c	0,045	<0,001	0,001
7d	8,28 $\pm$ 0,53a	23,15 $\pm$ 7,69a	0,102	77,36 $\pm$ 5,53b	127,80 $\pm$ 3,01a	<0,001	<0,001	<0,001
14d	13,81 $\pm$ 1,94a	19,95 $\pm$ 7,92a	0,549	93,92 $\pm$ 7,91ab	88,37 $\pm$ 10,17b	0,682	<0,001	0,002
21d	20,01 $\pm$ 4,76a	13,45 $\pm$ 2,20a	0,276	106,16 $\pm$ 5,46a	80,83 $\pm$ 4,31b	0,011	<0,001	<0,001
Valor de p	0,097	0,218		<0,001	<0,001			
URÉIA Urinária - UrU (mg/dL)								
24h	774,89 $\pm$ 84,06a	636,45 $\pm$ 61,97a	0,233	453,84 $\pm$ 110,56a	428,72 $\pm$ 18,57b	0,836	0,06	0,018
5d	1169,33 $\pm$ 97,71a	897,91 $\pm$ 51,45a	0,062	405,56 $\pm$ 92,39a	504,80 $\pm$ 92,27b	0,476	0,001	0,01
7d	1130,16 $\pm$ 94,26a	1482,45 $\pm$ 294,57a	0,298	1514,25 $\pm$ 276,08a	1855,89 $\pm$ 370,21b	0,487	0,236	0,46
14d	1218,45 $\pm$ 247,83a	1822,63 $\pm$ 232,18a	0,126	1362,23 $\pm$ 130,59a	3976,29 $\pm$ 1099,78ab	0,056	0,626	0,104
21d	1096,24 $\pm$ 142,55a	1753,23 $\pm$ 343,41a	0,128	2692,00 $\pm$ 1154,12a	7490,74 $\pm$ 2175,25a	0,099	0,219	0,04
Valor de p	0,26	0,003		0,047	0,002			
CREATININA Urinária - CrU (mg/dL)								
24h	45,12 $\pm$ 7,28a	36,65 $\pm$ 3,10a	0,325	7,83 $\pm$ 2,14a	4,42 $\pm$ 1,57b	0,245	0,003	<0,001
5d	37,60 $\pm$ 6,98a	40,21 $\pm$ 6,85a	0,799	3,32 $\pm$ 1,11a	4,42 $\pm$ 0,90b	0,468	0,003	0,002
7d	36,18 $\pm$ 3,98a	36,62 $\pm$ 5,26a	0,949	17,38 $\pm$ 2,70a	22,38 $\pm$ 7,03a	0,531	0,008	0,156
14d	43,89 $\pm$ 5,00a	35,57 $\pm$ 4,31a	0,254	42,50 $\pm$ 21,70a	19,63 $\pm$ 3,58a	0,338	0,952	0,029
21d	40,59 $\pm$ 7,64a	37,55 $\pm$ 5,72a	0,761	19,25 $\pm$ 3,61a	17,50 $\pm$ 2,50ab	0,704	0,045	0,018
Valor de p	0,666	0,919		0,109	0,003			
FOSFATASE ALCALINA Urinária - FAU (U/L)								
24h	5,18 $\pm$ 0,87a	7,26 $\pm$ 0,35a	0,069	112,85 $\pm$ 13,39a	91,89 $\pm$ 17,63a	0,38	0,004	0,003
5d	4,39 $\pm$ 0,87a	6,64 $\pm$ 0,73a	0,094	95,44 $\pm$ 11,84a	73,94 $\pm$ 3,45a	0,132	0,004	<0,001
7d	8,36 $\pm$ 1,61a	10,01 $\pm$ 1,45a	0,474	6,22 $\pm$ 2,29b	3,11 $\pm$ 0,87b	0,251	0,473	0,006
14d	5,80 $\pm$ 0,48a	6,44 $\pm$ 0,67a	0,468	4,84 $\pm$ 1,20b	5,47 $\pm$ 1,86b	0,786	0,486	0,642
21d	6,44 $\pm$ 0,67a	7,90 $\pm$ 1,66a	0,443	2,07 $\pm$ 0,69b	4,90 $\pm$ 1,69b	0,173	0,004	0,252
Valor de p	0,113	0,215		<0,001	<0,001			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey
Cont...

Cont.. Tabela 8 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão dos parâmetros Bioquímicos Urinários de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unila teral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

BIOQUÍMICA URINÁRIA								
Variável/ Momento	Grupo CONTROLE			Grupo EXPERIMENTAL			Valor de p (entre grupos)	
	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos	Valor de p (entre sexos)	Fêmeas	Machos
GAMA GLUTAMILTRANSFERASE Urinária - gGTU (U/L)								
24h	13,03 $\pm$ 1,02a	35,54 $\pm$ 16,70a	0,271	64,24 $\pm$ 18,88a	143,98 $\pm$ 15,76a	0,018	0,035	0,003
5d	11,19 $\pm$ 0,55a	35,39 $\pm$ 15,24a	0,21	43,98 $\pm$ 10,52ab	56,98 $\pm$ 6,55b	0,335	0,021	0,241
7d	16,91 $\pm$ 3,07a	29,64 $\pm$ 8,91a	0,253	28,88 $\pm$ 3,11ab	31,88 $\pm$ 5,15b	0,636	0,034	0,835
14d	23,03 $\pm$ 6,82a	23,66 $\pm$ 7,59a	0,953	5,47 $\pm$ 0,83b	8,44 $\pm$ 3,13c	0,419	0,043	0,113
21d	14,30 $\pm$ 4,61a	24,43 $\pm$ 6,89a	0,267	3,64 $\pm$ 0,37b	4,20 $\pm$ 1,46c	0,725	0,061	0,028
Valor de p	0,277	0,403		0,003	<0,001			
SÓDIO Urinário - NaU (mEq/L)								
24h	31,50 $\pm$ 9,91a	34,75 $\pm$ 9,26a	0,819	12,00 $\pm$ 3,67b	44,25 $\pm$ 8,70a	0,014	0,115	0,483
5d	34,75 $\pm$ 9,26a	42,75 $\pm$ 2,56a	0,437	14,50 $\pm$ 1,32b	32,00 $\pm$ 6,87a	0,046	0,074	0,193
7d	40,25 $\pm$ 2,84a	40,00 $\pm$ 8,93a	0,98	30,00 $\pm$ 11,81ab	26,00 $\pm$ 10,41a	0,808	0,431	0,347
14d	42,75 $\pm$ 9,19a	36,00 $\pm$ 7,84a	0,596	50,00 $\pm$ 10,84ab	67,00 $\pm$ 19,05a	0,467	0,628	0,183
21d	37,00 $\pm$ 3,67a	36,75 $\pm$ 9,06a	0,98	69,50 $\pm$ 10,37a	59,25 $\pm$ 19,10a	0,654	0,025	0,328
Valor de p	0,741	0,961		0,004	0,294			
POTÁSSIO Urinário - KU (mmol/L)								
24h	117,25 $\pm$ 9,73a	124,53 $\pm$ 13,42a	0,676	82,43 $\pm$ 32,08a	84,55 $\pm$ 18,93a	0,956	0,339	0,136
5d	79,00 $\pm$ 14,18a	123,33 $\pm$ 12,70a	0,059	45,95 $\pm$ 7,29a	76,50 $\pm$ 26,71a	0,312	0,084	0,164
7d	133,78 $\pm$ 17,77a	110,80 $\pm$ 11,01a	0,314	85,58 $\pm$ 25,65a	72,63 $\pm$ 21,56a	0,712	0,173	0,166
14d	129,83 $\pm$ 20,90a	91,15 $\pm$ 21,78a	0,247	94,50 $\pm$ 19,77a	94,35 $\pm$ 11,87a	0,995	0,265	0,902
21d	124,33 $\pm$ 14,68a	71,25 $\pm$ 7,66a	0,018	96,03 $\pm$ 7,04a	89,63 $\pm$ 22,84a	0,804	0,133	0,475
Valor de p	0,182	0,115		0,308	0,953			
GLICOSE Urinária - GliU (mg/dL)								
24h	4,75 $\pm$ 1,11a	3,50 $\pm$ 1,50a	0,528	23,25 $\pm$ 7,11a	27,50 $\pm$ 10,30b	0,746	0,079	0,061
5d	4,00 $\pm$ 0,58a	3,25 $\pm$ 1,03a	0,555	13,50 $\pm$ 4,97a	30,00 $\pm$ 10,58b	0,208	0,107	0,085
7d	1,75 $\pm$ 1,18a	0,75 $\pm$ 0,25a	0,439	10,00 $\pm$ 6,38a	62,75 $\pm$ 19,15ab	0,04	0,25	0,018
14d	2,75 $\pm$ 0,63a	3,25 $\pm$ 1,11a	0,708	26,50 $\pm$ 9,85a	66,75 $\pm$ 21,32ab	0,137	0,053	0,025
21d	2,75 $\pm$ 0,48a	5,25 $\pm$ 1,25a	0,111	37,00 $\pm$ 29,69a	97,75 $\pm$ 29,51a	0,197	0,293	0,02
Valor de p	0,175	0,198		0,594	0,006			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

9.6 APÊNDICE F

Tabela 9 - Valores médios $\pm$ Erro Padrão das frações de excreção, volume e fluxo urinário e clearance de creatinina de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

	Grupo Controle		p (entre sexos)	Grupo Experimental		p (entre sexos)	Valor de p (entre Grupos)	
	Fêmeas	Machos		Fêmeas	Machos		Fêmeas	Machos
Fração de Excreção de Sódio - FENa (%)								
24h	0,0959± 0,0162a	0,1364±0,3891a	0,373	0,5301± 0,2989a	2,7556±0,6092a	0,017	0,197	0,005
5d	0,4208± 0,1743a	0,2690±0,3778a	0,427	1,1853±0,2656a	1,9841±0,5984a	0,268	0,053	0,064
7d	0,2770±0,0442a	0,2638±0,0445a	0,841	2,3011±2,0704a	0,4385±0,2678a	0,407	0,366	0,544
14d	0,2708±0,0495a	0,3401±0,0925a	0,534	0,6071±0,2428a	1,0589±0,2908a	0,278	0,224	0,057
21d	0,3656±0,1197a	0,3901±0,1647a	0,908	1,4723±0,3621a	1,3011±0,5212a	0,796	0,027	0,147
Valor de p	0,296	0,320		0,694	0,053			
Fração de Excreção de Potássio - FEK (%)								
24h	10,5435±1,2560a	15,0229±2,7042a	0,184	115,3520±71,7208a	190,3053±69,2530a	0,481	0,194	0,045
5d	17,3556±3,5505a	19,9210±4,5825a	0,674	143,7500±41,2308a	143,5296±46,0116a	0,997	0,022	0,037
7d	31,2378±5,9191a	24,0426±5,5554a	0,410	36,4478±12,1515a	33,4435±15,8311a	0,885	0,713	0,596
14d	30,1706±7,9047a	25,9229±5,0526a	0,667	39,1868±13,9763a	42,9311±3,5202a	0,804	0,595	0,033
21d	34,5182±10,2301a	18,2756±3,6026a	0,185	71,0593±21,5461a	62,3750±18,09113a	0,768	0,176	0,054
Valor de p	0,138	0,490		0,204	0,060			
Fração de Excreção de Uréia- FEU (%)								
24h	8,1937±1,2346a	8,5332±1,8777b	0,885	55,2758±17,3034a	86,6558±16,8548a	0,242	0,035	0,004
5d	21,0699±3,8807a	15,6134±3,3450b	0,328	150,2657±44,3353a	133,2985±39,2230a	0,787	0,027	0,024
7d	19,6645±4,2619a	22,6906±2,6201ab	0,567	79,7351±19,3665a	96,2682±36,6763a	0,704	0,023	0,092
14d	19,1593±2,7425a	42,8379±7,2285a	0,022	49,3830±17,0199a	131,1127±16,1955a	0,013	0,130	0,003
21d	22,3078±2,6537a	37,8884±7,9061a	0,111	130,3985±33,1678a	297,8750±86,9703a	0,122	0,047	0,025
Valor de p	0,078	<0,001		0,055	0,070			
Volume Urinário – VU (ml/24h)								
24h	11,5000±1,2583 ^a	19,0000±6,3377 ^a	0,290	4,1250±1,0000a	4,0000±1,4288 ^a	0,953	0,008	0,060
5d	7,0000±1,0000a	10,8750±1,8071 ^a	0,110	7,7500±1,8874 ^a	10,7500±3,3757 ^a	0,467	0,737	0,975
7d	10,0000±1,1726 ^a	7,5000±3,4940 ^a	0,523	6,1250±0,7465 ^a	5,0000±1,6201 ^a	0,552	0,032	0,540
14d	8,8750±2,2114 ^a	10,7500±2,8394 ^a	0,622	6,3750±0,8003 ^a	7,7500±2,4537 ^a	0,613	0,329	0,455
21d	6,5000±2,0514 ^a	7,7500±3,7052 ^a	0,788	8,2500±2,1360 ^a	9,2500±2,1360 ^a	0,752	0,576	0,738
Valor de p	0,117	0,092		0,390	0,339			
Fluxo Urinário – FU (ml/min)								
24h	0,0080±0,0082 ^a	0,0133±0,0043 ^a	0,278	0,0028±0,0010 ^a	0,0028±0,0009 ^a	0,959	0,007	0,057
5d	0,0053±0,0007 ^a	0,0075±0,0011 ^a	0,161	0,0055±0,0012 ^a	0,0072±0,0024 ^a	0,546	0,870	0,929
7d	0,0068±0,0007 ^a	0,0053±0,0024 ^a	0,610	0,0045±0,0006 ^a	0,0038±0,0011 ^a	0,580	0,063	0,579
14d	0,0065±0,0015 ^a	0,0073±0,0018 ^a	0,769	0,0045±0,000a	0,0053±0,0016 ^a	0,679	0,267	0,456
21d	0,0045±0,0013 ^a	0,0058±0,0026 ^a	0,686	0,0055±0,0016 ^a	0,0062±0,0014 ^a	0,744	0,654	0,873
Valor de p	0,146	0,097		0,428	0,429			
Clearance de Creatinina – CLCr (%)								
24h	0,5550±0,1181a	0,8875±0,2671a	0,298	0,0725±0,3146b	0,0275±0,0075b	0,213	0,008	0,018
5d	0,2200±0,0489a	0,7875±0,1748a	0,020	0,0750±0,0419b	0,0975±0,0347b	0,694	0,066	0,008
7d	0,3575±0,0751a	0,6375±0,2329a	0,296	0,2375±0,0292b	0,2400±0,1096ab	0,983	0,187	0,174
14d	0,5600±0,1563a	0,6000±0,0974a	0,835	0,4925±0,2738ab	0,2375±0,0747ab	0,404	0,838	0,026
21d	0,2950±0,0290a	0,6800±0,3007a	0,250	0,2750±0,0987b	0,2375±0,0543ab	0,751	0,852	0,198
Valor de p	0,116	0,625		0,002	0,015			

Letras diferentes nas colunas representam diferenças significativas entre os momentos no Pós-teste de Tukey

9.7 APÊNDICE G

Tabela 10 - Valores mínimos e máximos dos Parâmetros Hematológicos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

Momento	Grupo	Sexo	Valores Mín/Máx	PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS															
				Hm (.10 ⁹ /μL)	Hb (g/dL)	Ht (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (%)	PLT (.10 ⁹ /μL)	RDW- SD (fL)	RDW- CV (fL)	VMP (fL)	Leuc. (10 ³ /μL)	Neut (%)	Linf (%)	Mono (%)	Eo (%)	Baso (%)
24 horas	C	Cf	Mín.	7,89	15,4	45,7	56,6	19,1	33,7	502	23,6	12,4	7,7	9,54	0,71	4,21	0,02	0,04	0,01
			Máx.	8,32	16,3	47,4	57,9	20,8	35,9	926	27,8	15,9	7,9	11,82	1,93	7,43	0,17	0,07	0,05
		Cm	Mín.	7,81	15	44,1	56,3	19,1	33,8	571	24,9	12,8	8	8,39	0,44	5,96	0,1	0,04	0,01
			Máx.	8,34	16,1	47,5	57,9	20,1	34,7	771	27,2	14,7	8,2	13,40	1,5	7,87	0,18	0,06	0,02
	E	Ef	Mín.	7,66	14,8	43,9	56,7	19,3	33,7	543	22,1	11,1	7,8	4,16	2,02	1,88	0,14	0,01	0,01
			Máx.	8,20	16,3	47,3	61,2	20	34,5	873	22,5	11,8	8,3	8,54	4,03	3,9	0,29	0,04	0,01
		Em	Mín.	7,45	14,1	42,5	53,7	18,9	33,2	756	21,8	12	7,7	5,20	3,13	1,31	0,23	0,01	0,02
			Máx.	8,27	15,9	47,1	57	19,4	35,1	840	24,3	12,6	8	7,06	3,89	4,48	0,47	0,04	0,03
5 dias	C	Cf	Mín.	7,87	14,6	43,6	56,9	19,2	33	655	24,9	12,3	7,7	7,52	2,59	3,4	0,04	0,02	0
			Máx.	8,81	15,1	44,8	57,6	20	34,2	879	27,2	13,2	8,2	10,43	4,91	4,65	0,21	0,06	0,01
		Cm	Mín.	7,88	14	42,4	57	19,2	27,2	652	23,1	12,8	7,7	9,01	1,99	2,44	0,04	0,02	0,01
			Máx.	8,26	15,2	45,4	57,9	22,2	37,6	789	27,2	14,7	8,2	11,81	5,53	4,65	0,21	0,06	0,02
	E	Ef	Mín.	6,11	12,2	36,8	59	19,3	32,8	636	25,5	13,1	7,4	5,44	0,5	4,48	0,11	0,03	0,01
			Máx.	6,73	13,1	40	63,2	20,6	33,2	885	30,4	15,5	7,6	7,79	1,29	8,06	0,18	0,07	0,02
		Em	Mín.	7,11	13,5	40	54,1	18,1	33,5	782	23,5	13,1	7,5	8,05	0,83	6,71	0,01	0,04	0,02
			Máx.	8,00	14,5	43,3	56,3	19	33,8	1036	26,5	14,4	7,7	9,90	1,7	7,54	0,75	0,06	0,09
7 dias	C	Cf	Mín.	7,89	14,6	44,4	54,5	19,2	33,6	636	23,9	12,1	7,7	8,89	0,76	6,3	0,02	0,01	0
			Máx.	8,31	15,4	46,3	56	20	34,7	809	25,7	14	7,9	12,89	1,8	6,68	0,36	0,06	0,03
		Cm	Mín.	8,06	14,1	41,9	53,9	19,3	33,8	564	24,9	13,2	7,9	9,56	0,83	4,95	0,1	0,03	0,02
			Máx.	8,99	14,8	44	56,1	20,1	34,7	664	26,6	14,5	8,1	10,46	1,35	8,98	0,18	0,05	0,02
	E	Ef	Mín.	6,14	12,1	36,7	59,8	19,4	31,9	620	25,8	12,8	7,5	7,26	0,83	6,17	0,08	0,01	0,01
			Máx.	6,60	12,8	39,5	63,3	20,4	33	822	30,9	15,3	7,9	10,14	1,66	8,1	0,33	0,02	0,03
		Em	Mín.	7,12	12,3	36,7	53,6	18	33	291	23,9	13,3	7,5	8,85	2,1	6,28	0,02	0,01	0,01
			Máx.	8,85	13,3	40,3	56,6	18,8	33,8	949	24,7	14,4	7,6	10,30	2,76	7,5	0,31	0,03	0,03
14 dias	C	Cf	Mín.	7,88	15,4	44,6	54,4	18,8	33,7	715	23,1	12,1	7,6	8,06	0,53	5,02	0,01	0,02	0,01
			Máx.	8,37	16	45,3	57	19,4	35,4	802	26,2	12,9	7,9	9,66	0,91	6,39	0,15	0,05	0,03
		Cm	Mín.	7,61	15	44,4	54,2	18,6	34,1	340	22,5	13,2	8	8,43	0,9	6,34	0,15	0,02	0,01
			Máx.	8,71	16,2	46,1	54,7	19,4	34,8	851	24,9	14,4	8,2	12,08	1,22	6,89	0,2	0,04	0,02
	E	Ef	Mín.	6,65	14,2	42,4	61,6	20,1	32,3	350	30,3	14,1	8,2	3,60	0,63	2,23	0,07	0,01	0
			Máx.	7,43	15,5	46,6	63,8	22	34,4	750	35,6	16,2	8,5	4,80	0,83	3,7	0,21	0,45	0,02
		Em	Mín.	7,01	12,8	38,7	55,2	18,3	33,1	764	27,6	15,3	7,8	6,57	1,42	4,93	0,17	0,02	0,01
			Máx.	7,64	15,1	44	57,6	19,8	34,3	930	34,9	18,3	8,3	14,44	4,56	8,34	0,85	0,08	0,02
21 dias	C	Cf	Mín.	7,50	14,6	45,1	53,5	17,3	31,3	655	22,6	12,2	7,6	7,89	0,47	6,3	0,01	0,03	0,01
			Máx.	7,83	16,1	46,1	55,7	18,2	32	709	24,3	14,9	8	9,17	1,68	7,46	0,22	0,07	0,03
		Cm	Mín.	8,06	14,8	42,8	51,9	17,5	32	497	24,5	15,4	7,7	8,52	0,61	4,95	0,13	0,03	0,01
			Máx.	8,99	16,7	47,6	52,5	19,2	35,4	668	26,1	16,3	7,9	9,91	1,2	8,98	0,24	0,47	0,03
	E	Ef	Mín.	7,17	15,3	44	60,9	20	32,9	356	27,5	13	8,1	6,18	0,42	1,24	0,15	0,02	0,02
			Máx.	7,74	16	47,8	63,7	21,5	34,8	820	32,7	14,5	8,3	9,52	0,7	4,76	0,2	0,11	0,03
		Em	Mín.	7,70	14,2	42,6	55,2	18,4	33,3	650	29	16,5	7,7	6,73	1,09	3,8	0,04	0,01	0,02
			Máx.	8,49	16,2	47,2	56,1	19,4	34,3	826	33,9	18,6	8,1	9,76	1,9	6,02	0,42	0,04	0,19

Tabela 11 - Valores mínimos e máximos dos parâmetros Bioquímicos Séricos de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental-I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento.

Momento	Grupo	Sexo	Valores Min/Máx	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SÉRICOS														
				Ps (g/dL)	Alb. (g/dL)	Glob (g/dL)	A:G	Ur (mg/dL)	Cr (mg/dL)	Col. (mg/dL)	Trig (mg/dL)	FA (U/L)	gGT (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	Na (mEq/L)	K (mmol/L)	Gli (mg/dL)
24 horas	C	Cf	Mín.	4,3	3,0	1,3	2,1	39	0,2	49	35	110	1	60	14	128	4,6	156
			Máx.	5,8	4,5	1,4	3,4	50	0,2	60	45	182	3	105	25	143	5,9	202
	Cm		Mín.	5,4	4,0	1,1	3,1	39	0,2	55	39	162	1	55	16	130	3,8	237
			Máx.	5,8	4,7	1,4	4,2	56	0,2	69	47	266	3	166	32	147	6,0	407
	E	Ef	Mín.	3,7	2,7	1,0	2,6	38	0,3	34	21	84	1	86	15	129	4,2	138
			Máx.	6,2	4,5	1,7	3,0	56	0,4	62	45	184	3	121	36	144	4,8	338
5 dias	C	Cf	Mín.	5,2	3,5	1,4	1,7	41	0,3	27	25	145	2	82	19	140	3,8	165
			Máx.	5,9	4,5	2,0	3,2	65	0,4	62	48	173	3	85	26	147	4,3	210
	Cm		Mín.	5,6	4,1	1,3	1,9	42	0,3	37	22	155	1	92	26	132	4,6	235
			Máx.	6,0	4,3	2,2	3,4	65	0,4	66	89	197	2	148	41	150	6,2	351
	E	Ef	Mín.	4,9	3,7	1,2	2,9	25	0,3	50	27	139	1	92	26	137	4,2	208
			Máx.	5,5	4,1	1,4	3,1	36	0,3	65	46	172	3	102	48	140	4,4	260
7 dias	C	Cf	Mín.	5,6	4,0	1,3	2,0	44	0,3	45	42	74	1	113	21	128	3,3	153
			Máx.	6,3	4,4	2,1	3,3	55	0,3	67	52	103	3	171	28	131	4,4	202
	Cm		Mín.	5,5	4,1	1,2	2,2	54	0,3	55	58	125	1	62	37	130	4,0	202
			Máx.	6,3	4,4	1,9	3,6	62	0,4	71	98	172	3	84	48	138	4,9	237
	E	Ef	Mín.	5,6	4,3	1,3	3,1	31	0,3	50	37	77	2	90	51	139	4,1	170
			Máx.	5,8	4,4	1,4	3,4	44	0,3	63	77	139	3	102	56	141	4,7	216
14 dias	C	Cf	Mín.	5,8	4,3	1,9	1,7	53	0,4	60	55	43	1	115	18	146	4,1	184
			Máx.	6,2	4,5	2,5	2,3	64	0,4	81	73	74	3	185	26	147	4,8	225
	Cm		Mín.	5,9	4,0	1,5	1,6	53	0,4	71	63	109	2	79	30	144	4,1	205
			Máx.	6,7	4,4	2,6	2,9	60	0,5	83	87	122	3	86	37	147	4,8	302
	E	Ef	Mín.	4,9	3,9	1,2	2,0	36	0,4	72	18	79	2	90	25	137	3,7	164
			Máx.	6,2	4,3	2,1	3,5	73	0,4	90	45	95	3	171	51	147	4,5	198
21 dias	C	Cf	Mín.	6,3	4,0	1,7	1,7	52	0,4	73	43	51	1	114	23	43	4,8	167
			Máx.	6,6	4,6	2,3	2,7	65	0,5	87	70	92	2	185	27	148	5,2	225
	Cm		Mín.	6,4	4,3	2,0	1,9	60	0,4	45	53	125	1	75	26	145	5,1	225
			Máx.	6,5	4,5	2,3	2,3	63	0,5	90	73	168	3	89	41	149	6,0	374
	E	Ef	Mín.	5,9	4,0	1,8	2,1	49	0,5	50	28	76	2	95	24	147	4,2	159
			Máx.	6,4	4,5	1,9	2,4	63	0,6	83	40	81	3	140	30	150	5,4	190
	Em		Mín.	6,1	4,0	2,1	1,6	45	0,5	48	33	124	0	101	26	148	4,3	192
			Máx.	6,7	4,4	2,5	1,9	53	0,6	70	46	133	3	129	49	150	4,9	245

9.9 APÊNDICE I

Tabela 12 - Valores mínimos e Máximos dos parâmetros Bioquímicos Urinários de fêmeas e machos do grupo controle e fêmeas e machos do grupo experimental submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperusão após 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias após experimento

Momento	Grupo	Sexo	Valores	PARÂMETROS BIOQUÍMICOS URINÁRIOS							
			Mín/Máx	PU (mg/dL)	UrU (mg/dL)	CrU (mg/dL)	FAU (U/L)	gGTU (U/L)	NaU (mEq/L)	KU (mmol/L)	GliU (mg/dL)
24 horas	C	Cf	Mín.	2,90	541,2	29,3	2,8	11,4	13	100,2	2
			Máx.	22,60	934,8	63,4	6,9	15,7	57	141,4	7
		Cm	Mín.	11,50	527,6	29,5	6,9	2,9	15	101,8	2
			Máx.	35,10	793,4	43,9	8,3	66,4	59	161,3	8
	E	Ef	Mín.	46,77	251,7	4,4	83,8	24,7	6	36,1	10
			Máx.	54,54	708,2	13,3	140,4	115,0	22	173,9	40
		Em	Mín.	48,08	386,3	2,2	62,6	101,1	32	35,0	7
			Máx.	66,66	474,1	8,9	142,6	176,7	70	116,9	55
5 dias	C	Cf	Mín.	8,30	987,7	23,5	3,2	10,5	15	40,1	3
			Máx.	9,30	1383,8	55,7	6,9	12,9	59	108,2	5
		Cm	Mín.	8,92	781,1	23,5	5,5	4,4	37	100,2	1
			Máx.	28,50	1020,2	52,9	8,6	67,9	48	148,9	5
	E	Ef	Mín.	39,09	240,0	2,2	73,8	16,2	12	26,1	5
			Máx.	48,89	620,4	6,6	124,4	62,5	18	59,2	24
		Em	Mín.	47,98	251,9	2,2	66,3	45,1	21	43,3	11
			Máx.	68,58	673,1	6,6	82,9	75,6	52	156,4	55
7 dias	C	Cf	Mín.	6,80	848,7	25,7	4,9	10,5	34	84,7	0
			Máx.	9,28	1242,3	43,9	11,4	22,9	46	161,3	5
		Cm	Mín.	8,70	989,5	23,5	7,2	12,9	20	87,0	0
			Máx.	44,88	2334,5	48,8	12,9	46,4	63	138,8	1
	E	Ef	Mín.	63,80	1058,0	12,5	1,4	20,0	7	40,1	0
			Máx.	88,61	2318,0	25,0	12,4	33,6	60	157,5	28
		Em	Mín.	122,14	1199,3	10,0	1,4	23,7	13	36,9	8
			Máx.	135,92	2614,0	42,0	5,5	46,4	57	134,3	92
14 dias	C	Cf	Mín.	9,60	889,7	34,4	4,6	12,9	20	85,0	1
			Máx.	20,30	1956,0	57,5	6,7	42,1	65	184,7	4
		Cm	Mín.	7,90	1230,5	24,6	4,6	7,1	19	51,4	1
			Máx.	43,20	2348,0	45,5	7,8	42,9	57	145,0	6
	E	Ef	Mín.	73,11	1076,3	17,5	2,8	3,7	28	48,9	15
			Máx.	111,63	1703,6	107,5	8,3	7,3	76	141,4	56
		Em	Mín.	74,49	1753,9	13,5	2,8	2,7	20	69,6	5
			Máx.	118,34	6058,0	30,0	10,7	15,5	110	124,6	98
21 dias	C	Cf	Mín.	10,86	781,1	23,5	4,6	7,2	28	80,9	2
			Máx.	30,40	1383,8	59,5	7,8	27,9	46	143,6	4
		Cm	Mín.	7,07	1020,2	23,4	4,6	12,9	13	57,0	2
			Máx.	16,90	2646,7	48,8	12,4	44,3	57	85,0	8
	E	Ef	Mín.	94,47	1058,0	10,0	1,4	2,7	43	83,0	4
			Máx.	118,45	6058,0	25,0	4,2	4,6	87	108,2	126
		Em	Mín.	69,29	1347,0	15,0	1,4	1,8	20	48,9	12
			Máx.	87,60	10983,9	25,0	8,6	8,4	105	140,7	147

9.10 APÊNDICE J

Tabela 13 - Urinálise das fêmeas (Cf) do grupo controle.

Urinálise (Parâmetros)	Controle Fêmea				
	24 horas	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico					
Cor	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	a. escuro
Aspecto	límpido	lig turvo	lig turvo	lig turvo	turvo
Volume	15 ml	2 ml	8 ml	16 ml	12 ml
Densidade(SG)	1000	1020	1005	1005	1005
pH	8	6	8,5	8	8,5
Exame Químico					
Leucócitos (Leu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito (Nit)	negativo	negativo	positivo	positivo	positivo
Proteína (Pro)	negativo	negativo	1+	1+	1+
glicose (Glu)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Corpos cetônicos (cet)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urobilinogênio (Urub)	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina (Bil)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias (Hm)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina (Hb)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	raras	raras	(++)	(++)	(+++)
Hemácias	ausente	ausente	raras	ausente	raras
Células descamação	ausente	ausente	vaginal	vaginal	vaginal
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cilindros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Outros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Helmintos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cristais	ausente	ác urico	fosfato triplo	fosfato triplo	fosfato triplo

9.11 APÊNDICE K

Tabela 14 - Urinálise das fêmeas (Ef)) do Grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.

Urinálise (Parâmetros)	Experimento Fêmea 1					Urinálise (Parâmetros)	Experimento Fêmea 2				
	24 horas	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias		24 horas	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico						Exame físico					
Cor	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	Cor	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	a. escuro
Aspecto	límpido	límpido	límpido	turva	turva	Aspecto	límpido	límpido	límpido	turva	turva
Volume	7,5	7,0	6,5	7,5	14,0	Volume	2,0	7,0	5,5	4,0	5,0
Densidade(SG)	1005	1010	1010	1005	1005	Densidade(SG)	1015	1010	1005	1005	1005
pH	8	6	7	6	7,5	pH	6	6	8	7,5	8
Exame químico						Exame químico					
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	Nitrito	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Proteína	negativo	1+	1+	1+	1+	Proteína	negativo	1+	1+	1+	1+
Glicose	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	Glicose	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Corpos cetônicos	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	Corpos cetônicos	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urubilinogênio	normal	normal	normal	normal	normal	Urubilinogênio	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	Bilirrubina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	Hemácias	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	Hemoglobina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento						Sedimento					
Bactérias	raras	raras	(++)	(++)	(+++)	Bactérias	raras	raras	(++)	(++)	(++)
Hemácias	ausente	ausente	ausente	ausente	raras	Hemácias	ausente	ausente	ausente	ausente	raras
Cél. descamação	ausente	bexiga	uretra	uretra	vaginal	Cél. descamação	bexiga e pelves	bexiga e uretra	bexiga e uretra	bexiga e uretra	bexiga e uretra
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	Leucócitos	ausente	ausente	ausente	2 pc	2 pc
Cilindros	ausente	ausente	Cil.granulosos	Cil.granulosos	Cil.granulosos	Cilindros	ausente	ausente	ausente	Cil.granulosos	Cil.granulosos
Outros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	Outros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Helminhos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente	Helminhos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cristais	fosfato triplo	ausente	ácido úrico	ácido úrico	fosfato triplo	Cristais	fosfato triplo	ausente	fosfato triplo	fosfato triplo	fosfato triplo

Cont. Tabela 14 - Urinálise das fêmeas (Ef) do Grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias

Urinálise (Parâmetros)	Experimento Fêmea 3				
	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico					
Cor	a.claro	a. claro	a. claro	a. claro	a.escuro
Aspecto	límpido	límpido	límpido	turva	turva
Volume	5,5	13,0	8,0	7,0	9,0
Densidade(SG)	1015	1005	1010	1010	1005
pH	6	7	7	6	8
Exame Químico					
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito	negativo	negativo	negativo	negativo	positivo
Proteína	negativo	negativo	negativo	1+	1+
Glicose	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Corpos cetônicos	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urobilinogênio	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	ausente	ausente	ausente	(++)	(++)
Hemácias	ausente	ausente	ausente	raras	raras
Cél. descamação	uretra	vaginal e bexiga	bexiga e uretra	vaginal	ausente
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	2 pc
Cilindros	ausente	ausente	Cil.granulosos	Cil.granulosos	Cil.granulosos
Outros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Helmintos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cristais	uratos amorfos	fosfato triplo	ausente	ácido úrico	fosfato triplo

Urinálise (Parâmetros)	Experimento Fêmea 4				
	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico					
Cor	a.claro	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro
Aspecto	límpido	límpido	límpido	lig turva	turva
Volume	1,5	4,0	4,5	7,0	5,0
Densidade(SG)	1020	1005	1015	1005	1005
pH	6	7	6	8	8
Exame Químico					
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito	negativo	negativo	negativo	negativo	positivo
Proteína	1+	neg	neg	1+	1+
Glicose	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Corpos cetônicos	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urobilinogênio	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	ausente	ausente	ausente	(++)	(++)
Hemácias	ausente	ausente	ausente	raras	raras
Cél.descamação	vaginal	vaginal	bexiga e uretra	bexiga	bexiga
Leucócitos	ausente	ausente	ausente	1 pc	2 pc
Cilindros	ausente	ausente	Cil.granulosos	Cil.granulosos	Cil.granulosos
Outros	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Helmintos	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Cristais	fosfato triplo	fosfato triplo	ácido úrico	fosfato triplo	fosfato triplo

Tabela 15 - Urinálise dos animais do grupo controle Machos (Cm)

Urinálise (Parâmetros)	Controle Macho				
	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico					
Cor	a. Escuro	a. Claro	a. Claro	a. Escuro	a. Escuro
Aspecto	lig turvo	límpido	lig. Turvo	lig. Turvo	lig. Turvo
Volume	20 ml	30 ml	13 ml	2,5 ml	10 ml
Densidade (SG)	1000	1000	1010	1025	1005
pH	9	8	5	6	8
Exame Químico					
Leucócitos (Leu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito (Nit)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Proteína (Pro)	negativo	negativo	negativo	negativo	1+
Glicose (Glu)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Corpos cetônicos (cet)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urobilinogênio (Urub)	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina (Bil)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias (Hm)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina (Hb)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	raras	raras	raras	raras	raras
Hemácias	ausente	ausentes	ausentes	raras	raras
Células descamação	ausente	ausentes	uretra	bexiga	uretra
Leucócitos	ausente	ausentes	ausentes	ausentes	ausentes
Cilindros	ausente	ausentes	ausentes	ausentes	ausentes
Outros	ausente	ausentes	sptz	ausentes	sptz
Cristais	fosfato de cálcio	fosfato triplo	ácido úrico	ausentes	fosfato triplo

Tabela 16 - Urinálise de machos (Em) do Grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.

Urinálise (Parâmetros)	Experimento Macho 1				
	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico					
Cor	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	a.escuro
Aspecto	límpido	límpido	límpido	turvo	turvo
Volume	7,5	15,0	4,0	6,5	6,0
Densidade(SG)	1015	1015	1015	1010	1015
pH	6	6	7	6	6
Exame Químico					
Leucócitos (Leu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito (Nit)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Proteína (Pro)	negativo	negativo	1+	1+	1+
Glicose (Glu)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Corpos cetônicos (cet)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urubilinogênio (Urub)	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina (Bil)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias (Hm)	1+	ausente	C	ausente	ausente
Hemoglobina (Hb)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	ausente	ausentes	ausentes	raras	(++)
Hemácias	ausente	ausentes	ausente	ausentes	raras
Células descamação	ausentes	bexiga	uretra	uretra	uretra
Leucócitos	ausente	ausentes	ausentes	ausentes	ausentes
Cilindros	ausente	cilindros granulosos	cilindros granulosos	cilindros granulosos	cilindros granulosos
Outros	sptz	sptz	sptz	sptz	sptz
Cristais	ácido úrico	ausentes	fosfato triplo	ác úrico	fosfato triplo

Cont..

Cont... Tabela 16 - Urinálise de machos (Em) do Grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.

Urinálise	Experimento Macho 2				
	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Parâmetros					
Exame físico					
Cor	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	a.escuro
Aspecto	límpido	límpido	límpido	límpido	turvo
Volume	4,0	17,0	8,5	4,5	10,0
Densidade(SG)	1010	1015	1010	1025	1005
pH	7	6	7	5	7,5
Exame químico					
Leucócitos (Leu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito (Nit)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Proteína (Pro)	negativo	negativo	1+	1+	1+
Glicose (Glu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Corpos cetônicos (cet)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urubilinogênio (Urub)	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina (Bil)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias (Hm)	ausente	1+	ausente	1+	ausente
Hemoglobina (Hb)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	ausente	ausentes	ausentes	ausente	ausentes
Hemácias	ausente	ausentes	ausente	ausentes	raras
Células descamação	uretra	uretra	bexiga e uretra	bexiga e pelves	bexiga e uretra
Leucócitos	ausente	ausentes	ausentes	ausente	ausentes
Cilindros	ausente	ausentes	cilindro granuloso	cilindro granuloso	cilindro granuloso
Outros	sptz	sptz	ausentes	sptz	sptz
Cristais	fosfato triplo	ausente	fosfato triplo	fosfato triplo	fosfato triplo

Cont...

Cont... Tabela 16 - Urinálise de machos (Em) do Grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperfusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.

Urinálise	Experimento Macho 3				
	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Parâmetros					
Exame físico					
Cor	a. claro	a. claro	a. claro	a. claro	a.escuro
Aspecto	límpido	límpido	límpido	límpido	turvo
Volume	4,0	9,0	6,5	15,0	15,0
Densidade(SG)	1020	1015	1010	1005	1005
pH	6	6	7	6	8
Exame químico					
Leucócitos (Leu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito (Nit)	negativo	negativo	negativo	negativo	positivo
Proteína (Pro)	negativo	negativo	negativo	1+	1+
Glicose (Glu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Corpos cetônicos (cet)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urubilinogênio (Urub)	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina (Bil)	negativo	negativo	1+	negativo	negativo
Hemácias (Hm)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina (Hb)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	ausente	ausente	ausente	ausente	ausentes
Hemácias	ausente	ausentes	ausente	raras	raras
Células descamação	ausentes	ausentes	bexiga	uretra	ausentes
Leucócitos	ausente	ausentes	2 pc	ausente	1 pc
Cilindros	ausente	ausentes	cilindros granulosos	cilindros granulosos	cilindros granulosos
Outros	ausentes	sptz	sptz	ausentes	ausentes
Cristais	ác úrico	ác urico	oxalato de calcio	ausentes	fosfato triplo

Cont...

Cont... Tabela 16- Urinálise de machos (Em) do Grupo Experimental- I/R submetidos à isquemia unilateral esquerda por 10 minutos e análise da reperusão às 24 horas, 5, 7, 14 e 21 dias.

Experimento Macho 4					
Urinálise (Parâmetros)	24 h	5 dias	7 dias	14 dias	21 dias
Exame físico					
Cor	a.claro	a. claro	a. claro	a. claro	a.escuro
Aspecto	a.claro	límpido	límpido	límpido	turvo
Volume	0,5	2,0	1,0	5,0	6,0
Densidade(SG)	1025	1025	1015	1015	1005
pH	6	5	7	5	8
Exame químico					
Leucócitos (Leu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Nitrito (Nit)	negativo	negativo	negativo	negativo	positivo
Proteína (Pro)	1+	1+	neg	1+	1+
Glicose (Glu)	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Corpos cetônicos (cet)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Urubilinogênio (Urub)	normal	normal	normal	normal	normal
Bilirrubina (Bil)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Hemácias (Hm)	1+	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemoglobina (Hb)	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo
Sedimento					
Bactérias	ausente	ausente	ausente	ausente	ausente
Hemácias	ausente	ausentes	ausente	raras	raras
Células descamação	ausentes	bexiga	uretra	bexiga	bexiga
Leucócitos	ausentes	ausentes	aus	1 pc	2 pc
Cilindros	ausentes	ausentes	cilindros granulosos	cilindros granulosos	cilindros granulosos
Outros	sptz	sptz	ausentes	sptz	sptz
Cristais	ác úrico	ausentes	fosfato triplo	ausentes	fosfato triplo

9.14 APENDICE N

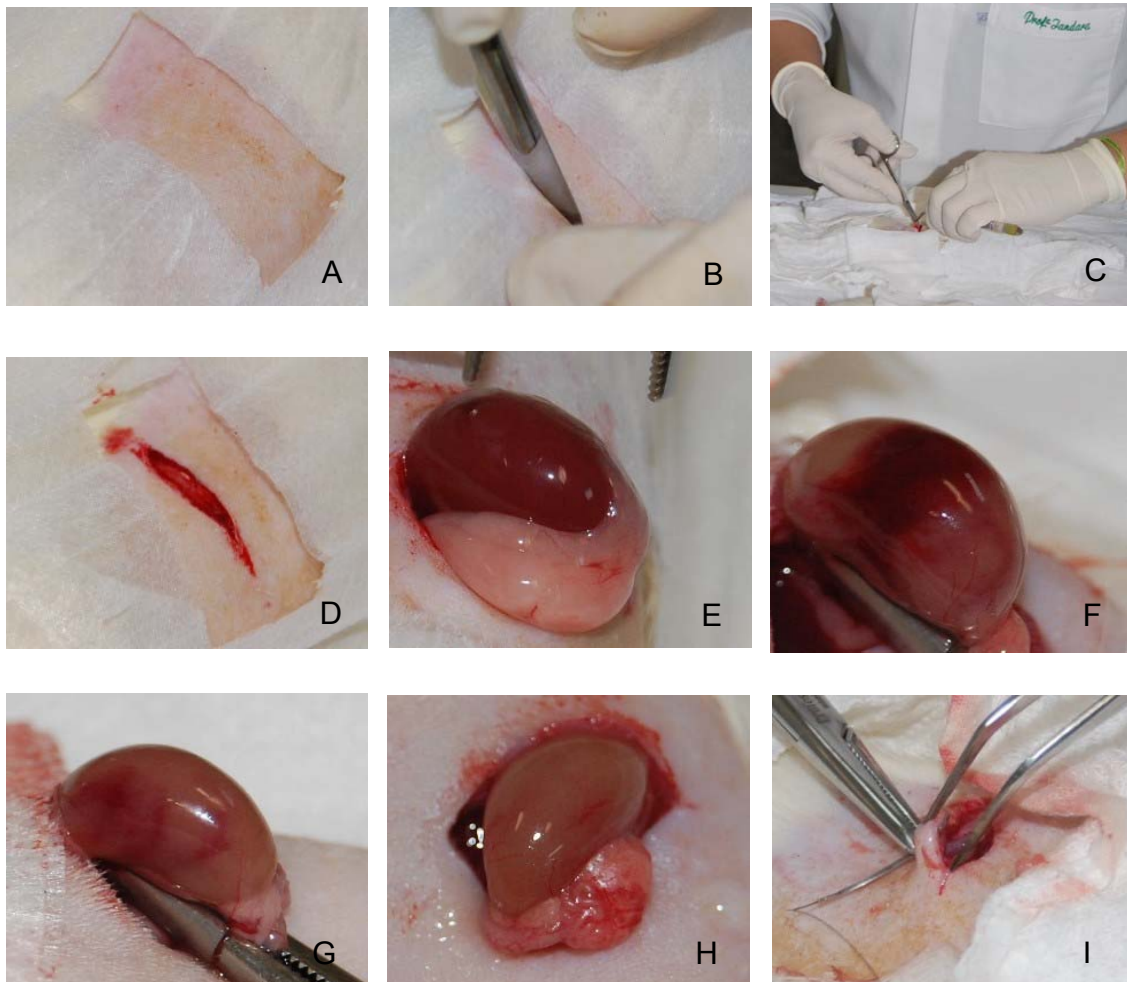


Figura 9 - Cirurgia de Isquemia e Reperusão Renal: A - Tricotomia e assepsia, B - Marcação da incisão, C - Início do ato cirúrgico, D - Incisão lateral esquerda, E - Exposição para clameamento, F - Clameamento de 5 minutos, G - Clameamento de 10 minutos, H - Fim Isquemia e Início Reperusão, I - Sutura da incisão.