

# ESTUDO DA FUNÇÃO RENAL NO HOMEM E NO CÃO

*Laboratório de Fisiologia Renal*

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Terezila Machado Coimbra

Ana Paula Coelho Balbi

Rildo A. Volpini

Telma de Jesus Soares

## INTRODUÇÃO

O objetivo desta prática é obter resultados que venham mostrar alguns aspectos da função renal que, por hipóteses, devem relacionar-se a homeostase hidrossalina do organismo. Para tanto, baseados nos conhecimentos que já possuímos a respeito do funcionamento do sistema renal, vamos induzir algumas modificações, tanto sistêmicas quanto ao nível de transporte no nefro, e observar as respostas no manuseio renal de sal e água. Devido a facilidades de laboratórios e por serem, ao nosso ver, bastante ilustrativas, pretendemos intervir no sistema renal de duas maneiras básicas:

1) inibindo o transporte de substâncias ao nível do túbulo proximal (infusão de manitol hipertônico) e/ou ao nível do ramo ascendente da alça de Henle (administração de furosemide - uma droga que inibe o transporte de NaCl nesta porção).

2) induzindo variações na osmolalidade do meio extracelular, por ingestão ou restrição aquosa.

Antes de vir para a prática e mesmo antes de seguir adiante com a leitura, imagine o sistema renal e que respostas devem ser esperadas em termos de fluxo-urinário, pH, filtração glomerular, excreção de Na<sup>+</sup>, etc. No nosso caso, devido a conveniências várias, realizaremos experimentos em humanos e cães.

## OBJETIVOS

Observar o comportamento de alguns parâmetros da função renal em cães e seres humanos submetidos a situações de variação da osmolalidade do meio interno e de alterações no transporte de sódio ao nível de túbulos renais.

## 1. ESTUDO DA FUNÇÃO RENAL NO CÃO

### GRUPO I : DIURÉTICO OSMÓTICO (manitol)

A utilização de drogas (diuréticos) nos permite observar como o nefro manipula as várias substâncias que chegam até ele e como o transporte das mesmas em sítios específicos contribui para a manutenção da homeostase. Com essa finalidade vamos utilizar dois diuréticos com sítios de ação distintos e observar a função renal após sua aplicação.

Iremos inibir o transporte de NaCl no túbulo proximal. Nessa prática isso será conseguido injetando-se uma substância no animal que seja filtrada porém não reabsorvida e nem secretada. No nosso caso, utilizaremos manitol (um polissacarídeo) que deverá provocar uma diurese osmótica.

Por que essa droga somente inibirá o transporte ao nível do túbulo proximal? Você espera que todo transporte de NaCl seja inibido, ou só parte? Por quê? Imagine o que deverá acontecer com a excreção de Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, água, etc.

O experimento deve iniciar-se sempre com um período controle onde os dados serão coletados com o animal apenas anestesiado e com infusão leve (apenas para repor volumes perdidos) de salina (10 gotas/minuto).

Os parâmetros a serem medidos são os seguintes:

**a) fluxo urinário (V):** para isso você precisará saber o volume de urina formado (ml) num determinado tempo (min). Portanto, basta controlar o tempo de coleta urinária e medir o volume. O volume colhido dividido pelo tempo dará o fluxo (V) em ml/min.

**b) concentrações de Na, K e creatinina na urina e plasma:** através das concentrações de creatinina pode-se calcular seu clearance, que reflete a taxa de filtração glomerular.

$$\text{TFG} = \frac{U_{\text{Cr}} \cdot V}{P_{\text{Cr}}}$$

Onde:  $U_{\text{Cr}}$  = concentração de creatinina na urina.

$V$  = fluxo urinário.

$P_{\text{Cr}}$  = concentração de creatinina no plasma.

Conhecendo-se TFG e as concentrações de Na e K no plasma ( $P_{Na}$  e  $P_K$ ) e na urina ( $U_{Na}$  e  $U_K$ ) pode-se calcular a excreção fracional desses íons ou seja:

$$E.F. = \frac{Q_e}{Q_f}$$

Onde:  $Q_f$  é a carga filtrada e  $Q_e$  é a carga excretada.

$$Q_e = U \cdot V \quad \text{e} \quad Q_f = TFG \cdot P$$

onde  $U$  = concentração urinária

$P$  = concentração plasmática da substância em questão.

É fácil verificar-se que:

$$E.F. = \frac{(U/P) \times}{(U/P) \text{ creatinina}}$$

c) **osmolaridade plasmática e urinária ( $U_{osm}$  e  $P_{osm}$ )**: com isso é possível calcular-se o clearance osmolar ( $C_{osm}$  e o clearance de água livre ( $C_{H_2O}$ )).

$$C_{osm} = \frac{U_{osm} \cdot V}{P_{osm}}$$

Onde:  $V = C_{osm} + C_{H_2O}$

## PROTOCOLO EXPERIMENTAL

### 1.1. Contenção do animal

- pese o cão e anote.
- anestesia o animal por injeção endovenosa de nembutal (um barbitúrico), na dose de 40 mg/Kg de peso corporal (dilua uma cápsula de nembutal de 100 mg em 2.5 ml de solução

fisiológica. Isso fornece uma solução de nembutal a uma concentração final de 40 mg/ml. Injete 1 ml/Kg de peso).

## **1.2. Preparação cirúrgica**

- coloque o animal em decúbito dorsal e canule a traquéia.
- isole e canule uma veia femoral, conectando-a ao frasco de soro, mantendo um fluxo de cerca de 10 gotas por minuto. Esta via será usada para a infusão de substâncias.
- isole e canule uma artéria femoral, conectando-a a um tubo de polietileno previamente preenchido com soro fisiológico e heparina. As coletas de sangue serão feitas por esta via.
- canule os ureteres. Para isso coloque o animal em decúbito lateral. Para melhor acesso neste tipo de preparação, a incisão deve ser feita no sentido longitudinal (cerca de 10 cm) em um ponto médio entre o rebordo costal e a crista ilíaca, aproximadamente ao nível do bordo anterior da coluna vertebral. Após seccionar a pele e o tecido subcutâneo, observe o sentido das fibras musculares e divulsee-as, com auxílio de 2 pinças hemostáticas. Afastando cuidadosamente a musculatura atinja a cavidade retroperitoneal, descole a gordura com os dedos em direção medial, e tente visualizar os ureteres. Se a cavidade peritoneal for atingida procure isolar os ureteres sem manipular muito a gordura, o que dificulta a manobra. Isole os ureteres e canule-os com tubos de polietileno, não sendo necessário preenchê-los com soro.

Este tipo de preparação tem a desvantagem de ser mais traumática cirurgicamente, mas tem a vantagem de se obter menor lesão dos ureteres e praticamente não ter problemas de acotovelamento. Caso esta preparação seja feita após o animal ter sido heparinizado, tome o cuidado de fazer uma sutura, tipo chuleio, em todo o bordo da ferida cirúrgica, tecido muscular, subcutâneo e pele ao mesmo tempo, para diminuir o sangramento.

Após a canulação dos ureteres, posicione o animal em decúbito dorsal e coloque os tubos de polietileno dos ureteres em proveta adequada para coleta, de modo que se possa medir o volume de urina expelida durante certo tempo.

**Observação:** para este tipo de experimento pode se utilizar a simples colocação de uma sonda vesical (ou tubo de polietileno), o que em termos cirúrgicos é muito menos traumatizante. Mas nesse tipo de preparação, deve-se usar de preferência animais machos e têm-se desvantagens várias: a bexiga deve ser muito bem esvaziada antes de cada período experimental podendo ocorrer erros por acúmulo de urina que não seja

drenada. Pode-se tentar minimizar este inconveniente fazendo-se injeção de ar na bexiga, pela própria sonda e aspirando-se repetidas vezes, ou então injetando-se e recolhendo-se água destilada em volume conhecido, o que deverá ser contado como diluição no momento das dosagens. Pode ocorrer, ainda, lesão da parede da bexiga com consequente hematúria, ou a bexiga, pela irritação causada pela cânula, pode entrar em processo de contração espástica.

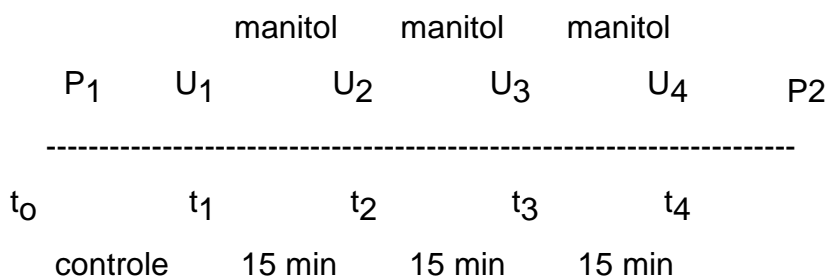
### **GRUPO I - DIURÉTICO OSMÓTICO (manitol)**

a) após a preparação do animal, infundir salina isotônica lentamente (20 gotas/min). Despreze toda urina coletada até o momento.

b) marcar o tempo ( $t_0$ ) e iniciar coleta de urina. Quando conseguir pelo menos 5 ml, anote o tempo novamente. Faça, entre este período, uma coleta de sangue (5 ml). Este é o período controle.

c) comece agora a infundir manitol a 20%. Faça um período infundindo 20 gotas/min, outro a 40 gotas/min, outro a 80 gotas/min e outro a 160 gotas/min. Em cada caso faça pelo menos uma coleta de urina, sempre marcando os tempos. Neste experimento você pode optar por fixar os tempos de coleta e deixar o volume urinário variar. Por exemplo, fixe o tempo em 15 minutos, mantenha a infusão de manitol num dado nível e colete todo o volume urinário. Faça isso para cada velocidade de infusão de manitol.

d) colete sangue ao final do experimento (5 ml). Em esquema temos:



Obs: converse com os professores responsáveis caso queira realizar outras manobras, ou combinação das aqui expostas, para que se avalie essa possibilidade.

## ANÁLISE DO MATERIAL COLETADO

Todo material deve ser colocado nos frascos apropriados e devidamente identificados para que se saiba exatamente sua origem e o período experimental correspondente. Anote sempre os resultados obtidos bem como as diluições realizadas.

**a) Sangue:** centrifugar a 5.000 RPM e separar o plasma com pipeta de Pasteur.

**b) Dosagens:**

**b1) osmolaridade:** leve as amostras de plasma e urina de cada período para medir a osmolaridade pelo método de abaixamento do ponto de congelação de água em osmômetro.

**b2) Na e K:** as dosagens de Na e K serão feitas em fotômetro de chama. Numa primeira etapa tanto o plasma quanto a urina deverão ser diluídos na proporção de 1:100. Se diluições maiores forem necessárias o(a) técnico(a) o avisará; tome nota dessas diluições.

**b3) creatinina:** as dosagens de creatinina serão feitas utilizando-se um Kit (normalmente empregado em laboratórios clínicos). A técnica consiste, essencialmente, em reagir-se a creatinina com ácido pícrico, dando picrato de creatinina que é um composto colorido. A intensidade da cor desenvolvida é proporcional a concentração de creatinina e pode ser avaliada com auxílio de um colorímetro.

**Obs:** se você não sabe o princípio de funcionamento dos equipamentos utilizados, peça explicação ao professor. Estes dados serão utilizados obrigatoriamente na discussão desta prática.

## **2 - ESTUDO DA FUNÇÃO RENAL NO HOMEM**

Nesta prática analisaremos características da função renal no homem utilizando técnicas não invasivas. Serão determinadas: a taxa de filtração glomerular, a capacidade renal de concentrar e diluir a urina e analisado o transporte de substâncias ao nível do ramo ascendente da alça de Henle. A função renal será também avaliada após a administração de um diurético de alça, o furosemide, que inibe o transporte de NaCl no ramo espesso da alça de Henle. Para isso, serão utilizadas as seguintes condições experimentais:

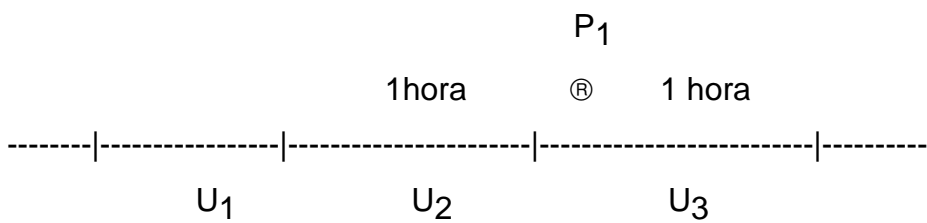
- a) **Antidiurese (GRUPO II)**: o voluntário deverá se abster de tomar líquidos desde o jantar da véspera, mantendo-se com dieta seca. Ou no caso do experimento ser realizado à tarde, a restrição de líquidos deverá ser iniciada pela manhã.
  
- b) **Diurese aquosa (GRUPO III)**: o voluntário deverá ingerir 1 litro de água (sucos ou refrigerantes) em um período de 15 minutos e após meia hora, mais meio litro.
  
- c) **Diurético de Alça – Furosemide (GRUPO IV)**: o voluntário deverá se abster de tomar líquidos desde o jantar da véspera, mantendo-se com dieta seca e após a coleta da urina controle deverá ingerir 1 comprimido de furosemide, um diurético que inibe o transporte de NaCl no ramo espesso da alça de Henle. Você já sabe que esse segmento está envolvido ativamente no chamado sistema de contracorrente e deve ser responsável, portanto, pela concentração urinária. Pense agora o que deverá acontecer com o fluxo urinário, excreção de Na, K, osmolaridade, etc com a infusão da droga.

## PROCOLO EXPERIMENTAL

Para obtenção de um período controle deverá ser pedido aos voluntários que esvaziem a bexiga algumas horas antes da aula anotando o tempo. Assim, ao iniciar a aula, devem esvaziar a bexiga novamente, colhendo-se a urina controle e anotando o volume da amostra. Imediatamente após a coleta deverá ser iniciado o procedimento experimental de acordo com os protocolos sugeridos.

### GRUPO II - ANTIDIURESE

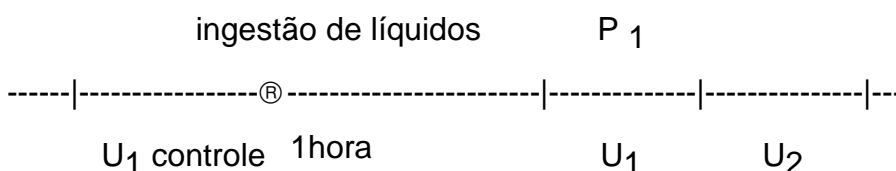
O voluntário deverá se abster de tomar líquidos durante o período de observação e serão coletadas amostras de sangue e urina do mesmo de acordo com o esquema abaixo. Os volumes das amostras de urina deverão ser anotados.



As amostras de sangue serão centrifugadas e o plasma separado para as dosagens.

### GRUPO III - DIURESE AQUOSA

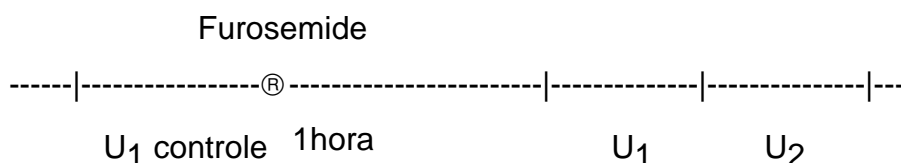
Um dos voluntários deverá ingerir 1 litro de água (suco ou refrigerante) em um período de 15 minutos e após 1 hora, mais meio litro. Deverá ser coletada uma amostra de plasma 1 hora após e duas amostras de urina por micção espontânea de acordo com o esquema abaixo:





## GRUPO IV - FUROSEMIDE

O voluntário deverá se abster de tomar líquidos durante o período de observação e após a coleta de urina ingerir 1 comprimido de Lasix. Serão coletadas amostras de sangue e urina do mesmo de acordo com o esquema abaixo. Os volumes das amostras de urina deverão ser anotados.



## ANÁLISE DO MATERIAL COLETADO

Deverão ser realizadas as determinações das concentrações de Na, K, creatinina e avaliação da osmolaridade nas amostras coletadas de sangue e de urina.

Esses resultados serão utilizados para cálculo da TFG, clearance osmolar, TcH<sub>2</sub>O ou clearance de H<sub>2</sub>O livre, carga filtrada e excretada de Na e K e excreção fracional de Na e K

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SCHNERMANN, J.B.; SAYEGH, S.I. **Kidney Physiology**. Philadelphia, New York, Lippincott-Raven, 1998, cap.4, p. 23-41: Ultrafiltration in the Glomerulus.
- SCHNERMANN, J.B.; SAYEGH, S.I. **Kidney Physiology**. Philadelphia, New York, Lippincott-Raven. 1998. cap.6, p. 55-77: Regulation of Body Fluid Osmolality.
- MALNIC, G.; MARCONDES, M. **Fisiologia Renal**. 3. ed. São Paulo, Editora Pedagógica e Universitária, 1986, cap. 4, p. 49-73: Filtração Glomerular.
- MALNIC, G.; MARCONDES, M. **Fisiologia Renal**. 3. ed. São Paulo, Editora Pedagógica e Universitária, 1986, cap.10, p. 173-213: Concentração e Diluição Urinária.
- MALNIC, G.; MARCONDES, M. **Fisiologia Renal**. 3. ed. São Paulo, Editora Pedagógica e Universitária, 1986, cap.18, p. 337-336: Diuréticos.
- KOEPPEN, B.M.; STANTON, D.A. **Renal Physiology**. 2. ed. St Louis, Missouri, Mosby, 1997. cap 3, p. 31-51: Glomerular Filtration and Renal Blood Flow.
- KOEPPEN, B.M.; STANTON. D.A **Renal Physiology**. 2 ed. St Louis, Missouri, Mosby, 1997, cap. 5, pags 77-93: Regulation of Body Fluid Osmolality: Regulation of Water Balance.
- KOEPPEN, B.M.; STANTON. D.A. **Renal Physiology**. 2. ed., St Louis, Missouri, Mosby, 1997, cap. 10, p. 171-181: Physiology of Diuretic Action.