

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM**

SARA VENTURA

**CANAGLIFLOZINA PREVINE LESÃO RENAL AGUDA ISQUÊMICA EM RATOS
NÃO-DIABÉTICOS**

SÃO PAULO

2022

SARA VENTURA

**CANAGLIFLOZINA PREVINE LESÃO RENAL AGUDA ISQUÊMICA EM RATOS
NÃO-DIABÉTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola de Enfermagem da Universidade de São
Paulo, como parte dos requisitos para obtenção de
título de Bacharel em Enfermagem.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria de Fátima Fernandes
Vattimo

SÃO PAULO

2022

AGRADECIMENTOS

À orientadora e amiga, Prof.^a Dr^a Maria de Fátima Fernandes Vattimo, pela competência e respeito com que conduziu este processo, do alvorecer da ideia até a sua síntese.

Aos meus pais, Julio Cesar Ventura e Imacia Alves Ventura, e à minha família Julio Cesar Alves Ventura, Márcio Gâmbaro, Elisangela Grasso, por me apoiarem nos meus estudos e acreditarem no meu potencial.

À minha namorada, Lívia Gâmbaro, pela companhia, dedicação e amor por estar sempre ao meu lado.

Às minhas amigas, Sofia Klock França, Letícia Alcântara Fernandes, Renata Jae Won Lee, Leonardo Tonhi por me acompanharem e torcerem sempre por mim.

À minha amiga de pesquisa, Eloiza de Oliveira Silva, por estar desde o início da trajetória desta pesquisa. Estivemos juntas na bancada, na escrita, nas apresentações, e agora, neste desfecho tão importante que obtivemos a cerca do que amamos fazer.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro que possibilitou a condução desta pesquisa.

Ventura S. Canagliflozina previne lesão renal aguda isquêmica em ratos não-diabéticos. [Trabalho de Conclusão de Curso- TCC]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo

RESUMO

Introdução: Metanálises recentes mostraram que os inibidores do cotransportador de sódio-glicose 2 (SGLT-2) impedem a lesão renal aguda (LRA) em pacientes diabéticos. O objetivo desse estudo foi investigar o efeito protetor da canagliflozina na LRA por isquemia e reperfusão (I/R) em ratos não diabéticos. **Métodos:** Ratos Wistar foram divididos em quatro grupos: CANA: canagliflozina (ratos que receberam 30 mg/kg, V.O, durante 5 dias); I/R: ratos submetidos a isquemia renal (clampeamento do hilo renal, 30 minutos); CANA+I/R: ratos que receberam canagliflozina (30mg/kg, V.O.; 5 dias antes do I/R). Foram avaliados parâmetros de função renal (creatinina sérica, *clearance* de inulina); perfil oxidativo (peróxidos urinários - FOX, peroxidação lipídica - TBARS). **Resultados:** O grupo *I/R* apresentou redução de *clearance* de inulina (*I/R*: $0,2 \pm 0,03$ vs CANA: $1,7 \pm 0,5$) e aumento da creatinina sérica (*I/R*: $2,1 \pm 0,7$ vs CANA: $0,4 \pm 0,3$), bem como aumento dos metabólitos oxidativo FOX (*I/R*: $14,4 \pm 4,1$ vs CANA: $4,0 \pm 1,1$), TBARS (*I/R*: $18,7 \pm 1,5$ vs CANA: $1,5 \pm 0,3$). Enquanto o grupo CANA+I/R mostrou redução da creatinina sérica (CANA+I/R: $0,2 \pm 0,08$ vs I/R: $2,1 \pm 0,7$) e aumento do *clearance* de inulina (CANA+I/R: $2,0 \pm 0,4$ vs I/R: $0,2 \pm 0,03$), bem como diminuição dos metabólitos oxidativos FOX (CANA+I/R: $3,7 \pm 1,2$ vs I/R: $14,4 \pm 4,1$) TBARS (CANA+I/R: $1,6 \pm 0,4$ vs I/R: $18,7 \pm 1,5$). **Conclusão:** O tratamento com *Canagliflozina* previniu a redução da função renal induzida pela isquemia, visto que se observou melhora da função renal e redução da atividade oxidante. Portanto, a *Canagliflozina* confirmou relevante efeito renoprotetor na vigência de isquemia renal.

Descritores: Lesão Renal Aguda, Isquemia, Reperfusão, Inibidores do Transportador 2 de Sódio-Glicose.

**Ventura S. Canagliflozin prevents ischemic acute kidney injury in non-diabetic rats.
[Trabalho de Conclusão de Curso- TCC]. São Paulo: Escola de Enfermagem,
Universidade de São Paulo**

ABSTRACT

Introduction: Recent meta-analyses have shown that sodium-glucose cotransporter 2 (SGLT-2) inhibitors prevent acute kidney injury (AKI) in diabetic patients. The aim of this study was to investigate the protective effect of canagliflozin on AKI by ischemia and reperfusion (I/R) in non-diabetic rats. **Methods:** Wistar rats were divided into: CANA: canagliflozin (30 mg/kg, once, daily, 5 days); I/R: ischemic group (30-minute bilateral renal clamping); CANA+I/R: as described. Renal hemodynamics such as renal blood flow (RBF) and renal vascular resistance (RVR); renal function (inulin clearance, plasma creatinine); oxidative metabolites (urinary peroxides, TBARS) were analyzed. **Results:** The I/R group showed a reduction in inulin clearance (I/R: 0.2 ± 0.03 vs CANA: 1.7 ± 0.5) and an increase in serum creatinine (I/R: 2.1 ± 0.7 vs CANA: 0.4 ± 0.3), as well as an increase in FOX oxidative metabolites (I/R: 14.4 ± 4.1 vs CANA: 4.0 ± 1.1), TBARS (I/R: 18.7 ± 1.5 vs CANA: 1.5 ± 0.3). While the CANA+I/R group showed a reduction in serum creatinine (CANA+I/R: 0.2 ± 0.08 vs I/R: 2.1 ± 0.7) and an increase in inulin clearance (CANA+I/R: 2.0 ± 0.4 vs I/R: 0.2 ± 0.03), as well as a decrease in FOX oxidative metabolites (CANA+I/R: 3.7 ± 1.2 vs I/R: 14.4 ± 4.1) TBARS (CANA+I/R: 1.6 ± 0.4 vs I/R: 18.7 ± 1.5). **Conclusion:** Canagliflozin did not induce hypoglycemia and has significant potential as a therapeutic intervention to ameliorate renal injury after renal I/R and attenuate oxidative stress.

Keywords: Acute kidney disease, Ischemia, Reperfusion, Sodium-Glucose Transporter 2 Inhibitors.

LISTA DE FIGURAS

Gráfico 1 –	Clearance de inulina	15
Gráfico 2 –	Creatinina sérica	15
Gráfico 3 –	Fluxo sanguíneo renal	16
Gráfico 4 –	Resistência vascular renal	16
Gráfico 5 –	Perfil Oxidativo	16

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	6
2	OBJETIVOS	10
3	MÉTODOS	12
3.1	ANIMAIS	12
3.2	GRUPOS EXPERIMENTAIS	12
3.3	AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL	12
3.3.1	Clearance de inulina	12
3.3.2	Creatinina sérica	12
3.4	AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO	13
3.4.1	Peróxidos urinários	13
3.4.2	Peroxidação lipídica	13
3.5	ANÁLISES	13
3.6	LOCAL	13
4	RESULTADOS	15
5	DISCUSSÃO	18
6	CONCLUSÃO	21
7	REFERÊNCIAS	23

1 INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A lesão renal aguda (LRA) é uma síndrome caracterizada por um declínio súbito da função renal^[1]. Dentre as suas classificações, encontram-se a pré-renal e renal que podem estar associadas a eventos de isquemia, como sepse, choque, infecções, uso de contrastes radiológicos e toxicidade por medicamentos^[2].

Segundo a Kidney Disease: improving global outcomes (KDIGO), 1 em cada 5 adultos (21,6%) e 1 em cada 3 crianças (33,7%) apresentaram LRA no mundo. Clinicamente, esta síndrome é definida como aumento de 0,3mg/dL ou 1,5 vezes na creatinina sérica basal em 48h, ou redução do fluxo urinário para menos que 0,5mL/Kg durante 6h^[3].

O rim recebe cerca de 20% do débito cardíaco do corpo, o que confirma a sua alta vulnerabilidade a qualquer redução de perfusão e oxigenação. No cenário de diminuição grave / prolongada do fluxo sanguíneo ou hipóxia nos rins ocorre o comprometimento da integridade e metabolismo celular renal e, em última instância, a disfunção vascular, glomerular e tubular. O dano se caracteriza pela taxa de filtração glomerular (TFG), que diminui no cenário de lesão. Porém, a TFG nem sempre se relaciona com a condição de base do paciente, demonstrando a complexidade dos processos vasculares e tubulares na disfunção renal^[4].

A fisiopatologia da LRA pode ser descrita por uma sequência de eventos que compreendem desde o insulto agudo até os mais definitivos como em casos de doenças renais crônicas. Esses eventos desencadeiam mecanismos compensatórios nos rins, como a hiperfiltração compensatória inicial e a hipertrofia dos néfrons viáveis remanescentes. À medida que este insulto perdura, alterações histopatológicas subsequentes que incluem a distorção da arquitetura glomerular, função podocitária anormal e a interrupção da filtração levando à esclerose renal se sucedem^[5].

Essa síndrome afeta 30–60% dos pacientes gravemente enfermos e está associada à morbidade e mortalidade agudas^[6]. Além disso, há evidências que demonstram que grande parte dos pacientes acometidos pela LRA evoluem da fase aguda para a doença renal crônica (DRC), progressão acelerada para doença renal em estágio terminal (ESRD), aumento do risco de complicações cardiovasculares, episódios recorrentes de LRA e mortalidade^[7], levando a baixa qualidade de vida, incapacidade e altos custos terapêutico de longo prazo^[8].

Estudos buscam atenuar as complicações da LRA em pacientes cujas reservas hemodinâmicas e imunológicas são restritas [9,10,11]. Tratamentos ainda em discussão são necessários para reduzir a alta morbidade e mortalidade e melhorar a recuperação da função renal. Em alguns casos, como quando há identificação de risco pré-operatório para doença renal ou risco cirúrgico, o momento do insulto é conhecido e tem-se a oportunidade de implementar medidas preventivas para preservar a função renal. Alternativamente, pode-se intervir após o paciente ter sido diagnosticado com LRA para tentar melhorar a recuperação e reduzir a progressão para DRC / ESRD em pacientes de alto risco [12].

Uma das terapias farmacológicas mais usadas para o controle da progressão da doença renal são os medicamentos inibidores de enzima conversora de angiotensina, no entanto, ensaios clínicos recentes avaliaram o impacto de inibidores do co-transportador sódio-glicose 2 (SGLT2) que poderiam estar associados a menor incidência de desfechos renais no Diabetes Mellitus (DM). O estudo multicêntrico, randomizado, duplo-cego e placebo controlado, CREDENCE avaliou os efeitos do inibidor da SGLT2, a canaglifozina, nos desfechos renais de pacientes portadores de doença renal por DM do tipo 2 [13].

As gliflozinas, inibidores da proteína SGLT2, provocam eliminação de maior quantidade de glicose na urina, baixando os níveis de glicose no sangue. A proteína SGLT2 está localizada no túbulo proximal do néfron e faz com que a glicose que foi filtrada pelo glomérulo seja reabsorvida. Logo, os inibidores de SGLT2 bloqueiam a reabsorção renal de glicose e têm efeitos protetores no rim (e no coração) [14]. Além de estarem associados a uma redução substancial da albuminúria e risco reduzido de progressão para albuminúria [15].

Considerando que estudos com modelos animais de isquemia/reperfusão permitem a transposição de situações clínicas à bancada, em uma tentativa de, no isolamento de variáveis não abordáveis no humano, identificar mecanismos fisiopatológicos e respostas fisiológicas às terapias farmacológicas ou não farmacológicas e que ainda são inconclusivos os estudos sobre os efeitos e mecanismos renais dos medicamentos antidiabéticos, as gliflozinas, a hipótese desse estudo é que esses agentes desempenhem papel protetor sobre a função renal e a oxidação renal na LRA.

2 OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

Geral:

- Avaliar o efeito de medicamento antidiabético, canagliflozina, em modelo animal de lesão renal aguda isquêmica.

Específicos:

- Avaliar o efeito da gliflozina sobre a função renal de ratos submetidos ao modelo de lesão renal aguda isquêmica;
- Avaliar o efeito da gliflozina sobre a perfil oxidativo renal de ratos submetidos ao modelo de lesão renal aguda isquêmica;

3 MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1 ANIMAIS

Os procedimentos necessários para realização deste estudo estão de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O estudo foi submetido ao Comitê de Ética para Uso de Animais da Faculdade de Medicina da USP (CEUA-FMUSP).

Foram utilizados ratos Wistar, (n), machos, adultos, pesando entre 250-300g, fornecidos pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP. Os animais foram mantidos com livre acesso a água e ração durante todo o experimento e permaneceram em condições térmicas adequadas e ciclo alternado entre dia e noite.

3.2 GRUPOS EXPERIMENTAIS

- **Grupo CANA (n=5)** - animais que receberam *Canagliflozina*, por gavagem, 30mg/kg, 1 vez ao dia, por 5 dias.
- **Grupo I/R (n=5)** – animais que receberam cloreto de sódio 0,9% por gavagem 1 vez ao dia, por 4 dias. No 5º dia submetidos a laparotomia com campleamento bilateral dos pedículos renais por 30 minutos com clamps vasculares não traumáticos para reprodução do modelo de Isquemia/Reperfusão.
- **Grupo CANA+I/R (n=5)** – animais que receberam *Canaglifozina*, por gavagem, 30mg/kg, 1 vez ao dia, por 4 dias. No 5º dia submetidos a I/R.

No 6º dia, os animais são colocados em gaiola metabólica para coleta de urina 24 horas. Após a coleta da urina, no 7º dia, os ratos foram anestesiados com quetamina/xilazina (100mg/kg e 10mg/kg) e submetidos à laparotomia para coleta de sangue, por meio da punção em aorta abdominal, para posterior dosagem de creatinina sérica.

Ao término do protocolo experimental, os animais foram eutanasiados segundo as normas éticas para manuseio de animais em laboratório, utilizando sobredose de anestésico (3 vezes a dose terapêutica).

3.3 AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

3.3.1 Clearance de inulina

A taxa de filtração glomerular foi determinada por meio da técnica de *clearance* de inulina. O animal foi anestesiado com Xilazina® (xilazina: 30 mg/kg) i.p. Ketamina (ketamina: 50 mg/kg) e foi realizada a cateterização da veia jugular para infusão de inulina. Uma dose

inicial de 100 mg/kg peso de inulina diluída foi administrada seguida da infusão contínua de 10 mg/kg peso durante 2 horas de experimento, em velocidade de 0,04 ml/min. Após um período de estabilização de 30 minutos, foi iniciada a coleta de urina a cada 30 minutos por meio da cateterização da bexiga e coleta de amostra sanguínea a cada 60 minutos, para análise da concentração de inulina urinária e plasmática pelo método de Antrona. O *clearance* de inulina foi expresso em ml/min/100g [16,17].

3.3.2 Creatinina sérica

A função renal foi avaliada também por meio da creatinina plasmática por meio do método de Jaffé [18].

3.4 AVALIAÇÃO DO ESTRESSE OXIDATIVO

3.4.1 Peróxidos urinários

Os peróxidos são considerados potenciais indicadores da formação ou resultantes de espécies reativas de oxigênio. A mensuração direta de peróxidos pode ser realizada por meio do método FOX-2, o qual consiste na utilização de ferro-xilenol laranja para determinação dos níveis de peróxidos urinários [19].

3.4.2 Peroxidação lipídica

O Malondealdeído (MDA) é frequentemente analisado para a determinação dos índices de peroxidação lipídica por ser um dos principais produtos desta cascata. Um método para detecção deste produto é a dosagem do ácido tiobarbitúrico ao qual ele reage [20].

3.5 ANÁLISES

A análise dos dados será realizada por meio do método ANOVA, onde o nível de significância será de < 0,05, considerando que o efeito de pelo menos um dos grupos seja diferente dos outros. Os testes múltiplos de comparação 2 a 2 de Tukey serão utilizados para avaliar quais grupos diferirão ou não entre si.

3.6 LOCAL

O estudo será desenvolvido no Laboratório experimental de Modelos Animais (LEMA) da escola de enfermagem da Universidade de São Paulo (EEUSP), coordenado pela Prof^a Dr^a Maria de Fátima Fernandes Vattimo.

4 RESULTADOS

4. RESULTADOS

Os resultados de função renal e hemodinâmica renal são apresentados nos gráficos 1 e 2, por meio dos parâmetros de creatinina sérica e *clearance* de inulina; e nos gráficos 3 e 4, por meio dos parâmetros de fluxo sanguíneo renal (FSR) e resistência vascular renal (RVR), respectivamente.

O grupo CANA apresentou valores que foram considerados como referência de normalidade (creatinina sérica: $0,4 \pm 0,3$ e *clearance* de inulina: $1,7 \pm 0,5$), (FRS: $7,5 \pm 1,5$ e RVR: $12,1 \pm 2,9$).

Ratos com IRA induzida por isquemia renal bilateral temporária por 30 min apresentaram redução significativa da depuração de inulina e FSR, bem como, aumento da creatinina sérica quando comparado ao grupo CANA, indicando injúria renal aguda.

O pré-condicionamento com canagliflozina mostrou redução da creatinina sérica e aumento do *clearance* de inulina quando comparado ao grupo I/R, no entanto, não diferiu significativamente (CANA $1,7 \pm 0,5$ versus CANA+I/R: $2,0 \pm 0,4$, $p < 0,05$) dos ratos do grupo controle, confirmando o efeito renoprotetor da intervenção por gliflozina neste grupo.

Sabe-se que a isquemia aumenta a RVR. Ratos isquêmicos que foram tratados com canagliflozina exibiram uma diminuição significativa na RVR em comparação com ratos isquêmicos não tratados (I/R $52,5 \pm 3,2$ versus CANA+I/R: $13,2 \pm 1,6$, $p < 0,05$).

Gráfico 1. Clearance de inulina

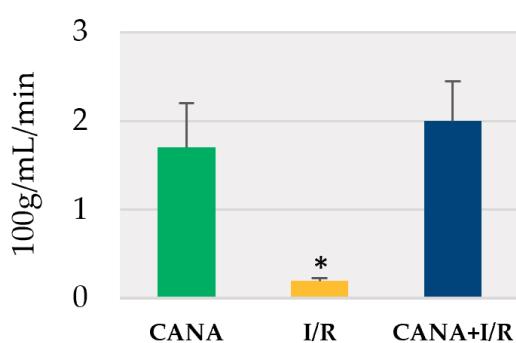
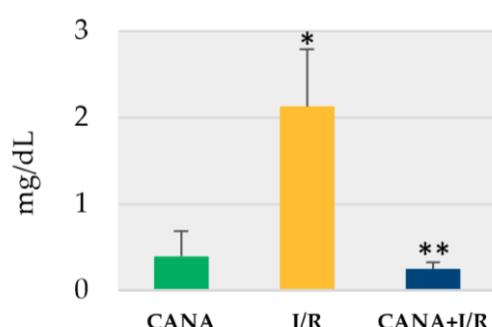
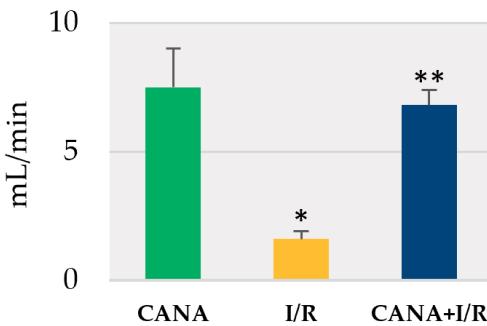
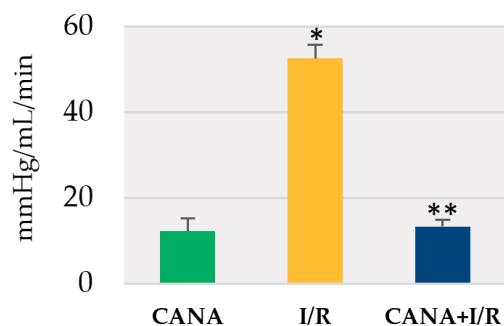


Gráfico 2. Creatinina sérica



* $p < 0,05$ versus CANA; ** $p < 0,05$ versus I/R

Gráfico 3. FSR**Gráfico 4. RVR**

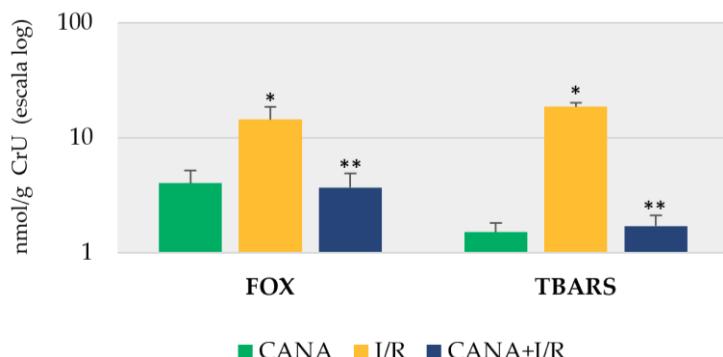
* p<0,05 versus CANA; ** p<0,05 versus I/R

O gráfico 4 demonstra o perfil oxidativo, por meio dos métodos FOX e TBARS, sendo que o grupo CANA apresentou valores que foram considerados como referência de normalidade (FOX: $2,5 \pm 1,1$ e TBARS: $1,5 \pm 0,3$).

Ratos isquêmicos não tratados com IRA apresentaram aumento significativo na concentração urinária de peróxidos e peroxidação lipídica em comparação ao grupo controle, confirmando o estresse oxidativo reproduzido no modelo de isquemia e reperfusão (FOX: I/R $5,9 \pm 0,4$ versus CANA: $2,5 \pm 1,1$; TBARS: I/R $18,5 \pm 1,5$ versus CANA $1,5 \pm 0,3$, p < 0,05).

Em contraste, o grupo CANA+I/R apresentou diminuição dos níveis de FOX e TBARS quando comparado aos grupos CANA e I/R. A presença de ROS no grupo não tratado acarretou uma elevação adicional em relação ao grupo CANA + I/R. (FOX: I/R $5,9 \pm 0,4$ versus CANA+I/R: $3,7 \pm 1,3$; TBARS: I/R $18,5 \pm 1,5$ versus CANA+I/R $1,7 \pm 0,4$, p < 0,05).

Os dados sugerem que o pré-condicionamento com canagliflozina reduz os defeitos induzidos por isquemia na concentração urinária. Assim, ratos isquêmicos que foram pré-condicionados com canagliflozina apresentaram recuperação da função renal, FSR, RVR e função tubular normais.

Gráfico 5. Perfil oxidativo

* p<0,05 versus CANA; ** p<0,05 versus I/R

5 DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

Por ser amplamente conhecido que a IRA é um processo multifatorial, o objetivo deste estudo foi avaliar o potencial efeito terapêutico de um medicamento antidiabético, pertencente a classe das gliflozinas, canagliflozina, no insulto de lesão renal aguda isquêmica em ratos não-diabéticos.

As complicações da função renal decorrente da I/R foram demonstradas no modelo experimental que consistiu na hipoperfusão transitória de 30 minutos decorrente do clampeamento dos pedículos renais desencadeando uma resposta à isquemia renal. Esse achado se confirmou pelos resultados dos parâmetros de função renal e estresse oxidativo característico do insulto.

O insulto de I/R envolve vários mecanismos fisiopatológicos complexos, lesão e disfunção em células endoteliais e tubulares, resposta inflamatória e formação de espécies reativas de oxigênio [21]. Esses animais apresentaram comprometimento da função renal demonstrado pela redução do clearance de inulina, elevação da creatinina sérica e intensificação do mecanismo redox, corroborando os achados em outros estudos experimentais com o mesmo modelo de lesão aguda [22,23].

As lesões tubulares agravadas durante a I/R estão relacionadas a mecanismos de produção EROs em que se observou que animais submetidos a I/R tiveram aumento dos metabólitos oxidativos (peróxidos urinários e TBARS). Os peróxidos de hidrogênio, cuja excreção urinária demonstrou-se elevada nos animais I/R, contribui com a ocorrência de peroxidação lipídica, e consequente dano estrutural e funcional das células afetadas [24].

O condicionamento da canagliflozina foi associado à melhora dos parâmetros de função renal e confirma pelo aumento do clearance de inulina e diminuição da creatinina sérica. Neste estudo a mensuração de creatinina sérica e clearance de inulina do grupo que recebeu o medicamento foi semelhante ao grupo controle. Além disso, não houve alteração sistêmica no animal embora seja um medicamento é hipoglicemiante. Isso indica que a canagliflozina pode ser usada na prevenção de lesão renal aguda isquêmica.

Além disso, a canagliflozina desencadeou uma melhora nos parâmetros relacionados à oxidação, evidenciada por uma redução dos peróxidos urinários e TBARS. Essa melhora provavelmente está relacionada às propriedades anti-inflamatórias da canagliflozina, comprovadas em outras investigações.

Estudos confirmam que os inibidores de SGLT2 promovem ações anti-inflamatórias e antifibróticas, melhoram a oxigenação renal e os efeitos sobre hipertensão glomerular reduzida e hiperfiltração. Modelos experimentais ligaram SGLT2 com reduções no estresse oxidativo utilizando marcados de inflamação (fator nuclear K B, interleucina 6, monócito, proteína quimioatraente-1, infiltração de macrófagos) e fibrose (fibronectina, fator de crescimento transformador – b) e evidência histológica atenuada de nefropatia no nível estrutural. A inibição de SGLT2 reduz a lesão glomerular e no túbulo intersticial em vários modelos animais de diabetes [25,26].

Os inibidores de SGLT2 também reduz a lesão isquêmica renal. O fornecimento de oxigênio tubular proximal está relacionado a mudança no hematócrito. Estudos sugeriram que o aumento no hematócrito com a inibição de SGLT2 é devido a normalização da oxigenação cortical renal, restaurando assim a função celular normal para as células produtoras de eritropoietina no rim, que aumenta os níveis de hematócrito [27].

Portanto, a canagliflozina mostrou-se renoprotetora na LRAi em ratos não-diabéticos. Outros estudos precisam ser realizados para aprofundar esse achado a fim de contribuir ainda mais com estudos de prevenção da lesão renal aguda.

6 CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

O tratamento com canagliflozina, ou Gliflozina, em ratos submetidos ao modelo de isquemia renal, resultou em prevenção da lesão renal, pois o pré-condicionamento do medicamento evitou a LRA, demonstrado pela equivalência do clearance de creatinina entre os grupos controle versus grupo tratado. A atividade antioxidante do medicamento foi confirmada pela diminuição dos metabólitos oxidativos e dos peróxidos urinários o que reduziu a lesão no glomérulo e no túbulo intersticial. Os resultados corroboram os benefícios terapêuticos desse medicamento.

7 REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

1. Magro MCS, Vattimo MFF. Avaliação da função renal: creatinina e outros biomarcadores. Revista Brasileira de Terapia Intensiva. 2007; 19:182-5.
2. Mataloun SE, Machado FR, Senna AP, Guimaraes HP, Amaral JL. Incidence, risk factors and prognostic factors of acute renal failure in patients admitted to an intensive care unit. Braz J Med Biol Res. 2006;39(10):1339-47
3. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. Kidney inter., Suppl. 2012; 2:1–138
4. Bellomo R; Kellum JA; Ronco C. Acute kidney injury. Lancet 2012; 380: 756-66.
5. Kellum JA; Prolew JR. Paradigms of acute kidney injury in the intensive care setting. Nat Rev Nephrol 2018; 14: 217-30.
6. Ravindra L Mehta, Jorge Cerdá, Emmanuel A Burdmann, Marcello Tonelli, et.al, International Society of Nephrology's 0by25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology, The Lancet, Volume 385, Issue 9987, 2015, Pages 2616-2643, ISSN 0140-6736, <https://doi.org/10.1016/S0140-6736>
7. Murthy S, Leligdowicz A, Adhikari NKJ. Intensive Care Unit Capacity in Low-Income Countries: A Systematic Review. PLoS One. Critical care in low-income countries. Trop Med Int Health. 2009; p. 143-8.
8. Kolhe NV, Reilly T, Leung J, et al. A simple care bundle for use in acute kidney injury: a propensity score-matched cohort study. Nephrol Dial Transplant. 2016;31:1846–1854.
9. Zuk A, Bonventre JV. Lesão renal aguda. Annu Rev Med. 2016; 67: 293-307. doi: 10.1146/annurev-med-050214-013407. PMID: 26768243; PMCID: PMC4845743.
10. James MT, Bhatt M, Pannu N, Tonelli M. Long-term outcomes of acute kidney injury and strategies for improved care. Nat Rev Nephrol. 2020 Apr;16(4):193-205. doi: 10.1038/s41581-019-0247-z. Epub 2020 Feb 12. PMID: 32051567.
11. Silver AS; Siew ED. Follow-up care in acute kidney injury: lost in transition. Adv Chronic Kidney Dis 2017; 24: 246-52.
12. Nespoux J, Vallon V. SGLT2 inhibition and kidney protection. Clin Sci (Lond). 2018;132(12):1329-1339. Published 2018 Jun 28. doi:10.1042/CS20171298
13. Kelly MS, Lewis J, Huntsberry AM, Dea L, Portillo I. Efficacy and renal outcomes of SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. Postgrad Med. 2019;131(1):31-42. doi:10.1080/00325481.2019.1549459

14. Perkovic V et al. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. DOI: 10.1056/NEJMoa1811744
15. Nespoux J, Vallon V. SGLT2 inhibition and kidney protection. *Clin Sci (Lond)*. 2018;132(12):1329-1339. Published 2018 Jun 28. doi:10.1042/CS2017129.
16. White RP, Samson FE. Determination of inulin in plasma and urine by use of anthrone. *J Lab Clin Med*. 1954;43(3):475-8.
17. Owen JA, Iggo B, Scandrett FJ, Stewart CP. The determination of creatinine in plasma or serum, and in urine; a critical examination. *Biochem J*. 1954; 58(3): 426–437
18. Owen JA, Iggo B, Scandrett FJ, Stewart CP. The determination of creatinine in plasma or serum, and in urine; a critical examination. *Biochem J*. 1954; 58(3): 426–437
19. Banerjee D, Madhusoodanan UK, Nayak S, Jacob J. Urinary Hydrogen peroxide: a probably marker of oxidative stress in malignancy. *Clin Chim Acta*. 2003; 334(1-2):205-9.
20. Lima ES, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Braz J Pharm Sci*. 2001; 37(3):293-303.
21. Kelly MS, Lewis J, Huntsberry AM, Dea L, Portillo I. Efficacy and renal outcomes of SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *Postgrad Med*. 2019;131(1):31-42. doi:10.1080/00325481.2019.1549459
22. Bonventre JV, Yang L. Fisiopatologia celular da lesão renal aguda isquêmica. *J Clin Invest*. 2011; 121 (11): 4210-21. DOI: 10.1172 / JCI45161 https://doi.org/10.1172/JCI45161.
23. Watanabe M, Moura NLB, Costa SCX, Martins LFR, Vattimo MFF. Isoflavone and the heme oxygenase system in ischemic acute kidney injury in rats. *Food Chem Toxicol*.2007;45(12):2366-71
24. Terami N, Ogawa D, Tachibana H, et al. Long-term treatment with the sodium glucose cotransporter 2 inhibitor, dapagliflozin, ameliorates glucose homeostasis and diabetic nephropathy in db/db mice. *PLoS One*. 2014;9:e100777
25. Wang XX, Levi J, Luo Y, et al. SGLT2 expression is increased in human diabetic nephropathy: SGLT2 inhibition decreases renal lipid accumulation, inflammation and the development of nephropathy in diabetic mice. *J Biol Chem*. 2017;292:5335–5348.
26. Sano M, Takei M, Shiraishi Y, et al. Increased hematocrit during sodiumglucose cotransporter 2 inhibitor therapy indicates recovery of tubulointerstitial function in diabetic kidneys. *J Clin Med Res*. 2016;8: 844–847

27. Ingelfinger, Julie R., and Clifford J. Rosen. "Clinical credence-SGLT2 inhibitors, diabetes, and chronic kidney disease." *N Engl J Med* 380.24 (2019): 2371-2373.

ANEXO – APROVAÇÃO COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA)



Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
 Avenida Dr. Arnaldo, 455
 Pacaembu – São Paulo – SP

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificamos que a proposta intitulada “**Medicamentos anti-diabéticos podem prevenir a lesão renal**”, registrada com o nº **1624/2021**, sob a responsabilidade de **Maria de Fátima Fernandes Vattimo e Sara Ventura**, apresentada pela Escola de Enfermagem da USP - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Faculdade de Medicina da USP em reunião de **10/02/2021**.

Finalidade	(<input type="checkbox"/>) Ensino (<input checked="" type="checkbox"/>) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 01-09-2020 Término: 31-08-2021
Espécie/linhagem/raça	Rato wistar
Nº de animais	40
Peso/Idade	8 semanas
Sexo	machos
Origem	Biotério ICB

A CEUA FMUSP solicita que ao final da pesquisa seja enviado Relatório com todas as atividades.

CEUA-FMUSP, 10 de fevereiro de 2021

Dr. Eduardo Pompeu
 Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais