

ESCOLA DE ENFERMAGEM
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Efeito da semaglutida em modelo animal de isquemia e reperfusão renal

Autor: Guilherme Henrique Ferreira Vieira

Orientadora: Profa Dra Maria de Fatima F. Vattimo

São Paulo

2022

ESCOLA DE ENFERMAGEM
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Efeito da semaglutida em modelo animal de isquemia e reperfusão renal

**Monografia como trabalho de
conclusão de curso apresentada à Escola de
Enfermagem da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Bacharel em
Enfermagem**

Autor: Guilherme Henrique Ferreira Vieira

Orientadora: Profa Dra Maria de Fatima F. Vattimo

São Paulo

2022

SUMÁRIO

1. RESUMO	5
2. INTRODUÇÃO	6
3. OBJETIVOS	9
3.1 Geral	9
3.2 Específicos	9
4. MATERIAIS E MÉTODOS	9
4.1 Animais	9
4.1.1 Grupos experimentais	10
4.1.2 Administração de semaglutida	11
4.1.3 Modelo de lesão renal aguda por isquemia e reperfusão	11
4.1.4 Parâmetros a serem avaliados	11
4.2 Métodos	11
4.2.1 Avaliação Da Função Renal: Clearance De Inulina	11
4.2.2 Coleta de amostra de sangue e determinação do peso renal	12
4.2.2 Métodos para avaliação do perfil oxidativo	13
4.2.2.1 Dosagem de peróxidos urinários pelo método FOX.	13
4.2.2.2 Dosagem de TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúricos urinário)	13
4.2.3 Método de avaliação de enzimas antioxidantes: Análise de tióis solúveis não protéicos no tecido renal	14
4.3 Local	14
4.4 Análise de dados	14
5.0 RESULTADOS	
5.1 Análise da função renal	15
5.2 Análise do perfil oxidativo	16
5.3 Parametros fisiológicos	17
6.0 DISCUSSÃO	17
7.0 CONCLUSÃO	18
8.0 RECURSOS FINANCEIROS	19
9.0 AGRADECIMENTOS	19
REFERÊNCIAS	20

1. RESUMO

Introdução: A semaglutida é um fármaco antidiabético análogo ao GLP-1(peptídeo semelhante ao glucagon) humano. Consiste em uma classe de fármacos que tem se destacado recentemente graças aos seus bons resultados em desfechos cardiovasculares e renais em ensaios clínicos, entretanto, a escassez de dados sobre seus mecanismos de ação nesse efeito pleiotrópico renal ainda carece de maiores evidências. A lesão renal aguda (LRA) acomete cerca de 49% dos pacientes submetidos a cirurgias cardiovasculares de grande porte, além de apresentar taxa de mortalidade superior a 50%, o que justifica a busca por terapias preventivas.

Objetivos: Avaliar o efeito do tratamento com semaglutida oral na função renal, perfil oxidativo e hemodinâmica em ratos submetidos a modelo de isquemia e reperfusão. **Materiais**

e Métodos: Trata-se de um estudo descritivo, prospectivo, de abordagem quantitativa e experimental, com ratos Wistar, machos, adultos, pesando entre 250-300g randomizados nos grupos: Controle (SHAM, com simulação do clampeamento dos pedículos renais); GLP-1 (semaglutida, via oral-vo, 5 dias; 3mg/dia); Isquemia e Reperfusão (I/R, clampeamento dos pedículos renais bilateralmente, 30 minutos, seguido de reperfusão) e GLP-1+I/R (tratamento com semaglutida seguido de isquemia). A análise da função renal será feita por *clearance* de inulina.Serão realizados ensaios de oxidação com peróxidos urinários (FOX) e lipoperoxidação (TBARS) e tióis não protéicos no tecido renal.

Palavras chave: GLP-1; Lesão renal aguda; Modelo Animal

2. INTRODUÇÃO

A lesão renal aguda (LRA) é caracterizada clinicamente pela elevação da creatinina sérica em níveis iguais ou maiores a 0,3mg/dl após 48 horas ou aumento de 1,5 vezes em até 7 dias, após uma redução abrupta da função renal gerando acúmulo de resíduos metabólicos [1]. A LRA está associada a um risco aumentado de mortalidade, a eventos cardiovasculares e progressão para doença renal crônica. A sua gravidade é classificada de acordo com a produção de urina e elevações nos níveis de creatinina [2].

A Sociedade Brasileira de Nefrologia ressalta a necessidade de prevenção da LRA, como a opção terapêutica mais efetiva para o controle da síndrome, associada à atenção às características da doença crítica como um todo, ao invés da simples preocupação com os aspectos exclusivamente nefrológicos do tratamento. Existem situações clínicas em que a LRA é previsível, como no uso de medicamentos nefrotóxicos; cirurgias de grande porte em que a perfusão renal fica comprometida desencadeando a síndrome isquemia-reperfusão renal, como o próprio transplante renal; quadros infecciosos sistêmicos graves e liberação de pigmentos (mioglobina, hemoglobina, bilirrubina) [3].

A LRA é comum em pacientes hospitalizados, ocorrendo em 49% dos pacientes após cirurgia vascular de grande porte , dependendo do tipo de procedimento estudado [4] com uma taxa de mortalidade podendo chegar a 60% aos acometidos a essa lesão, mesmo com os avanços consideráveis na prática de cuidados médicos e terapia renal substitutiva (TRS) durante as últimas décadas [5 , 6 , 7]. A LRA é cada vez mais prevalente em países desenvolvidos e em desenvolvimento [8]. Demonstrando a necessidade de se investir em

novos possíveis tratamentos farmacológicos e não farmacológicos para prevenir ou atenuar essa síndrome.

Na literatura é constantemente encontrado que fármacos antidiabéticos são utilizados e pesquisados em relação aos seus efeitos benéficos ao sistema cardiovascular e ao sistema renal. Os efeitos renoprotetores de medicamentos antidiabéticos já foram avaliados em nosso laboratório e em outras universidades e institutos de pesquisa que atribuíram esse efeito a fármacos como a Canagliflozina, Dapagliflozina, Empagliflozina, Metformina, Linagliptina, dentre outros[9 , 10 , 11 , 12].

Muitos modelos clínicos e experimentais sugeriram o efeito renoprotetor e benéfico ao sistema cardiovascular do SGLT2 , dentre os fatores que contribuem para o efeito protetor do SGLT2 tem se como exemplo o balanço de sódio, interruptores metabólicos, remodelação reversa cardíaca e ativação de vias antioxidantes e anti-inflamatórias [13 , 14 , 15]

Essas vias intermediárias são induzidas pela eliminação de sódio e glicose, consequentemente fluidos e calorias, ao qual os SGLT2 são projetados para promover. Ao avançar da literatura, múltiplas meta-análises avaliaram e evidenciaram o impacto do SGLT2 nos resultados cardíacos e renais em diferentes populações . Com resultados que demonstram a melhora na função renal em indivíduos com diabetes tipo 2, com ou sem doença cardiovascular com redução média de 40% na incidência de resultados renais [16 , 17 , 18], reduziu a progressão de doença renal em indivíduos com e sem diabetes tipo 2 mas que possuíam algum comprometimento na taxa de filtração glomerular [19 , 20] e melhorou a função renal de pacientes com insuficiência cardíaca [21].

Estudos abordam os efeitos benéficos já trabalhados do GLP-1, onde alguns contribuem para a renoproteção como controle glicêmico que evita a hipóxia renal gerada pela hiperglicemia dentre outros agravos [22] , melhor controle da pressão arterial através da

natriurese excretando sódio [22], reduziu a inflamação e estresse oxidativo e evitou a nefropatia diabética e a lesão renal aguda em estudo com alogliptina e exendina-4 [23], e os produtos de degradação do GLP-1 reverterem a geração de espécies reativas de oxigênio(ROS) o que impede o ciclo de feedback gerador de ROS [24], abordando a necessidade de se estudar a semaglutida (Rybelsus, Novo Nordisk®) e verificar seus efeitos na função renal assim como feito com fármacos inibidores de SGLT-2 e outros fármacos GLP-1 utilizando a semaglutida como nova alternativa terapêutica para lesão renal aguda sendo a mesma a mais recente da classe.

A semaglutida é um fármaco análogo ao GLP-1 (Peptídeo Semelhante ao Glucagon). Essa classe de fármacos começou a ser estudada e exaltada graças aos bem sucedidos ensaios clínicos das terapias baseadas em GLP-1, entretanto as terapias iniciais baseadas nesse método necessitavam de uma injeção subcutânea diária, o que se caracteriza como um transtorno para seu uso em pacientes que possuem diabetes mellitus tipo 2 [25]. A semaglutida oral representa um enorme avanço para o tratamento da DM2 sendo o primeiro análogo ao GLP-1 aprovado pela FDA, pois se torna atraente para os pacientes que necessitem de um melhor controle glicêmico, necessitam de uma perda de peso e que não sejam adeptos a terapia injetável. Entretanto, o valor altamente benéfico de se ter um análogo ao GLP-1 em forma oral tem seu uso limitado devido à escassez de dados positivos sobre seus efeitos em doenças cardiovasculares e renais crônicas ou aguda. [26]

A analogia da semaglutida em relação aos peptídeos semelhantes ao glucagon é igual a 94% do GLP-1 humano, atua como um agonista dos receptores de GLP-1 se ligando e ativando o receptor, a ativação desse receptor estimula as células beta pancreáticas desencadeando a secreção de insulina e reduzindo a secreção de glucagon quando a glicemia está elevada, também desenvolvendo um atraso no esvaziamento gástrico na fase pós-prandial que auxilia no controle do nível glicêmico e gera uma redução do apetite mediado pelos receptores GLP-

1 no pâncreas e no cérebro [27 , 28]. A semaglutida é um fármaco cada vez mais utilizado na atualidade graças a seus bons resultados no combate a obesidade e a diabetes mellitus tipo 2 [25 , 26] entretanto necessita de maiores detalhes em relação ao seu uso e seus efeitos ainda não conhecidos, nisso justifica-se esse trabalho que busca verificar um possível efeito renoprotetor da semaglutida em modelo animal de lesão renal aguda isquêmica com avaliação do perfil oxidativo, avaliação da função e hemodinâmica renal e dosagem de enzimas antioxidantes..

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar o efeito renoprotetor do fármaco semaglutida, um análogo do GLP-1, em modelo animal de lesão renal aguda isquêmica (LRAi).

3.2 Específicos

- Avaliar o efeito da semaglutida na função renal de ratos submetidos a LRAi.
- Avaliar o perfil oxidativo de ratos submetidos a LRAi após uso de semaglutida.
- Avaliar a hemodinâmica renal de ratos submetidos a LRAi após uso de semaglutida.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Animais

Os procedimentos necessários para realização deste estudo serão aplicados de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados 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.

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

4.1.1 Grupos experimentais

- **SHAM(n: 5):** Os animais irão passar por simulação cirúrgica de laparotomia exploratória.
- **Grupo GLP-1 (n: 5):** Os animais irão receber semaglutida (3 mg/dia; diluída em 0,5ml de água potável; via oral; 5 dias), sendo a administração no período da manhã e restringindo o acesso a água e ração durante 30 minutos após a administração conforme recomendado pela bula.
- **Grupo IR (n: 5):** Os animais serão submetidos a cirurgia de isquemia e reperfusão com o clampeamento bilateral dos pedículos renais por 30 minutos com clamps vasculares não traumáticos.
- **Grupo GLP-1+IR (n: 5):** Os animais irão receber semaglutida (3mg/dia; diluída em 0,5ml de água potável; via oral; 5 dias), sendo a administração no período da manhã e restringindo o acesso a água e ração durante 30 minutos após a administração conforme recomendado pela bula. No sexto dia, serão submetidos a cirurgia de isquemia e reperfusão com o clampeamento bilateral dos pedículos renais por 30 minutos com clamps vasculares não traumáticos.

4.1.2 Administração de semaglutida

A semaglutida (Rybelsus, Novo Nordisk®) será administrada durante a manhã por 5 dias seguidos, a partir do 1º dia de protocolo experimental na dose de 3mg/dia , via oral(v.o) diluída em 0,5ml de água potável através de gavagem.

4.1.3 Modelo de lesão renal aguda por isquemia e reperfusão

Os animais serão anestesiados com Isoflurano 2,5% mg/kg via inalatória e submetidos a laparotomia para clampeamento bilateral dos pedículos renais com clamps vasculares não traumáticos. Todos os animais serão suturados e acompanhados durante a recuperação anestésica e receberão tramadol 15mg/kg via intraperitoneal como analgesico durante 3 dias no pós operatório.

4.1.4 Parâmetros a serem avaliados

O peso dos animais será avaliado ao final do protocolo, bem como o peso do rim direito, e será analisada a relação peso do animal/peso do rim. [28].

Ao final dos protocolos, os animais serão colocados em gaiolas metabólicas com acesso livre a água e ração para obtenção da urina 24h e posteriormente mensuração da creatinina urinária, após a obtenção da urina os animais serão submetidos ao protocolo de clearance de inulina.

4.2 Métodos

4.2.1 Avaliação Da Função Renal: Clearance De Inulina

A taxa de filtração glomerular será determinada por meio da técnica de clearance de inulina. Os animais serão anestesiados com Isoflurano 2,5% mg/kg via inalatória e será realizada a

cateterização da veia jugular para infusão de inulina. Uma dose inicial de 100 mg/kg peso de inulina diluída será 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, será 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 será expresso em ml/min/100g. [29]

4.2.2 Coleta de amostra de sangue e determinação do peso renal

Os protocolos experimentais terão duração de 1 semana (7 dias) durante as quais o peso corporal será controlado diariamente. No 7º dia do protocolo experimental, os animais dos diversos grupos serão colocados em gaiolas metabólicas para mensuração do volume urinário, ingesta hídrica e alimentar de 24 horas.

As amostras urinárias serão utilizadas para realização de estudos de função renal e estresse oxidativo.

Retirados das gaiolas metabólicas no 7º dia, os animais serão anestesiados com Isoflurano 2,5% mg/kg via inalatória submetidos aos procedimentos necessários para estudos de função renal pela técnica de determinação do clearance de inulina. Em seguida, os animais serão submetidos à laparotomia e coleta de sangue terminal por meio da punção da aorta abdominal. O rim direito será retirado e em seguida pesado para o cálculo da razão peso do rim/peso do animal e o rim esquerdo será removido, acondicionado e armazenado em refrigerador a -80°C para estudos posteriores de mensuração de tióis não proteicos.

Ao final do experimento, será realizada a eutanásia do animal por coleta de sangue terminal e administração de sobredose de anestésico, segundo as normas éticas para manuseio de animais em laboratório de pesquisa

4.2.2 Métodos para avaliação do perfil oxidativo

4.2.2.1 Dosagem de peróxidos urinários pelo método FOX.

Os peróxidos são considerados como potenciais indicadores da formação ou resultantes de espécies reativas de oxigênio. A mensuração direta de peróxidos pode ser realizada através do método FOX-2, o qual consiste na utilização de ferro-xilenol laranja para determinação dos níveis de peróxidos urinários [30 , 31 , 32]

4.2.2.2 Dosagem de TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúricos urinário)

O Malondialdeído (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 [33 , 34]

3.2.2.3 Determinação de nitrato urinário

A síntese de NO será avaliada por meio da quantificação de nitrito (NO_2^-), metabólito estável do NO, pelo método de Griess. A reação é colorimétrica e se baseia na reação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido (pH entre 2,5 e 5,0) formando o ácido alfa- naftilamina-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. Cerca de 150µl da amostra urinária dos diversos grupos será adicionada a 150µl do reagente que permanecerá em repouso por 15 min. A leitura será realizada em absorbância de 545 nm em leitor de ELISA. A absorbância das amostras será comparada a uma curva padrão de nitrito de sódio (NaNO_2) na concentração de 0,1 a 1,0 M[35]. O equacionamento da mensuração de NO será ajustado para valores de creatinina urinária e todos os valores obtidos serão estabilizados em nmol de NO por grama de creatinina urinária.

4.2.3 Método de avaliação de enzimas antioxidantes: Análise de tióis solúveis não protéicos no tecido renal

A glutathiona (GSH) é o mais relevante composto tiólico, está presente em todas as células e se constitui em principal tampão redox. Centrada no grupamento tiol que está presente na cadeia lateral que passar por repetidos ciclos de oxidação e redução a GSH alterna em a forma reduzida(GSH com sulfidrila livre) e oxidada (GSSG - os tióis de duas moléculas de GSH se ligam por ligação de dissulfeto). As altas concentrações de GSSG indicam desequilíbrio redox ou presença de lesão oxidativa, portanto a mensuração de tióis será usada como indicador de estresse oxidativo.

A quantificação de tióis será realizada a partir de amostras do tecido renal que são coletadas, trituradas e homogeneizadas com solução 10 mM de acetato de sódio, 0,5% tween 20 e DTPA(ph 6,5). O homogeneizado será centrifugado a 5000 rpm por 10 min a 4° C. Uma alíquota será reservada para dosagem de proteínas pelo método de Bradford, por meio do uso do kit Bio Rod, e outra alíquota será utilizada para dosagem de tióis livres [36].

4.3 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.

4.4 Análise de dados

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 diferem ou não entre si.

5.0 RESULTADOS

Nos resultados apresentados os animais do grupo SHAM foram considerados como controles saudáveis e seus dados são considerados como padrão de normalidade.

5.1 Análise da função renal

A função renal foi avaliada através do fluxo urinário, creatinina sérica e a taxa de filtração glomerular(TFG) foi estimada através do clearance de Inulina. A figura 1 mostra os resultados de função renal avaliados.

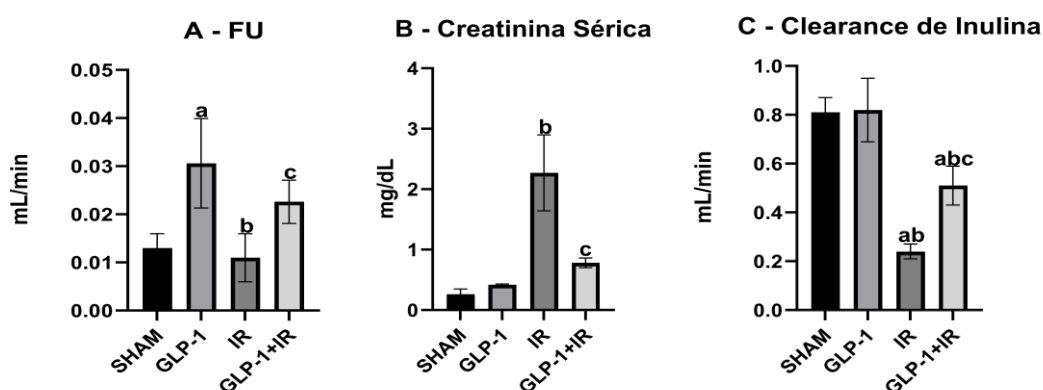


Figura 1. Função renal. **A** - O fluxo urinário de 24 horas dos grupos GLP-1 demonstrou aumento estatístico em relação a SHAM, o grupo IR apresentou menor fluxo urinário quando comparado aos grupos GLP-1 e GLP-1+IR. **B** - O grupo IR apresentou elevação significativa da creatinina sérica em relação aos grupos controle, o grupo GLP-1+IR submetido ao mesmo dano renal apresentou aumento de CrS em comparação aos grupos controle e significativa redução do parâmetro quando comparado à IR. **C** - O clearance de inulina do grupo IR demonstrou redução estatística em relação aos grupos SHAM e GLP-1, enquanto o grupo GLP-

1+IR apresentou redução significativa estatisticamente aos grupos controles, além de elevação quando comparado à IR.

5.2 Análise do perfil oxidativo

O perfil oxidativo foi avaliado utilizando-se parâmetros de peroxidação urinária(FOX), peroxidação lipídica(TBARS) e nitrato urinário(NO) e são demonstrados na figura 2.

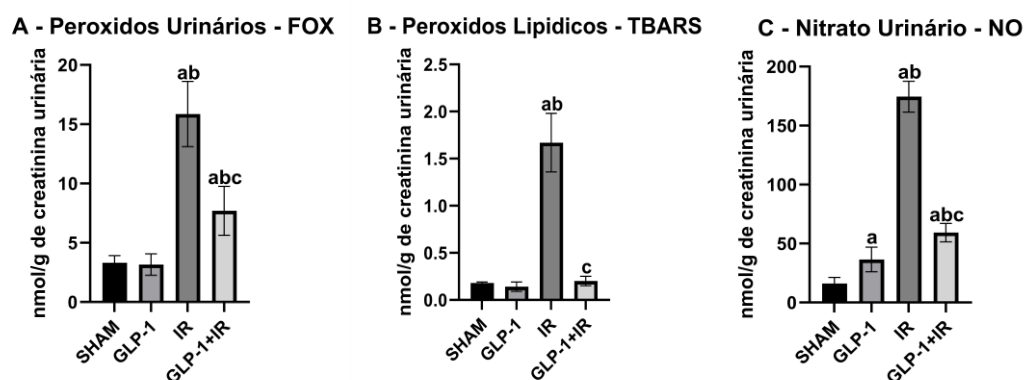


Figura 2. Perfil Oxidativo. **A** - Os peróxidos urinários apresentaram elevação significativa no grupo IR quando comparado aos grupos controle, o grupo GLP-1+IR também apresentou elevação do parâmetro em relação aos animais controle porém demonstra redução estatisticamente significativa em relação ao grupo IR. **B** - O grupo IR apresentou elevação da peroxidação lipídica quando comparado ao SHAM e GLP-1, o grupo GLP-1+IR demonstra-se semelhante aos controles com significativa redução do parâmetro em comparação à IR. **C** - O grupo GLP-1 demonstrou aumento nas concentrações de NO em comparação à SHAM, os grupos IR e GLP-1+IR apresentam elevação em comparação aos controles, contudo o grupo GLP-1+IR demonstra uma acentuada redução do parâmetro em relação à IR.

5.3 Parametros fisiológicos

A pesagem dos animais e de seus rins foi realizada ao final do estudo, assim como a relação peso do rim/peso do animal e são demonstrados na figura 3.

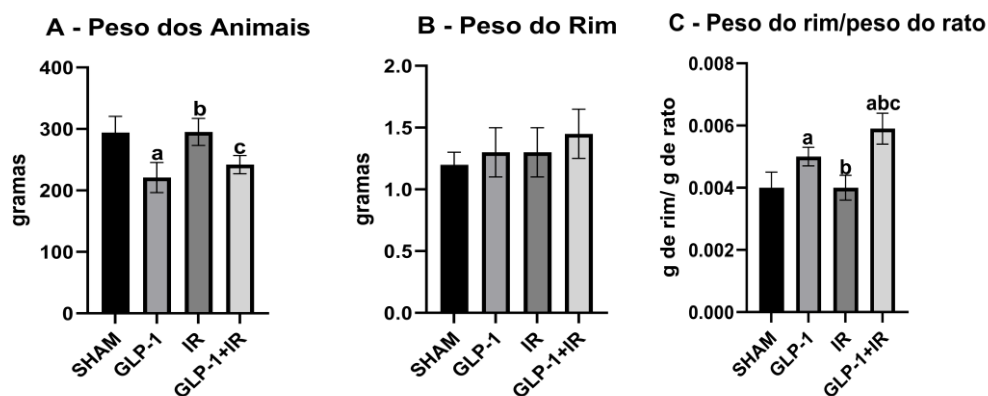


Figura 3. Parâmetros fisiológicos. **A** - O peso corporal dos animais dos grupos GLP-1 e GLP-1+IR apresentaram redução do parâmetro avaliado em comparação aos grupos SHAM e GLP-1+IR respectivamente. **B** - O peso do rim não apresentou diferença estatisticamente significativa entre os grupos. **C** - A relação peso do rim/peso do animal mostrou-se elevada nos grupos GLP-1 e GLP-1+IR quando comparados aos grupos SHAM e IR.

6.0 DISCUSSÃO

A semaglutida, fármaco 94% análogo ao GLP-1 humano da classe dos antidiabéticos foi recentemente formulada e desde então exaltada após ensaios clínicos mostrando seus benefícios ao sistema cardiovascular e renal, bem como a sua efetividade no combate a obesidade e tratamento do diabetes mellitus tipo 2 [25 , 26]. A semaglutida atua como agonista nos receptores GLP-1 que ao serem ativados estimulam a secreção de insulina no pâncreas, acarretam em um atraso no esvaziamento gástrico e promovem redução do apetite através dos receptores no cérebro e pâncreas [27 , 28].

Em relação a lesão renal aguda isquêmica(LRAi), a mesma caracteriza-se pela redução abrupta da função renal aferida clinicamente pelo acúmulo de produtos finais da metabolização do nitrogênio, como uréia e creatinina, ou pela redução da produção de urina afetando o débito urinário [1]. A LRAi em modelo animal apresenta danos a estrutura e função renal poucas horas após a reperfusão, tais danos são presentes no grupo IR que apresentou elevação da

creatinina sérica seguida de abrupta redução do clearance de inulina evidenciando os danos renais sofridos por esse grupo [37]. Contudo o grupo GLP-1+IR que foi submetido ao mesmo procedimento isquêmico que o grupo IR apresentou elevação da creatinina sérica, bem como redução do clearance de inulina, entretanto o dano renal no grupo GLP-1+IR não acarretou em uma perda de função renal tão intensa quanto ocorrido com o grupo IR.

Quanto ao perfil oxidativo este estudo infere que o grupo IR passou por um intenso estresse oxidativo tendo em vista a elevação acentuada de peróxidos urinários, peróxidos lipídicos e deposição de óxido nítrico nos dados obtidos, em contraponto ao grupo IR o grupo GLP-1+IR apresentou elevação nos mesmos parâmetros quando comparado ao grupo SHAM, excetuando-se os peróxidos lipídicos onde não houve diferença estatística com o grupo controle, entretanto tal elevação caracterizou-se por uma menor intensidade quando comparada ao grupo IR demonstrando que o grupo submetido ao mesmo dano renal obteve melhores resultados ao ser tratado previamente com semaglutida.

Estudos recentes afirmam que o GLP-1 ao ser degradado pela dipeptidil peptidase-4(DDP-4) em GLP-1(9-36)amida que ora considerado um metabólito inativo possui efeito antioxidante inibindo a geração persistente de espécies reativas de oxigênio(ROS) ao interromper um ciclo de feedback gerador de ROS. Além disso outros produtos da degradação do GLP-1 como GLP-1(28-36)amida e GLP-1(32-36)amida também possuem atividades biológicas dentre elas efeito antioxidante, anti apoptótico, redutor de estresse oxidativo e proliferador de células beta pancreáticas. [22 , 38 , 39].

7.0 CONCLUSÕES

Em suma, Nossos resultados destacaram o efeito do GLP-1 na fisiopatologia da lesão renal aguda isquêmica, demonstrando que a semaglutida exerceu efeito renoprotetor na função renal de ratos não diabéticos submetidos a LRAi. O efeito renoprotetor é evidenciado pelo

aumento do clearance de inulina e redução da creatinina sérica em animais IR que receberam tratamento prévio com semaglutida. Além de ter demonstrado relevante efeito renoprotetor contra o estresse oxidativo pela redução da biodisponibilidade de espécies reativas de oxigênio.

8.0 RECURSOS FINANCEIROS

Os recursos financeiros para a realização do projeto foram subsidiados por recursos Fapesp (2023/04031-0)

9.0 AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus por abençoar cada dia no desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço a minha família pelo apoio durante todo o processo, principalmente ao meu pai desejando o melhor dos descansos a ele, a minha mãe que se dedica a cada dia a me proporcionar o melhor e ao meu irmão que de sua forma não deixa de me apoiar.

Agradeço ao grupo do LEMA pelo apoio e companheirismo durante todo o processo de desenvolvimento do projeto, companheirismo esse que é característico do laboratório, com agradecimento em especial a Ms Eloiza Oliveira e a Carla Djamila por terem me acompanhado e auxiliado desde o início deste trabalho.

Agradeço a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela financiamento a pesquisa.

Agradeço grandemente a minha orientadora Prof^a Dr^a Maria de Fatima Fernandes Vattimo pela oportunidade que me proporcionou no laboratório bem como pelo aprendizado, amizade e respeito sendo uma orientadora ímpar no âmbito desta universidade por proporcionar independência e autonomia ao orientando o que acarreta em uma melhor experiência.

REFERÊNCIAS

- 1) 1. Melhoria dos Resultados Globais da Doença Renal (KDIGO), Grupo de Trabalho de Lesão Renal Aguda. Diretrizes de Prática Clínica KDIGO para Lesão Renal Aguda. Suplemento Int. Rim. 2012;2 Supl 1:1-138.
- 2) Mercado MG, Smith DK, Guard EL. Acute Kidney Injury: Diagnosis and Management. Am Fam Physician. 2019 Dec 1;100(11):687-694. PMID: 31790176.

- 3) Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, et al. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*. 2005; 294(7):813-8.
- 4) Hobson C, Lysak N, Huber M, Scali S, Bihorac A. Epidemiology, outcomes, and management of acute kidney injury in the vascular surgery patient. *J Vasc Surg*. 2018 Sep;68(3):916-928. doi: 10.1016/j.jvs.2018.05.017. Epub 2018 Jun 28. PMID: 30146038; PMCID: PMC6236681.
- 5) Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury. *Lancet*. 2012;380(9843):756-66. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61454-2.
- 6) Bihorac A, Brennan M, Ozrazgat-Baslanti T, Bozorgmehri S, Efron PA, Moore FA, Segal MS, Hobson CE: National surgical quality improvement program underestimates the risk associated with mild and moderate postoperative acute kidney injury. *Crit Care Med* 41: 2570–2583, 2013
- 7) Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, Doig GS, Morimatsu H, Morgera S, Schetz M, Tan I, Bouman C, Macedo E, Gibney N, Tolwani A, Ronco C, Beginning and Ending Supportive Therapy for the Kidney (BEST Kidney) Investigators : Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA* 294: 813–818, 2005
- 8) Li PK, Burdmann EA, Mehta RL, World Kidney Day Steering Committee 2013 : Acute kidney injury: global health alert. *Kidney Int* 83: 372–376, 2013
- 9) 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 Jan;131(1):31-42. doi: 10.1080/00325481.2019.1549459. Epub 2018 Nov 30.
- 10) WHEELER, David C et al, Effects of dapagliflozin on major adverse kidney and cardiovascular events in patients with diabetic and non-diabetic chronic kidney disease: a prespecified analysis from the DAPA-CKD trial, *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, v. 9, n. 1, p. 22–31, 2021.
- 11) Ren H, Shao Y, Wu C, Ma X, Lv C, Wang Q. Metformin alleviates oxidative stress and enhances autophagy in diabetic kidney disease via AMPK/SIRT1-FoxO1 pathway. *Mol Cell Endocrinol*. 2020 Jan 15;500:110628. doi: 10.1016/j.mce.2019.110628.
- 12) MOEINZADEH F; IRAJ B; MORTAZAVI M; RAMEZANI P, The Renoprotective Effect of Linagliptin in Type 2 Diabetic Patients with Severely Increased Albuminuria, *Iranian journal of kidney diseases*, v. 15, n. 5, 2021.

- 13) OSORIO, Horacio et al, Sodium-Glucose Cotransporter Inhibition Prevents Oxidative Stress in the Kidney of Diabetic Rats, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, v. 2012, p. 1–7, 2012.
- 14) CHEWCHARAT, Api et al, Pleiotropic effects of antidiabetic agents on renal and cardiovascular outcomes: a meta-analysis of randomized controlled trials, *International Urology and Nephrology*, v. 52, n. 9, p. 1733–1745, 2020.
- 15) VALLON, Volker ; VERMA, Subodh. Effects of SGLT2 Inhibitors on Kidney and Cardiovascular Function. *Annual Review of Physiology*, v. 83, n. 1, 2020.
- 16) McGuire DK, Shih WJ, Cosentino F, et al. Associação de inibidores de SGLT2 com resultados cardiovasculares e renais em pacientes com diabetes tipo 2 : uma meta-análise . *JAMA Cardiol.* 2021;6(2):148–158. doi:10.1001/jamacardio.2020.4511
- 17) SILVERII, Giovanni Antonio; MONAMI, Matteo ; MANNUCCI, Edoardo, Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors and all-cause mortality: A meta-analysis of randomized controlled trials, *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v. 23, n. 4, p. 1052–1056, 2020.
- 18) D. Giugliano, M. Longo, P. Caruso, M.I. Maiorino, G. Bellastella, K. Esposito Sodium-glucose co-transporter-2 inhibitors for the prevention of cardiorenal outcomes in type 2 diabetes: an updated meta-analysis *Diabetes Obes Metab*, 12 (2021 Mar)
- 19) PERKOVIC, Vlado et al, Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy, *New England Journal of Medicine*, v. 380, n. 24, p. 2295–2306, 2019.
- 20) HEERSPINK, Hidde J.L. et al, Dapagliflozin in Patients with Chronic Kidney Disease, *New England Journal of Medicine*, v. 383, n. 15, p. 1436–1446, 2020.
- 21) M. Packer, S.D. Anker, J. Butler, et al. EMPEROR-Reduced Trial Investigators. Cardiovascular and renal outcomes with empagliflozin in heart failure *N Engl J Med*, 383 (15) (2020 Oct 8), pp. 1413-1424
- 22) THOMAS, Merlin C., The potential and pitfalls of GLP-1 receptor agonists for renal protection in type 2 diabetes, *Diabetes & Metabolism*, v. 43, p. 2S20–2S27, 2017.
- 23) Katagiri, Daisuke * ; Hamasaki, Yoshifumi *,† ; Doi, Kent *,‡ ; Okamoto, Koji * ; Negishi, Kousuke * ; Nangaku, Masaomi * ; Noiri, Eisei *,§ . Proteção do peptídeo-1 semelhante ao glucagon em lesão renal induzida por cisplatina explicou a conexão intestino-rim. *Jornal da Sociedade Americana de Nefrologia* 24(12):p 2034-2043, dezembro de 2013. | DOI: 10.1681/ASN.2013020134
- 24) Ferdinando Giacco, Xueliang Du, Anna Carratú, Gary J. Gerfen, Maria D'Apolito, Ida Giardino, Andrea Rasola, Oriano Marin, Ajit S. Divakaruni, Anne N. Murphy, Manasi

- S. Shah, Michael Brownlee; GLP-1 Cleavage Product Reverses Persistent ROS Generation After Transient Hyperglycemia by Disrupting an ROS-Generating Feedback Loop. *Diabetes* 1 of september of 2015; 64 (9): 3273–3284. <https://doi.org/10.2337/db15-0084>
- 25) Knudsen LB, Lau J. The Discovery and Development of Liraglutide and Semaglutide. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Apr 12;10:155. doi: 10.3389/fendo.2019.00155. PMID: 31031702; PMCID: PMC6474072.
 - 26) Anderson SL, Beutel TR, Trujillo JM. Oral semaglutide in type 2 diabetes. *J Diabetes Complications*. 2020 Apr;34(4):107520. doi: 10.1016/j.jdiacomp.2019.107520. Epub 2020 Jan 8. PMID: 31952996.
 - 27) Chao AM, Tronieri JS, Amaro A, Wadden TA. Clinical Insight on Semaglutide for Chronic Weight Management in Adults: Patient Selection and Special Considerations. *Drug Des Devel Ther*. 2022 Dec 29;16:4449-4461. doi: 10.2147/DDDT.S365416. PMID: 36601368; PMCID: PMC9807016.
 - 28) Rybelsus Semaglutida. Novo nordisk. 21.02.2018. disponível em: < https://www.novonordisk.com.br/content/dam/nncorp/br/pt/pdfs/bulas/hcp/Rybelsus_Bula_PROFISSIONAL.pdf> acesso em 11 maio. 2022
 - 29) De Fátima Fernandes Vattimo M, Watanabe M, Da Fonseca CD, De Moura Neiva LB, Pessoa EA, Borges FT. Polymyxin B Nephrotoxicity: From organ to cell damage. *PLoS One*. 2016;11(8):1–17
 - 30) 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.
 - 31) 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
 - 32) 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
 - 33) Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem*. 1982; 126(1): 131-8.
 - 34) Owen JA, Iggo B, Scandrett FJ, Stewar CP t. The determination of creatinine in plasma or serum, and in urine; a critical examination. *Biochem J*. 1954; 58(3): 426–437.
 - 35) Gay C, Collins J, Gebicki JM. Hydrogen peroxide assay with the ferric - xylenol orange complex. *Anal Biochem*. 1999; 273(2):149-55.

- 36) Lima ES, Abdalla DSP. Peroxidação lipídica: mecanismos e avaliação em amostras biológicas. *Braz J Pharm Sci.* 2001; 37(3):293-303.
- 37) Ala, M.; Khoshdel, MRF; Dehpour, AR Empagliflozina melhora a autofagia, a biogênese mitocondrial e a defesa antioxidante e melhora a isquemia/reperfusão renal em ratos não diabéticos. *Oxidativo Med. Célula. Longev.* 2022 , 2022 , 1197061.
- 38) GUGLIELMI, Valeria ; SBRACCIA, Paolo. GLP-1 receptor independent pathways: emerging beneficial effects of GLP-1 breakdown products. *Eating and Weight Disorders - Studies on Anorexia, Bulimia and Obesity*, v. 22, n. 2, p. 231–240, 2016.
- 39) Bao H, Ge Y, Wang Z, Zhuang S, Dworkin L, Peng A, Gong R. Delayed administration of a single dose of lithium promotes recovery from AKI. *J Am Soc Nephrol.* 2014 Mar;25(3):488-500. doi: 10.1681/ASN.2013040350. Epub 2014 Jan 9. PMID: 24408869; PMCID: PMC3935583.