

Lesão renal aguda induzida pela sepse: efeito de proteção renal dos antioxidantes

Sepsis-induced acute kidney injury: kidney protection effects by antioxidants
Lesión renal aguda inducida por sepsis: efecto de protección renal de los antioxidantes

Carolina Ferreira Vasco¹, Mirian Watanabe¹, Cassiane Dezoti da Fonseca¹, Maria de Fátima Fernandes Vattimo¹

¹ Universidade de São Paulo, Escola de Enfermagem. São Paulo-SP, Brasil.

Como citar este artigo:

Vasco CF, Watanabe M, Fonseca CD, Vattimo MFF. Sepsis-induced acute kidney injury: kidney protection effects by antioxidants. Rev. Bras. Enferm. [Internet]. 2018;71(4):1921-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2017-0469>

Submissão: 25-06-2017

Aprovação: 23-08-2017

RESUMO

Objetivo: Avaliar a ação antioxidante de agentes como a N-acetilcisteína e diosmina-hesperidina em modelo experimental de lesão renal aguda induzida pela sepse em ratos. **Método:** Foram utilizados vinte ratos Wistar, adultos e machos, divididos nos seguintes grupos: Controle (laparotomia sem indução de sepse abdominal), Sepse (modelo experimental de sepse com ligadura e punção do cécum- LPC), N-acetilcisteína+Sepse e Diosmina Hesperidina+Sepse. Foram avaliados parâmetros fisiológicos (temperatura, glicemia e pressão arterial média), função renal (*clearance* de creatinina), estresse oxidativo (peróxidos urinários) e histologia renal. **Resultados:** Os animais submetidos à LPC (sepse) apresentaram redução da temperatura corporal, da pressão arterial média, do *clearance* de creatinina e elevação nos níveis de peróxidos de hidrogênio urinários. O tratamento com a Diosmina-Hesperidina melhorou a função renal com redução na excreção dos metabólitos oxidativos. **Conclusão:** Este estudo destacou a ação renoprotetora antioxidante da Diosmina-Hesperidina no modelo experimental de lesão renal aguda induzida pela sepse.

Descritores: Lesão Renal Aguda; Sepse; Diosmina; Hesperidina; Estresse Oxidativo.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antioxidant action of N-acetylcysteine and diosmin-hesperidin in an experimental model of sepsis-induced acute kidney injury in rats. **Methods:** The study used 20 Wistar adult male rats divided into the following groups: control (laparotomy with no induction of abdominal sepsis), sepsis (experimental model of sepsis with cecal ligation and puncture), N-acetylcysteine + sepsis and diosmin-hesperidin + sepsis. The evaluation contemplated physiological parameters (temperature, glycemia, and average blood pressure), kidney function (creatinine clearance), oxidative stress (urinary peroxides) and kidney histology. **Results:** The animals submitted to cecal ligation and puncture (sepsis) presented lower body temperature, lower average blood pressure, reduced creatinine clearance and increased urinary hydrogen peroxide levels. Treatment with diosmin-hesperidin improved kidney function and led to a reduction in the excretion of oxidative metabolites. **Conclusion:** The present study highlighted the protective antioxidant action of diosmin-hesperidin in the experimental model of sepsis-induced acute kidney injury.

Descriptors: Acute Kidney Injury; Sepsis; Diosmin; Hesperidin; Oxidative Stress.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la acción antioxidante de agentes como la N-acetilcisteína y Diosmina-Hesperidina en modelo experimental de lesión renal aguda inducida por sepsis en ratones. **Método:** Fueron utilizados veinte ratones Wistar, adultos y machos, divididos en los grupos: Control (laparotomía sin inducción de sepsis abdominal), Sepsis (modelo experimental de sepsis con ligadura y punción de ciego-LPC), N-acelsisteína+Sepsis y Diosmina Hesperidina+Sepsis. Se evaluaron parámetros fisiológicos (temperatura, glucemia y presión arterial promedio), la función renal (*clearance* de creatinina), el estrés oxidativo (peróxidos urinarios) e histología renal. **Resultados:** Los animales sometidos a LPC (sepsis) presentaron reducción de la temperatura corporal, de la presión arterial promedio, del *clearance* de creatinina e incremento de niveles de peróxidos de hidrógeno urinarios. El tratamiento con Diosmina-Hesperidina mejoró la función renal, reduciendo la excreción de metabolitos oxidativos. **Conclusión:** Este estudio destacó la acción renoprotectora antioxidante de la Diosmina-Hesperidina en el modelo experimental de lesión renal aguda inducida por sepsis.

Descritores: Lesión Renal Aguda; Sepsis; Diosmina; Hesperidina; Estrés Oxidativo.

AUTOR CORRESPONDENTE

Carolina Ferreira Vasco

E-mail: carolfvasco@gmail.com

INTRODUÇÃO

A Lesão Renal Aguda (LRA) é uma das alterações fisiopatológicas mais frequentes e graves em pacientes hospitalizados, sendo que de 20 a 40% destes encontram-se em Unidade de Terapia Intensiva (UTI)⁽¹⁾. Segundo o KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes), a lesão renal aguda é caracterizada clinicamente por aumento igual ou superior a 0,3mg/dL da creatinina sérica, em 48 horas, ou de 1,5 vez em relação ao nível basal (conhecido ou pré-estabelecido), ou ainda fluxo urinário menor que 0,5mL/kg/h por 6 horas⁽²⁾. As causas que levam a essa disfunção são bastante variadas, sendo a sepse um dos principais fatores envolvidos⁽³⁻⁴⁾.

Sepse é uma condição clínica grave caracterizada por intensa resposta inflamatória sistêmica causada pela interação entre antígenos microbianos e componentes do sistema imune inato. A ativação de vias da inflamação e da coagulação são os maiores determinantes da falência circulatória e disfunção de múltiplos órgãos constatada na sepse⁽⁵⁾.

Diversos estudos têm demonstrado a associação entre a LRA e a sepse. Em estudo que reuniu 3.147 pacientes críticos, foi observado que cerca de 37% deles desenvolveram sepse. A LRA ocorreu em 51% dos casos e foi relacionada com 41% de mortalidade nas unidades de terapia intensiva⁽⁶⁾. Adicionalmente, outro recente estudo clínico que utilizou a vasopressina ou a norepinefrina como terapias primárias na sepse demonstrou que a LRA ocorreu em 45% dos pacientes, sendo que, dentre eles, 30% necessitaram de terapia de substituição renal⁽⁷⁾.

Diante da epidemiologia desfavorável da LRA induzida pela sepse, a necessidade de sistematizar o cuidado e o tratamento desses pacientes faz apelo urgente à comunidade científica para a identificação de protocolos assistenciais e identificação de novas alternativas terapêuticas.

Apesar do grande número de publicações relacionadas à sepse, o conhecimento sobre os mecanismos fisiopatológicos envolvidos e os principais mediadores sistêmicos ativados ainda não estão esclarecidos. Sabe-se que ocorrem oscilações hemodinâmicas, como hipotensão e redução do fluxo sanguíneo renal (FSR), que induzem a isquemia renal e a hipóxia tecidual incorrendo em declínio da taxa de filtração glomerular (TFG)⁽⁴⁾. Paralelamente, a expressão de espécies reativas de oxigênio (EROs) interfere diretamente na cascata de sinalização celular exercendo efeitos deletérios sobre as células do endotélio e epitélio renal, como a lesão oxidativa, caracterizada pela peroxidação lipídica da membrana celular, a oxidação de proteínas e a lesão no DNA^(4,8). Esses mecanismos sugerem que a oxidação das membranas causando a morte celular pode ser o principal mecanismo fisiopatológico envolvido na LRA pela sepse.

Nesse cenário, várias substâncias com propriedades antioxidantes são investigadas e têm sido incorporadas à clínica na tentativa de prevenir a LRA pela sepse. Dentre elas, destacam-se o N-acetilcisteína e a diosmina-hesperidina, que demonstram ação renoprotetora antioxidante por meio do sequestro das espécies reativas de oxigênio e pela indução de enzimas antioxidantes endógenas, como a catalase e glutatona peroxidase⁽⁹⁻¹⁰⁾.

No entanto, apesar da grande disponibilidade de estudos sobre sepse clínica e experimental, resultados que demonstrem características de aplicação no tratamento dessa síndrome ainda são restritos.

Considerando que o estresse oxidativo parece protagonizar a fisiopatologia da LRA induzida pela sepse e que a identificação de fármacos que possam ter efeito benéfico são de extremo interesse por representarem possibilidades terapêuticas para a proteção das células renais e por poderem contribuir para reduzir a mortalidade e melhorar o prognóstico dos pacientes com sepse, esse estudo tem por objetivo avaliar o impacto da sepse sobre a função renal de ratos submetidos e avaliar se fármacos de uso não rotineiro para esse fim, com efeito antioxidante comprovado, podem ter efeito renoprotetor⁽⁸⁾.

A pesquisa experimental permite o isolamento de variáveis biológicas especificamente envolvidas na fisiopatologia da lesão renal e caracteriza-se como um modelo prático, objetivo e preciso cujos resultados podem subsidiar o conhecimento necessário para o desenvolvimento de uma prática clínica segura. O enfermeiro exerce papel fundamental na identificação precoce dos principais sinais e sintomas da sepse na prática clínica. A melhor compreensão da fisiopatologia, aliada à divulgação de novas propostas terapêuticas para o combate da sepse e da LRA, favorece o aperfeiçoamento profissional e consolida o enfermeiro como colaborador de referência para a assistência de qualidade.

OBJETIVO

Avaliar a ação antioxidante renoprotetora da N-acetilcisteína e da diosmina-hesperidina no modelo experimental da LRA induzida pela sepse.

MÉTODO

Aspectos éticos

Os procedimentos necessários para a realização deste estudo estão em concordância com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação com Animais – COBEA - e com a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, protocolo 378/13 para uso de teste com animais.

Desenho, local do estudo e período

Estudo quantitativo experimental em modelo animal, realizado no Laboratório Experimental de Modelos Animais da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo-LEMA /EEUSP, no período de maio a dezembro de 2015.

Amostra

Foram utilizados vinte ratos da linhagem *Wistar*, machos, adultos, de 250 a 300 gramas. Os animais foram mantidos em gaiolas coletivas, com livre acesso a água e ração, em condições térmicas adequadas, sendo mantidos em temperatura de 24°C e com ciclos alternados de dia e noite, nos quais, o ciclo escuro do biotério foi de aproximadamente 10 horas.

Protocolo do estudo

Os animais foram distribuídos nos seguintes grupos: Controle: os animais foram anestesiados com injeção de 50mg/kg de tiopental sódico intraperitoneal, submetidos à laparotomia para a manipulação do cécum sem a punção; Sepse: os animais foram anestesiados com injeção de 50mg/kg de tiopental sódico intraperitoneal, submetidos

à laparotomia e aplicada a técnica de LPC (ligadura e punção do cécum)⁽¹¹⁾. Foi realizada uma única punção do cécum com agulha 40x12 mm. Após o procedimento, os animais permaneceram em gaiolas coletivas aquecidas, por 12 horas, sem reposição volêmica adicional, além da *ad libitum*; N-acetilcisteína (NAC) + Sepse: os animais receberam NAC (Zambon-Brasil, 150mg/kg, por gavagem, trinta minutos antes da técnica de LPC); Diosmina-hesperidina (DH) + Sepse: os animais receberam DH (Aché Laboratório-Brasil, 13mg/kg, por gavagem, trinta minutos antes da técnica de LPC).

Gaiola metabólica: ao final do protocolo, os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais, para a coleta de urina de 24 horas, para avaliação da função renal e de metabólitos oxidativos.

Parâmetros fisiológicos: ao término do período de 24 horas, os animais foram anestesiados com injeção de 50mg/kg de tiopental sódico intraperitoneal para avaliação da temperatura retal com o termômetro clínico Premium Oval[®] de coluna de mercúrio, mensuração da pressão arterial média por meio da punção da aorta abdominal com scalp 21[®] conectado a um domus transdutor de pressão-monitor multiparâmetros Dixtal[®] e pequena amostra sanguínea que foi obtida para avaliação da glicemia capilar, com o monitor Acuu-Chec Active[®].

Coleta de sangue total: a coleta de sangue terminal foi realizada por meio da punção da aorta abdominal, para posterior avaliação da função renal.

Função renal: a função renal foi avaliada por meio do *clearance* de creatinina. O método colorimétrico de Jaffé foi utilizado para determinar os valores da creatinina sérica e urinária. O *clearance* de creatinina foi calculado pela fórmula: *clearance* de creatinina = creatinina urinária x fluxo urinário de 24horas/creatinina sérica⁽¹²⁾.

Peróxidos urinários: a avaliação de peróxidos urinários foi realizada pelo método FOX-2, a utilização de ferro-xilenol laranja que oxida o íon Fe²⁺ e produzindo um complexo de coloração azul-arroxeadado ($\alpha = 4,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)⁽¹²⁻¹³⁾.

Histologia renal: o rim esquerdo foi retirado e preparado para realização de cortes histológicos e a coloração do tecido renal foi realizada com hematoxilina-eosina e ácido periódico de Schiff (PAS).

As alterações histopatológicas foram analisadas por um patologista renal que analisou o material cegamente. As lesões histológicas, como perda da bordadura em escova em túbulos proximais, tumefação celular tubular, inflamação, necrose e regeneração tubular, glomérulos isquêmicos, congestão e amorfo corticomedular, foram avaliadas qualitativamente como (+) leve, (++) moderada, (+++) e severa⁽¹⁴⁾.

Análise dos resultados e estatística

Os resultados foram apresentados em média \pm desvio-padrão. A análise estatística dos resultados foi realizada pela ANOVA, seguida pelo teste de Tukey, para comparações entre os grupos. O nível de significância considerado foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Na Tabela 1, os animais com sepse por meio da LPC apresentaram redução da temperatura retal e da PAM quando comparados com o grupo Controle ($p < 0,05$). O tratamento com diosmina-hesperidina resultou na elevação da PAM e da temperatura retal quando comparados com o grupo Sepse ($p < 0,05$). Os grupos sepse e DH + Sepse apresentaram elevação na glicemia quando comparados ao Controle ($p < 0,05$). Adicionalmente, os animais do grupo Sepse apresentaram diminuição do fluxo urinário na comparação com o Controle ($p < 0,05$).

A Tabela 2 demonstra que, quando analisamos a creatinina urinária isoladamente, os grupos Sepse e NAC + Sepse apresentaram redução significativa quando comparados ao grupo Controle, enquanto que a creatinina plasmática do grupo DH + Sepse apresentou elevação quando comparado a estes dois grupos (Sepse e NAC + sepse) ($p < 0,05$). Os grupos Sepse e NAC + Sepse apresentaram redução significativa do *clearance* de creatinina quando comparados ao grupo Controle ($p < 0,05$). Por outro lado, o tratamento com DH demonstrou melhora significativa da função renal quando esse grupo foi comparado aos grupos Sepse e NAC + Sepse, no entanto ele demonstrou função renal inferior àquela demonstrada pelo grupo Controle ($p < 0,05$).

Tabela 1 – Parâmetros fisiológicos, São Paulo, Brasil, 2017

Grupos (n)	Temperatura retal (°C)	PAM (mmHg)	Glicemia capilar (mg/dl)	Volume urinário (ml/min)
Controle (5)	36,1 \pm 0,34	85,8 \pm 5,89	114,2 \pm 50,1	0,067 \pm 0,001
Sepse (5)	34,2 \pm 0,32 ^a	58,8 \pm 5,60 ^a	232,0 \pm 47,6 ^a	0,010 \pm 0,006 ^a
NAC + Sepse (5)	35,8 \pm 0,32	78,8 \pm 5,62	194,4 \pm 47,8	0,009 \pm 0,003 ^a
DH + Sepse (5)	36,0 \pm 0,10 ^b	92,0 \pm 0,60 ^b	221,0 \pm 51,0 ^a	0,008 \pm 0,002 ^a

Nota: ^a $p < 0,05$ versus Controle; ^b $p < 0,05$ versus Sepse. PAM – Pressão Arterial Média, NAC – N-acetilcisteína, DH-diosmina-hesperidina.

Tabela 2 – Função Renal e Estresse Oxidativo, São Paulo, Brasil, 2017

Grupos (n)	Creatinina urinária (mg/dl)	Creatinina plasmática (mg/dl)	<i>Clearance</i> de creatinina/100g (ml/min)	Peróxidos urinários (nmol/mg creatinina)
Controle (5)	104,9 \pm 8,3	0,49 \pm 0,19	0,64 \pm 0,05	2,1 \pm 2,2
Sepse (5)	41,3 \pm 7,8 ^a	0,74 \pm 0,18	0,20 \pm 0,04 ^a	12,4 \pm 2,1 ^a
NAC + Sepse (5)	38,1 \pm 7,9 ^a	0,69 \pm 0,18	0,18 \pm 0,04 ^a	11,4 \pm 2,1 ^a
DH + Sepse (5)	94,0 \pm 8,0 ^{bc}	0,80 \pm 0,11 ^a	0,49 \pm 0,05 ^{abc}	3,4 \pm 1,1 ^{bc}

Nota: ^a $p < 0,001$ versus Controle, ^b $p < 0,001$ versus Sepse, ^c $p < 0,001$ versus NAC + Sepse; NAC – N-acetilcisteína.

Os animais dos grupos Sepse e NAC + sepse apresentaram níveis elevados de peróxidos de hidrogênio urinários em relação ao grupo Controle ($p < 0,001$). O tratamento com diosmina-hesperidina revelou redução significativa dessa variável ($p < 0,05$).

A Figura 1 ilustra a seção histológica por grupos. A histologia do rim do grupo controle (A) mostra-se íntegra, sem alterações nas membranas basais e na borda em escova das células tubulares proximais. A histologia dos demais grupos Sepse (B), NAC + Sepse (C), DH + Sepse (D) apresentou alterações estruturais semelhantes com perda da borda em escova em túbulos proximais, tumefação celular tubular, glomérulos isquêmicos, congestão e amorfo corticomedular.

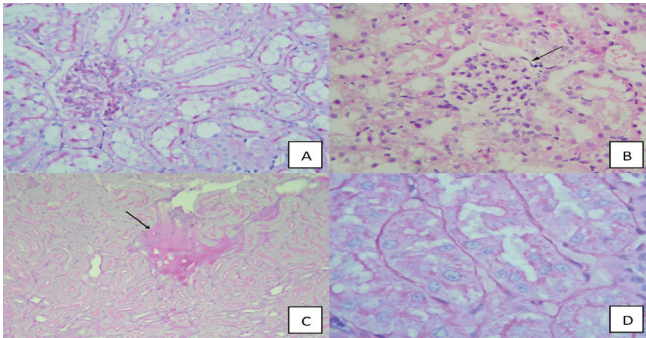


Figura 1 – Histologia renal dos grupos estudados: Controle (A), Sepse (B), NAC + Sepse (C) e DH + Sepse (D) – São Paulo, Brasil, 2017 (Aumento de 400x)

A Tabela 3 demonstra a análise qualitativa das mudanças histopatológicas dos grupos Controle, Sepse, NAC + Seps e DH + Sepse. As lesões foram classificadas conforme grau de severidade como (+) leve, (++) moderada e (+++) severa.

Foram analisadas cinco lâminas por grupo, cada lâmina foi dividida em seis áreas para avaliação qualitativa da lesão, sendo: - sem lesão; + leve (25% da área observada); ++ moderada (50% da área observada); +++ (acima de 75% da área observada).

Tabela 3 – Graduação das alterações histopatológicas dos diversos grupos, São Paulo, Brasil, 2017

Alterações Histopatológicas	Grupos (n)			
	Controle (5)	Sepse (5)	NAC+Sepse (5)	DH+Sepse (5)
Perda bordadura em escova em túbulos proximais	-	+	+	+
Tumefação celular tubular	-	+++	+++	+++
Inflamação, necrose e regeneração tubular	-	-	-	-
Glomérulos isquêmicos	-	++	+	+
Congestão	-	+++	++	++
Amorfo corticomedular	-	+	+++	++

DISCUSSÃO

A combinação de sepse e lesão renal aguda estão associadas ao desenvolvimento da falência de órgãos em pacientes de UTIs^(1,4).

Neste estudo, com o objetivo de avaliar a ação antioxidante da N-acetilcisteína e diosmina-hesperidina na lesão renal aguda

induzida por sepse, foi possível confirmar que o modelo experimental de sepse manifesta características semelhantes àquelas expressas em humanos, decorrente de traumas com perfurações das alças intestinais, colite ou peritonites no período pós-operatório⁽¹⁴⁾. Foi possível observar sintomas característicos da sepse como hipotermia, redução da PAM para valores menores que 60 mmHg e hiperglicemia⁽⁴⁻⁵⁾, reafirmando a precisão da técnica de LPC no modelo experimental.

A redução do *clearance* de creatinina, associada à elevação dos peróxidos urinários, demonstrou a presença da LRA secundária à sepse, por provável mecanismo oxidante. O tratamento com diosmina-hesperidina revelou importante efeito antioxidante nesse modelo de lesão renal.

A patogênese dessa disfunção secundária à endotoxemia é derivada da resposta pró-inflamatória, incluindo a secreção de citocinas e EROs. Nesse cenário, destacam-se as alterações hemodinâmicas da microcirculação renal, com predomínio dos mediadores vasoconstritores que resultam na hipóxia tecidual e isquemia renal. A hipoperfusão renal instalada é conduzida por uma redução no fluxo sanguíneo renal associado à lesão tubular via citocinas inflamatórias^(8,15). Neste estudo, observou-se redução da pressão arterial média nos animais submetidos à sepse, semelhante ao que ocorre na clínica^(5,7), sendo considerado um sinal característico dessa síndrome e é importante que seja precocemente identificado para planejamento de uma assistência rápida e eficaz. A temperatura corporal também se caracteriza como outro sinal de desenvolvimento da sepse. Hipertermia, hipotermia e a associação dessas respostas termorreguladoras são esperadas no quadro clínico de sepse⁽¹⁶⁻¹⁷⁾. No presente estudo, a hipotermia foi dominante nos animais submetidos à sepse, sendo que, apenas no grupo com o tratamento do flavonoide diosmina-hesperidina, houve reversão desse parâmetro. Ainda não estão bem esclarecidos os efeitos nocivos da hipotermia nos pacientes com sepse. Alguns autores elucidam que baixa temperatura corporal é um fator limitante para a autoproteção do organismo ante o processo infeccioso instalado na sepse^(4,16,18).

Adicionalmente, observou-se, nesta investigação, uma elevação da glicemia sérica em todos os animais submetidos à sepse, validando o modelo experimental. A hiperglicemia é comum em pacientes graves, mesmo na ausência de diabetes *mellitus* preexistente, o que confere maior morbidade e mortalidade. É considerada uma hiperglicemia de estresse, a qual resulta da liberação de hormônios de estresse contrarregulatórios (corticosteroides e catecolaminas) e mediadores pró-inflamatórios. A hiperglicemia de

estresse caracteriza-se clinicamente como situações com glicemia superior a 140mg/dL, com ausência de história prévia de diabetes ou valores de hemoglobina glicada (HbA1c) superiores a 6,5%^(4,19-20).

Com relação à função renal, o estudo demonstrou redução do *clearance* de creatinina associado à oligúria nos animais com sepse, confirmando o quadro de sepse grave com LRA. A redução

da taxa de filtração glomerular pode ter sido desencadeada pela diferença de pressão presente nas arteríolas aferente e eferente do capilar glomerular, causando um aumento desproporcional na vasodilatação da arteríola aferente em relação à eferente, que reduz a pressão intraglomerular e resultando em declínio da filtração glomerular, com conseqüente redução na depuração de solutos^(8,15). Esses parâmetros se repetem na sepse clínica e são de fundamental importância para a identificação pelo enfermeiro, pois a redução do fluxo urinário caracteriza-se como sinal de alerta para LRA induzida pela sepse, bem como os principais sinais e sintomas da síndrome, pois, dessa forma, o plano de cuidados pode ser direcionado para uma assistência intensiva, o que exige equipe multiprofissional especializada⁽²¹⁾.

Na tentativa de elucidar as diferentes vias que envolvem a lesão renal aguda induzida pela sepse, neste estudo foi possível observar a participação do estresse oxidativo por meio da análise dos peróxidos urinários. A resposta inflamatória constante na sepse resulta na síntese de citocinas e produção excessiva de óxido nítrico que, por meio da vasodilatação sistêmica, induz um estado de hipotensão severa evoluindo para hipóxia celular. Portanto, a perpetuação do estado de hipóxia nas células tubulares renais favorece a geração de espécies reativas de oxigênio, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical hidroxila (OH⁻), os quais são nocivos para o parênquima renal^(8,13,22). A mensuração dos níveis de peróxidos é considerada como biomarcador da geração de H₂O₂ e preditor da extensão do estresse oxidativo em modelos experimentais *in vivo*⁽²²⁾. Portanto, a elevação dos peróxidos de hidrogênio urinário nos animais submetidos à sepse nesta investigação confirmou a presença da lesão oxidativa e a destacou como coadjuvante nos mecanismos fisiopatológicos da sepse.

Associada às alterações hemodinâmicas, funcionais e oxidativas descritas neste estudo, porém com menor intensidade, a histologia do tecido renal dos animais com sepse revelou características que confirmam alterações estruturais resultantes do quadro clínico da sepse, como lesões tubulares, congestão corticomedular e glomérulos isquêmicos^(4,8).

Com o intuito de identificar novas alternativas terapêuticas contra a lesão renal aguda induzida pela sepse, o presente estudo avaliou a ação de dois antioxidantes a N-acetilcisteína e a diosmina-hesperidina. A N-acetilcisteína possui, em sua estrutura molecular, um grupo tiol livre (-SH) que interage com os radicais livres (OH⁻ e H₂O₂), além de intensificar a produção de glutatona peroxidase, que é a principal enzima antioxidante endógena⁽⁸⁾. Apesar das características descritas para a N-acetilcisteína, esse estudo não confirmou o efeito antioxidante satisfatório desse reagente na redução de peróxidos urinários. Esse fato pode estar associado à gravidade da lesão induzida no modelo reproduzido. Apesar de a N-acetilcisteína ser frequentemente usada em protocolos clínicos para a profilaxia para a nefropatia induzida por contraste⁽²³⁾, vários trabalhos têm demonstrado a ausência da renoproteção em situações de lesão renal aguda associada com comorbidades, como doença renal crônica e diabetes mellitus⁽²⁴⁻²⁵⁾. Esses achados pressupõem que a reversão das injúrias celular e funcional induzidas pelo modelo de sepse exige efeito antioxidante mais abrangente e que determine a ativação de outras vias de renoproteção das

alterações hemodinâmicas, fisiológicas e oxidativas resultantes dessa síndrome.

Nesse contexto, o flavonoide diosmina-hesperidina mostrou efeitos mais significativos. A recuperação na pressão arterial média, do *clearance* de creatinina, na temperatura corporal associada à redução da liberação de peróxidos de hidrogênio sugere a ação anti-inflamatória e antioxidante desse reagente. Semelhante à resposta observada clinicamente⁽²⁶⁾, o presente estudo revelou que a diosmina-hesperidina induziu melhora de 77% da função renal dos ratos em sepse, sugerindo que pode ser de grande interesse na prática clínica, em situações de risco da lesão renal aguda em pacientes graves e compor protocolos de prevenção dessa complicação.

Estudos têm mostrado que dano renal em modelo experimental é potencialmente reversível ou minimizado quanto mais precoce for a intervenção⁽²⁷⁻²⁸⁾. Wang *et al* demonstraram que a terapia antioxidante pode reverter a taxa de filtração glomerular e o fluxo sanguíneo renal durante lesão renal aguda por sepse⁽²⁹⁾. Adicionalmente, Santos *et al* revelaram que o pré-condicionamento, por cinco dias, com estatina, preservou a função renal de animais submetidos à sepse por LPC⁽³⁰⁾. Outro importante flavonóide, o resveratrol, demonstrou efeito de redução da atividade das espécies reativas de nitrogênio, reduzindo o desequilíbrio redox no modelo de sepse experimental⁽³¹⁾. Da mesma forma, em modelos de LRA por nefrotoxicidade pela anfotericina B, cisplatina e gentamicina, observou-se melhora da função renal com diminuição dos metabólitos oxidativos em animais tratados com diosmina-hesperidina e hesperidina^(9,32-33).

Sumariamente, este estudo destacou a ação renoprotetora antioxidante da diosmina-hesperidina no modelo experimental de lesão renal aguda induzida pela sepse, demonstrado pela melhora significativa da função renal, hemodinâmica renal, parâmetros fisiológicos e estresse oxidativo.

Limitação do estudo

Esta investigação se caracterizou como um estudo pré-clínico para a elucidação dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na lesão renal aguda induzida pela sepse e fármacos renoprotetores. Estudos clínicos são necessários para a incorporação de antioxidantes, como a diosmina-hesperidina, na prática assistencial.

Contribuições para a área da Enfermagem

A busca por terapias que minimizem os danos renais na presença de sepse tem sido frequente nas unidades de terapia intensiva. Cabe ao enfermeiro, enquanto membro da equipe multidisciplinar, cuidar dos pacientes nas diferentes situações, de forma integrada e contínua, dentro dos preceitos éticos e bioéticos da profissão, buscando conhecer tratamentos inovadores que promovam melhor assistência de enfermagem aos pacientes com sepse.

FOMENTO

Fonte financiadora do projeto: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Projeto FAPESP: 2013/26560-2 e 2011/24028-6.

REFERÊNCIAS

1. Case J, Khan S, Khalid R, Khan A. Epidemiology of acute kidney injury in the intensive care unit. *Crit Care Res Pract* [Internet]. 2013 [cited 2017 May 02];2013:479730. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3618922/pdf/CCRP2013-479730.pdf>
2. Kidney Disease Improving Global Outcomes-KDIGO Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guidelines for Acute Kidney Injury. *Kidney Int Suppl* [Internet]. 2012 [cited 2017 May 02];2(Suppl1):1-138. Available from: http://www.kdigo.org/clinical_practice_guidelines/pdf/KDIGO%20AKI%20Guideline.pdf
3. Lameire NH, Bagga A, Cruz D, De Maeseeneer J, Endre Z, Kellum JA, et al. Acute kidney injury: an increasing global concern. *Lancet* [Internet]. 2013[cited 2017 May 02];382:170–9. Available from: [http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736\(13\)60647-9.pdf](http://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736(13)60647-9.pdf)
4. Bellomo R, Kellum JA, Ronco C, Wald R, Martensson J, Maiden M, et al. Acute kidney injury in sepsis. *Intensive Care Med* [Internet]. 2017 [cited 2017 May 02];43(6):816–28. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00134-017-4755-7>
5. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3). *JAMA* [Internet]. 2016 [cited 2017 May 02];315(8):801-10. Available from: <http://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2492881>
6. Poukkanen M, Vaara ST, Pettilä V, Kaukonen KM, Korhonen AM, Hovilehto S, et al. Acute kidney injury in patients with severe sepsis in Finnish Intensive Care Units. *Acta Anaesthesiol Scand* [Internet]. 2013 [cited 2017 May 02];57(7):863-72. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/aas.12133/epdf>
7. Gordon AC, Mason AJ, Thirunavukkarasu N, Perkins GD, Cecconi M, Cepkova M, et al. Effect of early vasopressin vs norepinephrine on kidney failure in patients with septic shock: the VANISH randomized clinical trial. *JAMA* [Internet]. 2016 [cited 2017 May 02];316:509–18. Available from: <http://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2540403>
8. Andrades ME, Morina A, Spasi S, Spasojevi I. Bench-to-bedside review: sepsis-from the redox point of view. *Crit Care* [Internet]. 2011 [cited 2017 May 02];15(5):230. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3334726/pdf/cc10334.pdf>
9. Schlottfeldt FS, Fernandes SM, Martins DM, Cordeiro P, Fonseca CD, Watanabe M, et al. Prevention of amphotericin B nephrotoxicity through use of phytotherapeutic medication. *Rev Esc Enferm USP* [Internet]. 2015[cited 2017 May 02];49(Spec):74-9. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v49nspe/1980-220X-reeusp-49-spe-0074.pdf>
10. Pinto CF, Watanabe M, Vattimo MF. Hydration and N-acetylcysteine in acute renal failure caused by iodinated contrast medium: an experiment with rats. *J Nephrol* [Internet]. 2008[cited 2017 May 02];21(5):783-8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18949735>
11. Lopes LN, Santos FAF, Oliveira LCM, Percário S, Barros CAV, Brito MVH. Copaiba oil effect on induced fecal peritonitis in rats. *Acta Cir Bras*[Internet]. 2015[cited 2017 May 02];30(8):568-73. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/acb/v30n8/0102-8650-acb-30-08-00568.pdf>
12. Dezoti Fonseca C, Watanabe M, Vattimo MF. Role of heme oxygenase-1 in polymyxin B-induced nephrotoxicity in rats. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2012[cited 2017 May 02];56(10):5082-7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3457368/pdf/zac5082.pdf>
13. Banerjee D, Madhusoodanan UK, Nayak S, Jacob J. Urinary hydrogen peroxide: a probably marker of oxidative stress in malignancy. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2003[cited 2017 May 02];334(1/2):205-9. Available from: <http://www.ugcfrp.ac.in/images/userfiles/48359-1.pdf>
14. Erginel B, Aydin FA, Erginel T, Tanik C, Abbasoglu SD, Soysal FG, et al. Antioxidant effects of probiotics in experimentally induced peritonitis. *Surg Infect*[Internet]. 2016[cited 2017 May 02];17(1):114-8. Available from: <http://online.liebertpub.com/doi/pdf/10.1089/sur.2015.072>
15. Doi K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, Star RA. Animal models of sepsis and sepsis-induced kidney injury. *J Clin Invest* [Internet]. 2009[cited 2017 May 02];119:2868-78. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2752080/pdf/JCI39421.pdf>
16. Vincent JL. The clinical challenge of sepsis identification and monitoring. *PLoS Med* [Internet]. 2016[cited 2017 May 02];13(5):e1002022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871479/pdf/pmed.1002022.pdf>
17. Seely KA, Holthoff JH, Burns ST, Wang Z, Thakali KM, Gokden N, et al. Hemodynamic changes in the kidney in a pediatric rat model of sepsis-induced acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol*[online]. 2011[cited 2017 Jul 27];301(1):F209-17. Available from: <http://ajprenal.physiology.org/content/301/1/F209.full.pdf+html>
18. Kushimoto S, Gando S, Saitoh D, Mayumi T, Ogura H, Fujishima S, et al. JAAM Sepsis Registry Study Group: The impact of body temperature abnormalities on the disease severity and outcome in patients with severe sepsis: an analysis from a multicenter, prospective survey of severe sepsis. *Crit Care*[Internet]. 2013[cited 2017 May 02];17:R271. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4057086/pdf/cc13106.pdf>
19. Voigtsberger S, Urner M, Hasler M, Roth Z'Graggen B, Booy C, Spahn DR, et al. Modulation of early inflammatory response by different balanced and non-balanced colloids and crystalloids in a rodent model of endotoxemia. *PLoS One*[Internet]. 2014[cited 2017 May 02];9(4):e93863. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3977866/pdf/pone.0093863.pdf>

20. Nakamura M, Oda S, Sadahiro T, Watanabe E, Abe R, Nakadae T, et al. Correlation between high blood IL-6 level, hyperglycemia, and glucose control in septic patients. *Crit Care*[Internet]. 2012[cited 2017 May 02];16(2):R58. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3681387/pdf/cc11301.pdf>
21. Coelho FUA, Watanabe M, Fonseca CD, Padilha KG, Vattimo MFF. Nursing Activities Score and Acute Kidney Injury. *Rev Bras Enferm*[Internet]. 2017[cited 2017 May 31];70(3):475-80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/0034-7167-2016-0266>
22. Pinto CF, Watanabe M, Fonseca CD, Ogata CI, Vattimo MFF. The sepsis as cause of acute kidney injury: an experimental model. *Rev Esc Enferm USP*[Internet]. 2012[cited 2017 May 31];46:86-90. Available from: http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v46nspe/en_13.pdf
23. Thiele H, Hildebrand L, Schirdewahn C, Eitel I, Adams V, Fuernau G, et al. Impact of high-dose N-acetylcysteine versus placebo on contrast-induced nephropathy and myocardial reperfusion injury in unselected patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. The LIPSI-A-N-ACC (Prospective, Single-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Leipzig Immediate Percutaneous Coronary Intervention Acute Myocardial Infarction N-ACC) Trial. *J Am Coll Cardiol*[Internet]. 2010[cited 2017 Jul 27];55(20):2201-9. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0735109710009502?via%3Dihub>
24. Rababa'h AM, Deo SV, Altarabsheh SE, De Caro J, Tarboush NA, Alzoubi KH, et al. N-Acetyl Cysteine therapy does not prevent renal failure in high-risk patients undergoing open-heart surgery. *Heart Surg Forum* [Internet]. 2016[cited 2017 May 31];19(1):E16-22. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26913679>
25. Inda-Filho AJ, Caixeta A, Manggini M, Schor N. Do intravenous N-acetylcysteine and sodium bicarbonate prevent high osmolal contrast-induced acute kidney injury? a randomized controlled trial. *PLoS One*[Internet]. 2014[cited 2017 May 31];9(9):e107602. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4177831/pdf/pone.0107602.pdf>
26. Yunos NM, Bellomo R, Hegarty C, Story D, Ho L, Bailey M. Association between a chloride-liberal vs chloride-restrictive intravenous fluid administration strategy and kidney injury in critically ill adults. *JAMA*[Internet]. 2012[cited 2017 Jul 27];308(15):1566-72. Available from: <http://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/1383234?alert=1>
27. Lowes DA, Thottakam BM, Webster NR, Murphy MP, Galley HF. The mitochondria-targeted antioxidant MitoQ protects against organ damage in a lipopolysaccharide-peptidoglycan model of sepsis. *Free Radic Biol Med*[Internet]. 2008[cited 2017 May 31];45:1559-65. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18845241>
28. Vanasco V, Cimolai MC, Evelson P, Alvarez S. The oxidative stress and the mitochondrial dysfunction caused by endotoxemia are prevented by α -lipoic acid. *Free Rad Res* [Internet]. 2008[cited 2017 May 31];42:815-23. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10715760802438709?journalCode=ifra20>
29. Wang W, Jittikanont S, Falk S, Li P, Feng L, Gengaro PE, et al. Interaction among nitric oxide, reaction oxygen species, and antioxidants during endotoxemia-related acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*[Internet]. 2003[cited 2017 May 31];284:F532-537. Available from: <http://ajprenal.physiology.org/content/284/3/F532.full.pdf+html>
30. Santos FN, Watanabe M, Vasco CF, Fonseca CD, Vattimo MFF. Antioxidant protection of statins in acute kidney injury induced by sepsis. *Rev Esc Enferm USP*[Internet]. 2014[cited 2017 May 31];48(5):818-23. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/reeusp/v48n5/0080-6234-reeusp-48-05-820.pdf>
31. Holthoff JH, Woodling KA, Doerge DR, Burns ST, Hinson JA, Mayeux PR. Resveratrol, a dietary polyphenolic phytoalexin, is a functional scavenger of peroxynitrite. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 2010 [cited 2017 May 31];80:1260-5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2934873/pdf/nihms-216913.pdf>
32. Sahu BD, Kuncha M, Sindhura GJ, Sistla R. Hesperidin attenuates cisplatin-induced acute renal injury by decreasing oxidative stress, inflammation and DNA damage. *Phytomed*[Internet]. 2013[cited 2017 Jul 27];20(5):453-60. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944711312005089?via%3Dihub#fig0005>
33. Anandan R, Subramanian P. Renal protective effect of hesperidin on gentamicin-induced acute nephrotoxicity in male Wistar albino rats. *Redox Rep*[Internet]. 2012 [cited 2017 Jul 27];17(5):219-26. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1179/1351000212Y.0000000019?needAccess=true>