EFEITO DO ÁCIDO ROSMARÍNICO EM MODELO IN VIVO DE NEFROLITIASE: AVALIAÇÃO DE CRISTAIS DE OXALATO DE CÁLCIO E EFEITOS NOS CORPUSCULOS RENAIS

Anelise Felicio Macarini, Luisa Nathalia Bolda Mariano, Rita Vilhena, Rogério Corrêa, Priscila de Souza

Área: Fitoquímica, Biotecnologia e Farmacologia de Plantas Medicinais

Introdução: A nefrolitíase, ou pedra nos rins, é uma condição dolorosa e frequentemente recorrente, podendo afetar indivíduos de todos os sexos, raças e idades, embora seja mais comum em homens brancos (1). A formação de cálculos renais é um processo complexo que envolve diversas etapas, como supersaturação urinária, nucleação de cristais, crescimento e agregação (2). O tratamento para a nefrolitíase deve ser individualizado para cada paciente, levando em consideração diversos fatores, como o tamanho e quantidade do cálculo, localização, constituição, morfologia, dureza e mobilidade (3). Por ser uma doença de alta recorrência, o foco principal é na sua prevenção, em que se preconiza a normalização do estilo de vida, padrões alimentares e consumo de líquidos, com o tratamento farmacológico sendo considerado em casos específicos. Cálculos de oxalato de cálcio podem ser tratados com citratos, alopurinol, cálcio, magnésio, bicarbonato de sódio, piridoxina e hidroclorotiazida (3). Além disso, dentro de práticas culturais, uma diversidade de medicamentos populares é empregada para prevenir a litogênese, aumentar a diurese ou aliviar a dor (4). Ervas da família Lamiaceae, como Orthosiphon stamineus (Java Tea) e Glechomae Herba, são amplamente usadas em várias regiões do mundo para tratar pedras nos rins e bexiga, possuindo atividade antiurolítica e diurética. Essas plantas contêm, dentre outros compostos, o ácido rosmarínico, um ácido fenólico com propriedades diurética, antioxidante, antibacteriana, anti-inflamatória e outros (5; 6; 7). O ácido rosmarínico também pode reduzir a dilatação tubular e a degradação do epitélio tubular em modelos de isquemia renal (4; 6).

Objetivos: Este estudo propõe um modelo animal de nefrolitíase induzida por etilenoglicol e cloreto de amônio tratando com ácido rosmarínico, visando a elucidar seus efeitos na função renal, formação de cristais de oxalato de cálcio (CAOX) e no tamanho dos corpúsculos renais e da cápsula de Bowman em ratos normotensos e espontaneamente hipertensos.

Metodologia: Ratos fêmeas normotensos (NTR) e espontaneamente hipertensos (SHR) provenientes do biotério da UNIVALI (autorização CEUA n. 013/2021) foram utilizados neste estudo. O experimento envolveu a administração ad libitum de água contendo etilenoglicol (EG) e cloreto de amônio na concentração de 1% para induzir a formação de cristais de oxalato de cálcio (8). Os animais foram divididos em cinco grupos: Naïve (NV), recebeu água normal, os grupos Veículo (EG), hidroclorotiazida (HTZ-EG) 5 mg/kg e ácido rosmarínico (AR-EG) 3 mg/kg, receberam água com etilenoglicol e cloreto de amônio na concentração de 1%, juntamente com uma dose diária dos respectivos tratamentos por 11 dias, o grupo ácido rosmarínico (AR) recebeu água normal e

tratamento com ácido rosmarínico 3 mg/kg por 11 dias. Esses grupos foram utilizados tanto para NTR quanto SHR. No 11º dia, após a conclusão do último tratamento, foi iniciado o ensaio de diurese. Os animais foram colocados individualmente em gaiolas metabólicas, e o volume de urina foi coletado por um período de 6h, com medições feitas na primeira hora e a cada 2h. O volume total de urina foi calculado em relação ao peso corporal e expresso em mL/100g. Utilizando a urina coletada, os cristais de CAOX monohidratados e dihidratados foram contados utilizando uma câmara de Neubauer. Após as 6h, os rins foram coletados para análise histológica. As análises histológicas foram realizadas no rim e as imagens foram capturadas para medir a área do corpúsculo renal e da cápsula de Bowman. Utilizando o software ImageJ, foram medidas as áreas do corpúsculo renal (cápsula externa e área do glomérulo). A medida final da área da cápsula de Bowman foi obtida subtraindo-se a área externa da cápsula da área do glomérulo. Corpúsculos renais aleatórios foram medidos com aproximadamente 10-15 medidas por grupo.

Resultados: No ensaio de diurese, o tratamento com ácido rosmarínico não apresentou diferença significativa na diurese dos animais no modelo apresentado, o único grupo que aparentou um aumento significativo na diurese foi o grupo HTZ-EG, nos animais SHR, da quarta hora em diante. Após o ensaio de diurese, as urinas coletadas foram usadas para contagem de cristais de oxalato de cálcio monohidratados e dihidratados em câmara de Neubauer. Os animais do grupo NV e AR não apresentaram cristais de CAOX na urina, tanto em NTR quanto SHR. Por apresentarem uma grande variação dentre os grupos, não obtivemos diferenças significativas entre os animais com consumo de EG. Com relação à área dos corpúsculos renais, não foi observada diferença significativa entre os NTR. Os grupos NV, AR e AR-EG apresentaram uma área de corpúsculo renal significativamente menor em comparação com o grupo EG, nos SHR. Observamos, também, que a cápsula de Bowman apresentou uma redução nos grupos HTZ-EG e AR em relação ao grupo EG, nos NTR. Nos SHR essa diferença foi observada apenas nos grupos NV e AR.

Considerações finais: A administração de etilenoglicol e cloreto de amônio foi eficaz em induzir a formação de cristais de oxalato de cálcio nos rins e urina dos animais, bem como em alterar parâmetros importantes da função renal. O tratamento com ácido rosmarínico parece promissor, porém mais estudos são necessários para confirmar seu efeito.

Financiamento ou apoio: Financiamento CAPES.

Referências

1) MAYANS, L. Nephrolithiasis. Primary Care: Clinics in Office Practice [S. l.], v. 46, n. 2, p. 203-212, 2019. DOI: 10.1016/j.pop.2019.02.001. 2) SINGH, P.; HARRIS, P. C.; SAS, D. J.; LIESKE, J. C. The genetics of kidney stone disease and nephrocalcinosis. Nature Reviews Nephrology, [S. l.], v. 18, n. 4, p. 224-240, 2022. DOI: 10.1038/s41581-021-00513-4. 3) SKOLARIKOS, A. et al. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Milan Italy 2023. European Association of Urology, 2023. 4) AL-MAMOORI, F.; ABURJAI, T. Medicinal Plants for the Treatment of Nephrolithiasis. Nephrolithiasis - From Bench to Bedside [Working Title] [S. l.], p. 1-17, 2022. DOI: 10.5772/intechopen.108495. 5) MOSER, J. C.; CECHINEL-ZANCHETT, C. C.; MARIANO, L. N. B.; BOEING, T.; SILVA, L. M. da; SOUZA, P. de. Diuretic, Natriuretic and

Ca2+-Sparing Effects Induced by Rosmarinic and Caffeic Acids in Rats. Revista Brasileira de Farmacognosia, [S. l.], v. 30, n. 4, p. 588-592, 2020. DOI: 10.1007/s43450-020-00075-9. 6) OZTURK, Hulya; OZTURK, Hayrettin; HAKAN TERZI, E.; OZGEN, U.; DURAN, A.; UYGUN, I. Protective effects of Rosmarinic acid against renal ischaemia/reperfusion injury in rats. Journal of the Pakistan Medical Association [S. l.], v. 64, n. 3, p. 260-265, 2014. 7) ZHANG, J.; HOU, A.; DONG, J.; ZHENG, S.; YU, H.; WANG, X.; JIANG, H.; YANG, L. Screening out key compounds of Glechomae Herba for antiurolithic activity and quality control based on spectrum-effect relationships coupled with UPLC-QDA. Biomedicine and Pharmacotherapy, 2022. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.112829. 8) KHAN, S. R. Animal models of kidney stone formation: An analysis. World Journal of Urology, [S. l.], v. 15, n. 4, p. 236-243, 1997. DOI: 10.1007/BF01367661.