

## RELEVÂNCIA DE MODELOS EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO FUNCIONAL DA CREATININA

*Experimental models of relevance for evaluation of functional creatinine*

Fábio Bahls Machado<sup>1</sup>, Caroline Dias Carrijo Rodrigues<sup>2</sup>, Ana Lúcia Pereira Felizarda<sup>1</sup>, Noeli Pagani<sup>3</sup>, Tony de Paiva Paulino<sup>4</sup>, Camila Botelho Miguel<sup>5</sup>, Wellington Francisco Rodrigues<sup>6</sup>.

<sup>1</sup>Farmacêuticos. Professores da Faculdade Morgana Potrich – FAMP - Mineiros - GO, Brasil.

<sup>2</sup>Farmacêutica. Graduada pela Faculdade Morgana Potrich – FAMP - Mineiros - GO, Brasil.

<sup>3</sup>Fisioterapeuta. Professora da Faculdade Morgana Potrich – FAMP - Mineiros - GO, Brasil.

<sup>4</sup>Farmacêutico Industrial. Professor Doutor do Centro de Educação Profissional - CEFORES, Universidade Federal do Triângulo Mineiro UFTM. - Uberaba, MG, Brasil.

<sup>5</sup>Biomédica. Doutoranda em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM. Uberaba, MG, Brasil.

<sup>6</sup>Biomédico. Professor da Faculdade Morgana Potrich - FAMP - Mineiros, GO, Brasil; Doutorando em Ciências da Saúde. Universidade Federal do Triângulo Mineiro - UFTM. Uberaba, MG, Brasil.

\* Não há conflito de interesse.

## RESUMO

A creatinina é uma substância resultante da degradação da creatina fosforilada, e é utilizada como um importante marcador da estimativa de função renal. Modelos experimentais têm sido cada vez mais utilizados para prever a fisiopatogênese de doença em humanos, bem como processos de intervenção a doenças renais por drogas ou mesmo em medidas profiláticas. Assim diversos estudos envolvendo toxicidade de plantas medicinais, medicamentos existentes, algumas parasitoses, doenças crônicas como diabetes entre outras é relacionado com mudanças de concentrações da creatinina. Neste sentido, este estudo teve por objetivo realizar uma revisão da literatura sobre o uso extensivo de quantificação de creatinina em modelos experimentais utilizando ratos. Nós discutimos artigos indexados no Pubmed no período de 1 de Janeiro de 2013 e 01 de janeiro de 2016 e mostramos uma variedade de modelos utilizados para explorar as vias metabólicas de creatina, que são criadas em uma variedade de doenças que afetam órgãos e sistemas. Assim, demonstramos que este parâmetro é também frequentemente relatado e que os modelos utilizados devem apresentar especificidade e sensibilidade para a pergunta pretendida.

**Palavras-chave:** Creatinina, ratos, pesquisa.

## ABSTRACT

Creatinine is a substance resulting from degradation of phosphorylated creatine and is used as an important marker of renal function estimation. Experimental models have been increasingly used to predict the pathophysiology of disease in humans and intervention procedures to kidney disease by drugs or even prophylactic measures. So many studies involving toxicity of medicinal plants, existing drugs, some parasitic diseases, chronic diseases such as diabetes and others is related to changes in creatinine concentrations. In this sense this study aimed to conduct a literature review of the extensive use of quantification of creatinine in experimental models using mice. We discussed articles indexed in Pubmed in the period from 1 January 2013 to 01 January 2016. We showed a variety of models used to explore the metabolic pathways of creatine, which are raised in a variety of diseases that affect a variety organs and systems. Thus demonstrating that this parameter is also often reported, and that the models used must exhibit specificity and sensitivity for the desired inquiry.

**Keywords:** creatinine, mice, research.

## INTRODUÇÃO

A Creatinina é uma substância derivada do metabolismo da creatina, uma proteína presente nos músculos. Apresenta massa molecular de 113 daltons, é sintetizada no fígado e transportada para o músculo esquelético para armazenamento de ATP. Um produto final metabólico da creatinina é liberado no plasma, filtrado livremente através do glomérulo, secretado mas não absorvido por túbulos renais [1]. A concentração da creatinina no soro é amplamente usada como um índice da função renal, analisando a taxa de filtração glomerular (TFG) [2, 3].

Mensurações de creatinina sérica e estimativa da TFG são testes fundamentais para diagnóstico da Doença Renal Crônica (DRC) [4]. Na prática clínica a presença de DRC é frequentemente estimada a partir da dosagem de creatinina plasmática [5]. Laboratórios clínicos estão realizando cada vez mais a TFG através de ensaios de creatinina sérica [6].

Equações utilizando nível de creatinina sérica, idade, sexo e outras características do paciente são importantes para cálculo da estimativa da TFG tanto na prática clínica quanto na pesquisa científica [7]. A proteinúria é reconhecida como um preditor de lesão renal, porém a quantificação de proteína na urina em 24 horas é conhecida por não ser de confiança. Já a dosagem de creatinina é amplamente utilizada para correlacionar com uma estimativa de 24 h, mas ainda não é claro se isso pode ser utilizado para prever a presença de proteinúria significativa [8].

A excreção de creatinina está sujeita à grandes variações devido a fatores internos e externos específicos [9]. A determinação da creatinina urinária apresenta uma utilidade clínica para a determinação das razões de depuração da creatinina e a medição da relação da depuração de analitos específicos, tais como amilase, à razão da depuração da creatinina [10].

Dado ao avanço técnico científico, a comunidade científica vivencia uma era experimental, onde nos deparamos com possibilidades de grandes avanços na ciência, incluindo a busca por novos alvos terapêuticos, mecanismos para prevenção, e até mesmo estratégias para curas de diversas doenças. A creatinina por ser um importante marcador, está frequentemente relacionada em estudos em diversas áreas, havendo, contudo, a necessidade da escolha de um melhor modelo experimental para a eficiência e exatidão dos dados reportados.

Neste sentido este trabalho teve como objetivo realizar, descrever e avaliar os principais modelos utilizados, em que relacionam a avaliação da creatinina como um marcador.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Tipo de estudo

Este estudo trata-se de uma revisão sistemática. Para a condução da seleção, avaliação, exposição e conclusões dos dados foram conduzidas em concordância com o *Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses-PRISMA* [11].

### Extração dos Dados e Critérios de Inclusão e Exclusão

Para seleção dos dados utilizamos o banco de dados do Pubmed ([www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed)), dos últimos três anos (1 de janeiro de 2013 à 1 de janeiro de 2016). Foram utilizados conjuntamente os termos extraídos do Mesh (Medical Subject Headings): “*Creatinine*”, “*experimental*”, “*research*”, “*mice*”. Os relatos em que se não associavam com os descritores, bem como artigos de revisões, foram excluídos nesta abordagem. Os tópicos explorados foram: a descrição dos objetivos, metodologia e conclusão.

### Análise Estatística

Foi realizada uma análise descritiva dos dados através da utilização do programa Excel e os dados expressos em valores absolutos (n) e relativos (%).

## RESULTADOS

Foram encontrados 156 artigos que relatavam sobre a pesquisa de creatinina em ratos no banco de dados do PubMed entre janeiro de 2013 e janeiro de 2016.

Destes, o modelo experimental de síndrome de Diabetes Nefropática (DN) mostrou ocorrência em 53 trabalhos, sendo que 48 estão intimamente relacionados à diabetes tanto em ratos quanto em camundongos, onde os objetivos relatados trataram-se de diferentes tópicos

compreendidos nos efeitos miméticos da insulina, dosagem de diferentes proteínas em urina de ratos diabéticos para verificar o biomarcador no diagnóstico da lesão renal, papel da suplementação em estado de nefropatia diabética aguda em ratos.

Estudos sobre o tema Diabetes e Nefropatias ocorreram em 5 trabalhos, relacionando mais especificamente a Síndrome do DN induzida por estreptozotocina. Outros 5 artigos além de se tratar do DN associada, ainda avaliou as propriedades anti-oxidativa e anti-apoptóticas do flavonóide quercetina, as propriedades anti-inflamatórias das chalconas, atividade antiangiogênica do polifenol resveratrol e atividade anti-inflamatória e anti-oxidante dos polifenóis do chá verde (epigallocatequina-3-galato-EGCG). Sun *et al.*, 2014 [12] mostram os efeitos protetores da Taxifolina no tratamento da Cardiomiopatia Diabética. Entretanto, a maioria dos estudos tinham como objetivo relacionar somente a nefropatia e o diabetes.

A Lesão Renal Aguda (LRA) foi estudada em 10 trabalhos, cujos objetivos foram compreendidos no protocolo de coloração para tecidos renais com LRA, uso da semaforina urinária para prevenção da LRA, avaliação da LRA usando como marcador Lactato Desidrogenase (LDH), efeito do ácido betulínico na LRA e avaliação de outros marcadores sensíveis para identificar a LRA.

Outros 5 trabalhos encontrados faz uma relação entre macrófagos e nefropatia, cujos objetivos foram: papel dos macrófagos renais no desenvolvimento em LRA, efeitos protetores da ativação dos macrófagos em células tronco mesenquimais da terapia de LRA e o estudo do infiltrado de macrófagos induzidos por lesão renal.

Foram encontrados ainda artigos que se propunham traçar uma relação entre o aumento da sobrevida do DN e o tratamento através do uso de células mesenquimais, esta relação foi abordada sob diferentes mecanismos, variando para cada autor. Encontramos ainda um trabalho cujo objetivo foi de realizar a avaliação dos esteroides urinários em ratos.

Outros estudos tiveram como objetivo explorar potenciais mecanismos de hipertensão intra-abdominal no desenvolvimento da síndrome hepato-renal, quaisquer trabalhos que tratavam de hepatopatias foram excluídos da discussão por não irem de encontro aos objetivos traçados.

## DISCUSSÃO

A creatinina é um metabolito da creatina do qual o seu destino final é a excreção. As vias de metabolização deste produto têm sido exploradas, pois podem ser indicativos de diversos parâmetros, como avaliação de função renal, monitoramento de terapias medicamentosas ou mesmo na avaliação de doenças que causam distrofias musculares. Para isto a ciência busca modelos fidedignos para permitir a exploração das vias metabólicas que participam tais produtos. Desta forma nossa abordagem explorou os principais modelos hoje utilizados e os principais mecanismos explorados por esta via metabólica nos últimos tempos. Abaixo seguem breves relatos de estudos que exploraram tais parâmetros.

Bhargava *et al.*, 2013, [14] demonstraram que o TNF (Fator de Necrose Tumoral), desempenha papel precoce na patogênese da Lesão Renal Aguda. Quatro artigos que avaliam as propriedades renoprotetivas de metabólitos secundários de plantas como: flavonóides, chalconas e polifenóis comprovaram as atividades hipotéticas para tal.

Segundo Gomes *et al.*, 2014 [13], a quercetina demonstrou propriedades anti-oxidativa e anti-apoptótica e poderá ser utilizada como estratégia terapêutica no tratamento do DN (Diabetes Nefropática). Sun *et al.*, 2014 [12], demonstraram os efeitos cardioprotetores da taxifolina (flavonóide), que inibe o stress oxidativo e apoptose dos miócitos cardíacos e pode ser um agente potencial no tratamento da cardiomiopatia diabética .

Já em outro trabalho envolvendo outra classe de metabólitos, Fang *et al.*, 2015 [15] demonstraram atividades anti-inflamatórias das chalconas; é importante salientar que o trabalho que envolve a quercetina, o quadro de diabetes nefropática foi induzida por estreptozotocina o que não é o caso do estudo das chalconas. E Wen *et al.*, 2013 [17] demonstraram atividade antiangiogênica do resveratrol em ratos com diabetes nefropática.

Ye *et al.*, 2015 [17] demonstraram a eficácia de EGCG (epigallocatequina - 3 -galato) para inverter a progressão da GN (Glomerulonefrite Crescente Experimental) por múltiplas vias de sinalização inflamatórias, bem como no poder de combater o stress oxidativo.

Segundo Liu *et al.*, 2015 [18], a infiltração de macrófagos é uma alteração patológica notável nos rins de ratos tratados com Concanavalina (ConA), uma proteína ligadora de carboidratos.

Chalmers *et al.*, 2015, [19] evidenciaram uma função específica para os macrófagos no desenvolvimento de glomerulonefrite imunológica mediada por anticorpos patogênicos, o que contribui no direcionamento do tratamento de nefrite lúpica. Outro autor também correlaciona a doença de lúpus, e afirma que o uso de laquinimod em células mielóides e linfóides podem contribuir para a melhoria dos quadros de proteinúria e glomerulonefrite, o que qualifica o laquinimod como futuro e promissor agente terapêutico para a nefrite lúpica.

Foi evidenciado que a depleção de macrófagos previne a disfunção renal mediante a anulação do apoptose e atenuam a inflamação durante a LRA (Lesão Renal Aguda). Kim *et al.*, 2014 [20] afirmam que a ativação de macrófagos leva a um melhoramento do quadro de LRA, ativação esta que foi realizada por célula tronco mesenquimal.

A terapia com células mesenquimais aumentou a sobrevivência e reduziu a parasitemia e acúmulo de pigmento da malária no baço, fígado, rim e pulmão. Os dois principais órgãos associados a um pior prognóstico nos casos de malária: pulmão e rim, sofreram menores danos após a terapia BM- MSC [21].

O artigo que realizou a avaliação de esteróides em urina de ratos não foi conclusivo, afirmando apenas que essa avaliação depende do delineamento experimental e apontou apenas o estrógeno como esteróide responsivo, assim mesmo quando o estressor é grave.

A atividade protetora do óleo de coco virgem foi comprovada, provavelmente devido às suas atividades anti-inflamatórias e anti-oxidantes [22], atividades essas comuns também ao ácido betulínico que se demonstrou potencial agente terapêutico na LRA [23].

Komala *et al.*, 2014 & Ravi *et al.*, 2013 [24-25], demonstraram que os antidiabéticos: Empagliflozin e *Pleurotus ostreatus* consecutivamente, não têm nenhuma atividade renoprotetora.

## CONCLUSÃO

Assim, os dados permitem concluir que diversos modelos são utilizados para explorar as vias metabólicas da creatina, e que são levantados em uma diversidade de doenças que acometem uma variedade de órgãos e sistemas, demonstrando que este parâmetro ainda é



frequentemente relatado e que os modelos utilizados devem apresentar especificidade e sensibilidade para o inquérito pretendido.

## REFERÊNCIAS

1. Leelahavanichkul A, Souza ACP, Street JM, Hsu V, Tsuji T, Doi K, et al. Comparison of serum creatinine and serum cystatin C as biomarkers to detect sepsis-induced acute kidney injury and to predict mortality in CD-1 mice. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. 2014;307(8):F939-F48.
2. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. *Annals of internal medicine*. 1999;130(6):461-70.
3. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clinical chemistry*. 1992;38(10):1933-53.
4. Myers GL, Miller WG, Coresh J, Fleming J, Greenberg N, Greene T, et al. Recommendations for improving serum creatinine measurement: a report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program. *Clinical chemistry*. 2006;52(1):5-18.
5. Hoek FJ, Kemperman FA, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2003;18(10):2024-31.
6. Earley A, Miskulin D, Lamb EJ, Levey AS, Uhlig K. Estimating equations for glomerular filtration rate in the era of creatinine standardization: a systematic review. *Annals of internal medicine*. 2012;156(11):785-95.
7. Coresh J, Astor BC, McQuillan G, Kusek J, Greene T, Van Lente F, et al. Calibration and random variation of the serum creatinine assay as critical elements of using equations to estimate glomerular filtration rate. *American Journal of Kidney Diseases*. 2002;39(5):920-9.
8. Price CP, Newall RG, Boyd JC. Use of protein: creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: a systematic review. *Clinical chemistry*. 2005;51(9):1577-86.

9. Boeniger MF, Lowry LK, Rosenberg J. Interpretation of urine results used to assess chemical exposure with emphasis on creatinine adjustments: a review. *The American Industrial Hygiene Association Journal*. 1993;54(10):615-27.
10. Narayanan S, Appleton H. Creatinine: a review. *Clinical chemistry*. 1980;26(8):1119-26.
11. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Annals of internal medicine*. 2009;151(4):264-9.
12. Sun X, Chen R-c, Yang Z-h, Sun G-b, Wang M, Ma X-j, et al. Taxifolin prevents diabetic cardiomyopathy in vivo and in vitro by inhibition of oxidative stress and cell apoptosis. *Food and Chemical Toxicology*. 2014;63:221-32.
13. Gomes IB, Porto ML, Santos MCL, Campagnaro BP, Pereira TM, Meyrelles SS, et al. Renoprotective, anti-oxidative and anti-apoptotic effects of oral low-dose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy. *Lipids in health and disease*. 2014;13(1):1.
14. Bhargava R, Altmann CJ, Andres-Hernando A, Webb RG, Okamura KY, Yimu F, et al. Acute lung injury and acute kidney injury are established by four hours in experimental sepsis and are improved with pre, but not post, sepsis administration of TNF- $\alpha$  antibodies *PLoS One*. 2013;8(11):e79037.
15. Fang Q, Zhao L, Wang Y, Zhang Y, Li Zhaoyu, Pan Y, et al. A novel chalcone derivative attenuates the diabetes-induced renal injury via inhibition of high glucose-mediated inflammatory response and macrophage infiltration. *Toxicology and applied pharmacology*. 2015;282(2):129-138.
16. Wen D, Huang X, Zhang M, Zhang L, Chen J, Gu Y, et al. Resveratrol attenuates diabetic nephropathy via modulating angiogenesis. *PloS one*. 2013;8(12)e82336.
17. Ye, T, Zhen J, Du Y, Zhou JK, Peng A, Vaziri ND, et al. Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate Restores Nrf2 Activity and Ameliorates Crescentic Glomerulonephritis. *PloS one*. 2015;10(3)e0119543.
18. Liu C, Cheng Z, Wang Y, Dai X, Zang J, Xue D. Paeoniflorin exerts a nephroprotective effect on concanavalin A-induced damage through inhibition of macrophage infiltration. *Diagnostic pathology*. 2015.10(1)1.

19. Chalmers SA, Chitu V, Herlitz LC, Sahu R, Stanley ER, Putterman C. Macrophage depletion ameliorates nephritis induced by pathogenic antibodies. *Journal of autoimmunity*. 2015;57:42-52.
20. Kim JH, Lee DW, Jung MH, Cho HS, Jeon DH, Chang SH, et al. Macrophage depletion ameliorates glycerol-induced acute kidney injury in mice. *Nephron Experimental Nephrology*. 2014;128(1-2):21-9.
21. Souza MC, Silva JD, Pádua TA, Torres ND, Antunes MA, Xisto DG, et al. Mesenchymal stromal cell therapy attenuated lung and kidney injury but not brain damage in experimental cerebral malária. *Stem cell research & therapy*. 2015;6(1):1.
22. Nair SS, Manalil JJ, Ramavarma SK, Suseela IM, Thekkepatt A, Raghavamenon AC. Virgin coconut oil supplementation ameliorates cyclophosphamide-induced systemic toxicity in mice. *Human & experimental toxicology*. 2016;35(2):205-12.
23. Lingaraju MC, Pathak NNand, Begum J, Balaganur V, Ramachandra HD, Bhat RA, et al. Betulinic acid attenuates renal oxidative stress and inflammation in experimental model of murine polymicrobial sepsis. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015;70:12-21.
24. Komala MG, Gross S, Mudaliar H, Huang C, Pegg K, Mather A, et al. Inhibition of kidney proximal tubular glucose reabsorption does not prevent against diabetic nephropathy in type 1 diabetic eNOS knockout mice. *PloS one*. 2014;9(11):e108994.
25. Ravi B, Renitta RE, Prabha ML, Issac R, Naidu S. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2013;35(1):101-9.