

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO

FACULDADE de MEDICINA
de
RIBEIRÃO PRETO

FISIOLOGIA RENAL

“ROTEIRO DE AULAS PRÁTICAS”

SCIENTIA
TERMINUM
AMOVERE

Prática I – Simulada no Computador

I - Taxa de Filtração Glomerular:

A) Exercício 1 – Dinâmica de Ultrafiltração

São dados os valores de: ΔP (mmHg), gradiente de pressão hidráulica nos capilares glomerulares; Q_a (nl/min), fluxo plasmático por nefro; K_f (nl/min/mmHg), coeficiente de ultrafiltração; CA (g%), concentração plasmática de proteína; FF , fração de filtração e FPN (nl/min); filtração por nefro. Os gráficos abaixo mostram a filtração por nefro, K_f e pressão efetiva de ultrafiltração (PEUF). São apresentadas ao lado as variações das pressões hidrostática e oncótica ao longo do capilar glomerular, nessas condições.

- Introduza modificações somente em ΔP e observe as variações obtidas na pressão hidrostática e oncótica ao longo do capilar e da filtração por nefro. Analise seus resultados levando em conta as modificações impostas.
- Realize agora alterações seletivas em Q_a , K_f e CA e interprete os resultados observados nos gráficos. Em relação ao efeito observado após a modificação do CA na FPN , esse resultado está de acordo com o observado nos estudos experimentais? Explique.

B) Exercício 2 – Ra-Re: Efeitos de variações nas resistências das arteríolas aferentes (AA) e eferentes na hemodinâmica renal e na filtração glomerular.

Nesse ítem são dados, além das outras variáveis, os valores das resistências das AA e AE de um glomérulo renal.

- Introduza modificações na resistência da AA e observe as alterações que ocorrem na FPN , Q_a , ΔP , FF e nas variações de pressão hidrostática e oncótica ao longo do capilar. Explique.
- Altere seletivamente a resistência da AE e observe as variações obtidas nos parâmetros da hemodinâmica renal (Q_a , ΔP) e na filtração glomerular. Compare os resultados observados com os verificados anteriormente após as modificações da resistência na AA.

- Considere uma droga vasoconstritora como a angiotensina II e a adrenalina que tenha efeito predominante na AE. Tente simular o efeito da mesma nessas arteríolas e observe os resultados da droga no ΔP , Q_a , na filtração glomerular e nas variações das pressões hidrostática e oncótica ao longo do capilar.
- Considere uma droga que tenha efeito vasodilatador na AA e vasoconstritor na AE como o fator natriurético atrial. Introduza as modificações que esse fator deve realizar nas arteríolas (na coluna em vermelho) e observe os seus efeitos na FPN, ΔP , Q_a e nas variações de pressões hidrostática e oncótica ao longo do capilar.

II- Transporte de Água, Sódio e Potássio no Nefro:

1. Abra o Programa Transporte de Água, Sódio e Potássio no Nefro.
2. A figura central é uma representação esquemática do processo de reabsorção do material filtrado ao longo dos vários segmentos do nefro. O fluxo de água remanescente está representado na região central, observe que ele vai caindo progressivamente, de **170 ml/24 horas** no início do túbulo proximal (correspondente ao volume filtrado) para **1,5 ml/24 horas** (volume urinário). A largura dessa região representa a quantidade de água *remanescente* no túbulo. As quantidades *reabsorvidas* estão representadas no gráfico situado à direita. **Para visualizar uma representação animada dos mecanismos básicos de transporte em cada segmento do nefro, clique nos respectivos botões marcados com VER CÉLULA.**
3. No quadro situado abaixo e à direita, você pode optar entre água, sódio e potássio (Primeira Linha). Clique no quadro logo abaixo do esquema do nefro que você poderá visualizar as variações da osmolaridade ao longo do nefro. Para visualizar o efeito da ingestão (de água, sódio ou potássio) ou de hormônios (HAD e aldosterona), clique na segunda linha, A quantificação desses efeitos (quantidade de ingestão, níveis hormonais) pode ser verificada na Terceira Linha.
4. Observe atentamente os valores basais. Varie agora a ingestão de água aumentando ou reduzindo progressivamente e analise as variações correspondentes no fluxo urinário. Tente agora descobrir em quais segmentos do

nefro ocorre a retenção ou rejeição de água nas diferentes condições. Observe os efeitos das variações do hormônio antidiurético.

5. Observe em seguida o efeito das variações da ingestão de sódio na excreção urinária desse soluto. Veja a influência de variações da concentração plasmática de aldosterona. Onde e como age esse hormônio?



Prática 2: ESTUDO DA FUNÇÃO RENAL

INTRODUÇÃO

O objetivo desta prática é obter resultados que venham mostrar alguns aspectos da função renal que, por hipóteses, devem relacionar-se a homeostase hidrossalina do organismo. Para tanto, baseados nos conhecimentos que já possuímos a respeito do funcionamento do sistema renal, vamos induzir algumas modificações, tanto sistêmicas quanto ao nível de transporte no nefro, e observar as respostas no manuseio renal de sal e água. Devido a facilidades de laboratórios e por serem, ao nosso ver, bastante ilustrativo, pretendemos intervir no sistema renal de duas maneiras básicas:

- 1) inibindo o transporte de substâncias ao nível do ramo ascendente da alça de Henle (administração de furosemide - uma droga que inibe o transporte de NaCl nesta porção);
- 2) induzindo variações na osmolalidade ou do volume do meio extracelular, por ingestão ou restrição aquosa ou ingestão de sódio.

Antes de vir para a prática e mesmo antes de seguir adiante com a leitura, imagine o sistema renal e que respostas devem ser esperadas em termos de fluxo-urinário, filtração glomerular, excreção de Na⁺, etc.

OBJETIVOS

Observar o comportamento de alguns parâmetros da função renal em ratos e seres humanos submetidos a situações de variação da osmolalidade e do volume de fluido extracelular e de alterações no transporte de sódio ao nível de túbulos renais.

1 - ESTUDO DA FUNÇÃO RENAL NO HOMEM

Vários parâmetros da função renal podem ser avaliados em humanos utilizando técnicas não invasivas, que podem ser aplicadas aos próprios alunos. Esta aula tem algumas vantagens: é tecnicamente mais simples que aquelas que usam o cão ou o rato como animais experimentais, além disso, mostra aos alunos que a determinação de uma série de parâmetros funcionais no homem pela técnica dos *clearances* é muito simples,

podendo ser realizada com um mínimo de recursos laboratoriais. Nesta prática serão avaliadas as taxas de filtração glomerular e a capacidade renal de concentrar e diluir a urina. Para isso, serão utilizadas as seguintes condições experimentais:

Antidiurese (GRUPO I): o voluntário deverá reduzir a ingestão de líquidos desde na refeição anterior.

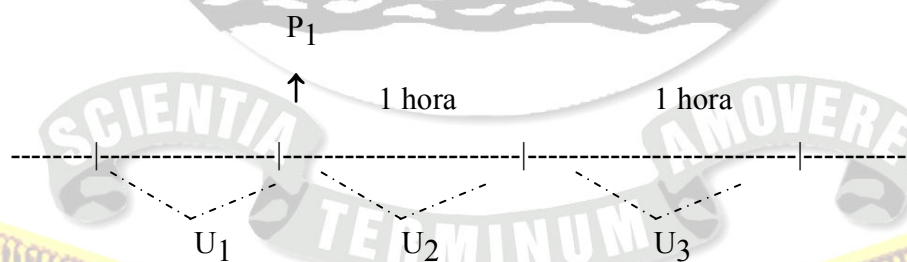
a) Diurese aquosa (GRUPO II): o voluntário deverá ingerir 1 litro de água (sucos ou refrigerantes) em um período de 30 minutos.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Para obtenção de um período controle deverá ser pedido aos voluntários que esvaziem a bexiga algumas horas antes da aula anotando o tempo. Assim, ao iniciar a aula, devem esvaziar a bexiga novamente, colhendo-se a urina controle e anotando o volume da amostra. Imediatamente após a coleta deverá ser iniciado o procedimento experimental de acordo com os protocolos sugeridos.

GRUPO I - ANTIDIURESE

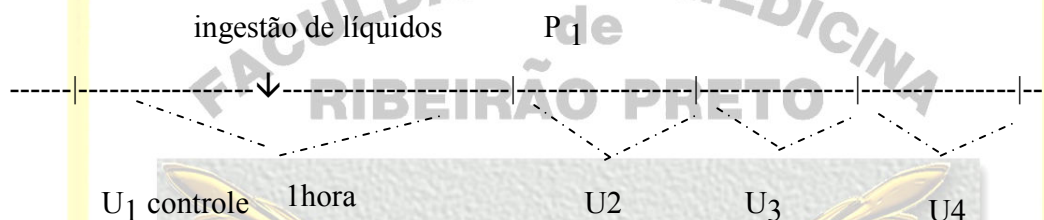
O voluntário deverá se abster de tomar líquidos durante o período de observação e serão coletadas amostras de sangue e urina do mesmo de acordo com o esquema abaixo. Os volumes das amostras de urina deverão ser anotados.



As amostras de sangue serão centrifugadas e o plasma separado para as dosagens. Serão avaliados os níveis de sódio, potássio, creatinina e a osmolalidade nas amostras coletadas de sangue e urina.

GRUPO II - DIURESE AQUOSA

Um dos voluntários deverá ingerir 1 litro de água em um período de 30 minutos. Deverá ser coletada uma amostra de plasma 1 hora após e três amostras de urina por micção espontânea de acordo com o esquema abaixo:



Serão analisadas as concentrações de sódio, potássio, creatinina e a osmolalidade nas amostras coletadas de sangue e urina.

2. AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DA FUNÇÃO RENAL EM AMOSTRAS DE URINA DE RATOS

GRUPO III : AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS DA FUNÇÃO RENAL EM AMOSTRAS DE URINA E PLASMA DE RATO

Parâmetros da função renal serão avaliados em ratos submetidos a variações na ingestão de sódio com objetivo de analisar a participação renal na regulação do volume de fluido extracelular. Amostras de urina de ratos submetidos a variações na ingestão de sódio são coletadas por um período de 24 horas em gaiolas metabólicas antes da realização da prática para coleta de amostras urina que serão utilizadas para determinação das concentrações de sódio, potássio, osmolalidade, creatinina e volume urinário.

GRUPO IV : Ação do furosemide (diurético)

A utilização de drogas (diuréticos) nos permite observar como o nefro manipula as várias substâncias que chegam até ele e como o transporte das mesmas em sítios

específicos contribui para a manutenção da homeostase. Com essa finalidade iremos avaliar os parâmetros de função renal em rato tratado com um diurético com inibe a reabsorção de sódio no ramo espesso da alça.

PROTOCOLO EXPERIMENTAL

1. O rato é colocado em uma gaiola metabólica individual antes da aula prática e realizada a primeira coleta de urina;
2. Após coleta da primeira amostra o volume urinário e o tempo de coleta da amostra de urina são anotados e separadas amostras de urina para medida da concentração de creatinina, de Na^+ , K^+ e osmolalidade em seguida é administrado o furosemide (diurético) no rato;
3. Após aproximadamente 40 minutos a segunda amostra é coletada e o volume urinário anotado, em seguida é coletado uma terceira amostra durante o mesmo período e anotado o volume. As amostras de urina são separadas para medida da concentração de creatinina, de Na^+ , K^+ e osmolalidade;
4. Ao final do experimento, uma amostra de sangue da cauda é coletada em recipiente heparinizado e centrifugada a 2000 RPM por 10 min., para obtenção de plasma, onde se avaliarão os níveis de Na^+ e K^+ , dosagem de creatinina e osmolalidade.

ANÁLISE DO MATERIAL COLETADO

Todos os materiais devem ser colocados nos frascos apropriados e devidamente identificados para que se saiba exatamente sua origem e o período experimental correspondente. Anote sempre os resultados obtidos bem como as diluições realizadas.

a) Sangue: centrifugado a 2000 RPM por 10 minuto;

b) Dosagens:

b1) osmolalidade: as amostras de plasma e urina de cada período serão utilizadas para determinar a osmolalidade pelo método de abaixamento do ponto de congelamento de água em osmômetro.

b2) Na^+ e K^+ : as dosagens de Na^+ e K^+ serão feitas em fotômetro de chama. Numa primeira etapa tanto o plasma quanto a urina deverão ser diluídos na proporção de

1:100. Se diluições maiores forem necessárias o(a) técnico(a) o avisará; tome nota dessas diluições.

b3) creatinina: as dosagens de creatinina serão feitas utilizando-se um Kit (normalmente empregado em laboratórios clínicos). A técnica consiste, essencialmente, em reagir-se a creatinina com ácido pícrico, dando picrato de creatinina que é um composto colorido. A intensidade da cor desenvolvida é proporcional à concentração de creatinina e pode ser avaliada com auxílio de um colorímetro.

Observação: se você não sabe o princípio de funcionamento dos equipamentos utilizados, peça explicação ao professor. Estes dados serão utilizados obrigatoriamente na discussão desta prática.

PARÂMETROS AVALIADOS

a) fluxo urinário (V): para isso você precisará saber o volume de urina formado (ml) num determinado tempo (min). Portanto, basta controlar o tempo de coleta urinária e medir o volume. O volume colhido dividido pelo tempo dará o fluxo (V) em ml/min.

b) Taxa de Filtração Glomerular: as concentrações de creatinina no plasma e urina serão utilizadas para calcular seu clearance, que reflete a taxa de filtração glomerular.

$$TFG = \frac{U_{cr} \cdot V}{P_{cr}}$$

Onde: U_{cr} = concentração de creatinina na urina.

V = fluxo urinário.

P_{cr} = concentração de creatinina no plasma.

Conhecendo-se TFG e as concentrações de Na^+ e K^+ no plasma (P_{Na} e P_K) e na urina (U_{Na} e U_K) pode-se calcular a Fração de Excreção desses íons ou seja:

$$F.E. = \frac{Q_e}{Q_f}$$

Onde: Q_f é a carga filtrada e Q_e é a carga excretada.

$$Q_e = U \cdot V \quad \text{e} \quad Q_f = TFG \cdot P$$

Onde: U = concentração urinária

P = concentração plasmática da substância em questão (Na ou K)

É fácil verificar-se que:

$$F.E. = \frac{(U/P) \cdot x}{(U/P) \text{ creatinina}}$$

c) **Clearance Osmolar (C_{osm}) e o clearance de água livre (CH_2O):** são calculados utilizando os dados de osmolalidade plasmática e urinária (U_{osm} e P_{osm}) e do fluxo urinário.

$$C_{osm} = \frac{U_{osm} \cdot V}{P_{osm}}$$

Onde: $V = C_{osm} + C_{H_2O}$

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERNE & LEVY. **Fisiologia**. Philadelphia, New York, Lippincott-Raven. 2009, Elsevier Editora, 6a Edição
- KOEPPEN, B.M.; STANTON B.A., S.I. **Renal Physiology**. Philadelphia, New York, Lippincott-Raven, 2007, ELSERVIER.
- MARGARIDA DE MELO AIRES – Fisiologia, 2012, Guanabara Koogan, 4ª Edição
- ZATZ R. **Fisiopatologia Renal** 2ª ed. São Paulo, Atheneu, 2011.

