

Efeitos de um salgante isento de sódio sobre marcadores sanguíneos bioquímicos hepáticos, renais e cardíacos de ratos normo e hipertensos

Effects of a sodium-free salting agent on blood hepatic, renal and cardiac biochemical markers of normal and hypertensive rats

Francisco Sandro Menezes-Rodrigues¹; Renato Ribeiro Nogueira Ferraz²; Alex Sandro Felisberto Oliveira³; Marcos José da Silva⁴; Leandro Bueno Bergantin⁵; Ricardo Thiago Paniza Ambrósio⁶; Alessandra de Oliveira Fantoni⁷; Luciana de Paula⁸; Paolo Ruggero Errante⁹; Mario Ivo Serinolli¹⁰; Afonso Caricati-Neto¹¹

¹ Farmacêutico-Bioquímico, Especialista, Mestre, Doutor em Farmacologia, Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP. São Paulo, SP - Brasil.

² Doutor em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP. Professor do Mestrado Profissional em Administração – Gestão em Sistemas de Saúde - PMPA-GSS. Professor do Programa de Pós-Graduação em Administração - PPGA- Universidade Nove de Julho – UNINOVE. São Paulo, SP - Brasil.

³ Farmacêutico, Técnico de Laboratório na Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP. São Paulo, SP - Brasil.

⁴ Farmacêutico, Mestre em Biomateriais em Odontologia pela Universidade Anhanguera de São Paulo - UNIAN. São Paulo, SP - Brasil.

⁵ Biomédico, Mestre, Doutor em Farmacologia pela Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP. São Paulo, SP - Brasil.

⁶ Fisioterapeuta, Especialista em Recursos Terapêuticos Manuais pela Universidade Cidade de São Paulo - UNICID. São Paulo, SP - Brasil.

⁷ Graduanda em Enfermagem na Universidade Cidade de São Paulo - UNICID, Laborvisa - Laboratório de Análises Clínicas. São Paulo, SP - Brasil.

⁸ Farmacêutica, Graduanda em Medicina na Universidade Cidade de São Paulo - UNICID, Laborvisa - Laboratório de Análises Clínicas. São Paulo, SP - Brasil.

⁹ Médico Veterinário, Mestre e Doutor em Imunologia, Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP. São Paulo, SP - Brasil.

¹⁰ Médico, Doutor em Medicina pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - USP. Professor do Mestrado Profissional em Administração – Gestão em Sistemas de Saúde - PMPA-GSS – Universidade Nove de Julho – UNINOVE. São Paulo, SP - Brasil.

¹¹ Bacharel em Ciências Biológicas-Modalidade Médica, Mestre, Doutor em Farmacologia pela Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP. Professor Associado Nível IV do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia na Universidade Federal de São Paulo UNIFESP. São Paulo, SP - Brasil.

Endereço para Correspondência

Francisco Sandro Menezes Rodrigues
Prédio de Pesquisa II - Laboratório de Autônoma e Cardiovascular
Rua Pedro de Toledo, 669, 7º andar
04039-032 – São Paulo – SP [Brasil]
sandromrodrigues@hotmail.com

Resumo

Introdução: A hipertensão arterial é um dos fatores de risco para doenças cardiovasculares, estando diretamente associada ao elevado consumo de sódio. **Objetivo:** Avaliar os níveis de marcadores de lesão hepática, renal e cardíaca em ratos hipertensos comparados aos seus controles normotensos, tratados com um salgante isento de sódio, água ou NaCl. **Métodos:** Ratos hipertensos (SHR) e seus controles normotensos (NWR) foram divididos em 3 grupos (n=7): G1 (água); G2 (solução aquosa contendo NaCl 70 mg/kg/dia); G3 (solução aquosa contendo salgante sem sódio 70 mg/kg/dia). Após 30 dias, o sangue dos animais foi processado. **Resultados:** Não houve diferença entre os níveis séricos de creatina quinase total, creatina quinase-MB, lactato desidrogenase, ácido úrico, aspartato aminotransferase e fosfatase alcalina tanto nos NWR como nos SHR tratados com NaCl ou Salgante. Houve diminuição da creatinina nos NWR e SHR tratados com NaCl e Salgante em relação aos controles (p<0,005). **Conclusões:** A suplementação diária com o Salgante e NaCl diminuiu os níveis séricos de creatinina nos grupos NWR e SHR. Contudo, não houve modificação nos níveis séricos de marcadores de lesão cardíaca e hepática.

Descritores: Hipertensão; Frequência cardíaca; Nutracêuticos; NaCl.

Abstract

Introduction: Hypertension is one of the risk factors for cardiovascular diseases, being directly associated with high consumption of sodium. **Objective:** To assess the levels of hepatic, renal and cardiac injury markers in hypertensive rats compared to their normotensive controls, treated with a salt free saline solution, water or NaCl. **Methods:** Hypertensive rats (SHR) and their normotensive controls (NWR) were divided into 3 groups (n = 7): G1 (water); G2 (aqueous solution containing NaCl 70 mg / kg / day); G3 (sodium salt-free aqueous solution 70 mg / kg / day). After 30 days, the animals' blood was processed. **Results:** There was no difference between serum levels of total creatine kinase, creatine kinase-MB, lactate dehydrogenase, uric acid, aspartate aminotransferase and alkaline phosphatase in both NWR and SHR1 treated NaCl or Salgante. There was a decrease in creatinine in NWR and SHR treated with NaCl and Salgante comparing to controls (p <0.005). **Conclusions:** Daily supplementation with sodium salt-free aqueous solution and NaCl decreases serum creatinine levels in NWR and SHR groups. However, there was no change in serum levels of cardiac and hepatic injury markers.

Key words: Hypertension; Cardiac frequency; Nutraceutical; NaCl.

Introdução

Existe uma grande preocupação no controle dos valores pressóricos em pacientes hipertensos para a redução da morbimortalidade, fato relacionado de maneira significativa à elevada prevalência de hipertensão arterial (HA)¹. Diversos fatores contribuem para o desenvolvimento de HA como histórico familiar, tabagismo, estresse, sedentarismo, envelhecimento, etnia, obesidade e os fatores nutricionais². A HA é um dos maiores fatores de risco para a aterosclerose, doença cardíaca coronariana, hipertrofia e insuficiência cardíaca, dissecação da aorta, insuficiência renal e acidente vascular cerebral hemorrágico³⁻⁵, gerando um grande número de óbito e imensos custos ao sistema público de saúde. Dentre os fatores nutricionais associados ao aumento da prevalência de HA estão a ingestão elevada de sódio⁶, com importante relação causa-efeito entre o alto consumo de sódio, HA e nível de industrialização.

O aumento da ingestão de NaCl ativa processos fisiológicos compensatórios, os quais promovem uma redução na atividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona e aumento na liberação do peptídeo natriurético atrial, acarretando redução da reabsorção de sódio pelos túbulos renais e diminuição da atividade simpática direcionada para os rins^{7,8}. Reduzir a ingestão de NaCl traduz-se numa interferência positiva sob o ponto de vista cardiovascular, pois promove manutenção ou redução dos níveis pressóricos de indivíduos normo e/ou hipertensos⁹. Nesse sentido, a utilização de nutracêuticos hipossódicos ou isentos de sódio contribuem para a redução do consumo de sódio e para o controle dos valores pressóricos de pacientes portadores de HA^{10,11}. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos causados pela suplementação na dieta de NaCl e KCl, a partir da utilização de um novo nutracêutico isento de sódio recentemente lançado no mercado alimentício nacional, sobre os parâmetros bioquímicos hepáticos, renal e cardíaco de animais normotensos (NWR) e espontaneamente hipertensos (SHR).

Material e Métodos

Foram utilizados ratos Wistar EPM-1 (machos, 3-4 meses) normotensos (NWR) (cada grupo n=6) e espontaneamente hipertensos (SHR) (cada grupo n=7) com peso médio de 290±20g, provenientes do Centro de Desenvolvimento de Modelos Experimentais para Medicina e Biologia (CEDEME) da UNIFESP. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (50 cmx40 cm) padronizadas, com cama de maravalha esterilizada e sob condições ambientais estáveis (temperatura ambiental de 22 ± 2°C, umidade relativa do ar 45% a 75% e duração do fotoperíodo no regime de 12 horas claro/12 horas escuro). Os animais utilizados foram pesados em balança (Ramuz, Ind. Com. Balanças Ltda) antes do início dos experimentos. Para manter as condições de estabilidade necessárias para a espécie, os seguintes cuidados foram tomados: o número de animais por gaiolas não foi superior a cinco e a troca e limpeza das gaiolas foram realizadas sempre pela mesma pessoa numa frequência de três vezes por semana em dias alternados. Água e ração comercial peletizada (Nuvilab[®] CR-1) foram fornecidas em regime *ad libitum*. Todos os experimentos realizados foram devidamente aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de São Paulo - UNIFESP (número 0065/12).

Tratamento com Salgante

O tratamento dos ratos foi realizado através de gavagem com soluções de NaCl ou com o alimento funcional isento de sódio à base de cloreto de potássio - Salgante (Farmácia Livia Yasuda Ltda), sob a responsabilidade técnica de dois farmacêuticos, ambas com doses de 70 mg/kg/dia peso vivo por 30 dias consecutivos.

Avaliação dos parâmetros bioquímicos

Após a realização do tratamento dos animais, a coleta do sangue foi realizada a partir da artéria aorta abdominal através de incisão transversal abdominal seguida de incisão bila-

teral com utilização de *scalp*. Após ser retirada, a amostra coletada foi centrifugada a 2500 rpm, 5°C por 40 minutos (centrífuga Heal force®-modelo Neofuge 15R). O soro foi devidamente identificado, e armazenado a -20°C. A determinação quantitativa da atividade enzimática da creatina quinase (CK), foi realizada através de teste cinético-UV, medido em 340 nm (kit VIDA Biotecnologia - Belo Horizonte, Brasil). A determinação quantitativa de ácido úrico (AU) foi realizada através de método enzimático/colorimétrico, medido em 545 nm (kit Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda), e a lactato desidrogenase (LDH), através de método cinético UV, medido em 340 nm (kit Katal Biotecnológica Ind. Com. Ltda). A determinação quantitativa da atividade da aspartato aminotransferase ou transaminase glutâmico-oxalacética (AST/TGO), alanina aminotransferase ou transaminase glutâmico-pirúvica (ALT/TGP) e fosfatase alcalina (FA), foi realizada através de teste cinético-UV, medido em 340 nm (kit VIDA Biotecnologia, Belo Horizonte, Brasil). A determinação quantitativa cinética de creatinina foi realizada através de método cinético colorimétrico, medido em 510 nm (kit VIDA Biotecnologia, Belo Horizonte, Brasil).

Análise estatística

Para a comparação entre os grupos, foram utilizados testes de diferença de proporção, seguido de análise de variância (ANOVA) e Kruskal-Wallis teste e de comparação múltipla de Dunn's. Adotou-se como nível de significância 0,05 ($\alpha=5\%$), onde os valores descritivos (p) abaixo desse valor foram considerados significantes. Todas as análises foram realizadas no Software Prism 5.00 (GraphPad Software Inc).

Resultados

Verificamos que não houve modificação dos níveis séricos de creatina quinase total e creatina quinase-MB nos animais NWR e SHR tratados com NaCl e Salgante (Figura 1).

Fato semelhante ocorreu em relação às dosagens de lactato desidrogenase e ácido úrico, ou seja, não foi observada diferença estatística entre os animais NWR e SHR tratados com NaCl ou Salgante em relação ao grupo controle (Figura 2).

Não foram observadas alterações nos níveis séricos de AST/TGO, ALT/TGP e FA nos animais NWR e SHR e relação ao grupo controle (Figura 3).

Foi verificada diminuição dos níveis séricos de creatinina nos animais NWR e SHR tratados com NaCl e Salgante em relação ao grupo controle ($p<0,005$) (Figura 4).

Discussão

Verificamos que não houve modificação dos níveis séricos de creatina quinase total, creatina quinase-MB, lactato desidrogenase e ácido úrico nos animais NWR e SHR tratados com NaCl e Salgante. De maneira semelhante, não foram observadas alterações nos níveis séricos de AST/TGO, ALT/TGP e FA nos animais NWR e SHR e relação ao grupo controle. Contudo, foi verificada diminuição dos níveis séricos de creatinina nos animais NWR e SHR tratados com NaCl e Salgante em relação ao grupo controle.

A doença cardíaca permanece como a principal causa de morbidade e mortalidade nos países industrializados¹². A insuficiência cardíaca congestiva (ICC) é o desfecho frequente de muitas condições patológicas, como cardiopatia isquêmica (CI) ou hipertensão arterial. O sistema cardiovascular para se adaptar a contratilidade miocárdica reduzida ou a carga hemodinâmica aumentada, faz com que ocorra ativação de sistemas neuro-humorais, com liberação de norepinefrina; renina-angiotensina-aldosterona e peptídeo natriurético atrial, levando ao aumento da pressão arterial⁷.

A implementação de nutracêuticos hiposódicos ou isentos de sódio no mercado alimentício, favorece a redução da ingestão diária de sódio e diminuição dos valores pressóricos,

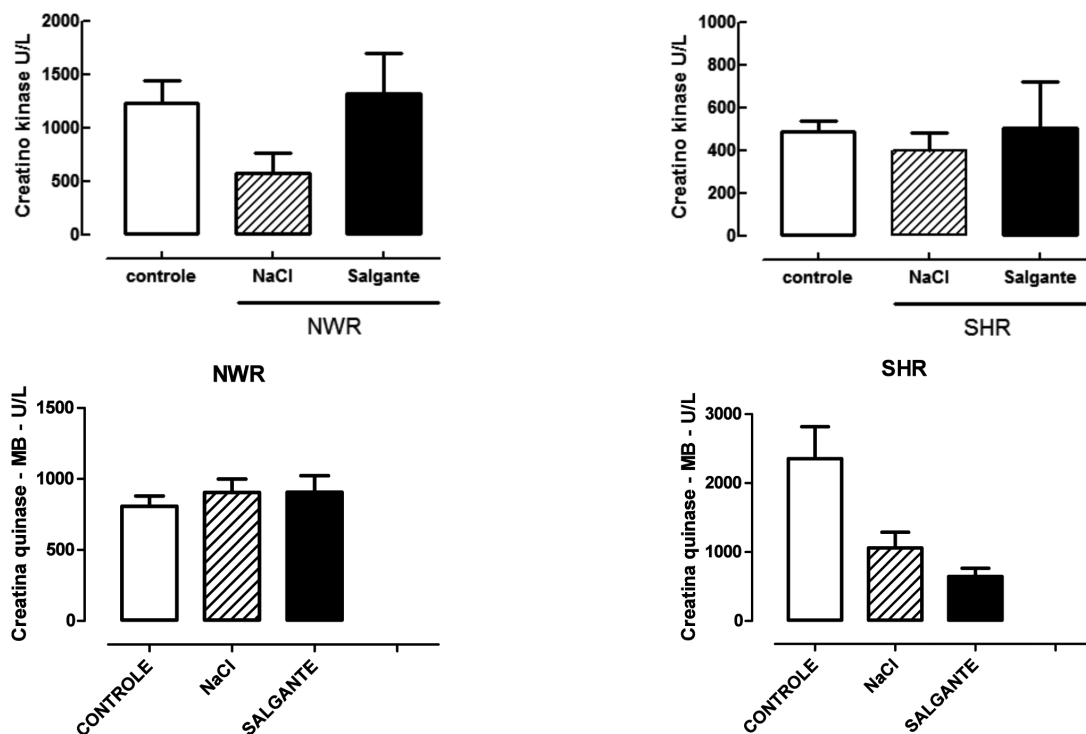


Figura 1: Concentrações séricas dos marcadores bioquímicos cardíacos creatina quinase total (CKT) e creatina quinase-fração MB (CK-MB)

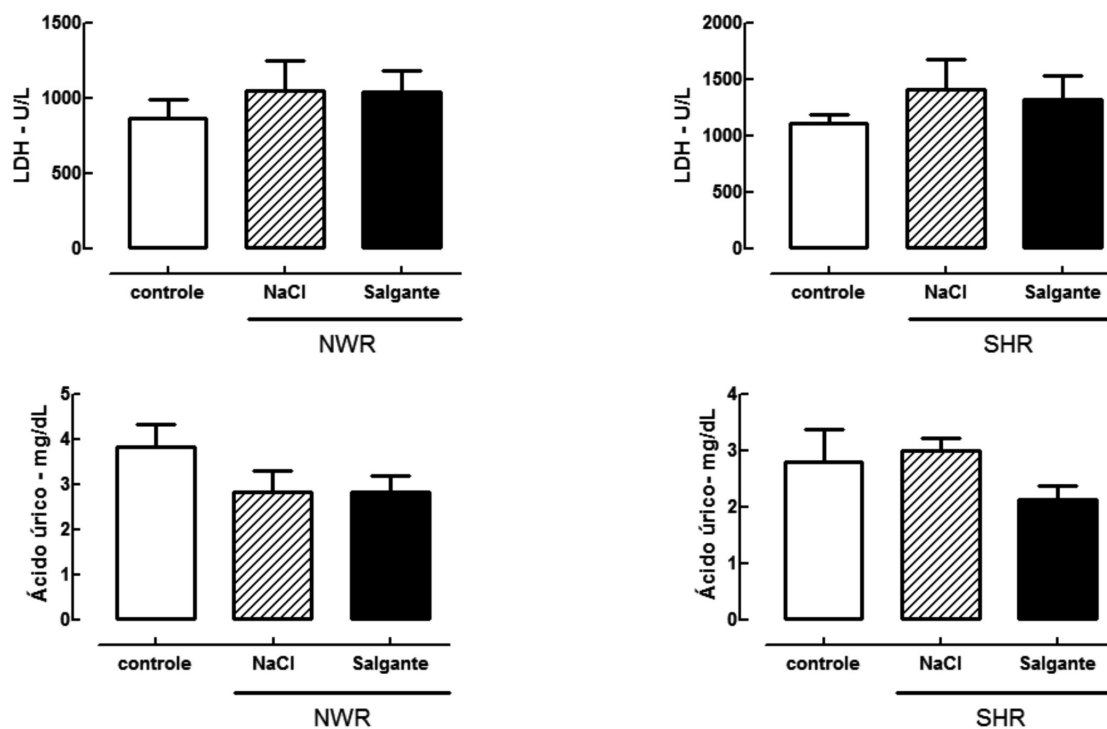


Figura 2: Concentrações séricas dos marcadores bioquímicos cardíacos ácido úrico e lactato desidrogenase (LDH)

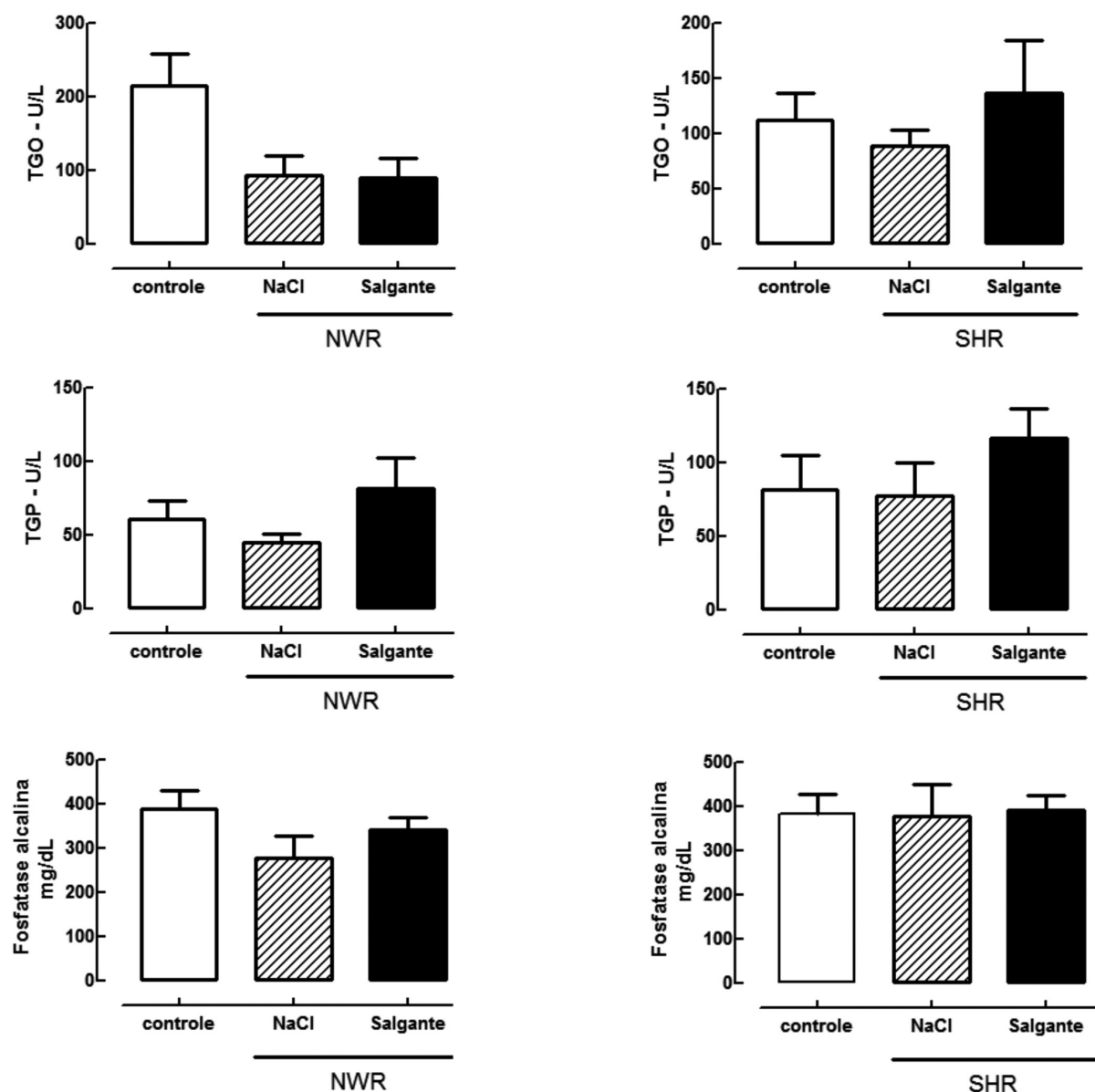


Figura 3: Concentrações séricas dos marcadores bioquímicos hepáticos Transaminase glutâmico-oxalacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) e fosfatase alcalina (FA)

principalmente pacientes hipertensos¹². O alto consumo de NaCl é utilizado como preditor de doenças cardiovasculares em países ocidentais, onde o consumo de sal é elevado¹³, não somente pela preparação de alimentos, mas também na conservação dos mesmos como o glutamato monossódico¹⁴. A redução da ingestão de sódio por um período igual ou maior que um mês promove efeito significativo na redução da PA em indivíduos normotensos ou hipertensos⁶, sobretudo em indivíduos idosos e com HA¹⁵.

Em nosso estudo os níveis séricos de CKT, CK-MB, LDH, AU, AST/TGO, ALT/TGP e FA não apresentaram diferença entre os animais NWR e SHR tratados com NaCl ou Salgante. Apenas 41 a 56% dos pacientes que chegam à emergência com infarto agudo do miocárdio (IAM) apresentam supra-desnívelamento do segmento ST do ECG, sendo possível estabelecer diagnóstico imediato¹⁶, portanto, é fundamental a avaliação laboratorial de IAM pela dosagem sérica de macromoléculas liberadas

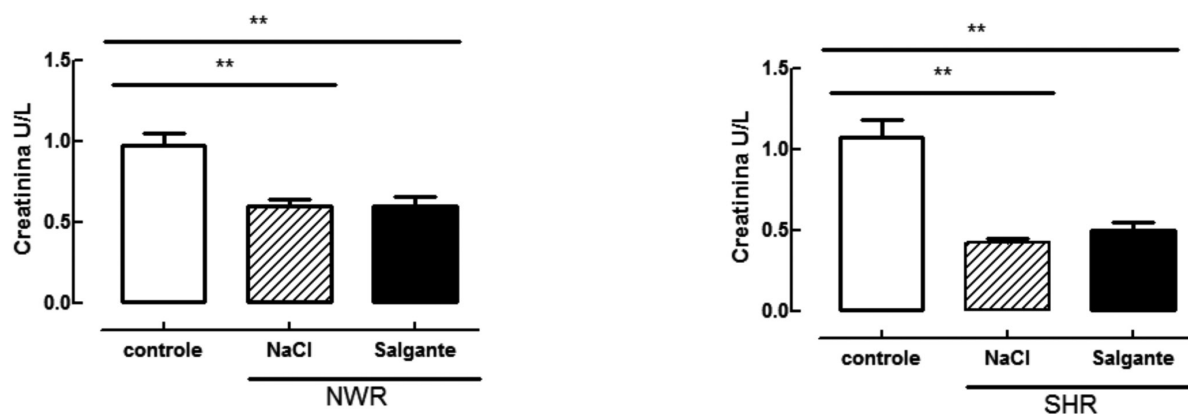


Figura 4: Concentração sérica do marcador bioquímico de função renal creatinina.

pela células mortas, como creatina quinase total (CKT), sua isoforma específica do miócito (CK-MB), a (AST/TGO), lactato desidrogenase (LDH) e ácido úrico (AU)¹⁷. A CK é uma enzima presente no cérebro, miocárdio e músculo esquelético. A isoforma CK-MB é predominante no miocárdio; seus níveis aumentam 3-6 horas após o início do IAM, com valores máximos dentro de 12-24 horas, e sensibilidade e especificidade superior a 97% nas primeiras 48 horas¹⁸. A aspartato-aminotransferase (AST) ou transaminase glutâmico-oxalacética (TGO) eleva-se após 12-48 horas no soro em 90-95% dos pacientes com IAM, e retorna aos níveis normais em 3-8 dias. A alanina aminotransferase (ALT) ou transaminase glutâmico-pirúvica (TGP) está presente no tecido hepático, rins, músculos esqueléticos e coração, ao passo que fosfatase alcalina (FA) está presente nos intestinos, rins, fígado e ossos. Portanto, as enzimas AST, ALT e FA não são específicas para o IAM¹⁹, mas são utilizadas como marcadores de lesão hepática, o que não foi observado em nosso estudo. No IAM, os níveis de LDH encontram-se elevados em 92-95% dos pacientes, e excede a faixa de normalidade após 24 a 48 horas, com pico de atividade de 3 a 6 dias, retomando os valores normais após 8 a 14 dias. A LDH total é sensível, porém não é específica²⁰. Já os níveis séricos de ácido úrico estão correlacionados à maior frequência de eventos cardiovasculares

em pacientes hipertensos²¹, o que não observamos nos animais SHR.

Os valores de creatinina estiveram diminuídos nos grupos NWR e SHR tratados com NaCl ou Salgante, indicando ausência de lesão renal. A redução da ingestão de sódio diminui a proteinúria/albuminúria nos estágios avançados de insuficiência renal crônica¹², nefropatia não diabética²², pacientes hipertensos ou adultos normotensos^{23,24}, além de minorizar a deterioração da função renal de pacientes em fase terminal de insuficiência renal crônica²⁴, destacando a importância da redução de sódio em diferentes patologias.

Portanto, verificamos em nosso estudo que a utilização do Salgante acarreta diminuição dos níveis séricos de LDL nos animais NWR e SHR, VLDL no grupo NWR, triglicéridos no grupo NWR, e creatinina nos animais NWR e SHR, ressaltando seu potencial como nutracêutico isento de sódio.

Referências

1. Kawano Y, Ando K, Matsuura H, Tsuchihashi T, Fujita T, Ueshima H, et al. Report of the Working Group for Dietary Salt Reduction of the Japanese Society of Hypertension:(1) Rationale for salt restriction and salt-restriction target level for the management of hypertension. *Hypertens Res.* 2007;30(10):879.

2. Sacks FM, Svetkey LP, Vollmer WM, Appel LJ, Bray GA, Harsha D, et al. Effects on blood pressure of reduced dietary sodium and the Dietary Approaches to Stop Hypertension (DASH) diet. *N Engl J Med*. 2001;344(1):3–10.
3. Victor RG, Kaplan NM. Systemic hypertension: Mechanisms and diagnosis. 7^o ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
4. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation*. 2005;111(25):3481–3488.
5. Sakalihasan N, Limet R, Defawe OD. Abdominal aortic aneurysm. *The Lancet*. 2005;365(9470):1577–1589.
6. He FJ, Li J, MacGregor GA. Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Bmj*. 2013;346:f1325.
7. Laragh JH, Lewis K. Dahl Memorial Lecture. The renin system and four lines of hypertension research. Nephron heterogeneity, the calcium connection, the prorenin vasodilator limb, and plasma renin and heart attack. *Hypertension*. 1992;20(3):267–279.
8. Cowley AW. Genetic and nongenetic determinants of salt sensitivity and blood pressure. *Am J Clin Nutr*. 1997;65(2):587S–593S.
9. WHO (World Health Organization). Guideline. Sodium intake for adults and children. Geneva. 2012.
10. Appel LJ, Frohlich ED, Hall JE, Pearson TA, Sacco RL, Seals DR, et al. The importance of population-wide sodium reduction as a means to prevent cardiovascular disease and stroke. *Circulation*. 2011;123(10):1138–1143.
11. Rodrigues FSM, Yasuda MA, de Paula L, Musial DC, Bomfim GHS, Tavares JGP, et al. Benefício da Utilização do Novo Alimento Funcional Salgante sem Sódio sobre os Níveis de Pressão Arterial em Animais Hipertensos. *Rev Pesqui E Inov Farm* [Internet]. 2015 [citado 31 de janeiro de 2017];5(1). Disponível em: <http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/RPIInF/article/view/32>
12. Ando K, Kawarazaki H, Miura K, Matsuura H, Watanabe Y, Yoshita K, et al. [Scientific statement] Report of the Salt Reduction Committee of the Japanese Society of Hypertension (1) Role of salt in hypertension and cardiovascular diseases. *Hypertens Res*. 2013;36(12):1009–1019.
13. Newson RS, Elmadfa I, Biro G, Cheng Y, Prakash V, Rust P, et al. Barriers for progress in salt reduction in the general population. An international study. *Appetite*. 2013;71:22–31.
14. Alderman MH. Salt, blood pressure, and human health. *Hypertension*. 2000;36(5):890–893.
15. Chobanian AV, Hill M. National heart, lung, and blood Institute Workshop on sodium and blood pressure. *Hypertension*. 2000;35(4):858–863.
16. Rude RE, Poole WK, Muller JE, Turi Z, Rutherford J, Parker C, et al. Electrocardiographic and clinical criteria for recognition of acute myocardial infarction based on analysis of 3,697 patients. *Am J Cardiol*. 1983;52(8):936–941.
17. LEE TH, Goldman LEE. Serum enzyme assays in the diagnosis of acute myocardial infarction recommendations based on a quantitative analysis. *Ann Intern Med*. 1986;105(2):221–233.
18. Wallach J. Interpretação de Exames Laboratoriais. 7^o ed. Rio de Janeiro: Editora Médica Científica; 2003. 1068 p.
19. Ravel R. Laboratório Clínico-Aplicações Clínicas de Dados Laboratoriais. 6^o ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1997. 616 p.
20. Piegas L, Alvaro A. Enzimas. In: Métodos Diagnósticos em Cardiologia. São Paulo: Atheneu; 1997. p. 261–72.
21. Fang J, Alderman MH. Serum uric acid and cardiovascular mortality: the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971–1992. *Jama*. 2000;283(18):2404–2410.
22. Vogt L, Waanders F, Boomsma F, de Zeeuw D, Navis G. Effects of dietary sodium and hydrochlorothiazide on the antiproteinuric efficacy of losartan. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19(5):999–1007.
23. Swift PA, Markandu ND, Sagnella GA, He FJ, MacGregor GA. Modest salt reduction reduces blood pressure and urine protein excretion in black hypertensives. *Hypertension*. 2005;46(2):308–312.
24. Lin J, Hu FB, Curhan GC. Associations of diet with albuminuria and kidney function decline. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(5):836–843.

