

Efeito do uso crônico de tobramicina sobre os níveis de glicose, HDL e triglicerídeos em ratos Wistar

Effect of chronic use of tobramycin on the levels of glucose, HDL and triglycerides in Wistar rats

Lara Beatriz Damasceno Passos¹, Bruna Lais da Silva Lima¹, Katarina Melo Chaves², Maria Socorro Costa Feitosa Alves³, Luiz Alberto Lira Soares⁴, Aurigena Antunes Araújo⁵

¹Aluna de graduação de Biomedicina; ²Aluna do programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas; ³Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva; ⁴Departamento de Farmácia; ⁵Departamento de Biofísica e Farmacologia UFRN.

Resumo

Objetivou-se verificar as alterações sanguíneas da glicose, HDL e triglicerídeos com o uso crônico da Tobramicina. Trinta e dois ratos machos adultos linhagem Wistar com 300g foram divididos em dois grupos, um controle com salina e um grupo experimental, com tobramicina 4mg/kg. Para ambos os grupos a administração foi diária, única, durante um período de quatro semanas. A cada semana, um subgrupo era eutanasiado, com Tiopental sódico na dosagem 50mg/Kg e o sangue colhido para avaliação bioquímica. Para os testes, foram usados kits da BioTécnica. A leitura foi realizada no equipamento semiautomático BioPlus 2000. Para verificar as diferenças entre os grupos estudados foi utilizado o Teste t de Student com nível de significância de 5% no programa Graf Pad Install. Na avaliação dos níveis de glicose pode-se observar que na primeira, segunda e terceira semanas não houve diferença significativa entre os grupos. Na quarta semana, houve uma diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,01$). Em relação aos níveis séricos de HDL, não houve diferença significativa entre o grupo teste e o grupo controle da primeira semana. Nas três semanas seguintes, podem-se verificar diferenças significativas com relação ao grupo controle ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Quanto aos níveis de triglicerídeos nas três primeiras semanas não houve diferença significativa. Na quarta semana, houve uma diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,01$). Os achados deste estudo corroboram a literatura em relação à redução dos níveis plasmáticos de glicose e HDL em doenças renais, assim como, a elevação dos níveis séricos de triglicerídeos, que também foram encontrados neste estudo.

Palavras-chave: Tobramicina. Nefrotoxicidade. Glicose.

Abstract

This study assessed the changes in blood glucose, HDL and triglycerides with the chronic use of tobramycin. Thirty-two adult male Wistar rats with 300 g were divided into two groups, one with saline and a control group, with tobramycin 4mg/kg. For both groups, the administration was daily, only during a period of four weeks. Each week, a subgroup was euthanized with sodium thiopental dosage 50mg/Kg and blood collected for biochemical evaluation. For the tests, we used the kits BioTécnica. The reading was held in 2000 BioPlus semiautomatic equipment. To check the differences between the groups Student's t test was used with significance level of 5% Graf Pad Install in the program. In the evaluation of glucose levels in can be observed that it the first, second and third weeks there was no significant difference between im groups. In the fourth week, there was a significant difference between the two groups ($p < 0.01$). In relation to serum levels of HDL, there was no significant difference between the test group and control group in the first week. In the next three weeks, and we detected significant differences with the control group ($p < 0.05$, $p < 0.01$). In relation to the levels of triglycerides in the first three weeks there was no significant difference. In the fourth week, there was a significant difference between the two groups ($p < 0.01$). The findings in the literature regarding the reduction of plasma glucose and HDL in kidney disease, as well as the elevation of serum triglycerides were also found in this study.

Key Words: Tobramycin. Nephrotoxicity. Glucose.

INTRODUÇÃO

Os aminoglicosídeos são inibidores bactericidas da síntese de proteínas, sendo úteis primariamente para o tratamento de infecções causadas por bactérias Gram-negativas aeróbicas, apesar de serem relativamente tóxico quando comparados com outras classes de antibióticos (CHAMBERS, 2010).

A Tobramicina é um aminoglicosídeo natural, obtido de culturas de *Streptomyces tenebrarius*. Possui propriedades antimicrobianas e farmacodinâmicas semelhantes às da gentamicina (TAVARES, 2009). É o aminoglicosídeo de escolha contra *Pseudomonas aeruginosa*, já que demonstra uma boa atividade e toxicidade relativamente baixa (WHITEHEAD et al., 2002).

A toxicidade celular é característica comum dos aminoglicosídeos (exceto a espectinomicina), em função de sua absorção para o meio intracelular. Os efeitos tóxicos mais importantes são nefrotoxicidade,

Recebido em 28 de maio de 2011; revisado em 08 de agosto de 2011.
Correspondência / Correspondence: Aurigena Antunes de Araújo. Departamento de Biofísica e Farmacologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Centro de Biociências. Campus Universitário/UFRN - Av. Senador Salgado Filho, S/N, Natal/RN/Brasil CEP 59072-970, Brasil. Fone: (84)32153419. E-mail: aurigena@ufrnet.br

ototoxicidade e bloqueio neuromuscular (OLIVEIRA et al., 2006).

A penetração desses antibióticos no interior da célula bacteriana causa a formação de proteínas erradas ou a inativação da síntese de proteínas (TAVARES, 2009), causando danos às células do túbulo proximal, o que afeta negativamente a capacidade dos rins de funcionar resultando em nefrotoxicidade. Geralmente, os danos nos rins ocorrem após três a cinco dias de tratamento com o uso de aminoglicosídeo. Porém, a função renal do paciente pode retornar ao normal quando o tratamento é interrompido (BRUCE; HICKS, 2011).

Portadores de Insuficiência Renal Crônica (IRC) apresentam importantes alterações no metabolismo lipídico cuja manifestação mais típica é a dislipidemia mista com predomínio de hipertrigliceridemia associada ao colesterol HDL baixo. Essas alterações surgem em fases precoces da IRC e a intensidade dos achados é proporcional ao grau de disfunção glomerular (HARPER; JACOBSON, 2008).

A insuficiência renal mostrou-se a primeira causa de hipoglicemia após a terapia de insulina, sugerindo a importância deste órgão na regulação da glicose no sangue (CANO, 2002).

Este estudo tem por objetivo verificar as alterações nos níveis sanguíneos da glicose, HDL e triglicérides e causada pelo uso crônico da Tobramicina.

MATERIAL E MÉTODO

Modelo experimental

Para realização deste estudo foram utilizados dois grupos, um grupo controle e um grupo experimental, com quatro subgrupos em cada grupo. Para os grupos controle, foi injetada solução salina pela via Intraperitoneal i.p., enquanto que no grupo experimental, foi administrada 4mg/kg de tobramicina pela via i.p. Para ambos os grupos a administração foi diária, dose única, durante um período de quatro semanas. A cada semana, um subgrupo de cada grupo era eutanasiado, com Tiopental sódico na dosagem 50mg/Kg de acordo com o Protocolo aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA – UFRN), e o sangue retirado para avaliação bioquímica da glicose, do triglicéride e do HDL.

Animais

Trinta e dois ratos machos adultos da linhagem Wistar pesando em média 300g, fornecidos pelo Biotério do Departamento de Biofísica e Farmacologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, foram selecionados para o presente estudo. Todos os animais foram expostos às mesmas condições ambientais: luminosidade controlada num ciclo 12/12h claro/escuro, temperatura, alimentação e água *ad libitum*. Para tanto, a comida dos animais foi retirada para que

ficassem em um jejum de 12 horas antes do dia do sacrifício.

Preparação das amostras e análise

As amostras de sangue dos animais sacrificados foram coletadas em tubos cônicos (tubo tipo falcon) de 15 ml (16,5 x 120 mm) e deixadas a temperatura ambiente para a coagulação. Posteriormente, o soro foi separado por centrifugação a 3000 rpm por 10min. Para realização dos testes bioquímicos, foram usados kits da BioTécnica para glicose, triglicérides e HDL. A leitura foi realizada no equipamento semiautomático BioPlus 2000.

Análise dos dados

Para verificar as diferenças entre os grupos estudados em cada semana foi utilizado o *Teste t* de *Student* com nível de significância de 5% no programa Graf Pad Install.

Procedimentos Éticos

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética da Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN.

RESULTADOS

Na avaliação dos níveis de glicose, pode-se observar que na primeira, segunda e terceira semanas não houve diferença significativa entre os grupos testes e os grupos controles das mesmas semanas. Na quarta semana, houve uma diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,01$). Na figura 1 pode-se verificar a comparação entre os valores plasmáticos da glicose em jejum para os grupos controle e experimental nas diferentes semanas.

A respeito dos níveis séricos de HDL, não houve diferença significativa entre o grupo teste e o grupo controle da primeira semana. Nas três semanas seguintes, podem-se notar diferenças significativas com relação aos grupos controle ($p < 0,05$; $p < 0,01$). Com isso, verificou-se o efeito da Tobramicina reduzindo os níveis de HDL. Na figura 2 pode-se verificar a comparação entre os valores plasmáticos de HDL para os grupos controle e experimental nas diferentes semanas.

Em relação aos níveis plasmáticos de triglicérides, pode-se verificar que nas três primeiras semanas não houve diferença significativa entre os grupos testes e os grupos controles. Na quarta semana, houve uma diferença significativa entre os dois grupos ($p < 0,01$). Assim, obtém-se que o efeito da Tobramicina tem como resultado a elevação dos níveis de triglicéride. Na figura 3 pode-se verificar a comparação entre os valores plasmáticos de triglicérides para os grupos controle e experimental nas diferentes semanas.

DISCUSSÃO

A relação entre regime de dosagem e a eficácia terapêutica e/ou toxicidade da tobramicina é complexa

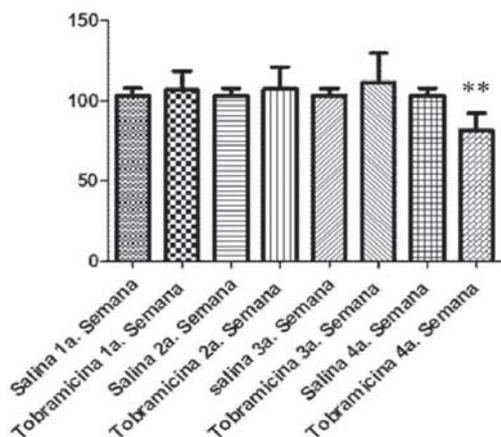


Figura 1. Efeito da tobramicina sob os níveis de glicose nas diferentes semanas de tratamento. Os dados representam, os valores de média e desvio padrão. Houve diferença estatisticamente significativa na 4ª semana de tratamento, com redução dos níveis de glicose para o grupo tratado com tobramicina. (* $P < 0,05$; ** $p < 0,01$ versus grupo controle).

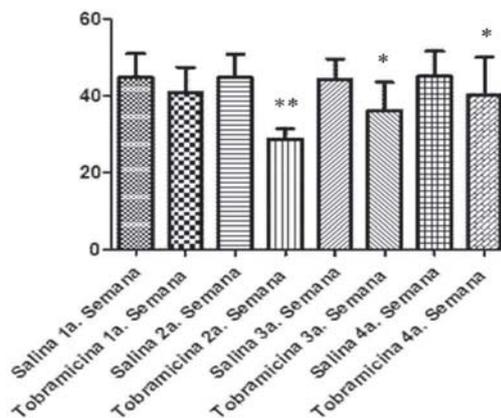


Figura 2. Efeito da tobramicina sob os níveis de HDL nas diferentes semanas de tratamento. Os dados representam, os valores de média e desvio padrão. Houve diferença estatisticamente significativa na 2ª semana (** $p < 0,01$), 3ª semana (* $p < 0,05$) e 4ª semana (* $p < 0,05$) de tratamento, com redução dos níveis de HDL para o grupo tratado com tobramicina.

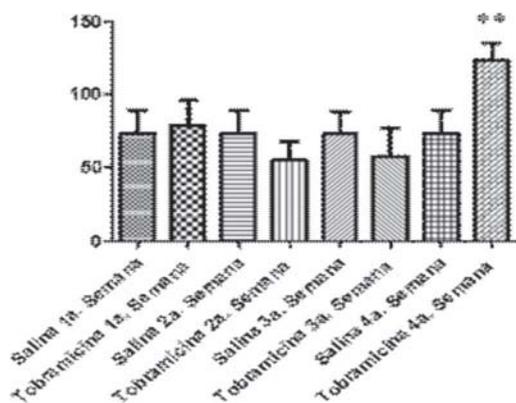


Figura 3. Efeito da tobramicina sob os níveis de triglicerídeos nas diferentes semanas de tratamento. Os dados representam os valores de média e desvio padrão. Houve diferença estatisticamente significativa na 4ª semana de tratamento, com aumento dos níveis de triglicerídeos e para o grupo tratado com tobramicina. (* $P < 0,05$; ** $p < 0,01$ versus grupo controle).

e multifatorial. A dose única diária confere a dupla vantagem de eficácia e segurança no tratamento. Porém, estudos comparando a administração de uma única dose diária de antibióticos aminoglicosídeos com a administração da mesma dose em doses divididas encontraram incidências semelhantes de nefrotoxicidade (SANCHEZ-ALCARAZ et al., 1998).

O ponto de partida para a nefrotoxicidade é a ligação do fármaco com o túbulo proximal. Acredita-se que existam receptores específicos no túbulo proximal, onde ocorre endocitose do aminoglicosídeo (pela mesma via por onde são absorvidos aminoácidos, pequenos peptídeos e talvez poliaminas). A ligação na membrana

tubular ocorre com a megalina, um receptor endocítico expressado na membrana apical do epitélio tubular proximal. Ela é responsável pela reabsorção do filtrado glomerular e também se liga a proteínas de baixo peso molecular. Uma vez ligado à megalina, o complexo aminoglicosídeo-megalina é transportado para dentro da célula e se une ao lisossomo, onde irá fundir-se com estruturas preexistentes, causando progressiva disposição de lipídeos polares, que adotam disposição lamelar concêntrica, formando o chamado corpo mielóide. Além disso, ocorrem várias outras alterações em organelas e enzimas, como nos ribossomos, nas mitocôndrias e na bomba Na/K-ATPase. Deve-se ressaltar que a formação de corpos mielóides não é exclusiva dos aminoglicosídeos, ocorrendo também com outras drogas catiônicas (OLIVEIRA et al., 2006).

A glicose filtrada nos glomérulos atinge o túbulo proximal, onde é completamente reabsorvida. Uma massa de enzimas intracelulares e um complexo sistema de transporte localizado na membrana plasmática das células tubulares renais promovem as reações bioquímicas necessárias e a reabsorção ativa e secreção de glicose e de outros produtos do metabolismo (CERSOSIMO, 2004).

Em células de mamíferos, dois tipos de transportadores de glicose mediam a captação de glicose. Um deles é o transportador de glicose Na⁺-independente (GLUT), que serve como um sistema de difusão facilitada através de bicamadas lipídicas, e o outro é o transportador de glicose Na⁺-dependente (SGLT), que media o co-transporte Na⁺/glicose tanto no rim quanto no intestino, nesse como um transportador ativo secundário. As proteínas SGLT existentes na membrana apical são funcionalmente caracterizadas e

polarizadas nas células epiteliais tubulares proximais nos rins, pois eles podem contribuir para a reabsorção de glicose, que é filtrada no glomérulo durante o processo de formação de urina. Os aminoglicosídeos reduzem significativamente o transportador de glicose dependente de Na⁺ (SGLT) causando danos às células tubulares proximais nos rins. Como consequência, a reabsorção de glicose é afetada (TAKAMOTO et al., 2003). Assim o uso crônico da tobramicina, conforme pode ser visto na quarta semana de estudo, compromete a reabsorção de glicose, levando a hipoglicemia.

Por sua vez, a principal função do HDL é o transporte do colesterol excedente da parede arterial para o fígado, e conseqüentemente para a excreção. Este processo, que é comumente chamado de “transporte reverso de colesterol”, é essencial para a homeostase do colesterol celular e proteção contra a aterosclerose. Esse sistema é afetado quando há nefrotoxicidade. Pacientes com doença renal crônica têm, geralmente, menor concentração plasmática de HDL-colesterol em comparação com indivíduos com função renal normal. Isto pode ser atribuído a vários mecanismos (TSIMIHODIMOS; MITROGIANNI; ELISAF, 2011). Reduções nas concentrações plasmáticas das apoproteínas apoA-I e apoA-II desenvolvem grande papel nos níveis de colesterol HDL. ApoA-I e ApoA-II são componentes obrigatórios da partícula HDL. Pacientes com insuficiência renal têm apresentado uma redução na expressão genética dessas apoproteínas em locais de produção de HDL no fígado (VAZIRI; DENG; LIANG, 1999; HARPER; JACOBSON, 2008; TSIMIHODIMOS; MITROGIANNI; ELISAF, 2011), além de atividade diminuída da LCAT (enzima responsável pela esterificação do colesterol livre em partículas HDL), bem como o aumento da atividade da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) que facilita a transferência de ésteres de colesterol das HDL para as lipoproteínas ricas em triglicerídeos, reduzindo assim as concentrações séricas de HDL-colesterol (VAZIRI; LIANG; PARKS, 2001; TSIMIHODIMOS; MITROGIANNI; ELISAF, 2011).

Outro fator que contribui para os níveis baixos de HDL é a inflamação presente nos pacientes com insuficiência renal. Inflamação crônica resulta em diminuição dos níveis de albumina. Albumina serve como um transportador de colesterol livre dos tecidos periféricos para o HDL, e uma redução na albumina pode contribuir para a redução de HDL (HARPER; JACOBSON, 2008). No nosso estudo as reduções nos níveis de HDL ocorreram a partir da segunda semana de uso crônico da tobramicina.

Normalmente, a dislipidemia é refletida predominantemente em aumento dos níveis séricos de triglicérides com altos níveis de VLDL, Apo B e pré-HDL e baixos níveis de HDL e de apoA (TREVISAN; DODESINI; LEPORE, 2006). Pacientes com insuficiência renal apresentam concentrações séricas aumentada de

triglicerídeos. O mecanismo predominante responsável pelo aumento da concentração de triglicerídeos é o baixo catabolismo. A taxa catabólica reduzida é provavelmente devido à redução da atividade da lipoproteína lipase como consequência da regulação baixa do gene da enzima e a presença de inibidores da lipase (TSIMIHODIMOS; MITROGIANNI; ELISAF, 2011).

Os níveis de triglicerídeos aumentado no plasma pode ser explicado em parte por um aumento significativo dos níveis de ApoC-III no plasma. Apoproteína C-III é um potente inibidor da enzima lipoproteína lipase, a qual é responsável pela degradação de partículas ricas em triglicerídeos (VAZIRI, 2009; LACQUANITI et al., 2010). No presente estudo as constatações quanto a elevação dos níveis de triglicerídeos ocorreram na quarta semana.

CONCLUSÃO

O uso crônico da Tobramicina para o tratamento de infecções graves leva a insuficiência renal, com alterações nos níveis séricos de glicose, HDL e triglicerídeos. No presente estudo pode-se concluir que ocorreram redução dos níveis séricos de glicose e HDL, assim como, elevação dos níveis séricos de triglicerídeos.

REFERÊNCIAS

- BRUCE, K.; HICKS, R. W. Perioperative pharmacology: a focus on aminoglycosides. *AORN J.*, Denver, v. 93, n. 4, p. 464-468, apr. 2011.
- CANO, N. Bench-to-bedside review: glucose production from the kidney. *Critical Care.*, London, v. 6, n. 4, p. 317-321, aug. 2002.
- CERSOSIMO, E. A importância do rim na manutenção da homeostase da glicose: aspectos teóricos e práticos do controle da glicemia em pacientes diabético portadores de insuficiência renal. *J. Bras. Nefrol.*, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 28-37, jan./mar. 2004.
- CHAMBERS, H. F. Antimicrobianos: os aminoglicosídeos. In: BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. *Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica*. 11. ed. São Paulo: McGraw-Hill, 2010. p. 1039-1054.
- HARPER, C. R.; JACOBSON, T. A. Managing dyslipidemia in chronic kidney disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, New York, v. 51, n. 25, p. 2375-2384, june. 2008.
- LACQUANITI, A. et al. Alterations of lipid metabolism in chronic nephropathies: mechanisms, diagnosis and treatment. *Kidney Blood Press. Res.*, Basel, v. 33, n. 2, p. 100-110, 2010.
- OLIVEIRA, J. F. P. et al. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. *Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.*, São Paulo, v. 21, n. 4, p. 444-452, out./dez. 2006.
- SANCHEZ-ALCARAZ, A. et al. Therapeutic drug monitoring of tobramycin: once-daily versus twice-daily dosage schedules. *J. Clin. Pharm. Ther.*, Oxford, v. 23, n. 5, p. 367-373, oct. 1998.
- TAKAMOTO, K. et al. Aminoglycosides antibiotics reduce glucose reabsorption in kidney through down-regulation of SGLT1. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, New York, v. 308, n. 4, p. 866-871, sept. 2003.
- TAVARES, W. *Antibióticos e quimioterápicos para o clínico*. 2. ed. rev. e atual. São Paulo: Atheneu, 2009. 585 p.

11. TREVISAN, R.; DODESINI, A. R.; LEPORE, G. Lipids and renal disease. **J. Am. Soc. Nephrol.**, Baltimore, v. 17, n. 4, p. 145-147, apr. 2006. Suppl.
12. TSIMIHODIMOS, V.; MITROGIANNI, Z.; ELISAF, M. Dyslipidemia associated with chronic kidney disease. **Open Cardiovasc. Med. J.**, London, v. 5, p. 41-48, feb. 2011.
13. VAZIRI, N. D.; DENG, G.; LIANG, K. Hepatic HDL receptor, SR-B1 and Apo A-I expression in chronic renal failure. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Oxford, v. 14, n. 6, p. 1462-1466, 1999.
14. VAZIRI, N. D.; LIANG, K.; PARKS, J. S. Down-regulation of hepatic lecithin: cholesterol acyltransferase gene expression in chronic renal failure. **Kidney Int.**, New York, v. 59, n. 6, p. 2192-2196, june. 2001.
15. VAZIRI, N. D. Causes of dysregulation of lipid metabolism in chronic renal failure. **Sem. Dial.**, New York, v. 22, n. 6, p. 644-651, nov./dec. 2009.
16. WHITEHEAD, A. et al. Once-daily tobramycin in the treatment of adult patients with cystic fibrosis. **Eur. Respir. J., Suppl.**, Copenhagen, v.19, n. 2, p.303-309, feb. 2002.