

Alterações Renais por Aminoglicosídeos

Vanessa Barboza de Souza, Rodrigo Fagundes de Oliveira, Aurigena Ferreira, Raimundo de Araújo Júnior
Departamento de Morfologia, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Brasil

O objetivo dessa revisão é o acesso crítico à literatura a respeito dos efeitos tóxicos dos aminoglicosídeos nas estruturas histológicas do rim. Foram pesquisados os artigos científicos nas bases de dados da ScienceDirect, cujas palavras-chaves foram "NEPHROTOXICITY", "AMINOGLYCOSIDES", "GENTAMICIN" e "RENAL INJURY". Os artigos que apresentavam apenas o abstract disponível, bem como as revisões sistemáticas foram excluídos. Foram considerados somente artigos relacionados com a morfologia do sistema renal publicados em língua inglesa e espanhola, e aqueles acessados através da base de dados da Capes. Dois revisores independentes avaliaram a elegibilidade e a qualidade metodológica de cada ensaio experimental e extraíram os dados. Sete foram selecionados. As variáveis estudadas foram as seguintes: autor(es), ano, objetivo, metodologia e conclusões. Os artigos selecionados utilizaram desde técnicas histoquímica e imunoistoquímica para identificação morfológica das alterações renais até espectroscopia. Foi possível também, verificar métodos de prevenção à nefrotoxicidade induzida pelos aminoglicosídeos, minimizando efeitos tóxicos. Os achados histopatológicos mostraram que a administração de aminoglicosídeos causaram apoptose e edema celular, interrupção da membrana basal, redução do espaço de Bowman e necrose tubular aguda.

Palavras-chave: aminoglicosídeos; apoptose; gentamicina; necrose tubular aguda.

ARQUIVOS DE MEDICINA, 22(4/5):131-5

INTRODUÇÃO

No trabalho de Souza et al (1), 100 pacientes HIV+ com AIDS internados no Hospital Giselda Trigueiro, Natal-RN, foram estudados e acompanhados quanto às seguintes variáveis: manifestações clínicas orais, comportamento de risco, manifestações sistêmicas, forma de tratamento, dentre outras. Os autores concluíram que 93 pacientes desenvolveram uma ou mais infecção oportunista de origem bacteriana como a gengivite ulcerativa necrosante aguda (GUNA), periodontite, tuberculose, sífilis e/ou pneumonia bacteriana. Além disso, foi observado que mais da metade desses pacientes utilizavam drogas com efeito bactericida, como os aminoglicosídeos. Os autores dessa pesquisa constataram que 40% desses pacientes desenvolveram nefropatias, possivelmente devido à nefrotoxicidade causada pelo uso crônico desses medicamentos.

Segundo Kierszenbaum (2) o sistema renal é formado por um conjunto de estruturas histológicas imprescindível nos mecanismos de filtrações glomerular e tubular. O glomérulo renal é constituído primordialmente por uma rede de capilares fenestrados sem diafragma oriundos da arteríola aferente; pela cápsula de Bowman formada pelos folhetos parietal e visceral (podócitos) e células mesangiais de suporte.

Os podócitos são células epiteliais com inúmeros prolongamentos que estão em íntimo contato com a lâmina basal dos capilares fenestrados do glomérulo. Essa união resulta na formação de uma membrana basal conhecida como membrana de filtração, pela qual passam os componentes do filtrado glomerular. As células mesangiais localizam-se entre os capilares fenestrados do glomérulo especificamente nas regiões dos capilares desprovidos de lâmina basal. Essas células controlam o fluxo sanguíneo através da sua ação contrátil sob os capilares do glomérulo. O néfron é um local acometido por toxicidade medicamentosa, visto que o uso crônico desses alteram morfológicamente as estruturas histológicas envolvidas nos processos de filtração (3,2).

Os aminoglicosídeos formam um grupo de antibióticos comumente usados em infecções bacterianas por Gram-negativas aeróbicas, sendo formados por dois ou mais aminoácidos unidos por ligação glicosídica do núcleo de hexose que normalmente se encontra numa posição central. Esta hexose ou aminociclitol é a estreptidina ou a 2-desaxiestreptamina (4).

Os aminoglicosídeos inibem a síntese protéica através de sua ligação na subunidade ribossômica 30s induzindo a leituras incorretas e interrupção prematura da tradução do RNAm (5).

As injúrias renais são induzidas pelo acúmulo dos aminoglicosídeos nas células nefróticas, inclusive nas células mesangiais, causando uma desregulação nos mecanismos fisiológicos das filtrações glomerular e tubular, além de aumentar os níveis de creatinina sérica, edemas intracelulares, apoptose e necrose das células do túbulo proximal (6).

O presente estudo tem o objetivo de realizar uma revisão sistemática sobre as estruturas histológicas envolvidas na nefrotoxicidade por aminoglicosídeos.

METODOLOGIA

Foram pesquisados os artigos científicos nas bases de dados da ScienceDirect, cujas palavras-chaves foram "NEPHROTOXICITY" e "AMINOGLYCOSIDES" (83 artigos no período de 1972 a 2007), "NEPHROTOXICITY" e "GENTAMICIN" (190 artigos no período de 1974 a 2007), "NEPHROTOXICITY" e "RENAL INJURY" (86 artigos no período de 1977 a 2007). Como critérios de exclusão foram retirados os artigos que apresentavam apenas o abstract disponível, bem como as revisões sistemáticas. Foram considerados somente artigos relacionados com morfologia do sistema renal publicados em língua inglesa e espanhola, e aqueles acessados através da base de dados da Capes. Sete foram selecionados. As variáveis estudadas foram as seguintes: autor(es), ano, objetivo, metodologia e conclusões.

RESULTADOS

Dos 7 artigos, 1 artigo descreveu os efeitos tóxicos dos aminoglicosídeos nas células dos túbulos renais; 1 artigo correlaciona a nefrotoxicidade por aminoglicosídeos nos receptores das células do túbulo proximal; 1 artigo relata os efeitos tóxicos da gentamicina sobre os lisossomos e mitocôndrias das células do túbulo contorcido

proximal; 2 artigos investigam o efeito inibidor de alguns fármacos sobre a toxicidade causada pela gentamicina nas estruturas morfológicas do néfron; 2 artigos descreveram como ocorrem os mecanismos de apoptose nas células dos túbulos contorcidos proximais pelo uso dos aminoglicosídeos e as conseqüências morfológicas para o néfron (Tabela 1).

DISCUSSÃO

Um marco histórico dos aminoglicosídeos se deu na década de 60 com a descoberta da gentamicina. Todos os aminoglicosídeos têm o potencial de produzir toxicidade renal reversível ou irreversível. Os eventos bioquímicos que levam à lesão das células e à disfunção glomerular ainda não estão bem elucidados, mas podem envolver perturbações nas estruturas das membranas celulares (5).

Estudos remotos realizados com a microscopia óptica e o uso de uma pequena variedade histoquímica de corantes para a morfologia apontavam para as alterações produzidas pelos aminoglicosídeos nas células do túbulo proximal, como pode ser visto nos estudos realizados por Bowman et al, (7); French et al, (8) que compararam a netilmicina com a gentamicina; amicacina e gentamicina em ratos, através de microscopia de luz, e verificaram a presença de corpos lisossomais, interrupção na membrana das células em borda de escova do túbulo proximal, edema celular e necrose do túbulo proximal.

Segundo Hanslik et al (9) a nefrotoxicidade da gentamicina nos túbulos contorcidos proximais se deve ao fato de que esses fármacos são internalizados pelos lisossomos, causando liberação de enzimas hidrolases, conseqüentemente causando necrose das células e obstrução do túbulo proximal.

Um avanço nos métodos de análise e elucidações mais precisas sobre o envolvimento das estruturas lisos-

Tabela 1 - Revisão sistemática de artigos científicos relacionados à nefrotoxicidade.

Autor/Ano	Título	Objetivo, Metodologia e Conclusões
Polat et al, 2006	<i>Protective role of aminoguanidine on getamicin-induced acute renal failure rats</i>	Objetivos: Investigar o efeito protetor da aminoguanidina contra os danos causados pela gentamicina. Metodologia: Tecidos foram fixados em formalina, incluídos em parafina, cortados e corados pela histoquímica com hematoxilina e eosina e ácido periódico de Schiff (PAS), analisados pela microscopia para observação das alterações histológicas. Conclusões: Verificaram-se alterações histológicas no néfron, severa necrose tubular, apoptose celular, interrupção da membrana basal, edema intracelular.

Autor/Ano	Título	Objetivo, Metodologia e Conclusões
Servais et al, 2005	<i>Gentamicin-induced apoptosis in LLC-PK1 cells: Involvement of lysosomes and mitochondria</i>	<p>Objetivos: Verificar os mecanismos da apoptose das células epiteliais do túbulo proximal LLC-PK1, envolvendo suas organelas como lisossomos e mitocôndrias.</p> <p>Metodologia: Células epiteliais LLC-PK1 dos túbulos proximais do rim. As células foram ressuspensas em PBS (phosphate Buffer Saline) e fixadas em 4% de paraformoldeído. Foram examinadas ao microscópio confocal com orange acridina.</p> <p>Conclusões: A gentamicina administrada influencia nas alterações intracelulares como ruptura das membranas lisossomais, libertação de enzimas hidrolases ácidas, diminuição no potencial das membranas mitocôndriais, liberação de citocromo C que activa a caspase-9 desencadeando os sinais da apoptose celular, alterando a filtração glomerular.</p>
Watanabe et al, 2004	<i>Targeted prevention of renal accumulation and toxicity of gentamicin by aminoglycoside binding receptor antagonists</i>	<p>Objetivos: Analisar o comportamento dos receptores das células do túbulo contorcido proximal frente ao uso de gentamicina.</p> <p>Metodologia: Ratos machos Wistar (210-270g) foram utilizados para a detecção de NAG (N-acetil-β-D-glucosaminidase) na urina foi usado o método de espectrofotometria e para a análise de expressão da megalina pelo Western blot.</p> <p>Conclusões: Os receptores da superfície de membrana das células do túbulo proximal do rim internalizaram os aminoglicosídeos, ocasionando o acúmulo e nefrotoxicidade por aminoglicosídeos.</p>
Yanagida et al, 2004	<i>Protective effect of fosfomicin on gentamicin-induced lipid peroxidation of rat renal tissue</i>	<p>Objetivos: Investigar os efeitos da fosfomicina na peroxidação de lipídios induzida pela gentamicina no tecido renal de ratos.</p> <p>Metodologia: Ratos machos Wistar. Peroxidação lipídica, peroxidação do ácido aracdônico e liberação de ferro dos microsossomos das mitocôndrias foram detectadas por espectrofotometria.</p> <p>Conclusões: A gentamicina causou formação de peróxido de hidrogênio pelas mitocôndrias, aumentando o estresse oxidativo e perturbação das membranas lisossomais.</p>
Takamoto et al, 2003	<i>Aminoglycoside antibiotics reduce glucose reabsorption in kidney through down-regulation of SGLT1</i>	<p>Objetivos: Análise às alterações na reabsorção de glicose pelas células epiteliais do túbulo proximal LLC-PK1 provocadas pelo uso de aminoglicosídeos.</p> <p>Metodologia: Células LLC-PK1 do epitélio dos túbulos proximais foram utilizadas para detecção do SGLT1 (Transportador de glicose dependente de sódio). As células foram cultivadas com solução salina, aminoglicosídeos e florizina.</p> <p>Conclusões: A neomicina, arbecacina, especialmente a gentamicina causa a nefrotoxicidade por ocasionar necrose das células do túbulo proximal do rim, inibição de transportadores de glicose dependente de sódio (SGLT1), aumentando a glicosúria.</p>

Autor/Ano	Título	Objetivo, Metodologia e Conclusões
Gurnani et al, 1995	<i>Molecular basis of the inhibition of gentamicin nephrotoxicity by daptomycin; an infrared spectroscopic investigation</i>	<p>Objetivos: Investigar o efeito inibidor da daptomicina sobre a nefrotoxicidade causada pela gentamicina através da espectroscopia.</p> <p>Metodologia: As dispersões lipídicas foram preparadas para avaliação por espectroscopia infra-vermelho.</p> <p>Conclusões: Os aminoglicosídeos acumularam-se nos lisossomos, causando inchaço e conseqüente rompimento e liberação de enzimas ácidas no citosol. Além disso, a nefrotoxicidade induzida pelo aminoglicosídeo gentamicina, prejudicou as membranas em borda de escova das células dos túbulos proximais.</p>
Hanslik et al, 1994	<i>Effect of the platelet activating factor antagonist BN52021 in rabbits: Role in gentamicin nephrotoxicity</i>	<p>Objetivos: Pesquisar os efeitos do antagonista do fator de activação plaquetária sobre a nefrotoxicidade induzida pela gentamicina.</p> <p>Metodologia: Coelhos machos foram usados no experimento. para o estudo histológico, usou-se fixador Dubosq-Brasil, inclusão em parafina, os tecidos foram corados pelo tricômio de Masson e hematoxilina, eosina e safran.</p> <p>Conclusões: A gentamicina causou decréscimo de 80% no fluxo do plasma renal e na filtração glomerular, aumento na excreção urinária de íons Na^+, K^+, Cl^-, Ca_2^+ e Mg_2^+. Além disso, houve degeneração tubular vacuolar, inflamação peritubular e necrose das células do túbulo proximal.</p>

somais observado no estudo de Gurnani et al (10) mostrou o acúmulo de gentamicina no interior dos lisossomos, inibindo a atividade das fosfolipases e esfingomielinases, causando a formação de corpos mielóides. O inchaço e explosão dos lisossomos resultam na liberação de enzimas lisossomais e aminoglicosídeos seguida de necrose das células do túbulo proximal, prejudicando as funções renais.

Frente aos danos nefrotóxicos causados principalmente pela gentamicina, pode-se notar o aumento da glicosúria (aumento na excreção urinária de glicose) relatada nos experimentos de Takamoto et al (11) que ao trabalhar com células epiteliais LLC-PK1 do epitélio do túbulo contorcido proximal verificaram uma baixa regulação no transportador de glicose dependente de sódio (SGLT1), tendo como conseqüência a diminuição na reabsorção de glicose e aumento da sua excreção.

Atualmente para a detecção de alterações morfológicas nos rins foram usadas técnicas com marcadores de injúrias renais tais como o NAG (N-acetil- β -D-glucosaminidase) no experimento de Watanabe et al (12) e α -GST (α -glutathione-S-transferase) usado nos experimentos de Hosaka et al (13), o α -GST é um marcador enzimático excretado pela urina que foi quantificado pelo método ELISA. A presença do marcador NAG excretado pela urina, indicou nos experimentos que houve danos nos túbulos contorcidos proximais induzidos pela gentamicina, analisado através de espectroscopia.

Além da gentamicina causar danos aos túbulos proximais, também causa peroxidação lipídica e estresse oxidativo pelo aumento na produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) pelas mitocôndrias do córtex renal (14).

No estudo experimental de Servais et al (15), a gentamicina causou apoptose e necrose tubular das células LLC-PK1, envolvendo organelas como lisossomos e mitocôndrias, interferência na síntese e tráfego de proteínas no Complexo Golgi.

Com o intuito de minimizar os efeitos tóxicos da gentamicina, Polat et al (16) investigaram o efeito protetor da aminoguanidina contra os danos provocados pela gentamicina como necrose do túbulo proximal, edema intracelular, redução da cápsula de Bowman, formação do ONOO⁻ que provoca a diminuição da filtração glomerular.

Na pesquisa de Allory et al, (17), O HNK-1 é um antígeno que se expressa em células renais não só durante a nefrogênese normal, mas esse epitopo foi consideravelmente aumentado em necrose tubular aguda e neoplasmas renais. Isso mostra que o HNK-1 tem a função de um marcador de injúrias renais que pode ser usado como um marcador imunistoquímico para identificação histopatológica renal, o que pode ser mais uma contribuição na elucidação dos mecanismos de nefrotoxicidade envolvida pelos aminoglicosídeos.

Através dessa revisão sistemática foi permitido analisar as principais estruturas histológicas renais envolvidas com

a nefrotoxicidade produzida pelos aminoglicosídeos são os túbulos contorcidos proximais, sendo essas células envolvidas principalmente pelo comprometimento dos lisossomos seja liberando enzimas hidrolases ou inibindo a atividade de enzimas fosfolipases ou esfingomielinases, o que resulta na formação de corpos mielóides com necrose tubular. Além disso, ocorre uma baixa regulação no transportador de glicose dependente de sódio, aumento da excreção de NAG, peroxidação lipídica e aumento na produção de peróxido de hidrogênio pelas mitocôndrias do córtex renal.

REFERÊNCIAS

- 1 - Souza LB, Pinto LP, Medeiros AMC, Araújo Jr RF, Mesquita OJX. Oral manifestations in HIV - infected patients in a Brazilian population. *Pesqui Odontol Bras* 2000;14:15-29.
- 2 - Kierszenbaum AL. Sistema urinário. In: Kierszenbaum AL, organizador. *Histologia e biologia celular: uma introdução à patologia*. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004. p.389-15.
- 3 - Bennett CC. The aminoglycosides. *Primary Care Update for OB/GYNS* 1996;6:186-91.
- 4 - Busse HJ, Wostmann C, Bakker EP. The bactericidal action of streptomycin: membrane permeabilization caused by the insertion of mistranslated proteins into the cytoplasmic membrane of *Escherichia coli* and subsequent caging of the antibiotic inside the cells due to degradation of these proteins. *J Gen Microbiol* 1992;138:551-61.
- 5 - Chambers, HF. Aminoglicosídeos. In: Brunton, Larence L, Lazo JS, Parker KL, organizadores. *Goodman E. Gilman. As bases farmacológicas de terapêutica*. 10 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill 2006;1039-54.
- 6 - Martínez-Salgado C, Henández-López FJ, Novoa-López JM. Glomerular nephrotoxicity of aminoglycosides. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007;223:86-98.
- 7 - Bowman RL, Silverblatt FJ, Kaloyanides GJ. Comparison of the nephrotoxicity of netilmicin and gentamicin in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 1977;12:474-8.
- 8 - French MA, Cerra FB, Plaut ME, Schentag JJ. Amikacin and nephrotoxicity in critically ill patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1981;19:147-52.
- 9 - Hanslik T, Blanchet F, Noohy D, Pirotzy E, Guilnard C, Seta N, et al. Effect of the platelet activatin factor antagonist BN52021 in rabbits: Role in gentamicin nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1994;128:111-5.
- 10 - Gurnani K, Khouri H, Couture M, Bergeron MG, Beauchamp D, Carrier D. Molecular basis of the inhibition of gentamicin nephrotoxicity by daptomycin; an infrared spectroscopic investigation. *Biochim Biophys Acta* 1995;1237:86-94.
- 11 - Takamoto K, Kawada M, Usui T, Ishizuka M, Ikeda D. Aminoglycosides antibiotics reduce glucose reabsorption in kidney through down-regulation of SGLT1. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;308:866-71.
- 12 - Watanabe A, Nagai J, Adachi Y, Katsube T, Kitahara Y, Murakami T, et al. Targeted prevention of renal accumulation and toxicity of gentamicin by aminoglycoside binding receptor antagonists. *J Control Release* 2004;95:423-33.
- 13 - Hosaka EM, Santos OFP, Seguro AC, Vattimo MFF. Effect of cyclooxygenase inhibitors on gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Braz J Med Biol Res* 2004;37:979-85.
- 14 - Yanagida C, Ito K, Komiya I, Horie T. Protective effect of fosfomycin on gentamicin-induced lipid peroxidation of rat renal tissue. *Chem Biol Interact* 2004;148:139-47.
- 15 - Servais H, Smissen PVD, Thirion G, Essen GVD, Bambeke FV, Tulkens PM, Mingeot-Leclercq M-P. Gentamicin-induced apoptosis in LLC-PK1 cells: Involvement of lysosomes and mitochondria. *Toxicol Appl Pharmacol* 2005;206:321-33.
- 16 - Polat A, Palakpinar H, Tasdemir S, Colak C, Vardi N, Ucar M, Emre MH, Acet A. Protective role of aminoguanidine on gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Acta Histochem* 2006;108:365-71.
- 17 - Allory Y, Commo F, Boccon-Gibod L, Sibony M, Callard P, Ronco P, et al. Sulfated HNK1 epitope in developing and mature kidney: a new marker for thin ascending loop of Henle and tubular injury in acute tubular necrosis. *J Histochem Cytochem* 2006;54:575-84.

Correspondência:

Prof. Dr. Raimundo de Araújo Júnior
 Departamento de Morfologia
 Centro de Biociências
 Universidade Federal do Rio Grande do Norte
 Av. Senador Salgado Filho, S/N
 Campus Universitário
 Lagoa Nova
 59072-970 Natal, RN, Brasil

e-mail: araujojr@cb.ufrn.br