



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS
DOUTORADO ACADÊMICO DE CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS**

ANGÉLICA MARIA LUNA COSTA

**EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO/ATIVAÇÃO DA GUANILATO CICLASE SOLÚVEL
NA HEMODINÂMICA SISTÊMICA E FUNÇÃO RENAL DE RATOS**

FORTALEZA – CEARÁ

2019

ANGÉLICA MARIA LUNA COSTA

EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO/ATIVAÇÃO DA GUANILATO CICLASE SOLÚVEL NA
HEMODINÂMICA SISTÊMICA E FUNÇÃO RENAL DE RATOS

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Ciências Fisiológicas. Área de Concentração: Fisiologia Renal.

Orientador: Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão Do Nascimento

FORTALEZA – CEARÁ

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

Universidade Estadual do Ceará

Sistema de Bibliotecas

Costa, Angélica Maria Luna .

Efeitos da estimulação/ativação da guanilato ciclase solúvel na hemodinâmica sistêmica e função renal de ratos [recurso eletrônico] / Angélica Maria Luna Costa. - 2019.

1 CD-ROM: il.; 4 ¼ pol.

CD-ROM contendo o arquivo no formato PDF do trabalho acadêmico com 115 folhas, acondicionado em caixa de DVD Slim (19 x 14 cm x 7 mm).

Tese (doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Instituto Superior de Ciências Biomédicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Fortaleza, 2019.

Área de concentração: Fisiologia Renal. .

Orientação: Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão Do Nascimento.

1. Guanilato ciclase solúvel. 2. Óxido nítrico. 3. Função renal. 4. Natriurese pressórica. I. Título.

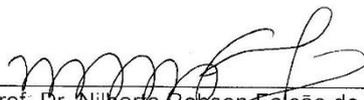
ANGÉLICA MARIA LUNA COSTA

EFEITOS DA ESTIMULAÇÃO/ATIVAÇÃO DA GUANILATO CICLASE SOLÚVEL NA
HEMODINÂMICA SISTÊMICA E FUNÇÃO RENAL DE RATOS.

Tese apresentada ao Curso de Doutorado em Ciências Fisiológicas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Estadual do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de doutor em Ciências Fisiológicas. Área de Concentração: Fisiologia Renal.

Aprovada em: 27 de fevereiro de 2019

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Nilberto Robson Falcão do Nascimento
Orientador – UECE



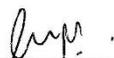
Prof.ª Dr.ª Cláudia Ferreira Santos – UECE



Prof.ª Dr.ª Lucília Maria Abreu Lessa Leite Lima – UECE



Prof. Dr. Rafael de Moraes Campos – FAVET



Prof. Dr. Luiz Gonzaga de França Lopes – UFC

Dedico esse trabalho à minha família.

Em especial:

Aos meus Pais, Fátima e Costa.

Ao meu Marido, Márcio (Beibe).

À minha Princesa, Maria Flor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, princípio e fim.

Aos meus Pais que desde cedo me incentivavam nos estudos, com muito sacrifício, para que tivesse sempre o melhor, e que durante esse doutorado me acolheram de volta em casa, cuidando da Maria Flor, para tornar possível a realização desse trabalho.

Ao meu marido que mesmo à distância, e privado da minha companhia e de nossa filha, Maria Flor, se fez presente me apoiando durante todo esse percurso.

À minha filha, Maria Flor, que teve que se distanciar de seu Pai, de seu cantinho e de seus amigos para me acompanhar.

A todo o restante da família, irmãos queridos, sobrinhos amados, sogros, cunhados, que me deram suporte.

Ao Professor Nilberto Robson Falcão do Nascimento por me receber em seu laboratório e me orientar nesse trabalho.

Ao Nil, colega de faculdade e amigo para uma vida toda, pelo apoio de sempre.

À Profa. Cláudia Ferreira Santos, que vai além da mestra que orienta, mas também aconselha, apazigua e conforta nos momentos em que tudo parece mais difícil.

À Prof.a Lucília por disponibilizar sua equipe para realização dos experimentos de microperfusão renal.

A Renata Santiago e Ariana Gomes (Grande), pela companhia e amizade na lida diária, e pela sua imensa presteza que junto com Ariana Gomes (Grande), colaborou imensamente com os experimentos de hemodinâmica sistêmica.

À equipe da Biomol do LAFCAR pelas análises bioquímicas: Pablo Uchoa, Camila Aquino, Adriele, sob o comando da Prof.a Cláudia.

À Mirna Bernardo e Renan Góes pela microperfusão renal.

À Alana Godinho por dividir a dor e a delícia de uma pós-graduação em agradáveis momentos de café e brownie.

Aos que extrapolaram a linha do coleguismo e se tornaram amigos: Gustavo Farias, Júlia Fonseca, Iury Paz.

À Isabel Mendonça pelas manipulações relaxantes e kinesio tape.

A todos os colegas do Laboratórios de Fisiofarmacologia Cardiorrenal (LAFCAR) e Laboratório de Fisiologia Renal (LAFIR) que contribuíram direta ou indiretamente para realização desse trabalho.

À Coordenação e aos professores do Programa de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas da UECE.

À FUNCAP – Fundação Cearense de Apoio ao desenvolvimento Científico e Tecnológico pelo apoio financeiro dessa pesquisa.

Andar com fé eu vou, que a fé não
costuma falhar.

(Gilberto Gil)

RESUMO

Estudos mostram que mediadores que aumentam o monofosfato de guanosina cíclico (GMPc) por ativação da enzima guanilato ciclase, apresentam múltiplos e diferentes efeitos na função renal. Por outro lado, o ligante endógeno da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs), óxido nítrico, além de ser um importante regulador da pressão arterial, também regula a função renal e, a deficiência na síntese ou ação do NO tem sido associado a progressão da doença renal crônica tanto em modelos animais como em pacientes humanos. A proposta de ativar a principal via contra regulatória dos sistemas constritores e retentores de sódio e água fisiológicos (simpático e sistema renina-angiotensina-aldosterona-SRAA, p.ex.), desperta a possibilidade de atuação também na função renal (assim como os peptídeos natriuréticos), tendo em vista a importância dos mecanismos renais associados ao controle pressórico do organismo. Na hipertensão acontece regulação decrescente da via NO-GC por conta da oxidação do sítio heme da GC e desacoplamento da NOSe. Portanto, os animais SHR serviram como modelo de como a perda deste sistema impacta na resposta a estes estímulos contra regulatórios. Este projeto de pesquisa tem como objetivo caracterizar o efeito da ativação da enzima guanilato ciclase solúvel (GCs) utilizando um ativador de GCs independente de NO (ATIVADOR DE GCs), um doador de óxido nítrico (nitroprussiato de sódio - SNP), um inibidor de fosfodiesterase 5 (PDE5), e ainda comparar ao efeito do ATIVADOR DE GCS ao de um novo composto metálico, o complexo *trans*-[Ru(NH₃)₄(4-benzoilpiridina)NO](BF₄)₃ (FOR0C9), com potencial de estimulação/ativação da GCs, em músculo liso vascular e corpos cavernosos de coelhos, na função renal e na hemodinâmica sistêmica de ratos normotensos e espontaneamente hipertensos (SHR). Demonstramos nas preparações, de corpos cavernosos de coelhos, que o composto ATIVADOR DE GCs tem potência e eficácia similar aos compostos ativadores de guanilato ciclase clássicos como a Tadalafila. As contrações de artéria pulmonar e corpos cavernosos não estavam significativamente alteradas pós-exposição a concentrações relativamente altas de FOR ou ATIVADOR DE GCs, o que demonstra baixa toxicidade em células do músculo liso vascular. O composto ATIVADOR DE GCs relaxou com maior eficácia e potência, a artéria pulmonar de coelhos, quando comparado ao FOR0C9. A eficácia baixa de FOR0C9 aponta para geração de nitroxil com fraca ação relaxante e a potente ação relaxante do ATIVADOR DE GCs na artéria pulmonar aponta para a possibilidade de estudo de

eficácia deste composto em modelos de hipertensão pulmonar. O ativador de GCs mostrou efeito hipotensor duradouro e não produziu taquicardia reflexa, este composto diminui a tau, tempo de relaxamento diastólico e contratilidade cardíaca. O composto FOR0C9 apresentou efeitos hemodinâmicos renais como aumento específico do fluxo sanguíneo renal nos animais hipertensos e diminuição da resistência vascular renal. Concluimos assim que o FOR0C9 tem baixa eficácia *in vitro* como agente eretogênico ou vasodilatador e confirmadas *in vivo* com ações muito discretas no sistema cardiovascular ou renal. O ATIVADOR DE GCs apresenta um perfil farmacológico promissor para indicações onde a guanilato ciclase solúvel é central.

Palavras-chave: Guanilato ciclase solúvel. Óxido nítrico. Função renal. Natriurese pressórica.

ABSTRACT

Studies have shown that mediators that increase cGMP by activation of the guanylate cyclase enzyme (sGC) have multiple and different effects on renal function. On the other hand, the endogenous ligand of sGC, nitric oxide, besides being an important regulator of blood pressure, also regulates renal function and, the NO failure synthesis or action has been associated with progression of chronic kidney disease in both animal and human patients. The proposal to activate the main counter-regulation pathway of physiological sodium and water receptors and systems (sympathetic and RAAS-system), awakens the odds of acting in renal function, seeing the importance of the renal mechanisms associated to the pressure control of the organism. In hypertension, decreasing regulation of the NO-GC pathway occurs. Therefore, the SHR animals served as a model of how the loss of this system affects the response to these counter-regulatory stimuli. This research project aims to characterize the effect of the activation of the soluble guanylate cyclase enzyme (sGC). Using ATIVADOR DE GCs, SNP, Tadalafil and a new compound FOR0C9, in vascular and rabbit cavernous bodies smooth muscle, renal hemodynamics and induced pressure natriuresis and systemic hemodynamics of normotensive and SHR. We have shown in the rabbit cavernous body preparations, that compound ATIVADOR DE GCs has potency and efficacy similar to classic guanylate cyclase activator compounds such as Tadalafil. Pulmonary artery contractions and cavernous bodies were not significantly altered post-exposure to relatively high concentrations of FOR or ATIVADOR DE GCS. The compound ATIVADOR DE GCs more effectively and potently relaxed the rabbit pulmonary artery when compared to FOR0C9. ATIVADOR DE GCs showed a long-lasting hypotensive effect and did not produce reflex tachycardia; this compound decreases tau, diastolic relaxation time and cardiac contractility. The compound FOR0C9 presented renal hemodynamic effects as a specific increase of renal blood flow in hypertensive animals and a decrease in renal vascular resistance. We conclude that FOR0C9 has low in vitro efficacy as an erectogenic or vasodilatory agent and confirmed in vivo with discrete actions in the cardiovascular or renal system. ATIVADOR DE GCs presents a promising pharmacological profile for indications where soluble guanylate cyclase is central.

Keyword: Soluble guanylate cyclase enzyme. Nitric oxide. Renal function. Pressure natriuresis.