

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE**

Bárbara Bruna Abreu de Castro

**EFEITO DO FENOFIBRATO, UM AGONISTA DO PPAR α , NA LESÃO RENAL
INDUZIDA PELA OBESIDADE APÓS UNINEFRECTOMIA**

Juiz de Fora

2020

Bárbara Bruna Abreu de Castro

**EFEITO DO FENOFIBRATO, UM AGONISTA DO PPAR α , NA LESÃO RENAL
INDUZIDA PELA OBESIDADE APÓS UNINEFRECTOMIA**

Tese apresentada à banca de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora. Área de concentração: Saúde Brasileira.

Orientadora: Profa. Dra. Hélydy Sanders Pinheiro

**Juiz de Fora
2020**

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Castro, Bárbara Bruna Abreu de .

Efeito do fenofibrato, um agonista do PPAR α , na lesão renal induzida pela obesidade após uninefrectomia / Bárbara Bruna Abreu de Castro. -- 2020.

117 p. : il.

Orientador: Hélady Sanders-Pinheiro

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Saúde Brasileira, 2020.

1. Doadores vivos. 2. Obesidade. 3. Lipotoxicidade renal. 4. Fenofibrato. 5. Modelos animais. I. Sanders-Pinheiro, Hélady , orient. II. Título.

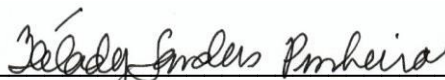
Bárbara Bruna Abreu de Castro

**EFEITO DO FENOFIBRATO, UM AGONISTA DO PPAR α , NA LESÃO RENAL
INDUZIDA PELA OBESIDADE APÓS UNINEFRECTOMIA**

Tese apresentada à banca de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Saúde da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte das exigências para obtenção do título de Doutora. Área de concentração: Saúde Brasileira.

Aprovada em 30 de Julho de 2020

BANCA EXAMINADORA



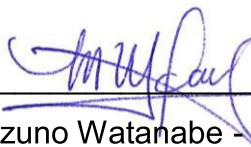
Dra. Héлады Sanders Pinheiro – Orientadora - Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. Raphael Jose Ferreira Felizardo - Universidade Federal de Juiz de Fora



Dr. Paulo Giovani de Albuquerque Suassuna - Universidade Federal de Juiz de Fora



Dra. Ingrid Kazue Mizuno Watanabe - Universidade de São Paulo



Dr. Geraldo Bezerra Junior - Universidade de Fortaleza

Dedico esse trabalho às minhas avós Maria Izolina (Vó Zulica), Maria Raimunda (Vó Letinha) e Ernestina (Vónestina), três mulheres distintas que lutaram, enfrentaram desafios diferentes e se uniram na missão de me ensinar a ser quem eu sou. Saudades.

AGRADECIMENTOS

À minha família que amo demais, obrigada! Meus pais Luiz e Rosane, minhas irmãs Lorena e Sophia (e irmão Boris), meus bebês felinos (Theo e Jolie), minha eterna gratidão pelo afeto, incentivo e cuidado sempre. É um privilégio fazer parte dessa família!

Agradeço imensamente à Dra. Hélydy Sandders Pinheiro, minha orientadora querida, minha grande amiga e irmã, para todos os momentos tristes e felizes, obrigada por tudo!

Aos colegas do Centro de Biologia da Reprodução (CBR), Dra. Vera, Dra. Martha e Dr. Cláudio, muito obrigada pela disponibilidade e apoio! Aos meus amigos dessa jornada chamada Laboratório de Nefrologia Experimental (LABNEX), Wander e Paulo, agradeço de coração todo o esforço e ajuda! Kaique, Lucas, Petrus e Bianca, meus peixinhos, obrigada pela força nos experimentos, vocês são muito especiais!

Aos colegas da USP e UNIFESP... minha admiração e gratidão ao Dr. Niels Olsen Saraiva Câmara e sua equipe (Amanda, Rafael, Ingrid, Neto, Magaiver, Danilo), pelo acolhimento e orientação. Em especial, agradeço imensamente a recepção calorosa e amigável do Dr. Marco Antônio Cenedeze, carinhosamente Marquinho, sem você esse trabalho não seria o mesmo!

Aos meus amigos e minha querida Carol, obrigada pelo companheirismo de sempre. Marcella e Lucas, Ernani e Leandro, André, Bruno, Victor e tantos outros companheiros que fizeram desses 4 anos dias menos difíceis. Foi um prazer conviver com vocês! Agradeço à minha família do Patrus (Raissa, Wanessa, Antuérpia, Lídia e Fábio) vocês são meus exemplos de dedicação e respeito!

“A eternidade é uma forma de descrever o amor materno”

(Karnal, L., 2018)

RESUMO

A relação entre obesidade e função renal apresenta particularidades complexas, principalmente quando envolve pacientes com redução de massa renal, como é o caso dos doadores de rim. A lipotoxicidade renal tem sido amplamente investigada e um dos mecanismos envolvidos é a ativação do receptor ativado por proliferador de peroxissomos α (PPAR α). O fenofibrato (FFTO) é um agonista do PPAR α e é capaz de ativar vias de oxidação dos ácidos graxos, aumentando a expressão de genes lipolíticos. O objetivo do presente estudo foi investigar os mecanismos de lesão renal associados à obesidade após a perda de massa renal por uninefrectomia, em um modelo experimental de doador vivo que se torna obeso, tratado com FFTO. Foram utilizados camundongos C57BL/6, machos, com 8 semanas de idade, pesando de 25g a 30g submetidos às cirurgias de uninefrectomia ou simulada. A obesidade foi induzida por dieta hiperlipídica (60% de Kcal obtidas por gordura). O FFTO foi adicionado à dieta controle e à dieta hiperlipídica (0,02%, aproximadamente 20mg/kg/dia) e oferecida aos animais após 10 semanas de experimento. Os parâmetros avaliados após 10 semanas de tratamento foram: consumo, ganho energético, peso total, ganho de peso, conteúdo de gorduras, peso renal e índice de Lee. A função renal foi avaliada pelas proteinúria de 24h, creatinina sérica e depuração da creatinina. Área glomerular, expansão mesangial e percentual fibrose foram avaliadas. As adipocitocinas adiponectina, resistina e o fator de crescimento PAI-1 foram mensurados por ensaio Bioplex. O conteúdo de lipídeos no rim e no sangue. As citocinas IL-6, IL-1 β , MCP-1, IFN- γ e FGF-21 foram quantificadas por PCR em tempo real. Os dados foram expressos como média e desvio padrão e os grupos foram comparados pelo teste t de Student. O tratamento com fenofibrato preveniu a disfunção renal nos animais uninefrectomizados e obesos (Doador OB FFTO) avaliada pela proteinúria ($3,77 \pm 1,69$ vs. $5,78 \pm 3,64$ mg/dL do Doador OB, $p < 0,05$) e impediu a expansão mesangial (14% vs. 46% do Doador OB, $p < 0,05$). O tratamento também reduziu o acúmulo de triglicerídeos nos rins ($5,01 \pm 1,42$ vs. $7,94 \pm 3,31$ mg/g de tecido no Doador OB, $p < 0,05$), tendeu a reduziu os triglicerídeos séricos ($79,4 \pm 21,2$ vs. $113,9 \pm 51,4$ mg/dL no Doador OB, $p = 0,07$) e reduziu o colesterol sérico ($229,7 \pm 17,1$ vs. $194,5 \pm 35,1$ mg/dL no Doador OB, $p < 0,05$). A progressão inicial da fibrose renal (0,004% vs. 0,001% no Doador OB) e a expressão de PAI-1 ($0,012 \pm 0,003$

vs. $0,017 \pm 0,003$ pg/ μ L de proteína no Doador OB, $p < 0,05$) foram atenuadas. O tratamento também reduziu a inflamação diminuindo a expressão de IL-6 ($0,51 \pm 0,34$ vs. $2,62 \pm 1,88$ no Doador OB, $p < 0,05$), IL-1 β ($0,65 \pm 0,17$ vs. $4,59 \pm 2,90$ no Doador OB, $p < 0,05$), MCP-1 ($0,99 \pm 0,23$ vs. $3,41 \pm 1,36$ do Doador OB, $p < 0,05$), IFN- γ ($1,77 \pm 0,37$ vs. $2,99 \pm 0,54$ do Doador OB, $p < 0,05$) e FGF-21 ($0,40 \pm 0,38$ vs. $10,67 \pm 10,44$ do Doador OB, $p < 0,05$). A redução da hiperlipidemia consequentemente reduziu a lesão renal causada pelo excesso de triglicérides no rim, diminuindo a excreção de proteínas, a inflamação e a fibrose intersticial. O presente estudo foi o primeiro a avaliar a ação do FFTO sobre as alterações do metabolismo lipídico causadas pela obesidade em um modelo de uninefrectomia.

Palavras-chave: doadores vivos. obesidade. doença renal crônica. fenofibrato. PPAR alfa.

ABSTRACT

The relationship between obesity and renal function has complex peculiarities, especially when involves patients with reduced renal mass, as is the case of kidney donors. Renal lipotoxicity has been extensively investigated and one of the mechanisms involved is the activation of the receptor activated by α peroxisome proliferator (PPAR α). Fenofibrate (FFTO) is a PPAR α agonist and is capable of activating fatty acid oxidation pathways, increasing the expression of lipolytic genes. The aim of the present study was to investigate the injury mechanisms of obesity after loss of renal mass by uninephrectomy, in an experimental model of a living donor who becomes obese, treated with FFTO. Male C57BL/6 mice, 8 weeks old, weighing from 25g to 30g, submitted to uninephrectomy or Sham surgeries were used. Obesity was induced by a high-fat diet (60% Kcal obtained from fat). The FFTO was added to the control diet and to the high fat diet (0.02%, approximately 20mg/kg/day) and offered to the animals after 10 weeks of experiment. The parameters evaluated after 10 weeks of treatment were: consumption, energy gain, total weight, weight gain, fat content, renal weight and Lee's index. Renal function was assessed by 24-hour proteinuria, serum creatinine and creatinine clearance. Glomerular area, mesangial expansion area and fibrosis percentage were evaluated. Adipocytokines adiponectin, resistin and growth factor PAI-1 were measured by Bioplex assay. The lipid content in the kidney and blood. The cytokines IL-6, IL-1 β , MCP-1, IFN- γ and FGF-21 were quantified by real-time PCR. The data were expressed as mean and standard deviation and the groups were compared using the Student's t test. Treatment with fenofibrate prevented renal dysfunction in uninephrectomized and obese animals (Donor OB FFTO) assessed by proteinuria (3.77 ± 1.69 vs. 5.78 ± 3.64 mg/dL of Donor OB, $p < 0, 05$) and prevented the mesangial expansion of the evaluated glomeruli (14% vs. 46% of OB Donor). The treatment also reduced the accumulation of triglycerides in the kidneys (5.01 ± 1.42 vs. 7.94 ± 3.31 mg/g tissue of Donor OB, $p < 0.05$) and partially reduced serum triglycerides (79.4 ± 21.2 vs. 113.9 ± 51.4 mg/dL of Donor OB, $p = 0.07$) and cholesterol (229.7 ± 17.1 vs. 194.5 ± 35.1 mg/dL of Donor OB, $p < 0.05$). The initial progression of renal fibrosis (0.004% vs. 0.001% of OB Donor) and PAI-1 expression (0.012 ± 0.003 vs. 0.017 ± 0.003 pg/ μ L protein of Donor OB, $p < 0.05$) were attenuated. The treatment also reduced inflammation by decreasing the expression of IL-6 (0.51 ± 0.34 vs. 2.62 ± 1.88

of OB Donor, $p < 0.05$), IL-1 β (0.65+0.17 vs. 4.59+2.90 of Donor OB, $p < 0.05$), MCP-1 (0.99+0.23 vs. 3.41+1.36 of Donor OB, $p < 0.05$), IFN- γ (1.77+0.37 vs. 2.99+0.54 of OB Donor, $p < 0.05$) and FGF-21 (0.40+0.38 vs. 10.67+10.44 of OB Donor, $p < 0.05$). The reduction of hyperlipidemia consequently reduced the renal injury caused by the excess of triglycerides in the kidney, reducing the excretion of proteins and preventing the inflammatory condition from progressing to fibrosis. The present study was the first to evaluate the action of the FFTO on the changes in lipid metabolism caused by obesity in a uninephrectomy model.

Key words: living donors. obesity. chronic kidney disease. fenofibrate. PPAR alpha.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Mecanismo de lesão causada por hiperfiltração glomerular	26
Figura 2 – Lesão causada pela diminuição da adiponectina	27
Figura 3 – Mecanismos de lesão renal relacionada a obesidade	28
Figura 4 – Mecanismo de ativação do PPAR pelo fenofibrato	34
Figura 5 – Delineamento experimental	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quadro comparativo da composição nutricional em % das dietas normocalórica e hipocalórica	42
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AdipoR	Receptor da adiponectina
AGL	Ácidos graxos livres
AICAR	5-aminoimidazole-4-carboxamida-1-beta-4-ribofuranósido
AMPK	Proteína quinase ativada por AMP
AP-1	Proteína ativadora 1
cDNA	DNA complementar
DC	Doenças cardiovasculares
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRC	Doença Renal Crônica
EROs	Espécies reativas de oxigênio
FGF-21	Fator de crescimento de fibroblastos-21
FXR	Farnesoid X
GRO	Glomerulopatia relacionada à obesidade
IFN-γ	Interferon- γ
IL-1β	Interleucina-1 β
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corporal
LHS	Lipase hormônio sensível
MCP-1	Proteína quimiotratante monocitária-1
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NKF	National Kidney Foundation
OMS	Organização mundial da saúde
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio-1
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PPAR	Receptor ativado por proliferador de peroxissomos
qRT-PCR	PCR quantitativo em tempo real
RBT	Registro Brasileiro de Transplantes
rFGF21	Receptor do FGF-21
RXR	Retinoid X
SR-A	Scavenger A
SREBPs	Proteínas de ligação do elemento regulador do esterol

TFG	Taxa de filtração glomerular
TGF-β	Fator de crescimento transformador- β
TNF-α	Fator de necrose tumoral- α
TRS	Terapia renal substitutiva

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	FUNÇÃO RENAL DOS DOADORES DE RIM.....	20
2.2	DOAÇÃO RENAL E OBESIDADE.....	22
2.3	OBESIDADE E LESÃO RENAL.....	24
2.4	LIPOTOXICIDADE RENAL EM MODELOS ANIMAIS.....	29
2.5	MODELOS ANIMAIS DE UNINEFRECTOMIA E OBESIDADE.....	31
2.6	EFEITO RENOPROTETOR DO FENOFIBRATO.....	33
2.7	AÇÃO DO FGF-21.....	36
3	JUSTIFICATIVA	39
4	HIPÓTESE DO ESTUDO	39
5	OBJETIVOS	39
5.1	OBJETIVO GERAL.....	39
5.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	40
6	MATERIAL E MÉTODOS	40
6.1	ANIMAIS.....	40
6.2	UNINEFRECTOMIA.....	40
6.3	INDUÇÃO DA OBESIDADE.....	41
6.4	TRATAMENTO COM FENOFIBRATO.....	42
6.5	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	42
6.6	PROCEDIMENTOS DE EUTANÁSIA.....	44
6.7	PARÂMETROS AVALIADOS.....	44
6.7.1	CONSUMO E GANHO ENERGÉTICO.....	44
6.7.2	GRAU DE OBESIDADE.....	45
6.7.3	FUNÇÃO RENAL.....	45
6.7.4	LIPIDEMIA.....	46
6.7.5	PRESENÇA DE LIPÍDIOS NOS RINS.....	46
6.7.6	MORFOLOGIA RENAL.....	46
6.7.6.1	Glomerulopatia.....	47
6.7.6.2	Fibrose intersticial.....	47
6.7.7	CITOCINAS, HORMÔNIOS E PROTEÍNAS NO TECIDO RENAL.....	48

6.7.7.1	Adipocitocinas.....	48
6.7.7.2	Mediadores inflamatórios	48
6.8	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	49
7	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	49
7.1	PRIMEIRO ARTIGO DE REVISÃO.....	50
7.2	SEGUNDO ARTIGO DE REVISÃO.....	50
7.3	ARTIGO ORIGINAL.....	75
8	CONCLUSÃO.....	102
	REFERÊNCIAS.....	103
	ANEXO A – Certificado da comissão de ética no uso de animais.....	114
	ANEXO B – Artigo publicado em HU Revista.....	116
	ANEXO C – Resumos apresentados em eventos.....	117

1 INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) afeta cerca de 10% da população em todo o mundo e sua prevalência aumenta a cada ano (CAMARA, ISEKI *et al.*, 2017). O transplante renal é considerado a melhor alternativa para pacientes em categoria 5 da DRC, sobretudo por melhorar a qualidade de vida e prolongar a sobrevida dos receptores comparados aos pacientes em diálise (MATAS, PAYNE *et al.*, 2001; KERKENI, REBAL *et al.*, 2015). A maioria dos transplantes renais são realizados com enxertos provenientes de doadores falecidos, no entanto os melhores resultados de sobrevida são alcançados com enxertos de doadores vivos (TARANTINO, 2000; OPELZ, DOHLER *et al.*, 2013).

Segundo o levantamento do Registro Brasileiro de Transplantes (RBT) a prevalência de transplantes realizados com doadores vivos foi de 23% ao longo dos últimos 10 anos. Só no ano de 2019, 1.075 pessoas foram submetidas à uninefrectomia para doação, que corresponde à 17% do total de transplantes realizados neste ano (ABTO, 2020). Mesmo em países desenvolvidos, com aumento da lista de espera para transplante de rim, consequência do aumento crescente do número de pacientes com DRC em todo mundo, cerca de um terço dos procedimentos são realizados com doadores vivos. Uma das potenciais explicações é que no caso da disponibilidade de doador vivo o tempo de espera na fila do transplante é reduzido (OMMEN, WINSTON *et al.*, 2006; IBRAHIM, FOLEY *et al.*, 2009).

Ao longo dos anos, estudos nessa área, buscando equilibrar os riscos do doador e os benefícios para o receptor, demonstraram segurança no procedimento de doação renal e avanços nas técnicas cirúrgicas (MATAS, BARTLETT *et al.*, 2003; IZQUIERDO, PERI *et al.*, 2010; SEGEV, MUZAALE *et al.*, 2010). Estudos em curto e longo prazo demonstraram que a doação de rim apresenta baixa morbidade e mortalidade (DAVIS E DELMONICO, 2005; LENTINE E PATEL, 2012), ainda assim, a avaliação dos doadores em longo prazo é restrita, o que justifica as preocupações da comunidade médica sobre os riscos envolvidos na nefrectomia unilateral e suas consequências (DAVIS E DELMONICO, 2005; EL-AGROUDY, SABRY *et al.*, 2007).

Após a uninefrectomia, devido à redução da massa renal, os doadores apresentam função renal 35-40% inferior àquela anterior à doação (BARRI, PARKER *et al.*, 2010; TAN, BUSQUE *et al.*, 2010). Por meio de mecanismos compensatórios no rim remanescente, a taxa de filtração glomerular (TFG) se mantém em torno de 70

a 80 ml/min (OH, JEON *et al.*, 2005; LENTINE E PATEL, 2012). Entretanto este mecanismo compensatório é potencialmente lesivo, uma vez que perda de massa renal e redução do número de néfrons conseqüentemente pode levar à hipertrofia glomerular compensatória e a hipertensão intraglomerular decorrente é determinante para esclerose glomerular e diminuição progressiva da TFG (HOY, HUGHSON *et al.*, 2005). Doadores de rim apresentaram um risco aumentado de DRC e falência funcional em um estudo realizado recentemente, comparando à uma coorte combinada de pacientes saudáveis, no entanto, a magnitude do aumento do risco absoluto foi pequena (MUZAALE, MASSIE *et al.*, 2014).

O efeito compensatório está relacionado com a reserva funcional do rim, e é menos eficiente à medida que a idade dos doadores aumenta (TAN, BUSQUE *et al.*, 2010) e principalmente, para aqueles que apresentam comorbidades como a obesidade no momento da doação ou que se tornam obesos após a nefrectomia (NAJARIAN, CHAVERS *et al.*, 1992; EL-AGROUDY, SABRY *et al.*, 2007). Sabe-se ainda, que a redução do tecido renal acompanhada de pequenas alterações na função, como presença de proteinúria e fibrose intersticial, podem estar associadas à maiores riscos de doenças cardiovasculares (DC) (AL-ALY, ZERINGUE *et al.*, 2010). Deste modo, esses pacientes devem receber acompanhamento médico durante toda a vida, para que desfechos como DC, DRC e óbito possam ser prevenidos (FEHRMAN-EKHOLM, DUNER *et al.*, 2001; EL-AGROUDY, SABRY *et al.*, 2007; BELLO, BELLO *et al.*, 2015).

Paralelo ao aumento da incidência da DRC em todo mundo cresce a prevalência da obesidade na população geral (KANASAKI, KITADA *et al.*, 2013; FELIZARDO, DA SILVA *et al.*, 2014; CAMARA, ISEKI *et al.*, 2017). A Organização Mundial de Saúde (OMS) indica que mais de 1,9 bilhões de adultos acima dos 18 anos estão com sobrepeso (39%) e destes 650 milhões eram incluídos na categoria de obesidade (13%) (WHO, 2018). A obesidade está associada ao aumento de mortalidade e ao estado de inflamação crônica e tem sido um dos problemas mundiais de saúde mais discutidos atualmente, em países desenvolvidos e em países em desenvolvimento (RYAN E RAVUSSIN, 2015). No Brasil, o Ministério da Saúde alertou, segundo o inquérito VIGITEL, que 55,4% dos brasileiros estão acima do peso (VIGITEL, 2020).

A obesidade, atualmente considerada como um fator de risco independente para a DRC (FOX, LARSON *et al.*, 2004; HSU, MCCULLOCH *et al.*, 2006; VIVANTE,

GOLAN *et al.*, 2012), ainda não foi amplamente explorada na população de doadores de rim em vida (CLAYTON, SAUNDERS *et al.*, 2016; FIRAT KAYA, SAYIN *et al.*, 2017). Outros achados sugerem que o indivíduo obeso seja mais suscetível ao desenvolvimento de DRC causada diretamente pelo excesso de peso ou pelas consequências das complicações causadas pela obesidade (DE JONG, VERHAVE *et al.*, 2002; HALL, HENEGAR *et al.*, 2004). Há entretanto estudos que mostraram correlação entre o excesso de peso e a indução da glomerulosclerose e insuficiência renal (DANILEWICZ E WAGROWSKA-DANIELWICZ, 2009; KANASAKI, KITADA *et al.*, 2013; AKWO, CAVANAUGH *et al.*, 2015).

A necessidade cada vez mais elevada de órgãos na população renal crônica vem reorganizando os critérios médicos utilizados na avaliação de potenciais doadores renais, candidatos que apresentem sobrepeso ou obesidade devem ser encorajados a perder peso antes da doação (DELMONICO, 2005; DELMONICO E DEW, 2007). Alguns estudos avaliaram os efeitos da doação renal em indivíduos acima do peso, porém, há escassez de dados sobre aqueles que evoluíram com obesidade após a nefrectomia (NOGUEIRA, WEIR *et al.*, 2010; O'BRIEN, MASTORIDIS *et al.*, 2012).

Seguindo à tendência mundial, cerca de 50% dos doadores se tornam obesos após a doação (EL-AGROUDY, SABRY *et al.*, 2007; FIRAT KAYA, SAYIN *et al.*, 2017). Entretanto estes dados são baseados em amostras pequenas que incluem doadores de todas as idades, sendo assim, pouco representativo do grupo de maior potencial de risco: jovens doadores que se tornam obesos. Outra limitação é que o acompanhamento dos doadores vivos em longo prazo se baseia nas avaliações retrospectivas de prontuários e dados oferecidos pelos próprios pacientes, além das limitações metodológicas que incluem variações dos parâmetros avaliados e elevado número de perda de seguimento (IBRAHIM, FOLEY *et al.*, 2009).

Os mecanismos pelos quais a obesidade leva à perda de função renal ainda não são totalmente compreendidos, porém, se baseiam na indução da vasodilatação aferente que aumenta a TFG e também no processo chamado lipotoxicidade renal. A dilatação capilar aumentada pode prejudicar a auto regulação glomerular, diminuindo a densidade dos podócitos e gerando proteinúria (SHARMA, 2009). O doador vivo com hiperfiltração relacionada à perda de massa renal pode ter sua capacidade de reserva funcional diminuída quando ocorre elevação de peso em comparação com um

doador que permanece com o peso normal (DEMIR, BALAL *et al.*, 2005; ROOK, BOSMA *et al.*, 2008).

Estudos em camundongos uninefrectomizados alimentados com dieta com alto teor de gordura por 20 semanas, que simulam a obesidade após doação renal, apresentaram maior expressão no tecido renal remanescente de genes envolvidos no metabolismo lipídico, remodelação do citoesqueleto e fibrose corroborando com o papel patogênico da obesidade no aparecimento de proteinúria e insuficiência renal (GAI, 2014; GAI, HILLER *et al.*, 2014; CHIN, ITEM *et al.*, 2015).

A toxicidade induzida por lipídios pode estar relacionada à capacidade de expansão limitada dos adipócitos, que sobrecarregados não suportam o armazenamento excessivo de lipídios (VIRTUE E VIDAL-PUIG, 2010). Uma vez que isso ocorre, o fluxo de ácidos graxos livres (AGL) para outros órgãos aumenta promovendo danos e disfunção celular. A lipotoxicidade renal se caracteriza pelo excesso de lipídios acumulados no rim que causam danos por meio de processos tóxicos/metabólicos (IZQUIERDO-LAHUERTA, MARTINEZ-GARCIA *et al.*, 2016). Sendo assim, a relação entre função renal, doação renal em vida e obesidade apresenta particularidades complexas, sem mecanismos e consequências muito claras.

Terapias que visam reduzir os triglicerídeos séricos estão sendo estudadas para tentar diminuir os prejuízos causados pela lipotoxicidade renal em modelos animais de obesidade (VAN ROOYEN, GAN *et al.*, 2013). A ativação do receptor ativado por proliferador de peroxissomos α (PPAR α), que é um membro da superfamília do receptor de hormônio nuclear de fatores de transcrição ativados por AGL, seria uma dessas alternativas terapêuticas (GUAN E BREYER, 2001). Estudos anteriores, em animais com os dois rins, mostraram que a ativação do PPAR α , com o uso do fenofibrato, estimula a transcrição de genes envolvidos no metabolismo lipídico que seriam capazes de prevenir a lipotoxicidade renal causada pela dieta hiperlipídica, podendo então ter efeitos renoprotetores (CHEN, ZHANG *et al.*, 2006; SHIN, LIM *et al.*, 2009).

O fenofibrato apresentou efeito renoprotetor em modelos animais de obesidade (SHIN, LIM *et al.*, 2009; CHUNG, LIM *et al.*, 2012) e em um modelo de uninefrectomia (LEE, WILSON *et al.*, 2011), porém, a ação do mesmo não foi investigada em camundongos uninefrectomizados que se tornam obesos após a redução da massa renal. Uma forma de esclarecer os mecanismos fisiopatológicos envolvidos na lipotoxicidade renal é avaliar a ação do fenofibrato sobre a função e

morfologia do rim remanescente em um modelo experimental de doação renal submetido à indução da obesidade.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Esta revisão foi realizada para melhor entendimento dos mecanismos associados à lesão renal causada pela obesidade nos doadores renais e também avaliou a ação do fenofibrato sobre a função renal de modelos animais de obesidade.

2.1 FUNÇÃO RENAL DOS DOADORES DE RIM

O transplante de rim, realizado com doador vivo, é uma das terapias renais substitutivas (TRS) cada vez mais utilizada no tratamento da DRC. Além de conferir ao receptor resultados excelentes, é considerado um procedimento seguro e proporciona melhores resultados clínicos quando comparados com os doadores falecidos (DAVIS E DELMONICO, 2005; DELMONICO E DEW, 2007). Os aspectos mais importantes da avaliação do potencial doador são a idade e condições gerais de saúde do doador, tendo como objetivo o não aumento do risco para o desenvolvimento da DRC (YOUNG, STORSLEY *et al.*, 2008). Sendo assim, a avaliação precisa da função renal no doador vivo é primordial. Atendendo a esses cuidados, se estabelece um limite adequado para a aceitação de um doador, estimando-se a segurança dos resultados funcionais em longo prazo (LENTINE, KASISKE *et al.*, 2017).

Ocorre que, na prática, prever a progressão da função renal após a doação é uma tarefa desafiadora, sendo necessária avaliação prévia de uma série de fatores ligados à biologia do indivíduo e também dos seus hábitos de vida. Tais informações devem ser sempre interpretadas no contexto de outros dados clínicos e laboratoriais (BARRI, PARKER *et al.*, 2009; BARRI, PARKER *et al.*, 2010). Os candidatos à doação passam por uma avaliação extensa com o objetivo de confirmar suas condições de saúde e descartar qualquer suspeita de doença. Levando em consideração de que se trata de um procedimento sem benefício físico direto ao doador, é essencial que o processo de avaliação seja cuidadosamente realizado afim de considerar todos os fatores que possam afetar a TFG após a nefrectomia (SRINIVAS E POGGIO, 2012).

De acordo com as recomendações atuais, os doadores vivos devem ter TFG ≥ 80 mL/min (DAVIS E DELMONICO, 2005; DELMONICO E DEW, 2007; BRASIL,

2009). No entanto, devido aos diversos métodos utilizados para tal avaliação, a decisão de proceder ou não com a doação é, muitas vezes, uma questão de interpretação subjetiva, baseada no bom senso e no conhecimento clínico sobre o candidato à doação (SRINIVAS E POGGIO, 2012).

Apesar dos estudos a longo prazo demonstrarem que os doadores renais têm expectativa de vida semelhante ou melhor do que a população geral e baixo risco em desenvolver DRC categoria 5, alguns poucos indivíduos progridem com a necessidade de terapia renal substitutiva (CHU, POON *et al.*, 2011; TSAI, SHU *et al.*, 2012). Esses pacientes apresentam redução da TFG após a doação, porém, nem sempre é possível afirmar que a causa da DRC é decorrente da uninefrectomia. Segundo classificação da National Kidney Foundation (NKF) (KDOQI, 2006), os doadores de rim podem ser classificados como pacientes em categoria 3 da DRC. O fato dos doadores serem examinados antes da doação, não os isenta de desenvolverem condições clínicas desfavoráveis em longo prazo, especialmente quando o doador é jovem (SRINIVAS E POGGIO, 2012).

O mecanismo pelo qual os doadores renais apresentam TFG compensatória se baseia principalmente na capacidade do parênquima renal remanescente de intensificar sua atividade de filtração em até 40% - teoria do néfron remanescente (BARRI, PARKER *et al.*, 2010; LENTINE E PATEL, 2012). Estudos anteriores relataram redução lenta da TFG em doadores ao longo de 10 ou mais anos após a doação do rim, sem aumento do risco DRC categoria 5 em comparação com a população geral (SARAN, MARSHALL *et al.*, 1997; IBRAHIM, FOLEY *et al.*, 2009). Entretanto, outros fatores, tais como idade, sexo, raça e tamanho corporal também interferem na capacidade de reserva renal (DELMONICO E DEW, 2007; GIESSING, 2012). O sexo masculino, maior idade e maior peso já foram associados a maior prejuízo função renal remanescente de doadores de rim (ROOK, BOSMA *et al.*, 2008; MJOEN, OYEN *et al.*, 2011; BELLO, BELLO *et al.*, 2015), embora poucos estudos incluam controles igualmente saudáveis (MUZAALE, MASSIE *ET AL.*, 2014; GRUPPER, ANGEL *et al.*, 2019).

Uma avaliação das condições gerais de saúde de doadores de rim na Coreia mostrou que 15,7% apresentavam DRC após 3 anos ou mais de acompanhamento, porém, dos 275 doadores avaliados, 57,8% apresentaram melhora da função renal após 1 ano (NA, PARK *et al.*, 2018a; b). As variáveis associadas à falta de recuperação da função renal podem incluir níveis de pressão arterial e de

triglicérides, circunferência abdominal e obesidade (DE SOUZA RODRIGUES, AMORIM DE ALBUQUERQUE *et al.*, 2017; THUKRAL, MAZUMDAR *et al.*, 2018). Um acompanhamento de 92 doadores de rim na Turquia, em curto e longo prazo, mostrou que após 2 anos, a prevalência de hipertensão havia migrado de 4% para 28%, enquanto a obesidade aumentou 4% nesse período. Concluiu-se também que os doadores obesos (IMC ≥ 30) apresentavam maior risco de hipertensão após a nefrectomia do que os doadores não obesos (ABDELLAOUI, AZZABI *et al.*, 2019; ABDELLAOUI, SAHTOUT *et al.*, 2019).

Albuminúria, diminuição da função renal, hipertensão e obesidade podem ocorrer em jovens doadores de rim após a nefrectomia e estarem associadas ao aumento da mortalidade e ao risco de DRC em categoria 5 (HAKIM, GOLDSZER *et al.*, 1984; MJOEN, HALLAN *et al.*, 2014). Outro aspecto importante é que estas lesões se desenvolvem no decorrer de período longo de tempo, sendo assim necessários períodos de seguimento mais longos para avaliar o impacto da nefrectomia nos doadores renais (BANG, KIM *et al.*, 2017).

2.2 DOAÇÃO RENAL E OBESIDADE

Adaptações fisiológicas envolvendo aumento do fluxo sanguíneo renal, após a uninefrectomia, causam aumento da TFG em doadores vivos associada à hipertrofia renal. A TFG é normalizada a longo prazo, porém, em alguns pacientes observa-se aumento da pressão arterial e desenvolvimento de proteinúria (MUELLER E LUYCKX, 2012). Os candidatos à doação renal que já apresentam comorbidades como hipertensão, proteinúria, dislipidemia, glicemia e obesidade em geral são desencorajados, ainda assim, em alguns casos, o transplante é realizado e o doador acompanhado regularmente pelos médicos (DELMONICO E DEW, 2007).

O aumento do número de transplantes provenientes de doadores vivos ocorreu, em parte, devido às mudanças nos critérios de seleção dos candidatos à doação, entre eles a inclusão de pacientes obesos (PESAVENTO, HENRY *et al.*, 1999). Apesar da ausência de resultados de longo prazo, existem evidências de que a obesidade pode afetar de forma negativa a função renal dos doadores (SACHDEVA, SUNDAY *et al.*, 2013).

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal e para o diagnosticá-la em adultos, o parâmetro comumente utilizado é o índice de

massa corporal (IMC) (WHO, 2000). Um indivíduo com IMC de 25 a 29,9 kg/m² é considerado com sobrepeso, IMC acima de 30 kg/m² caracteriza a classe de obesidade e são considerados obesos mórbidos indivíduos com IMC superior a 35 kg/m² (WHO, 2000; 2018). Segundo as recomendações internacionais, sugeridas no encontro de Amsterdã em 2004, sobre os cuidados do doador renal vivo, o IMC menor que 35 kg/m² é um dos critérios primordiais necessários para aceitação de um potencial doador (DELMONICO, 2005; BRASIL, 2009). Embora a uninefrectomia seja considerada tecnicamente segura e viável, em indivíduos obesos são necessárias avaliações pré e pós-operatórias e o acompanhamento contínuo desse doador, para se determinar quais são os impactos sobre a função renal em curto e longo prazo (DELMONICO E DEW, 2007; GIESSING, 2012).

Existem relatos de potenciais complicações que o sobrepeso e a obesidade possam causar aos doadores renais (TAVAKOL, VINCENTI *et al.*, 2009; KERKENI, REBAI *et al.*, 2015). O risco de se desenvolver disfunção renal e proteinúria foi correlacionado com o IMC elevado no momento da uninefrectomia em um estudo transversal com 73 pacientes doadores de rim (PRAGA, HERNANDEZ *et al.*, 2000). Dados americanos de mais de 110 mil doadores, mostraram que o risco de necessidade de TRS foi aumentado em 86% para aqueles doadores que apresentavam obesidade quando comparados com os não obesos (LOCKE, REED *et al.*, 2017).

A quantificação das tendências de IMC de 90 doadores de rim norte-americanos, mostrou que ao longo de 5 anos após a doação, a prevalência de sobrepeso e obesidade aumentava de 52% para 91%, demonstrando um risco semelhante à população geral (DRU E FUCHS, 2017). Em uma avaliação das tendências de ganho de peso após a doação renal e dos riscos associados, em uma população de 940 doadores de rim nos Estados Unidos, foi possível apontar que assim como na população geral, há ganho de peso à medida que os indivíduos envelhecem e que o aumento do IMC está associado à maior incidência de diabetes e hipertensão (ISSA, SANCHEZ *et al.*, 2018).

Ainda que a maior parte dos estudos, não avalie especificamente os doadores que apresentam sobrepeso após a doação, em pacientes que vivem com apenas um rim, por agenesia renal e rim remanescente, a obesidade gera prejuízos na capacidade de reserva funcional e pode agravar a perda de função quando há severa

redução de massa renal (GONZALEZ, GUTIERREZ *et al.*, 2005; ROOK, BOSMA *et al.*, 2008; MJOEN, OYEN *et al.*, 2011; BELLO, BELLO *et al.*, 2015).

Estudos que avaliam a fisiopatologia da obesidade em doadores renais são primordiais na checagem dos riscos atribuídos à uninefrectomia, porém pouco se sabe sobre a evolução dos doadores jovens e saudáveis que desenvolvem sobrepeso e obesidade após a doação (PRAGA, HERNANDEZ *et al.*, 2000; DEMIR, BALAL *et al.*, 2005; FERREIRA-FILHO, DA SILVA PASSOS *et al.*, 2007). Um estudo realizado com 122 doadores de rim acompanhados por até 15 anos, mostrou que existe maior aumento do peso corporal e do colesterol total, ambos associados à baixa atividade física, quando comparado à pacientes saudáveis (DEMIR, BALAL *et al.*, 2005). Em um acompanhamento curto prazo de apenas um ano após a doação, 721 doadores apresentaram redução da TFG e com o aumento da creatinina associados ao aumento da idade e ao excesso de peso (MJOEN, OYEN *et al.*, 2011). Em uma avaliação de 20 doadores de rim 45% apresentaram sobrepeso e 25% apresentaram obesidade após o período de seguimento. O aumento da creatinina e proteinúria foi observado em 10% destes pacientes, demonstrando que existe a possibilidade do ganho de peso sobrecarregar a filtração glomerular no rim remanescente (FERREIRA-FILHO, DA SILVA PASSOS *et al.*, 2007).

Rook *et al.* acompanharam doadores renais por longo prazo, e mostraram a influência da idade e do peso na perda da capacidade funcional após nefrectomia. Quanto maior o índice de massa corporal e mais velho o doador, menor a TFG, sendo o IMC acima de 30 kg/m² o fator que mais prejudicou a função renal dos doadores (ROOK, BOSMA *et al.*, 2008). Estudo brasileiro de acompanhamento de doadores renais mais recente, mostrou associação entre aumento de IMC com a perda de função renal, assim como com a incidência de hipertensão (BELLO, BELLO *et al.*, 2015).

2.3 OBESIDADE E LESÃO RENAL

A relação entre obesidade e perda de função renal tem sido discutida e explorada afim de contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos na perda da função renal causada pela obesidade e sugerir novas terapêuticas (CAMARA, ISEKI *et al.*, 2017; KE, SHEN *et al.*, 2017). Estudos envolvendo grande número de pacientes por longos períodos de seguimento,

associaram a obesidade, $IMC > 30 \text{ kg/m}^2$, com risco elevado de desenvolvimento de DRC em fase de falência funcional renal. Este risco seria aumentado nos homens em relação às mulheres (ISEKI, IKEMIYA *et al.*, 2004). Estima-se que pacientes adultos obesos podem apresentar DRC com maior frequência (HSU, MCCULLOCH *et al.*, 2006) e que o excesso de peso em adolescentes possa estar associados ao risco aumentado de TRS após 25 anos (VIVANTE, GOLAN *et al.*, 2012).

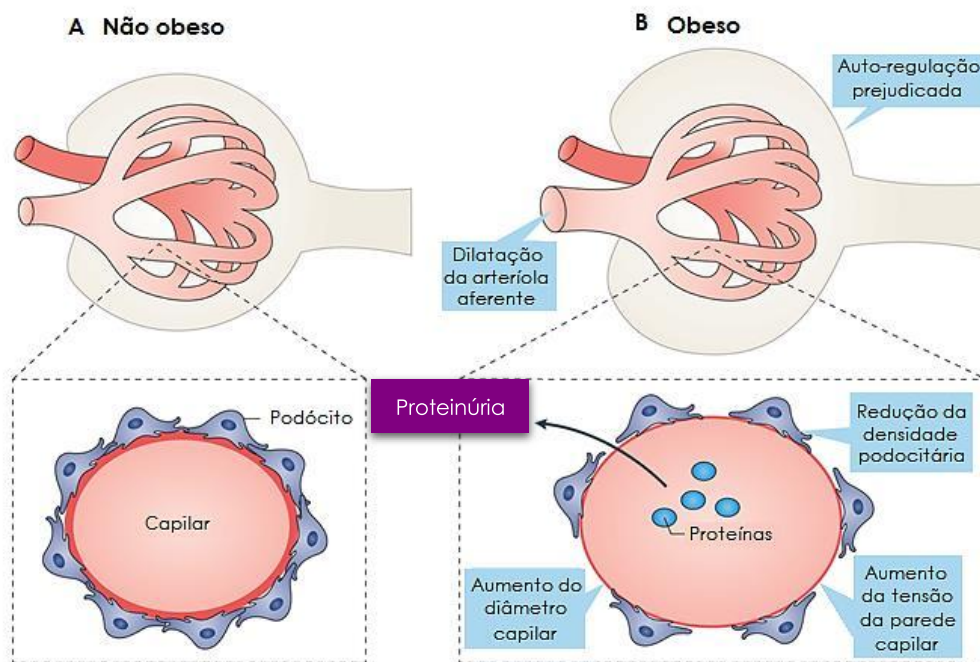
A obesidade causa várias alterações metabólicas, hemodinâmicas e inflamatórias nos rins. As alterações renais hemodinâmicas descritas em indivíduos com obesidade foram denominadas, inicialmente, como glomerulopatia relacionada à obesidade (GRO) (D'AGATI, CHAGNAC *et al.*, 2016). Em resposta compensatória ao aumento sistêmico da demanda metabólica, a GRO pode ser caracterizada principalmente pela hipertrofia glomerular e esclerose segmentar (KAMBHAM, MARKOWITZ *et al.*, 2001; TSUBOI, OKABAYASHI *et al.*, 2017).

O aumento do consumo de alimentos industrializados e processados, combinado com o menor gasto energético são os principais fatores que contribuem para a epidemia de obesidade mundial (CAMARA, ISEKI *et al.*, 2017; WAKASUGI, KAZAMA *et al.*, 2017). Tais hábitos alimentares envolvem uma grande quantidade de ingestão de sal, que está diretamente relacionado com hipertensão e aumento do estresse oxidativo. A hipertensão, um dos dois principais fatores de risco para DRC, pode induzir a vasodilatação da artéria aferente dos glomérulos (SERRA, ROMERO *et al.*, 2008; SHARMA, 2009). O aumento na pressão intraglomerular provoca o estiramento e o alargamento glomerular, o que impõe um estresse mecânico aos podócitos e eventualmente levam à sua disfunção causando proteinúria (Figura 1) (CAMARA, ISEKI *et al.*, 2017).

Os lipídeos desenvolvem um papel importante em todas as células e seu armazenamento ocorre nos adipócitos principalmente na forma de triglicerídeos. Os triglicerídeos são armazenados em gotículas dentro dos adipócitos e não ultrapassam a membrana plasmática nessas condições (WISSE, 2004; ENGIN, a. b., 2017). Com o aumento da atividade metabólica nesse tecido, ocorre a lipólise, com ativação da enzima lipase hormônio sensível (LHS), que rompe a ligação éster entre os ácidos graxos e a molécula de glicerol. A ativação da LHS ocorre pela proteína kinase, que também fosforila as proteínas de membrana presentes nos adipócitos, as perilipinas, permitindo que os ácidos graxos, agora livres (AGL), sejam liberados na corrente

sanguínea. Na circulação, os AGL serão transportados pela albumina para outros órgãos, onde serão oxidados para a produção de energia (ENGIN, a.b., 2017).

Figura 1. Mecanismo de lesão causada por hiperfiltração glomerular: A obesidade pode induzir a vasodilatação da arteríola aferente para aumentar a taxa de filtração glomerular. O aumento da pressão arterial pode provocar o aumento do diâmetro e da tensão da parede do capilar glomerular, sendo necessário que os podócitos cubram uma maior área superficial, permitindo a perda de proteínas na urina. Modificada de Camara, Iseki *et al.* (2017).

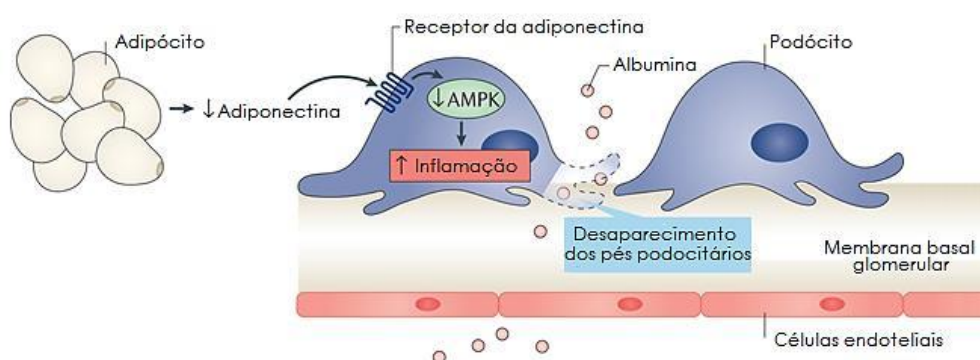


Já se sabe que o tecido adiposo tem sua capacidade de armazenamento de triglicerídeos limitada e é uma fonte de fatores inflamatórios e imunomoduladores importante. Com o aumento do consumo de calorias, os adipócitos sofrem hipertrofia e hiperplasia, havendo estímulo à produção de citocinas pró-inflamatórias a fim de aumentar a angiogênese e o fluxo sanguíneo (WISSE, 2004; TSUBOI, OKABAYASHI *et al.*, 2017). O mesmo possui influência sobre o perfil de resposta imune e alterações da sua função podem causar acúmulo de matriz extracelular e fibrose (SIKORSKA, GRZYMISLAWSKA *et al.*, 2017). Evidências clínicas sugerem que o aumento do volume dos adipócitos causa inflamação do tecido mediada por macrófagos, ativando e produzindo de forma descontrolada: proteína quimiotratante monocitária-1 (MCP-1), citocinas como interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) (MARTINEZ-SANTIBANEZ E LUMENG, 2014; MANCUSO, 2016).

As alterações das funções endócrinas do tecido adiposo interferem na secreção de adipocitocinas (leptina, resistina, apelina, visfatina, adiponectina e omentina), o que contribui para a inflamação sistêmica e disfunção das células endoteliais que também podem colaborar com os outros mecanismos de lesão renal (IWAN-ZIETEK, RUSZKOWSKA-CIASTEK *et al.*, 2016; MANCUSO, 2016).

Estudos recentes mostram que a adiponectina mantém a integridade dos podócitos, atuando através de seus receptores (AdipoR1 e AdipoR2) e na via de sinalização controlada pela proteína quinase ativada por AMP (AMPK) que é um importante sensor de energia crucial na regulação do acúmulo de lipídios nos rins (AHIMA, 2008; SHARMA, 2009). Esta adipocitocina diminui a medida que o IMC aumenta, estando implicada na disfunção da barreira de filtração glomerular e proteinúria (Figura 2) (SHARMA, RAMACHANDRARAO *et al.*, 2008; CAMARA, ISEKI *et al.*, 2017).

Figura 2. Lesão causa pela diminuição da adiponectina: O aumento do tecido adiposo leva à diminuição dos níveis de adiponectina, reduzindo a ativação de seus receptores nos podócitos. Este processo reduz a ativação da AMPK causando ainda mais inflamação, desaparecimento dos pés podocitários e aumento da proteinúria. Modificada de Camara, Iseki *et al.* (2017).



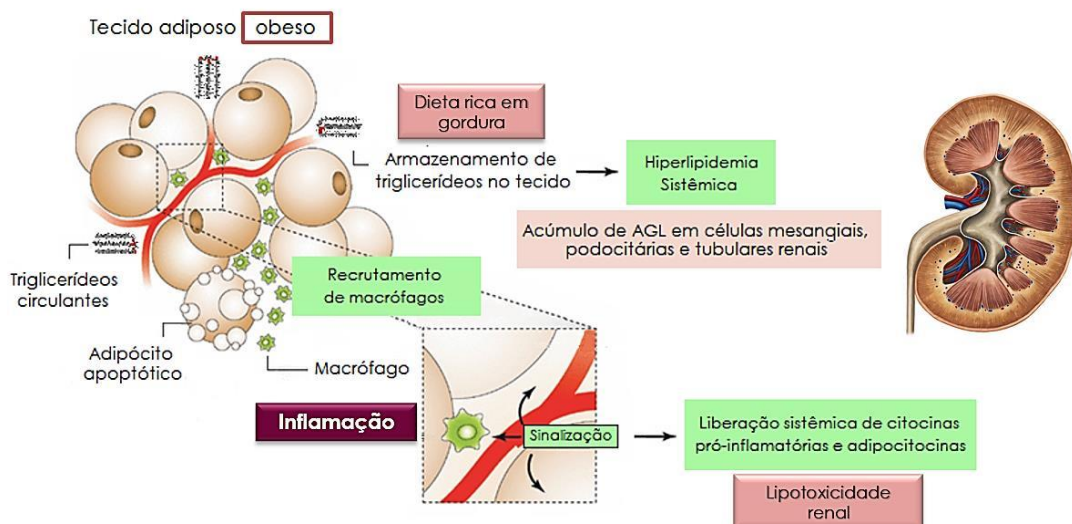
A obesidade também pode levar ao aumento da concentração de leptina, que estimula a produção do fator de crescimento transformador- β (TGF- β), um dos principais fatores que promovem o acúmulo de matriz extracelular e a proliferação de células mesangiais (WANG, CHEN *et al.*, 2015; D'AGATI, CHAGNAC *et al.*, 2016). É comum que pessoas obesas também apresentem elevados níveis de resistina, uma adipocina produzida por macrófagos situados no tecido adiposo ou sintetizada

indiretamente pela ação do Interferon- γ (IFN- γ) que está ligada à resistência à insulina em camundongos e humanos (SHARMA, 2009).

Os mecanismos pelos quais o aumento do IMC e a obesidade levam à DRC, independentes das vias hemodinâmicas, ainda não foram bem elucidados, porém, estudos sugerem que haja ligação com os processos de estresse oxidativo, inflamação, acúmulo de lipídios nos rins e lipotoxicidade (WEINBERG, 2006; BOBULESCU, 2010; ESCASANY, IZQUIERDO-LAHUERTA *et al.*, 2019).

O acúmulo de lipídios em células não especializadas, como nas células renais, pode acarretar em disfunção celular e lesão tecidual (BOBULESCU, 2010). Os lipídios acumulados nos rins podem desencadear a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS) com alterações das vias de sinalização celular e liberação de fatores pró-inflamatórios e profibróticos (IZQUIERDO-LAHUERTA, MARTINEZ-GARCIA *et al.*, 2016). A inflamação no tecido adiposo resulta em lipólise e hiperlipidemia, provocando acúmulo de AGL em células mesangiais, podocitárias e tubulares renais (Figura 3) (VLASOVA, PURHONEN *et al.*, 2010; HERMAN-EDELSTEIN, SCHERZER *et al.*, 2014).

Figura 3. Mecanismos de lesão renal relacionada a obesidade: A dieta rica em gordura resulta em armazenamento dos triglicerídeos no tecido adiposo e em hiperlipidemia sistêmica. Os adipócitos aumentam de tamanho e número, podendo também sofrer apoptose, causando a inflamação sistêmica de baixo grau, com recrutamento de macrófagos e aumento da produção de fatores pró-inflamatórios. Em resposta à hiperlipidemia, ocorre também o acúmulo de ácidos graxos livres em células mesangiais, podocitárias e tubulares renais desencadeando a lipotoxicidade renal. Modificado de Vlasova, Purhonen *et al.* (2010).



Um estudo utilizando rins de pacientes submetidos à nefrectomia por tumores, detectou a presença de gotículas lipídicas nas células do túbulo proximal daqueles pacientes com maior IMC, além de correlação positiva entre IMC e conteúdo de triglicerídeos no tecido renal (BOBULESCU, LOTAN *et al.*, 2014). Com estes resultados, os autores consideraram que a obesidade está relacionada com a esteatose renal e que o acúmulo de triglicerídeos em indivíduos com o IMC elevado é provavelmente um marcador de excesso de ácidos graxos livres nos rins (BOBULESCU, 2010; BOBULESCU, LOTAN *et al.*, 2014).

2.4 LIPOTOXICIDADE RENAL EM MODELOS ANIMAIS

As alterações renais e do metabolismo lipídico observadas na obesidade humana também foram demonstradas em estudos experimentais, principalmente com o uso de dietas ricas em gordura (DECLEVES, ZOLKIPLI *et al.*, 2014; LI, LIN *et al.*, 2015; LEE, KWON *et al.*, 2019). Um dos principais mecanismos envolvidos seria a lipotoxicidade, com acúmulo de AGL e triglicerídeos em células parenquimatosas de múltiplos tecidos resultando em disfunção e lesão celular crônica (WEINBERG, 2006).

Existe uma gama de estudos com animais que associam o acúmulo de lipídeos nos rins e a lipotoxicidade com a disfunção celular e tecidual, incluindo modelos de obesidade, síndrome metabólica e diabetes mellitus, no entanto, existem divergências entre os estudos experimentais sobre os mecanismos pelos quais se dá essa associação, isto porque existem variações entre os modelos animais (BOBULESCU, 2010).

Dos vários fatores regulados pelo aumento da gordura visceral, apenas algumas adipocinas são reduzidas na obesidade experimental, como é o caso da adiponectina (KUME, UZU *et al.*, 2007; DEJI, KUME *et al.*, 2009). Estudos experimentais ao longo das últimas décadas demonstraram que a dieta rica em gordura desencadeia albuminúria, declínio progressivo da função renal, glomerulosclerose e fibrose tubulointersticial, e que os mecanismos patológicos poderiam estar associados à lipotoxicidade (HENEGAR, BIGLER *et al.*, 2001; DEJI, KUME *et al.*, 2009).

Cães alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram após 9 semanas, alterações significativas na histologia renal, parâmetros bioquímicos e funcionais do rim. Essas mudanças incluíram expansão da cápsula de Bowman, proliferação celular

nos glomérulos, espessamento da membrana basal glomerular e tubular, aumento da matriz mesangial e ainda, aumento da expressão de TGF- β no córtex (HENEGAR, BIGLER *et al.*, 2001). Foram relatados achados glomerulares similares em camundongos C57BL/6 após 12 semanas em dieta com alto teor de gordura (60%), além de alterações estruturais e funcionais nos rins características do modelo experimental de síndrome metabólica (DEJI, KUME *et al.*, 2009).

A patogênese da lesão renal desencadeado pelo aumento acúmulo de lipídios renais está associada a expressão renal de proteínas de ligação do elemento regulador do esterol (SREBPs) (JIANG, LIEBMAN, LUCIA, LI *et al.*, 2005; JIANG, WANG *et al.*, 2005). Achados experimentais com camundongos da linhagem C57BL/6 mostraram que o consumo de dieta hiperlipídica com 60% de gordura está diretamente relacionado com a expressão renal dos fatores de transcrição SREBP1 e SREBP2, e que este é um dos principais mecanismos de indução da síntese de ácidos graxos e colesterol (JIANG, WANG *et al.*, 2005).

Camundongos com deleção do gene SREBP1c ficaram protegidos contra o acúmulo de lipídios celulares induzido pela dieta hiperlipídica, confirmando que a lipotoxicidade também pode ser mediada por alterações disfuncionais do metabolismo lipídico nas células renais, como o aumento da produção das SREBPs (JIANG, LIEBMAN, LUCIA, PHILLIPS *et al.*, 2005). Uma das alternativas propostas para o controle do metabolismo lipídico envolve a repressão da expressão hepática das SREBPs através da ativação do receptor Farnesoid X (FXR), um receptor nuclear ativado por ácidos biliares. O tratamento com ativador do FXR reduziu o acúmulo de lipídios nos rins e apresentou efeitos anti-inflamatórios e anti-fibróticos (WANG, JIANG *et al.*, 2009).

O receptor ativado por proliferador de peroxissomos γ (PPAR γ) é um fator de transcrição que atua na diferenciação dos adipócitos e é responsável por iniciar adipogênese, regular o armazenamento de gordura podendo induzir a apoptose de células tubulares (ARICI, CHANA *et al.*, 2003; DESVERGNE, MICHALIK *et al.*, 2006). Um estudo em modelo de obesidade (dieta com 45% de gordura durante 6 semanas) em animais heterozigotos para o gene PPAR γ mostrou que a redução da atividade deste fator de transcrição atenuou as alterações causadas pelo acúmulo de lipídios nos rins, sugerindo que esta possa ser uma estratégia terapêutica de prevenção da DRC na síndrome metabólica (KUME, UZU *et al.*, 2007).

A ativação específica da AMPK no rim, por meio do tratamento via IP com AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamida-1-beta-4-ribofuranósido), droga que estimula a atividade da AMPK, também é uma potencial abordagem para proteger o rim dos efeitos iniciais da obesidade e da resistência insulínica (DECLEVES, MATHEW *et al.*, 2011). Estudos voltados para a avaliação da ação da AMPK, mostraram que o consumo de dieta hiperlipídica por camundongos C57BL/6 promoveu o acúmulo de lipídios nos rins, levando ao comprometimento da estrutura celular tubular, inflamação inicialmente caracterizada pelo aumento da MCP-1 e fibrose (DECLEVES, MATHEW *et al.*, 2011; DECLEVES, ZOLKIPLI *et al.*, 2014). Após a ativação da AMPK, houve redução renal da expansão da matriz extracelular, diminuição da inflamação e do acúmulo de lipídios. O mecanismo pelo qual tais benefícios ocorreram envolveram a diminuição da síntese de lipídios e o aumento da utilização de AGL para o metabolismo energético (DECLEVES, ZOLKIPLI *et al.*, 2014).

O depósito de lipídios no rim contribui para a progressão de uma possível lesão crônica e a captação lipídica mediada por receptores é crucial nesse processo, além de outros mecanismos que envolvem a síntese do colesterol (RUAN, VARGHESE *et al.*, 2009). Recentemente, o desenvolvimento de alterações deste tipo em camundongos foi relacionado com a disfunção mitocondrial em células endoteliais glomerulares, células epiteliais dos túbulos proximais e podócitos. A administração de um peptídeo mitocondrial estabilizante da membrana, o SS-31, preservou a estrutura e a função das mitocôndrias e conseqüentemente impediu a lesão das células renais e posterior glomerulosclerose (SZETO, LIU *et al.*, 2016).

Essas alterações no metabolismo lipídico provocam prejuízos à função e morfologia dos rins e reforçam a hipótese de que o rim é um órgão vulnerável à lipotoxicidade e que sofre alterações metabólicas sistemicamente relevantes.

2.5 MODELOS ANIMAIS DE UNINEFRECTOMIA E OBESIDADE

São recentes os estudos que avaliaram a lipotoxicidade renal em animais com apenas um rim (WANG, HE *et al.*, 2012; GAI, 2014; GAI, HILLER *et al.*, 2014; CHIN, ITEM *et al.*, 2015; GAI, GUI *et al.*, 2016). O primeiro estudo que avaliou a função renal de animais uninefrectomizados que receberam dieta suplementada com 10% de gorduras saturadas por 16 semanas, investigou o papel do receptor de membrana

Scavenger A (SR-A), que foi identificado como principal promotor da endocitose de lipídios nas células em geral. Neste estudo os animais com sobrepeso apresentaram albuminúria, fibrose renal e maior expressão de TGF- β (WANG, HE *et al.*, 2012).

Ao contrário de outros receptores de lipoproteínas, o SR-A não é regulado via retroalimentação negativa pelo colesterol citoplasmático, por isso, tem papel fundamental na formação de células derivadas de macrófagos preenchidas por lipídios (células de espuma) (KAMADA, KODAMA *et al.*, 2001; RUAN, MOORHEAD *et al.*, 2004). No estudo em questão, foi demonstrado que os animais com deleção do gene para expressão do receptor SR-A apresentaram atenuação das alterações causadas pela dieta hiperlipídica atribuída à redução do acúmulo de lipídios nos rins, menor estresse oxidativo e menor inflamação. Além disso, concluiu-se que o receptor SR-A presente em células epiteliais tubulares no rim inicia o processo de estresse oxidativo induzido por lipídios e a liberação de MCP-1, o que leva ao recrutamento de mais leucócitos circulantes promovendo a fibrose renal (WANG, HE *et al.*, 2012).

Outros estudos utilizaram camundongos machos C57BL/6 que após nefrectomia do rim esquerdo consumiam dieta com maior teor de gordura, 60%, por 20 semanas. Verificou-se que a uninefrectomia seguida de dieta com alto teor de gordura provocou glomerulosclerose caracterizada pelo aumento da área de matriz mesangial e fibrose intersticial, além do aumento da creatinina sérica, expressão de angiotensina I, glicose e insulina (GAI, HILLER *et al.*, 2014; CHIN, ITEM *et al.*, 2015). A análise da expressão gênica no rim dos camundongos indicou que a obesidade leva a mais alterações do que a uninefrectomia e que a dieta hiperlipídica levou ao aumento de um grupo de genes relacionados ao metabolismo lipídico e ao transporte pela membrana. No entanto, a combinação das duas condições incluiu o remodelamento do citoesqueleto, adesão celular e genes envolvidos na fibrogênese (GAI, 2014; GAI, HILLER *et al.*, 2014). Além disso, alterações na via de sinalização do FXR foram associadas ao metabolismo lipídico e à progressão da lesão renal (GAI, HILLER *et al.*, 2014).

O FXR desempenha papel importante na regulação dos ácidos biliares, colesterol e lipídios e no metabolismo da glicose no fígado e no intestino (WANG, JIANG *et al.*, 2009; WANG, JIANG *et al.*, 2010; HU, REN *et al.*, 2012). No entanto, o papel deste receptor, foi amplamente abordado em um estudo recente que investigou o papel protetor da sua ativação contra o dano renal induzido pela obesidade após uninefrectomia (GAI, GUI *et al.*, 2016). Neste estudo, foram avaliados camundongos

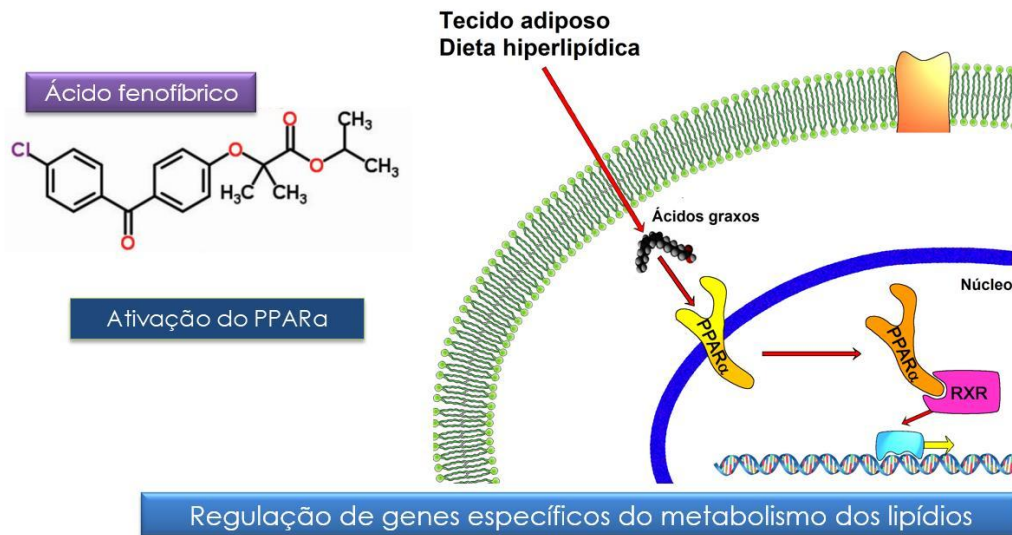
fêmeas da linhagem C57BL/6 uninefrectomizadas e submetidas à dieta com 60% gordura por 16 semanas. Os animais obesos apresentaram disfunção renal, com expansão mesangial, lesão tubular, fibrose intersticial e estresse oxidativo, enquanto os animais obesos com apenas um rim, tinham graus mais acentuados de lesão (GAI, GUI *et al.*, 2016). A ativação de FXR nos túbulos proximais dos camundongos obesos protegeram o rim do dano renal induzido pela lipotoxicidade dos AGL e inibiu o acúmulo de lipídios nos rins, mostrando que esta pode ser uma estratégia alternativa no controle da lesão renal por obesidade (WANG, JIANG *et al.*, 2009; WANG, JIANG *et al.*, 2010; GAI, GUI *et al.*, 2016).

2.6 EFEITO RENOPROTETOR DO FENOFIBRATO

Nas últimas décadas estudos experimentais vêm investigando cada vez mais o papel dos AGL na promoção da lesão renal. O PPAR (Receptor ativado por proliferador de perossissomo) é um receptor nuclear que pode ser ativado por vários ligantes, incluindo os fibratos e os AGL (GUAN E BREYER, 2001). Uma vez interagindo com seus ligantes, o PPAR forma um heterodímero com o Receptor Retinoid X (RXR) que se liga às regiões específicas do ácido desoxirribonucleico (DNA) estimulando a transcrição de genes específicos do metabolismo dos lipídios, envolvendo a absorção, ligação e oxidação de AGL, montagem de lipoproteínas e transporte de lipídios (Figura 4) (GUAN, 2004; PARK, ZHANG *et al.*, 2006).

O receptor ativado por proliferador de peroxissomo α (PPAR α) é o principal fator transcricional que regula os lipídios intracelulares através do controle transcricional direto dos genes envolvidos nas vias peroxissômicas e mitocondriais da oxidação dos ácidos graxos, na captação dos mesmos e no catabolismo de triglicerídeos (CHUNG, LEE *et al.*, 2018). O papel do PPAR α no desenvolvimento de doenças renais tem sido investigado recentemente por meio do uso do fenofibrato. O fenofibrato é um medicamento indicado para o tratamento da hipertrigliceridemia, derivado do ácido fíbrico, que ativa o PPAR α e reduz os AGL em humanos (KEECH, SIMES *et al.*, 2005; REASNER, 2006; DAVIS, TING *et al.*, 2011).

Figura 4. Mecanismo de ativação do PPAR pelo fenofibrato: Os PPARs formam heterodímeros que se ligam em sequências de DNA chamadas de "elementos responsivos a proliferadores de peroxissomos" presentes no promotor de vários genes alvo, o que leva a transativação ou transrepressão de vários genes.



Em nefropatias progressivas, como a nefropatia diabética, o inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1) foi identificado como um mediador crucial da fibrose intersticial e glomerulosclerose e o uso do fenofibrato foi capaz de reduzir seus níveis plasmáticos em pacientes com esta condição (OKOPIEN, HUZARSKA *et al.*, 2005). Além disso, a utilização clínica de fenofibrato em pacientes diabéticos tipo 2 resultou em redução da progressão da microalbuminúria (ANSQUER, FOUCHER *et al.*, 2005).

Estudos experimentais avaliaram a ação do fenofibrato sobre a função renal em animais que se alimentavam com dieta hiperlipídica e mostraram efeito renoprotetor (CHEN, ZHANG *et al.*, 2006; SHIN, LIM *et al.*, 2009). Com a ativação do PPAR α pelo fenofibrato foi possível reduzir o dano renal lipotóxico causado pela obesidade em ratos espontaneamente hipertensos alimentados com dieta hiperlipídica e reduzir a hipertrofia glomerular de camundongos diabéticos obesos (PARK, ZHANG *et al.*, 2006; SHIN, LIM *et al.*, 2009). Foi demonstrado que o fenofibrato administrado em camundongos diabéticos dislipidêmicos, diminuiu a expressão de citocinas, incluindo IL-6, MCP-1, IFN- γ e TNF- α acompanhada por uma diminuição dos níveis plasmáticos de proteína C reativa (KRYSIK, GDULA-DYMEK *et al.*, 2011).

Além de atenuar a albuminúria e a esclerose glomerular, o tratamento com fenofibrato aumenta a expressão de genes lipolíticos, que promovem a lipólise renal, e as defesas antioxidantes em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (TANAKA, KUME *et al.*, 2011). Já em um modelo de GRO, o tratamento com fenofibrato atenuou significativamente anormalidades histológicas como a deposição de fibronectina, colágeno tipo I e IV, e a infiltração de macrófagos no interstício (TANAKA, KUME *et al.*, 2011). Com o aumento dos AGL, foi observado aumento da expressão de genes ligados à síntese de fibronectina, PAI-1 e MCP-1. O tratamento com fenofibrato inibiu a expressão desses genes se mostrando efetivo contra a lesão tubulointersticial em doença renal proteinúrica sugerindo seu potencial como uma nova estratégia terapêutica contra o início e a progressão da DRC (TANAKA, KUME *et al.*, 2011).

A dislipidemia e o acúmulo de lipídios intra-renais acompanhados de albuminúria, inflamação e apoptose no rim de um modelo animal de hipertensão e obesidade foram relacionados à diminuição da expressão de PPAR α no rim. Neste mesmo estudo, o tratamento com fenofibrato melhorou a hipertensão, dislipidemia e a lipotoxicidade induzidas por dieta hiperlipídica e protegeu contra o estresse oxidativo e a lipoapoptose (CHUNG, LIM *et al.*, 2012).

A deficiência do PPAR α em modelo de obesidade induzida pela dieta hiperlipídica em ratos e camundongos foi associada com o aumento da lipotoxicidade renal (PARK, ZHANG *et al.*, 2006; SHIN, LIM *et al.*, 2009). Relatos anteriores mostraram que a deficiência de PPAR α resultou em expressão elevada do fator nuclear kappa B (NF- κ B), um importante fator de transcrição pró-inflamatório, enquanto sua ativação mediada pelo fenofibrato, impediu a ação de genes da resposta inflamatória pela inibição da sinalização do NF- κ B e da proteína ativadora 1 (AP-1) (DELERIVE, FRUCHART *et al.*, 2001; BABAEV, ISHIGURO *et al.*, 2007).

Em um modelo de rato obeso, a redução da expressão do PPAR α no rim e das enzimas relacionadas à sua tradução foram associadas ao envelhecimento e acúmulo de lipídios no rim (CHUNG, LEE *et al.*, 2018). Além disso, camundongos knock out para produção do PPAR α (-/-) apresentaram maior deposição de lipídios nas células epiteliais tubulares renais com formação de gotículas lipídicas seguida de fibrose renal (CHUNG, LEE *et al.*, 2018).

Em um modelo agudo de hipertensão, animais uninefrectomizados foram tratados com fenofibrato durante 7 dias com dose de 500 mg/kg/dia por via

intragástrica. Demonstrou-se que mecanismos renais anti-inflamatórios dependentes da IL-6 foram capazes de reduzir significativamente a pressão arterial e a excreção de albumina, porém, estes animais não apresentavam excesso de peso (LEE, WILSON *et al.*, 2011).

Embora a via pela qual atua o fenofibrato possa não ser a principal e predominante na patogênese da lesão renal causada pela obesidade, a modulação da expressão dos fatores associados (PAI-1, IL-6, Adiponectina, Leptina, MCP-1, NF- κ B, AP-1, TNF- α e Proteína C reativa), bem como a consequente ação sobre as alterações histológicas (fibronectina, colágeno tipo I e IV, infiltração de macrófagos) pode ser considerada potencialmente favorável no entendimento da fisiopatologia da lipotoxicidade renal causada pela dieta rica em gordura em associação com a sobrecarga funcional causada pela redução de massa renal.

2.7 AÇÃO DO FGF-21

O FGF-21, membro da família FGF, desempenha um importante papel no metabolismo lipídico e pode ser considerado um fator de resposta ao estresse celular, uma vez que alterações nas organelas citoplasmáticas estimulam sua expressão (DOSTALOVA, HALUZIKOVA *et al.*, 2009; SUASSUNA, DE PAULA *et al.*, 2019). O FGF-21 foi descoberto como um regulador da captação de glicose em camundongos e sua superexpressão impedia o ganho de peso no modelo de obesidade (SEO E KIM, 2012; LI, ZHANG *et al.*, 2013).

Um pan agonista dos PPAR's caracterizado anteriormente, o MHY2013, teve seus efeitos no fígado descritos em um modelo de obesidade. Camundongos geneticamente obesos (db/db) apresentaram alterações graves em seus perfis metabólicos no sangue, incluindo dislipidemia. O MHY2013 reduziu os níveis séricos de triglicerídeos e ácidos graxos não esterificados neste modelo, independente da redução do peso corporal. Além disso, o pan agonista dos PPAR's, por ativar diretamente o PPAR α , se mostrou eficaz na redução dos triglicerídeos no fígado, relacionado com o aumento da fosforilação de AMPK e da transcrição do FGF-21 (AN, LEE *et al.*, 2017).

A expressão hepática do FGF-21 é regulada pelo PPAR α , que por sua vez é ativado pelos AGL. Três fatores de transcrição são necessários para indução da expressão do FGF-21 no fígado: o receptor do hormônio tireoidiano β (TR β), o RXR e

o PPAR α (ADAMS, ASTAPOVA *et al.*, 2010). Camundongos que superexpressavam FGF-21 no fígado apresentaram redução das concentrações plasmáticas de triglicerídeos e foram resistentes ao ganho de peso quando alimentados com dieta com alto teor de gordura (KHARITONENKOV, SHIYANOVA *et al.*, 2005).

A administração de FGF-21 promoveu aumento da utilização de gordura e maior gasto de energia em camundongos obesos por dieta hiperlipídica. Os mesmos apresentaram redução das concentrações séricas de lipídios e concentrações hepáticas de triglicerídeos (KHARITONENKOV, SHIYANOVA *et al.*, 2005). Outro estudo semelhante demonstrou que a diminuição nas concentrações de triglicerídeos hepáticos era acompanhada pela diminuição da expressão de genes relacionados à lipogênese (XU, LLOYD *et al.*, 2009).

Evidências experimentais sugerem que a FGF-21 participa positivamente das vias inflamatórias relacionadas à lipotoxicidade, sua deficiência aumenta a inflamação sistêmica enquanto sua expressão em larga escala foi associada à efeitos antioxidativos (ADAMS, ASTAPOVA *et al.*, 2010; PLANAVILA, REDONDO *et al.*, 2013; ZHANG, SHAO *et al.*, 2013). O FGF-21 é preferencialmente expresso no fígado, mas também pode ser expresso no tecido adiposo, coração e nos rins (KIM, LEE *et al.*, 2013; PLANAVILA, REDONDO *et al.*, 2013).

Em um estudo que avaliou a função e a regulação do FGF-21 na patogênese da lesão renal aguda induzida por cisplatina, demonstrou-se que a supressão FGF-21 agravou a lesão renal tubular, enquanto a suplementação do receptor do FGF-21 (rFGF21) protegeu contra a nefrotoxicidade da cisplatina (LI, LIU *et al.*, 2018).

O FGF-21 reduziu a expressão gênica de citocinas pró-fibróticas, incluindo colágeno tipo IV, inibidor de ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) e fator de crescimento transformador (TGF- β) no rim de um modelo experimental de diabetes (KIM, LEE *et al.*, 2013). Acredita-se que a disfunção renal possa ser iniciada com a apoptose de células tubulares renais e que a administração de FGF-21 tenha um efeito anti-apoptótico. Em um modelo animal de lesão renal causada pela hiperlipidemia, o FGF-21 reduziu o acúmulo de lipídios nos rins, preveniu contra inflamação, estresse oxidativo, fibrose e apoptose (ZHANG, SHAO *et al.*, 2013). O FGF-21 também pode prevenir a fibrose induzida por hiperglicemia nas células mesangiais renais (KIM, LEE *et al.*, 2013), sugerindo ser um agente protetor contra os danos freqüentemente encontrados em pacientes com DRC.

Em modelos de nefropatia diabética, a administração diária de uma pequena dose de FGF-21 promoveu a melhora da função renal e das alterações morfológicas dos glomérulos (LI, GUO *et al.*, 2017). Além disso, a reposição rFGF21 promoveu melhora das alterações lipídicas no rim, incluindo lesões por estresse oxidativo (ZHAO, WANG *et al.*, 2017). O FGF-21 foi considerado mediador na via de proteção contra o dano renal nesse modelo, quando realizado o tratamento com fenofibrato (CHENG, ZHANG *et al.*, 2016).

O fenofibrato é um agonista de PPAR α e induz o aumento da expressão hepática de FGF-21, assim como medicamentos antidiabéticos, que podem mediar outros efeitos benéficos (ONG, RYE *et al.*, 2012; KIM E LEE, 2015). O tratamento com fenofibrato reduziu os marcadores de fibrose, estresse oxidativo e inflamação, além de reduzir o peso renal e a área glomerular desse modelo (ZHANG, SHAO *et al.*, 2013; CHENG, ZHANG *et al.*, 2016). No entanto, quando animais knock out para o FGF-21 e diabéticos foram avaliados, nenhuma das alterações foram melhoradas com o tratamento. Concluiu-se que o efeito do fenofibrato nos danos renais induzidos pelo diabetes são dependentes do FGF-21 (CHENG, ZHANG *et al.*, 2016).

Um fato que chama atenção é que no modelo de nefropatia diabética, a melhora do perfil lipídico, mediada pelo fenofibrato, é independente da expressão do FGF-21 (CHENG, ZHANG *et al.*, 2016; ZHANG, CHENG *et al.*, 2016). O FGF-21 pode suprimir diretamente os níveis de triglicerídeos e o acúmulo de lipídios nos tecidos renais, sem suprimir os níveis plasmáticos de triglicerídeos (ZHANG, SHAO *et al.*, 2013). Isso sugere que o efeito renoprotetor do FGF-21 deve-se, em grande parte, a seus efeitos redutores de lipídios, especificamente no rim, e não através da redução sistemática de lipídios (ZHANG, SHAO *et al.*, 2013; CHENG, ZHANG *et al.*, 2016; ZHANG, CHENG *et al.*, 2016).

Os dados clínicos encontrados na literatura contrastam fortemente com o papel protetor do FGF-21 apresentado nos estudos experimentais. Em estudos clínicos, os níveis séricos de FGF-21 aumentaram progressivamente com a perda da função renal e em pacientes com DRC, níveis mais altos de FGF-21 sérico foram correlacionados com pior perfil metabólico, maiores marcadores inflamatórios, mais comorbidades e maior mortalidade (ANUWATMATEE, TANG *ET AL.*, 2019; SUASSUNA, DE PAULA *et al.*, 2019).

3 JUSTIFICATIVA

É grande a preocupação sobre os riscos envolvidos na nefrectomia unilateral e suas consequências em longo prazo, principalmente nos doadores de rim que se tornam obesos após a doação. Estudos indicam que o indivíduo obeso é mais suscetível ao desenvolvimento de DRC, e que o excesso de peso pode reduzir a reserva renal (néfrons remanescentes) dos doadores que evoluem com obesidade após a nefrectomia.

A ativação do PPAR α , por meio do fenofibrato, foi considerado efetivo contra a lesão tubulointersticial causada pela obesidade. Para melhor esclarecimento dos mecanismos fisiopatológicos da lipotoxicidade renal causada pela dieta rica em gordura em associação com a sobrecarga funcional causada pela uninefrectomia, decidimos avaliar a ação do tratamento com fenofibrato sobre a função e morfologia da massa renal remanescente neste modelo.

4 HIPÓTESE DO ESTUDO

A hipótese do estudo é de que, após a indução da obesidade, os animais uninefrectomizados por apresentar reserva funcional renal diminuída serão mais susceptíveis à apresentarem as consequências da lipotoxicidade renal em comparação com os animais uninefrectomizados com peso normal. E que, o tratamento com fenofibrato, por meio da ativação do PPAR α trará benefícios à função renal por agir nas vias inflamatórias relacionadas ao processo de lesão causada pelo excesso de lipídios.

5 OBJETIVOS

Os objetivos foram divididos em geral e específicos.

5.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo foi avaliar as consequências da obesidade induzida pela dieta hiperlipídica sobre a reserva renal (função e morfologia) de camundongos C57BL/6

uninefrectomizados (modelo experimental que simula o contexto do paciente doador renal) e avaliá-los após ao tratamento com o fenofibrato, um ativador do PPAR α .

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Acompanhar a progressão para obesidade pelo consumo, ganho energético, ganho de peso, acúmulo de gordura e índice de Lee dos animais;

Analisar os marcadores da função renal: proteinúria de 24h, creatinina sérica e depuração da creatinina;

Analisar o perfil lipídico: triglicérides, colesterol e frações;

Avaliar a morfologia renal quanto à presença de expansão mesangial e fibrose intersticial;

Avaliar a deposição de lipídios (colesterol e triglicerídeos) no tecido renal;

Mensurar adiponectina e leptina no tecido renal;

Avaliar a resposta inflamatória no tecido renal pela presença de PAI-1, IL-1 β , IL-6, MCP-1, IFN- γ e FGF-21.

6 MATERIAL E MÉTODOS

A metodologia foi especificada em diferentes tópicos para melhor entendimento dos procedimentos experimentais realizados.

6.1 ANIMAIS

Foram utilizados 160 camundongos C57BL/6, machos, com 8 semanas de idade, pesando de 25g a 30g. Os animais foram obtidos a partir das colônias do Biotério do Centro de Biologia da Reprodução na Universidade Federal de Juiz de Fora (CIAEP 02.0048.2019), onde os experimentos foram conduzidos. Após o desmame com 3 semanas, os animais foram acondicionados em gaiolas individuais de polipropileno, providas de camas de maravalha e alojados em estantes climatizadas (Alesco Indústria e comércio Ltda., Monte Mor, Brasil). A água e a ração foram oferecidas à vontade e a temperatura ambiente mantida ao redor de 22°C, com iluminação natural e lâmpadas fluorescentes controladas automaticamente para acenderem às 6h e apagarem às 18h.

Os procedimentos necessários para a realização do trabalho estão de acordo com a lei federal 11.794 de 08 de outubro de 2008, com a regulamentação do Conselho Nacional do Controle Experimentação Animal e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora, conforme protocolos nº 034/2016 e 046/2018.

6.2 UNINEFRECTOMIA

Com 8 semanas de idade os animais foram aleatoriamente designados para uninefrectomia ou cirurgia controle (Sham). Para uninefrectomia, os camundongos foram anestesiados com a associação de xilazina (König S.A, Avellaneda, Argentina) na dose de 10mg/kg e cetamina (König S.A, Avellaneda, Argentina) na dose de 90mg/kg. O rim esquerdo foi removido cirurgicamente através de incisão abdominal mediana realizada sobre placa aquecida. A glândula suprarrenal foi cuidadosamente liberada a partir do polo superior da cápsula renal antes do pedículo renal ser desligado e o rim removido (WANG, HE *et al.*, 2012). Para a cirurgia Sham, o rim foi descapsulado sem ser retirado (GAI, GUI *et al.*, 2016). Durante o procedimento cirúrgico os animais foram re-hidratados com solução salina (0,9% de NaCl). Após a cirurgia todos os animais receberam dose única do analgésico Tramadol (12,5 mg/kg) via subcutânea. A analgesia pós-operatória constou de Tramadol (Laboratórios Pfizer Ltda., Guarulhos, Brasil) na forma de biscoito (3 mg/unidade de 5g) (Petfarma, Juiz de Fora, Brasil) por 3 dias e Paracetamol (EMS, Hortolândia, Brasil) na água (1 mg/ml) por 4 dias. Os animais, foram examinados de hora em hora durante as 6 primeiras horas e diariamente na primeira semana após a cirurgia. Durante todo o período de experimento os animais ficaram alojados em gaiolas individuais.

6.3 INDUÇÃO DA OBESIDADE

A obesidade foi induzida por meio de dieta hiperlipídica com 60% de energia proveniente das gorduras totais (origem animal) fornecendo um aporte energético de 5.625 Kcal/Kg (Pragsoluções S.A., Jaú, Brasil) (WANG, HE *et al.*, 2012) (Tabela 1). A dieta normocalórica utilizada como controle continha 5% de gorduras totais e 3.860 Kcal/kg de aporte energético (Nuvilab, Curitiba, Brasil) (Tabela 1). Os animais foram acompanhados durante 20 semanas a partir do primeiro dia após a cirurgia.

Tabela 1. Quadro comparativo da composição nutricional em % das dietas normocalórica e hipecalipídica

Componentes	Ração normocalórica	Ração hiperlipídica
<i>Matéria Mineral</i>	9%	7,8%
<i>Proteína bruta</i>	22%	27,7% (Isolada da soja)
<i>Extrato etéreo</i>	5%	37,3%
<i>Fibra bruta</i>	7%	0%
<i>Carboidratos</i>	57%	27,2% (8,6% sacarose)
<i>Total Kcal/kg</i>	3.860	5.625

6.4 TRATAMENTO COM FENOFIBRATO

O fenofibrato (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) foi adicionado à dieta controle e à dieta hiperlipídica na proporção de 0,02% (20 mg/kg/dia aproximadamente baseado no consumo diário de ração). A dieta foi oferecida à vontade aos animais a partir da 10ª semana de experimento e o tratamento persistiu por mais 10 semanas (Figura 5) (TANAKA, KUME *et al.*, 2011; CHUNG, LIM *et al.*, 2012; HONG, LIM *et al.*, 2014).

6.5 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Os 160 camundongos foram randomicamente divididos em seis grupos conforme delineamento experimental (Figura 5):

Sham (n=30): Neste grupo, 30 animais foram submetidos à cirurgia simulada, na qual o rim esquerdo foi desencapsulado, sem a retirada de nenhum órgão. Estes animais receberam dieta normocalórica durante todo experimento e foram realizadas eutanásias na 10ª semana (n=10) e na 20ª semana (n=20).

Sham OB (n=30): Neste grupo, 30 animais foram submetidos à cirurgia simulada, na qual o rim esquerdo foi desencapsulado, sem a retirada de nenhum órgão. Estes animais receberam dieta hiperlipídica durante todo experimento e as eutanásias foram realizadas na 10ª semana (n=10) e na 20ª semana (n=20).

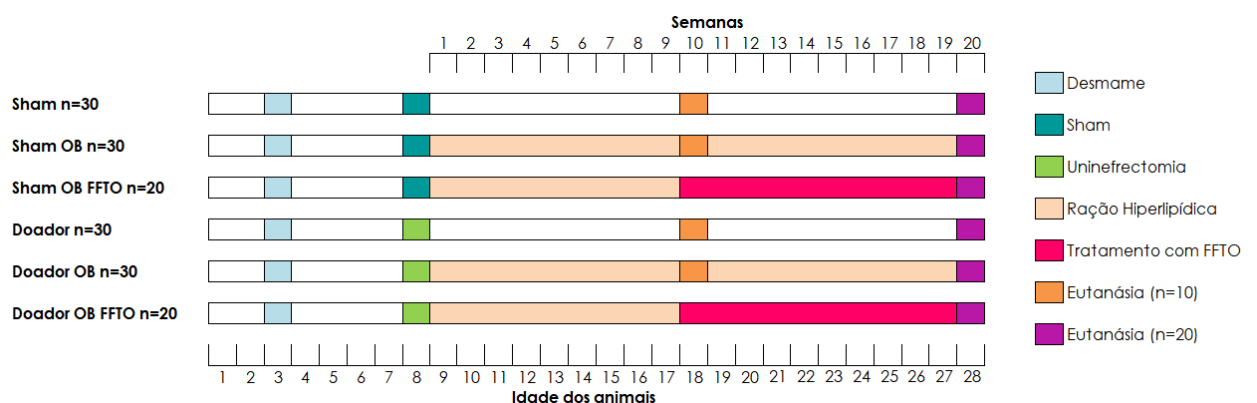
Sham OB FFTO (n=20): Neste grupo, 20 animais foram submetidos à cirurgia simulada, na qual o rim esquerdo foi desencapsulado, sem a retirada de nenhum órgão. Estes animais receberam dieta hiperlipídica durante 10 semanas e dieta hiperlipídica suplementada com 0,02% de fenofibrato durante as 10 semanas seguintes. Ao final da 20ª semana os animais foram eutanasiados.

Doador (n=30): Neste grupo, 30 animais foram submetidos à cirurgia de uninefrectomia, na qual o rim esquerdo foi removido. Estes animais receberam dieta normocalórica durante todo o experimento e foram realizadas eutanásias na 10ª semana (n=10) e na 20ª semana (n=20).

Doador OB (n=30): Neste grupo, 20 animais foram submetidos à cirurgia de uninefrectomia, na qual o rim esquerdo foi removido. Estes animais receberam dieta hiperlipídica durante todo o experimento e foram realizadas eutanásias na 10ª semana (n=10) e na 20ª semana (n=20).

Doador OB FFTO (n=20): Neste grupo, 20 animais foram submetidos à cirurgia de uninefrectomia, na qual o rim esquerdo foi removido. Estes animais receberam dieta hiperlipídica durante 10 semanas e dieta hiperlipídica suplementada com 0,02% de fenofibrato durante as 10 semanas seguintes. Ao final da 20ª semana os animais foram eutanasiados.

Figura 5. Delineamento experimental: Sham: cirurgia simulada. OB: Animais que receberão dieta hiperlipídica para indução da obesidade. FFTO: Animais que serão tratados com fenofibrato.



6.6 PROCEDIMENTOS DE EUTANÁSIA

No dia anterior às eutanásias, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas por 24 horas para coleta de urina. No dia seguinte, pesados e anestesiados com a associação de xilazina (10mg/kg) e cetamina (90mg/kg) aplicadas via intraperitoneal. Foi realizada punção cardíaca para obtenção de sangue e em seguida os animais foram eutanasiados por ruptura do diafragma (CLOSE, BANISTER *et al.*, 1997).

As amostras de sangue e urina foram centrifugadas à 3.000rpm durante 10 minutos em centrífuga refrigerada automática (Sorvall, Suwanee, EUA). Ambas as amostras foram acondicionadas em tubos criogênicos sob refrigeração a -80°C em ultra freezer vertical (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA) para posterior análise.

Após eutanásia dos animais, o rim direito foi retirado e pesado em balança de precisão (Ohaus Corporation, São Bernardo do Campo, Brasil). Metade do rim foi fixada em formol 10% destinado à histologia e outra metade dividida em duas partes. Uma dessas partes foi rapidamente colocada em solução tamponada RNAlater® (Qiagen, Inc. Ambion, Austin, TX) e armazenado a -80°C para posterior análise do DNA por qRT-PCR. A segunda parte foi congelada a -80°C para avaliação do conteúdo de lipídios no tecido.

6.7 PARÂMETROS AVALIADOS

Foram avaliados os seguintes parâmetros:

6.7.1 CONSUMO E GANHO ENERGÉTICO

O consumo alimentar foi estimado em gramas (g) em balança analítica (Bel Equipamentos Analíticos Ltda., Piracicaba, Brasil), a cada 4 semanas, a partir da pesagem das sobras de ração oferecida em quantidade conhecida no dia anterior. Foram realizados os cálculos das médias do consumo diário de cada animal (g/dia) e do ganho energético, expresso pela quantidade de Kcal consumidas diariamente (Kcal/dia).

6.7.2 GRAU DE OBESIDADE

Foram realizadas avaliações de peso, registrando-se de 4 em 4 semanas, o peso em gramas (g) de cada animal, em balança analítica (Bel Equipamentos Analíticos Ltda., Piracicaba, Brasil). O ganho de peso foi calculado a partir da subtração = peso final – peso inicial. As gorduras retroperitoneal e epididimária foram retiradas e pesadas em balança de precisão (Ohaus Corporation, São Bernardo do Campo, Brasil). No dia da eutanásia, os animais anestesiados foram medidos com auxílio de uma régua. O comprimento naso-anal foi mensurado em centrímetros (cm) e utilizado para o cálculo do índice de Lee = (raiz cúbica ($3\sqrt{\text{g}}$) do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm) x 1000) (DUBUC, 1976; ROGERS E WEBB, 1980). O grau de obesidade foi avaliado pelo peso absoluto, ganho de peso, peso da gordural retroperitoneal e epididimária, peso renal e índice de Lee nos pontos de interesse do estudo, 10^a e 20^a semanas após a nefrectomia/cirurgia controle.

6.7.3 FUNÇÃO RENAL

No dia anterior às eutanásias, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas, onde foi mensurado o volume total de diurese através da coleta de urina de 24 horas. Foram realizadas as dosagens de proteína e creatinina urinárias. Para a dosagem das proteínas urinárias foi utilizado o método vermelho de pirogalol (Sensiprot, Labtest, Lagoa Santa, Brasil) com leitura feita em aparelho de ELISA (Spectra Max 190, Molecular Devices, EUA), com absorvância de 580 nm. A quantificação da proteinúria de 24 horas foi expressa em mg/24h. A dosagem da creatinina urinária foi realizada pelo método de Jaffé modificado (Creatinina K, Labtest, Lagoa Santa, Brasil), com leitura em aparelho de ELISA (Spectra Max 190, Molecular Devices, EUA), em uma absorvância de 520 nm.

A creatinina sérica foi mensurada utilizando a mesma técnica da dosagem urinária, método de Jaffé modificado, e os resultados expressos em mg/dL. A depuração da creatinina foi calculada pela diferença entre o produto da creatinina urinária e o fluxo urinário de 24 horas, divididos pelo valor da creatinina sérica. Os valores obtidos foram expressos em ml/min.

6.7.4 LIPIDEMIA

As concentrações de triglicerídeos (TRGL, Cobas c111, Roche Diagnostics), colesterol total (CHOL2, Cobas, Roche Diagnostics) e frações (LDL e HDL, Cobas, Roche Diagnostics) foram determinadas no soro, após 20 semanas de experimento, pelo teste enzimático colorimétrico utilizando o sistema cobas c 111 (Roche Diagnostics, Risch-Rotkreuz, Suíça).

6.7.5 PRESENÇA DE LIPÍDIOS NOS RINS

O conteúdo lipídico foi extraído de uma amostra de tecido renal e os teores de triglicerídeos e colesterol foram determinados (DELANEY, NICOLOSI *et al.*, 2003; KUME, UZU *et al.*, 2007; SHIN, LIM *et al.*, 2009). Uma porção de aproximadamente 35mg de rim foi homogeneizada com 500µL da solução clorofórmio/metanol (2:1) utilizando beads de zircônio de 1.4mm em homogeneizador de tecidos (Precellys 24, Bertin Instruments, Montigny-le-Bretonneux, France). Foram então adicionados mais 1mL da solução clorofórmio/metanol (2:1) e 250 µL de água. Os tubos foram agitados em agitador automático (Variable Speed Vortex Mixer, Connecticut, USA) e após 10' de descanso foram centrifugados por 5' a 3000 rpm. A camada inferior foi transferida para um novo tubo que permaneceu overnight em mini-incubadora digital à 45°C (Benchmark Scientific, Sayreville, USA). Após evaporada a solução, 100µL de álcool isopropílico foi adicionado às amostras, submetido à agitação e colocado em banho maria à 45°C durante 30 minutos para solubilizar os lípidos. Após a incubação e novamente agitação das amostras, as concentrações de colesterol total e triglicerídeos foram determinadas enzimaticamente utilizando o teste enzimático colorimétrico (Colesterol Liquiform e Triglicérides Liquiform, Labtest, Lagoa Santa, Brasil) (TANAKA, KUME *et al.*, 2011; HONG, LIM *et al.*, 2014).

6.7.6 MORFOLOGIA RENAL

A metade do rim direito, destinada à histologia, foi fixada em formol 10%. Após a retirada do formol, o tecido foi embebido em paraplast (Erviagas, São Paulo, Brasil) para obtenção dos blocos histológicos. Os blocos foram cortados em micrótomo de rotação (Microm, Walldorf, Alemanha) obtendo-se cortes de cinco micrômetros (µ),

alocando-se 1 corte em cada lâmina. Foram utilizadas lâminas histológicas para microscopia (Easypath, Indaiatuba, Brasil) que foram submetidas às colorações de Hematoxilina-eosina e Sirius-red (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA). As lâminas foram examinadas e fotografadas com um microscópio Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Goettingen, Alemanha) acoplado à uma câmera digital para microscópio utilizando o software original do sistema Amscope (Amscope MU1000, Irvine, EUA).

6.7.6.1 Glomerulopatia

A avaliação da presença de alterações glomerulares foi realizada por observador sem o conhecimento do grupo ao qual o animal pertencia. As lâminas de 5 animais de cada grupo, com a coloração de Hematoxilina-eosina, foram utilizadas para análise. Foram fotografados 10 glomérulos que continham o pólo vascular por cada lâmina sob aumento de 40x. Na análise qualitativa, os glomérulos foram analisados e classificados como “sem expansão mesangial” ou “com expansão mesangial”. Também foi realizada morfometria para quantificação da área glomerular utilizando o software ImageJ 1.52n, expressa em pixels (National Institutes of Health, Bethesda Softworks, Rockville, EUA) (WANG, JIANG *et al.*, 2009; KIM, VAZIRI *et al.*, 2010).

6.7.6.2 Fibrose intersticial

A fibrose intersticial renal foi quantificada na coloração de Sirius Red sob a luz polarizada e considerada presente pela presença de áreas positivas (cor vermelha) e refringentes. Foram analisadas 10 fotomicrografias do cótex renal por animal, 5 animais de cada grupo, sob aumento de 20x. As áreas vermelhas brilhantes, foram quantificadas utilizando o software ImageJ 1.52n (National Institutes of Health, Bethesda Softworks, Rockville, EUA). O resultado da análise foi representado pela proporção da área positiva/área total da lâmina. Em seguida, a média aritmética da área positiva nos campos analisados foi calculada para cada lâmina (JIANG, WANG *et al.*, 2005; WANG, CHEN *et al.*, 2015).

6.7.7 CITOCINAS, HORMÔNIOS E PROTEÍNAS NO TECIDO RENAL

Uma porção de aproximadamente 35mg de tecido renal foi macerado em 1 ml de tampão (RIPA) a 4°C, para avaliação da quantidade de proteínas utilizado o kit Micro BCA Protein Assay (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA). Essa amostra foi utilizada para dosagem de citocinas, hormônios e proteínas.

6.7.7.1 Adipocitocinas

A concentração de citocinas e hormônios presentes no tecido foram analisadas por ELISA utilizando o kit MADCYMAG-72K-04 (Merck, Barueri, Brasil) para dosagem de adiponectina, leptina, resistina e PAI-1. O ensaio foi realizado no equipamento Bioplex 200 Systems com o software Bio-Plex Manager 5.0 (Biorad, Hercules, EUA) (CHEN, ZHANG *et al.*, 2006; PARK, ZHANG *et al.*, 2006; LEE, WILSON *et al.*, 2011). Os resultados foram expressos em pg/mg de proteínas no tecido renal.

6.7.7.2 Mediadores inflamatórios

A pesquisa da expressão de genes de interesse no rim através da técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) quantitativo em tempo real (qRT-PCR) foram realizadas no Laboratório Imunologia Clínica e Experimental, UNIFESP, São Paulo (LICE-UNIFESP). Utilizamos o sistema TaqMan (Applied Biosystems, Branchburg, New Jersey, USA) de amplificação que se constitui de uma mistura comercial de reagentes utilizados para a PCR (TaqMan Universal PCR Master Mix - Applied Biosystems) e mix de primers e sondas específicos “sintetizados” (Assay-on-demand 20x - Applied Biosystems). No sistema TaqMan o fluoróforo (FAM) que reporta a amplificação, encontra-se ligado à sonda e não aos primers. Em consequência, cada sonda que se hibridiza ao DNA complementar (cDNA), com subsequente extensão, gera o sinal referente à amplificação de apenas uma molécula alvo.

Todas amostras foram feitas em triplicata, contendo um volume final de reação de 10µL, dos quais 5µL de TaqMan Universal PCR Master Mix, 1µL de cDNA de cada amostra, 0,5µL de mix de primers e sondas e por fim 10 µL de água ultrapura. Quanto à técnica, as reações foram realizadas em termocicladora 7500 Real Time

PCR System (Applied Biosystem, Cingapura). Uma relação comparativa entre os ciclos da reação (CT) foi usada para determinar a expressão gênica do gene alvo em relação ao gene controle HPRT (Hypoxanthineguanine phosphoribosyltransferase - proteína constitutiva). Para o nosso experimento, foram utilizados os primers para: IL-6, IL-1 β , MCP-1, INF γ e FGF-21(Assayon-demand 20x - Applied Biosystems) (CORREA-COSTA, SEMEDO *et al.*, 2010; OLIVEIRA, MORAES *et al.*, 2012). Para cada amostra, os valores (CT) dos genes alvo foram normalizados pelo seu respectivo gene controle, e o valor usado para demonstrar a expressão relativa dos genes alvo através da expressão $2^{-\Delta\Delta CT}$ previamente descrita (LIVAK E SCHMITTGEN, 2001). Dessa maneira, níveis relativos de mRNA são expressos como uma diferença de “n” vezes em relação a uma amostra controle, em nosso caso sempre a mesma amostra na condição basal.

6.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para determinar a distribuição das variáveis. O teste de Levene foi usado para avaliar a homogeneidade das variâncias e a comparação entre os grupos foi feita utilizando teste t. Valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. Todos os cálculos estatísticos foram realizados no programa SPSS 15.0 (Chicago, EUA).

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Serão apresentados dois artigos de revisão e um artigo original como forma de resultados e discussão desta tese: 1. Primeiro artigo de revisão: *Modelos experimentais de obesidade: análise crítica do perfil metabólico e da aplicabilidade* dos autores: Bárbara Bruna Abreu de Castro, Kaique Arriel, Petrus Renó e Hélydy Sanders-Pinheiro foi submetido, aceito e publicado pela revista *HU Revista*; 2. Segundo artigo de revisão: *Renal Lipotoxicity in animal models of obesity* dos autores: Barbara Bruna Abreu de Castro, Orestes Foresto-Neto, Niels Olsen Saraiva Câmara e Hélydy Sanders-Pinheiro foi submetido à revista *Journal of Nephrology* e aguarda resultado; 3. Artigo original do trabalho: *O fenofibrato atenua a lipotoxicidade renal induzida por uma dieta rica em gordura em camundongos uninefrectomizados* dos

autores: Bárbara Bruna Abreu de Castro, Kaique Arriel, Petrus Renó, Bianca Silva, Fabiana Bonato, Marco Antonio Cenedeze, Niels Olsen Saraiva Câmara e Hélady Sanders-Pinheiro com os resultados dos experimentos.

7.1 PRIMEIRO ARTIGO DE REVISÃO

Castro, Bárbara Bruna Abreu; Arriel, Kaique; Renó, Petrus; Sanders-Pinheiro, Hélady. Modelos experimentais de obesidade: análise crítica do perfil metabólico e da aplicabilidade. **HU Revista**. v.44 n.2, p.199-210, abr./jun. 2018. <https://doi.org/10.34019/1982-8047.2018.v44.14053>.

7.2 SEGUNDO ARTIGO DE REVISÃO

Renal Lipotoxicity in animal models of obesity

Barbara Bruna Abreu Castro^{1,2} (0000-0002-5224-677X), Orestes Foresto-Neto³ (0000-0001-7548-4327), Niels Olsen Saraiva-Camara³ (0000-0001-5436-1248), and Helady Sanders-Pinheiro^{1,2} (0000-0001-8603-1331)

¹Laboratory of Experimental Nephrology, Nucleus of Animal Experimentation (NIDEAL), Center of Reproductive Biology (CBR), Federal University of Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora (MG), Brazil

²Nephrology Division and Interdisciplinary Nucleus of Studies and Research in Nephrology (NIEPEN), Federal University of Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora (MG), Brazil

³Department of Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo (USP), São Paulo (SP), Brazil

Abstract

In recent decades, there has been a progressive increase in the prevalence of obesity and chronic kidney disease. Renal lipotoxicity has been investigated as a mechanism underlying the pathophysiology of renal injury associated with obesity. Although lipids play fundamental physiological roles, the accumulation of lipids in kidney cells may

cause dysfunction and/or renal fibrosis. Adipose tissues that exceed their lipid storage capacity begin to release triglycerides into the bloodstream that can be stored in several organs, including the kidneys. The mechanisms underlying renal lipotoxicity involve intracellular hyperlipidemia and organelle dysfunction, which trigger oxidative stress and inflammation and result in insulin resistance and albuminuria. However, the specific pathways involved in renal lipotoxicity has not yet been fully understood. This review aimed to present the current knowledge on the mechanisms by which lipotoxicity affects the renal morphology/function in animal models of obesity. The accumulation of fatty acids in tubular cells has been described as the main mechanism of lipotoxicity; however, lipids and their metabolism also affect the function and the survival of podocytes. In this review, we presented evidence of mitochondrial, lysosomal, and endoplasmic reticulum alterations involved in kidney damage caused by obesity. The kidney is vulnerable to lipotoxicity, and studies of the mechanisms involved in renal injury caused by obesity can help to identify therapeutic targets to control renal dysfunction.

Keywords: High-fat diet; Hyperlipidemia; Kidney Diseases; Lipid Metabolism Disorders; Physiopathology.

Introduction

Changes in lifestyle have increased the prevalence of obesity and its complications. According to the World Health Organization (WHO), more than 1.9 billion adults (age >18 years) are overweight (39%); of these, 650 million individuals are obese (13%) [1]. Lipids [fatty acids (FAs), sterols, phospholipids, and triglycerides] are fundamental molecules in the physiology and metabolic homeostasis and interact with the immune response in multiple tissues. Excess calories are normally stored as triglycerides in the adipose tissue. In the case of obesity, where adaptive mechanisms are overloaded, lipid metabolism may impair immune regulation, thereby causing cellular and tissue stress [2].

However, the accumulation of excess lipids can also occur in other organs, including the kidneys, resulting in kidney damage by toxic/metabolic processes that are together defined as renal lipotoxicity [3]. The presence of lipids in the kidneys has already been described in humans and is related to inflammation and fibrosis [4]. The accumulation of lipids in renal cells has also been reported in animal models of obesity,

being associated with albuminuria, oxidative stress, inflammation, fibrosis, and alterations in cell signaling pathways of renal lipid metabolism [5-8]; however, little is known about the specific pathways that cause renal lesions associated with hyperlipidemia and obesity.

One of the most studied mechanisms associate obesity and chronic inflammation as the main cause of renal lesion, leading to hemodynamic stress and kidney function impairment [9]. New markers have been studied, and the role of lipids in the pathophysiology of obesity-related renal damage has been the target of new research [3].

This review aimed to present the current evidence related to the role of lipids (hyperlipidemia) in the pathophysiology of renal lipotoxicity in animal models of obesity. Original articles that evaluated the toxicity of lipids on renal function in experimental models of obesity (rats and/or mice) were included in this review. The search was performed in the PubMed electronic database, using the search expressions 1 — “obesity” AND “renal” AND “lipotoxicity” AND “mice” and 2 — “obesity” AND “renal” AND “lipotoxicity” AND “rat”. Original studies published in scientific journals in the last 6 years (2014-2019) and in English were included in the review. A total of 21 studies were found; of these, 6 were excluded because they did not meet the selection criteria and the scope of the study. In addition to the selected studies, secondary searches were performed with the terms “obesity”, “kidney”, “high-fat diet”, and “palmitic acid”. From this search, 3 other references were included to better elucidate the issues related to the objective of this review (Table 1).

Renal injury in obesity

The adipose tissue is known to influence the profile of immune response, and can consequently cause accumulation of extracellular matrix and renal fibrosis [9]. The inflammatory response triggered in adipose tissue is mediated by macrophages and the uncontrolled production and activation of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and cytokines, such as interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) [10, 11] (Figure 1).

The changes in the endocrine functions of adipose tissue interfere with the secretion of adipocytokines (leptin, resistin, apelin, visfatin, adiponectin, and omentin); this contributes to systemic inflammation and dysfunction of the endothelial cells that can also collaborate with other mechanisms of renal injury [12] (Table 2). Recent studies show that adiponectin maintains the integrity of podocytes, through their receptors, AdipoR1 and AdipoR2, and in the signaling pathway controlled by AMPc-activated protein kinase (AMPK), which is an important energy sensor with a critical role in regulating the accumulation of lipids in the kidneys [11, 12]. This anti-hyperglycemic adipocytokine decreases as the body mass index (BMI) increases and could be involved in glomerular filtration barrier dysfunction and proteinuria [13] (Figure 2).

Obesity can also lead to an increase in the levels of leptin, which stimulates the production of transforming growth factor-beta (TGF- β), one of the main factors that promote the accumulation of extracellular matrix and proliferation of mesangial cells [4, 14]. Obese individuals also frequently present high levels of resistin, an adipokine produced by macrophages located in adipose tissue and synthesized indirectly by the action of interferon- γ (IFN- γ), which is linked to insulin resistance in mice and humans [15, 16] (Figure 2).

The inflammation in adipose tissue results in lipolysis and hyperlipidemia, causing accumulation of FAs in mesangial, podocyte, and renal tubular cells. The combined dysfunction of these cells, the increase of the permeability of the glomerular capillaries and the presence of proteinuria induce the production of fibrosis mediators and glomerulosclerosis [4] (Figure 2).

Obesity induces hemodynamic and morphological kidney changes, regardless of the presence of hypertension, diabetes, and dyslipidemia, which in conjunction with inflammation and oxidative stress can impair renal function [9]. Following the recruitment of inflammatory cells to the kidney, reactive oxygen species (ROS) are produced and can change the blood pressure and renal hemodynamics and induce the expression of TGF- β and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1). The expression of these factors is regulated by nuclear factor kappa B (NF- κ B), and its increased expression is associated with oxidative injury in the proximate tubules [17] (Figure 2).

Lipotoxicity in kidney cells

Kidney cells are affected in different ways by excess FAs. Renal endothelial cells may undergo apoptosis due to the accumulation of FAs, and the loss of these cells induces inflammation and mesangial proliferation [18]. Renal tubular epithelial cells, particularly those of the proximal tubules [proximal tubular epithelial cells (PTECs)], that have abundant mitochondria are metabolically very active; therefore, they are more susceptible to damage by oxidative stress caused by the accumulation of lipids. In addition, changes in podocytes can also occur, given the low adaptive capacity of energy supply in the case of defective mitochondrial oxidation resulting from accumulation of FAs [19, 20].

The deposition of the FAs palmitate can lead to lipotoxicity and directly affect the function of the kidney cells. The uptake of lipids by the cells is mediated by FAs transport protein 1 (FATP1), fatty-acid-binding proteins (FABPs), and FAs translocase/CD36, in addition to endocytosis (e.g. albumin present in the glomerular filtrate) [21, 22]. The cellular accumulation of palmitate stimulates the biosynthesis of ceramides, which in turn, activates inflammatory pathways and inhibits FAs mitochondrial oxidation, interrupting the mitochondrial electron transport and energy production [23] (Figure 3). In mouse PTECs *in vitro*, palmitic acid, known to induce apoptosis and release extracellular inflammatory vesicles, was used to induce lipotoxicity. A CD36 overexpression was observed in this model with a consequent increase in intracellular transport of FAs, augmenting the susceptibility of tubular cells to lipotoxicity by apoptosis [24].

Once in the presence of FAs in excess, they are transported to the mitochondria where they are oxidized. The mitochondrial β -oxidation of FAs is an important source of renal ATP production. If the flux of FAs is greater than the oxidative capacity of the cells, FAs are stored in lipid droplets and form ROS [25]. The mechanisms underlying the harmful effects of an excess flux of lipids are directly related to the impact on the biophysical properties of cellular organelles, mainly of the mitochondria (Figure 3). FAs are the preferred energy substrate of the kidney, and their defective mitochondrial oxidation is involved in various mechanisms of renal injury [20-22] (Table 1).

In the cell cytoplasm, FAs (oxidized to acyl-CoA to make them permeable) bind to carnitine, allowing them to enter the mitochondria [26]. Carnitine

palmitoyltransferase-1 (CPT-1) in the outer mitochondrial membrane catalyzes the transesterification of acyl-CoA into acylcarnitine. This complex enters the mitochondrial matrix and is transported by CACT (carnitine-acylcarnitine translocase) and converted to acyl-CoA by CPT-2 (carnitine palmitoyltransferase-2). In the mitochondrial matrix, a serial cyclic process forms acetyl-CoA molecules that are finally fed into the tricarboxylic acid (TCA) cycle to generate NADH and FADH₂, subsequently generating ATP [21, 22, 27] (Figure 3).

CPT-1 is the rate-limiting enzyme in the oxidation of FAs, and its deficiency results in energy loss and kidney injury. The whole complex assembly during the transfer of electrons is facilitated by a conical structure exclusive to cardiolipin in the inner mitochondrial matrix. This structure promotes the curvature of the membrane and allows the respiratory complexes to form super complexes, facilitating a more efficient electron transfer [28] (Figure 3).

Cardiolipin is sensitive to ROS and, when peroxidized due to the accumulation of lipids, causes losses in the curvature of the mitochondrial crests, inhibits of electron transfer, and increases mitochondrial oxidative stress and progressive energy deficiency. In addition to these changes, the mitochondria can also undergo mitophagy (selective elimination of damaged mitochondria), apoptosis, chronic inflammation, and tissue remodeling [22].

Changes in the endoplasmic reticulum (ER) were investigated in the models of obesity and may be involved in apoptosis, resulting in proteinuria with eventual glomerulopathy [29, 30]. The ER is one of the main biosynthesis and lipid esterification centers. In chronic conditions of metabolic stress, caused by the excess of lipids, the deregulation of the ER functions leads to changes in the phospholipid composition of its membrane, interruption of calcium signaling, reduction in the translation of ER-associated proteins, and worsening of inflammatory responses through the activation of inflammatory kinases, such as protein kinase R (PKR) [2, 31].

The presence of lipid droplets in renal cells had already been described and is currently called renal steatosis [32]. These droplets are formed from the esterification of excess FAs with glycerol and are commonly found in the kidney cells, especially in the podocytes. This accumulation of lipid droplets may exacerbate the depletion of

energy metabolism of the kidney, which ultimately causes apoptosis, contributing to the pathogenesis of chronic kidney disease (CKD) [4].

Apoptosis and ER stress induced by saturation of FAs in the kidney were also associated with the increase of serum levels of angiotensin II and glucose, as well as the expression of kidney injury molecule-1 (KIM-1), a protein located in the membrane of the PTECs of injured kidneys in mice fed a high-fat diet (HFD) for 14 weeks [6]. The accumulation of FAs in PTECs was also associated with the progressive increase in albuminuria and renal injury in obese diabetic (Zucker) rats [33].

During the initial stress in the ER of PTECs, these cells may present adaptive and protective responses, but the persistent proteinuria together with hyperglycemia can lead to apoptosis, followed by inflammation and fibrosis [34]. Evidence also suggests that excess FAs bound to albumin are filtered by the glomeruli and reabsorbed in the proximal tubules, causing additional tubulointerstitial damage [35].

After reabsorption by PTECs, FAs transported and filtered bound to albumin, accumulate. The excess of intracellular FAs also causes dysfunction in the lysosomes, resulting in the accumulation of FAs in the form of triglycerides [17]. The inappropriate activation of autophagy resulting from lysosomal dysfunction may be another mechanism of damaging PTECs related to the overload of lipids [36]. In a mice diet-induced obesity model, changes in autophagic flux, lysosomal, and mitochondrial dysfunction were associated with renal lipotoxicity [37] (Table 1).

Therefore, the exhaustion of the oxidative capacity of the mitochondria and ER stress occur in the endothelial cells and PTECs. The formation of lipid droplets leads to the formation of ROS, triggering damage, such as ATP depletion, dedifferentiation, and cell death [18]. Furthermore, the abnormal accumulation of autophagic vesicles due to the deregulation of the lysosomal functions contributes to apoptosis followed by inflammation and interstitial fibrosis [29, 33] (Table 2).

Genes related to renal lipotoxicity

Renal lipotoxicity is attributed to the increase in lipogenesis and reduction of renal lipolysis, both regulated by lipid metabolism with the expression of different genes [38, 39] (Table 2). Some of the genes related to lipogenesis are sterol regulatory

element-binding proteins (SREBPs) and the peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR γ), whereas PPAR α acts to induce lipolysis [40, 41]. The pathways by which lipogenesis causes lipotoxicity to renal tissues involve an increase in the CD36 membrane protein and a decrease in the active form of phosphorylated AMPK (AMPKp) [42]. The activation of the PPAR α signaling pathway, in turn, is a protective lipolytic mechanism against kidney changes caused by obesity [41].

Renal injury triggered by the accumulation of lipids is associated with renal expression of SREBPs [43, 44]. In C57BL/6 mice, a HFD up-regulated the renal expression of the transcription factors SREBP1 and SREBP2, one of the main mechanisms of induction of FAs and cholesterol synthesis [44]. Corroborating these findings, SREBP1c knockout mice were protected against the accumulation of cellular lipids induced by a HFD [45]. One of the alternatives proposed for the control of lipid metabolism involves the suppression of hepatic expression of SREBPs through the activation of the Farnesoid X receptor (FXR), a nuclear receptor activated by bile acids. The treatment with an FXR activator reduced the accumulation of lipids in the kidneys and exhibited anti-inflammatory and anti-fibrotic effects [46].

The uptake of long-chain FAs contributes to the accumulation of lipids, and CD36 is a membrane protein that contributes to this process [18]. CD36 is highly expressed in PTECs, podocytes, and mesangial cells in CKD, and its activation induces PPAR γ expression [30]. PPAR γ is a transcription factor involved in the differentiation of adipocytes, is responsible for initiating adipogenesis and regulating fat storage, and may induce apoptosis of tubular cells [47]. In an obesity model (HFD 45% fat), in heterozygous animals for the PPAR γ gene, the reduction in the activity of this transcription factor attenuated the changes caused by the accumulation of lipids in the kidneys, suggesting that this may be a therapeutic strategy for CKD prevention associated with metabolic syndrome [48].

Lipotoxicity induced by nifedipine in rat renal cells was associated with the inhibition of the activity of AMPKp and increased transcription of SREBPs 1 and 2, lipin-1, and KIM-1. Lipin-1 is a phosphatase involved in the biosynthesis of glycerolipids. The chronic increase of the expression of KIM-1 leads to inflammation, featured by high levels of MCP-1 and tubulointerstitial fibrosis [30]. Regarding the lipolytic mechanisms, studies with AMPK showed that the consumption of a HFD by C57BL/6 mice promoted the accumulation of lipids in the kidneys, leading to

impairment of the structure of tubular cells, inflammation characterized by the increase in MCP-1, and fibrosis [5, 49]. After the activation of AMPK, there was a reduction in the expansion of the extracellular matrix, reduction of inflammation, and lipid accumulation in the kidneys. The mechanism by which such benefits occurred involved the reduction in lipid synthesis and increased use of FAs for energy metabolism. AMPK is a potent regulator of the NF- κ B system, NADPH oxidase, as well as TGF- β [5].

The deregulation of lipolysis can occur as part of the pathogenesis of diabetic kidney disease. Energy homeostasis in PTECs is of extreme importance for proper kidney function and the enzyme N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) transferase, specifically in PTECs, is essential for renal lipolysis and ATP production. The O-GlcNAc knockout mice developed severe tubular cell damage in induced diabetic kidney disease and had reduced FXR activity. FXR is positively regulated by carboxylesterase-1 that participates energy production from hydrolysis of long-chain FAs [50].

PPAR α and PPAR γ coactivator-1 α (PGC-1 α) are highly expressed in mesangial cells and PTECs, and regulate the transcription of genes involved in mitochondrial oxidation of FAs in the kidney [18, 21, 51]. The downregulation of the activity and expression of these genes results in the inhibition of mitochondrial FAs oxidation mediated by the inactivation of CPT-1 and acyl-CoA dehydrogenase (converter of acetyl-CoA into acyl-CoA) [52] (Figure 3).

Therapeutic approaches targeting renal lipotoxicity

The rapid increase in the prevalence of obesity requires deeper understanding of the lipid changes and the associated immunologic responses to develop targeted therapies to each of them. The renal and lipid metabolism changes observed in obesity have been reproduced in experimental studies using HFD or in cells cultured with a FAs-enriched medium [5, 24, 53-56].

The study of the natural history of CKD associated with obesity in humans is complex, since the clinical characteristics of the disease, such as the increase in albuminuria and the decrease in glomerular filtration rate (GFR), occur only after a long period of obesity [7]. Experimental studies over the past decades have identified new

therapies that can be effective when focused on the pathological mechanisms associated with renal lipotoxicity [57-59].

Given that low-grade systemic inflammation is the trademark of chronic metabolic disease, immunoregulatory or anti-inflammatory therapies may help reduce the harmful effects of FAs accumulation in the kidney. The use of drugs to reduce cholesterol and triglycerides, such as statins and fibrates, is a common example that may help to reduce lipid-induced inflammation [60, 61].

Drugs that promote the oxidation of FAs through the activation of PPAR- α , such as fenofibrate, were able to reduce the urinary excretion of albumin and interstitial fibrosis in models of diabetic nephropathy, suppressing the NF-KB, TGF- β , PAI-1, and MCP-1 signaling pathways [62-64]. However, rodents are more sensitive to PPAR- α signaling than humans; thus, the findings of this study on the effectiveness of fibrates should be interpreted cautiously [65].

PGC-1 α is capable of coordinating mitochondrial biogenesis, making it an interesting pharmacological target for kidney damage caused by defective mitochondrial oxidation. However, the signaling pathways by which it increases mitochondrial biogenesis remain uncertain [66].

The activation of AMPK reduces the initial and sustained inflammatory response in the kidney of experimental models of obesity. The specific activation of AMPK in the kidney was associated with an increased β -oxidation of FAs in obese mice induced by a HFD after treatment with 5-aminoimidazole-4-carboxamide-1-beta-4-ribofuranoside (AICAR), a drug that stimulates AMPK activity. A recent study showed that the production of eicosanoids, which are bioactive molecules derived from polyunsaturated fatty acids (PUFAs), is increased in the kidney of mice fed with a HFD and that this increase was attenuated by the activation of AMPK [67]. This can also be a potential strategy to protect the kidney from the initial effects of insulin resistance and obesity [49].

The adaptation of energy metabolism after compromised ATP production is also a potential target for reducing renal injury mediated by lipotoxicity [20]. The receptor-mediated lipid uptake is crucial in this process, besides other mechanisms that are involved in the mitochondrial function in glomerular endothelial cells, PTECs and podocytes [68]. Recent studies have demonstrated the action of renal cannabinoid

type 1 receptor (CB1R) in the mechanism of lipid accumulation in the kidneys. CB1R is associated with the decline in renal function, inflammation, and fibrosis in mice fed with a HFD [55]. When CB1R was blocked, an improvement was observed in the mitochondrial function of PTECs, reducing damage associated with renal lipotoxicity following FAs overload [69]. The administration of a mitochondrial membrane stabilizer peptide, SS-31, preserved the structure and function of the mitochondria, thereby preventing the injury of kidney cells and later glomerulosclerosis [54].

Few therapeutic possibilities involving lipid synthesis and oxidation pathways, as well as an intervention in the membrane receptors responsible for the uptake of FAs have been assessed to relieve the subsequent inflammation and mitochondrial and ER stress [31] (Table 1).

Final considerations

Lipotoxicity can occur in several organs, such as the liver, heart, and skeletal muscle. The kidney stands out for having a high degree of structural complexity critical for filtration, reabsorption, and secretion, as well as metabolic and endocrine functions. The accumulation of lipids in the tubular cells has been described as the main cause of lipotoxicity. In this review, we presented evidence of changes in lipid metabolism, causing damage to the function and morphology of the kidneys and reinforcing the hypothesis that the kidney is vulnerable to lipotoxicity and undergoes highly relevant metabolic alterations, which may induce cell death and inflammation. Changes in all types of kidney cells, involving mitochondrial and ER stress, are associated with kidney damage caused by obesity. Defective mitochondrial oxidation, resulting in reduction of ATP synthesis and production of ROS, is crucial in the pathogenesis of kidney injury associated with obesity. These mechanisms (Table 2), which are already well known, and others that can be further investigated in the future, suggest new therapeutic targets for the control or attenuation of kidney injury secondary to lipotoxicity.

Declarations***Funding***

Barbara Bruna Abreu de Castro is supported by the *Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais* (FAPEMIG) (0009/14 and 0008/14) and the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) (financial code 001).

Conflicts of interest/Competing interests

The authors declare that they have no conflict of interest.

Ethics approval

Not applicable' for that section

Consent to participate

Not applicable' for that section

Consent for publication

Not applicable' for that section

Availability of data and material

Not applicable' for that section

Code availability

Not applicable' for that section

Author contributions

All authors contributed to the conception of the study. The initial idea of the study was suggested by Helady Sanders-Pinheiro and Niels Olsen Saraiva-Camara. The first draft of the manuscript was written by Barbara Bruna Abreu Castro, who also conducted a literature survey and data analysis together with Orestes Foresto Neto. All authors commented on and critically reviewed earlier versions of the manuscript. All authors have read and approved the final manuscript.

Tables

Table 1. Main lesions related to renal lipotoxicity in animal models of obesity, in each study included in the review

Reference	Experimental model	Renal lesions related to lipotoxicity
Decleves et al., 2014 [5]	C57BL/6J mice, HFD (60% fat) for 14 weeks	Impairment of tubular cellular structure (lysosomal dysfunction), inflammation, and fibrosis
Martinez-Garcia et al., 2015 [53]	Cell culture of mice podocytes, medium with palmitic acid	Intracellular accumulation of lipid droplets and abnormal glucose and lipid metabolism. Inflammation, oxidative stress, endoplasmic reticulum stress, and insulin resistance
Van der Heijden et al., 2015 [7]	C57BL/6J mice, HFD (45% fat) for 24, 40, or 52 weeks	Increased kidney weight, lipid storage in renal tubular cells, an increase in area and glomerular matrix, inflammation, and fibrosis
Li et al., 2015 [6]	C57BL/6J mice, HFD (60% fat) for 14 weeks	Proteinuria and increased expression of markers of tubular injury in the renal cortex (NGAL and KIM-1)

Szeto et al., 2016 [54]	C57BL/6J mice, HFD (60%) for 28 weeks	Changes in the mitochondrial structure in glomerular endothelial cells, PTECs, and podocytes
Zhou et al., 2016 [41]	C57BL/6J mice, HFD (40% fat) for 12 weeks	Hypertrophy and expansion of mesangial area, inflammation, presence of lipid droplets, and increase of lipids content (mg/g) in the renal tissue of obese mice
Arany et al., 2016 [8]	C57BL/6J mice, HFD (60% fat) for 12 weeks	Deposition of lipids and oxidative stress in the kidney
Udi et al., 2017 [55]	C57BL/6J mice, HFD (30% fat) for 14 or 43 weeks	Tubulointerstitial and glomerular injury, inflammation, and fibrosis associated with CB1R activation
Yamamoto et al., 2017 [37]	NDRG1 mice, HFD (60% fat) for 8 weeks	Accumulation of phospholipids in the lysosomes of proximal tubular cells, and autophagic and mitochondrial dysfunction
Adeosun et al., 2018 [24]	Cell culture of mice PTECs, medium with palmitic acid	Low metabolic potential, low mitochondrial respiration, and increased intracellular triglyceride levels associated with CD36 expression
Cobbs et al., 2018 [33]	Zucker diabetic fatty rat (leptin deficiency)	Accumulation of FAs in the kidneys, mainly in the tubular cells, associated with increased albuminuria and expression of osteopontin and KIM-1
Lin et al., 2019 [30]	Cell culture of rat tubular epithelial, medium with nifedipine	Nifedipine induced the accumulation of FAs, the production of ROS, and the decrease of AMPKp

Li et al., 2019 [70]	Six-week old male C57BL6/J mice, HFD (60% fat) for 12 weeks	Endoplasmic reticulum stress, inflammation, and apoptosis in the renal cortex
Drori et al., 2019 [69]	Eight- to 10-week-old male mice, HFD (60% fat) for 7 days	The activation of CB1R, decline in mitochondrial function in PTECs
Sugahara et al., 2019 [50]	O-GlcNAc transferase knock-out mice, specific to PTECs, HFD (60% fat) for 16 weeks	Severe damage in tubular cells and increased lipotoxicity, a decrease in carboxylesterase-1 activity and consequently FXR activity
Decleves et al., 2019 [67]	Six-week-old male C57BL6/J mice, HFD (60% fat) for 14 weeks	Renal hypertrophy and accumulation of lipid droplets in renal tissue, albuminuria, glomerular inflammation mediated by the NF- κ B pathway, increase in MCP-1 and SREBPs, and reduction of AMPK
Zheng et al., 2019 [56]	Six-week-old male C57BL6/J mice, HFD (60% fat) for 20 weeks. Cell culture of mice renal microvascular endothelial, medium with palmitic acid	High levels of renal MicroRNA-155, microalbuminuria and increase in urea levels, increased inflammatory response in renal endothelial cells
Lee et al., 2019 [42]	Eight-week-old male C57BL6/J mice, HFD (60% fat) for 12 weeks	Accumulation of lipids and reduction of AMPKp levels in renal tissue, oxidative stress, and inflammation

HFD, high-fat diet; CB1R, kidney cannabinoid type 1 receptor; NGAL, neutrophil gelatinase-associated lipocalin; PTECs, proximal tubular epithelial cells; FAs, fatty acids; ROS, reactive oxygen species; AMPK, AMPc-activated protein kinase; AMPKp, phosphorylated AMPc-activated protein kinase; FXR, Farnesoid X receptor; NF- κ B, nuclear factor kappa B; MCP-1, monocyte chemoattractant protein-1; SREBPs, sterol regulatory element-binding protein

Table 2. Summary of the mechanisms involved in lesions caused by renal lipotoxicity

Mechanisms of injury		
Hemodynamics	Cellular	Molecular
Adipose and renal tissues	Endothelial cells, podocytes, and PTECs	Increased lipogenesis and reduction in lipolysis
Depletion of the storage capacity of the adipocytes	Accumulation of FAs in the kidney and exhaustion of the mitochondrial β -oxidative capacity	Increase of SREBPs (transcription factors related to lipogenesis)
Deregulation of adipocytokines and their functions in the kidney	Esterification of FAs with glycerol and formation of lipid droplets — renal steatosis	Down-regulation of the nuclear receptor FXR, reduction of carboxylesterase-1, and lipolysis
Hypertriglyceridemia and accumulation of FAs in renal tissues	Formation of ROS — oxidative Stress	Increased CD36 protein and in the uptake of FAs
Recruitment of macrophages in the adipose tissues and formation of ROS	ER and lysosomal dysfunction	Increased transcription of PPAR γ /activation of lipogenesis and reduction of PPAR- α /activation of lipolysis
Systemic inflammation	Apoptosis	Reduction in AMPK associated with low FAs β -oxidation
Martinez-Santibanez e Lumeng, 2014; Iwan-Zietek et al., 2016; Mancuso, 2016; Scerbo et al., 2017 [10-12, 25]	Szeto, 2017; Escasany et al., 2019; Lin et al., 2019; Jang et al., 2020 [17, 20, 22, 30]	Jiang et al., 2005; Wang et al., 2009; Gai, 2014 [39, 45, 46]

PTEC, proximal tubular epithelial cells; FAs, fatty acids; SREBPs, sterol regulatory element-binding proteins; FXR, Farnesoid X receptor; ROS, reactive oxygen species; ER, endoplasmic reticulum; PPAR γ , peroxisome proliferator-activated receptor γ ; PPAR α , peroxisome proliferator-activated receptor α ; AMPK, cAMP-activated protein kinase

Figures

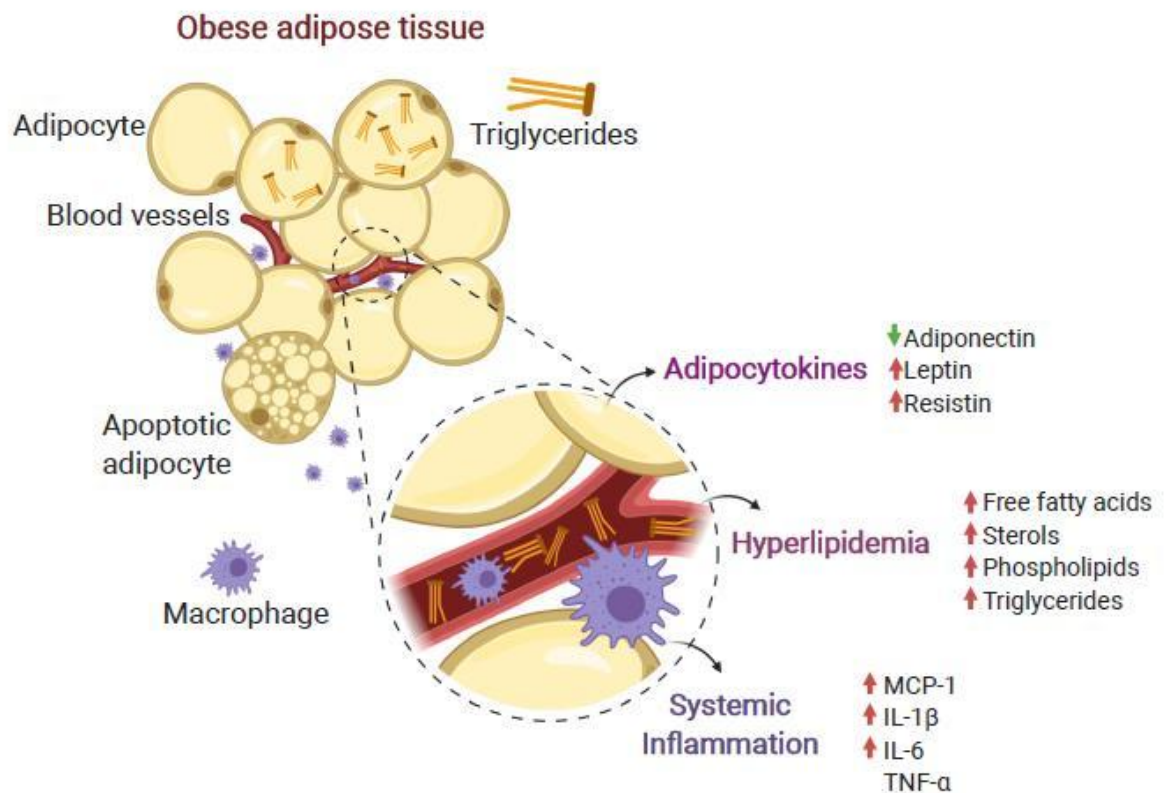


Fig. 1 Obesity as a cause of changes in endocrine functions, hypertriglyceridemia, inflammation of adipose tissues, and low-grade systemic inflammation. The depletion of triglyceride deposits in adipose tissues causes an increase in the size and number of adipocytes, which may lead to apoptosis. Adipocytes undergo deregulation of adipocytokine production, and systemic hyperlipidemia induces the production of proinflammatory factors in the tissue and bloodstream (Created with BioRender.com)

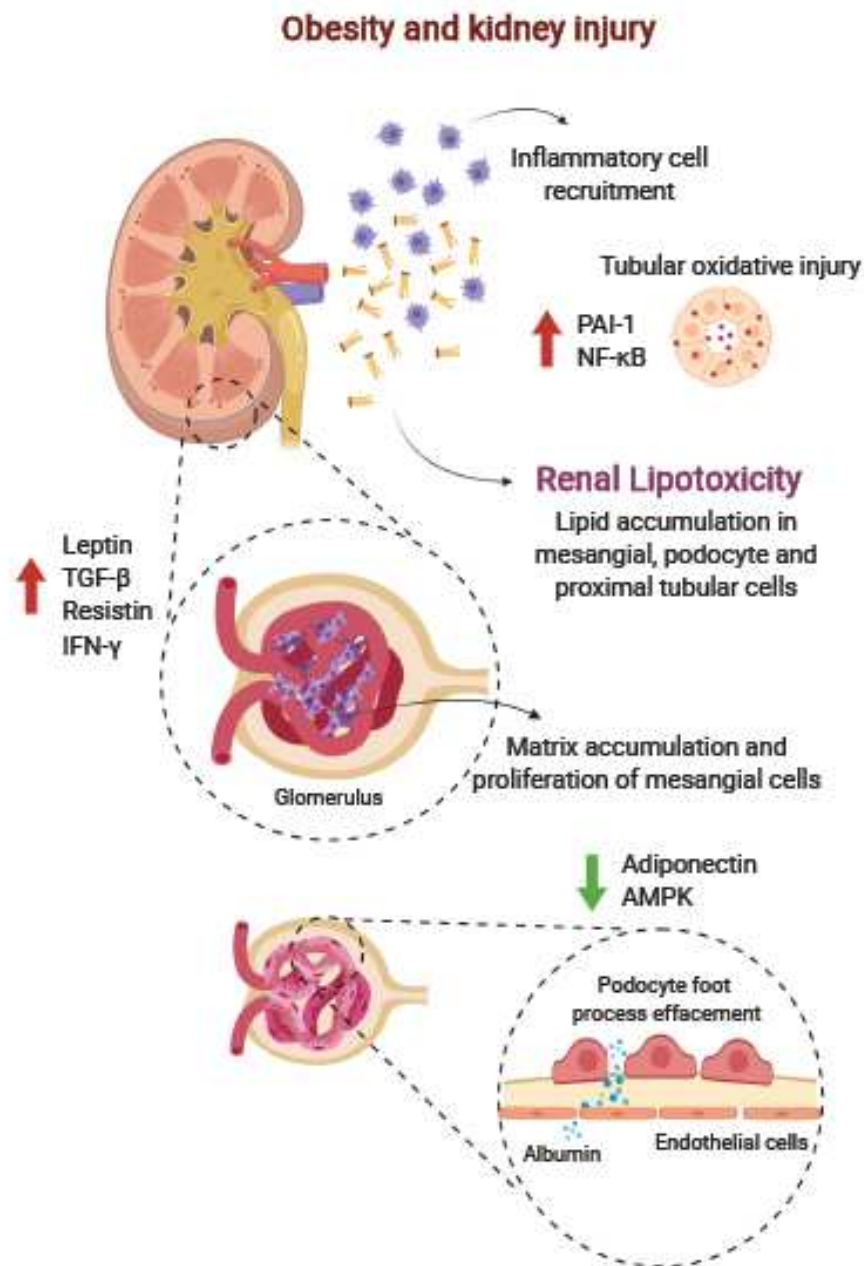


Fig. 2 Changes in different renal cells types resulting from obesity. Hyperlipidemia and low-grade systemic inflammation can cause changes in different renal cells. The accumulation of lipid droplets in the kidney and resulting inflammation harm tubular cells, causing structural damage mediated by the increased expression of PAI-1 and NF-κB. The endocrine changes of the tissue with the increase in leptin and resistin levels are related to the accumulation of mesangial matrix, proliferation of mesangial cells mediated by increased expression of TGF-β and IFN-γ, respectively. Decreased adiponectin levels, in turn, reduce the activation of their receptors on podocytes, as well as the activation of AMPK, causing more inflammation, podocyte foot process effacement, and increased permeability to albumin (Created with BioRender.com)

Overview of oxidative stress FA uptake and mitochondrial FA β -oxidation

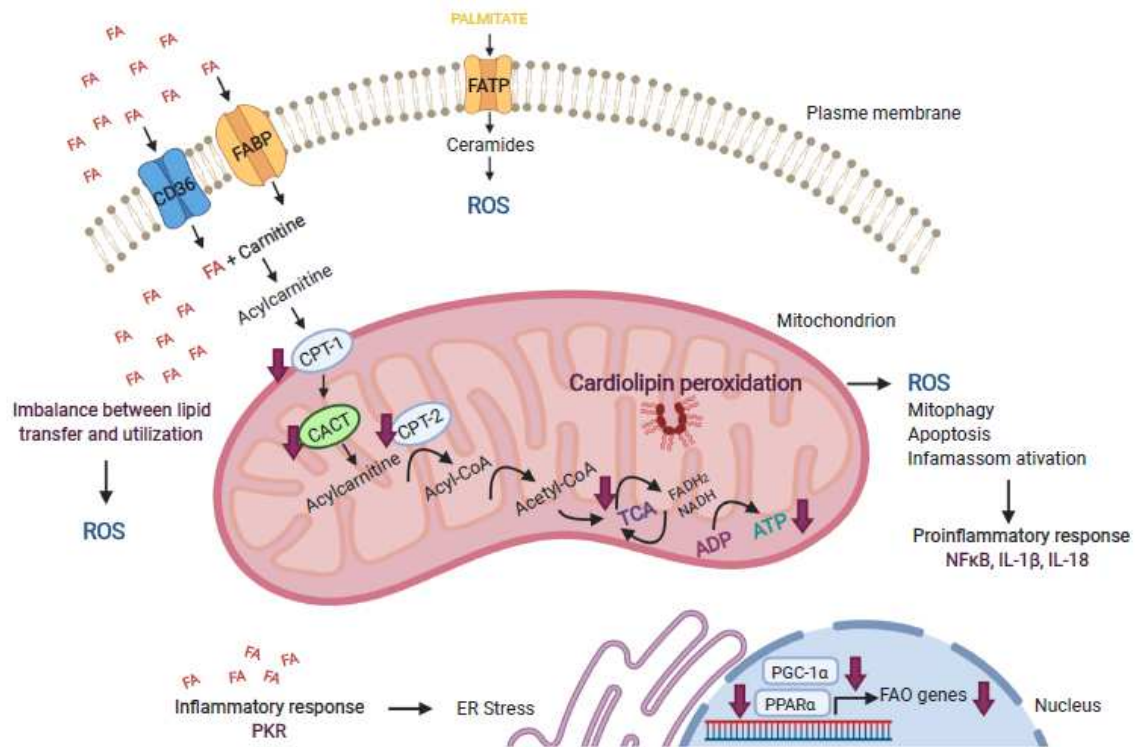


Fig. 3 Overview of oxidative stress in the uptake of fatty acids (FAs) and in mitochondrial β -oxidation. FAs enter the cytoplasm via CD36, FATP, and FABP, where they are converted from acetyl-CoA to acyl-CoA and transferred to the mitochondrial matrix by the following carnitine transporters: CPT-1, CACT, and CPT-2. Acyl-CoA undergoes β -oxidation to produce acetyl-CoA and enter the tricarboxylic acid (TCA) cycle. NADH and FADH₂ are generated and used in the respiratory chain to form ATP. In the scenario where there is a deficiency in the transfer and use of FAs, increased production of ceramides, cardiolipin peroxidation, and reactive oxygen species (ROS) occur, and the inflammatory response generated can lead to energy imbalance, ER stress, and deregulation of genes associated with the control of lipid metabolism (Created with BioRender.com)

References

1. WHO (2018) Fact sheet on obesity and overweight. Accessed 15th March 2018.
2. Ertunc ME, Hotamisligil GS (2016) Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment. *J Lipid Res* 57:2099-2114. <https://doi.org/10.1194/jlr.R066514>
3. Izquierdo-Lahuerta A, Martinez-Garcia C, Medina-Gomez G (2016) Lipotoxicity as a trigger factor of renal disease. *J Nephrol* 29:603-610. <https://doi.org/10.1007/s40620-016-0278-5>
4. D'Agati VD, Chagnac A, de Vries AP et al (2016) Obesity-related glomerulopathy: clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. *Nat Rev Nephrol* 12:453-471. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.75>
5. Decleves AE, Zolkipli Z, Satriano J et al (2014) Regulation of lipid accumulation by AMP-activated kinase [corrected] in high fat diet-induced kidney injury. *Kidney Int* 85:611-623. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.462>
6. Li C, Lin Y, Luo R et al (2016) Intrarenal renin-angiotensin system mediates fatty acid-induced ER stress in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol* 310:F351-F363. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00223.2015>
7. van der Heijden RA, Bijzet J, Meijers WC et al (2015) Obesity-induced chronic inflammation in high fat diet challenged C57BL/6J mice is associated with acceleration of age-dependent renal amyloidosis. *Sci Rep* 5:16474. <https://doi.org/10.1038/srep16474>
8. Arany I, Hall S, Reed DK et al (2016) Nicotine enhances high-fat diet-induced oxidative stress in the kidney. *Nicotine Tob Res* 18:1628-1634. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw029>
9. Hsu CY, McCulloch CE, Iribarren C et al (2006) Body mass index and risk for end-stage renal disease. *Ann Intern Med* 144:21-28. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-144-1-200601030-00006>
10. Martinez-Santibanez G, Lumeng CNK (2014) Macrophages and the regulation of adipose tissue remodeling. *Annu Rev Nutr* 34:57-76. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071812-161113>
11. Mancuso P (2016) The role of adipokines in chronic inflammation. *Immunotargets Ther* 5:47-56. <https://doi.org/10.2147/ITT.S73223>

12. Iwan-Zietek I, Ruszkowska-Ciastek B, Michalska M et al (2016) Association of adiponectin and leptin-to-adiponectin ratio with the function of platelets in morbidly obese patients. *J Physiol Pharmacol* 67:555-561. Accessed 25th August 2018.
13. Camara NOS, Iseki K, Kramer H et al (2017) Kidney disease and obesity: epidemiology, mechanisms and treatment. *Nat Rev Nephrol* 13:181-190.
<https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.191>
14. Wang TN, Chen X, Li R et al (2015) SREBP-1 mediates angiotensin II-Induced TGF- β 1 upregulation and glomerular fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 26:1839-1854.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2013121332>
15. Ruster C, Wolf G (2013) Adipokines promote chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 28:iv8-iv14. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft191>
16. Zhu Q, Scherer PE (2018) Immunologic and endocrine functions of adipose tissue: implications for kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 14:105-120.
<https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.157>
17. Escasany E, Izquierdo-Lahuerta A, Medina-Gomez G (2019) Underlying mechanisms of renal lipotoxicity in obesity. *Nephron* 143:28-32. <https://doi.org/10.1159/000494694>
18. Kang HM, Ahn SH, Choi P et al (2015) Defective fatty acid oxidation in renal tubular epithelial cells has a key role in kidney fibrosis development. *Nat Med* 21:37-46.
<https://doi.org/10.1038/nm.3762>
19. Muller-Deile J, Schiffer M (2014) The podocyte power-plant disaster and its contribution to glomerulopathy. *Front Endocrinol* 5:209. <https://doi.org/10.3389/fendo.2014.00209>
20. Jang HS, Noh MR, Kim J et al (2020) Defective mitochondrial fatty acid oxidation and lipotoxicity in kidney diseases. *Front Med* 7:65. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00065>
21. Simon N, Hertig A (2015) Alteration of fatty acid oxidation in tubular epithelial cells: from acute kidney injury to renal fibrogenesis. *Front Med* 2:52.
<https://doi.org/10.3389/fmed.2015.00052>
22. Szeto HH (2017) Pharmacologic approaches to improve mitochondrial function in AKI and CKD. *J Am Soc Nephrol* 28:2856-2865. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017030247>
23. Turpin SM, Nicholls HT, Willmes DM et al (2014) Obesity-induced CerS6-dependent C16:0 ceramide production promotes weight gain and glucose intolerance. *Cell Metab* 20:678-686. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2014.08.002>

24. Adeosun SO, Gordon DM, Weeks MF et al (2018) Loss of biliverdin reductase-A promotes lipid accumulation and lipotoxicity in mouse proximal tubule cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 315:F323-F331. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00495.2017>
25. Scerbo D, Son NH, Sirwi A et al (2017) Kidney triglyceride accumulation in the fasted mouse is dependent upon serum free fatty acids. *J Lipid Res* 58:1132-1142. <https://doi.org/10.1194/jlr.M074427>
26. Bhargava P, Schnellmann RG (2017) Mitochondrial energetics in the kidney. *Nat Rev Nephrol* 13:629-646. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.107>
27. Houten SM, Violante S, Ventura FV et al (2016) The biochemistry and physiology of mitochondrial fatty acid β -oxidation and its genetic disorders. *Annu Rev Physiol* 78:23-44. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021115-105045>
28. Szeto HH (2014) First-in-class cardiolipin-protective compound as a therapeutic agent to restore mitochondrial bioenergetics. *Br J Pharmacol* 171:2029-2050. <https://doi.org/10.1111/bph.12461>
29. Tang C, Cai J, Dong Z (2016) Mitochondrial dysfunction in obesity-related kidney disease: a novel therapeutic target. *Kidney Int* 90:930-933. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.07.045>
30. Lin YC, Wu MS, Lin YF et al (2019) Nifedipine modulates renal lipogenesis via the AMPK-SREBP transcriptional pathway. *Int J Mol Sci* 20:1570. <https://doi.org/10.3390/ijms20071570>
31. Nakamura T, Arduini A, Baccaro B et al (2014) Small-molecule inhibitors of PKR improve glucose homeostasis in obese diabetic mice. *Diabetes* 63:526-534. <https://doi.org/10.2337/db13-1019>
32. Bobulescu IA, Lotan Y, Zhang J et al (2014) Triglycerides in the human kidney cortex: relationship with body size. *PLoS One* 9:e101285. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0101285>
33. Cobbs A, Ballou K, Chen X et al (2018) Saturated fatty acids bound to albumin enhance osteopontin expression and cleavage in renal proximal tubular cells. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol* 10:29-38. Accessed 18th March 2019.
34. Lindenmeyer MT, Rastaldi MP, Ikehata M et al (2008) Proteinuria and hyperglycemia induce endoplasmic reticulum stress. *J Am Soc Nephrol* 19:2225-2236. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007121313>

35. Bobulescu IA (2010) Renal lipid metabolism and lipotoxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 19:393-402. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32833aa4ac>
36. Takabatake Y, Yamamoto T, Isaka Y (2017) Stagnation of autophagy: a novel mechanism of renal lipotoxicity. *Autophagy* 13:775-776. <https://doi.org/10.1080/15548627.2017.1283084>
37. Yamamoto T, Takabatake Y, Takahashi A et al (2017) High-fat diet-induced lysosomal dysfunction and impaired autophagic flux contribute to lipotoxicity in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 28:1534-1551. <https://doi.org/>
38. Gai Z, Hiller C, Chin SH et al (2014) Uninephrectomy augments the effects of high fat diet induced obesity on gene expression in mouse kidney. *Biochim Biophys Acta* 1842:1870-1878. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.07.001>
39. Gai Z (2014) Genome-wide profiling to analyze the effects of high fat diet induced obesity on renal gene expression in mouse with reduced renal mass. *Genom Data* 2:42-43. <https://doi.org/10.1016/j.gdata.2014.02.002>
40. Park CW, Zhang Y, Zhang X et al (2006) PPARalpha agonist fenofibrate improves diabetic nephropathy in Db/Db mice. *Kidney Int* 69:1511-1517. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000209>
41. Zhou Y, Lin S, Zhang L et al (2016) Resveratrol prevents renal lipotoxicity in high-fat diet-treated mouse model through regulating PPAR- α pathway. *Mol Cell Biochem* 411:143-150. <https://doi.org/10.1007/s11010-015-2576-y>
42. Lee ES, Kwon MH, Kim HM et al (2019) Dibenzoylmethane ameliorates lipid-induced inflammation and oxidative injury in diabetic nephropathy. *J Endocrinol* 240:169-179. <https://doi.org/10.1530/JOE-18-0206>
43. Jiang T, Liebman SE, Lucia MS et al (2005) Role of altered renal lipid metabolism and the sterol regulatory element binding proteins in the pathogenesis of age-related renal disease. *Kidney Int* 68:2608-2620. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00733.x>
44. Jiang T, Wang Z, Proctor G et al (2005) Diet-induced obesity in C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. *J Biol Chem* 280:32317-32325. <https://doi.org/10.1074/jbc.M500801200>
45. Jiang T, Liebman SE, Lucia MS et al (2005) Calorie restriction modulates renal expression of sterol regulatory element binding proteins, lipid accumulation, and age-related renal disease. *J Am Soc Nephrol* 16:2385-2394. <https://doi.org/10.1681/ASN.2004080701>

46. Wang XX, Jiang T, Shen Y et al (2009) The farnesoid X receptor modulates renal lipid metabolism and diet-induced renal inflammation, fibrosis, and proteinuria. *Am J Physiol Renal Physiol* 297:F1587-F1596. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00404.2009>
47. Arici M, Chana R, Lewington A et al (2003) Stimulation of proximal tubular cell apoptosis by albumin-bound fatty acids mediated by peroxisome proliferator activated receptor-gamma. *J Am Soc Nephrol* 14:17-27. <https://doi.org/10.1097/01.asn.0000042167.66685.ea>
48. Kume S, Uzu T, Araki S et al (2007) Role of altered renal lipid metabolism in the development of renal injury induced by a high-fat diet. *J Am Soc Nephrol* 18:2715-2723. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007010089>
49. Decleves AE, Mathew AV, Cunard R et al (2011) AMPK mediates the initiation of kidney disease induced by a high-fat diet. *J Am Soc Nephrol* 22:1846-1855. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011010026>
50. Sugahara S, Kume S, Chin-Kanasaki M et al (2019) Protein O-GlcNAcylation is essential for the maintenance of renal energy homeostasis and function via lipolysis during fasting and diabetes. *J Am Soc Nephrol* 30:962-978. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018090950>
51. Han SH, Wu MY, Nam BY et al (2017) PGC-1 α protects from notch-induced kidney fibrosis development. *J Am Soc Nephrol* 28:3312-3322. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017020130>
52. Jang HS, Noh MR, Jung EM et al (2020) Proximal tubule cyclophilin D regulates fatty acid oxidation in cisplatin-induced acute kidney injury. *Kidney Int* 97:327-339. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2019.08.019>
53. Martinez-Garcia C, Izquierdo-Lahuerta A, Vivas Y et al (2015) Renal lipotoxicity-associated inflammation and insulin resistance affects actin cytoskeleton organization in podocytes. *PLoS One* 10:e0142291. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142291>
54. Szeto HH, Liu S, Soong Y et al (2016) Protection of mitochondria prevents high-fat diet-induced glomerulopathy and proximal tubular injury. *Kidney Int* 90:997-1011. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.06.013>
55. Udi S, Hinden L, Earley B et al (2017) Proximal tubular cannabinoid-1 receptor regulates obesity-induced CKD. *J Am Soc Nephrol* 28:3518-3532. <https://doi.org/10.1681/ASN.2016101085>
56. Zheng C, Zhang J, Chen X et al (2019) MicroRNA-155 mediates obesity-induced renal inflammation and dysfunction. *Inflammation* 42:994-1003. <https://doi.org/10.1007/s10753-019-00961-y>

57. Henegar JR, Bigler SA, Henegar LK et al (2001) Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *J Am Soc Nephrol* 12:1211-1217. Accessed 13th July 2019.
58. Deji N, Kume S, Araki SI et al (2009) Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 296:F118-F126. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00110.2008>
59. Cano-Europa E, Ortiz-Butron R, Camargo EM et al (2016) A canola oil-supplemented diet prevents type I diabetes-caused lipotoxicity and renal dysfunction in a rat model. *J Med Food* 19:1041-1047. <https://doi.org/10.1089/jmf.2016.0019>
60. Arguello G, Balboa E, Arrese M et al (2015) Recent insights on the role of cholesterol in non-alcoholic fatty liver disease. *Biochim Biophys Acta* 1852:1765-1778. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.05.015>
61. Van Rooyen DM, Gan LT, Yeh MM et al (2013) Pharmacological cholesterol lowering reverses fibrotic NASH in obese, diabetic mice with metabolic syndrome. *J Hepatol* 59:144-152. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.02.024>
62. Sohn M, Kim K, Uddin MJ et al (2017) Delayed treatment with fenofibrate protects against high-fat diet-induced kidney injury in mice: the possible role of AMPK autophagy. *Am J Physiol Renal Physiol* 312:F323-F334. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00596.2015>
63. Chung KW, Lee EK, Lee MK et al (2018) Impairment of PPAR α and the fatty acid oxidation pathway aggravates renal fibrosis during aging. *J Am Soc Nephrol* 29:1223-1237. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017070802>
64. Tanaka Y, Kume S, Araki SI et al (2011) Fenofibrate, a PPAR α agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis. *Kidney Int* 79:871-882. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.530>
65. Kouroumichakis I, Papanas N, Zarogoulidis P et al (2012) Fibrates: therapeutic potential for diabetic nephropathy? *Eur J Intern Med* 23:309-316. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2011.12.007>
66. Whitaker RM, Corum D, Beeson CC et al (2016) Mitochondrial biogenesis as a pharmacological target: a new approach to acute and chronic diseases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 56:229-249. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010715-103155>
67. Declèves AE, Mathew AV, Armando AM et al (2019) AMP-activated protein kinase activation ameliorates eicosanoid dysregulation in high-fat-induced kidney disease in mice. *J Lipid Res* 60:937-952. <https://doi.org/10.1194/jlr.M088690>

68. Ruan XZ, Varghese Z, Moorhead JF (2009) An update on the lipid nephrotoxicity hypothesis. *Nat Rev Nephrol* 5:713-721. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2009.184>

69. Drori A, Permyakova A, Hadar R et al (2019) Cannabinoid-1 receptor regulates mitochondrial dynamics and function in renal proximal tubular cells. *Diabetes Obes Metab* 21:146-159. <https://doi.org/10.1111/dom.13497>

70. Li B, Leung JCK, Chan LYY et al (2019) Amelioration of endoplasmic reticulum stress by mesenchymal stem cells via hepatocyte growth factor/c-met signaling in obesity-associated kidney injury. *Stem Cells Transl Med* 8:898-910. <https://doi.org/10.1002/sctm.18-0265>

7.3 ARTIGO ORIGINAL

O fenofibrato atenua a lipotoxicidade renal induzida por dieta rica em gordura em camundongos uninefrectomizados

Bárbara Bruna Abreu de Castro^{1,2}; Kaique Arriel¹; Petrus Renó¹; Bianca Silva¹; Fabiana Bastos Bonato²; Marco Antônio Cenedeze³; Niels Olsen Saraiva Câmara^{3,4}; Helady Sanders-Pinheiro^{1,2}

¹Laboratory of Experimental Nephrology (LABNEX), Nucleus of Animal Experimentation (NIDEAL), Center of Reproductive Biology (CBR), Federal University of Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora (MG), Brazil

²Nephrology Division and Interdisciplinary Nucleus of Studies and Research in Nephrology (NIEPEN), Federal University of Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora (MG), Brazil

³Nephrology Division, Laboratory of Clinical and Experimental Immunology, Federal University of São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴Department of Immunology, Laboratory of Transplant Immunology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo (USP), São Paulo (SP), Brazil

Short-title: Fenofibrato protege contra a lipotoxicidade renal em camundongos com um único rim

Resumo

Como a lipotoxicidade renal pode levar à doença renal crônica (DRC), examinamos o papel da regulação positiva da lipólise, através da ativação do receptor ativado por proliferador de peroxissomo- α (PPAR- α) pelo fenofibrato (FFTO). A lipotoxicidade pode ser de mais lesiva no contexto de redução da massa renal como ocorre nos doadores renais que se tornam obesos **Objetivo:** Investigar o papel protetor do FFTO na lesão renal induzida pela obesidade em camundongos submetidos à uninefrectomia (UNX). **Material e métodos:** camundongos C57Bl6 foram submetidos à UNX, seguida por dieta normocalórica ou dieta hiperlipídica (HFD) e comparados à animais com cirurgia simulada (Sham). Após 10 semanas, os camundongos obesos foram tratados com FFTO a 0,02% na dieta. Avaliamos função e morfologia renal, mediadores inflamatórios e fibróticos e marcadores de metabolismo lipídico. **Resultados:** Camundongos que receberam HFD desenvolveram as principais características da obesidade e hiperlipidemia, com subsequente acúmulo renal de lipídios e lesão renal, incluindo expansão mesangial, fibrose intersticial, inflamação e proteinúria. Essas alterações foram mais acentuadas em camundongos alimentados com HFD submetidos à UNX. O tratamento com FFTO preveniu a hiperlipidemia e reduziu o acúmulo de lipídios e a disfunção renal. O FFTO impediu o desenvolvimento de glomerulosclerose e atenuou o desenvolvimento da inflamação e fibrose no rim. Houve também redução da expressão do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) e da proteína quimioatraente monocitária-1 (MCP-1) nas células renais, juntamente com a expressão de fator de crescimento de fibroblastos-21 (FGF-21). **Conclusão:** A ativação do PPAR- α pelo FFTO, com aumento da lipólise, atenuou as lesões glomerulares e túbulo-intersticiais induzidas pela lipotoxicidade renal, e assim protegeu o rim de camundongos uninefrectomizados da lesão induzida pela obesidade.

Palavras-chave: metabolismo lipídico, transplante renal, rim único, PPAR alpha, fator de crescimento de fibroblastos-21.

Keywords: lipidic metabolism, kidney transplantation, solitary kidney, PPAR alpha, fibroblast growth factor-21

Introdução

A prevalência de doença renal crônica (DRC) continua a aumentar entre os obesos. A obesidade e a síndrome metabólica são fatores de risco independentes para DRC e estão associados à hiperlipidemia, alterações nos níveis das adipocitocinas, aumento do estresse oxidativo, inflamação, fibrose e apoptose no rim, levando à deterioração da função renal (Shin, Lim *et al.*, 2009; Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Mancuso, 2016). Devido ao recrutamento de células inflamatórias para o rim, espécies reativas de oxigênio (EROs) são produzidas e podem alterar a pressão arterial e hemodinâmica renal, induzindo a expressão do inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1) (Escasany, Izquierdo-Lahuerta *et al.*, 2019). Por outro lado, chamamos de lipotoxicidade renal, as alterações na função e morfologia dos rins causadas pelo excesso de triglicerídeos (TG) ou ácidos graxos (AG) nas células do tecido renal que, principalmente, ativam a produção não controlada de citocinas inflamatórias e da proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1) (Shin, Lim *et al.*, 2009; Bobulescu, 2010; Zhang, Shao *et al.*, 2013; Decleves, Zolkipli *et al.*, 2014).

A lipotoxicidade renal associada à uninefrectomia (UNX), como ocorre no rim remanescente de doadores renais, pode agregar sinergisticamente fatores que contribuem para a progressão da DRC, porém seus mecanismos ainda não são claros (Hong, Lim *et al.*, 2014). Verificou-se em modelos animais que a UNX seguida de dieta com alto teor de gordura provoca glomerulosclerose caracterizada pela expansão da área de matriz mesangial e fibrose intersticial nos rins remanescentes de camundongos (Gai, Hiller *et al.*, 2014; Chin, Item *et al.*, 2015). A análise da expressão gênica do rim dos camundongos indicou que a obesidade leva a alterações mais intensas do que a UNX e que a dieta hiperlipídica (HFD) levou ao aumento da expressão de um grupo de genes relacionados ao metabolismo e ao transporte lipídico pela membrana. Na combinação das duas condições observou-se aumento da expressão de genes envolvidos no metabolismo e transporte lipídico, remodelação do citoesqueleto e fibrogênese (Gai, 2014; Gai, Hiller *et al.*, 2014).

Para diminuir os prejuízos causados pela lipotoxicidade renal, terapias que visam reduzir os TG séricos, as EROs e a inflamação vem sendo investigadas em modelos animais de obesidade (Van Rooyen, Gan *et al.*, 2013). O fenofibrato (FFTO), agonista do receptor ativado por proliferador de peroxissomo- α (PPAR- α), têm um efeito protetor nos danos renais induzidos por HFD em modelos animais (Shin, Lim *et*

al., 2009; Chung, Lim *et al.*, 2012). Em um modelo de UNX, o FFTO foi capaz de potencializar vias renais anti-inflamatórias dependentes da Interleucina-6 (IL-6), porém, estes animais não apresentavam excesso de peso (Lee, Wilson *et al.*, 2011).

O PPAR- α é o principal fator transcripcional que regula a deposição de lipídios intracelulares através do controle direto da transcrição dos genes envolvidos nas vias peroxissômicas e mitocondriais da oxidação dos AG, na captação dos mesmos e no catabolismo de TG (Martin, Schoonjans *et al.*, 1997; Shin, Lim *et al.*, 2009; Hong, Lim *et al.*, 2014; Chung, Lee *et al.*, 2018). Regula no fígado a expressão do fator de crescimento de fibroblastos-21 (FGF-21), que também pode ser expresso no tecido adiposo, coração e nos rins (Kim, Lee *et al.*, 2013; Planavila, Redondo *et al.*, 2013). O FGF-21 foi considerado mediador na via de proteção contra o dano renal em um modelo de obesidade, quando realizado o tratamento com FFTO (Cheng, Zhang *et al.*, 2016). Sendo assim, a ativação farmacológica do PPAR- α no rim pode ter potencial terapêutico por meio de seu efeito lipolítico atenuando os efeitos deletérios da lipotoxicidade (Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Chung, Lee *et al.*, 2018).

Neste estudo, investigamos o papel do agonista do PPAR- α , o FFTO, na lipotoxicidade renal associada à redução de massa renal, em modelo experimental com camundongos uninefrectomizados alimentados com uma dieta rica em gordura (HFD), que mimetiza o doador renal que se torna obeso (OB).

Material e métodos

Protocolo experimental

O estudo foi realizado de acordo com a lei federal 11.794 de 08 de outubro de 2008, com a regulamentação do Conselho Nacional do Controle Experimentação Animal e foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Juiz de Fora, conforme protocolo nº 046/2018. Camundongos C57BL/6, machos, com 8 semanas de idade, pesando aproximadamente 25g foram submetidos aos procedimentos de cirurgia simulada (Sham) ou UNX. Para a Sham, o rim esquerdo foi descapsulado sem ser retirado (Gai, Gui *et al.*, 2016) e para UNX, o mesmo foi removido através de incisão abdominal (Wang, He *et al.*, 2012). A analgesia pós-operatória constou de Tramadol (Laboratórios Pfizer Ltda., Guarulhos, Brasil) via

subcutânea (12,5 mg/kg) dose única e na forma de biscoito (3 mg/unidade de 5g) (Petfarma, Juiz de Fora, Brasil) por 3 dias. Paracetamol (EMS, Hortolândia, Brasil) foi adicionado na água (1 mg/ml) por 4 dias. A obesidade foi induzida por HFD com 60% de energia proveniente das gorduras totais (Pragsoluções S.A., Jaú, Brasil) (Wang, He *et al.*, 2012). O FFTO (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA) foi adicionado à HFD na proporção de 0,02% (20 mg/kg/dia) a partir da 10ª semana de experimento (Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Chung, Lim *et al.*, 2012; Hong, Lim *et al.*, 2014).

Para eutanásia, os animais foram mantidos em gaiolas metabólicas por 24 horas para coleta de urina e em seguida pesados e anestesiados com a associação de xilazina (10mg/kg) e cetamina (90mg/kg) aplicadas via IP. Foi realizada punção cardíaca para obtenção de sangue e em seguida os animais foram eutanasiados por ruptura do diafragma (Close, Banister *et al.*, 1997). O rim direito foi retirado e pesado em balança de precisão (Ohaus Corporation, São Bernardo do Campo, Brasil). Metade do rim dividida em duas partes e outra metade foi fixada em formol 10% destinado à histologia. Uma dessas partes foi congelada a -80°C para avaliação do conteúdo de lipídios no tecido. A segunda parte foi rapidamente colocada em solução tamponada RNAlater® (Qiagen, Inc. Ambion, Austin, TX) e armazenado a -80°C para posterior análise do RNA por PCR (Figura 1).

Avaliação do consumo dietético e ganho de peso

O consumo e o peso total dos animais foram estimados em gramas (g), em balança analítica (Bel Equipamentos Analíticos Ltda., Piracicaba, Brasil), a cada 4 semanas. Foi realizado o cálculo da média do consumo diário de cada animal e do ganho energético (expresso pela quantidade média diária de Kcal consumidas). O ganho de peso foi calculado a partir da subtração do peso final menos o peso inicial. As gorduras retroperitonal e epididimária foram retiradas e pesadas em balança de precisão (Ohaus Corporation, São Bernardo do Campo, Brasil). O comprimento naso-anal foi mensurado em centrímetros (cm) e utilizado para o cálculo do índice de Lee = (raiz cúbica ($^3\sqrt{}$) do peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm) x 1000) (Dubuc, 1976; Rogers e Webb, 1980) (Figura 1).

Análise de sangue e urina

Foram realizadas as dosagens nas 10^a e 20^a semanas. A proteinúria de 24 horas (Sensiprot, Labtest, Lagoa Santa, Brasil) foi expressa em mg/24h. As amostras de soro armazenadas foram utilizadas para dosagens de creatinina sérica (Creatinina K Liquiform, Labtest, Lagoa Santa, Brasil) e a depuração da creatinina foi calculada. Após 20 semanas de experimento, foram mensurados no soro: TG (TRGL, Cobas c111, Roche Diagnostics), colesterol total (CHOL2, Cobas, Roche Diagnostics) e frações HDL e LDL (Cobas, Roche Diagnostics) expressos em mg/dL (De Castro, Colugnati *et al.*, 2014) (Figura 1).

Extração lipídica e dosagem de lipídios no rim

O conteúdo lipídico foi extraído da amostra de tecido renal (35mg) e os teores de TG e colesterol foram determinados nos pontos de avaliação (10 e 20 semanas) (Delaney, Nicolosi *et al.*, 2003; Kume, Uzu *et al.*, 2007). A amostra foi homogeneizada com 500µL da solução clorofórmio/metanol e água e centrifugada por 5' a 3000 rpm. A camada inferior foi transferida para um novo tubo e após evaporação, 100µL de álcool isopropílico foi adicionado à amostra para solubilização dos lipídeos. As concentrações de colesterol total e TG foram determinadas utilizando o teste enzimático colorimétrico (Colesterol Liquiform e Triglicérides Liquiform, Labtest, Lagoa Santa, Brasil) (Shin, Lim *et al.*, 2009).

Análise histológica da glomerulopatia e fibrose

Metade do rim direito foi fixada em formol 10% e o tecido embebido em paraplast (Erviagas, São Paulo, Brasil) para obtenção dos blocos histológicos. Cortes de cinco micrômetros (µ), foram submetidos às colorações de Hematoxilina-eosina e Sirius-red (Sigma Aldrich, St. Louis, EUA). As lâminas foram examinadas e fotografadas com microscópio Axio Scope.A1 (Carl Zeiss, Goettingen, Alemanha) acoplado à câmara digital para microscópio utilizando o software original do sistema Amscope (Amscope MU1000, Irvine, EUA). Para avaliação da presença de alterações glomerulares, ao final do experimento (20 semanas), as lâminas de 5 animais de cada grupo foram coradas com Hematoxilina-eosina. Foram fotografados para análise 10

glomérulos com pólo vascular por lâmina, sob aumento de 400x. Cada glomérulo foi analisado de forma qualitativa e classificado como “Ausência” ou “Presença” de expansão mesangial configurada pela expansão do espaço mesangial que excede a largura de 2 células mesangiais em pelo menos 2 lóbulos glomerulares (Roberts, Cook *et al.*, 2009; Roufosse, Simmonds *et al.*, 2018). O resultado foi expresso em % de glomérulos com expansão mesangial por lâmina. Também foi realizada análise quantitativa da área glomerular utilizando o software ImageJ 1.52n (National Institutes of Health, Bethesda Softworks, Rockville, EUA) (Wang, Jiang *et al.*, 2009; Kim, Vaziri *et al.*, 2010) e os resultados expressos em pixels. A fibrose renal foi quantificada pela coloração de Sirius Red sob a luz polarizada, também ao final do experimento. Foram realizadas 10 fotomicrografias por animal (5 animais de cada grupo) sob aumento de 200x. As áreas vermelhas brilhantes, foram quantificadas utilizando o software ImageJ 1.52n (National Institutes of Health, Bethesda Softworks, Rockville, EUA). O resultado da análise foi representado pela proporção da área intersticial de fibrose no córtex/área cortical total (%). Em seguida, a média aritmética da área positiva nos campos analisados foi calculada para cada lâmina (Jiang, Wang *et al.*, 2005; Oliveira, Moraes *et al.*, 2012; Wang, Chen *et al.*, 2015).

Adipocitocinas e fator de crescimento PAI-1

Uma porção de aproximadamente 35mg de tecido foi macerado em 1 ml de tampão (RIPA Lysis Buffer) a 4°C, para avaliação da quantidade de proteínas utilizado o kit Micro BCA Protein Assay (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EUA). Nessa mesma amostra, a concentração de citocinas e hormônios presentes no tecido foram analisadas por ELISA utilizando o kit MADCYMAG-72K-04 (Merck, Barueri, Brasil) para dosagem de adiponectina, leptina, resistina e do fator pré-fibrótico PAI-1. O ensaio foi realizado no equipamento Bioplex 200 Systems com o software Bio-Plex Manager 5.0 (Biorad, Hercules, EUA) ao final do experimento (Chen, Zhang *et al.*, 2006; Park, Zhang *et al.*, 2006)

Mediadores inflamatórios e fibróticos por PCR quantitativa em tempo real (qRT-PCR)

No qRT-PCR foi utilizado o sistema TaqMan (Applied Biosystems, Branchburg, New Jersey, USA) de amplificação. Todas amostras foram feitas em triplicata e as reações foram realizadas em termocicladora 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystem, Cingapura). Uma relação comparativa entre os ciclos da reação (CT) foi usada para determinar a expressão gênica do gene alvo em relação ao gene controle HPRT (Hypoxanthineguanine phosphoribosyltransferase - proteína constitutiva (Correa-Costa, Semedo *et al.*, 2010; Oliveira, Moraes *et al.*, 2012). Para avaliação do efeito do FFO sobre o perfil inflamatório, após 20 semanas de experimento, foram utilizados primers e sondas “sintetizados” para IL-6, Interleucina-1 β (IL-1 β), MCP-1, Interferon- γ (IFN- γ) e FGF-21 (Assayon-demand 20x - Applied Biosystems) (Material suplementar 1). Para cada amostra, os valores (CT) dos genes alvo foram normalizados pelo seu respectivo gene controle, e o valor usado para demonstrar a expressão relativa dos genes alvo através da expressão $2^{-\Delta\Delta CT}$ previamente descrita (Livak e Schmittgen, 2001).

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média e desvio padrão. O teste de Kolmogorov-Smirnov foi utilizado para determinar a distribuição das variáveis. A comparação entre os grupos foi feita utilizando teste t ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição da amostra. Valores de $p < 0,05$ foram considerados significativos. Todos os cálculos estatísticos foram realizados no programa SPSS 15.0 (Chicago, EUA).

Resultados

Avaliação do modelo de UNX e obesidade em 10 semanas

O modelo de obesidade foi induzido pela HFD, uma vez que a grupo Sham OB, após 10 semanas apresentou: diminuição do consumo dietético, maior ganho de peso, peso total, quantidade de gordura e índice de Lee, quando comparado ao grupo Sham (Tabela 1). A obesidade também promoveu hiperfiltração e proteinúria, com maior

deposição de TG no tecido renal (Tabela 1). O grupo Doador (UNX) apresentou maior peso renal quando comparado ao grupo Sham, mas não houve alteração da função renal (Tabela 1). Com a obesidade e UNX combinadas (grupo Doador OB) observamos diminuição do consumo dietético, maior acúmulo de gordura e peso renal, aumento da proteinúria e da depuração da creatinina, quando comparado ao grupo Sham (Tabela 1).

Avaliação do modelo de obesidade após tratamento com FFTO

Após 20 semanas de experimento, observamos acentuação das alterações associadas a obesidade (peso e acúmulo de gordura) nos grupos Sham OB e Doador OB quando comparados ao grupo Sham. Os grupos com ingestão de HFD apresentaram menor consumo e maior peso total (Figura 2A, 2B e 2D). Não houve modificação do ganho energético (Figura 2C). Após o tratamento com FFTO (Doador OB FFTO), não houve alterações nos marcadores de obesidade quando comparado ao Doador OB (Figura 2B, 2E e 2F). Os camundongos uninefrectomizados apresentaram maior peso renal quando comparados ao grupo Sham (Figura 2G). O tratamento com FFTO durante 10 semanas não influenciou o consumo de nenhum dos dois grupos tratados, embora tenha sido capaz de evitar o ganho de peso e o acúmulo de gordura no grupo Sham OB FFTO, que apresentou menor Índice de Lee quando comparado ao grupo Sham (Figura 2H).

Perfil lipídico após tratamento com FFTO

O FFTO é uma droga utilizada principalmente para redução dos TG séricos, por isso realizamos uma avaliação do perfil lipídico do modelo de doação renal e obesidade. Comparados com camundongos Sham, os camundongos obesos (Sham OB) apresentaram aumento do colesterol e frações. Embora os níveis de TG não tenham sido elevados significativamente no grupo Sham OB, o tratamento com FFTO foi capaz de reduzir os níveis de TG e LDL quando comparados ao grupo Sham OB (Tabela 2). A obesidade nos animais após UNX elevou os níveis de colesterol e frações e tendeu a provocar aumento dos TG ($p=0,07$) quando comparado ao grupo

Doador. O grupo Doador OB FFTO apresentou redução do colesterol, LDL e tendência de redução dos TG ($p=0,07$) quando comparado ao grupo Doador OB (Tabela 2).

Função renal e glomerulopatia após tratamento com FFTO

A indução de obesidade nos grupos Sham OB e Doador OB foi associada, após 20 semanas, ao aumento da proteinúria (Figura 3A). O tratamento com FFTO atenuou o avanço da lesão causada pela obesidade, reduzindo a proteinúria no grupo com redução da massa renal (Doador OB FFTO) (Figura 3A). Entretanto não houve alteração na depuração da creatinina (Figura 3B e 3D). Na coloração de H&E, a área glomerular aumentou nos grupos com apenas um rim, independente da obesidade, e o tratamento com FFTO não alterou este parâmetro (Figura 3C, 3E). O percentual de glomérulos com expansão mesangial nos grupos Sham OB e Doador OB foi maior do que nos grupos Sham e Doador, respectivamente (Figura 3F, 3G). O grupo Sham OB FFTO apresentou redução de 50% do percentual de expansão mesangial comparado ao grupo Sham OB, enquanto o grupo uninefrectomizado tratado com FFTO (Doador OB FFTO) reduziu a expansão mesangial em 70%, quando comparados ao Doador OB (Figura 3G).

Depósito de lipídios nos rins e adipocitocinas após o tratamento com FFTO

O tratamento com FFTO foi capaz de reduzir os TG no tecido renal dos grupos tratados comparados aos seus respectivos grupos não tratados (Figura 4A). Os níveis de colesterol não se alteraram (Figura 4B). Após 20 semanas, além da maior deposição de TG no tecido renal, os grupos Sham OB e Doador OB apresentaram também alteração nos níveis de adipocitocinas no rim (Figura 4C). A adiponectina foi reduzida em ambos os grupos, enquanto os níveis de leptina estavam aumentados. Os níveis de adiponectina do grupo Sham OB FFTO se elevaram (Figura 4C) e os níveis de leptina do grupo Doador OB FFTO tenderam à serem reduzidos ($p=0,07$) em relação aos seus grupos controle sem tratamento (Figura 4D).

Perfil inflamatório no rim após tratamento com FFTO

O efeito da obesidade no acúmulo de lipídios nos rins está diretamente relacionado à inflamação. A resposta inflamatória desencadeada pelo excesso de lipídeos no rim foi mediada pela ativação das citocinas IL-6, IL-1 β , MCP-1 e IFN- γ tanto no grupo Sham OB, quanto no grupo Doador OB (Figura 5A, 5B, 5C e 5D). O tratamento com FFTO atenuou o quadro inflamatório gerado pela obesidade, reduzindo a expressão dessas citocinas no grupo Doador OB FFTO e Sham OB FFTO (Figura 5). Examinamos também a expressão de FGF-21 que é alvo do PPAR- α . O FGF-21 foi expresso em abundância nos grupos Sham OB, Doador e Doador OB e foi reduzido significativamente nos grupos tratados com FFTO (Figura 5E).

Expressão de PAI-1 e fibrose renal após tratamento com FFTO

A análise da coloração de Picrossírius sob luz polarizada mostrou que os grupos obesos apresentavam discreto aumento áreas com fibrose, enquanto os grupos Sham e Doador não apresentaram nenhum indício (Figuras 6A e 6C). Os grupos Sham OB FFTO e Doador OB FFTO apresentaram 33% e 75% menos fibrose, respectivamente, quando comparados aos grupos correspondentes sem tratamento (Figura 6A e 6B). A expressão de PAI-1 está associada ao estresse oxidativo e à inflamação, sendo utilizada como um marcador pré-fibrótico. Os grupos obesos não tratados apresentaram aumento significativo da expressão de PAI-1 e o tratamento com FFTO foi capaz de reduzir sua expressão nos grupos Sham OB FFTO e Doador OB FFTO (Figura 6D).

Discussão

O presente estudo abordou pela primeira vez o efeito do FFTO nos danos renais causados pela combinação entre sobrecarga renal causada pela UNX e alterações do metabolismo lipídico causadas pela obesidade. Nossos resultados mostraram que o tratamento de camundongos obesos uninefrectomizados por 10 semanas com FFTO não apenas preveniu a disfunção renal, avaliada pela proteinúria, reduziu a expansão mesangial de mais de 70%, mas também reduziu a inflamação e fibrose no tecido renal. Além disso, o tratamento reduziu TG e o colesterol plasmáticos

e o acúmulo de TG nos rins. Esse efeito benéfico do FFTO sobre a função e morfologia do rim foi associado com a redução da hiperlipidemia que consequentemente redução da sobrecarga renal causada pelo excesso de TG. O aumento do FGF-21 parece estar associado à inflamação causada pela obesidade e pela UNX e o tratamento com FFTO reduziu estes níveis.

Os grupos com obesidade induzida por HFD apresentaram diminuição da ingestão alimentar. O maior aporte energético desta dieta provoca maior saciedade aos animais, que ingerem porções menores quando comparados aos animais que consomem dieta normocalórica (Shin, Lim *et al.*, 2009; Pinhal, Lopes *et al.*, 2013). Assim como em outros estudos, a dose do FFTO oferecido na dieta correspondeu à uma dose aproximada de 20mg/kg/dia, baseada no consumo de HFD (Shin, Lim *et al.*, 2009; Chung, Lim *et al.*, 2012). Todos parâmetros utilizados para a avaliação da obesidade aumentaram nos grupos obesos. Como já observado em estudos anteriores, tratamento com FFTO atenuou os parâmetros de obesidade (Shin, Lim *et al.*, 2009; Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Chung, Lim *et al.*, 2012). Entretanto, de forma inédita, mostramos que este efeito foi inexistente no grupo obeso com a associação a redução da massa renal.

A hipertrofia renal causada pela UNX já havia sido descrita anteriormente em modelos animais (Gai, Hiller *et al.*, 2014; Chin, Item *et al.*, 2015). Após o tratamento com FFTO estes parâmetros não se alteraram, semelhante ao descrito em outro estudo que avaliou somente a UNX e o tratamento com o FFTO, sem a concomitância com a obesidade (Lee, Wilson *et al.*, 2011). Observamos também que os grupo uninefrectomizados e obesos (tratados ou não com FFTO) apresentaram maior depuração da creatinina (hiperfiltração), sugerindo que o dano renal devido à hiperfiltração relacionada à obesidade seja especialmente grave em conjunto com uma redução na massa renal (Henegar, Bigler *et al.*, 2001; Gai, Hiller *et al.*, 2014; Chin, Item *et al.*, 2015).

Lesões glomerulares, como glomerulosclerose, e albuminúria são observadas no estágio inicial da doença renal associada a anormalidades metabólicas, como redução da adiponectina e da lipólise e aumento da leptina e da lipogênese (Henegar, Bigler *et al.*, 2001; Van Der Heijden, Bijzet *et al.*, 2015; Iwan-Zietek, Ruszkowska-Ciastek *et al.*, 2016). Alterações estruturais e funcionais já haviam sido observadas em doadores de rim obesos (Praga, Hernandez *et al.*, 2000). Nossos achados

corroboram estes relatos uma vez que no grupo Doador OB encontramos 10x mais expansão mesangial nos glomérulos do que o observado no grupo Sham (Wang, He *et al.*, 2012; Gai, Hiller *et al.*, 2014; Gai, Gui *et al.*, 2016). Consistente com os achados anteriores em modelos de obesidade sem redução de massa renal (Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Chung, Lim *et al.*, 2012; Hong, Lim *et al.*, 2014; Sohn, Kim *et al.*, 2017), o tratamento com FFTO protegeu também de forma inédita contra o dano renal no grupo Doador OB FFTO, reduzindo a proteinúria e a expansão mesangial

A obesidade nos animais uninefrectomizados tendeu a provocar um estado de hiperlipidemia branda que foi reduzida após o tratamento com FFTO, como descrito por outros autores (Wang, He *et al.*, 2012; Gai, Hiller *et al.*, 2014). Os níveis de colesterol não se alteraram no modelo de UNX e obesidade, nem tampouco pelo tratamento com FFTO (Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Chung, Lim *et al.*, 2012). Assim como já observado no tecido cardíaco, a ação protetora do FFTO pode não ser unicamente dependente da redução dos níveis sistêmicos dos lipídios (Zhang, Cheng *et al.*, 2016). Em outros estudos, assim como o nosso, os efeitos renoprotetores do FFTO foram acompanhados pela diminuição do acúmulo de lipídios e da inflamação no rim (Tanaka, Kume *et al.*, 2011; Hong, Lim *et al.*, 2014). Estes achados sugerem que o efeito seja resultante do aumento da lipólise renal mediada pelo PPAR- α e que possa ser uma estratégia terapêutica na prevenção da esteatose e lipotoxicidade renais.

A ingestão de gorduras saturadas leva ao aumento da albuminúria e os marcadores inflamatórios potencializam a lesão em modelos de obesidade (Wang, He *et al.*, 2012; Pinhal, Lopes *et al.*, 2013). Corroborando estes relatos, encontramos acúmulo de lipídios no tecido renal juntamente com expressão elevada de citocinas inflamatórias, como IL-6, IL-1 β e IFN- γ , associado as anormalidades funcionais e estruturais no rim nos animais do grupo Doador OB (Sharma, 2009; Van Der Heijden, Bijzet *et al.*, 2015). Nossos dados demonstram que na obesidade, quando sobreposta a UNX, há maior expressão de MCP-1, e potencialmente maior lesão tubular mediada por macrófagos (Stemmer, Perez-Tilve *et al.*, 2012; Wang, He *et al.*, 2012). O tratamento com FFTO reduziu a resposta inflamatória nos animais uninefrectomizados e obesos, evidenciada pela redução da expressão tanto de MCP-1 quanto das citocinas inflamatórias, assim como relatado em um estudo anterior quando animais obesos foram tratados com FFTO (Tanaka, Kume *et al.*, 2011).

O FGF-21 foi expresso em abundância nos grupos Sham OB, Doador e Doador OB. Sua ação de redução no acúmulo de lipídios nos tecidos renais pode ocorrer sem correlação com os níveis plasmáticos de TG (Zhang, Shao *et al.*, 2013). O FFTO é um agonista de PPAR- α que induz o aumento da expressão hepática de FGF-21, entretanto não é conhecido se haveria mesmo comportamento no tecido renal (Ong, Rye *et al.*, 2012; Kim e Lee, 2015). Observamos redução significativa os níveis FGF-21 após a tratamento nos grupos com obesidade (Sham OB FF e Doador OB FF). O FGF-21 pode estar relacionado à inflamação e/ou ser mediador da ação do FFTO (Cheng, Zhang *et al.*, 2016). Pode ser também considerado um fator de resposta ao estresse celular, uma vez que alterações nas organelas citoplasmáticas estimulam sua expressão, o que poderia explicar sua maior expressão no grupo com nefrectomia e sem obesidade (Dostalova, Haluzikova *et al.*, 2009; Suassuna, De Paula *et al.*, 2019). E em estudos clínicos, os níveis séricos de FGF-21 aumentaram progressivamente com a perda da função renal, independente da presença de obesidade (Anuwatmatee, Tang *et al.*, 2019).

Em modelos de obesidade, o tratamento com FFTO reduziu os marcadores de estresse oxidativo, inflamação e fibrose (Zhang, Shao *et al.*, 2013; Cheng, Zhang *et al.*, 2016). Nosso estudo está em concordância com esses achados e demonstrou que o FFTO também é capaz de proteger o rim remanescente contra estas lesões. A expressão de PAI-1 está associada ao estresse oxidativo e à inflamação e é utilizada como um marcador pré-fibrótico. Assim como em outros estudos, observamos aumento da expressão de PAI-1 em animais obesos e sua redução após tratamento com FFTO (Chen, Zhang *et al.*, 2006; Tanaka, Kume *et al.*, 2011). Assim como descrito anteriormente, encontramos áreas de fibrose renal nos grupos obesos (Jiang, Wang *et al.*, 2005). A extensão da fibrose foi maior no rim remanescente dos animais obesos e o FFTO foi capaz de reduzir esta lesão, assim como relatado em modelo de obesidade sem redução da massa renal (Chen, Zhang *et al.*, 2006).

É importante citar as limitações do estudo. Embora semelhante ao descrito por outros autores, o modelo de obesidade desencadeou dislipidemia não acentuada (Wang, He *et al.*, 2012; Sohn, Kim *et al.*, 2017). As potenciais explicações podem ser a diferente susceptibilidade da colônia ou a menor capacidade de indução de alterações metabólicas da fonte utilizada de gorduras (Shin, Lim *et al.*, 2019) A dosagem do FGF21 circulante poderia auxiliar no esclarecimento das hipóteses da

sua correlação com os achados. A avaliação dos marcadores do metabolismo lipídico, como expressão proteica de SREBPs, expressão gênica do PPAR alfa, trariam melhor caracterização da atividade lipolítica e lipogênia tanto no modelo como após o tratamento com o FFTO.

Conclusão

Em conclusão, os efeitos da HFD no rim parecem ser potencializados em camundongos submetidos à UNX, como evidenciado pela maior proteinúria e expansão mesangial, na 10^a. semana de experimento. Isso também foi confirmado pelo acúmulo de lipídeos no rim e pelo grau de fibrose renal nos camundongos do grupo Doador OB. O tratamento com o FFTO melhora a dislipidemia e a disfunção renal causada pela obesidade em camundongos uninefrectomizados, além de reduzir o acúmulo lipídico renal e as alterações morfológicas. A ativação do PPAR- α pelo FFTO limitou a inflamação e a fibrose no rim induzida pela obesidade. Estes resultados fornecem evidências de que a ação farmacológica do FFTO pode ser explorada como estratégia terapêutica contra a lesão renal causada pela obesidade em doadores de rim.

Tabelas

Material suplementar 1. Primers e sondas utilizadas no qRT-PCR.

Gene alvo	Sentido	Anti-sentido
IL-6	TCTCTGCAAGAGACTTCCATCC	AGACAGGTCTGTTGGGAGTG
IL-1 β	GGATGATGATGATAACCT	CATGGAGAATATCACTTGTGG
MCP-1	CAAGATGATCCCAATGAGTAG	TTGGTGACAAAACTACAGC
IFN- γ	TGAACCCTGTCGTATGCTGGGAAT	TTAGCTTTAACTCTTGGCCCAGGCA
FGF 21	CTGCGCCTACCACTGTTCC	CTGCGCCTACCACTGTTCC

IL-6, Interleucina-6; IL-1 β , Interleucina-1 β ; MCP-1, proteína quimioatratante monocitária-1; IFN- γ , Interferon- γ ; FGF-21, fator de crescimento de fibroblastos-21.

Tabela 1. Parâmetros metabólicos e de função renal dos animais submetidos a cirurgia Sham ou UNX e à dieta normocalórica ou HFD, após 10 semanas de experimento.

Parâmetros	10 Semanas			
	Sham (N=9)	Sham OB (N=10)	Doador (N=8)	Doador OB (N=8)
Consumo (g/dia)	3,6±0,7	2,2±0,3 ^a	4,2±0,7	2,6±0,3 ^{ab}
Ganho energético (Kcal/dia)	14,0±2,7	12,4±1,8	16,2±2,3	14,8±1,8
Peso total (g)	27,2±1,1	29,8±3,3 ^a	25,2±0,9 ^a	27,7±2,9 ^b
Ganho de peso (g)	3,0±2,0	6,5±1,9 ^a	3,4±1,8	4,4±2,1
Gordura total (g)	0,41±0,17	1,46±0,66 ^a	0,19±0,08 ^a	1,03±0,38 ^{ab}
Peso renal (g)	0,17±0,01	0,15±0,01 ^a	0,20±0,03 ^a	0,20±0,01 ^a
Índice de Lee (g/cm ³)	310±6	318±6 ^a	306±5	308±6
	Sham (N=3)	Sham OB (N=3)	Doador (N=3)	Doador OB (N=3)
Proteinúria (mg/24h)	2,1±1,2	9,0±2,6 ^a	1,0±1,1	10,9±1,5 ^{a b}
Relação Proteína/Creatinina	2,2±0,5	2,7±0,2	1,6±0,6	2,5±0,1
Creatinina sérica (mg/dL)	1,0±0,1	0,9±0,1	0,9±0,1	0,9±0,1
Depuração da creatinina (mL/min)	0,06±0,04	0,25±0,09 ^a	0,04±0,03	0,34±0,07 ^{ab}
	Sham (N=4)	Sham OB (N=4)	Doador (N=4)	Doador OB (N=4)
TG no rim (mg/g de tecido)	2,91±0,87	4,06±0,25 ^a	3,29±0,25	4,56±1,40
Colesterol no rim (mg/g de tecido)	3,60±0,25	3,51±0,24	3,83±0,24	4,67±1,18

Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição. ^a p<0,05 vs. Sham, ^b p<0,05 vs. Doador

Tabela 2. Perfil lipídico dos grupos estudados após 20 semanas de experimento.

	Sham (N= 9)	Sham OB (N=10)	Sham OB FFTO (N=10)	Doador (N=10)	Doador OB (N=10)	Doador OB FFTO (N=9)
TG sérico (mg/dL)	89,9±25,4	102,7±37,2	58,0±17,1 ^c	79,5±14,6*	113,9±51,4	79,4±21,2*
Colesterol sérico (mg/dL)	83,4±11,2	185,0±15,0 ^a	213,9±14,5 ^c	95,2±8,5 ^a	194,5±35,1 ^{ab}	229,7±17,1 ^d
HDL sérico (mg/dL)	73,9±8,8	146,6±8,4 ^a	176,8±28,4 ^c	87,6±6,7 ^a	168,8±19,6 ^{ab}	186,1±21,7
LDL sérico (mg/dL)	8,9±1,8	34,6±4,0 ^a	13,6±1,5 ^c	38,0±8,6 ^a	61,2±11,9 ^{ab}	53,4±12,5 ^d

Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição.

^a p<0,05 vs. Sham; ^b p<0,05 vs. Doador; ^c p<0,05 vs. Sham OB; ^d p<0,05 vs. Doador OB e

*p=0,07 vs. Doador OB

Figuras

Figura 1. Delineamento experimental. Sham, cirurgia simulada; OB, obeso; FFTO, fenofibrato, UNX, uninefrectomia; HFD, dieta hiperlipídica.

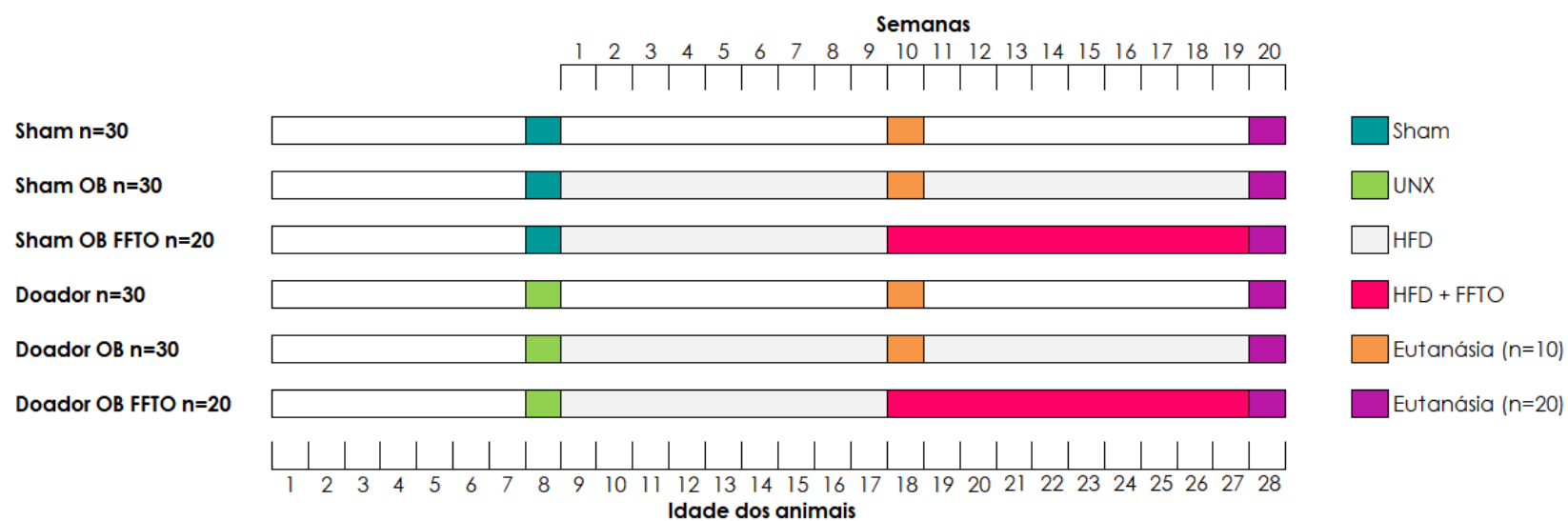


Figura 2. Avaliação do modelo de UNX e obesidade após tratamento com FFTO. A e D: evolução do ganho de peso durante as 20 semanas de experimento; B, C, E-H: dados da 20ª semana. Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição. ^a $p < 0,05$ vs. Sham; ^b $p < 0,05$ vs. Doador; ^c $p < 0,05$ vs. Sham OB e ^d $p < 0,05$ vs. Doador OB.

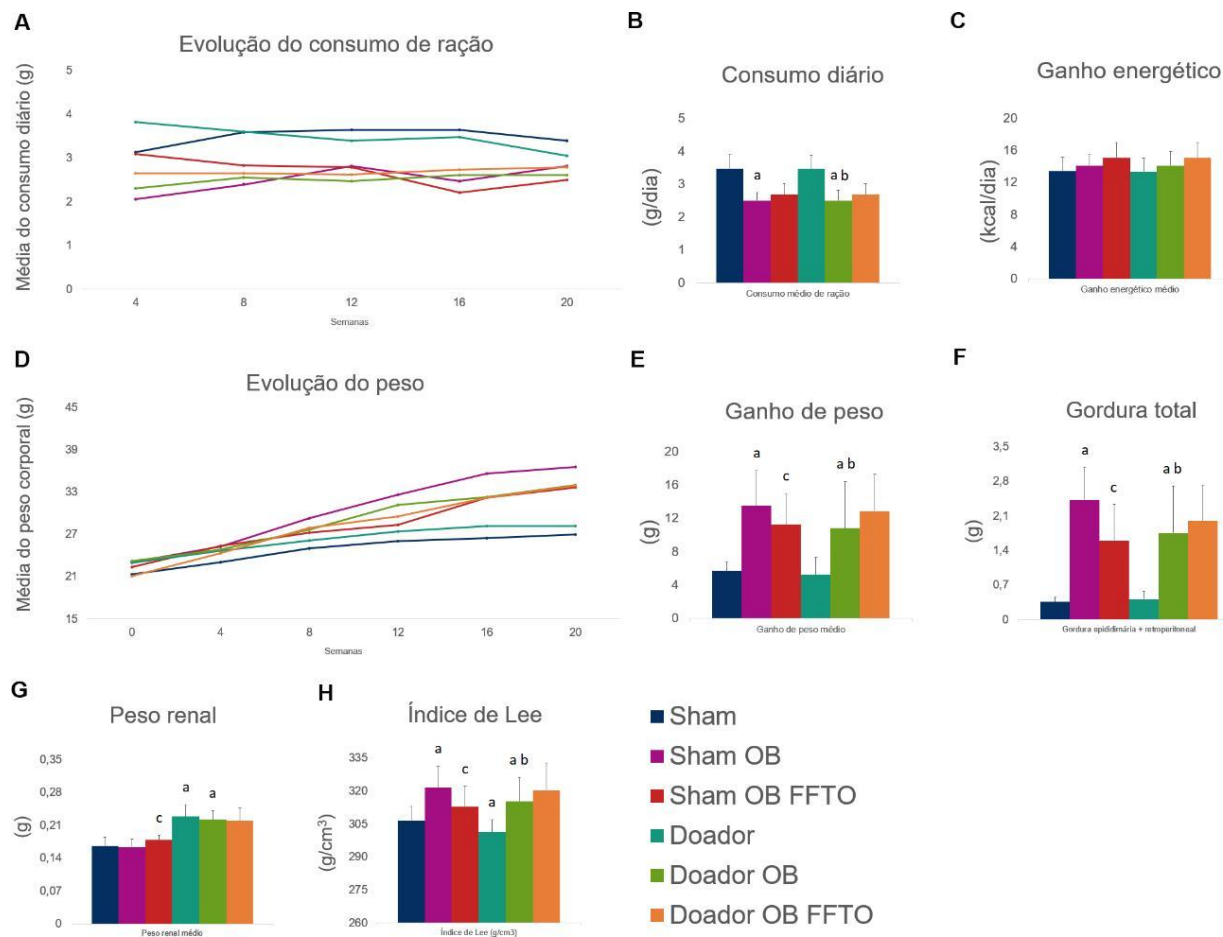


Figura 3. Função renal (A, B, D, E) e avaliação da morfologia glomerular (C: H&E, 400x; D: morfometria para expansão mesangial) após tratamento com FFTO adicionado à dieta por 10 semanas. Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição. ^a $p < 0,05$ vs. Sham; ^b $p < 0,05$ vs. Doador; ^c $p < 0,05$ vs. Sham OB e ^d $p < 0,05$ vs. Doador OB.

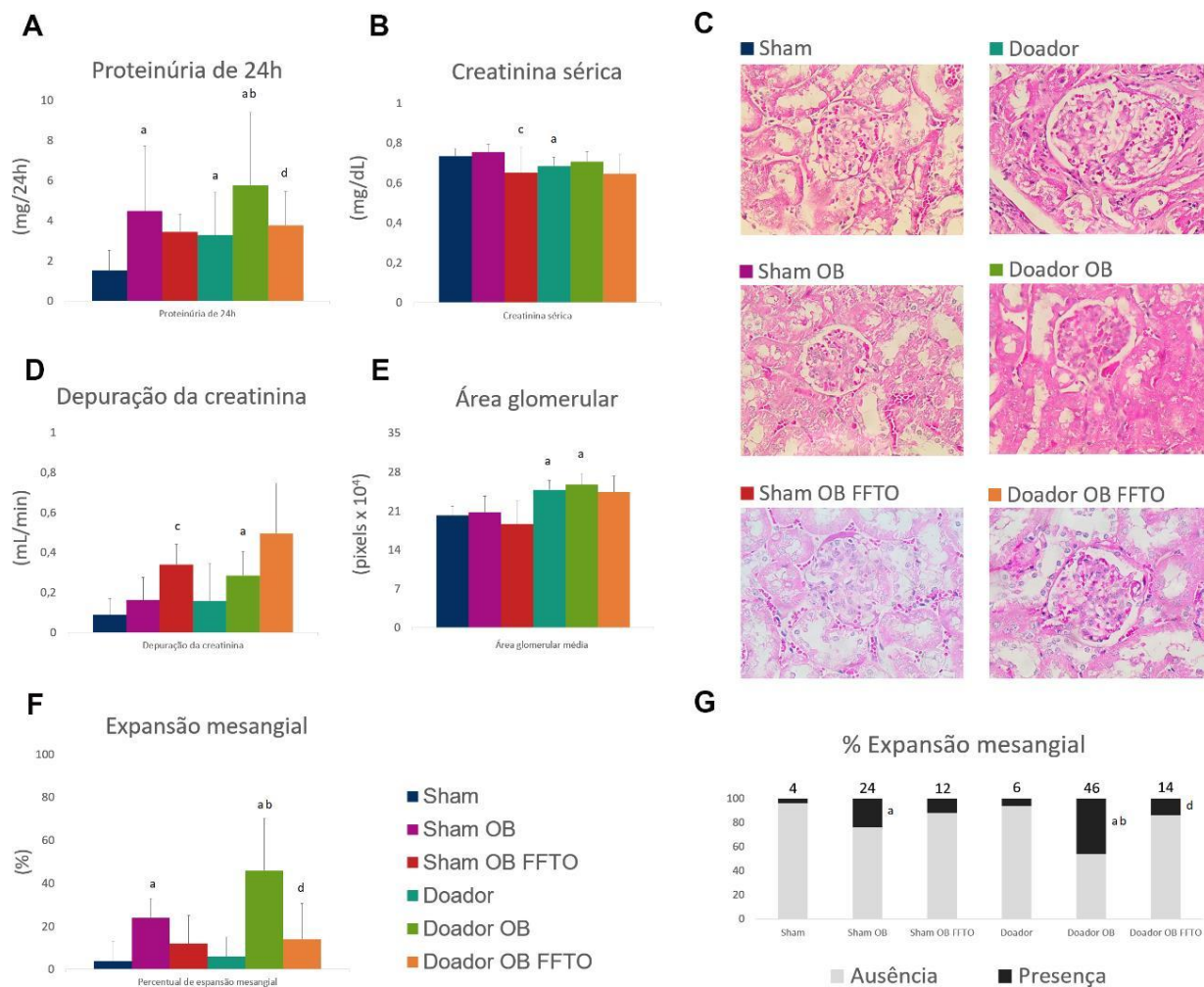


Figura 4. Depósito de lipídios nos rins e valores das adipocitocinas no tecido renal após a indução de obesidade e tratamento com FFTO por 10 semanas. Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição. ^a p<0,05 vs. Sham; ^b p<0,05 vs. Doador; ^c p<0,05 vs. Sham OB e ^d p<0,05 vs. Doador OB

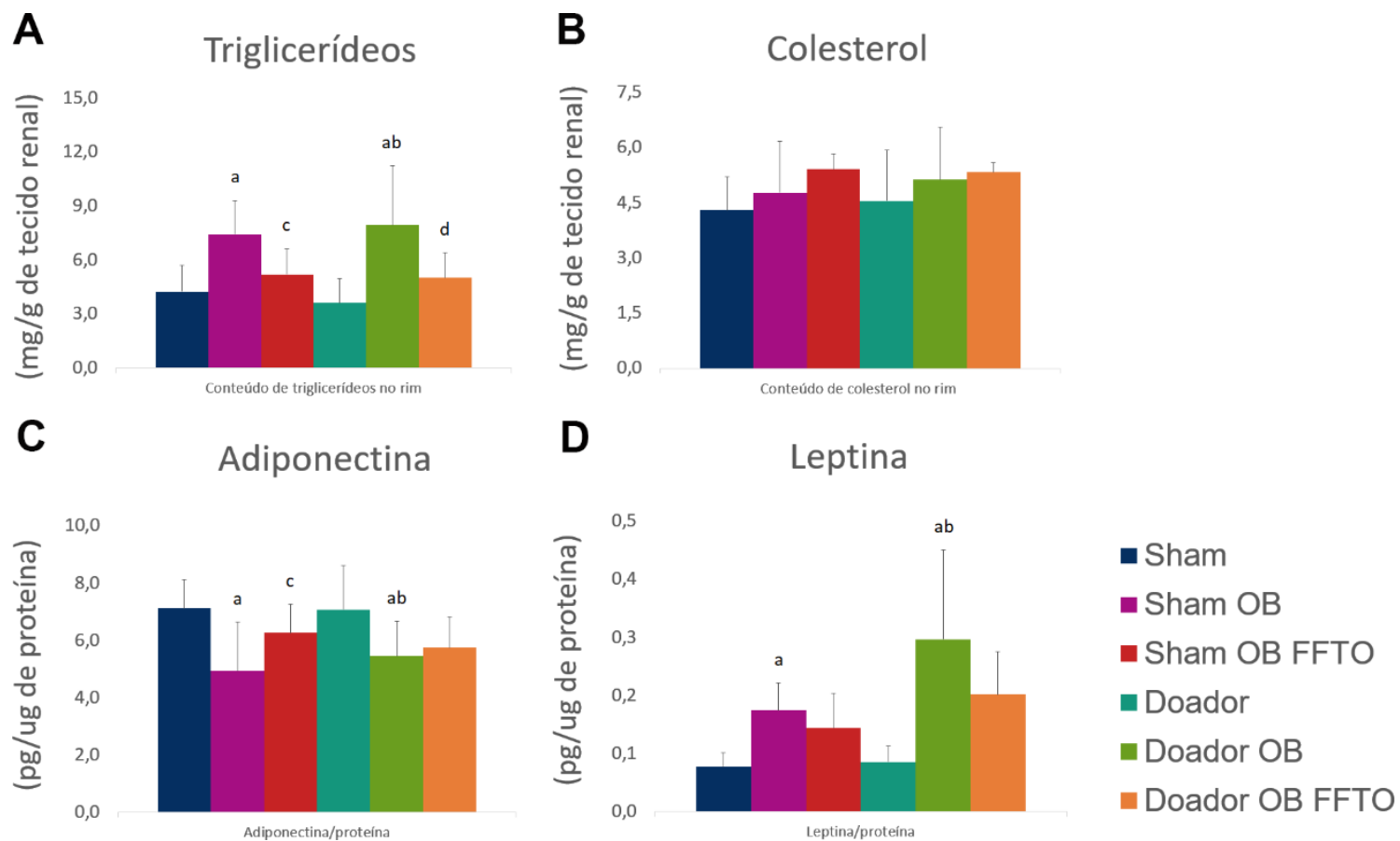


Figura 5. Perfil inflamatório no rim, por expressão de mRNA por PCR, após indução de obesidade e tratamento com FFTO por 10 semanas. Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição. ^a p<0,05 vs. Sham; ^b p<0,05 vs. Doador; ^c p<0,05 vs. Sham OB e ^d p<0,05 vs. Doador OB

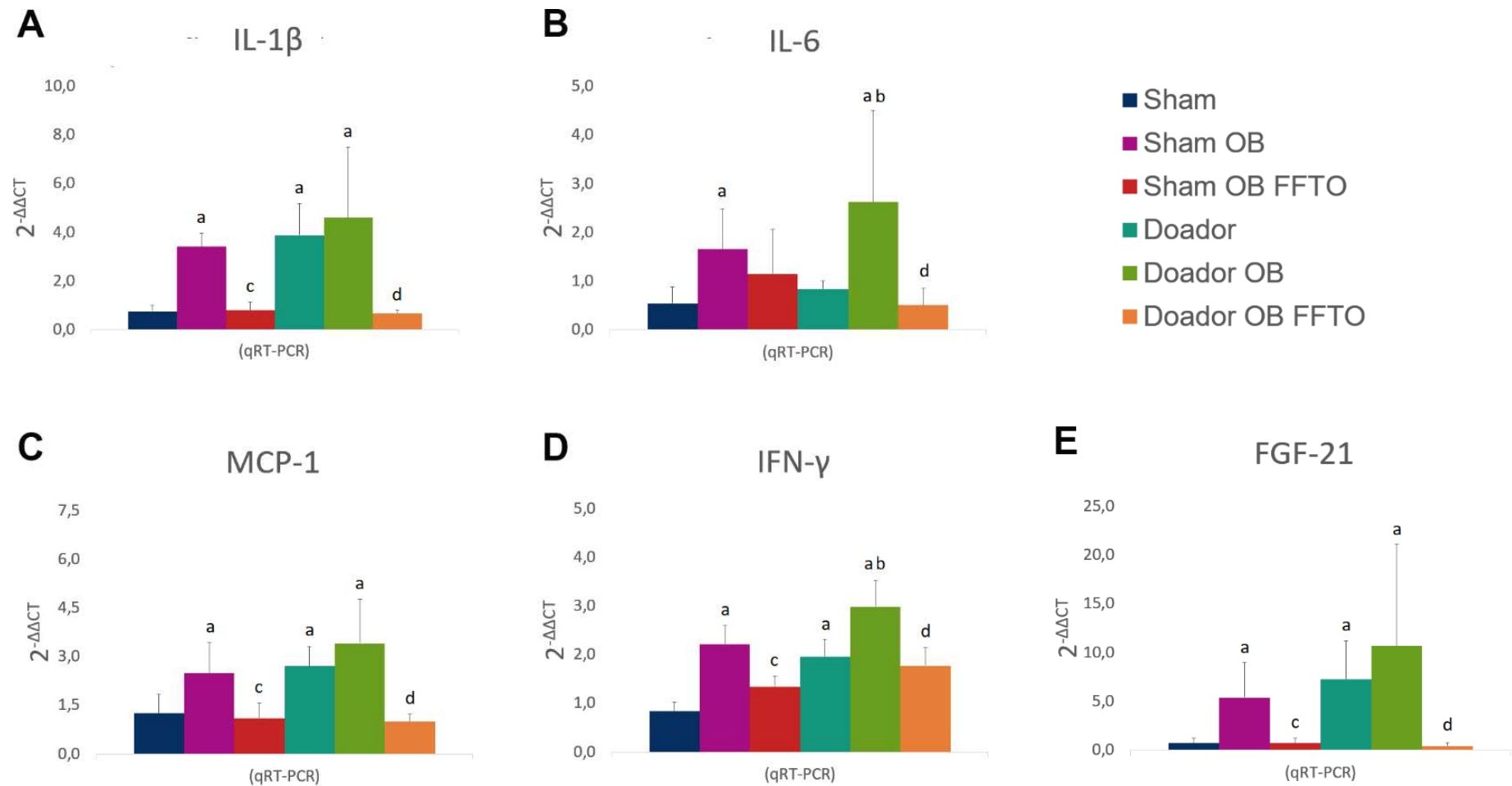
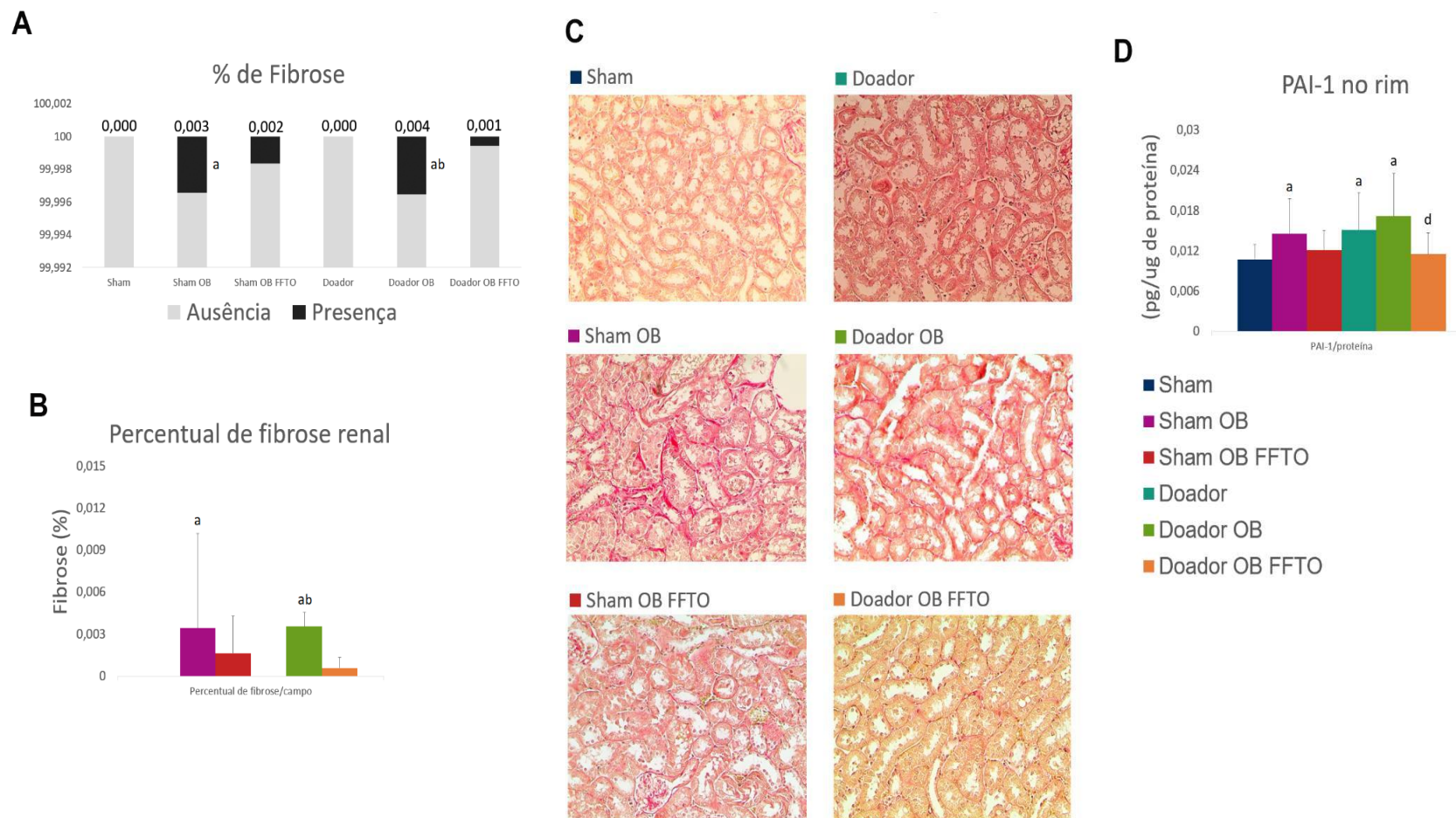


Figura 6. Expressão de PAI-1 e avaliação de fibrose intersticial renal após indução de obesidade e tratamento com FFTO por 10 semanas. A e B: morfometria com quantificação da área positiva na coloração Sirius Red (200x); C: fotomicrografias ilustrativas; D: níveis de PAI-1 no tecido renal (ELISA). Grupos comparados pelo teste t de Student ou Mann-Whitney de acordo com a distribuição. ^a $p < 0,05$ vs. Sham; ^b $p < 0,05$ vs. Doador; ^c $p < 0,05$ vs. Sham OB e ^d $p < 0,05$ vs. Doador OB



Referências

- Anuwatmatee, S., S. Tang, et al. Fibroblast growth factor 21 in chronic kidney disease. *Clin Chim Acta*, v.489, Feb, p.196-202. 2019.
- Bobulescu, I. A. Renal lipid metabolism and lipotoxicity. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, v.19, n.4, Jul, p.393-402. 2010.
- Chen, L. L., J. Y. Zhang, et al. Renoprotective effects of fenofibrate in diabetic rats are achieved by suppressing kidney plasminogen activator inhibitor-1. *Vascul Pharmacol*, v.44, n.5, May, p.309-15. 2006.
- Cheng, Y., J. Zhang, et al. Up-regulation of Nrf2 is involved in FGF21-mediated fenofibrate protection against type 1 diabetic nephropathy. *Free Radic Biol Med*, v.93, Apr, p.94-109. 2016.
- Chin, S. H., F. Item, et al. Opposing effects of reduced kidney mass on liver and skeletal muscle insulin sensitivity in obese mice. *Diabetes*, v.64, n.4, Apr, p.1131-41. 2015.
- Chung, H. W., J. H. Lim, et al. High-fat diet-induced renal cell apoptosis and oxidative stress in spontaneously hypertensive rat are ameliorated by fenofibrate through the PPARalpha-FoxO3a-PGC-1alpha pathway. *Nephrol Dial Transplant*, v.27, n.6, Jun, p.2213-25. 2012.
- Chung, K. W., E. K. Lee, et al. Impairment of PPARalpha and the Fatty Acid Oxidation Pathway Aggravates Renal Fibrosis during Aging. *J Am Soc Nephrol*, v.29, n.4, Apr, p.1223-1237. 2018.
- Close, B., K. Banister, et al. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Lab Anim*, v.31, n.1, Jan, p.1-32. 1997.
- Correa-Costa, M., P. Semedo, et al. Induction of heme oxygenase-1 can halt and even reverse renal tubule-interstitial fibrosis. *PLoS One*, v.5, n.12, Dec 13, p.e14298. 2010.
- De Castro, B. B., F. A. Colugnati, et al. Standardization of renal function evaluation in Wistar rats (*Rattus norvegicus*) from the Federal University of Juiz de Fora's colony. *J Bras Nefrol*, v.36, n.2, Apr-Jun, p.139-49. 2014.
- Decleves, A. E., Z. Zolkipli, et al. Regulation of lipid accumulation by AMP-activated kinase [corrected] in high fat diet-induced kidney injury. *Kidney Int*, v.85, n.3, Mar, p.611-23. 2014.
- Delaney, B., R. J. Nicolosi, et al. Beta-glucan fractions from barley and oats are similarly antiatherogenic in hypercholesterolemic Syrian golden hamsters. *J Nutr*, v.133, n.2, Feb, p.468-75. 2003.

- Dostalova, I., D. Haluzikova, et al. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity/type 2 diabetes mellitus. *Physiol Res*, v.58, n.1, p.1-7. 2009.
- Dubuc, P. U. The development of obesity, hyperinsulinemia, and hyperglycemia in ob/ob mice. *Metabolism*, v.25, n.12, Dec, p.1567-74. 1976.
- Escasany, E., A. Izquierdo-Lahuerta, et al. Underlying Mechanisms of Renal Lipotoxicity in Obesity. *Nephron*, Jan 9, p.1-5. 2019.
- Gai, Z. Genome-wide profiling to analyze the effects of high fat diet induced obesity on renal gene expression in mouse with reduced renal mass. *Genom Data*, v.2, Dec, p.42-3. 2014.
- Gai, Z., T. Gui, et al. Farnesoid X Receptor Protects against Kidney Injury in Uninephrectomized Obese Mice. *J Biol Chem*, v.291, n.5, Jan 29, p.2397-411. 2016.
- Gai, Z., C. Hiller, et al. Uninephrectomy augments the effects of high fat diet induced obesity on gene expression in mouse kidney. *Biochim Biophys Acta*, v.1842, n.9, Sep, p.1870-8. 2014.
- Henegar, J. R., S. A. Bigler, et al. Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. *J Am Soc Nephrol*, v.12, n.6, Jun, p.1211-7. 2001.
- Hong, Y. A., J. H. Lim, et al. Fenofibrate improves renal lipotoxicity through activation of AMPK-PGC-1alpha in db/db mice. *PLoS One*, v.9, n.5, p.e96147. 2014.
- Iwan-Zietek, I., B. Ruzkowska-Ciastek, et al. Association of adiponectin and leptin-to-adiponectin ratio with the function of platelets in morbidly obese patients. *J Physiol Pharmacol*, v.67, n.4, Aug, p.555-561. 2016.
- Jiang, T., Z. Wang, et al. Diet-induced obesity in C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. *J Biol Chem*, v.280, n.37, Sep 16, p.32317-25. 2005.
- Kim, H. J., N. D. Vaziri, et al. High-calorie diet with moderate protein restriction prevents cachexia and ameliorates oxidative stress, inflammation and proteinuria in experimental chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*, v.14, n.6, Dec, p.536-47. 2010.
- Kim, H. W., J. E. Lee, et al. Fibroblast growth factor 21 improves insulin resistance and ameliorates renal injury in db/db mice. *Endocrinology*, v.154, n.9, Sep, p.3366-76. 2013.
- Kim, K. H. e M. S. Lee. FGF21 as a mediator of adaptive responses to stress and metabolic benefits of anti-diabetic drugs. *J Endocrinol*, v.226, n.1, Jul, p.R1-16. 2015.
- Kume, S., T. Uzu, et al. Role of altered renal lipid metabolism in the development of renal injury induced by a high-fat diet. *J Am Soc Nephrol*, v.18, n.10, Oct, p.2715-23. 2007.

- Lee, D. L., J. L. Wilson, et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α Activation Decreases Mean Arterial Pressure, Plasma Interleukin-6, and COX-2 While Increasing Renal CYP4A Expression in an Acute Model of DOCA-Salt Hypertension. *PPAR Res*, v.2011, p.502631. 2011.
- Livak, K. J. e T. D. Schmittgen. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods*, v.25, n.4, Dec, p.402-8. 2001.
- Mancuso, P. The role of adipokines in chronic inflammation. *Immunotargets Ther*, v.5, p.47-56. 2016.
- Martin, G., K. Schoonjans, et al. Coordinate regulation of the expression of the fatty acid transport protein and acyl-CoA synthetase genes by PPAR α and PPAR γ activators. *J Biol Chem*, v.272, n.45, Nov 7, p.28210-7. 1997.
- Oliveira, F. A., A. C. Moraes, et al. Low-level laser therapy decreases renal interstitial fibrosis. *Photomed Laser Surg*, v.30, n.12, Dec, p.705-13. 2012.
- Ong, K. L., K. A. Rye, et al. Long-term fenofibrate therapy increases fibroblast growth factor 21 and retinol-binding protein 4 in subjects with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, v.97, n.12, Dec, p.4701-8. 2012.
- Park, C. W., Y. Zhang, et al. PPAR α agonist fenofibrate improves diabetic nephropathy in db/db mice. *Kidney Int*, v.69, n.9, May, p.1511-7. 2006.
- Pinhal, C. S., A. Lopes, et al. Time-course morphological and functional disorders of the kidney induced by long-term high-fat diet intake in female rats. *Nephrol Dial Transplant*, v.28, n.10, Oct, p.2464-76. 2013.
- Planavila, A., I. Redondo, et al. Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice. *Nat Commun*, v.4, p.2019. 2013.
- Praga, M., E. Hernandez, et al. Influence of obesity on the appearance of proteinuria and renal insufficiency after unilateral nephrectomy. *Kidney Int*, v.58, n.5, Nov, p.2111-8. 2000.
- Roberts, I. S., H. T. Cook, et al. The Oxford classification of IgA nephropathy: pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int*, v.76, n.5, Sep, p.546-56. 2009.
- Rogers, P. e G. P. Webb. Estimation of body fat in normal and obese mice. *Br J Nutr*, v.43, n.1, Jan, p.83-6. 1980.
- Roufosse, C., N. Simmonds, et al. A 2018 Reference Guide to the Banff Classification of Renal Allograft Pathology. *Transplantation*, v.102, n.11, Nov, p.1795-1814. 2018.
- Sharma, K. The link between obesity and albuminuria: adiponectin and podocyte dysfunction. *Kidney Int*, v.76, n.2, Jul, p.145-8. 2009.

- Shin, S. J., J. H. Lim, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator fenofibrate prevents high-fat diet-induced renal lipotoxicity in spontaneously hypertensive rats. *Hypertens Res*, v.32, n.10, Oct, p.835-45. 2009.
- Sohn, M., K. Kim, et al. Delayed treatment with fenofibrate protects against high-fat diet-induced kidney injury in mice: the possible role of AMPK autophagy. *Am J Physiol Renal Physiol*, v.312, n.2, Feb 01, p.F323-F334. 2017.
- Stemmer, K., D. Perez-Tilve, et al. High-fat-diet-induced obesity causes an inflammatory and tumor-promoting microenvironment in the rat kidney. *Dis Model Mech*, v.5, n.5, Sep, p.627-35. 2012.
- Suassuna, P. G. A., R. B. De Paula, et al. Fibroblast growth factor 21 in chronic kidney disease. *J Nephrol*, v.32, n.3, Jun, p.365-377. 2019.
- Tanaka, Y., S. Kume, et al. Fenofibrate, a PPARalpha agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis. *Kidney Int*, v.79, n.8, Apr, p.871-82. 2011.
- Van Der Heijden, R. A., J. Bijzet, et al. Obesity-induced chronic inflammation in high fat diet challenged C57BL/6J mice is associated with acceleration of age-dependent renal amyloidosis. *Sci Rep*, v.5, Nov 13, p.16474. 2015.
- Van Rooyen, D. M., L. T. Gan, et al. Pharmacological cholesterol lowering reverses fibrotic NASH in obese, diabetic mice with metabolic syndrome. *J Hepatol*, v.59, n.1, Jul, p.144-52. 2013.
- Wang, T. N., X. Chen, et al. SREBP-1 Mediates Angiotensin II-Induced TGF-beta1 Upregulation and Glomerular Fibrosis. *J Am Soc Nephrol*, v.26, n.8, Aug, p.1839-54. 2015.
- Wang, W., B. He, et al. Deletion of scavenger receptor A protects mice from progressive nephropathy independent of lipid control during diet-induced hyperlipidemia. *Kidney Int*, v.81, n.10, May, p.1002-14. 2012.
- Wang, X. X., T. Jiang, et al. The farnesoid X receptor modulates renal lipid metabolism and diet-induced renal inflammation, fibrosis, and proteinuria. *Am J Physiol Renal Physiol*, v.297, n.6, Dec, p.F1587-96. 2009.
- Zhang, C., M. Shao, et al. Attenuation of hyperlipidemia- and diabetes-induced early-stage apoptosis and late-stage renal dysfunction via administration of fibroblast growth factor-21 is associated with suppression of renal inflammation. *PLoS One*, v.8, n.12, p.e82275. 2013.
- Zhang, J., Y. Cheng, et al. Fenofibrate increases cardiac autophagy via FGF21/SIRT1 and prevents fibrosis and inflammation in the hearts of Type 1 diabetic mice. *Clin Sci (Lond)*, v.130, n.8, Apr, p.625-41. 2016.

8 CONCLUSÃO

Investigamos as causas e os efeitos da obesidade induzida em modelos animais na tentativa de melhor compreender a fisiopatologia dessa doença. Identificamos vários pontos a serem considerados na escolha de um modelo de obesidade para a pesquisa experimental, e decidimos por utilizar a dieta hiperlipídica, que promove alterações metabólicas semelhantes às desenvolvidas pelo ser humano.

Avaliamos as evidências disponíveis sobre o acúmulo de lipídios nos rins e os mecanismos adaptativos e lesivos que decorrem da lipotoxicidade renal. Em resumo, as alterações no metabolismo lipídico estão envolvidas com os danos à função e morfologia dos rins por meio de diversos mecanismos e que o conhecimento dos mesmos pode auxiliar na proposta de novos alvos de prevenção e tratamento no controle dos danos renais secundários à lipotoxicidade.

De forma experimental, comprovamos os efeitos da dieta hiperlipídica em camundongos uninefrectomizados sobre a função e morfologia dos rins. Os danos glomerulares, fibrose intersticial e o acúmulo de lipídeos no rim remanescente de camundongos obesos foram reduzidos nos animais tratados com Fenofibrato, acreditamos que pela ativação do PPAR- α . O tratamento com Fenofibrato reduziu a expressão de citocinas inflamatórias que foram estimuladas pela uninefrectomia e obesidade.

REFERÊNCIAS

- Abdellaoui, I., A. Azzabi, *et al.* Short- and long-term follow-up of living kidney donors. Saudi J Kidney Dis Transpl, v.30, n.2, Mar-Apr, p.401-420. 2019.
- Abdellaoui, I., W. Sahtout, *et al.* Prevalence and risk factors of hypertension following nephrectomy in living kidney donors. Saudi J Kidney Dis Transpl, v.30, n.4, Jul-Aug, p.873-882. 2019.
- Abto, A. B. T. Ó. Dados Numéricos da doação de órgãos e transplantes realizados por estado e instituição no período: JANEIRO / MARÇO - 2020. Registro Brasileiro de Transplante, v.XXVI, n.4, p.104. 2020.
- Adams, A. C., I. Astapova, *et al.* Thyroid hormone regulates hepatic expression of fibroblast growth factor 21 in a PPARalpha-dependent manner. J Biol Chem, v.285, n.19, May 7, p.14078-82. 2010.
- Ahima, R. S. Linking adiponectin to proteinuria. J Clin Invest, v.118, n.5, May, p.1619-22. 2008.
- Akwo, E. A., K. L. Cavanaugh, *et al.* Increased body mass index may be associated with greater risk of end-stage renal disease in whites compared to blacks: A nested case-control study. BMC Nutr, v.1. 2015.
- Al-Aly, Z., A. Zeringue, *et al.* Rate of kidney function decline associates with mortality. J Am Soc Nephrol, v.21, n.11, Nov, p.1961-9. 2010.
- An, H. J., B. Lee, *et al.* Physiological characterization of a novel PPAR pan agonist, 2-(4-(5,6-methylenedioxybenzo[d]thiazol-2-yl)-2-methylphenoxy)-2-methylpropanoic acid (MHY2013). Oncotarget, v.8, n.10, Mar 7, p.16912-16924. 2017.
- Ansquer, J. C., C. Foucher, *et al.* Fenofibrate reduces progression to microalbuminuria over 3 years in a placebo-controlled study in type 2 diabetes: results from the Diabetes Atherosclerosis Intervention Study (DAIS). Am J Kidney Dis, v.45, n.3, Mar, p.485-93. 2005.
- Anuwatmatee, S., S. Tang, *et al.* Fibroblast growth factor 21 in chronic kidney disease. Clin Chim Acta, v.489, Feb, p.196-202. 2019.
- Arici, M., R. Chana, *et al.* Stimulation of proximal tubular cell apoptosis by albumin-bound fatty acids mediated by peroxisome proliferator activated receptor-gamma. J Am Soc Nephrol, v.14, n.1, Jan, p.17-27. 2003.
- Babaev, V. R., H. Ishiguro, *et al.* Macrophage expression of peroxisome proliferator-activated receptor-alpha reduces atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. Circulation, v.116, n.12, Sep 18, p.1404-12. 2007.
- Bang, J. Y., S. O. Kim, *et al.* Cystatin-C is associated with partial recovery of kidney function and progression to chronic kidney disease in living kidney donors: Observational study. Medicine (Baltimore), v.96, n.5, Feb, p.e6037. 2017.

Barri, Y., T. Parker, 3rd, *et al.* Primum non Nocere: is chronic kidney disease staging appropriate in living kidney transplant donors? Am J Transplant, v.9, n.4, Apr, p.657-60. 2009.

Barri, Y. M., T. Parker, 3rd, *et al.* Definition of chronic kidney disease after uninephrectomy in living donors: what are the implications? Transplantation, v.90, n.5, Sep 15, p.575-80. 2010.

Bello, R. C., V. A. Bello, *et al.* Male Gender and Body Mass Index Are Associated With Hypertension and Reduced Kidney Function 5 or More Years After Living Kidney Donation. Transplant Proc, v.47, n.10, Dec, p.2816-21. 2015.

Bobulescu, I. A. Renal lipid metabolism and lipotoxicity. Curr Opin Nephrol Hypertens, v.19, n.4, Jul, p.393-402. 2010.

Bobulescu, I. A., Y. Lotan, *et al.* Triglycerides in the human kidney cortex: relationship with body size. PLoS One, v.9, n.8, p.e101285. 2014.

Brasil. Portaria no 2.600 de 21 de outubro de 2009. Aprova o Regulamento Técnico do Sistema Nacional de Transplantes. Diário Oficial da União - Ministério da Saúde, v.21 out. 2009.

Camara, N. O., K. Iseki, *et al.* Kidney disease and obesity: epidemiology, mechanisms and treatment. Nat Rev Nephrol, v.13, n.3, Mar, p.181-190. 2017.

Chen, L. L., J. Y. Zhang, *et al.* Renoprotective effects of fenofibrate in diabetic rats are achieved by suppressing kidney plasminogen activator inhibitor-1. Vascul Pharmacol, v.44, n.5, May, p.309-15. 2006.

Cheng, Y., J. Zhang, *et al.* Up-regulation of Nrf2 is involved in FGF21-mediated fenofibrate protection against type 1 diabetic nephropathy. Free Radic Biol Med, v.93, Apr, p.94-109. 2016.

Chin, S. H., F. Item, *et al.* Opposing effects of reduced kidney mass on liver and skeletal muscle insulin sensitivity in obese mice. Diabetes, v.64, n.4, Apr, p.1131-41. 2015.

Chu, K. H., C. K. Poon, *et al.* Long-term outcomes of living kidney donors: a single centre experience of 29 years. Nephrology (Carlton), v.17, n.1, Jan, p.85-8. 2011.

Chung, H. W., J. H. Lim, *et al.* High-fat diet-induced renal cell apoptosis and oxidative stress in spontaneously hypertensive rat are ameliorated by fenofibrate through the PPARalpha-FoxO3a-PGC-1alpha pathway. Nephrol Dial Transplant, v.27, n.6, Jun, p.2213-25. 2012.

Chung, K. W., E. K. Lee, *et al.* Impairment of PPARalpha and the Fatty Acid Oxidation Pathway Aggravates Renal Fibrosis during Aging. J Am Soc Nephrol, v.29, n.4, Apr, p.1223-1237. 2018.

Clayton, P. A., J. R. Saunders, *et al.* Risk-Factor Profile of Living Kidney Donors: The Australia and New Zealand Dialysis and Transplant Living Kidney Donor Registry 2004-2012. Transplantation, v.100, n.6, Jun, p.1278-83. 2016.

Close, B., K. Banister, *et al.* Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. Lab Anim, v.31, n.1, Jan, p.1-32. 1997.

Correa-Costa, M., P. Semedo, *et al.* Induction of heme oxygenase-1 can halt and even reverse renal tubule-interstitial fibrosis. PLoS One, v.5, n.12, Dec 13, p.e14298. 2010.

- D'agati, V. D., A. Chagnac, *et al.* Obesity-related glomerulopathy: clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. Nat Rev Nephrol, v.12, n.8, Aug, p.453-71. 2016.
- Danilewicz, M. e M. Wagrowska-Danielwicz. Morphometric and immunohistochemical insight into focal segmental glomerulosclerosis in obese and non-obese patients. Nefrologia, v.29, n.1, p.35-41. 2009.
- Davis, C. L. e F. L. Delmonico. Living-donor kidney transplantation: a review of the current practices for the live donor. J Am Soc Nephrol, v.16, n.7, Jul, p.2098-110. 2005.
- Davis, T. M., R. Ting, *et al.* Effects of fenofibrate on renal function in patients with type 2 diabetes mellitus: the Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) Study. Diabetologia, v.54, n.2, Feb, p.280-90. 2011.
- De Jong, P. E., J. C. Verhave, *et al.* Obesity and target organ damage: the kidney. Int J Obes Relat Metab Disord, v.26 Suppl 4, Dec, p.S21-4. 2002.
- De Souza Rodrigues, T., A. L. Amorim De Albuquerque, *et al.* Evaluation of renal function in a specific population of living kidney donors. J Ren Care, v.43, n.2, Jun, p.114-120. 2017.
- Decleves, A. E., A. V. Mathew, *et al.* AMPK mediates the initiation of kidney disease induced by a high-fat diet. J Am Soc Nephrol, v.22, n.10, Oct, p.1846-55. 2011.
- Decleves, A. E., Z. Zolkipli, *et al.* Regulation of lipid accumulation by AMP-activated kinase [corrected] in high fat diet-induced kidney injury. Kidney Int, v.85, n.3, Mar, p.611-23. 2014.
- Deji, N., S. Kume, *et al.* Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. Am J Physiol Renal Physiol, v.296, n.1, Jan, p.F118-26. 2009.
- Delaney, B., R. J. Nicolosi, *et al.* Beta-glucan fractions from barley and oats are similarly antiatherogenic in hypercholesterolemic Syrian golden hamsters. J Nutr, v.133, n.2, Feb, p.468-75. 2003.
- Delerive, P., J. C. Fruchart, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptors in inflammation control. J Endocrinol, v.169, n.3, Jun, p.453-9. 2001.
- Delmonico, F. A Report of the Amsterdam Forum On the Care of the Live Kidney Donor: Data and Medical Guidelines. Transplantation, v.79, n.6 Suppl, Mar 27, p.S53-66. 2005.
- Delmonico, F. L. e M. A. Dew. Living donor kidney transplantation in a global environment. Kidney Int, v.71, n.7, Apr, p.608-14. 2007.
- Demir, E., M. Balal, *et al.* Dyslipidemia and weight gain secondary to lifestyle changes in living renal transplant donors. Transplant Proc, v.37, n.10, Dec, p.4176-9. 2005.
- Desvergne, B., L. Michalik, *et al.* Transcriptional regulation of metabolism. Physiol Rev, v.86, n.2, Apr, p.465-514. 2006.
- Dostalova, I., D. Haluzikova, *et al.* Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator with potential therapeutic properties in obesity/type 2 diabetes mellitus. Physiol Res, v.58, n.1, p.1-7. 2009.
- Dru, C. J. e G. J. Fuchs. Long-Term Body Mass Index Trends After Living-Donor Nephrectomy. Exp Clin Transplant, v.15, n.5, Oct, p.521-526. 2017.

Dubuc, P. U. The development of obesity, hyperinsulinemia, and hyperglycemia in ob/ob mice. Metabolism, v.25, n.12, Dec, p.1567-74. 1976.

El-Agroudy, A. E., A. A. Sabry, *et al.* Long-term follow-up of living kidney donors: a longitudinal study. BJU Int, v.100, n.6, Dec, p.1351-5. 2007.

Engin, A. Human Protein Kinases and Obesity. Adv Exp Med Biol, v.960, p.111-134. 2017.

Engin, A. B. What Is Lipotoxicity? Adv Exp Med Biol, v.960, p.197-220. 2017.

Escasany, E., A. Izquierdo-Lahuerta, *et al.* Underlying Mechanisms of Renal Lipotoxicity in Obesity. Nephron, Jan 9, p.1-5. 2019.

Fehrman-Ekholm, I., F. Duner, *et al.* No evidence of accelerated loss of kidney function in living kidney donors: results from a cross-sectional follow-up. Transplantation, v.72, n.3, Aug 15, p.444-9. 2001.

Felizardo, R. J., M. B. Da Silva, *et al.* Obesity in kidney disease: A heavyweight opponent. World J Nephrol, v.3, n.3, Aug 6, p.50-63. 2014.

Ferreira-Filho, S. R., L. Da Silva Passos, *et al.* Corporeal weight gain and metabolic syndrome in living kidney donors after nephrectomy. Transplant Proc, v.39, n.2, Mar, p.403-6. 2007.

Firat Kaya, D., B. Sayin, *et al.* Obesity and Loss of Kidney Function: Two Complications to Face for Older Living Kidney Donors. Exp Clin Transplant, v.15, n.Suppl 1, Feb, p.136-138. 2017.

Fox, C. S., M. G. Larson, *et al.* Predictors of new-onset kidney disease in a community-based population. JAMA, v.291, n.7, Feb 18, p.844-50. 2004.

Gai, Z. Genome-wide profiling to analyze the effects of high fat diet induced obesity on renal gene expression in mouse with reduced renal mass. Genom Data, v.2, Dec, p.42-3. 2014.

Gai, Z., T. Gui, *et al.* Farnesoid X Receptor Protects against Kidney Injury in Uninephrectomized Obese Mice. J Biol Chem, v.291, n.5, Jan 29, p.2397-411. 2016.

Gai, Z., C. Hiller, *et al.* Uninephrectomy augments the effects of high fat diet induced obesity on gene expression in mouse kidney. Biochim Biophys Acta, v.1842, n.9, Sep, p.1870-8. 2014.

Giessing, M. Living donor nephrectomy--quantifying the risk for the donor. Transplant Proc, v.44, n.6, Jul-Aug, p.1786-9. 2012.

Gonzalez, E., E. Gutierrez, *et al.* Factors influencing the progression of renal damage in patients with unilateral renal agenesis and remnant kidney. Kidney Int, v.68, n.1, Jul, p.263-70. 2005.

Grupper, A., Y. Angel, *et al.* Long term metabolic and renal outcomes of kidney donors compared to controls with excellent kidney function. BMC Nephrol, v.20, n.1, Jan 31, p.30. 2019.

- Guan, Y. Peroxisome proliferator-activated receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome. J Am Soc Nephrol, v.15, n.11, Nov, p.2801-15. 2004.
- Guan, Y. e M. D. Breyer. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs): novel therapeutic targets in renal disease. Kidney Int, v.60, n.1, Jul, p.14-30. 2001.
- Hakim, R. M., R. C. Goldszer, *et al.* Hypertension and proteinuria: long-term sequelae of uninephrectomy in humans. Kidney Int, v.25, n.6, Jun, p.930-6. 1984.
- Hall, J. E., J. R. Henegar, *et al.* Is obesity a major cause of chronic kidney disease? Adv Ren Replace Ther, v.11, n.1, Jan, p.41-54. 2004.
- Henegar, J. R., S. A. Bigler, *et al.* Functional and structural changes in the kidney in the early stages of obesity. J Am Soc Nephrol, v.12, n.6, Jun, p.1211-7. 2001.
- Herman-Edelstein, M., P. Scherzer, *et al.* Altered renal lipid metabolism and renal lipid accumulation in human diabetic nephropathy. J Lipid Res, v.55, n.3, Mar, p.561-72. 2014.
- Hong, Y. A., J. H. Lim, *et al.* Fenofibrate improves renal lipotoxicity through activation of AMPK-PGC-1alpha in db/db mice. PLoS One, v.9, n.5, p.e96147. 2014.
- Hoy, W. E., M. D. Hughson, *et al.* Nephron number, hypertension, renal disease, and renal failure. J Am Soc Nephrol, v.16, n.9, Sep, p.2557-64. 2005.
- Hsu, C. Y., C. E. Mcculloch, *et al.* Body mass index and risk for end-stage renal disease. Ann Intern Med, v.144, n.1, Jan 03, p.21-8. 2006.
- Hu, Z., L. Ren, *et al.* Effect of chenodeoxycholic acid on fibrosis, inflammation and oxidative stress in kidney in high-fructose-fed Wistar rats. Kidney Blood Press Res, v.36, n.1, p.85-97. 2012.
- Ibrahim, H. N., R. Foley, *et al.* Long-term consequences of kidney donation. N Engl J Med, v.360, n.5, Jan 29, p.459-69. 2009.
- Iseki, K., Y. Ikemiya, *et al.* Body mass index and the risk of development of end-stage renal disease in a screened cohort. Kidney Int, v.65, n.5, May, p.1870-6. 2004.
- Issa, N., O. A. Sanchez, *et al.* Weight gain after kidney donation: Association with increased risks of type 2 diabetes and hypertension. Clin Transplant, v.32, n.9, Sep, p.e13360. 2018.
- Iwan-Zietek, I., B. Ruzkowska-Ciastek, *et al.* Association of adiponectin and leptin-to-adiponectin ratio with the function of platelets in morbidly obese patients. J Physiol Pharmacol, v.67, n.4, Aug, p.555-561. 2016.
- Izquierdo-Lahuerta, A., C. Martinez-Garcia, *et al.* Lipotoxicity as a trigger factor of renal disease. J Nephrol, v.29, n.5, Oct, p.603-10. 2016.
- Izquierdo, L., L. Peri, *et al.* Audit of an initial 100 cases of laparoscopic live donor nephrectomy. Transplant Proc, v.42, n.9, Nov, p.3437-9. 2010.
- Jiang, T., S. E. Liebman, *et al.* Role of altered renal lipid metabolism and the sterol regulatory element binding proteins in the pathogenesis of age-related renal disease. Kidney Int, v.68, n.6, Dec, p.2608-20. 2005.

- Jiang, T., S. E. Liebman, *et al.* Calorie restriction modulates renal expression of sterol regulatory element binding proteins, lipid accumulation, and age-related renal disease. J Am Soc Nephrol, v.16, n.8, Aug, p.2385-94. 2005.
- Jiang, T., Z. Wang, *et al.* Diet-induced obesity in C57BL/6J mice causes increased renal lipid accumulation and glomerulosclerosis via a sterol regulatory element-binding protein-1c-dependent pathway. J Biol Chem, v.280, n.37, Sep 16, p.32317-25. 2005.
- Kamada, N., T. Kodama, *et al.* Macrophage scavenger receptor (SR-A I/II) deficiency reduced diet-induced atherosclerosis in C57BL/6J mice. J Atheroscler Thromb, v.8, n.1, p.1-6. 2001.
- Kambham, N., G. S. Markowitz, *et al.* Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. Kidney Int, v.59, n.4, Apr, p.1498-509. 2001.
- Kanasaki, K., M. Kitada, *et al.* The biological consequence of obesity on the kidney. Nephrol Dial Transplant, v.28 Suppl 4, Nov, p.iv1-7. 2013.
- Kdoqi. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. Am J Kidney Dis, v.47, n.5 Suppl 3, May, p.S11-145. 2006.
- Ke, B., W. Shen, *et al.* The NLRP3 inflammasome and obesity-related kidney disease. J Cell Mol Med, Aug 31. 2017.
- Keech, A., R. J. Simes, *et al.* Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in 9795 people with type 2 diabetes mellitus (the FIELD study): randomised controlled trial. Lancet, v.366, n.9500, Nov 26, p.1849-61. 2005.
- Kerkeni, W., M. H. Rebai, *et al.* The effect of body mass index at the time of donation on postoperative and remote consequences of nephrectomy in 189 living-related kidney donors. Arab J Urol, v.13, n.3, Sep, p.221-4. 2015.
- Kharitononkov, A., T. L. Shiyanova, *et al.* FGF-21 as a novel metabolic regulator. J Clin Invest, v.115, n.6, Jun, p.1627-35. 2005.
- Kim, H. J., N. D. Vaziri, *et al.* High-calorie diet with moderate protein restriction prevents cachexia and ameliorates oxidative stress, inflammation and proteinuria in experimental chronic kidney disease. Clin Exp Nephrol, v.14, n.6, Dec, p.536-47. 2010.
- Kim, H. W., J. E. Lee, *et al.* Fibroblast growth factor 21 improves insulin resistance and ameliorates renal injury in db/db mice. Endocrinology, v.154, n.9, Sep, p.3366-76. 2013.
- Kim, K. H. e M. S. Lee. FGF21 as a mediator of adaptive responses to stress and metabolic benefits of anti-diabetic drugs. J Endocrinol, v.226, n.1, Jul, p.R1-16. 2015.
- Krysiak, R., A. Gdula-Dymek, *et al.* Effect of simvastatin and fenofibrate on cytokine release and systemic inflammation in type 2 diabetes mellitus with mixed dyslipidemia. Am J Cardiol, v.107, n.7, Apr 1, p.1010-1018 e1. 2011.
- Kume, S., T. Uzu, *et al.* Role of altered renal lipid metabolism in the development of renal injury induced by a high-fat diet. J Am Soc Nephrol, v.18, n.10, Oct, p.2715-23. 2007.
- Lee, D. L., J. L. Wilson, *et al.* Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-alpha Activation Decreases Mean Arterial Pressure, Plasma Interleukin-6, and COX-2 While Increasing Renal

CYP4A Expression in an Acute Model of DOCA-Salt Hypertension. PPAR Res, v.2011, p.502631. 2011.

Lee, E. S., M. H. Kwon, *et al.* Dibenzoylmethane ameliorates lipid-induced inflammation and oxidative injury in diabetic nephropathy. J Endocrinol, v.240, n.2, Feb 1, p.169-179. 2019.

Lentine, K. L., B. L. Kasiske, *et al.* KDIGO Clinical Practice Guideline on the Evaluation and Care of Living Kidney Donors. Transplantation, v.101, n.8S Suppl 1, Aug, p.S1-S109. 2017.

Lentine, K. L. e A. Patel. Risks and outcomes of living donation. Adv Chronic Kidney Dis, v.19, n.4, Jul, p.220-8. 2012.

Li, C., Y. Lin, *et al.* Intrarenal renin-angiotensin system mediates fatty acid-induced ER stress in the kidney. Am J Physiol Renal Physiol, v.310, n.5, Mar 1, p.F351-63. 2015.

Li, F., Z. Liu, *et al.* FGF21 is induced in cisplatin nephrotoxicity to protect against kidney tubular cell injury. FASEB J, v.32, n.6, Jun, p.3423-3433. 2018.

Li, H., J. Zhang, *et al.* Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator from pharmacology to physiology. Front Med, v.7, n.1, Mar, p.25-30. 2013.

Li, S., X. Guo, *et al.* Fibroblast growth factor 21 ameliorates high glucose-induced fibrogenesis in mesangial cells through inhibiting STAT5 signaling pathway. Biomed Pharmacother, v.93, Sep, p.695-704. 2017.

Livak, K. J. e T. D. Schmittgen. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods, v.25, n.4, Dec, p.402-8. 2001.

Locke, J. E., R. D. Reed, *et al.* Obesity increases the risk of end-stage renal disease among living kidney donors. Kidney Int, v.91, n.3, Mar, p.699-703. 2017.

Mancuso, P. The role of adipokines in chronic inflammation. Immunotargets Ther, v.5, p.47-56. 2016.

Martinez-Santibanez, G. e C. N. Lumeng. Macrophages and the regulation of adipose tissue remodeling. Annu Rev Nutr, v.34, p.57-76. 2014.

Matas, A. J., S. T. Bartlett, *et al.* Morbidity and mortality after living kidney donation, 1999-2001: survey of United States transplant centers. Am J Transplant, v.3, n.7, Jul, p.830-4. 2003.

Matas, A. J., W. D. Payne, *et al.* 2,500 living donor kidney transplants: a single-center experience. Ann Surg, v.234, n.2, Aug, p.149-64. 2001.

Mjoen, G., S. Hallan, *et al.* Long-term risks for kidney donors. Kidney Int, v.86, n.1, Jul, p.162-7. 2014.

Mjoen, G., O. Oyen, *et al.* Age, gender, and body mass index are associated with renal function after kidney donation. Clin Transplant, v.25, n.6, Nov-Dec, p.E579-83. 2011.

Mueller, T. F. e V. A. Luyckx. The natural history of residual renal function in transplant donors. J Am Soc Nephrol, v.23, n.9, Sep, p.1462-6. 2012.

Muzaale, A. D., A. B. Massie, *et al.* Risk of end-stage renal disease following live kidney donation. JAMA, v.311, n.6, Feb 12, p.579-86. 2014.

Na, J. C., J. S. Park, *et al.* Delayed Recovery of Renal Function After Donor Nephrectomy. Transplant Proc, v.50, n.4, May, p.1022-1024. 2018a.

Na, J. C., J. S. Park, *et al.* Long-term Follow-up of Living Kidney Donors With Chronic Kidney Disease at 1 Year After Nephrectomy. Transplant Proc, v.50, n.4, May, p.1018-1021. 2018b.

Najarian, J. S., B. M. Chavers, *et al.* 20 years or more of follow-up of living kidney donors. Lancet, v.340, n.8823, Oct 3, p.807-10. 1992.

Nogueira, J. M., M. R. Weir, *et al.* A study of renal outcomes in obese living kidney donors. Transplantation, v.90, n.9, Nov 15, p.993-9. 2010.

O'brien, B., S. Mastoridis, *et al.* Expanding the donor pool: living donor nephrectomy in the elderly and the overweight. Transplantation, v.93, n.11, Jun 15, p.1158-65. 2012.

Oh, C. K., K. O. Jeon, *et al.* Metabolic demand and renal mass supply affecting the early graft function after living donor kidney transplantation. Kidney Int, v.67, n.2, Feb, p.744-9. 2005.

Okopien, B., M. Huzarska, *et al.* Hypolipidemic drugs affect monocyte IL-1beta gene expression and release in patients with Ila and IIb dyslipidemia. J Cardiovasc Pharmacol, v.45, n.2, Feb, p.160-4. 2005.

Oliveira, F. A., A. C. Moraes, *et al.* Low-level laser therapy decreases renal interstitial fibrosis. Photomed Laser Surg, v.30, n.12, Dec, p.705-13. 2012.

Ommen, E. S., J. A. Winston, *et al.* Medical risks in living kidney donors: absence of proof is not proof of absence. Clin J Am Soc Nephrol, v.1, n.4, Jul, p.885-95. 2006.

Ong, K. L., K. A. Rye, *et al.* Long-term fenofibrate therapy increases fibroblast growth factor 21 and retinol-binding protein 4 in subjects with type 2 diabetes. J Clin Endocrinol Metab, v.97, n.12, Dec, p.4701-8. 2012.

Opelz, G., B. Dohler, *et al.* The collaborative transplant study registry. Transplant Rev (Orlando), v.27, n.2, Apr, p.43-5. 2013.

Park, C. W., Y. Zhang, *et al.* PPARalpha agonist fenofibrate improves diabetic nephropathy in db/db mice. Kidney Int, v.69, n.9, May, p.1511-7. 2006.

Pesavento, T. E., M. L. Henry, *et al.* Obese living kidney donors: short-term results and possible implications. Transplantation, v.68, n.10, Nov 27, p.1491-6. 1999.

Planavila, A., I. Redondo, *et al.* Fibroblast growth factor 21 protects against cardiac hypertrophy in mice. Nat Commun, v.4, p.2019. 2013.

Praga, M., E. Hernandez, *et al.* Influence of obesity on the appearance of proteinuria and renal insufficiency after unilateral nephrectomy. Kidney Int, v.58, n.5, Nov, p.2111-8. 2000.

Reasner, C. A. Effects of long-term fenofibrate therapy on cardiovascular events in people with type 2 diabetes mellitus. Curr Atheroscler Rep, v.8, n.4, Jul, p.261-2. 2006.

Rogers, P. e G. P. Webb. Estimation of body fat in normal and obese mice. Br J Nutr, v.43, n.1, Jan, p.83-6. 1980.

Rook, M., R. J. Bosma, *et al.* Nephrectomy elicits impact of age and BMI on renal hemodynamics: lower postdonation reserve capacity in older or overweight kidney donors. Am J Transplant, v.8, n.10, Oct, p.2077-85. 2008.

Ruan, X. Z., J. F. Moorhead, *et al.* Regulation of lipoprotein trafficking in the kidney: role of inflammatory mediators and transcription factors. Biochem Soc Trans, v.32, n.Pt 1, Feb, p.88-91. 2004.

Ruan, X. Z., Z. Varghese, *et al.* An update on the lipid nephrotoxicity hypothesis. Nat Rev Nephrol, v.5, n.12, Dec, p.713-21. 2009.

Ryan, D. H. e E. Ravussin. 2015, A year in review for readers of obesity. Obesity (Silver Spring), v.24, n.1, Jan, p.9. 2015.

Sachdeva, M., S. Sunday, *et al.* Obesity as a barrier to living kidney donation: a center-based analysis. Clin Transplant, v.27, n.6, Nov-Dec, p.882-7. 2013.

Saran, R., S. M. Marshall, *et al.* Long-term follow-up of kidney donors: a longitudinal study. Nephrol Dial Transplant, v.12, n.8, Aug, p.1615-21. 1997.

Segev, D. L., A. D. Muzaale, *et al.* Perioperative mortality and long-term survival following live kidney donation. JAMA, v.303, n.10, Mar 10, p.959-66. 2010.

Seo, J. A. e N. H. Kim. Fibroblast growth factor 21: a novel metabolic regulator. Diabetes Metab J, v.36, n.1, Feb, p.26-8. 2012.

Serra, A., R. Romero, *et al.* Renal injury in the extremely obese patients with normal renal function. Kidney Int, v.73, n.8, Apr, p.947-55. 2008.

Sharma, K. The link between obesity and albuminuria: adiponectin and podocyte dysfunction. Kidney Int, v.76, n.2, Jul, p.145-8. 2009.

Sharma, K., S. Ramachandrarao, *et al.* Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. J Clin Invest, v.118, n.5, May, p.1645-56. 2008.

Shin, S. J., J. H. Lim, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activator fenofibrate prevents high-fat diet-induced renal lipotoxicity in spontaneously hypertensive rats. Hypertens Res, v.32, n.10, Oct, p.835-45. 2009.

Sikorska, D., M. Grzymislawska, *et al.* Simple obesity and renal function. J Physiol Pharmacol, v.68, n.2, Apr, p.175-180. 2017.

Srinivas, T. R. e E. D. Poggio. Do living kidney donors have CKD? Adv Chronic Kidney Dis, v.19, n.4, Jul, p.229-36. 2012.

Suassuna, P. G. A., R. B. De Paula, *et al.* Fibroblast growth factor 21 in chronic kidney disease. J Nephrol, v.32, n.3, Jun, p.365-377. 2019.

Szeto, H. H., S. Liu, *et al.* Protection of mitochondria prevents high-fat diet-induced glomerulopathy and proximal tubular injury. Kidney Int, v.90, n.5, Nov, p.997-1011. 2016.

Tan, J. C., S. Busque, *et al.* Effects of aging on glomerular function and number in living kidney donors. Kidney Int, v.78, n.7, Oct, p.686-92. 2010.

Tanaka, Y., S. Kume, *et al.* Fenofibrate, a PPARalpha agonist, has renoprotective effects in mice by enhancing renal lipolysis. Kidney Int, v.79, n.8, Apr, p.871-82. 2011.

Tarantino, A. Why should we implement living donation in renal transplantation? Clin Nephrol, v.53, n.4, Apr, p.suppl 55-63. 2000.

Tavakol, M. M., F. G. Vincenti, *et al.* Long-term renal function and cardiovascular disease risk in obese kidney donors. Clin J Am Soc Nephrol, v.4, n.7, Jul, p.1230-8. 2009.

Thukral, S., A. Mazumdar, *et al.* Long-Term Consequences of Complex Living Renal Donation: Is It Safe? Transplant Proc, v.50, n.10, Dec, p.3185-3191. 2018.

Tsai, S. F., K. H. Shu, *et al.* Long-term outcomes of living kidney donors over the past 28 years in a single center in Taiwan. Transplant Proc, v.44, n.1, Jan, p.39-42. 2012.

Tsuboi, N., Y. Okabayashi, *et al.* The Renal Pathology of Obesity. Kidney Int Rep, v.2, n.2, Mar, p.251-260. 2017.

Van Rooyen, D. M., L. T. Gan, *et al.* Pharmacological cholesterol lowering reverses fibrotic NASH in obese, diabetic mice with metabolic syndrome. J Hepatol, v.59, n.1, Jul, p.144-52. 2013.

Vigitel, B. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. SVS/Ministério da Saúde NUPENS/Universidade de São Paulo. 2020.

Virtue, S. e A. Vidal-Puig. Adipose tissue expandability, lipotoxicity and the Metabolic Syndrome--an allostatic perspective. Biochim Biophys Acta, v.1801, n.3, Mar, p.338-49. 2010.

Vivante, A., E. Golan, *et al.* Body mass index in 1.2 million adolescents and risk for end-stage renal disease. Arch Intern Med, v.172, n.21, Nov 26, p.1644-50. 2012.

Vlasova, M., A. K. Purhonen, *et al.* Role of adipokines in obesity-associated hypertension. Acta Physiol (Oxf), v.200, n.2, Oct, p.107-27. 2010.

Wakasugi, M., J. Kazama, *et al.* Association between Overall Lifestyle Changes and the Incidence of Proteinuria: A Population-based, Cohort Study. Intern Med, v.56, n.12, p.1475-1484. 2017.

Wang, T. N., X. Chen, *et al.* SREBP-1 Mediates Angiotensin II-Induced TGF-beta1 Upregulation and Glomerular Fibrosis. J Am Soc Nephrol, v.26, n.8, Aug, p.1839-54. 2015.

Wang, W., B. He, *et al.* Deletion of scavenger receptor A protects mice from progressive nephropathy independent of lipid control during diet-induced hyperlipidemia. Kidney Int, v.81, n.10, May, p.1002-14. 2012.

Wang, X. X., T. Jiang, *et al.* The farnesoid X receptor modulates renal lipid metabolism and diet-induced renal inflammation, fibrosis, and proteinuria. Am J Physiol Renal Physiol, v.297, n.6, Dec, p.F1587-96. 2009.

Wang, X. X., T. Jiang, *et al.* Diabetic nephropathy is accelerated by farnesoid X receptor deficiency and inhibited by farnesoid X receptor activation in a type 1 diabetes model. Diabetes, v.59, n.11, Nov, p.2916-27. 2010.

Weinberg, J. M. Lipotoxicity. Kidney Int, v.70, n.9, Nov, p.1560-6. 2006.

Who. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser, v.894, p.i-xii, 1-253. 2000.

Who. Fact sheet on obesity and overweight. World Health Organization, v.Reviewed February 2018, n.Acessado em: março 2018. 2018.

Wisse, B. E. The inflammatory syndrome: the role of adipose tissue cytokines in metabolic disorders linked to obesity. J Am Soc Nephrol, v.15, n.11, Nov, p.2792-800. 2004.

Xu, J., D. J. Lloyd, *et al.* Fibroblast growth factor 21 reverses hepatic steatosis, increases energy expenditure, and improves insulin sensitivity in diet-induced obese mice. Diabetes, v.58, n.1, Jan, p.250-9. 2009.

Young, A., L. Storsley, *et al.* Health outcomes for living kidney donors with isolated medical abnormalities: a systematic review. Am J Transplant, v.8, n.9, Sep, p.1878-90. 2008.

Zhang, C., M. Shao, *et al.* Attenuation of hyperlipidemia- and diabetes-induced early-stage apoptosis and late-stage renal dysfunction via administration of fibroblast growth factor-21 is associated with suppression of renal inflammation. PLoS One, v.8, n.12, p.e82275. 2013.

Zhang, J., Y. Cheng, *et al.* Fenofibrate increases cardiac autophagy via FGF21/SIRT1 and prevents fibrosis and inflammation in the hearts of Type 1 diabetic mice. Clin Sci (Lond), v.130, n.8, Apr, p.625-41. 2016.

Zhao, L., H. Wang, *et al.* Potent long-acting rhFGF21 analog for treatment of diabetic nephropathy in db/db and DIO mice. BMC Biotechnol, v.17, n.1, Jul 4, p.58. 2017.

ANEXO A

Certificado da comissão de ética no uso de animais



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA**

CERTIFICADO

Certificamos que o protocolo nº. 034/2016 – CEUA sobre “Avaliação da morfologia e função renais em camundongos uninefrectomizados alimentados com dieta hipercalórica” projeto de pesquisa sob a responsabilidade de HÉLADY SANDERS PINHEIRO com a colaboração de BÁRBARA BRUNA ABREU DE CASTRO, KAIQUE ARRIEL e LUCAS MADEIRA está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 06/09/2016. Para o desenvolvimento da pesquisa serão liberados 130 camundongos da linhagem C57BL/6 (130 machos) de 8 semanas conforme solicitado e que serão utilizados no período de 01/10/2016 a 31/12/2019.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº. 034/2016 - CEUA about “Avaliação da morfologia e função renais em camundongos uninefrectomizados alimentados com dieta hipercalórica” under responsibility of HÉLADY SANDERS PINHEIRO and collaboration of BÁRBARA BRUNA ABREU DE CASTRO, KAIQUE ARRIEL and LUCAS MADEIRA - is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF – ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 06/09/2016. For the development of this research 130 mice of lineage C57BL/6 (130 males) of 8 weeks of age, will be delivered as requested in the period of 01/10/2016 to 31/12/2019.

Juiz de Fora, 30 de setembro de 2016

Coordenadora
CEUA

Vice-coordenadora
CEUA



**SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CEUA**

CERTIFICADO

A COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF, em reunião realizada em 06/11/2018, analisou o protocolo nº. 046/2018 intitulado “Efeito do fenofibrato, um agonista do PPAR α , na lesão renal induzida pela obesidade após uninefrectomia”, projeto de pesquisa sob a responsabilidade de Hélydy Sanders Pinheiro e colaboração de Bárbara Bruna Abreu de Castro, Kaique Arriel e Petrus Ferreira Renó, a ser realizado no período de 15/11/2018 a 31/12/2020. Por estar de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), foi aprovado pela CEUA. Serão utilizados 70 camundongos C57Bl/6 machos com 8 semanas, projeto a ser realizado no biotério do Centro de Biologia da Reprodução da Universidade Federal de Juiz de Fora. O prazo de validade desse certificado é equivalente a vigência do projeto prorrogável por mais um ano, desde que seja enviada justificativa a CEUA durante a vigência do projeto de acordo com orientação técnica do CONCEA.

CERTIFICATE

We certify that the protocol n. 046/2018- CEUA about “Efeito do fenofibrato, um agonista do PPAR α , na lesão renal induzida pela obesidade após uninefrectomia”, under responsibility of Hélydy Sanders Pinheiro and collaboration of Bárbara Bruna Abreu de Castro, Kaique Arriel and Petrus Ferreira Renó, is in agreement with the Ethical Principles in Animal Research adopted by Brazilian Council for Control of Animal Experimentation (Concea) and was approved by the PRÓ-REITORIA DE PESQUISA/UFJF – ETHICAL COMMITTEE FOR ANIMAL HANDLING (CEUA) in 06/11/2018. For the development of this research 70 male C57Bl/6 mice with 8 weeks of age will be delivered as requested in the period of 15/11/2018 to 31/12/2020. The Project will be performed at Center of Reproduction Biology located at Federal University of Juiz de Fora. The term of validity of this certificate might be extended for one more year by means of justification during the period of validity.

Juiz de Fora, 13 de novembro de 2018.



 Coordenadora
CEUA



Vice-Coordenadora
CEUA


ANEXO B

Artigo publicado em HU Revista



Modelos experimentais de obesidade: análise crítica do perfil metabólico e da aplicabilidade

Experimental models of obesity: critical analysis of the metabolic profile and of aplicability

 Bárbara Bruna Abreu de Castro^{1,2,3},
 Kaique Arniele^{1,2},
 Petrus Renô^{1,2},
 Hélady Sanders Pinheiro^{1,2,3}

¹Laboratório de Nefrologia Experimental e Núcleo Interdisciplinar de Estudos em Animais de Laboratório - NIDEAL, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Brasil.

²Centro de Biologia da Reprodução, Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Brasil.

³Núcleo Interdisciplinar de Estudos e Pesquisas em Nefrologia (NIEPEN), Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, Brasil.

 **Bárbara de Castro**
 Rua das Platinas s, 300, Bl.5,
 Ap.104, Marilândia
 CEP: 36039-410
 Juiz de Fora - MG
 ✉ barabarabac@yahoo.com.br

Submetido: 07/01/2019
 Aceito: 22/01/2018

RESUMO

Introdução: a prevalência da obesidade e de outras doenças relacionadas está aumentando em todo o mundo de forma preocupante. Caracterizada pelo aumento do peso corporal ou do acúmulo excessivo de gordura corporal, a obesidade tem sido associada ao aumento da mortalidade decorrente de maior incidência de hipertensão, diabetes e vários tipos de câncer. Os modelos animais fornecem dados fundamentais para a compreensão dos parâmetros básicos que regulam os componentes do nosso balanço energético. **Objetivo:** esta revisão selecionou artigos que utilizaram modelos animais (ratos e camundongos) de obesidade focando nas principais alterações metabólicas causadas pela obesidade com o objetivo de apresentar os principais modelos utilizados nos últimos 5 anos. **Material e Métodos:** Foram realizadas duas buscas na base de dados PubMed utilizando as expressões: "obesity" AND "metabolism" AND "animal model" AND "mice" e "obesity" AND "metabolism" AND "animal model" AND "rat", sendo selecionados os estudos considerados mais relevantes a partir dos critérios: descrição detalhada do modelo experimental e análise dos parâmetros metabólicos de interesse: peso, perfil lipídico e perfil glicêmico. Outras referências foram utilizadas para elucidar melhor os modelos encontrados e também aqueles que não foram citados, mas, que possuem importância no entendimento da evolução dos modelos animais de obesidade. **Resultados:** A espécie mais utilizada foi o camundongo, o sexo predominante foi o masculino, a faixa etária dos roedores variou de neonatos até 44 semanas e o período de acompanhamento chegou até 53 semanas. A obesidade foi confirmada pelo aumento significativo do peso e na maioria dos estudos foram encontradas alterações no metabolismo lipídico e glicêmico. Encontramos cinco grupos de mecanismos de indução da obesidade porém a maioria dos estudos utilizou dietas hiperlipídicas, modelo que mais se assemelha às alterações metabólicas encontradas em humanos. **Conclusão:** Investigar as causas e

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of obesity and other related diseases is increasing worldwide worrisome. Characterized by increased body weight or excessive accumulation of body fat, obesity has been associated with increased mortality due to higher incidence of hypertension, diabetes and many types of cancer. Animal models provide key data for understanding the basic parameters that regulate the components of our energy balance. **Objective:** This review selected articles that used animal models (mice and mice) for obesity focusing on the main metabolic changes caused by obesity in order to present the main models used in the last 5 years. **Material and Methods:** Two searches were performed in the PubMed database using the expressions "obesity" AND "metabolism" AND "animal model" AND "mice" and "obesity" AND "metabolism" AND "animal model" AND "rat". We selected the papers considered more relevant from the criteria: detailed description of the experimental model and analysis of the metabolic parameters of interest: weight, lipid profile and glycemic profile. Other references were used to better elucidate the models found and also those that were not mentioned, but we considered important for the understanding of the evolution of animal models of obesity. **Results:** Mouse was the most used species, the predominant gender was male, the rodent age ranged from neonates up to 44 weeks and the follow-up period reached up to 53 weeks. Obesity was confirmed by a significant weight gain and most studies showed alterations in lipid and glycemic metabolism. We found five groups of induction of obesity, but the majority of studies applied hiperlipidic diets, model which better mimics metabolic changes found in humans. **Conclusion:** Investigating the causes and effects of induced obesity in experimental models may provide a better understanding of the pathophysiology of obesity, creating new options for prevention and treatment.

Keywords: animal models, metabolism, obesity, rodentia



ANEXO C

Resumos apresentados em eventos

DE CASTRO, BARBARA BRUNA ABREU; ZANCANELLI, L. M.; ARRIEL, K.; CARMO, W.B.; SUASSUNA, P. G. A.; CENEDEZE, M. A.; CAMARA, N. O. S.; SANDERS-PINHEIRO, H. Estudo piloto de indução da obesidade por dieta hipercalórica com 45% e 60% de gordura em um modelo experimental de doação renal In: **XII Congresso Mineiro de Nefrologia, 2017, Ouro Preto.**

DE CASTRO, BARBARA BRUNA ABREU; ZANCANELLI, L. M.; ARRIEL, K.; CARMO, W.B.; SUASSUNA, P. G. A.; CENEDEZE, M. A.; CAMARA, N. O. S.; SANDERS-PINHEIRO, H. Efeito das dietas hipercalóricas com 60% e 45% de gordura sobre a função renal em um modelo de doação renal por uninefrectomia In: **XIX Congresso Paulista de Nefrologia, 2017, Atibaia. J Bras Nefrol. Jornal Brasileiro de Nefrologia, 2017. v.39. p.1 - 54**

DE CASTRO, BARBARA BRUNA ABREU; ARRIEL, K.; ZANCANELLI, L. M.; CARMO, W.B.; SUASSUNA, P. G. A.; CENEDEZE, M. A.; CAMARA, N. O. S.; SANDERS-PINHEIRO, H. Avaliação da função renal do modelo experimental de doação renal seguido de indução da obesidade por dieta hipercalórica com 45% e 60% de gordura – Estudo Piloto In: **XV Congresso Brasileiro de Transplantes, 2017, Foz do Iguaçu.**

DE CASTRO, BARBARA BRUNA ABREU; SUASSUNA, P. G. A.; ZANCANELLI, L. M.; ARRIEL, K.; CENEDEZE, M. A.; CAMARA, N. O. S.; SANDERS-PINHEIRO, H. Uninefrectomia associada à obesidade causada por dieta hipercalórica e função renal em camundongos In: **XXIX Congresso Brasileiro de Nefrologia, 2018, Rio de Janeiro.**

CASTRO, BÁRBARA BRUNA ABREU; ZANCANELLI, L. M.; ARRIEL, K.; SUASSUNA, P. G. A.; CENEDEZE, M. A.; CAMARA, N. O. S.; SANDERS-PINHEIRO, HELADY. Parâmetros metabólicos e função renal de um modelo experimental de doação renal seguida de obesidade In: **II Congresso Multidisciplinar de Transplantes, 2018, Juiz de Fora.**

DE CASTRO, BARBARA BRUNA ABREU; RENO, P.; ARRIEL, K.; CENEDEZE, M. A.; CAMARA, N. O. S.; SANDERS-PINHEIRO, H. Efeito do Fenofibrato sobre a adiposidade corporal do modelo de obesidade e uninefrectomia – Resultados preliminares In: **13º Congresso Mineiro de Nefrologia, 2019, Tiradentes - MG. Anais CMN 2019. Jornal Brasileiro de Nefrologia, 2019. v.41. p.27 - 27**