

CENTRO UNIVERSITÁRIO ASSIS GURGACZ
ANA MARIA WEINHONER PENNA BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ANEMIA HEMOLÍTICA NA HISTOMORFOLOGIA
RENAL DE ROEDORES VAGOTOMIZADOS COM OBESIDADE HIPOTALÂMICA**

CASCADEL, PARANÁ
2024

CENTRO UNIVERSITÁRIO ASSIS GURGACZ
ANA MARIA WEINHONER PENNA BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ANEMIA HEMOLÍTICA NA HISTOMORFOLOGIA
RENAL DE ROEDORES VAGOTOMIZADOS COM OBESIDADE HIPOTALÂMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Nutrição.

**Professora Orientadora: Marianela Diaz
Urrutia.**

CASCADEL, PARANÁ

2024

CENTRO UNIVERSITÁRIO ASSIS GURGACZ
ANA MARIA WEINHONER PENNA BORGES

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ANEMIA HEMOLÍTICA NA HISTOMORFOLOGIA
RENAL DE ROEDORES VAGOTOMIZADOS COM OBESIDADE HIPOTALÂMICA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Curso de Nutrição do Centro Universitário Assis Gurgacz, exigido como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição, sob a orientação da Professora Ma. Prof.^a Marianela Díaz Urrutia, tendo sido _____ com a nota _____, na data de ____/____/2024.

BANCA EXAMINADORA

Ma. Prof.^a Marianela Díaz Urrutia

Nutricionista, mestre em Biociências e Saúde pela UNIOESTE - PR

Banca Examinadora

Banca Examinadora

Cascavel, Paraná, Julho de 2024.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ANEMIA HEMOLÍTICA NA HISTOMORFOLOGIA RENAL DE ROEDORES VAGOTOMIZADOS COM OBESIDADE HIPOTALÂMICA

Ana Maria Weinhonner Penna Borges^{1*}, Marianela Díaz Urrutia²

¹ Acadêmica do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG. ² Nutricionista, mestre em Biociências e Saúde. Docente do Centro Universitário Assis Gurgacz – FAG

*Autor correspondente: amwpborges@minha.fag.edu.br@gmail.com

RESUMO

A obesidade é uma doença crônica multifatorial caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo branco. Esse tecido secreta adipocinas pró-inflamatórias que interferem na homeostase de diversos órgãos, inclusive os rins, e afetam o metabolismo do ferro, contribuindo para a anemia inflamatória, que está ligada ao funcionamento dos rins, visto que é um fator complicador para a doença renal crônica. Nesse cenário, o nervo vago surge como uma peça importante na regulação do processo inflamatório e sua estimulação parece estar relacionada à melhoria da lesão renal aguda. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos sinérgicos da obesidade, vagotomia e anemia na histomorfologia renal de roedores com obesidade hipotalâmica. O trabalho foi desenvolvido a partir de tecidos renais recebidos de um projeto previamente realizado após aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal (protocolo nº 15-22). Os animais (n=24) foram distribuídos em grupo controle (CTL) (n=6), grupo obeso não-operado (MSG-NO) (n=6), grupo obeso vagotomizado (MSG-VAG) (n=6) e grupo obeso, vagotomizado e anêmico (MSG-VAG-FHZ) (n=6). A indução à obesidade hipotalâmica ocorreu mediante injeção subcutânea de glutamato monossódico (4 mg/kg de peso do animal) e a indução à anemia mediante injeção intraperitoneal de fenilhidrazina (40 mg/kg de peso do animal). Após eutanásia dos animais com 120 dias de vida, os rins foram coletados e armazenados para logo serem emblocados em parafina e submetidos a coloração da técnica H&E. Foram confeccionadas três lâminas com três cortes de espessura de 5µm para cada animal. A partir das fotomicrografias dos cortes foram avaliados os parâmetros de área glomerular do espaço de bowman e dos corpúsculos. As análises estatísticas foram realizadas mediante o programa *Graphpad Prism* com nível de significância $p<0,05$. Os resultados indicam que a obesidade impacta negativamente na histomorfologia renal ($p<0,0001$). A vagotomia foi capaz de amenizar parcialmente essa implicação, o que sugere uma proteção parcial contra os efeitos negativos da obesidade ($p<0,0001$). No entanto, a indução à anemia diminuiu os efeitos positivos da vagotomia ($p<0,0001$). Estes achados sugerem que a obesidade e a anemia têm efeitos sinérgicos deletérios na histomorfologia renal, enquanto a vagotomia pode oferecer uma proteção limitada.

Palavras chave: Obesidade. Nervo Vago. Anemia. Glutamato de Sódio. Vagotomia.

EVALUATION OF THE EFFECTS OF HEMOLYTIC ANEMIA ON THE RENAL HISTOMORPHOLOGY OF VAGOTOMIZED RODENTS WITH HYPOTHALAMIC OBESITY

ABSTRACT

Obesity is a multifactorial chronic disease characterized by the excessive accumulation of fat in white adipose tissue. This tissue secretes pro-inflammatory adipokines that interfere with the homeostasis of various organs, including the kidneys, and affect iron metabolism, contributing to Inflammatory Anemia, which is linked to kidney function and is a complicating factor for chronic kidney disease. In this scenario, the vagus nerve emerges as an important piece in the regulation of the inflammatory process, and its stimulation seems to be related to the improvement of acute kidney injury. The aim of this study was to evaluate the synergistic effects of obesity, vagotomy, and anemia on the renal histomorphology of rodents with hypothalamic obesity. The study was developed using kidney tissues received from a previously conducted project approved by the Animal Experimentation Ethics Committee (protocol nº 15-22). The animals (n=24) were divided into a control group (CTL) (n=6), a non-operated obese group (MSG-NO) (n=6), a vagotomized obese group (MSG-VAG) (n=6), and a vagotomized and anemic obese group (MSG-VAG-FHZ) (n=6). Hypothalamic obesity was induced by subcutaneous injection of monosodium glutamate (4 mg/kg of animal weight) and anemia was induced by intraperitoneal injection of phenylhydrazine (40 mg/kg of animal weight). After euthanizing the animals at 120 days old, the kidneys were collected and stored to be embedded in paraffin and subjected to H&E staining technique. Three slides with three 5µm thick sections were made for each animal. From the photomicrographs of the sections, the parameters of the glomerular area of bowman's space and the corpuscles were evaluated. Statistical analyses were performed using the GraphPad Prism program with a significance level of $p < 0.05$. The results indicate that obesity negatively impacts renal histomorphology ($p < 0.0001$). Vagotomy was able to partially mitigate this implication, suggesting partial protection against the negative effects of obesity ($p < 0.0001$). However, the induction of anemia reduced the positive effects of vagotomy ($p < 0.0001$). These findings suggest that obesity and anemia have synergistic deleterious effects on renal histomorphology, while vagotomy may offer limited protection.

Keywords: Obesity. Vagus Nerve. Anemia. Sodium Glutamate. Vagotomy.

1 INTRODUÇÃO

A obesidade, caracterizada por um acúmulo anormal ou excessivo de gordura na forma de triglicerídeos, principalmente, no Tecido Adiposo Branco (TAB), é uma doença crônica multifatorial que afeta boa parte da população mundial, despertando preocupações significativas devido às suas implicações para a saúde individual e pública (Kawai; Autieri; Scalia, 2021). Nesse sentido, a Federação mundial de Obesidade (do inglês: *World Obesity Federation* - WOF) (2022), fez projeções para 2025, em que 512 milhões de mulheres e 380 milhões de homens serão obesos; em 2030, esses números sobem para 586 e 439 milhões, respectivamente.

O TAB é considerado um órgão endócrino metabolicamente complexo, pois desempenha um papel fundamental sobre as cascatas inflamatórias do organismo (Izaola *et al.*, 2015). A secreção de adipocinas pró-inflamatórias pelo TAB na

obesidade interfere negativamente na homeostase de diversos órgãos, incluindo os rins. Entre tais adipocinas, o Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) e a Interleucina-6 (IL-6) promovem uma resposta inflamatória e resistência à insulina, relacionadas à lesão renal (Wang *et al.*, 2022). Além disso, também pode ocorrer depósito de ácidos graxos livres e triglicerídeos no tecido renal, causando toxicidade e danos aos rins (Wang *et al.*, 2022).

Por outro lado, a perturbação da homeostase causada pela obesidade também se mostra intimamente ligada ao metabolismo do ferro, mineral responsável pela eritropoiese, essencial para a função mitocondrial, síntese e reparo da molécula de DNA e para várias reações enzimáticas (Muckenthaler *et al.*, 2017). Ao mesmo tempo, as citocinas pró-inflamatórias produzidas pelo TAB podem levar à anemia inflamatória (AI), condição que afeta mais de um bilhão de indivíduos e é considerada a segunda causa mais comum da diminuição da concentração de ferro na corrente sanguínea (Weiss; Ganz; Goodnough, 2019; Wojtaszek; Glogowski; Malyszko, 2020).

Nesse tipo de anemia, ocorre o aumento da produção da hepcidina (hormônio que regula a concentração do ferro na corrente sanguínea), devido à ação exacerbada da IL-6, por meio da ativação da via de sinalização transcricional STAT-3 (Nemeth; Ganz, 2023). A hepcidina exerce sua ação regulatória do ferro mediante a interação com a ferroportina (proteína que transporta o ferro através das membranas celulares) por dois mecanismos, bloqueando-a e causando a sua endocitose com posterior degradação. Assim, ocorre uma redução do ferro disponível na corrente sanguínea a partir das principais fontes do organismo, sendo elas o duodeno, o baço e o fígado, nas quais a ferroportina é necessária para a transferência do íon para o sangue (Weiss; Ganz; Goodnough, 2019; Nemeth *et al.*, 2004; Saad; Qutob, 2022).

A anemia está relacionada com diversas doenças, entre elas, a Doença Renal Crônica (DRC) (Bregman, 2009). Na DRC, percebe-se uma menor produção do hormônio eritropoetina, sendo ele responsável pela indução da eritroferrona, a qual, por sua vez, aumenta a disponibilidade de ferro, por suprimir a expressão da hepcidina; portanto, a menor produção da eritropoetina leva à menor disponibilidade de ferro (Marques; Weiss; Muckenthaler, 2022). Ademais, uma parte da hepcidina é produzida nas regiões proximal e distal dos néfrons, possuindo um papel importante no metabolismo renal do ferro (Martines *et al.*, 2013). Percebe-se, portanto, que o funcionamento deficiente dos rins influencia no processo de anemia; entretanto, não

se sabe ao certo o contrário, isto é, se a anemia exerce influência sobre os tecidos renais.

Outro aspecto intrigante na relação entre obesidade, função renal e anemia é a ação do nervo vago (NV), sendo ele uma peça chave na regulação da resposta inflamatória e do metabolismo. A inflamação renal parece estar fortemente relacionada com o NV, devido ao reflexo inflamatório, mecanismo fisiológico em que sinalização aferente deste nervo, ativada por citocinas ou patógenos, produz uma resposta eferente mediada pelo mesmo nervo, a qual regula a produção das citocinas pró-inflamatórias e a inflamação (Tracey, 2007; Pavlov; Tracey, 2012). Portanto, nota-se a importância deste nervo na obesidade e na anemia inflamatória. Outrossim, a estimulação do NV parece estar relacionada com menor expressão do TNF- α e melhora da lesão renal aguda (Tanaka; Okusa, 2020). Porém o impacto do NV sobre a histologia e morfologia renal ainda foi pouco estudado.

Considerando o contexto descrito, este estudo tem como objetivo analisar os efeitos sinérgicos da obesidade, retirada do NV (processo conhecido como vagotomia) e anemia na histomorfologia renal de ratos induzidos à obesidade hipotalâmica perinatal e à anemia na vida adulta, através da identificação de possíveis alterações morfológicas e histológicas nos tecidos, discernindo a contribuição de cada fator para tais mudanças, a fim de aprofundar a compreensão dos mecanismos subjacentes a essa rede de interações complexas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Para realização deste estudo, foram utilizados os tecidos renais de ratos já eutanasiados que fizeram parte de uma pesquisa realizada em uma instituição estadual de ensino superior da cidade de Cascavel-PR. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEUA) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), conforme exigência do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sob o parecer do protocolo nº 15-22, no dia 26/10/2022. Posteriormente, os tecidos foram recebidos por doação pelo Centro Universitário Assis Gurgacz para serem analisados.

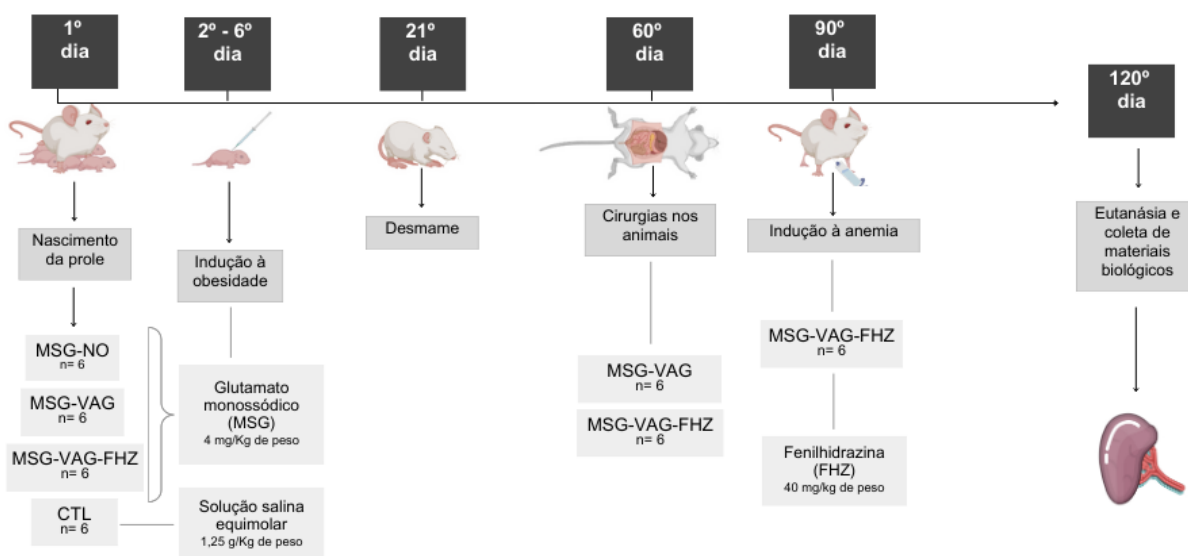
Os animais foram divididos em grupo controle (CTL), grupo obeso não-operado (MSG-NO), grupo obeso vagotomizado (MSG-VAG) e grupo obeso, vagotomizado e anêmico (MSG-VAG-FHZ). Os grupos MSG-NO, MSG-VAG e

MSG-VAG-FHZ foram induzidos à obesidade hipotalâmica mediante injeção subcutânea no período perinatal (2º ao 6º dia de vida) com glutamato monossódico (MSG) na dose de 4 mg/kg de peso corporal do animal, conforme protocolo descrito por Scallet e Olney (1986) e adaptado por Grassioli *et al.* (2007). Os animais do grupo CTL receberam no mesmo período solução salina equimolar, na dose de 1,25g/kg de peso corporal. Em seguida, os animais foram mantidos com as mães para serem amamentados até os 21 dias de vida, momento em que foram desmamados e separados em caixas de três a quatro animais. Receberam água potável e ração padrão (Biobase®) *ad libitum*, sob condições de temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ \text{C}$) e ciclo claro / escuro de 12 / 12 horas.

Aos 60 dias de vida e depois de 12 horas de jejum, os animais dos grupos MSG-VAG e MSG-VAG-FHZ foram submetidos à cirurgia de vagotomia, seguindo os procedimentos descritos por Balbo *et al.* (2007). Aos 90 dias, os animais do grupo MSG-VAG-FHZ foram submetidos à aplicação de fenilhidrazina (FHZ) na dose de 40 mg/kg, mediante injeção intraperitoneal, conforme protocolo descrito por Moreau (2012), para garantir a anemia.

Aos 120 dias de vida, todos os animais passaram pela eutanásia, onde o rim esquerdo de todos eles foi retirado, pesado e posteriormente armazenado em solução fixadora ALFAC por 24 horas, para logo serem transferidos para álcool 70%, até o momento das análises histológicas.

Figura 1 - Delineamento da metodologia experimental



Fonte: A autora (2024)

Durante o processamento, os tecidos foram submetidos à técnica de desidratação em série crescente de álcool 80%, 90%, 95% e 100%. Em seguida, utilizou-se a diafanização em xilol para prosseguir com o emblocamento em parafina. Os blocos foram seccionados em cortes semisseriados com espessura de 5 micrômetros (μm) em micrótomo (Olympus). Para cada bloco, foram confeccionadas três lâminas, com três cortes cada.

Para análise da histomorfologia executada durante a realização deste trabalho empregou-se a técnica de coloração Hematoxilina e Eosina (H&E) (Junqueira; Junqueira, 1983). Em seguida, as lâminas foram fotografadas na objetiva de 40x com auxílio de fotomicroscópio (Olympus DP71) e *software DP-Controller v. 3.2.1.276* para *Windows*. Nas lâminas, foram fotografados 10 corpúsculos por animal. Na sequência, as imagens foram analisadas mediante o uso do *software ImageJ v. 1.8.0_345* (64-bit) para *Windows*. Avaliou-se a degeneração dos corpúsculos renais, através da medida da área dos corpúsculos, dos glomérulos e do Espaço de Bowman (EB), sendo esta última obtida a partir da subtração da área dos glomérulos renais da área total dos corpúsculos, conforme descrito por Medeiros *et al.* (2021). Os resultados foram expressos em μm .

Os dados foram expressos como média $\pm$ Erro Padrão da Média. Para análise estatística, após realizado o teste de Normalidade e homocedasticidade, foi aplicada a análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido de pós-teste de Tukey. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. As análises foram realizadas utilizando o programa estatístico *GraphPad Prism* versão 8.0 para MAC (*GraphPad Software*©).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

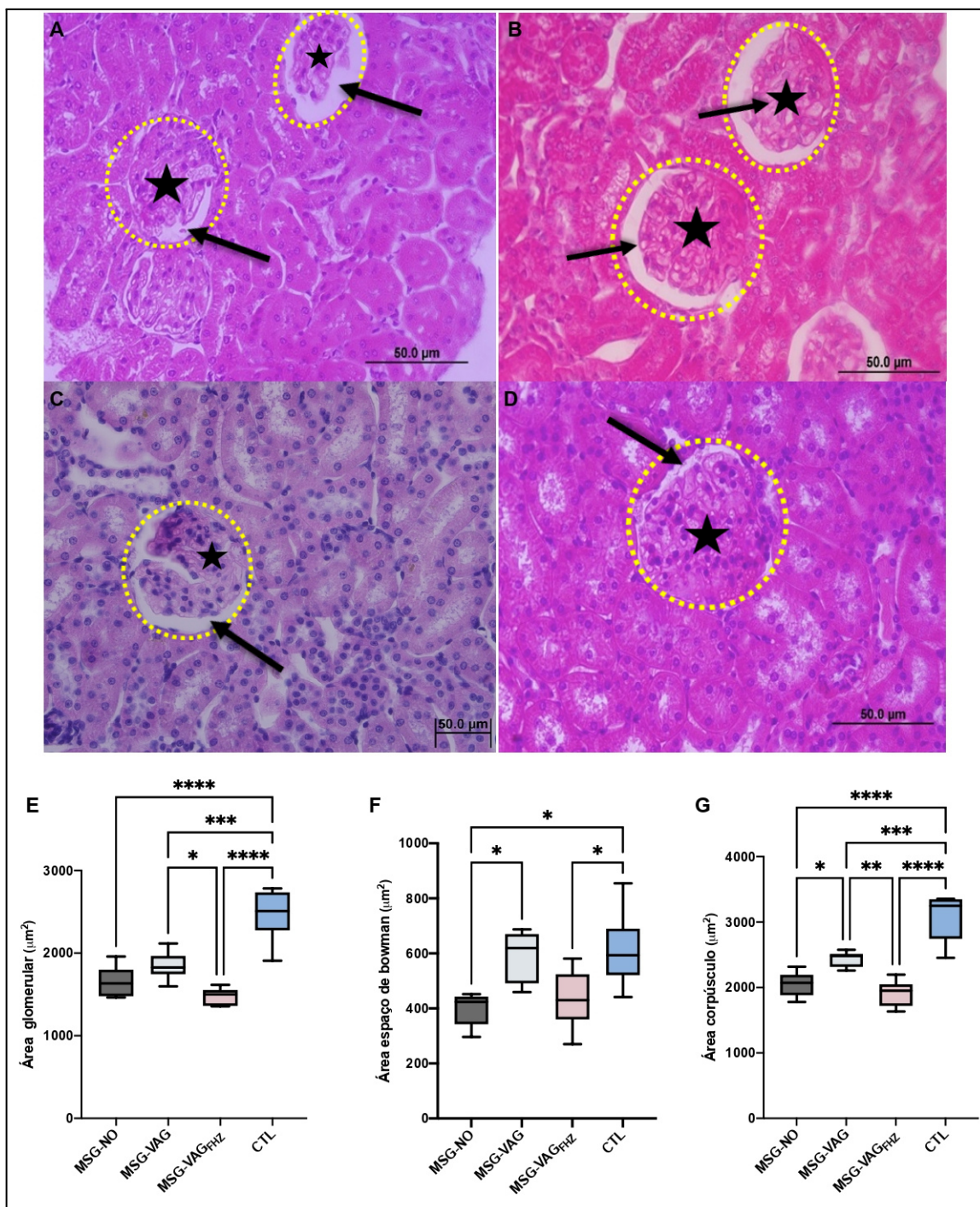
As imagens obtidas permitiram a análise da área dos corpúsculos renais, área dos glomérulos e a área do Espaço de Bowman (EB). Quatro imagens representativas dos grupos e três gráficos foram extraídos a partir desses dados, como apresentado na Figura 2.

Na análise apresentada na Figura 2E, observa-se que os animais do grupo CTL possuem uma área glomerular significativamente maior ($p < 0,005$) em comparação aos demais grupos experimentais, sugerindo que a ausência de intervenções cirúrgicas e de induções, tanto à obesidade como à anemia, promovem a manutenção da integridade dos glomérulos, como observado na Figura 2D, onde

percebe-se que o glomérulo ocupa quase todo o espaço do corpúsculo. Além disso, a indução à anemia no grupo MSG-VAG-FHZ mostrou uma redução significativa ($p=0,0279$) na área glomerular em relação ao grupo MSG-VAG, sendo este parâmetro estatisticamente semelhante ao observado nos animais do grupo MSG-NO ($p=0,4786$), demonstrando que a indução à anemia na obesidade impacta negativamente na estrutura glomerular dos rins.

Em relação aos resultados sobre a análise da área do EB, observa-se na Figura 2F que os animais CTL apresentaram uma área do EB significativamente superior aos animais MSG-NO ($p<0,0001$) e aos animais MSG-VAG-FHZ ($p<0,0001$). Estes achados sugerem que a integridade estrutural do EB é mantida no grupo controle, que não foi submetido a obesidade ou intervenções adicionais.

Figura 2 - Efeito da FHZ associada à obesidade hipotalâmica e à vagotomia sobre a histomorfologia renal.



A, B e C e D correspondem a fotomicrografias representativas dos corpúsculos renais dos grupos MSG-NO, MSG-VAG, MSG-VAG-FHZ e CTL, respectivamente. Coloração H&E. Linha amarela pontilhada indica área do corpúsculo renal; estrela preta indica área do glomérulo e seta preta indica a área do EB. Demais estruturas representam células epiteliais dos túbulos renais (não avaliadas). E, F e G são gráficos representativos da análise dos dados referentes à área dos glomérulos, área do EB e área dos corpúsculos, respectivamente. Dados são expressos como média $\pm$ EPM; n = 6 animais/grupo. Anova de uma via com Tukey pós-teste ($p < 0,05$). As linhas e asteriscos sobre as barras representam as diferenças estatísticas ($p < 0,05$) com pós teste de Tukey.

Fonte: A autora, com auxílio do software *GraphPad Prism* (2024)

Por outro lado, os grupos MSG-VAG e MSG-VAG-FHZ mostraram-se estatisticamente iguais ($p = 0,7398$) em termos de área do EB. Este resultado indica

que a combinação de obesidade, vagotomia e anemia hemolítica não exacerba adicionalmente o comprometimento da área do EB observado nos animais MSG-VAG. Entretanto, nota-se que os animais dos grupos MSG-NO e MSG-VAG-FHZ apresentam maior desorganização do EB, com contornos mal definidos e falta de uniformidade (Figura 2A e 2C).

No que se refere à área dos corpúsculos renais, percebe-se na figura 2G que os animais obesos de todos os grupos apresentam área corpuscular significativamente reduzida, quando comparados ao grupo CTL ($p < 0,05$), evidenciando que a obesidade impacta negativamente neste parâmetro. Os animais MSG-VAG, por sua vez, apresentaram aumento significativo na área quando comparados ao grupo MSG-NO ($p = 0,0460$), sugerindo uma melhoria no aspecto corpuscular ligada à vagotomia. Entretanto, nota-se que a fenilhidrazina teve a capacidade de reduzir a área corpuscular em relação ao grupo MSG-VAG ($p = 0,005$), com valores estatisticamente iguais aos do grupo MSG-NO, explicitando um efeito deletério da indução à anemia sobre a área dos corpúsculos renais.

Os dados apresentados nos gráficos também se encontram na tabela abaixo:

Tabela 1 – Histomorfologia corpuscular dos diferentes grupos avaliados

Parâmetros	CTL	MSG-NO	MSG-VAG	MSG-VAG-FHZ	ANOVA Valor de p
Área glomerular (μm^2)	2471,5 $\pm$ 127,5	1652,9 $\pm$ 75,2	184,07 $\pm$ 69,1	1478,6 $\pm$ 42,2	<0.0001
Área corpuscular (μm^2)	3082,5 $\pm$ 149	2051,7 $\pm$ 76,7	2437,9 $\pm$ 47,9	1913 $\pm$ 81,2	<0.0001
Área EB (μm^2)	610,9 $\pm$ 56,3	398,8 $\pm$ 24,8	591,8 $\pm$ 38,8	434,4 $\pm$ 43,9	0,0031

Dados são média $\pm$ EPM. N = 6 animais/grupo. Anova de uma via com Tukey pós-teste.

Fonte: Dados da pesquisa (2024)

A partir das imagens e dados trazidos nos gráficos da Figura 2 e na Tabela 1, nota-se que a indução à obesidade com MSG resultou na diminuição de todos os parâmetros avaliados, ou seja, a administração dessa substância resultou em alterações na histomorfologia renal. Cabe salientar que o uso do MSG para indução à obesidade é interessante porque concilia aumento da atividade parassimpática,

hiperinsulinemia e outros componentes da síndrome metabólica, mimetizando as desordens observadas em indivíduos obesos (Miranda *et al.*, 2016).

Em consonância com a hipótese levantada anteriormente, o estudo de Elbassuoni *et al.* (2018) mostrou que a aplicação de MSG em animais na dose de 35 mg/kg/dia durante duas semanas resultou em uma estrutura renal desorganizada, com atrofia parcial dos glomérulos e dilatação do Espaço de Bowman, além da infiltração de células inflamatórias. Zanuzo *et al.* (2020) também relataram alterações na histologia renal de ratos após a suplementação de MSG na dose de 4 g/kg/dia nos primeiros 5 dias de vida, relacionadas principalmente à menor área dos glomérulos e EB, quando comparado ao grupo controle (não induzido à obesidade).

Esses achados sugerem que os rins podem exibir desordens relacionadas à obesidade. De acordo com Tsuboi *et al.* (2017), a obesidade não apenas aumenta o risco de progressão de uma doença renal preexistente, mas, por si só, é um fator independente de injúria renal, e a Glomerulopatia Relacionada à Obesidade (GRO) é considerada a patologia renal secundária à obesidade mais conhecida. Nesse contexto, a resistência à insulina, disfunção mitocondrial, inflamação e metabolismo lipídico anormal são as comorbidades associadas à obesidade que contribuem significativamente para a GRO (Xu *et al.*, 2017).

Os animais do grupo MSG-VAG, por outro lado, exibiram área corpuscular e do EB significativamente maior do que os animais do grupo MSG-NO. (Figura 2 e Tabela 1). Portanto, deduz-se que a vagotomia pode atenuar certas alterações causadas pela administração do MSG à histomorfologia renal, apesar de os animais vagotomizados terem apresentado redução nos critérios avaliados quando comparados ao grupo CTL.

Esse impacto da vagotomia pode ser explicado pelo descontrole autonômico, marcado por hiperatividade vagal, ao qual a obesidade hipotalâmica parece estar relacionado (Balbo *et al.*, 2016), de forma que a retirada no NV poderia atenuar essa desordem do sistema nervoso.

Também estudando os efeitos da vagotomia sobre os rins, apesar de não associada à obesidade, mas sim ao Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES), Pham *et al.* (2020) notaram uma redução importante na inflamação e nos danos renais associados à doença depois de realizada a cirurgia. Os autores observaram que, apesar de o NV normalmente regular os processos inflamatórios através de vias colinérgicas anti-inflamatórias, no caso do LES, ocorre uma disautonomia do sistema

nervoso que compromete os efeitos protetores do NV; sendo assim, a vagotomia seria capaz de mitigar tal resultado.

Também, a repercussão da retirada do NV sobre a obesidade já foi elucidada em outros estudos: Kuchler *et al.* (2021) notaram que o procedimento reduziu o ganho de peso corporal em ratos induzidos à obesidade com MSG (4g/kg/dia durante cinco dias) e diminuiu o tamanho e número de adipócitos; Siqueira *et al.* (2021) demonstraram que houve redução no peso corporal, na adiposidade e nos níveis séricos de glicose e triglicerídeos, além de menor resistência à insulina, em animais vagotomizados; Miyato *et al.* (2012) concluíram que a vagotomia resulta na diminuição da gordura visceral em humanos que realizaram gastrectomia.

Por sua vez, os animais do grupo MSG-VAG-FHZ apresentaram menor área glomerular e corpuscular (Figura 2 e Tabela 1). Tais achados sugerem que a indução à anemia fragilizou os efeitos relativamente positivos da vagotomia sobre tais parâmetros. Importante ressaltar que a FHZ, droga utilizada no tratamento da policitemia vera (doença caracterizada pelo aumento do número total de eritrócitos no corpo) (Pandey *et al.*, 2014), é empregada na indução à anemia em modelos experimentais por ser um processo mais rápido do que a utilização de dietas pobres em ferro e/ou deficientes em vitamina B12 e ácido fólico (Lee *et al.*, 2014).

De forma parecida com este estudo, El-Shehry *et al.* (2023) observaram numerosas alterações histopatológicas nos tecidos renais de roedores após suplementação com FHZ (40 mg/kg/dia durante dois dias), incluindo infiltração de células inflamatórias e de eosinófilos nos glomérulos, degeneração e necrose dos corpúsculos renais e lesão renal estatisticamente significativa quando comparada ao grupo controle (não anêmico); além disso, o grupo induzido à anemia apresentou função renal alterada, retratada pelo aumento dos níveis séricos de creatinina e uréia.

Também avaliando o impacto da FHZ nos tecidos renais, Parvaz *et al.* (2022) relataram danos causados aos corpúsculos renais, refletidos em maiores concentrações séricas de creatinina, uréia e ácido úrico dos animais anêmicos (receberam FHZ na dose de 60 mg/kg/dia por dois dias), comparadas ao grupo controle.

Por outro lado, De Souza *et al.* (2022) utilizaram a FHZ na dose de 40 mg/kg/dia a fim de investigar se a anemia pode piorar comorbidades associadas à

obesidade em ratos com obesidade hipotalâmica (suplementados com MSG na dose de 4 g/kg), porém, verificaram que a anemia levou a lesões semelhantes no tecido adiposo tanto nos ratos obesos como nos não-obesos.

Até hoje, não há estudos que abordam possíveis alterações metabólicas causadas pela anemia associada apenas à vagotomia nem pela anemia associada à obesidade e à vagotomia. Porém, a partir dos resultados obtidos neste trabalho, levanta-se a hipótese de que a indução à anemia atenua os efeitos benéficos da retirada do NV na reversão de determinadas injúrias renais ligadas à obesidade, o que sugere um efeito sinérgico desses processos no metabolismo.

4. CONCLUSÃO

Neste estudo, observou-se que a obesidade induzida pelo MSG causou alterações nos tecidos renais, evidenciadas pela diminuição na área dos glomérulos, EB e corpúsculos. A vagotomia, por sua vez, amenizou algumas alterações renais causadas pela obesidade, o que foi demonstrado pelo aumento na área do EB e dos corpúsculos. Entretanto, a indução à anemia com a FHZ fragilizou os efeitos positivos da retirada do NV, resultando em valores dos critérios analisados semelhantes aos do grupo obeso não vagotomizado.

Sugere-se que sejam contínuas as pesquisas para explorar com maior profundidade as formas pelas quais a anemia influencia na função renal, e também para investigar possíveis intervenções capazes de reduzir os efeitos negativos da anemia nesse cenário.

REFERÊNCIAS

BALBO, S. L. et al. Fat storage is partially dependent on vagal activity and insulin secretion of hypothalamic obese rat. **Endocrine**, v. 31, p. 142-148, 2007.

_____. Vagotomy diminishes obesity in cafeteria rats by decreasing cholinergic potentiation of insulin release. **Journal of physiology and biochemistry**, v. 72, p. 625-633, 2016.

BREGMAN, Rachel. Anemia na doença renal crônica. **J. Bras. Nefrol.**, v. 31, n. 1 suppl. 1, p. 36-41, 2009.

DE SOUZA, Domwesley Wendreo et al. Phenylhydrazine-induced anaemia reduces subcutaneous white and brown adipose tissues in hypothalamic obese rats. **Experimental Physiology**, v. 107, n. 6, p. 575-588, 2022.

ELBASSUONI, Eman A.; RAGY, Merhan M.; AHMED, Sabreen M. Evidence of the protective effect of L-arginine and vitamin D against monosodium glutamate-induced liver and kidney dysfunction in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 799-808, 2018.

EL-SHEHRY, Mona SEF et al. Hematopoietic effect of echinochrome on phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in rats. **PeerJ**, v. 11, p. e16576, 2023.

GRASSIOLLI, Sabrina; GRAVENA, Clarice; DE FREITAS MATHIAS, Paulo Cezar. Muscarinic M2 receptor is active on pancreatic islets from hypothalamic obese rat. **European journal of pharmacology**, v. 556, n. 1-3, p. 223-228, 2007.

IZAOLA, Olatz et al. Inflamación y obesidad (lipoinflamación). **Nutricion hospitalaria**, v. 31, n. 6, p. 2352-2358, 2015.

JUNQUEIRA, Luiz Carlos Uchoa; JUNQUEIRA, L. M. M. S. Técnicas básicas de citologia e histologia. **São Paulo: Santos**, v. 8, n. 3, 1983.

KAWAI, Tatsuo; AUTIERI, Michael V.; SCALIA, Rosario. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 320, n. 3, p. C375-C391, 2021.

KUCHLER, Joice Cristina et al. The vagus nerve and spleen: Influence on white adipose mass and histology of obese and non-obese rats. **Frontiers in Physiology**, v. 12, p. 672027, 2021.

LEE, Hye Won et al. Hemopoietic effect of extracts from constituent herbal medicines of Samul-tang on phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in rats. **International journal of clinical and experimental pathology**, v. 7, n. 9, p. 6179, 2014.

MARQUES, Oriana; WEISS, Günter; MUCKENTHALER, Martina U. The role of iron in chronic inflammatory diseases: From mechanisms to treatment options in anemia of inflammation. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 140, n. 19, p. 2011-2023, 2022.

MARTINES, A. M. F. et al. Iron metabolism in the pathogenesis of iron-induced kidney injury. **Nature Reviews Nephrology**, v. 9, n. 7, p. 385-398, 2013.

MEDEIROS, Kamila Aparecida et al. Vagotomy associated with splenectomy reduces lipid accumulation and causes kidneys histological changes in rats with hypothalamic obesity. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 36, p. e360205, 2021.

MIRANDA, Rosiane A. et al. HPA axis and vagus nervous function are involved in impaired insulin secretion of MSG-obese rats. **J Endocrinol**, v. 230, n. 1, p. 27-38, 2016.

MOREAU, Robert et al. Alterations in bone and erythropoiesis in hemolytic anemia: comparative study in bled, phenylhydrazine-treated and Plasmodium-infected mice. **Plos One**, v. 9, n. 7, p. 1-11, 2012.

MUCKENTHALER, Martina U. et al. A red carpet for iron metabolism. **Cell**, v. 168, n. 3, p. 344-361, 2017.

NEMETH, Elizabeta et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. **science**, v. 306, n. 5704, p. 2090-2093, 2004.

NEMETH, Elizabeta; GANZ, Tomas. Hepcidin and iron in health and disease. **Annual review of medicine**, v. 74, p. 261-277, 2023.

PANDEY, Keerti et al. Molecular mechanism of phenylhydrazine induced haematotoxicity: a review. **Ame J Phytomed Clin Therapeut**, v. 2, n. 3, p. 390-394, 2014.

PARVAZ, Najmeh et al. The protective effect of Pistacia vera pericarp on kidney function in rats with hemolytic anemia. **Research journal of pharmacognosy**, v. 9, n. 1, p. 17-28, 2022.

PAVLOV, Valentin A.; TRACEY, Kevin J. The vagus nerve and the inflammatory reflex—linking immunity and metabolism. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 8, n. 12, p. 743-754, 2012.

PHAM, Grace S. et al. Chronic unilateral cervical vagotomy reduces renal inflammation, blood pressure, and renal injury in a mouse model of lupus. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 319, n. 2, p. F155-F161, 2020.

SAAD, Ramadan A.; QUTOB, Haitham MohammedHabib. The relationship between anemia and obesity. **Expert Review of Hematology**, v. 15, n. 10, p. 911-926, 2022.

SCALLET, Andrew C.; OLNEY, John W. Components of hypothalamic obesity: bipiperidyl-mustard lesions add hyperphagia to monosodium glutamate-induced hyperinsulinemia. **Brain research**, v. 374, n. 2, p. 380-384, 1986.

SIQUEIRA, Bruna Schumaker et al. Vagotomy and splenectomy reduce insulin secretion and interleukin-1 β . **Pancreas**, v. 50, n. 4, p. 607-616, 2021.

TANAKA, Shinji; OKUSA, Mark D. Crosstalk between the nervous system and the kidney. **Kidney international**, v. 97, n. 3, p. 466-476, 2020.

TRACEY, Kevin J. et al. Physiology and immunology of the cholinergic antiinflammatory pathway. **The Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 2, p. 289-296, 2007.

TSUBOI, Nobuo et al. The renal pathology of obesity. **Kidney international reports**, v. 2, n. 2, p. 251-260, 2017.

WANG, Meihui et al. Kidney damage caused by obesity and its feasible treatment drugs. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 2, p. 747, 2022.

WEISS, Guenter; GANZ, Tomas; GOODNOUGH, Lawrence T. Anemia of inflammation. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 133, n. 1, p. 40-50, 2019.

WOF. World Obesity Federation. **World Obesity Atlas 2023**. Londres: WOF, 2023.

WOJTASZEK, Ewa; GLOGOWSKI, Tomasz; MALYSZKO, Jolanta. Iron and chronic kidney disease: still a challenge. **Frontiers in Medicine**, v. 7, p. 565135, 2020.

XU, Tianhua; SHENG, Zitong; YAO, Li. Obesity-related glomerulopathy: pathogenesis, pathologic, clinical characteristics and treatment. **Frontiers of medicine**, v. 11, p. 340-348, 2017.

ZANUZO, Kesia et al. Physical exercise associated with vitamin D chronic supplementation reduces kidney injury induced by monosodium glutamate. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, p. e20201097, 2020.