

ESCOLA DE ENFERMAGEM
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

CARLA DJAMILA DE PINA VICTORIA

O TREINAMENTO FÍSICO PRÉVIO EVITA A DOENÇA RENAL DIABÉTICA

SÃO PAULO

2023

CARLA DJAMILA DE PINA VICTORIA

O TREINAMENTO FÍSICO PRÉVIO EVITA A DOENÇA RENAL DIABÉTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção de título de Bacharel em Enfermagem.

Estudante: Carla Djamila de Pina Victoria - 8º semestre do Curso de Graduação da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Profª Drª Maria de Fátima Fernandes Vattimo

SÃO PAULO

2023

AGRADECIMENTOS

Eu, Carla, gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter permitido a minha estadia no Brasil, cuidando da minha saúde física e psicológica, me proporcionando força para continuar os estudos nesses meus quatros anos de graduação longe da minha família e amigos.

Segundo, ao meu pai, Antonio Carlos Sousa Victoria que fez o possível para que eu pudesse estudar fora e me apoiou financeiramente para continuação dos meus estudos. A minha querida irmã, Samira, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo suporte mesmo estando longe.

Agradeço também, aos meus amigos e amigas, Carmeline Siqueira Aguiar Santos, Guilherme Henrik Vieira, Higor Alves Sena, Alessandro Lopes da Costa e Eloisa de Oliveira Silva, por terem se tornado a minha família no Brasil e me apoiarem nos momentos difíceis.

À minha querida orientadora, Prof.^a Dr.^a Maria de Fátima Fernandes Vattimo, que sempre foi respeitosa, amigável e uma excelente orientadora, que me proporcionou vários momentos de aprendizagem, viagens e apresentações em congressos.

E por fim, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela aceitação da minha pesquisa, apoiando financeiramente para o seu desenvolvimento.

VICTORIA CD. O treinamento físico prévio evita a doença renal diabética. [Trabalho de Conclusão de Curso- TCC]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo

RESUMO

Introdução: A doença renal diabética (DRD) é a principal causa de doença renal crônica terminal (DRCT) resultando em necessidade de terapia de substituição renal. A prática de exercício físico tem demonstrado grande impacto no controle da função endotelial e pode contribuir para suprimir a progressão da DRD. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do treinamento físico na função, hemodinâmica e perfil oxidativo renal de ratos quando realizado antes e após a ocorrência da DRD. **Métodos:** Foram utilizados ratos Wistar, machos, pesando entre 250 300g e g, randomizados em quatro grupos: Citrato: animais “controle” que receberam o tampão citrato (veículo da estreptozotocina-STZ, i.v.,caudal, dose única, 1º dia do protocolo); DM: animais que receberam STZ (60 mg/kg, i.v., caudal, dose única, diluída em citrato, 1º dia de protocolo); DM+TF: animais DM submetidos ao treino de natação (TF; diariamente; 1 hora; 4 semanas) após a indução do DM e TF+DM+TF: animais ao exercício físico antes e após a indução da DM (TF por 8 semanas). Todos os grupos foram acompanhados por 60 dias. Foram avaliados função renal, por meio do *clearance* de inulina, creatinina plasmática e microalbuminúria, perfil oxidativo por meio da mensuração dos peróxidos urinários, óxido nítrico urinário (NO) e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). **Resultados:** Os resultados mostraram que o exercício físico realizado antes e após a DM, como no grupo TF+DM+TF, induziu redução da creatinina sérica e microalbuminúria e elevação do *clearance* de inulina. Além disso, foi possível observar a diminuição dos níveis de peróxidos urinários, NO e TBARS nos grupos DM exercitados em relação ao grupo citrato, ressaltando melhores resultados nos animais do grupo exercitado antes e após o DM para FOX e TBARS. **Conclusão:** O exercício físico prévio e após o DM confirmou efeito renoprotetor nos animais com DRD, promovendo preservação da função renal com melhora no perfil oxidativo e com melhora também da microalbuminúria do grupo DM, confirmando seu efeito promissor para a não progressão da DRD. Este estudo mostra que o exercício físico sistemático, na forma de treinamento, traz benefícios ao rim diabético e que esse resultado pode ser ainda melhor quando iniciado previamente, reduzindo marcadores de doença renal em ratos DM.

Palavras chaves: Diabetes Mellitus; Exercício físico; Doença renal diabética

VICTORIA CD. PREVIOUS PHYSICAL TRAINING PREVENTS DIABETIC KIDNEY DISEASE. [Course Completion Work - TCC]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo

ABSTRACT

Introduction: Diabetic kidney disease (DRD) is the leading cause of end-stage chronic kidney disease (DRCT) resulting in the need for renal replacement therapy. The practice of physical exercise has demonstrated a great impact on the control of endothelial function and may contribute to suppress the progression of DRD. The aim of this study was to evaluate the effect of physical training on the renal function, hemodynamics and oxidative profile of rats when performed before and after the occurrence of DRD. **Methods:** Male Wistar rats weighing between 250 and 300g were used, randomized into four groups: Citrate: “control” animals that received the citrate buffer (streptozotocin-STZ vehicle, i.v., caudal, single dose, 1st day of the protocol); DM: animals that received STZ (60 mg/kg, i.v., flow rate, single dose, diluted in citrate, 1st day of protocol); DM+TF: DM animals submitted to swimming training (TF; daily; 1 hour; 4 weeks) after DM induction and TF+DM+TF: animals to physical exercise before and after DM induction (TF for 8 weeks). All groups were followed up for 60 days. Renal function was evaluated by means of inulin clearance, plasma creatinine and microalbuminuria, oxidative profile by measurement of urinary peroxide, urinary nitric oxide (NO) and substances reactive to thiobarbituric acid (TBARs). **Results:** The results showed that physical exercise performed before and after DM, as in the TF+DM+TF group, induced a reduction in serum creatinine and microalbuminuria and an increase in inulin clearance. In addition, it was possible to observe the decrease in the levels of urinary peroxides, NO and TBARS in the DM groups exercised in relation to the citrate group, highlighting better results in the animals of the group exercised before and after DM for FOX and TBARs. **Conclusion:** physical exercise before and after DM confirmed a renoprotective effect in animals with DRD, promoting preservation of renal function with an improvement in the oxidative profile and also an improvement in microalbuminuria in the DM group, confirming its promising effect for the non-progression of DRD. This study shows that systematic physical exercise, in the form of training, brings benefits to the diabetic kidney and that this result can be even better when started previously, reducing markers of kidney disease in DM rats.

Keywords: Diabetes Mellitus; Physical exercise; diabetic kidney disease.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVO	12
2.1 GERAL	12
2.2 ESPECÍFICOS	12
3. MATERIAIS E MÉTODOS	12
3.1 Animais	12
3.1.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS	12
3.2 PROCEDIMENTOS	13
3.2.1 Protocolo de Indução de Diabetes Mellitus	13
3.2.2 Protocolo de natação	13
3.2.3 Coleta de amostra sanguínea e determinação do peso renal	14
3.3 Métodos	14
3.3.1 Avaliação da Função Renal: Clearance de inulina	14
3.3.2 Avaliação da hemodinâmica renal	15
3.3.3 Avaliação do perfil oxidativo	15
3.3.3.1 Determinação de nitrato urinário	15
3.3.3.2 Dosagem de peróxidos urinários pelo método FOX	15
3.3.3.3 Dosagem de TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúricos urinário)	15
3.4 Local	16
4. Análise Estatística	16
5. Resultados	16
6. Discussão dos resultados	20
7. Conclusão	23
8. Referências Bibliográficas	24

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Descrição estatística de parâmetros da mensuração da glicemia semanal dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF.

Tabela 2 Descrição estatística de parâmetros da função renal dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF.

Tabela 3 Descrição estatística de parâmetros da Hemodinâmica renal dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF.

Tabela 4 Descrição estatística de parâmetros de Peróxidos urinários, TBARS e Nitrato urinário dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF.

LISTA DE ABREVIATURAS

DM Diabetes Mellitus

DRD Doença renal diabética

TFG Taxa de filtração glomerular

ESRD Doença renal terminal

SRAA Sistema renina-angiotensina-aldosterona

DRC Doença renal crônica

TSR Terapia de substituição renal

OMS Organização Mundial da Saúde

DRCT Doença renal crônica terminal

COBEA Colégio Brasileiro de Experimentação

Animal CT Grupo controle/Citrato

TF Treinamento físico

STZ Estreptozotocina

TBARs Substâncias derivadas do ácido tiobarbitúrico,

FSR Fluxo sanguíneo renal

PAM Pressão arterial média

RVR Resistência vascular renal

NO Óxido nítrico

PU Peróxidos urinários

MDA Malondialdeído

LEMA Laboratório Experimental de Modelos Animais

CrS Creatinina sérica

LISTA DE SÍMBOLOS

% porcentagem

< menor

= igual

± mais ou menos

dl decilitro

Dr^a doutora

g grama

h hora

kg quilograma

M molar

mg miligrama

min minuto

ml mililitro

mm milímetro

mM milimolar

mmHg milímetros de mercúrio

n número de animais estudados nm nanômetro

nM nanomolar

nmol nanomol

nº número

°C graus Celsius

p nível de significância

Prof^a professora

1. INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus (DM) é uma doença crônica e multifatorial que acomete cerca de 537 milhões de pessoas pelo mundo todo [1]. Estudos afirmam que esse valor pode vir a aumentar para 1,3 bilhão nos próximos 30 anos, incorrendo em uma epidemia global, tornando-se uma das 10 principais causas de morte e inaptidão no planeta.[2] Segundo a sociedade brasileira de diabetes, 40% das pessoas que convivem com a doença desenvolvem problemas nos rins. Diante disso, a doença renal diabética (DRD) é uma das complicações desencadeadas por DM, acometendo de 20% a 40% das pessoas com diabetes tipo 1 e 2 e representando a maior causa de morbidade e mortalidade para os mesmos, sendo ela a principal responsável pelas complicações microvasculares do diabetes e pelo desenvolvimento de doença renal dialítica no mundo todo.[3]

A DRD é caracterizada pela albuminúria, que é a presença de albumina na urina, acompanhada pela diminuição da taxa de filtração glomerular (TFG) que pode evoluir para a doença renal terminal (ESRD). A DRD deriva de alterações hemodinâmicas renais, estresse oxidativo, inflamação crônica, agravamento do estado da hipóxia, hiperatividade do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) e fibrose renal[4]. Ela é vista hoje como a principal causa de doença renal crônica (DRC) em pacientes que ingressam em programas de diálise para crônicos, inclusive no Brasil.[5]

A DRC é uma doença progressiva e irreversível, caracterizada por redução da TFG ($<60\text{ml/min/1,72m}^2$), por três meses ou mais [6], e pela presença de proteinúria. Os pacientes são classificados pelo nível de estágio da doença, começando pelo estágio 1 até o 5, sendo esse último o estágio dialítico. Neste contexto, para poder equilibrar a homeostase do corpo, os pacientes que se encontram em estágio 5 da DRC são submetidos à terapia de substituição renal (TSR).[7]

Decorrente de diversas complicações geradas pelas doenças crônicas e dos tratamentos alopáticos convencionais, muito se tem estudado sobre as intervenções não farmacológicas no contexto das doenças crônicas não transmissíveis. Algumas estratégias de ordem comportamental e de adesão individual têm ganhado grande destaque no tratamento e combate dessas morbidades. Nessa lógica, a Organização Mundial da Saúde (OMS) indica a prática de exercício físico de forma regular como forma de prevenir e controlar doenças

crônicas, tais como diabetes e as cardiopatias, recomendando a prática de atividade física por um período de 150 a 300 minutos por semana de exercício aeróbico[8].

A prática de exercício físico tem uma grande influência na elevação da função endotelial e contribui para que não haja uma progressão da DRD, assim como desenvolvimento de doenças cardiovasculares e mortalidade.[9] Por outro lado, ainda é controverso o efeito do exercício físico sobre a DRD, mas existem estudos recentes que atribuem à prática de atividade física feita de forma moderada a melhora da função renal, do equilíbrio oxidativo e da biodisponibilidade de NO em ratos diabéticos. Há, no entanto, dúvidas quanto à condição mais favorável para a prática de exercício, se realizado antes do desenvolvimento do DM, continuando após o diagnóstico ou após o diagnóstico. Um estudo demonstrou que o exercício prévio protegeu o rim diabético reduzindo os marcadores renais de estresse oxidativo e de inflamação, além de ter aumentado a biodisponibilidade de NO, fazendo com que haja um atraso na progressão da DRD.[10]

Sabendo que a progressão da DRD contribui para o desenvolvimento da doença renal crônica terminal (DRCT), resultando em necessidade de terapia de substituição renal, esse estudo experimental com modelo de DRD com intervenção de treinamento físico prévio pode contribuir com a melhor compreensão da fisiopatologia da doença, possibilitando a identificação de novas estratégias não farmacológicas e de autogestão para minimizar a progressão da mesma.

2. OBJETIVO

2.1 GERAL

Verificar o efeito do treinamento físico prévio sobre a função, perfil oxidativo e hemodinâmica renal de ratos submetidos ao modelo experimental de diabetes.

2.2 ESPECÍFICOS

Avaliar a função, perfil oxidativo e hemodinâmica renais de ratos diabéticos;

Avaliar o efeito renoprotetor do treinamento físico prévio, na função, perfil oxidativo e hemodinâmica renal de ratos submetidos ao modelo experimental de diabetes

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Animais

Os procedimentos necessários para realização deste estudo estão de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). O estudo foi submetido ao Comitê de Ética para Uso de Animais da Faculdade de Medicina da USP (CEUA), Nº 1765/2022.

Foi utilizados ratos Wistar, machos e adultos, pesando entre 250-300g, fornecidos pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP.

Os animais foram mantidos com livre acesso a água e ração durante todo o experimento e permaneceram em condições térmicas adequadas e ciclo alternado entre dia e noite.

3.1.1 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Citrato (CT, n=5): animais que receberam o tampão citrato, diluente da estreptozotocina-STZ (pH 4,2, i.v.,caudal, dose única, no 1º dia do protocolo experimental). Este grupo é considerado o controle do modelo de Diabetes Mellitus;

Diabetes Mellitus (DM, n=5): animais que receberam STZ (60 mg/kg, i.v., caudal, dose única, diluída em 0,1M de tampão citrato em pH 4,2 no 1º dia de protocolo experimental);

Diabetes Mellitus + Treinamento físico (DM+TF; n=5): animais DM que foram submetidos ao treino de natação (EF, diariamente, por 1 hora, 4 semanas) após a indução do DM;

Treinamento Físico + Diabetes Mellitus + Treinamento Físico (TF+DM+TF; n=5): animais que foram submetidos ao treino natação antes e após receberem STZ (60 mg/kg, i.v., caudal, dose única, diluída em 0,1M de tampão citrato em pH 4,2, após 4 semanas de natação). Os animais voltaram ao treino de natação, uma semana após a indução do DM no sentido de reduzir o estresse e contribuir para a adaptação do animal.

3.2 PROCEDIMENTOS

3.2.1 Protocolo de Indução de Diabetes Mellitus

O DM foi induzido por meio da administração de 60 mg/kg intravenosa (i.v.) caudal de Estreptozotocina (STZ) (Sigma Chemical Company, St Luis, MO, EUA) dissolvida em tampão citrato 0,1M, pH 4,2. Foram considerados diabéticos os animais que apresentarem glicemia acima de 250 mg/dl, 48 horas após o procedimento de indução. A determinação quantitativa da glicemia foi feita em amostra de sangue capilar fresco coletado a partir de punção caudal e os valores foram obtidos por meio de tiras-teste e monitor de glicemia (Accu Chek® Active, Roche Diagnostics). Durante as quatro semanas subsequentes, o peso corporal e a glicemia foram controlados semanalmente⁽¹¹⁾.

3.2.2 Protocolo de natação

Os ratos foram adaptados ao meio líquido por uma semana, cinco dias por semana, com treinamento que chegaram progressivamente a 60 min. Após o período de adaptação, em que foram acrescidos 15 minutos de treino por 5 dias, foi iniciado o treinamento aeróbico contínuo, que consistirá na prática de exercício físico por natação, durante 4 semanas consecutivas, 5 dias por semana, 60 minutos diários. Em seguida, serão realizados os procedimentos para a indução de DM.

Três dias após a indução, foi dado continuidade ao treinamento aeróbico por mais 4 semanas consecutivas, 5 dias por semana, 60 minutos diários. As sessões de natação foram realizadas em tanques (100x80x60) contendo água a 30±2°C, suportando cargas equivalentes a 5% do peso corporal do animal e atadas à cauda^(12,13). A carga correspondente a 5% do peso

corporal evita que o animal se mantenha flutuando na água e garante a prática do exercício em intensidade moderada ^(14,15).

3.2.3 Coleta de amostra sanguínea e determinação do peso renal

Os protocolos experimentais terão duração de 8 semanas (40 dias) durante as quais o peso corporal e a glicemia dos animais serão controladas semanalmente. No 55º dia do protocolo experimental, os animais dos diversos grupos serão colocados em gaiolas metabólicas para mensuração do volume urinário, ingesta hídrica e alimentar de 24 horas. As amostras urinárias serão utilizadas para realização de estudos de função renal e estresse oxidativo. Retirados das gaiolas metabólicas no 40º dia, os animais serão anestesiados com Xilazina 10 mg/kg e Cetamina 90 mg/kg i.p. e submetidos aos procedimentos necessários para estudos de função renal pela técnica de determinação do *clearance* de creatinina. Em seguida, os animais serão submetidos à laparotomia e coleta de sangue terminal por meio da punção da aorta abdominal.

3.3 Métodos

Serão realizadas técnicas de avaliação da função renal (*clearance* de inulina) e de peroxidação lipídica (peróxidos urinários, PU; substâncias derivadas do ácido tiobarbitúrico, TBARs)

3.3.1 Avaliação da Função Renal: Clearance de inulina

A taxa de filtração glomerular foi determinada por meio da técnica de *clearance* de inulina. Os animais foram anestesiados com 100 mg/kg de Cetamina e 10 mg/kg de Xilazina i.p e foi realizada a cateterização da veia jugular para infusão de inulina. Uma dose inicial de 100 mg/kg peso de inulina diluída foi administrada seguida da infusão contínua de 10 mg/kg peso durante 2 horas de experimento, em velocidade de 0,04 ml/min. Após um período de estabilização de 30 minutos, foi iniciada a coleta de urina a cada 30 minutos por meio da cateterização da bexiga e coleta de amostra sanguínea a cada 60 minutos para análise da concentração de inulina urinária e plasmática pelo método de Antrona. O *clearance* de inulina foi expresso em ml/min/100g.

3.3.2 Avaliação da hemodinâmica renal

A artéria renal esquerda foi isolada e envolvida por sonda ultrassônica para mensuração do fluxo sanguíneo renal (FSR). A pressão arterial média (PAM) foi registrada por meio da cateterização da artéria carótida para avaliação da resistência vascular renal (RVR) calculada através da fórmula: $RVR = PAM / FSR$ ^[16].

3.3.3 Avaliação do perfil oxidativo

3.3.3.1 Determinação de nitrato urinário

A síntese de NO será avaliada por meio da quantificação de nitrito (NO₂-), metabólito estável do NO, pelo método de Griess. A reação é colorimétrica e se baseia na reação dos nitritos com ácido sulfanílico e copulação com cloridrato de alfa-naftilamina em meio ácido (pH entre 2,5 e 5,0) formando o ácido alfa-naftilaminop-azobenzeno-p-sulfônico de coloração rósea. Cerca de 150µl da amostra urinária dos diversos grupos será adicionada a 150µl do reagente que permanecerá em repouso por 15 min. A leitura será realizada em absorbância de 545 nm em leitor de ELISA. A absorbância das amostras será comparada a uma curva padrão de nitrito de sódio (NaNO₂) na concentração de 0,1 a 1,0 M⁽¹⁷⁾. O equacionamento da mensuração de NO será ajustado para valores de creatinina urinária e todos os valores obtidos serão estabilizados em nmol de NO por grama de creatinina urinária.

3.3.3.2 Dosagem de peróxidos urinários pelo método FOX

Os peróxidos são considerados como potenciais indicadores da formação ou resultantes de espécies reativas de oxigênio. A mensuração direta de peróxidos pode ser realizada através do método FOX-2, o qual consiste na utilização de ferro-xilenol laranja para determinação dos níveis de peróxidos urinários ^(18,19,20).

3.3.3.3 Dosagem de TBARS (substâncias reativas com o ácido tiobarbitúricos urinário)

O Malondealdeído (MDA) é frequentemente analisado para a determinação dos índices de peroxidação lipídica por ser um dos principais produtos desta cascata. Um método para detecção deste produto é a dosagem do ácido tiobarbitúrico ao qual ele reage ^(21,22).

3.4 Local

O estudo está sendo desenvolvido no Laboratório Experimental de Modelos Animais (LEMA) da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EEUSP), coordenado pela Profª Drª Maria de Fátima Fernandes Vattimo.

4. Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada por meio do método ANOVA, no qual o nível de significância foi de $< 0,05$, considerando que o efeito de pelo menos um dos grupos foi diferente dos outros. Os testes múltiplos de comparação 2 a 2 de Tukey foram utilizados para avaliar quais grupos diferiram ou não entre si.

5. Resultados

Tabela 1. Glicemia semanal dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF

Grupos	n	48h	Glicemia 1ªsemana	Glicemia 2ªsemana	Glicemia 3ªsemana	Glicemia 4ªsemana
Citrato	7	98 \pm 2	98 \pm 1	98 \pm 1	98 \pm 1	98 \pm 1
DM	7	400 \pm 39 ^a	400 \pm 38 ^a	500 \pm 55 ^a	500 \pm 35 ^a	498 \pm 54 ^a
DM+TF	7	380 \pm 52 ^a	310 \pm 48 ^{ab}	300 \pm 32 ^{ab}	300 \pm 44 ^{ab}	301 \pm 62 ^{ab}
TF+DM+TF	5	300 \pm 21 ^{abc}	329 \pm 20 ^{ab}	351 \pm 25 ^{ab}	342 \pm 31 ^{ab}	288 \pm 66 ^{ab}

Ao longo das quatro semanas o grupo Citrato não demonstrou alteração da glicemia. Os grupos DM, DM+TF e TF+DM+TF apresentaram elevação significativa da glicemia quando comparados ao grupo Citrato. Os animais do grupo DM+TF demonstraram redução da glicemia quando comparados aos animais do grupo DM, no mesmo período. A glicemia do grupo TF+DM+TF apresentou redução significativa quando comparada ao grupo DM, a partir da primeira semana. Ademais, quando comparado ao grupo DM+TF nas 48h, o grupo DM apresentou significância, mas, a partir da primeira semana, a diferença entre esses dois não mais confirmou significância estatística.

Função renal

A função renal foi avaliada por meio do FU, microalbuminúria, CrS e *clearance* de inulina. Os resultados estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 2. Função renal dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF.

Grupos	n	Fluxo urinário (ml/min)	Albuminúria (mg/24h)	Creatinina sérica (mg/dl)	<i>Clearance</i> de inulina (ml/min)
Citrato	7	0,012±0,002	3,76±0,91	0,30±0,06	0,83±0,09
DM	7	0,055±0,011 ^a	39,42±8,89 ^a	1,21±0,06 ^a	0,49±0,10 ^a
DM+TF	7	0,046±0,010 ^a	34,57±8,12 ^a	0,74±0,14 ^{ab}	0,65±0,11 ^{ab}
TF+DM+TF	7	0,070±0,01 ^{ac}	27,7±2,3 ^{abc}	0,56±0,15 ^{abc}	0,72±0,07 ^b

Resultados expressos em média ± desvio padrão. Sendo Citrato (a) <0,05 vs DM (b); <0,05 vs DM+TF (c)<0,05 vs TF+DM+TF. São Paulo, 2023.

O fluxo urinário dos grupos diabéticos apresentou elevação significativa em relação ao grupo Citrato. O grupo DM + TF, quando comparado ao grupo DM, não apresentou diferença estatística neste parâmetro. Por outro lado, o grupo TF+DM+TF demonstrou elevação significativa no FU na comparação com os grupos DM e DM+TF.

Os resultados de microalbuminúria mostraram que os grupos diabéticos apresentaram elevação significativa neste parâmetro quando comparados ao grupo Citrato. O grupo DM+TF não apresentou diferença significativa quando comparado ao grupo DM. Em contrapartida, o grupo TF+DM+TF apresentou redução expressiva da albuminúria em comparação ao grupo DM e DM+TF.

A análise dos resultados da creatinina sérica demonstrou que os grupos diabéticos demonstraram elevação significativa quando comparados ao grupo Citrato. O grupo DM+TF, quando comparado ao DM, apresentou uma diminuição estatisticamente significativa na creatinina sérica. Entretanto, observou-se também uma redução ainda expressiva da CrS no grupo TF+DM+TF, quando comparado aos grupos DM e DM+TF.

O *Clearance* de inulina demonstrou que os grupos diabéticos exibem uma redução nesse parâmetro quando comparados ao grupo Citrato. O grupo DM+TF apresenta aumento em relação ao DM e é possível observar que o grupo TF+DM+TF demonstrou um resultado ainda maior do *Clearance* de inulina quando comparado ao grupo DM e DM+EF, mesmo apresentando significância estatisticamente.

Hemodinâmica renal

Tabela 3. Hemodinâmica renal dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF. São Paulo 2023.

Grupos	n	Frequência cardíaca (bpm)	Pressão arterial média (mmHg)	Fluxo sanguíneo renal (ml/min)	Resistência vascular renal (mmHg/ml/min)
Citrato	7	509 ±39	96 ±6,0	7,5 ±1,5	12,6 ±2,2
DM	7	532 ±48	102 ±8,0	4,0 ±0,3 ^a	25,7 ±1,8 ^a
DM+TF	7	480 ±41	96 ±9,0	6,5 ±0,9 ^b	14,9 ±2,7 ^b
TF+DM+TF	4	548 ±43 ^c	86 ±1,1 ^b	4,6 ±0,7 ^{ac}	19,3 ±3,4 ^{abc}

Resultados expressos em média ± desvio padrão. Sendo Citrato (a) <0,05 vs DM (b); <0,05 vs DM+TF (c)<0,05 vs TF+DM+TF. São Paulo, 2023.

O grupo Citrato foi considerado como controle, sendo considerado um padrão de normalidade.

A frequência cardíaca do grupo DM+TF não apresentou significância quando comparado ao grupo DM. Em contrapartida, o grupo TF+DM+TF demonstrou aumento da frequência cardíaca com significância estatística quando comparado ao grupo DM+TF.

Na análise da pressão arterial foi possível observar que o grupo DM+TF não apresentou alteração quando comparado aos grupos Citrato e DM. O grupo exercitado previamente não apresentou alteração da pressão arterial em comparação aos grupos DM+TF e Citrato, entretanto, quando comparado ao grupo DM, demonstrou redução nesse parâmetro.

Em relação a análise da hemodinâmica renal o grupo DM apresentou redução no fluxo sanguíneo renal quando comparado ao grupo Citrato. No entanto, o grupo DM+TF demonstrou aumento do fluxo sanguíneo renal em comparação ao grupo DM. O grupo exercitado previamente apresentou diminuição do fluxo sanguíneo renal em comparação aos grupos DM+TF e Citrato. Por outro lado, quando comparado ao grupo DM, apresenta elevação numérica nesse parâmetro.

A resistência vascular renal do grupo DM apresentou aumento quando comparado ao grupo Citrato. O grupo DM+TF apresentou redução significativa na resistência vascular renal quando comparado ao grupo DM sedentário. O grupo TF+DM+TF apresentou aumento deste parâmetro quando comparado aos grupos Citrato e DM+TF. Entretanto, apresentou redução nesse parâmetro quando comparado ao grupo diabético sedentário.

Perfil oxidativo

Tabela 4. Peróxidos urinários, TBARS e Nitrato urinário dos grupos Citrato, DM, DM+TF, TF+DM+TF. São Paulo, 2023.

Grupos	n	Peróxidos urinários (nmol/g de creatinina urinária)	Peroxidação lipídica (nmol/g de creatinina urinária)	Nitrato urinário (nmol/g de creatinina urinária)
Citrato	7	1,33 ±0,82	0,22 ±0,15	23,71 ±4,96
DM	7	11,64 ±4,00 ^a	12,91 ±3,02 ^a	56,82 ±12,73 ^a
DM+TF	7	6,34 ±0,94 ^{ab}	8,82 ±1,39 ^{ab}	43,23 ±4,76 ^a
TF+DM+TF	7	3,64 ±2,65 ^b	6,83 ±1,54 ^{abc}	43,55 ±14,41 ^a

Resultados expressos em média ± desvio padrão. Sendo Citrato (a) <0,05 vs DM (b); <0,05 vs DM+TF (c)<0,05 vs TF+DM+TF. São Paulo, 2023.

No grupo DM, observou-se que a excreção de peróxidos urinários foi significativamente exacerbada quando comparada ao grupo controle. O grupo DM+TF apresentou redução estatisticamente expressiva em comparação ao DM. Enquanto que o grupo TF+DM+TF apresentou significância estatisticamente somente ao grupo DM

Avaliando os parâmetros do TBARS, observa-se uma elevação significativa dos grupos DM quando comparado ao Citrato. Os grupos DM+TF e TF+DM+TF, em contraposição, demonstraram diminuição estatisticamente do TBARS quando comparado ao grupo DM, ressaltando melhores resultados no grupo TF+DM+TF.

Na análise do Nitrato urinário observou-se um aumento significativo no parâmetro dos grupos diabéticos em relação ao grupo controle. Nos grupos DM+TF e TF+DM+TF é possível observar uma redução nesse parâmetro em relação ao grupo DM, mesmo não apresentando significância.

6. Discussão dos resultados

Esse estudo buscou avaliar o efeito renoprotetor do condicionamento físico prévio sobre o rim diabético no modelo experimental de diabetes tipo 1 induzida pela STZ, que é um quimioterápico que destrói as células beta do pâncreas, afetando a produção de insulina. Com isso, foi possível estabelecer condição de hiperglicemia sustentada, que é peculiar do DM.

Estudos feitos recentemente trazem que os exercícios aeróbicos e os exercícios resistidos, tanto aqueles feitos de curta ou mesmo de longa duração, colaboram no controle das taxas de glicose, uma vez que estimulam a absorção de glicose no músculo, mesmo na ausência de insulina (23). Atuam também na redução de doenças cardiovasculares, diminuição de peso e controle da hemoglobina glicada e podendo ajudar também na sensibilidade à insulina. nesse contexto, foi demonstrado que o TF contribui para combater possíveis complicações decorrentes do DM, podendo resultar também em qualidade de vida melhor.(24).

Dentre os parâmetros de função renal avaliados neste estudo, observou-se que o fluxo urinário dos animais DM esteve aumentado na condição de hiperglicemia sustentada por alterações microvasculares e macrovasculares determinadas pela hiperfiltração glomerular que deriva do aumento da pressão hidrostática glomerular e da lesão glomerular.(5, 25).

Entre as macromoléculas filtradas está a albumina, uma proteína que, quando filtrada livremente, contribui para a progressão da DRD. Por esse motivo, tornou-se um marcador clínico sensível de progressão da DRD (26).

No presente estudo, os animais DM apresentaram um aumento do FU e da microalbuminúria em decorrência da hiperglicemia sustentada, o mesmo é demonstrado no grupo DM+TF. Embora, o FU do grupo TF+DM+TF ter apresentado um aumento significativo em comparação ao grupo DM+TF, a redução da albuminúria é mais expressiva no grupo TF+DM+TF em comparação aos demais grupos, o que pressupõe que o condicionamento prévio demonstrou impacto relevante na microalbuminúria quando comparado ao DM, o que não é observado no grupo DM+TF.

Além desses parâmetros, foram utilizados neste estudo outros marcadores para avaliar a função renal, a creatinina sérica (CrS) e o *clearance* de inulina. A CrS é um importante marcador para avaliar a disfunção renal. A sua elevação no grupo DM, como demonstrado no presente estudo e em outros estudos de modelo animal de DM induzida por STZ, confirma o comprometimento da função renal pelo DM (27). Outrossim, o uso do *clearance* de inulina como padrão “ouro” para mensurar a TFG é de extrema importância, pois o mesmo consegue nos apresentar um parâmetro mais preciso do quanto esse rim se encontra depurando a

substância injetada, que no caso seria a inulina, que não é produzida pelo nosso organismo.

O estudo observou que o grupo DM apresentou uma elevação significativa da CrS, assim como uma diminuição do *clearance* de inulina, o que corrobora o comprometimento da função renal no DM. Contudo, esses parâmetros se modificam quando o animal com DM é submetido ao treinamento físico em ambos os modelos, tanto posterior, quanto previamente à indução do DM. O grupo DM+TF apresentou um declínio da CrS quando comparado ao DM e é possível observar um declínio ainda maior CrS no grupo exercitado previamente quando comparado ao grupo DM+TF e DM, apresentando valores próximos aos do grupo controle, mesmo expondo significância entre ambos.

Além disso, é expressado neste estudo, uma elevação do *clearance* de inulina em ambos os grupos exercitados quando comparado ao grupo DM, pressupondo que a depuração da Inulina esteve aumentada nestes grupos, confirmando o efeito protetor do TF sobre o rim diabético, principalmente quando iniciado previamente.

As alterações da hemodinâmica renal decorrentes do DM presente no estudo se caracterizaram pela redução do FSR e elevação da RVR, o que ocasionou diminuição do FSR com elevação da RVR. Esses achados pressupõem que a hiperglicemia sustentada determina sobrecarga sobre o rim, alterando a resposta regulatória hemodinâmica e funcional. Por outro lado, quando o diabético é exposto ao treinamento, observa-se uma tendência de reversão no padrão hemodinâmico, com elevação do FSR e redução da RVR em comparação ao DM e uma diminuição da RVR. Entretanto, o grupo TF+DM+TF demonstrou uma diminuição do FSR e elevação da RVR, quando comparado aos grupos CT e DM+TF. Estudos realizados anteriormente, trazem que a prática de exercício físico é capaz de provocar alterações na hemodinâmica renal em razão do aumento do fluxo sanguíneo (FS), que é redirecionado para a ativação dos músculos ativos, promovendo aumento da pressão intraglomerular. Pensasse que tal evento pode facilitar a passagem de proteínas através do glomérulo, devido ao aumento que se têm da pressão na arteríola aferente, após o exercício que leva ao aumento das pressões hidráulicas (28,29). O que não é observado no presente estudo, a hemodinâmica renal dos ratos treinados previamente não afetou a excreção urinária de albumina.

O estresse oxidativo apresenta um papel importante na DRD, porque durante a hiperglicemia sustentada, sucede a indução do metabolismo da glicose excedente por outras vias diferentes da via glicolítica. Dentre elas temos: via dos polióis e hexosaminas gerando as espécies reativas de oxigênio (EROs). As EROs são produzidas em pequenas quantidade em células com metabolismo aeróbio e são eliminadas por sistemas antioxidantes, ressaltando que oxigênio é importante para manter a homeostase do organismo.(28) A excreção de peróxidos

urinários demonstrou uma elevação nos grupos DM, juntamente com peroxidação lipídica e consequentemente promoveu nas células afetadas danos estrutural e funcional. Visivelmente observada no aumento significativo nos níveis de NO no DM. Entretanto, os animais submetidos ao exercício físico tanto posteriormente, como previamente à indução do DM, apresentaram diminuição significativa dos níveis de excreção de TBARS e peróxidos urinários quando comparados ao grupo DM. Também é possível observar, no presente estudo, que nos grupos exercitados houve uma diminuição dos níveis de NO em comparação ao grupo DM e uma elevação quando comparado ao grupo controle. Em um estudo realizado em ratas demonstrou que o TF realizado tanto antes, como após a indução do DM, reduziu marcadores de estresse oxidativo, diminuição dos níveis de TBARS e aumento do NO, sendo que obtém-se melhores resultados de aumentos do NO em animais treinados previamente, conferindo proteção ao rim diabético (10).

7. Conclusão

O programa de exercício físico antes e após o DM:

- Confirmou efeito renoprotetor nos animais com DRD, promovendo preservação da função renal com melhora no perfil oxidativo e melhora da microalbuminúria. Esses achados foram superiores quando comparados com o grupo exercitado somente após indução do DM.
- Em síntese, o estudo confirmou que a rotina de exercício físico tem efeito renoprotetor no DM e que esse resultado pode ser ainda melhor quando iniciado previamente, reduzindo marcadores de doença renal em ratos DM.

8. Referências Bibliográficas

1. Diabetes. Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/diabetes#:~:text=Dados%20divulgados%20na%20d%C3%A9cima%20edi%C3%A7%C3%A3o,de%2074%20mil%C3%B5es%20de%20casos.>>. Acesso em: 22 out. 2023.
2. BLANES, S. Mais de 1,3 bilhão de pessoas terão diabetes no mundo até 2050. Disponível em: <<https://veja.abril.com.br/saude/mais-de-13-bilhao-de-pessoas-terao-diabetes-no-mundo-ate-2050>>. Acesso em: 22 out. 2023.
3. SBEM, S.; SBN. Posicionamento Oficial Tripartite no 01/2016 PREVENÇÃO, DIAGNÓSTICO E CONDUTA TERAPÊUTICA NA DOENÇA RENAL DO DIABETES. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://arquivos.sbn.org.br/uploads/Anexo-sem-t%C3%ADtulo-00066.pdf>>. Acesso em: 10 maio. 2022.
4. Yi-Chih Lin, Yu-Hsing Chang, Shao-Yu Yang, Kwan-Dun Wu, Tzong-Shinn Chu, Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease, Journal of the Formosan Medical Association, Volume 117, Issue 8, 2018, Pages 662-675, ISSN 0929-6646, <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.02.007>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0929664617308033>)
5. COSTA E FORTI, A.; AL, E. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes. Disponível em: <<http://www.saude.ba.gov.br/wp-content/uploads/2020/02/Diretrizes-Sociedade-Brasileira-de-Diabetes-2019-2020.pdf>>. Acesso em 10 maio de 2022.
6. Kirsztajn, Gianna Mastroianni et al. Leitura rápida do KDIGO 2012: Diretrizes para avaliação e manuseio da doença renal crônica na prática clínica. Jornal Brasileiro de Nefrologia [online]. 2014, v. 36, n. 1 [Acessado 10 Maio 2022], pp. 63-73. Disponível em: <<https://doi.org/10.5935/0101-2800.20140012>>. ISSN 2175-8239. <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20140012>.
7. Bastos Marcos, Doença renal crônica: importância do diagnóstico precoce, encaminhamento imediato e abordagem interdisciplinar estruturada para melhora do desfecho em pacientes ainda não submetidos à diálise. SciELO. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/jbn/a/x4KhNSzYkqg8nKSCyvCqBYn/?lang=pt>>. Acesso em 8 Maio de 2022.
8. DIRETRIZES DA OMS PARA ATIVIDADE FÍSICA E COMPORTAMENTO SEDENTÁRIO NUM PISCAR DE OLHOS. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/337001/9789240014886-por.pdf>>. Acessado em 9 de 2022
9. Pongrac Barlovic D, Tikkanen-Dolenc H, Groop PH. Physical Activity in the Prevention of Development and Progression of Kidney Disease in Type 1 Diabetes. Curr Diab Rep. 2019 May 31;19(7):41. doi: 10.1007/s11892-019-1157-y. PMID: 31152254; PMCID: PMC6544601.
10. Amaral LSB, Souza CS, Volpini RA, Shimizu MHM, de Bragança AC, Canale D, Seguro AC, Coimbra TM, de Magalhães ACM, Soares TJ. Previous Exercise Training Reduces Markers of Renal Oxidative Stress and Inflammation in Streptozotocin-Induced Diabetic

Female Rats. *J Diabetes Res.* 2018 Mar 29;2018:6170352. doi: 10.1155/2018/6170352. PMID: 29785400; PMCID: PMC5896236.

11. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee, Sigal RJ, Armstrong MJ, Bacon SL, Boulé NG, Dasgupta K, Kenny GP, Riddell MC. Physical Activity and Diabetes. *Can J Diabetes.* 2018 Apr;42 Suppl 1:S54-S63. doi: 10.1016/j.jcjd.2017.10.008.

12. Brasil. Resolução normativa no 13 de 20 setembro de 2013. Institui a diretriz da prática de eutanásia do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA. *Diário Oficial da União, Brasília*, 26 set 2013. Seção 1.

13. Coelho CF, Burini RC. Atividade física para prevenção e tratamento das doenças crônicas não transmissíveis e da incapacidade funcional. *Rev. Nutr* 2009; 22(6): 937-946.

14. Fernandes SM, Cordeiro PM, Watanabe M, Fonseca CD, Vattimo MF. The role of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(5):443-449.

15. Albright AL, Mahan JD, Ward KM, Sherman WM, Roehrig KL, Kirby TE Diabetic nephropathy in an aerobically trained rat model of diabetes. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27(9):1270-7.

16. Luchi WM, Shimizu MH, Canale D, Gois PH, de Bragança AC, Volpini RA, Girardi AC, Seguro AC. Vitamin D deficiency is a potential risk factor for contrast-induced nephropathy. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, vol. 309, no.3, pp.: R215-22, 2015.

17. Gay C, Collins J, Gebicki JM. Hydrogen peroxide assay with the ferric - xylenol orange complex. *Anal Biochem.* 1999; 273(2):149-55.

18. Ingelfinger, Julie R., and Clifford J. Rosen. "Clinical credence-SGLT2 inhibitors, diabetes, and chronic kidney disease." *N Engl J Med* 380.24 (2019): 2371-2373.

19. Nespoux J, Vallon V. SGLT2 inhibition and kidney protection. *Clin Sci (Lond).* 2018;132(12):1329-1339. Published 2018 Jun 28. doi:10.1042/CS20171298

20. Kelly MS, Lewis J, Huntsberry AM, Dea L, Portillo I. Efficacy and renal outcomes of SGLT2 inhibitors in patients with type 2 diabetes and chronic kidney disease. *Postgrad Med.* 2019;131(1):31-42. doi:10.1080/00325481.2019.1549459

21. Perkovic V et al. Canagliflozin and Renal Outcomes in Type 2 Diabetes and Nephropathy. DOI: 1.1056/NEJMoa1811744

22. Owen JA, Iggo B, Scandrett FJ, Stewar CP t. The determination of creatinine in plasma or serum, and in urine; a critical examination. *Biochem J.* 1954; 58(3): 426–437.

25 Fernandes SM, Cordeiro PM, Watanabe M, Fonseca CD, Vattimo MF. The role of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Arch Endocrinol Metab.* 2023;60(5):443-449.

23-HAYASHI, Tatsuya; WOJTASZEWSKI, Jørgen F. P. ; GOODYEAR, Laurie J. Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *American Journal of*

Physiology-Endocrinology and Metabolism, v. 273, n. 6, p. E1039–E1051, 1997. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9435517/>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

24- D'ANGELO, Flávia Ariane; LEATTE, Elen Paula ; DEFANI, Marli Aparecida. O Exercício Físico como Coadjuvante no Tratamento do Diabetes. Saúde e Pesquisa, v. 8, n. 1, p. 157, 2015. Disponível em: <<https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/3895>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

25- FERNANDES, Sheila Marques; CORDEIRO, Priscilla Mendes; WATANABE, Mirian; et al. The role of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. Archives of Endocrinology and Metabolism, v. 60, n. 5, p. 443–449, 2016. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27812607/>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

26- DR.a CLARISSE BEZERRA. O que é microalbuminúria, causas e o que fazer. Disponível em: <<https://www.tuasaude.com/microalbuminuria/>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

27- DUSSE, Luci; RIOS, Danyelle; SOUZA, Leticia; et al. Biomarcadores da função renal: do que dispomos atualmente? - Revista RBAC. Revista RBAC. Disponível em: <<https://www.rbac.org.br/artigos/biomarcadores-da-funcao-renal-do-que-dispomos-atualment>>. Acesso em: 1 mar. 2023.

28- GUSMÃO, L.; GALVÃO, J.; POSSANTE, M. Artigo de Revisão A resposta do rim ao esforço físico. [s.l.: s.n.]. Disponível em: <<https://www.luzimarteixeira.com.br/wp-content/uploads/2011/04/rim-e-esforco-fisico.pdf>>. Acesso em: 11 set. 2023.

29-Effects of long-term training on the progression of chronic ... : Medicine & Science in Sports & Exercise. Disponível em: <https://journals.lww.com/acsm-msse/fulltext/1997/02000/effects_of_long_term_training_on_the_progression.1.aspx>. Acesso em: 11 set. 2023.