

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM

Vinicius Cardoso da Silva

**IMPACTO DO EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO SOBRE A FUNÇÃO
RENAL DE RATOS DIABÉTICOS**

**São Paulo
2019**

Vinicius Cardoso da Silva

**IMPACTO DO EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO SOBRE A FUNÇÃO
RENAL DE RATOS DIABÉTICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Escola de Enfermagem da Universidade de São
Paulo.

Instituição: Escola de Enfermagem da USP
Área: Enfermagem médico-cirúrgica

Aluno: Vinicius Cardoso Da Silva

Orientadora: Maria de Fátima Fernandes
Vattimo

**São Paulo
2019**

RESUMO

Introdução: O DM é definido como uma síndrome caracterizada por desordens metabólicas resultantes de defeitos na síntese e/ou secreção de insulina que resultam em hiperglicemia. Entre os pacientes acometidos por DM, aproximadamente 20 a 30% desenvolvem a nefropatia. O treinamento físico aeróbio tem demonstrado efeito protetor pela redução de mecanismos oxidantes. **Objetivo:** Avaliar a função renal e hemodinâmica renal de ratos diabéticos submetidos ao exercício físico. **Metodologia:** Foram utilizados ratos da raça Wistar, machos e adultos, pesando entre 250- 290 g. Os animais foram mantidos com livre acesso à água e ração e permaneceram em condições térmicas com ciclos alternados de dia e noite. Os ratos foram adaptados ao meio líquido por 2 semanas, 5 dias por semana durante 60 min. Após o período de adaptação foi realizado os procedimentos para a indução de DM e iniciado o treinamento anaeróbico contínuo que consistiu na prática de exercício físico por natação durante 4 semanas consecutivas, 5 dias por semana, 60 minutos diários. Os quatro grupos randomizados foram: CIT: grupo controle sedentário, animais que receberam o tampão citrato (diluente da STZ) em pH 4,2, i.v., caudal, dose única, no 1º dia do protocolo experimental; CIT+E: animais que receberam tampão citrato (diluente da STZ) em pH 4,2, i.v., caudal, dose única, no 1º dia do protocolo experimental e foram submetidos a natação 5 dias por semana por 60 minutos durante 4 semanas; DM: animais que receberam 65 mg/kg de STZ, i.v., caudal, dose única, diluída em 0,1M de tampão citrato em pH 4,2 no 1º dia de protocolo experimental mantidos em gaiolas coletivas por 25 dias ; DM+E: animais que receberam 65 mg/kg de STZ, i.v., caudal, dose única, diluída em 0,1M de tampão citrato em pH 4,2 no 1º dia de protocolo experimental e foram submetidos a natação 5 dias por semana por 60 minutos durante 4 semanas. Ao final dos protocolos experimentais, foram avaliados parâmetros de ingesta de ração, agua, glicemia e entre outros fisiológicos como peso dos animais, peso dos rins e a relação do peso do animal/peso do rim. A função renal foi avaliada através do fluxo urinário, creatinina sérica e *clearance* de inulina; a hemodinâmica renal foi avaliada por meio da pressão arterial média, mensuração do fluxo sanguíneo renal e cálculo da resistência vascular renal. **Resultados:** Os animais DM não exercitados demonstraram elevação na creatinina sérica e fluxo urinário acompanhado de redução no *clearance* de inulina, acompanhado por aumento na resistência vascular renal e redução do fluxo urinário. Os animais DM submetidos ao exercício físico demonstraram um aumento significativo do *clearance* de inulina e redução na creatinina sérica, além de uma expressiva melhora da hemodinâmica renal. **Conclusão:** O exercício físico promoveu melhora da função dos ratos diabéticos, com efeito protetor sobre a hemodinâmica renal, com aumento do fluxo sanguíneo renal e resistência vascular renal.

Palavras- chave: Diabetes Mellitus. Exercício físico. Hemodinâmica renal.

SUMMARY

Introduction: DM is defined as a syndrome characterized by metabolic disorders resulting from defects in insulin synthesis and / or secretion or from its action on tissues. These changes may cause hyperglycemia. Endocrine disorders, retinopathies, neuropathies and nephropathies are complications that can be caused by DM. Among patients with DM, approximately 20 to 30% develop nephropathy. Aerobic exercise training can induce metabolic adaptations such as increased glucose uptake, increased muscle glycogen utilization, and increased peripheral tissue sensitization to insulin, increased lipid contribution to energy metabolism, and lipid oxidation-related enzyme activity, increased number and size of mitochondria. **Objective:** To evaluate renal function and renal hemodynamics in diabetic rats submitted to physical exercise. **Methodology:** Wistar male and adult rats weighing between 250- 290 g were used. The animals were kept with free access to water and feed and remained in thermal conditions with alternating day and night cycles. The rats were adapted to the liquid medium for 2 weeks, 5 days a week for 60 min. After the adaptation period, the procedures for DM induction were performed and continuous anaerobic training was initiated, which consisted of physical exercise by swimming for 4 consecutive weeks, 5 days a week, 60 minutes daily. The four randomized groups were: CIT: sedentary control group, animals receiving citrate buffer (STZ diluent) at pH 4.2, i.v., flow rate, single dose, on day 1 of the experimental protocol; CIT + E: animals that received citrate buffer (STZ diluent) at pH 4.2, i.v., single dose, on day 1 of the experimental protocol and underwent swimming 5 days a week for 60 minutes for 4 weeks; DM: animals receiving 65 mg / kg STZ, i.v., single dose, diluted in 0.1M citrate buffer at pH 4.2 on day 1 of experimental protocol kept in collective cages for 25 days; DM + E: animals that received 65 mg / kg STZ, iv, single dose, diluted in 0.1M citrate buffer at pH 4.2 on the 1st day of experimental protocol and underwent swimming 5 days a week for 60 minutes for 4 weeks. At the end of the experimental protocols, parameters of feed intake, water, blood glucose and among other physiological parameters such as animal weight, kidney weight and the ratio of animal weight to kidney weight were evaluated. Renal function was assessed by urinary flow, serum creatinine and inulin clearance; Renal hemodynamics were assessed by mean arterial blood pressure, renal blood flow measurement, and renal vascular resistance calculation. **Results:** Unexercised DM animals showed elevation in serum creatinine and urinary flow accompanied by reduction in inulin clearance, accompanied by increased renal vascular resistance and decreased urinary flow. DM animals submitted to physical exercise showed a significant increase in inulin clearance and reduction in serum creatinine, besides a significant improvement in renal hemodynamics. **Conclusion:** Physical exercise promoted marked improvement in DM with improved function due to improved renal hemodynamics with increased renal blood flow and renal vascular resistance.

Keywords: Diabetes Mellitus. Physical exercise. Renal hemodynamics.

Sumário

3	1 INTRODUÇÃO	Erro! Indicador não definido.
5	2 OBJETIVO	Erro! Indicador não definido.
6	3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	Erro! Indicador não definido.
	3.1 Comitê de ética	Erro! Indicador não definido.
	3.2 Animais	Erro! Indicador não definido.
	3.3 Procedimentos	Erro! Indicador não definido.
	3.4 Grupos experimentais.....	Erro! Indicador não definido.
	3.5 Coleta da amostra sanguínea e determinação do peso renal	Erro! Indicador não definido.
	3.6 Avaliação da função renal.....	Erro! Indicador não definido.
	3.7 Avaliação da hemodinâmica renal	Erro! Indicador não definido.
4	LOCAL.....	Erro! Indicador não definido.
5	ANÁLISE DOS DADOS.....	Erro! Indicador não definido.
6	RESULTADOS.....	Erro! Indicador não definido.
	6.1 Parâmetros Fisiológicos.....	Erro! Indicador não definido.
	6. 2 Hemodinâmica Renal	Erro! Indicador não definido.
7	DISCUSSÃO	Erro! Indicador não definido.
8	CONCLUSÕES	Erro! Indicador não definido.
9	DIFICULDADES ENCONTRADAS.....	Erro! Indicador não definido.
10	REFERÊNCIAS	Erro! Indicador não definido.

1 INTRODUÇÃO

O Diabetes Mellitus (DM) é doença crônica que atinge mais de 250 milhões de pessoas em todo o mundo. Estima-se um aumento de 250% na prevalência desta doença e diante deste alarmante quadro epidemiológico, fica evidente a sua importância como um problema de saúde pública⁽¹⁾.

O DM é definido como uma síndrome caracterizada por desordens metabólicas resultantes de defeitos na síntese e/ou secreção de insulina ou ainda de sua ação nos tecidos. Essas alterações podem ocasionar um quadro de hiperglicemia sustentada⁽²⁾. Distúrbios endócrinos, retinopatias, neuropatias e nefropatias são complicações que podem ser causadas pelo DM. Entre os pacientes acometidos por DM, aproximadamente 20 a 30% desenvolvem a nefropatia⁽³⁾.

A hiperglicemia sustentada provoca alterações funcionais e estruturais nos rins com síntese de citocinas inflamatórias que estão diretamente ligados ao mecanismo de fibrose, perda progressiva da função renal e aumento da permeabilidade glomerular a macromoléculas como as proteínas⁽⁴⁾. Adicionalmente, a glicose em excesso pode agir sobre as proteínas circulantes e estruturais e gerar produtos de glicação avançada que estão envolvidos no mecanismo fisiopatológico de liberação de espécies reativas de oxigênio (EROs)⁽⁵⁾.

O treinamento físico aeróbio pode induzir adaptações metabólicas como o aumento da captação de glicose, elevação da utilização de glicogênio muscular e maior sensibilização dos tecidos periféricos à insulina, aumento da contribuição dos lipídeos no metabolismo energético e da atividade de enzimas relacionadas a oxidação de lipídeos, aumento da quantidade e tamanho de mitocôndrias⁽⁶⁾.

Os baixos custos e facilidade de acesso favorecem adesão à prática de exercício físico como terapia não farmacológica para o tratamento do DM. A hipótese desse estudo é que o exercício físico moderado pode exercer papel renoprotetor na existência de Diabetes Mellitus, comportando-se como terapia renoprotetora não farmacológica.

2 OBJETIVO

Avaliar a função renal e hemodinâmica renal de ratos diabéticos submetidos ao exercício físico.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Comitê de ética

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEUA - FMUSP), segundo o protocolo nº 1072/218 (ANEXO).

3.2 Animais

Foram utilizados ratos da raça Wistar, machos e adultos, pesando entre 250- 290 g. Os animais foram mantidos com livre acesso à água e ração e permaneceram em condições térmicas com ciclos alternados de dia e noite.

3.3 Procedimentos

3.3.1 Indução do Diabetes Mellitus

O DM foi induzido por meio da administração de 65mg/kg intravenosa (i.v.), dose única, caudal de Estreptozotocina (STZ) (Sigma Chemical Company, St Luis, MO, EUA) dissolvida em tampão citrato, pH 4,2. Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia capilar acima de 250 mg/dl, 48 horas após o procedimento de indução. A determinação quantitativa da glicemia foi realizada 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)⁽⁷⁾.

3.3.2 Exercício físico

Os ratos foram adaptados ao meio líquido por 2 semanas, 5 dias por semana durante 60 min. Após o período de adaptação foi realizado os procedimentos para a indução de DM e iniciado o treinamento anaeróbio contínuo que consistiu na prática de exercício físico por

natação durante 4 semanas consecutivas, 5 dias por semana, 60 minutos diários. As sessões de natação foram realizadas em tanques (100x80x60) contendo água a $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ suportando cargas equivalente a 5% do peso corporal do animal^(8,9).

3.4 Grupos experimentais

Os animais foram divididos nos seguintes grupos:

- a) Citrato (CIT, n=7):** animais que receberam o tampão citrato (diluente da STZ) em pH 4,2, i.v., caudal, dose única, no 1º dia do protocolo experimental;
- b) Citrato+Exercício (CIT+E, n=7):** animais que receberam tampão citrato (diluente da STZ) em pH 4,2, i.v., caudal, dose única, no 1º dia do protocolo experimental e foram submetidos a natação 5 dias por semana por 60 minutos durante 4 semanas;
- c) Diabetes (DM, n=7):** animais que receberam 65 mg/kg de STZ, i.v., caudal, dose única, diluída em 0,1M de tampão citrato em pH 4,2 no 1º dia de protocolo experimental.
- d) Diabetes + Exercício (DM+E, n=7)** animais que receberam 65 mg/kg de STZ, i.v., caudal, dose única, diluída em 0,1M de tampão citrato em pH 4,2 no 1º dia de protocolo experimental e foram submetidos a natação 5 dias por semana por 60 minutos durante 4 semanas;

Os protocolos experimentais tiveram duração de 4 semanas (28 dias) durante as quais o peso corporal e a glicemia dos animais foram controladas semanalmente. No 27º dia do protocolo experimental, os animais dos diversos grupos foram colocados em gaiolas metabólicas para mensuração do volume urinário, ingestão hídrica e alimentar de 24 horas. A amostra urinária coletada foi utilizada para realização de estudos de função renal e estresse oxidativa.

3.5 Coleta da amostra sanguínea e determinação do peso renal

Retirados das gaiolas metabólicas os animais foram anestesiados com Thiopentax® (tiopental sódico: 50 mg/kg) i.p. e submetidos aos procedimentos necessários para estudos de função renal pela técnica de determinação do *clearance* de inulina. Em seguida, os animais foram submetidos à laparotomia para coleta de sangue terminal, por meio da punção da aorta abdominal.

O rim direito foi retirado e em seguida pesado para o cálculo da razão peso do rim e peso do animal e o rim esquerdo removido, acondicionado e armazenado em refrigerador a -80°C

para estudos posteriores de mensuração de tióis não proteicos. Ao final do experimento, foi realizada a eutanásia do animal por coleta de sangue terminal, segundo as normas éticas para manuseio de animais em laboratório de pesquisa⁽¹⁰⁾.

3.6 Avaliação da função renal

A taxa de filtração glomerular foi determinada por meio da técnica de *clearance* de inulina. Foi realizada a cateterização da veia jugular para infusão de inulina nos animais e 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⁽¹¹⁾.

3.7 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.⁽¹¹⁾.

4 LOCAL

Este projeto desenvolveu-se no Laboratório Experimental de Modelo Animal (LEMA), na Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EEUSP).

5 ANÁLISE DOS DADOS

Os resultados foram apresentados como média ± desvio padrão. Os dados finais foram submetidos à análise de variância One Way ANOVA, seguida de teste comparações múltiplas de Newman-Keuls. Os valores p<0,05 serão considerados significantes.

6 RESULTADOS

Nos resultados apresentados a seguir os animais dos grupos CIT e CIT+E foram utilizados como controles saudáveis e os dados obtidos para estes grupos foram considerados parâmetros de normalidade. O treinamento físico em intensidade moderada no grupo saudável submetido a essa prática, CIT+E, não demonstrou interferir expressivamente em nenhum dos parâmetros analisados quando comparado ao animais saudáveis que não foram exercitados (CIT).

6.1 Parâmetros Fisiológicos

Como demonstrado na Tabela 1, os animais diabéticos apresentaram elevação da glicemia comparada com animais dos grupos controle, CIT e CIT+E. O grupo submetido ao exercício físico moderado demonstrou redução significativa no parâmetro de glicemia em relação ao grupo DM a partir da segunda semana de exercício.

Tabela 1. Glicemia dos grupos Citrato, Citrato+Exercício, Diabetes Mellitus e Diabetes Mellitus+Exercicios. São Paulo 2019.

Grupos	n	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
CIT	3	98,00±5,52	81,25 ± 5,52	81,50 ± 4,73	85,25 ± 6,04
CIT+E	3	82,25± 7,52	76,75 ± 8,51	88,00 ± 3,79	76,00 ± 4,94
DM	3	485,20 ± 45,52 ^{ab}	499,67 ± 35,25 ^{ab}	522,00 ±47,33 ^{ab}	509,00 ± 58,13 ^{ab}
DM+E	3	438,00± 48,47 ^{ab}	387,00 ± 62,92 ^{abc}	369,33 ±43,76 ^{abc}	381,80 ± 31,00 ^{abc}

^a p<0,0001 vs CIT

^b p<0,0001 vs CIT+E

^c p<0,0001 vs DM

Os animais dos CIT e CIT+E apresentaram aumento progressivo do peso corporal ao longo das quatro semanas, enquanto os animais DM tiveram manutenção ou discreta redução desse parâmetro no decorrer das quatro semanas. Os animais DM e DM+E apresentaram redução significativa do peso em relação aos grupos CIT na quarta semana de exercício, sendo que esta perda de peso foi mais expressiva nos animais do grupo DM.

Tabela 2. Peso corporal dos grupos Citrato, Citrato+Exercício, Dibetes Mellitus e Diabetes Mellitus+Exercicios. São Paulo 2019.

Grupos	n	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
CIT	5	252 ± 23	275 ± 25	312 ± 45	348 ± 39
CIT+E	5	255 ± 21	268 ± 13	283 ± 19	305 ± 40
DM	5	266 ± 5	278 ± 6	274 ± 12	263 ± 13 ^a
DM+E	5	270 ± 7	295 ± 7	292 ± 7	282 ± 18 ^a

^a p<0,05 vs CIT; ^b p<0,05 vs CIT+E; ^c p<0,05 vs DM

Observou-se aumento significativo no peso do rim nos grupos dos ratos DM e DM+E em relação aos animais dos grupos CIT e CIT+E, enquanto que o grupo DM+E apresentou redução significativa comparada ao grupo DM.

A análise da relação peso rim/ peso corporal mostrou aumento significativo no grupo DM e DM+E em comparação ao grupo CIT e CIT+E. Os animais DM+E apresentaram redução nesta relação quando comparados aos animais DM.

Tabela 3. Peso do rim e relação peso rim/ peso corporal dos grupos Citrato, Citrato+Exercício, Dibetes Mellitus e Diabetes Mellitus+Exercicios. São Paulo 2019.

Grupos	n	Peso do rim (g)	Relação peso rim/ peso animal
CIT	3	1,17 ± 0,19	0,33 ± 0,05
CIT+E	3	1,10 ± 0,11	0,32 ± 0,02
DM	3	1,52 ± 0,04 ^{ab}	0,61 ± 0,05 ^{ab}
DM+E	3	1,49 ± 0,08 ^{ab}	0,44 ± 0,05 ^{abc}

^a p<0,05 vs CIT; ^b p<0,05 vs CIT+E; ^c p<0,05 vs DM

A tabela 4 apresenta dados de ingestão nos diversos grupos, sendo que o grupo DM e DM+E demonstrou elevação significativa na ingesta de ração e água comparados ao grupo CIT e CIT+E. O exercício físico no grupo DM+E promoveu redução significativa no consumo de agua comparada ao grupo DM.

Os animais diabéticos exercitados apresentaram leve diminuição na ingesta de água em relação aos animais diabéticos que não foram submetidos ao treinamento físico de intensidade moderada. Os animais diabéticos, DM e DM+E, demonstraram elevação na ingesta hídrica quando comparados aos animais CIT e CIT+E..

Tabela 4. Ingesta de ração e água dos grupos Citrato, Citrato+Exercício, Diabetes Mellitus e Diabetes Mellitus+Exercícios. São Paulo 2019.

Grupos	n	Ração (gramas)	Água (ml)
CIT	5	22,50 ± 1,00	25,00 ± 5,00
CIT+E	5	21,24 ± 3,50	27,50 ± 6,45
DM	5	35,40 ± 0,89 ^{ab}	111,50 ± 20,82 ^{ab}
DM+E	5	31,82 ± 4,51 ^{ab}	63,33 ± 7,07 ^{abc}

^a p<0,001 vs CIT; ^b p<0,001 vs CIT+E; ^c p<0,001 vs DM

Função Renal

A função renal foi avaliada pela mensuração de fluxo urinário, creatinina sérica e *clearance* de inulina. Os grupos CIT e CIT+E analisados foram considerados parâmetros de normalidade.

O fluxo urinário foi significativamente maior nos grupos DM e DM+E em comparação ao grupo CIT e CIT+E, porém o grupo DM+E teve uma redução significativa deste parâmetro em relação ao grupo DM.

A mensuração da creatinina sérica apresentou elevação significativa nos grupos diabéticos em relação aos controles CIT e CIT+E. O exercício físico em intensidade moderada induziu diminuição significativa da creatinina sérica no grupo DM+E comparado ao DM.

O *clearance* de inulina mostrou redução significativa nos grupos induzidos a diabetes, DM e DM+E, em relação aos grupos CIT e CIT+E, sendo essa redução mais acentuada no grupo DM. Por outro lado, o grupo diabético exercitado, DM+E, apresentou elevação significativa do *clearance* de inulina comparado ao grupo diabético não exercitado.

Tabela 5. Função renal dos grupos Citrato, Citrato, Citrato+Exercício, Dibetes Mellitus e Diabetes Mellitus+Exercicios. São Paulo 2019.

Grupos	n	Fluxo urinário (ml/min)	Creatinina Sérica (mg/dl)	Clearance de inulina (ml/min)
CIT	5	0,011 ±0,002	0,33 ±0,03	0,85 ±0,14
CIT+E	5	0,011±0,002	0,36 ±0,05	0,88 ±0,11
DM	5	0,051 ±0,008 ^{ab}	0,91 ±0,06 ^{ab}	0,41 ±0,10 ^{ab}
DM+E	5	0,035 ±0,015 ^{abc}	0,45 ±0,02 ^{abc}	0,60 ±0,07 ^{abc}

^a p<0,05 vs CIT

^b p<0,05 vs CIT+E

^c p<0,05 vs DM

6. Hemodinâmica Renal

Abordagem da hemodinâmica renal dos grupos foi realizada por meio da verificação da FSR e RVR e considerando a aferição da PAM e FC.

Na análise da FC, o grupo saudável exercitado, CIT+E, apresentou redução significativa deste parâmetro comparado ao grupo CIT que não foi submetido ao exercício, enquanto que os animais diabéticos não exercitados mostraram elevação significativa comparada ao grupo saudável exercitado.

A PAM do grupo CIT+E foi significativamente menor comparado ao grupo CIT, enquanto o grupo DM apresentou elevação significativa em relação aos grupos controles CIT e CIT+E. O treinamento físico promoveu redução significativa da PAM do grupo DM+E comparado ao grupo DM não exercitado, porém ainda superior ao grupo saudável exercitado.

O FSR dos animais DM e DM+E apresentou redução em relação aos animais dos grupos CIT e CIT+E. A prática de treinamento físico em intensidade moderada aumentou significativamente estes parâmetros nos animais DM+E em relação aos animais DM.

Na avaliação da RVR, os animais diabéticos, DM e DM+E apresentaram aumento da RVR quando comparados aos grupos CIT e CIT+E. O grupo DM+E demonstrou redução significativa da RVR quando comparado ao grupo DM.

Tabela 6. Hemodinâmica renal dos grupos Citrato, Citrato, Citrato+Exercício, Diabetes Mellitus e Diabetes Mellitus+Exercícios. São Paulo 2019.

Grupos	n	FC (bpm)	PAM (mmHg)	FSR (ml/min)	RVR (mmHg/ml/min)
CIT	5	516 ±37	99 ±3	8,99 ±0,67	11,54 ±2,15
CIT+E	5	445 ±21 ^a	82 ±8 ^a	8,50 ±0,89	10,58 ±3,10
DM	5	541 ±36 ^b	114 ±3 ^{ab}	3,56 ±0,67 ^{ab}	28,50 ±6,16 ^{ab}
DM+E	5	499 ±28	95 ±4 ^{bc}	6,10 ±0,78 ^{abc}	16,67 ±4,29 ^{abc}

^a p<0,05 vs CIT

^b p<0,05 vs CIT+E

^c p<0,05 vs DM

8 DISCUSSÃO

O exercício físico tem demonstrado impacto significativo à saúde do indivíduo, especialmente nos indivíduos com doenças crônicas como o DM, destacando-se que estudos experimentais possibilitam maior compreensão da fisiopatologia do DM e dos mecanismos envolvidos nos benefícios da prática de exercícios físicos nessa condição clínica.

Este estudo destaca o impacto do exercício físico moderado sobre a função renal de ratos diabéticos submetidos à natação, diariamente por 1 hora, durante quatro semanas. Os resultados demonstram que o exercício físico em intensidade moderada melhorou parâmetros de função e hemodinâmica renal de ratos diabéticos.

O DM foi induzido por meio da administração do quimioterápico STZ, que promove degeneração das células β do pâncreas, comprometendo a produção de insulina e instalando a hiperglicemia característica do DM ⁽⁷⁾. O exercício físico influencia diretamente nessa característica do DM conforme demonstrado nesse estudo pela redução da glicemia capilar ao final das quatro semanas de exercício pelos animais diabéticos. A redução da glicemia capilar após uma sessão de exercício físico pode ser explicada devido ao aumento da permeabilidade à glicose nas fibras musculares ativas, mesmo na ausência e/ou deficiência da ação da insulina aumentando a captação e o metabolismo da glicose pelo músculo, além de aumento da sensibilidade dos receptores do músculo à insulina ^(12, 13).

Além da hiperglicemia crônica, outras características típicas do DM incluem a polifagia, polidpsia e poliúria⁽⁷⁾. As características típicas do DM foram observadas no presente estudo nos animais diabetizados com aumento da ingesta de agua, ração e volume urinário.

No DM a polifagia ocorre em uma tentativa de o organismo fornecer glicose para as células, em função da indisponibilidade da insulina. Adicionalmente ocorre uso consumo das reservas de glicogênio muscular e fígado, além de estímulo à gluconeogênese e mobilização dos triglicerídeos e ácidos graxos do tecido adiposo que resulta em um comprometimento da massa corporal provocando perda de peso⁽¹⁴⁾.

A fisiopatologia do DM envolve ativação de resposta inflamatória e acúmulo de proteínas na matriz extracelular que estão relacionadas ao desenvolvimento de hipertrofia renal⁽¹⁵⁾. Neste estudo a presença de hipertrofia renal foi identificada nos animais diabéticos identificadas pelo aumento do peso renal e da relação peso rim/ corporal.

Devido ao desequilíbrio energético na hiperglicemia crônica as células renais alteram o mecanismo de transporte tubular de sódio e glicose e estimulam a diurese osmótica, sendo observado no presente o aumento do fluxo urinário em animais diabéticos em relação aos saudáveis, decorrentes da presença de poliúria nos animais diabéticos⁽¹⁶⁾.

A hiperglicemia crônica favorece a toxicidade da glicose sobre as células endoteliais da microvasculatura e nas células epiteliais do túbulo renal levando ao comprometimento funcional^(2,3). Esse comprometimento funcional foi observado no presente estudo, no qual os animais DM demonstraram redução da função renal estimada pela taxa de filtração através do *clearance* de inulina, adicionalmente foi evidenciada a elevação na creatinina sérica, marcador usado clinicamente para avaliação de presença de disfunção renal.

A lesão renal ocasionada pelo DM está relacionada principalmente à hiperglicemia que provoca alterações metabólicas e hemodinâmicas. A hiperglicemia crônica está relacionada à vasoconstrição intra-renal que compromete o FSR⁽¹⁷⁾. Conforme demonstrado no presente estudo, o DM aumentou a resistência vascular renal com diminuição do fluxo sanguíneo renal. O treinamento físico em intensidade moderada promoveu diminuição da resistência vascular renal com melhora do fluxo sanguíneo renal. A prática de exercício físico está relacionada ao aumento do débito cardíaco que por sua vez colabora para redução na frequência cardíaca e normalização dos níveis pressóricos⁽¹⁸⁾. A melhora hemodinâmica dos

valores de PAM e FC impactaram diretamente na melhora dos parâmetros hemodinâmicos renais observados neste estudo.

Os resultados do presente estudo possibilitam maior compreensão dos efeitos do treinamento físico em intensidade moderada na condição de DM e fornecem subsídios para fundamentar protocolos de treinamentos que possam ser empregados como tratamentos não farmacológicos da condição crônica de DM podendo retardar a progressão de doença renal diabética.

9 CONCLUSÕES

O exercício físico promoveu melhora acentuada da função renal, com aumento do fluxo sanguíneo renal e da resistência vascular renal.

10 DIFICULDADES ENCONTRADAS

Uma das dificuldades encontradas nas primeiras semanas foi na adaptação dos animais ao meio líquido, sempre buscando seguir a padronização do projeto, além disso, outro desafio encontrado foi o desenvolvimento de habilidades para técnicas de indução da DM e procedimentos cirúrgicos para técnica de inulina. Tais dificuldades e desafios foram solucionados no decorrer do desenvolvimento da pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. Vos T, Barber RM, Bell B, Bertozzi-Villa A, Biryukov S, Bolliger I, Charlson F, Davis A, Degenhardt L, Dicker D, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 2015; 386(9995):743–800
2. Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia – SBEM, 2018. Disponível Em: <https://www.endocrino.org.br/o-que-e-diabetes/>
3. Wood SP. Contrast-induced nephropathy in critical care. *Crit Care Nurse.* 2012; 32(6): 15-23
4. Neves MDF; Sá JR; Morais LA; Dib SA. Hyperglycemia Treatment in Patients with Diabetes Mellitus and Chronic Kidney Disease, *Brazilian Journal of Nephrology.*
5. Lopes JP, Oliveira SMO, Fortunato JS. Stress oxidativo e seus efeitos na insulino-resistência e disfunção das células β-pancreáticas. *Acta Med Port* 2008; 21: 293-302.
6. Buehler AM, Berwanger O. A N-acetilcisteína na prevenção da nefropatia induzida por Contraste: as evidências são definidas ou precisamos de mais estudos? *Rev Bras Cardiol Invas.* 2008;16(2):225-33.
7. Sun H, Ge N, Shao M, Cheng X, Li Y, Li S, Shen J. Lumbrokinase attenuates diabetic nephropathy through regulating extracellular matrix degradation in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013; 100(1):85-95.
8. Gomes RJ, Leme JACA, Mello MAR, Luciano E, Caetano FH. Efeitos do treinamento de natação em aspectos metabólicos e morfológicos de ratos diabéticos. *Motriz.* 2008; 14:320-8.
9. 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.
10. Whiter P., Samson F. E. Determination of inulin in plasm and urine by use of antrone. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine.* 1954; 43(3):45–48.).
11. 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.* 2015; 309(3):R215-22.
12. Silva PE, Alves T, Fonseca ATS, Oliveira MAN, Machado UF, Seraphim PM. O Exercício físico melhora a sensibilidade à insulina de ratos expostos à fumaça de cigarro. *Rev Bras Med Esporte.* 2011;17(3):202-6.

13. Damiano LEG. Estudo Experimental dos Efeitos de Exercícios Padronizados, Aeróbios e Anaeróbios em Portadores de Diabetes Tipo II, Mediante Avaliações Antropométricas, da Glicemia e Termográficas. 2007. [dissertação] Escola de Engenharia São Carlos/Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 2007.
14. Ahmad J. Management of diabetic nephropathy: recent progress and future perspective. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*. 2015; 9(4):343–58.
15. Vallon V, Blantz RC, Thomson S. Glomerular hyperfiltration and salt paradox in early type 1 diabetes mellitus: a tubulo-centric view. *J Am Soc Nephrol*. 2003; 14(2): 530-7.
16. Sun H, Ge N, Shao M, Cheng X, Li Y, Li S, Shen J. Lumbrokinase attenuates diabetic nephropathy through regulating extracellular matrix degradation in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract*. 2013; 100(1):85-95.
17. Hotestter TH, Troy JL, Brenner, BM. Glomerular Hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int*. 1981; 19(3):410-15.
18. Angelis K, Pureza D, et al. Exercício Físico e Diabetes Mellitus do Tipo 1 – Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo. 2005; 6 (Supl A): 7-20.

ANEXO



Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
 Avenida Dr. Arnaldo, 455
 Pacaembu – São Paulo – SP

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Certificamos que a proposta intitulada “**IMPACTO DO EXERCÍCIO FÍSICO MODERADO SOBRE A FUNÇÃO RENAL DE RATOS DIABÉTICOS**”, registrada com o nº **1072/2018**, sob a responsabilidade de **Maria de Fátima Fernandes Vattimo e Vinícius Cardoso da Silva**, apresentada pela Escola de Enfermagem da USP - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Faculdade de Medicina da USP em reunião de **13.06.18**

Finalidade	(<input type="checkbox"/>) Ensino (<input checked="" type="checkbox"/>) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Início: 02-07-2018 Término: 02-08-2019
Espécie/linhagem/raça	Rato Wistar
Nº de animais	28
Peso/Idade	250-300g
Sexo	macho
Origem	Biotério ICB

A CEUA FMUSP solicita que ao final da pesquisa seja enviado Relatório com todas as atividades.

CEUA-FMUSP, 13 de Junho de 2018

Dr. Eduardo Pompeu
 Coordenador
Comissão de Ética no Uso de Animais