

PEDRO NATALI PINHEIRO SOARES

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR SOBRE ALGUNS
PARÂMETROS MORFOLÓGICOS RENAIIS DE RATOS COM *DIABETES
MELLITUS* EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S676i
2012

Soares, Pedro Natali Pinheiro, 1985-
Influência do exercício físico regular sobre alguns
parâmetros morfológicos renais de ratos com *Diabetes mellitus*
experimental / Pedro Natali Pinheiro Soares. – Viçosa,
MG, 2012.
ix, 36f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Antônio José Natali.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Referências bibliográficas: f. 30-36

1. Exercícios físicos. 2. Diabetes. 3. Rins - Doenças.
I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 613.7

PEDRO NATALI PINHEIRO SOARES

**INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO REGULAR SOBRE ALGUNS
PARÂMETROS MORFOLÓGICOS RENAIIS DE RATOS COM *DIABETES
MELLITUS* EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Educação Física, para obtenção do título de *Magister Scientiae*

APROVADA: 20 de abril de 2012.

Frederico Souzalima Caldoncelli Franco

João Carlos Pereira da Silva
(Coorientador)

Antônio José Natali
(Orientador)

A Deus, pela saúde.

Aos meus pais, pela confiança e dedicação.

A minha namorada, pelo apoio e compreensão.

Aos meus amigos, pela torcida.

"Deus nos concede, a cada dia, uma página de vida nova no livro do tempo. Aquilo que colocarmos nela, corre por nossa conta."

Chico Xavier

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por ter saúde, amigos e uma família unida que está pronta para me ajudar no que for preciso.

Aos meus pais, Antônio Carlos (Nem) e Ana Elisa (Pita), pelo amor, confiança, amizade, sacrifício... A importância de vocês na minha vida não tem como explicar em poucas frases, amo vocês.

A minha namorada, Marcela, por estar ao meu lado em todos os momentos, apoiando, cobrando, incentivando... Você faz parte desse momento, Te Amo!

Ao professor e orientador Natali, pela oportunidade, apoio e exemplo nesse período de convivência. Muito obrigado.

Ao professor e coorientador João Carlos, pela sua disponibilidade, amizade e contribuição no trabalho.

Ao professor Frederico, por disponibilizar seu tempo e contribuir com o trabalho.

Ao Dr. José do Carmo, pelo apoio no projeto e por ter disponibilizado seu tempo para contribuir com o trabalho.

Aos meus amigos, obrigado pelo apoio e confiança no sucesso de mais essa etapa.

Aos amigos do biotério, pelos momentos vividos nesses anos. Pessoas e momentos que levarei para o resto da vida.

A colega Marcinha, por ter cedido parte do seu projeto para a realização dessa dissertação.

A FAPEMIG, pelo auxílio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	2
2.1 Objetivo Geral	2
2.2 Objetivos Específicos	2
3 REVISÃO DE LITERATURA	3
3.1 <i>Diabetes Mellitus</i>	3
3.2 O Rim	5
3.3 Função Renal	6
3.4 Nefropatia Diabética	8
3.5 Exercício Físico e Nefropatia Diabética	12
4 METODOLOGIA	15
4.1 Animais de experimentação e tratamento	15
4.2 Indução de Diabetes	16
4.3 Programa de Treinamento	16
4.4 Procedimentos para análises histológicas	17
4.4.1 Histomorfometria dos glomérulos	18
4.4.2 Acúmulo de glicogênio nas células dos túbulos renais	19
4.5 Análises Estatísticas	19
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	20
5.1 Glicemia e peso corporal dos animais	20
5.2 Peso dos Rins	22
5.3 Área e diâmetro dos glomérulos renais	23
5.4 Degeneração glicogênica.....	26
5.5 Células coradas pelo PAS.....	28
6 CONCLUSÕES	30
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	30

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA - American Diabetes Association

AGES – Advanced glycatedend-products

CE – Controle exercício

COBEA – Colégio Brasileiro de Experimentação Animal

CS – Controle sedentário

DCCs – Doenças cardiovasculares

DE – Diabético exercício

DM - Diabetes mellitus

DRC – doença renal crônica

DRT – doença renal terminal

DS – Diabético sedentário

GH – Hormônio do crescimento

GLUT4 – Transportadores de glicose insulino-sensíveis

Hbglí – Hemoglobina glicosilada

HDL – High Density Lipoproteins

H-E – Hematoxilina-Eosina

IGF-1 – Insuline-like growth factor 1

IRC – Insuficiência renal crônica

LDL – Low Density Lipoproteins

ND – nefropatia diabética

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAS – Periodic acid-Schiff

PDGF-B – Platelet-derived growth factor beta polypeptide

SBD – Sociedade Brasileira de Diabetes

SOD – Superóxido dismutase

STZ – Estreptozotocina

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

TGF- β – Transforming growth factor beta

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotomicrografias do corpúsculo renal de ratos.....	18
Figura 2: Fotomicrografia do rim de rato sobreposta com uma graticula utilizada para contagem de células PAS positivo.....	19
Figura 3: Área externa do glomérulo renal dos grupos experimentais.....	23
Figura 4: Área interna do glomérulo renal dos grupos experimentais.....	24
Figura 5: Diâmetro do glomérulo renal dos grupos experimentais.....	25
Figura 6: Fotomicrografias de células coradas pelo HE.....	27
Figura 7: Fotomicrografias de células coradas pelo PAS.....	28
Figura 8: Quantidade de células coradas pelo PAS nos grupos experimentais.....	29

LISTAS DE TABELAS

Tabela 1: Diagnóstico de <i>Diabetes mellitus</i> e seus estágios pré-clínicos.....	4
Tabela 2: Classificação da DRC baseada na TFG.....	8
Tabela 3: Estágios da nefropatia diabética diagnosticados de acordo com valores de albuminúria e com o tipo de coleta de urina.....	10
Tabela 4: Programa de treinamento dos animais experimentais.....	17
Tabela 5: Glicemia de jejum dos animais nos grupos experimentais.....	20
Tabela 6: Peso corporal e comprimento da tíbia dos animais nos grupos experimentais.....	21
Tabela 7: Peso do rim dos animais nos grupos experimentais.....	22

RESUMO

SOARES, Pedro Natali Pinheiro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, abril de 2012.
Influência do exercício físico regular sobre alguns parâmetros morfológicos renais de ratos com *Diabetes mellitus* experimental. Orientador: Antônio José Natali.
Coorientadores: João Carlos Pereira da Silva e Ricardo Junqueira Del Carlo.

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos de um programa de natação sobre a histofisiologia renal de ratos com *Diabetes mellitus* (DM) experimental. Foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar com 30 dias idade e peso corporal médio de 87,42 g. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais: controle sedentário (CS, n=8); controle exercitado (CE, n=6); diabético sedentário (DS, n=9); e diabético exercitado (DE, n=13). Os animais dos grupos, DE e DS receberam uma injeção intraperitoneal (60 mg/kg de peso corporal) de estreptozotocina (STZ), diluída em 1mL de tampão citrato de sódio (0,1 M, pH 4.5). Os animais dos grupos CS e CE receberam a mesma dose de tampão citrato de sódio (0,1 M, pH 4.5) sem STZ. Sete dias após a aplicação de STZ e jejum de 12 horas, os animais que apresentaram glicemia de jejum superior a 300 mg/dL foram considerados diabéticos. Após 45 dias de hiperglicemia (diabetes), os animais do grupo DE e CE foram submetidos a um programa de natação por oito semanas. Após a eutanásia, os rins foram removidos, pesados e processados para análises histomorfométricas. Foram medidos o diâmetro externo e a área interna e externa dos glomérulos. As células PAS positivas foram contadas. O grupo CE apresentou as áreas interna e externa dos glomérulos renais significativamente maiores ($P < 0,05$) que o grupo DE. O diâmetro dos glomérulos não foi diferente entre os grupos ($P > 0,05$). Nos grupos CE e CS não foram observadas células com acúmulo de glicogênio, todavia, os animais diabéticos apresentaram acúmulo de glicogênio nos túbulos renais. O exercício físico não foi capaz de reverter o quadro. Concluiu-se que o DM aumentou o número de células renais com degeneração glicogênica, mas não alterou a histomorfometria renal. O protocolo de exercício usado não alterou este quadro.

ABSTRACT

SOARES, Pedro Natali Pinheiro, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, April, 2012. **Influence of exercise on some renal morphological parameters from rats with experimental *Diabetes mellitus***. Adviser: Antônio José Natali. Co-advisers: João Carlos Pereira da Silva and Ricardo Junqueira Del Carlo.

The aim of this study was to investigate the effects of a swimming training program on the histophysiology of the kidney in rats with experimental diabetes mellitus (DM). Thirty-days old male Wistar rats (*Rattus norvegicus*) with mean body mass of 87.42 g were randomly divided into four experimental groups: sedentary control (SC, n=8); exercised control (EC, n=6); sedentary diabetic (SD, n=9); and exercised diabetic (ED, n=13). Animals from ED and SD groups received an intraperitoneal injection (60 mg/kg body mass) of streptozotocin (STZ) diluted in 1 mL of sodium citrate buffer (0.1 M, pH 4.5). Animals from SC and EC groups received the same dose of sodium citrate buffer (0.1 M, pH 4.5) without STZ. Seven days after STZ injection those animals with fasting glucose above 300 mg/dL were considered diabetic. After 45 days of hyperglycemia (diabetes), animals from ED and EC groups were subjected to a swimming training program for 8 weeks. After euthanasia, the kidneys were removed, weighed and processed for histomorphometric analysis. The outer diameter and the outer and inner areas of the glomeruli were measured. PAS positive cells were counted. EC animals presented the inner and outer areas of renal glomerulus significantly higher than ED animals ($P < 0,05$). The diameter of glomeruli was not different between groups ($P > 0,05$). SC and EC groups did not show accumulation of glycogen in the renal tubules, however the diabetic animals did. The exercise protocol employed was not able to reverse this situation. It was concluded that DM increased the number of renal cells with glycogenic degeneration, but did not alter renal histomorphometry. The exercise protocol used did not change this frame.

1. INTRODUÇÃO

O *Diabetes mellitus* (DM) é definido como um distúrbio do metabolismo de carboidratos, apresentando, entre outras manifestações, a hiperglicemia contínua ou intermitente. As principais classes clínicas do diabetes são DM tipo I e tipo II. O tipo I tem como causa primária a destruição auto-imune das células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas, responsáveis pela produção de insulina, enquanto que o DM tipo II é caracterizado pela resistência das células alvo à insulina (Fang et al., 2004; Aires, 2008; Howarth et al., 2008). De acordo com a American Diabetes Association (ADA) (2011), existem outras classes clínicas do diabetes como o diabetes gestacional e outros tipos específicos de diabetes devido a outras causas como: defeitos genéticos na função das células β , defeitos genéticos na ação da insulina, doenças no pâncreas exócrino (ex. fibrose cística), e drogas ou tratamento químico (ex. no tratamento da HIV/AIDS ou transplante de algum órgão afetado).

O DM acomete diversos órgãos, dentre os quais, o coração, os rins, os olhos e o sistema nervoso, com manifestações distintas como cardiomiopatia diabética, nefropatia diabética (ND), retinopatia diabética e neuropatia diabética, respectivamente.

Os rins são órgãos pares localizados na parede posterior do abdome, atrás do peritônio, em ambos os lados da coluna vertebral. O lado medial de ambos os rins contém uma incisura através da qual passam a artéria e as veias renais, os nervos e a pelve. Duas regiões são evidentes: uma região mais externa chamada córtex e uma mais interna chamada medula. O córtex e a medula são compostos de nefrons - unidades funcionais dos rins, vasos sanguíneos e linfáticos e nervos (BERNE et. al.,2004). A nefropatia diabética é proveniente das afecções renais degenerativas e inflamatórias causadas pelo DM, que é a principal causa da doença renal crônica em pacientes que iniciam a terapia de reposição renal e está associada com o aumento de mortalidade cardiovascular (GROSS et. al., 2005).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) (2009), a presença de pequenas quantidades de albumina na urina representa o estágio inicial da ND, conhecido como microalbuminúria ou nefropatia incipiente. O estágio mais avançado na ND denomina-se macroalbuminúria, proteinúria ou nefropatia clínica. O desenvolvimento da nefropatia é considerado lento mas, mesmo assim, muitos pacientes desenvolvem doença renal terminal (DRT) e requerem hemodiálise. A prevalência de

macroalbuminúria em pacientes com DM do tipo 1 pode chegar a 40% e, em pacientes com DM do tipo 2, varia de 5% a 20%.

O rim recebe cerca de 20% do débito cardíaco em repouso, enquanto durante o exercício o sangue é desviado da árvore vascular renal (isquemia renal) e é redirecionado para os músculos ativos, chegando a receber menos de 5% do débito cardíaco, dependendo, principalmente, da intensidade do exercício. É sugerido por Hohimer et al. (1983) e Mitchell (1990) que o fator primário responsável pela redução do fluxo sanguíneo renal durante o exercício intenso e prolongado é a ativação do sistema nervoso simpático. A área vascular renal é ricamente inervada com os neurônios adrenérgicos simpáticos os quais liberam o neurotransmissor noradrenalina que provocam contração da parede vascular resultando em vasoconstrição. Todavia, quando a perfusão renal diminui, o rim é capaz de manter o filtrado glomerular e o fluxo plasmático renal através do mecanismo da autorregulação (BRAAM e KOOMANS, 1996).

O exercício físico tem sido recomendado como tratamento não farmacológico no controle do DM, minimizando as alterações estruturais e funcionais nos órgãos afetados pela doença. (ALBRIGHT et al., 2000; SIGAL et. al., 2004). De acordo com Boor (2009), o exercício físico moderado reduz a glicação avançada no diabetes e reduz a expansão mesangial glomerular. A atividade física regular pode prevenir complicações do DM através de efeitos benéficos no controle glicêmico, sensibilidade à insulina, pressão sanguínea, perfil lipídico e funções endoteliais (WADEN et. al. 2008). Levando em consideração a importância do rim no bom funcionamento do organismo e as complicações que o DM pode provocar nesse órgão, torna-se necessário estudar quais são os danos causados na estrutura morfológica do rim e se o exercício físico regular é capaz de atenuar alguma complicação provocada pela doença.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Investigar os efeitos de um programa de natação sobre alguns parâmetros morfológicos renais de ratos com DM experimental.

2.2 Objetivos Específicos

Verificar se um programa de natação altera a estrutura dos rins de ratos com DM experimental, considerando os seguintes parâmetros:

- Número de células coradas pelo PAS positivo nos túbulos renais (acúmulo de glicogênio); e
- Diâmetro, área interna e área externa dos glomérulos renais.

Hipóteses

H_0 - O exercício físico não altera o número de células marcadas com PAS positivo nos túbulos renais e nem as propriedades histomorfométricas dos glomérulos renais de ratos com DM experimental.

H_1 - O exercício físico altera o número de células marcadas com PAS positivo nos túbulos renais e as propriedades histomorfométricas dos glomérulos renais de ratos com DM experimental.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. *Diabetes mellitus*

De acordo com a SBD (2009), o DM não é uma única doença, mas sim, um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia, a qual é o resultado de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambos.

A classificação proposta pela Organização Mundial da Saúde (OMS), também observada na ADA (2011), inclui quatro classes clínicas: DM tipo 1, DM tipo 2, outros tipos específicos de DM e DM gestacional. Além dessas, ainda existem duas categorias, referidas como pré-diabétes, que são a glicemia de jejum alterada e a tolerância à glicose diminuída. Tais categorias não são entidades clínicas, mas fatores de risco para o desenvolvimento de DM e doenças cardiovasculares (DCCs).

Três são os critérios aceitos para o diagnóstico de DM (SBD, 2009): 1) sintomas de poliúria, polidipsia e perda ponderal acrescidos de glicemia casual acima de 200 mg/dl; 2) glicemia de jejum igual ou superior a 126 mg/dl (7 mmol); e 3) glicemia de duas horas pós-sobrecarga de 75 g de glicose acima de 200 mg/dl.

A tabela 1 demonstra os valores de glicose plasmática para diagnóstico de DM e seus estágios pré-clínicos (SBD, 2009).

Tabela 1. Diagnóstico de *Diabetes mellitus* e seus estágios pré-clínicos.

Categoria	Jejum	Duas horas após 75g de glicose	Casual
Glicemia normal	Menor que 100(mg/dl)	Menor que 140 (mg/dl)	-
Tolerância à glicose diminuída	Maior que 100 a menor que 126 (mg/dl)	Igual ou superior a 140 a menor que 200 (mg/dl)	-
Diabetes mellitus	Igual ou superior a 126(mg/dl)	Igual ou superior a 200 (mg/dl)	Igual ou superior a 200 (mg/dl)

O DM é uma doença que vem crescendo de maneira rápida em todo mundo. Em 1985, estimava-se haver 30 milhões de adultos com DM no mundo. Esse número aumentou para 135 milhões em 1995, chegando a 173 milhões em 2002 e com projeção de chegar a 300 milhões em 2030 (SBD, 2009; ADA, 2011). Pode-se creditar o aumento do número de indivíduos com DM ao crescimento e ao envelhecimento populacional, à maior urbanização, à crescente prevalência de obesidade e sedentarismo, bem como à maior sobrevida de pacientes com DM. No Brasil, no final da década de 1980, calculou-se a prevalência de DM na população adulta em 7,6%. Estudos mais recentes mostram taxas mais elevadas, como 12,1% no estudo de Ribeirão Preto (SP) e de 13,5 em São Carlos (SP) (SBD, 2009).

O DM tipo 1, presente de 5% a 10% dos casos de diabetes, se dá pela destruição, na maioria dos casos autoimune, das células beta-pancreáticas, ocasionando uma conseqüente deficiência de insulina (SBD, 2009; ADA, 2011). A taxa de destruição das células beta é variável, sendo, em geral, mais rápida entre as crianças e de forma lentamente progressiva em adultos. A primeira manifestação da doença, principalmente em crianças e adolescentes, seria a cetoacidose, outros podem apresentar modestas hiperglicemias, mudando rapidamente para severas hiperglicemias e, ou, cetacidoses, na presença de infecção ou de outros estresses (ADA, 2011).

O modelo animal vem sendo utilizado para estudos do DM ao longo dos anos. A indução do DM com a droga estreptozotocina (STZ) promove danos semelhantes aos provocados pelo DM tipo 1. Akbarzabeh et al (2007) mostraram através de amostras do tecido pancreático de ratos normais e diabéticos que as células β nas ilhotas de Langerhans de ratos que receberam injeção com STZ foram claramente degeneradas,

provocando DM experimental. A STZ também altera o metabolismo normal em ratos diabéticos comparando com ratos normais. O consumo de água e alimentação, volume de urina e glicose sanguínea aumentam em animais diabéticos em comparação com ratos normais, enquanto os níveis de insulina, peptídeo C e peso corporal diminuem (AKBARZABEH et al. 2007).

3.2. O Rim

Os rins estão localizados em ambos os lados da coluna vertebral no espaço retroperitoneal da cavidade abdominal posterior. No pólo superior de cada rim, envolvida pela fáscia renal e por uma camada protetora espessa de tecido adiposo perirrenal, situa-se uma glândula supra-renal. Na borda medial, côncava, contém uma físsura vertical profunda denominada hilo, através do qual os vasos e nervos renais passam e onde tem início a pelve renal, que dá origem ao ureter. O rim possui duas regiões distintas, o córtex e a medula. Cerca de 90 a 95% do sangue que passa pelo rim está no córtex ao passo que cerca de 5 a 10% está na medula. O córtex consiste em corpúsculos renais juntamente com os túbulos contorcidos e retos do néfron, e um extenso suprimento vascular. A medula é caracterizada por túbulos retos, ductos coletores e uma rede especial de capilares, os vasos retos (BERNE et. al.,2004; AIRES, 2008; ROSS e PAWLINA, 2008).

Os rins retêm os materiais essenciais e removem do organismo substâncias prejudiciais ou não aproveitáveis. Eles são responsáveis pela manutenção e regulação da composição do líquido extracelular, e também são essenciais para a manutenção do equilíbrio ácido-base. O rim também funciona como um órgão endócrino, pois sintetiza e secreta o hormônio glicoprotéico eritropoetina, que regula a formação das hemácias em resposta da diminuição da concentração de oxigênio no sangue. Além disso, é responsável pela síntese e secreção da protease ácida renina, uma enzima envolvida no controle da pressão arterial e do volume sanguíneo (AIRES, 2008; ROSS e PAWLINA, 2008).

O néfron é a unidade estrutural e funcional fundamental do rim, sendo que são responsáveis pela produção de urina e correspondem à porção secretora de outras glândulas. O néfron consiste em corpúsculo renal e um sistema de túbulos (ROSS e PAWLINA, 2008), descritos a seguir. Os glomérulos consistem de uma rede de capilares que recebem sangue da arteríola aferente e drenam para a arteríola eferente. Os

capilares são cobertos por células epiteliais, chamadas podócitos, os quais formam a camada visceral da cápsula de Bowman. As células viscerais se defletem no pólo vascular, onde as arteríolas aferentes e eferentes entram e saem da cápsula de Bowman, para formar a camada parietal da cápsula de Bowman. O espaço entre a camada visceral e a camada parietal é chamado espaço de Bowman, o qual, no pólo urinário, o túbulo proximal se une à cápsula de Bowman do glomérulo, transforma-se no lúmen do túbulo proximal (BERNE et. al., 2004).

Quando o ultrafiltrado glomerular passa pelos túbulos uriníferos e coletores do rim, sofre alterações que envolvem tanto a absorção passiva como ativa, bem como a secreção. Certas substâncias no ultrafiltrado são reabsorvidas; algumas parcialmente reabsorvidas (ex. água, sódio e bicarbonato) e algumas completamente reabsorvidas (ex. glicose). Outras substâncias (ex. creatinina e ácidos e bases orgânicos) são adicionadas ao ultrafiltrado pela atividade secretória das células dos túbulos (ROSS e PAWLINA, 2008).

O corpúsculo renal contém um grupo de células denominadas células mesangiais. Tais células e sua matriz extracelular constituem o mesângio. As células mesangiais não estão inteiramente confinadas ao corpúsculo renal, algumas estão fora do corpúsculo ao longo do pólo vascular, onde também são chamadas de células reticuladas, e fazem parte do que é denominado aparelho justaglomerular (ROSS e PAWLINA, 2008). O aparelho justaglomerular é um componente do importante mecanismo de *feedback* que regula o fluxo sanguíneo renal e a taxa de filtração glomerular. O aparelho justaglomerular é formado pela mácula densa, pelas células mesangiais extraglomerulares e pelas células granulares produtoras de renina na arteríola aferente (BERNE et. al.,2004).

3.3. Função renal

A ação coordenada dos vários segmentos dos néfrons determina a quantidade de substâncias contidas na urina. Há três processos gerais: (1) filtração glomerular, (2) reabsorção de substâncias do fluido tubular para o sangue, e (3) em alguns casos, secreção de substância do sangue para o fluido tubular. O primeiro passo na formação da urina pelos rins é a produção de um ultrafiltrado de plasma através dos glomérulos (BERNE et. al.,2004).

O conhecimento da taxa de filtração glomerular (TFG) é essencial na avaliação da severidade e da evolução de doenças renais. Nesse evento, 20% do plasma que entra no rim e alcança os capilares glomerulares são filtrados atingindo o espaço de Bowman. Os 80% de plasma restante, que não foram filtrados, circulam ao longo dos capilares glomerulares atingindo a arteríola eferente, dirigindo-se para a circulação capilar peritubular e, posteriormente, à circulação sistêmica (AIRES, 2008). A TFG é igual à soma da taxa de filtração de todos os néfrons funcionais. Desta maneira, a TFG é um índice da função dos rins. A diminuição da TFG geralmente significa que a doença renal está em progressão, enquanto o aumento na TFG geralmente sugere o restabelecimento da função renal (BERNE et. al.,2004).

Em adultos normais, a TFG média é de 90 a 140 ml/min para homens e 80 a 125 ml/min para mulheres. Deste modo, em um período de 24 horas, um total de 180 l/dia de plasma são filtrados pelos glomérulos. Após 30 anos, a TFG começa a diminuir com o passar dos anos. Contudo, esse declínio na TFG geralmente não afeta a função excretora dos rins, nem sua capacidade de manter o balanço de fluido, eletrólitos e ácido base (BERNE et. al.,2004).

A concentração plasmática de glicose em um homem adulto normal é de 5 mM, e sua filtração diária é de 900 mM, sendo que a excreção diária é de 0mM. Isso significa que a reabsorção tubular da quantidade de glicose filtrada é de 100% (AIRES, 2008). Normalmente, os túbulos proximais reabsorvem, por dia, cerca de 158 litros de fluido tubular isotônico, o que corresponde a cerca de 88% do volume de plasma filtrado diariamente pelos glomérulos (180 litros). Tal capacidade de trabalho desse segmento tubular é devida a uma série de adaptações que facilitam a reabsorção de sais e água, tais como: a) microvilosidades da membrana luminal que aumentam a área disponível para reabsorção; b) borda-em-escova com proteínas carregadoras específicas, que facilitam o transporte de vários solutos; c) luz tubular e citosol ricos em anidrase carbônica, enzima que possui importante papel na secreção de hidrogênio e reabsorção de bicarbonato; e d) *tight junctions* relativamente permeáveis, em comparação com os demais segmentos de néfron, permitindo que, através dos espaços intercelulares, ocorra transporte de solutos a favor de seus gradientes de concentração (AIRES, 2008).

No processo de ultrafiltrado glomerular o plasma atravessa a membrana filtrante, constituída de três camadas: endotélio capilar, membrana basal glomerular e epitélio da parede interna da cápsula de Bowman. Essa membrana filtrante permite a filtração de

solutos pequenos, como íons, água, ureia, glicose e inulina. Entretanto, solutos maiores, como a mioglobina, são menos filtrados, enquanto a hemoglobina e a albumina possuem filtração mínima (AIRES, 2008).

Indivíduos que apresentam nefropatia diabética podem estar incluídos em alguns dos estágios propostos pela National Kidney Foundation, que classificam os estágios da doença renal crônica (DRC) baseado primeiramente nos níveis da TFG (Tabela 2).

Tabela 2: Classificação da DRC baseada na TFG considerando a excreção de albumina.

Estágio	Descrição	TFG (ml/min/1,73 m ²)
1	Dano renal* com TFG normal ou aumentada	≥90
2	Dano renal* com leve diminuição da TFG	60-89
3	Diminuição moderada da TFG	30-59
4	Diminuição severa da TFG	15-29
5	Insuficiência renal	<15 ou diálise

* Dano renal definido como anormalidades na patologia, urina, sangue ou testes de imagens. Tabela adaptada da ADA (2011).

Desse modo a mensuração regular da TFG é de extrema importância para o controle da ND. Sendo que devem ser incluídos tratamentos multifatoriais da DRT como, redução da pressão arterial para <130/80 mmHg, diminuição de albuminúria, controle glicêmico, tratamento de anemia, tratamento lipídico, tratamento do hiperparatiroidismo secundário, interrupção do cigarro, perda de peso e atividade física (BLOOMGARDEN, 2008).

A creatinina e a uréia são substâncias muito utilizadas quando se pretende fazer uma avaliação da TGF. De acordo com Burmeister et. al. (2007), a avaliação inicial da função renal na prática clínica diária deve ser realizada através da dosagem da creatinina plasmática, pela eficácia e simplicidade do método. Estudos realizados com ratos também utilizam desses parâmetros (Boor et. al. 2009; Oliveira et. al. 2009).

3.4. Nefropatia diabética

O *Diabetes mellitus* causa afecções renais degenerativas e inflamatórias, diagnosticadas como Nefropatia Diabética, que é a principal causa da doença renal crônica em pacientes que iniciam a terapia de reposição renal e está associada com o

aumento de mortalidade cardiovascular (GROSS et. al., 2005). De acordo com a ADA (2011), para diminuir o risco ou reduzir a progressão da nefropatia, recomenda-se a otimização do controle glicêmico e do controle da pressão arterial.

A localização mais grave das lesões microvasculares no DM é a renal, por interferir na função do órgão e abreviar a vida. As principais lesões encontradas no rim do indivíduo diabético são: aumento do material da matriz mesangial do glomérulo, cujo extremo é o aparecimento dos nódulos descritos por Kimmelstiel e Wilson; espessamento da membrana basal do capilar glomerular e da membrana da cápsula de Bowman; hialinose das arteríolas aferentes e eferentes do glomérulo; e degeneração glicogênica dos túbulos (nefrose glicogênica) (ARDUINO, 1980).

De acordo com Dunnill (1976), o DM interfere na homeostasia renal de quatro maneiras diferentes. Primeiro, no diabético não tratado existe grande aumento de glicogênio no epitélio dos túbulos renais, principalmente na medula externa e no córtex interno. Segundo, o rim diabético demonstra maiores alterações arterioscleróticas avançadas comparado ao rim de pacientes da mesma idade não diabéticos. Terceiro, existe um aumento na incidência da pielonefrite, tanto aguda como crônica. E em quarto, existe uma lesão característica conhecida como glomerulosclerose intercapilar.

A presença de pequenas quantidades de albumina na urina representa o estágio inicial da ND: microalbuminúria ou nefropatia incipiente. O estágio mais avançado na ND denomina-se macroalbuminúria, proteinúria ou nefropatia clínica. O desenvolvimento da nefropatia é considerado lento, mesmo assim muitos pacientes chegam à DRT e requerem hemodiálise (SBD, 2009; ADA, 2011). Em um estudo realizado por Alves et. al. (2011), onde foram avaliados 166 pacientes com diabetes, 50% tinham albuminúria, 52% nefropatia incipiente e 47% nefropatia clínica. 63% dos pacientes apresentavam níveis pressóricos elevados, LDL > 100mg/dl em 79%, HDL < 45 mg/dl em 63%, triglicerídeos > 150 mg/dl em 63% em e colesterol total > 200 mg/dl em 63%. Esses dados indicam que a maioria dos pacientes estão expostos a fatores que aceleram a progressão da ND e predis põem a ocorrência de eventos cardiovasculares.

A prevalência de macroalbuminúria em pacientes com DM do tipo 1 pode chegar a 40% e, em pacientes com DM do tipo 2, varia de 5% a 20%. Pode-se efetuar o diagnóstico de ND utilizando-se diferentes tipos de coleta de urina, mas deve-se iniciar o rastreamento da ND preferencialmente pela medida de albumina em amostra de urina, devido à acurácia diagnóstica e à facilidade desse tipo de coleta (SBD, 2009). A tabela 3

apresenta os estágios da nefropatia diabética, demonstrando os valores de albuminúria relacionado com o tipo de coleta de urina.

Tabela 3: Estágios da nefropatia diabética diagnosticados de acordo com valores de albuminúria e com o tipo de coleta de urina.

Estágio	Urina com tempo marcado (µg/min)	Urina de 24 h (mg/24 h)	Amostra	
			Albumina creatinina (mg/l)	Concentração (mg/g)
Normoalbuminúria	Menos de 20	Menos de 30	Menos de 30	Menos de 17
Microalbuminúria	20 a 199	30 a 299	30 a 299	17 a 173
Macroalbuminúria	Igual ou superior a 200	Igual ou superior a 300	Igual ou superior a 300	Igual ou superior a 174

Fonte: Tabela adaptada da SBD (2009).

De acordo com Zanella (2006), a detecção da microalbuminúria é medida importante para identificar indivíduos com maior risco de desenvolver doença cardiovascular e com lesão renal passível de progressão para insuficiência renal. A avaliação para microalbuminúria, segundo as recomendações da ADA (2011) e SBD (2009), deve ser feita anualmente em pacientes com DM tipo 1 a partir do quinto ano do diagnóstico. A presença de microalbuminúria requer maior atenção para as medidas de controle da pressão arterial, que deve ser mantida em níveis inferiores a 130/80 mmHg, assim como para as medidas de controle dos lípidos e glicemia.

Com relação ao mecanismo da albuminúria, Bloomgarden (2008) descreve anormalidade envolvendo a barreira endotelial glomerular, provocando filtração excessiva, assim como redução da degradação e reabsorção da albumina de células tubulares renais. Outros fatores responsáveis por agravar o estado de albuminúria são a hipertensão glomerular, inflamação e estresse oxidativo, com a angiotensina II e fatores de estresse mecânicos contribuindo nesse processo.

As proteínas (ex. albumina) filtradas nos glomérulos são também reabsorvidas no túbulo proximal. Essa reabsorção começa quando as proteínas são degradadas parcialmente por enzimas na superfície das células do túbulo proximal e levadas para dentro das células por endocitose. Dentro das células, enzimas digerem as proteínas e peptídeos em seus aminoácidos constituintes, e esses passam da célula através da membrana basolateral e retornam ao sangue. Geralmente, por esse mecanismo são

reabsorvidas todas as proteínas filtradas e, com isso, a urina não apresenta altas concentrações de proteínas. Porém, esse mecanismo é facilmente saturado, ou seja, o rompimento da barreira de filtração glomerular resulta em aumento da quantidade de proteínas filtradas, o que resultará em proteinúria (BERNE et. al., 2004).

Uma possível ligação entre hiperglicemia e nefropatia diabética é pela glicosilação não enzimática de proteínas. Nesse processo, a glicose se liga aos grupos-amino das proteínas, resultando em produtos iniciais da glicosilação não-enzimática, como a hemoglobina glicosilada (Hbglí). Como a extensão da glicosilação é dependente da meia-vida da proteína e do valor médio da glicemia, a percentagem de Hbglí é utilizada, clinicamente, para estimar a média da glicemia dos últimos 90-120 dias, que corresponde à vida média das hemácias (FARIA 2001).

Com a continuidade do processo através de uma série de reações químicas lentas e irreversíveis, produtos finais da glicosilação não-enzimática (conhecidos como AGEs, *advanced glycated end-products*) são formados, alguns dos quais capazes de estabelecer ligações covalentes com grupos-amino de outras proteínas, resultando em reações proteínas-proteínas. Ao contrário dos produtos de vida curta como a Hbglí, os AGEs são estáveis, portanto, acumulam-se nos tecidos e nas paredes dos vasos, e suas concentrações não retornam ao normal mesmo quando a hiperglicemia é corrigida. Esse efeito pode estimular a proliferação de células mesangiais e também a síntese de colágeno tipo IV. Todo esse processo pode contribuir para o aumento na deposição de matriz extracelular no mesângio, interferir na depuração mesangial de macromoléculas e alterar a função de macrófagos, contribuindo para a expansão mesangial e a oclusão glomerular (FARIA 2001).

A hipertrofia de células do túbulo proximal e do mesângio são marcos iniciais do desenvolvimento do *Diabetes* renal. A hipertrofia das células renais precede e pode, sem dúvidas, contribuir pra anormalidade no estágio final do rim diabético, tais como glomerulosclerose, atrofia tubular e fibrose intersticial. Abordagens de cultura celular, sem interferências de fatores sistêmicos e hemodinâmicos, têm fornecido uma considerável quantidade de informações sobre o mecanismo do crescimento e a influência do ambiente com alta quantidade de glicose (WOLF e ZIYADEH, 1999).

Fatores genéticos também contribuem na patogênese da ND, onde, com fatores ambientais propícios, indivíduos que possuem predisposição genética são mais susceptíveis a desenvolver a doença. A ND é considerada uma doença com provável

transmissão genética do tipo poligênica e complexa, onde duas estratégias principais têm sido utilizadas na busca dos genes associados à ND: sendo eles a avaliação de genes candidatos e a utilização de genoma wide scan. O conhecimento dos principais genes permitiria prever os indivíduos de maior risco para o desenvolvimento da ND, além de possibilitar um melhor entendimento fisiopatológico da doença (CARPENA, 2010).

3.5. Exercício físico e nefropatia diabética

O rim recebe cerca de 20% do débito cardíaco em repouso, enquanto durante o exercício o sangue é desviado da árvore vascular renal (isquemia renal) e é redirecionado para os músculos ativos, chegando a receber menos de 5% do débito cardíaco, dependendo principalmente da intensidade do exercício. Sugere-se (HOHIMER et al., 1983 e MITCHEL, 1990) que o fator primário responsável pela redução do fluxo sanguíneo renal durante o exercício intenso e prolongado é a ativação do sistema nervoso simpático. A área vascular renal é ricamente innervada com os neurônios adrenérgicos simpáticos que liberam o neurotransmissor noradrenalina e provocam contração da parede vascular, resultando em vasoconstrição. Quando a perfusão renal diminui, o rim é capaz de manter o filtrado glomerular e o fluxo plasmático renal através do mecanismo da autorregulação (BRAAM e KOOMANS, 1996).

Essa autorregulação se dá com a estimulação de liberação de óxido nítrico na arteríola aferente minimizando sua vasoconstrição e provocando vasoconstrição da arteríola eferente (HO et al., 1993; ARIMA et al., 1997). Assim, a primeira parte desta resposta auto-reguladora consiste na diminuição do tônus da arteríola aferente, permitindo que alguma pressão sistêmica seja transmitida ao glomérulo. O objetivo imediato é alcançado com manutenção do filtrado glomerular renal através da maximização destas respostas autorreguladoras da resistência arteriolar (GUSMÃO et. al., 2003).

A diminuição da porcentagem do fluxo sanguíneo devido ao exercício físico implica em alteração nas funções do órgão e na homeostasia renal. Estudos com animais demonstraram que a vasoconstrição renal é menos acentuada durante o exercício, após um período de treinamento (CLAUSEN et. al., 1973). O exercício físico promove adaptações na estimulação do sistema nervoso simpático e na concentração sérica dos

hormônios envolvidos na vasoconstrição renal, e permite uma resposta hemodinâmica otimizada (GUSMÃO et. al., 2003).

O exercício físico tem sido recomendado como tratamento não farmacológico no controle do DM, minimizando as alterações estruturais e funcionais nos órgãos afetados pela doença (ALBRIGHT et al., 2000; SIGAL et. al., 2004). De acordo com Boor (2009), o exercício físico moderado reduz a glicação avançada no *Diabetes* e a expansão mesangial glomerular. Guelfi et. al (2005) demonstraram em um estudo realizado com indivíduos com diabetes tipo 1, que os níveis de glicose sanguínea são menores quando foi realizada uma atividade física considerada moderada comparada a uma atividade intermitente de alta intensidade, durante o exercício e a recuperação.

Em um estudo realizado com ratos com *Diabetes* experimental induzida por aloxana monoidratada Sigma (30mg/Kg de peso), o treinamento físico de natação foi efetivo em reduzir os níveis glicêmicos, assim como, em melhorar os aspectos morfológicos renais em ratos diabéticos (FARIA et. al., 2001). No estudo de Souza (2009) foi observado que em ratos com insuficiência renal crônica causada por ablação de 5/6 da massa renal, o treinamento físico em esteira rolante foi capaz de reduzir a produção de oxidantes e os danos oxidativos, aumentando o sistema de defesa antioxidante sem alterar a função renal.

Em um estudo realizado por Kurdak et al. (2010), foi investigado o efeito de um programa de exercício físico regular na microalbuminúria e na taxa de filtração glomerular de ratos com *Diabetes* induzida com estreptozotocina. Os resultados sugeriram que apesar da diminuição da depuração da creatinina, o programa de exercício realizado em esteira teve um efeito preventivo no desenvolvimento da microalbuminúria e, portanto, pode retardar a nefropatia em ratos diabéticos. De acordo com Ghosh (2009), o exercício reduz o peso corporal, albuminúria, e a expansão glomerular patológica em camundongos *db/db* independente do estado hiperglicêmico. Isso acontece porque com a atividade física ocorrem reduções nas atividades das caspase-3 e caspase-8, com melhoras na expressão de superóxido dismutase (SOD) e redução nos danos oxidativos, concluindo que o exercício pode inibir a progressão do início da nefropatia diabéticas.

Fraqueza muscular e intolerância ao esforço são comuns em pacientes que mantêm um programa de hemodiálise (LEWIS, 2011). Kosmadakis et. al. (2012) demonstraram que seis meses de caminhada regular em pacientes com estágios de pré-

diálise foram capazes de melhorar a tolerância ao exercício, perda de peso, a reatividade cardiovascular, evitar a medicação pra pressão arterial e melhorar sintomas urêmicos. De acordo com os autores, apesar desses achados forneceram suporte para o benefício da atividade física nessa população, mais estudos devem ser realizados para entender os mecanismos desses benefícios.

Em uma revisão realizada por Johansen (2007), analisando estudos com pacientes com doença renal terminal, mostrou-se que os benefícios de um programa de atividade física estão se tornando cada vez mais conhecidos para essa população, inclusive para pessoas que realizam hemodiálise. As intervenções de programas de atividade física incluem treinamento aeróbio, treinamento de exercício resistido e treinamento combinado, todos apresentando benefícios. Os riscos da prática do exercício para esta população não foram rigorosamente estudados, mas não foram encontrados relatos de disfunções graves, como resultado da participação em um programa de treinamento físico. Incorporar um programa de exercício para essa população é importante, mas as características e as necessidades devem ser respeitadas e estudadas para facilitar a implementação de exercícios adequados.

Além de complicações renais, pacientes com insuficiência renal crônica (IRC) apresentam níveis de força muscular, flexibilidade, consumo máximo de oxigênio e o tempo total do teste ergométrico menores quando comparados ao grupo controle. Esses dados foram apresentados em um estudo realizado por Medeiros et. al. (2002), onde a relação entre esses resultados e a neuropatia urêmica, a anemia, o sedentarismo, as alterações do metabolismo muscular e as características crônico degenerativas da IRC merecem mais investigações.

Em uma revisão recente realizada por Johansen and Painter (2012), onde foi estudada uma população com doença renal crônica (DRC) que não fazia tratamento com diálise, foi demonstrado que o treinamento físico resultou em melhora no desempenho físico e funcional em pacientes com DRC, sendo que fatores agravantes como hipertensão, inflamação e estresse oxidativo podem sofrer adaptações positivas com o treinamento físico nessa população. Com isso, os autores sugerem que o treinamento físico é benéfico para pacientes dessa população, e deve começar o exercício com intensidade moderada com aumento gradativo. Porém, Leehey et. al. (2009) não encontraram alterações na TFG, hemoglobina, hemoglobina glicada, lipídeos séricos, proteína C-reativa e peso e composição corporal com o programa de exercício utilizado.

A redução provocada pelo exercício físico regular na AGEs vem sendo considerado um mecanismo renoprotetor. Boor et. al (2009) demonstraram que o programa de exercício proposto reduziu a expressão de PDGF-B glomerular e a expansão mesangial, e nos túbulos intersticiais diminuiu a fibrose e a expressão de TGF- β . O envolvimento da AGEs no desenvolvimento da nefropatia diabética, fibrose renal e disfunção vascular é claro, já que a AGEs ativam a produção de TGF- β e PDGF-B nas células mesangiais, fibroblastos e células tubulares.

Levando em consideração a importância do rim no bom funcionamento do organismo e as complicações que o DM pode provocar nesse órgão, torna-se necessário investigar quais são os danos causados na estrutura morfológica do rim, através de análises histológicas, além de identificar se o exercício físico regular é capaz de atenuar alguma complicação provocada pela doença.

4. METODOLOGIA

4.1. Animais de experimentação e tratamento

Foram utilizados ratos (*Rattus Norvegicus*) da linhagem Wistar com 30 dias de idade e peso corporal médio de 87,42g, provenientes do Biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa. Após 7 dias de aclimação, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais, a saber:

- Controle sedentário (CS, n=8): animais que receberam injeção de tampão citrato de sódio e não receberam treinamento;
- Controle exercício (CE, n=6): animais que receberam injeção de tampão citrato de sódio e receberam treinamento;
- Diabético sedentário (DS, n=9): animais que receberam injeção de estreptozotocina (STZ) e não receberam treinamento;
- Diabético exercício (DE, n=13): animais que receberam injeção de estreptozotocina (STZ) e receberam treinamento;

Os animais dos respectivos grupos experimentais foram alojados em gaiolas coletivas (5 animais por gaiola) em ambiente com temperatura média de 22°C e regime de luminosidade de 12 horas claro/escuro, e receberam água e ração comercial *ad libitum*. Todos os animais foram pesados, no primeiro dia de cada semana, ao longo do

período experimental. Para isso, foi utilizada uma balança eletrônica digital (Marte – Brasil, modelo AS5500C) com precisão de 0,01g.

Todos os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal elaborados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA). Este projeto foi aprovado pelo comitê de ética do DVT/UFV (processo nº3/2009).

4.2. Indução de Diabetes

Logo após o alojamento em gaiolas e passar por um jejum de 12 horas, os animais dos grupos DE e DS receberam uma injeção intraperitoneal (60 mg/kg de massa corporal) de estreptozotocina (Sigma, St Louis, EUA), diluída em 1mL de tampão citrato de sódio (0,1 M, pH 4.5). Os animais dos grupos CS e CE receberam a mesma dose de tampão citrato de sódio (0,1 M, pH 4.5) sem STZ. Sete dias após a aplicação de STZ e jejum de 12 horas, aproximadamente 10 µl de sangue foram coletados por meio de corte transversal na ponta da calda do animal e a glicemia foi aferida utilizando-se o glicosímetro *One touch* ultra (Johnson & Johnson, México). Aqueles animais que apresentaram glicemia de jejum superior a 300 mg\dl foram considerados diabéticos. A glicemia de jejum e o peso corporal foram monitoradas semanalmente durante o período experimental. Animais com glicemia de jejum inferior a 300 mg\dl receberam uma nova dose da droga, sendo a glicemia de jejum aferida sete dias após a nova aplicação.

4.3. Programa de Treinamento

Após 45 dias de hiperglicemia (*Diabetes*), os animais do grupo DE e CE foram submetidos a um programa de treinamento em natação (adaptado de Medeiros et al., 2000), por 8 semanas.

A tabela 4 apresenta o programa de treinamento dos animais e discrimina a carga, em percentual do peso corporal dos animais, e a duração da sessão de natação ao longo das oito semanas.

Tabela 4. Programa de treinamento dos animais experimentais.

Semana	Carga (%)	Segunda	Terça	Quarta	Quinta	Sexta
1	0%	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min
2	1%	60 min	70 min	80 min	90 min	90 min
3	2%	90 min	90 min	90 min	90 min	90 min
4	3%	90 min	90 min	90 min	90 min	90 min
5	4%	90 min	90 min	90 min	90 min	90 min
6	4%	90 min	90 min	90 min	90 min	90 min
7	4%	90 min	90 min	90 min	90 min	90 min
8	4%	90 min	90 min	90 min	90 min	90 min

O treinamento físico foi realizado no Laboratório de Biologia do Exercício (Bioex), do Departamento de Educação Física da Universidade Federal de Viçosa. Foram utilizados tanques de alvenaria quadrados, com 55 cm de largura por 65 cm de profundidade, com água na temperatura entre 28 e 30 °C e profundidade de 45 cm. Os animais dos grupos DS e CS foram colocados em uma caixa de polipropileno com água aquecida (28-30°C) e profundidade de 10 cm cinco vezes por semana, por oito semanas, com a progressão de tempo realizada igual aos animais treinados.

4.4. Procedimentos para análises histológicas

Quarenta e oito horas após a última sessão de treinamento físico, completadas as oito semanas de experimento, os animais dos grupos CS, CE, DE e DS sofreram eutanásia (inalação de gás carbônico). Após a eutanásia, a tibia direita dos animais foi removida para mensurar seu comprimento. O rim esquerdo foi removido, pesado e fixado em formol neutro tamponado a 10%. Para o processamento histológico, o rim foi desidratado em soluções crescentes de alcoóis, diafanizados em xilol e incluídos em parafina. Em seguida, os blocos foram cortados em Micrótomo de rotação (Olympus Cut 4055), obtendo-se secções de 5µm de espessura que foram montadas em lâminas histológicas e corados pela Hematoxilina - Eosina. Foi ainda realizada coloração histoquímica pelo ácido periódico de Shiff (PAS) para identificação do glicogênio.

4.4.1. Histomorfometria dos glomérulos

As imagens das secções histológicas foram capturadas diretamente do fotomicroscópio (Olympus® FE-150/X730), com a objetiva de 10x. Os índices morfométricos foram determinados utilizando-se o programa de análise de imagens Image-Pro Plus 1.3.2 (1994) no Laboratório de Histopatologia do DVT/UFV, de acordo com o método proposto por Sharma et al. (1995). As variáveis morfométricas analisadas foram: o diâmetro externo e a área interna e externa dos glomérulos. Foram selecionados 15 glomérulos por animal. Imagens representativas das regiões analisadas foram selecionadas e registradas fotograficamente (Figura 1).

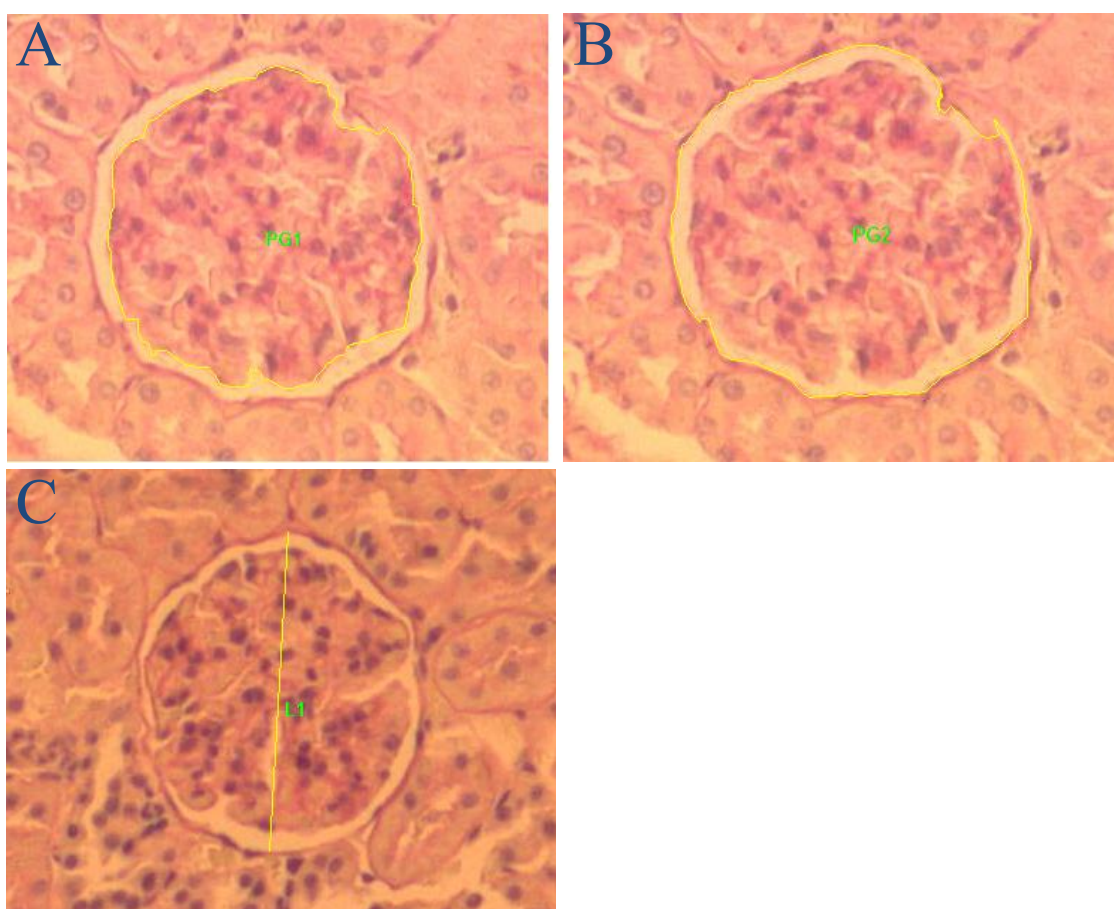


Figura 1. Fotomicrografias do corpúsculo renal de ratos. (A) área interna – PG1, (B) área externa – PG2 e (C) diâmetro (L1).

4.4.2. Acúmulo de glicogênio nas células dos túbulos renais

Para determinar o acúmulo de glicogênio nas células dos túbulos renais, as células PAS positivas foram contadas utilizando-se dois campos distintos de 100 μm x 100 μm por animal. Os campos foram escolhidos aleatoriamente para garantir maior fidelidade dos resultados encontrados. Para a contagem foi utilizado o programa Microsoft Office PowerPoint 2007, através da sobreposição de uma gradícula (100 pontos), para facilitar a contagem e garantir que mesmas células não fossem contadas mais de uma vez (Figura 2).

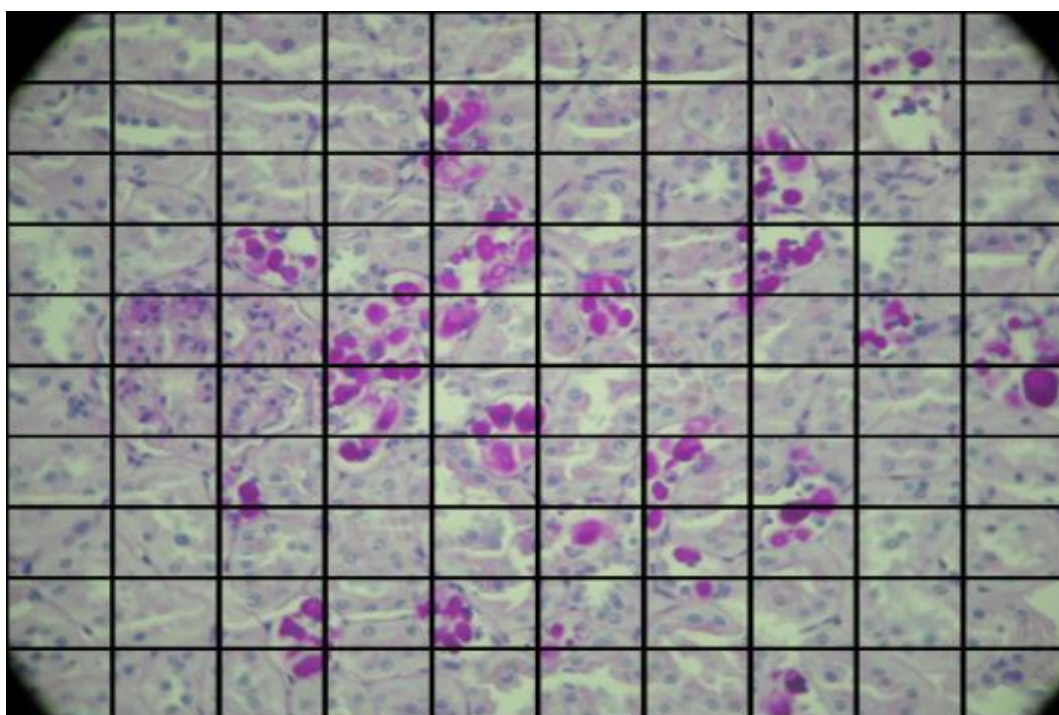


Figura 2. Fotomicrografia do rim de rato sobreposta com uma gradícula utilizada para contar células com PAS positivo (aumento de 40x).

4.5. Análise estatística

Para realização das análises, os dados foram submetidos inicialmente ao teste de normalidade (Kolmogorov-Smirnov). Constatada a distribuição normal dos dados, as médias das variáveis: áreas interna e externa e diâmetro do glomérulo renal, foram comparadas utilizando-se a Análise de Variância de duas entradas (ANOVA *two-way*), seguida do teste *post-hoc* de Hold-Sidak para as comparações múltiplas. Para analisar o número de células coradas pelo PAS foi realizado o teste *t* de Student para dados não

pareados. Todas as análises foram feitas usando-se o software Sigma Plot versão 11.0. O nível de significância adotado foi de até 5% ($p \leq 0,05$).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Glicemia e peso corporal dos animais

Na tabela 5 estão apresentados os valores referentes à glicemia dos animais.

Tabela 5. Glicemia de jejum dos animais nos grupos experimentais.

Grupos	Glicemia inicial (mg/dl)	Glicemia 45 dias após indução (mg/dl)	Glicemia final (mg/dl)
CS	82,4±4,2	87,8±11,3	88,3±32,1
CE	84,0±4,2	76,2±11,3	86,8±45,5
DS	89,0±4,5	525,1±11,3*	475,8±32,1*
DE	93,0±4,0	520,1±11,9*	483,7±32*

Os dados são expressos em média \pm EPM. CS, controle sedentário; CE, controle exercitado. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados; *, diferente de CS e CE na mesma coluna. $p < 0,05$.

A glicemia inicial dos grupos experimentais não diferiu estatisticamente. Após a indução com STZ, a glicemia 45 e a glicemia final apresentaram-se elevadas nos grupos diabéticos (DS e DE) comparado com os grupos controles (CS e CE). A glicemia de jejum não foi alterada pelo programa de natação aplicado tanto nos animais diabéticos (DE *vs* DS) quanto nos não diabéticos (CE *vs* CS). Esses dados sugerem que a STZ provocou a destruição das células beta pancreáticas, induzindo a hiperglicemia (AKBARZADEH et. al., 2007), mas o programa de treinamento usado não foi capaz de atenuar esse quadro. Outro estudo que demonstrou a eficácia da STZ em reduzir a área das ilhotas pancreáticas em animais diabéticos foi realizado por Silva et. al. (2011).

Com um protocolo de treinamento semelhante ao presente estudo, Rossi et. al. (2011) demonstraram os mesmos resultados com relação ao nível de glicose sanguínea. Entretanto, Crespilho et. al. (2010) realizaram um estudo semelhante com a indução do DM por Aloxana, e demonstraram níveis glicêmicos sanguíneos inferiores no grupo

diabético treinado comparado com diabético sedentário. De acordo com os autores, vários mecanismos podem agir para melhorar a captação de glicose após o exercício, dentre eles estão o aumento do fluxo sanguíneo muscular, o aumento da ligação da insulina ao seu receptor e o aumento no número de transportadores de glicose insulino-sensíveis (GLUT4). O aumento da resposta da insulina no músculo esquelético de ratos induzida pelo exercício físico regular pode resultar, pelo menos em parte, a partir da modulação da via de sinalização de insulina em diferentes níveis moleculares (Luciano et. al., 2002).

De acordo com a ADA (2011), para diminuir o risco ou reduzir a progressão da nefropatia, recomenda-se a otimização do controle glicêmico. Outra importante consequência da redução dos níveis glicêmicos está relacionada com a diminuição da albuminúria e a redução em eventos cardiovasculares, dentre eles menor calcificação da artéria coronariana, sugerindo que o tratamento glicêmico pode desempenhar importante papel no início da história natural da diabetes (BLOOMGARDEN, 2010).

Os valores referentes ao ganho de peso corporal durante o período experimental e ao comprimento da tibia no final do experimento estão apresentados na tabela 6.

Tabela 6. Peso corporal e comprimento da tibia dos animais nos grupos experimentais.

Grupos	Peso corporal inicial (g)	Peso corporal após 45 dias de indução (g)	Peso corporal final (g)	Comprimento da tibia final (cm)
CS	83,51±1,9	353,93±11,3*	443,50±18,1*	4,17±0,11*
CE	82,72±1,8	352,12±11,3*	410,81±25,7*	4,33±0,06*
DS	87,80±2,0	193,72±11,9	198,82±18,1	3,71±0,07
DE	82,71±1,8	186,91±10,7	204,25±18,1	3,50±0,25

Os dados são expressos em média± EPM. CS, controle sedentário; CE, controle exercitado. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados; *, diferente de DS e DE na mesma coluna. $p < 0,001$.

Com relação ao peso corporal inicial (antes da aplicação de STZ - semana 1) não foi identificada diferença significativa entre os grupos. Com relação ao peso corporal após 45 de indução com STZ e peso corporal final, foi encontrado um peso corporal maior nos grupos controles (CE e CS) comparado com os grupos diabéticos (DE e DS).

O comprimento da tíbia ao final do experimento foi maior nos grupos controles (CE e CS) comparado com os grupos diabéticos (DE e DS). Apesar do grupo CE apresentar peso corporal final inferior à CS, a diferença não atingiu significância estatística. Da mesma forma, o programa de natação não alterou esses parâmetros dos animais do grupo DE, quando comparados à DS e nem CE comparado à CS.

O menor peso corporal final bem como o menor tamanho da tíbia em animais diabéticos, indica que esses animais tiveram o crescimento prejudicado. A insulina é um importante hormônio anabólico e sua falta pode afetar a quantidade de outros hormônios, como o hormônio do crescimento (GH), o que pode inibir o crescimento de animais com diabetes (GOMES et al. 2009). Pesce et al. (1994) demonstraram que o DM tipo 1 induzido por STZ, por 5 a 9 dias, diminuiu as concentrações séricas de GH, sendo que, após a administração de insulina, elas foram restauradas. Isto demonstra a importância da insulina na secreção de GH. Outro fator que deve ser considerado é que o DM leva a uma estado catabólico por aumentar a utilização de ácidos graxos, além de acelerar o catabolismo protéico (HOWARTH et al. 2008).

5.2. Peso dos rins

Com relação ao peso do rim dos animais dos grupos DS, DE, CS e CE não foram encontradas diferenças significativas (Tabela 7). O rim diabético geralmente aumenta de tamanho (entre 10% a 30% considerando a idade, sexo e raça) em avaliações patológicas devido à hipertrofia glomerular e tubular (O'CONNOR e SCHELLING, 2005). No presente estudo, o tempo de exposição dos animais ao DM não foi capaz de provocar tais mudanças. O mesmo ocorreu no trabalho realizado por Boor et al. (2009), onde em um estudo realizado com ratos Zucker obesos, modelo que desenvolve *Diabetes mellitus*, não foi encontrada diferença no peso dos rins entre os grupos treinado e sedentário.

Tabela 7. Peso dos rins dos animais nos grupos experimentais.

Grupos	Peso dos rins (média/g)
CS	1,340±0,073
CE	1,343±0,090
DS	1,373±0,069
DE	1,303±0,061

Os dados são expressos em média± EPM. CS, controle sedentário; CE, controle exercitado. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados.

5.3. Área e diâmetro dos glomérulos renais

O grupo CE apresentou a área externa dos glomérulos renais significativamente maior que o grupo DE (8170,725 μm vs 6896,853 μm , respectivamente) (Figura 3).

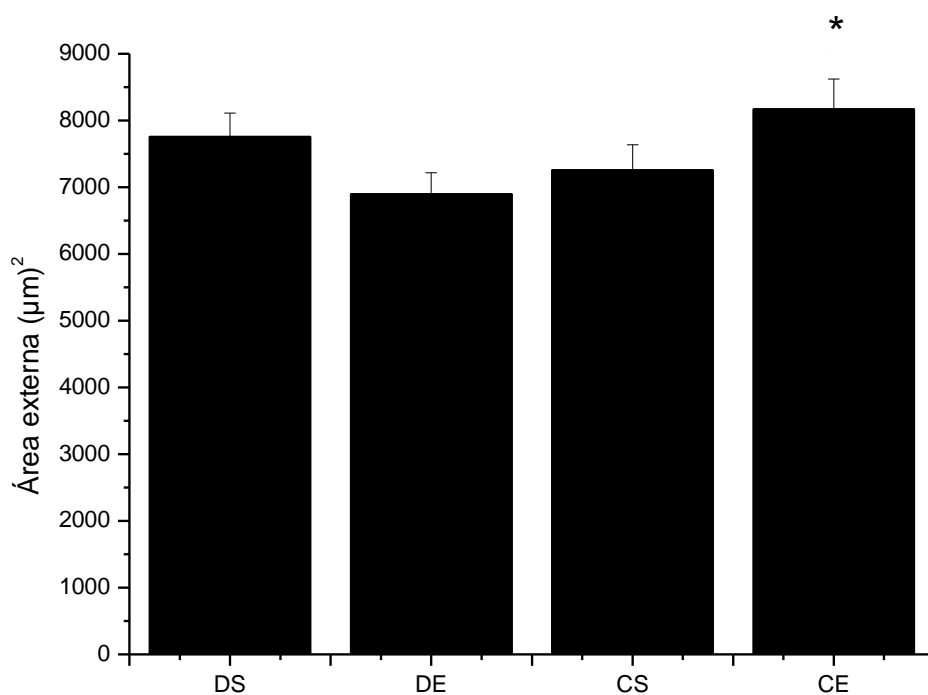


Figura 3 - Área externa do glomérulo renal nos diferentes grupos experimentais. Os dados são expressos em média± EPM. CS, controle sedentário; CE, controle exercitado. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados. *, indica diferença entre CE e DE.

Com relação à área interna, o grupo CE também apresentou maior área que o DE (6716,591 μm vs 5669,078 μm , respectivamente) (Figura 4). Nas demais comparações realizadas, as áreas interna e externa não foram significativamente diferentes entre os grupos.

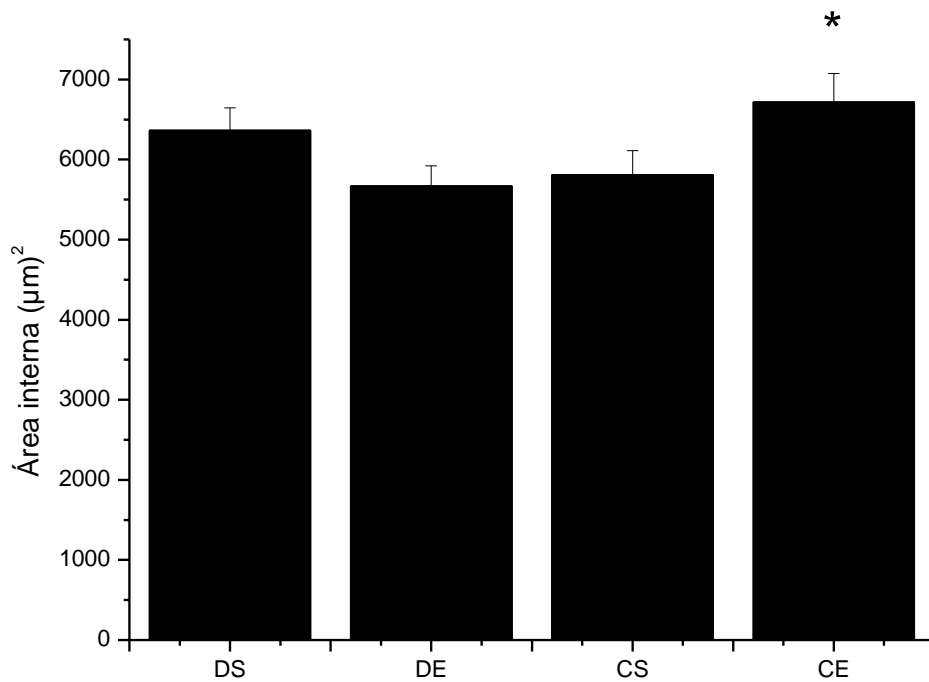


Figura 4. Área interna do glomérulo renal nos diferentes grupos experimentais. Os dados são expressos em média± EPM. CS, controle sedentário; CE, controle exercitado. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados. *, indica diferença entre CE e DE.

Ao comparar os diâmetros dos glomérulos entre os grupos experimentais, não foram encontradas diferenças significativas (Figura 5).

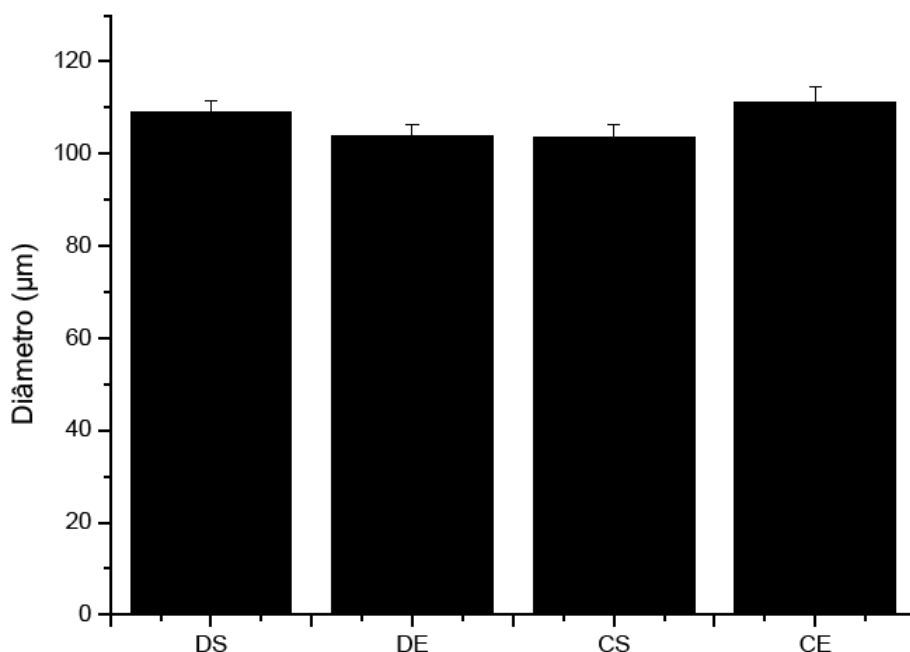


Figura 5. Diâmetro do glomérulo renal nos diferentes grupos experimentais. Os dados são expressos em média \pm EPM. CS, controle sedentário; CE, controle exercitado. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados.

Em tese, deveriam ser encontrados valores maiores das variáveis analisadas nos grupos diabéticos quando comparados com os grupos controles. A maior área interna e externa encontrada no grupo CE quando comparado ao grupo DE, possivelmente, ocorreu por uma escolha metodológica, onde foi definido avaliar as áreas de 15 corpúsculos renais por animal. Essa escolha foi definida pelo pequeno número de glomérulos fotografados na região equatorial nos demais grupos. Alternativamente para melhor comparação dos resultados, poderia ser realizada uma seleção de glomérulos para efeito de mensuração, selecionando aqueles que apresentassem os polos vascular e urinário, o que representaria a região equatorial dos glomérulos.

Com o estado hiperglicêmico crônico provocado pelo DM, concentrações de glicose sanguínea muito acima do normal passam pelo processo de filtração dos néfrons. Porém, como o limiar de reabsorção, provavelmente, foi ultrapassado considerando-se o índice glicêmico dos animais diabéticos, pode ter provocado um estado de hipertensão glomerular e hiperperusão renal (RUBIN, 2006), já que no rim

diabético pode ser notada uma hipertrofia glomerular e tubular (O'CONNOR e SCHELLING, 2005). Esse estado faz com que o glomérulo possua uma hiperfunção e com isso, possivelmente, poderia apresentar uma hipertrofia. No presente estudo, provavelmente pelo pouco tempo de exposição ao estado hiperglicêmico, não foram encontradas diferenças no tamanho glomerular.

Em um estudo realizado por Paulini (2011), diversos parâmetros renais foram avaliados comparando grupos diabético e controle, em ratos Wistar com DM induzido por STZ. Como resultado foi observado aumento na pressão de perfusão renal, na resistência vascular renal, no fluxo urinário, no ritmo de filtração glomerular e no fluxo plasmático renal dos ratos diabéticos comparados com controles. De acordo com o autor, a presença dessas alterações sugerem lesões e prejuízo na função renal.

De acordo com Wolf e Ziyadeh (1999) a hipertrofia das células do túbulo proximal e do mesângio são marcos iniciais do desenvolvimento do *Diabetes* renal. A hipertrofia das células renais precede e pode contribuir para anormalidades no estágio final da nefropatia diabética, tais como glomerulosclerose, atrofia tubular e fibrose intersticial. A principal interferência da hiperglicemia na homeostasia celular é o aumento da síntese e liberação de fatores de crescimento, onde eles estimulam o crescimento das células renais através dos mecanismos autócrinos e parácrinos. Existem fortes evidências que a indução do sistema TGF- β é essencial para hipertrofia das células tubulares e mesangiais (WOLF e ZIYADEH, 1999).

Outros fatores de crescimento como o eixo GH/IGF-1 são importantes no crescimento renal durante o curso da nefropatia diabética. Fatores como produtos da glicação proteica, força hemodinâmica, e fatores vasoativos (angiotensina II, endotelina-1, e tromboxanos) podem aumentar a síntese os fatores de crescimento e a expressão de seus receptores no estado diabético. (WOLF e ZIYADEH, 1999).

5.4. Degeneração glicogênica

Lâminas dos fragmentos de rins foram coradas pela Hematoxilina-Eosina, ocasião em que foram analisados os componentes histológicos em especial os glomérulos, os túbulos e o tecido intersticial. Em todos os ratos dos grupos controles (exercício e sedentário) havia preservação dos componentes estruturais dos rins, não se evidenciando alterações de quaisquer naturezas. Nos ratos diabéticos (exercício e sedentário), apesar da preservação da morfologia de grande parte do parênquima, os rins

revelaram alguns túbulos contorcidos distais contendo células epiteliais tumefeitas, hipocoradas e com intensa vacuolização citoplasmática (Figuras 6C e 6D), achados estes compatíveis com o acúmulo de glicogênio intracelular. A esse respeito, (BRASILEIRO FILHO, 2004) salientam que a degeneração glicogênica presente em indivíduos diabéticos é decorrente da reabsorção aumentada de glicose que se encontra presente em excesso no filtrado glomerular.

Para identificar e mensurar o acúmulo de glicogênio intracelular foi realizada a coloração histoquímica pelo Ácido Periódico Schiff, ocasião em que foi quantificada a intensidade das alterações degenerativas tubulares existentes.

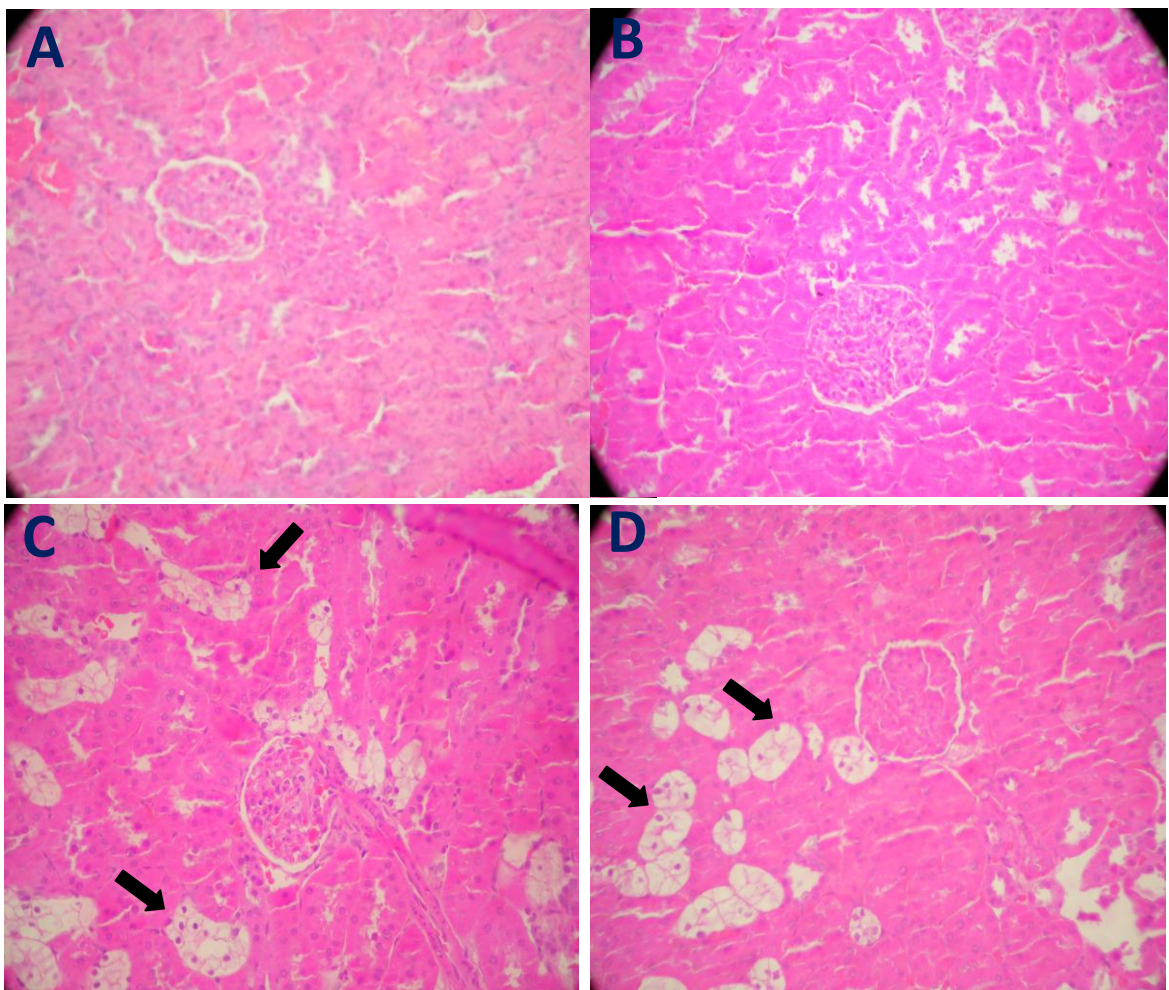


Figura 6. Fotomicrografias do rim de rato - Ausência de degeneração do epitélio tubular nos grupos controles (Figuras A e B). Alguns túbulos contorcidos exibindo intensa vacuolização (setas) do epitélio nos grupos de animais diabéticos (Figuras C e D). H-E. Aumento 40x.

5.5. Células coradas pelo PAS

As lâminas coradas pelo PAS dos animais diabéticos (DS e DE) mostraram que o DM provocou o acúmulo de glicogênio nos túbulos renais (Figuras 7A e 7B). Porém, como esperado, nos grupos CE e CS, de animais não diabéticos, não foram observadas células com acúmulo de glicogênio nas lâminas coradas pelo PAS (Figuras 7C e 7D).

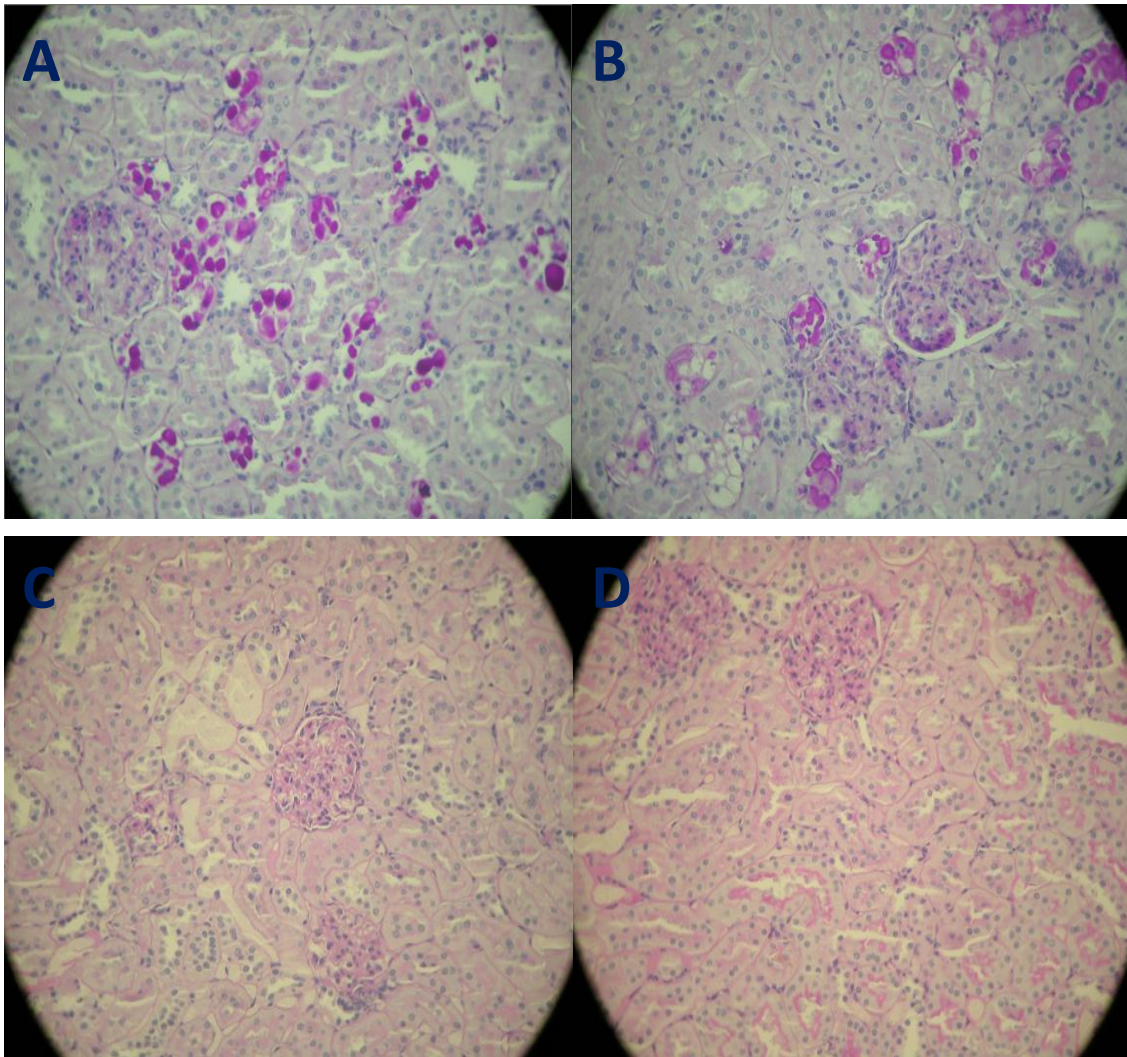


Figura 7. Fotomicrografias de células coradas pelo PAS. (A) Células tubulares renais PAS positivas, coradas em lilás, grupo DS. (B) Células tubulares renais PAS positivas, coradas em lilás, grupo DE. (C) Ausência de coloração pelo PAS, grupo CS. (D) Ausência de coloração pelo PAS, grupo CE. Aumento 40x.

Doenças genéticas caracterizadas pelo acúmulo de glicogênio nas células do fígado, rins, músculos esqueléticos e coração têm como causa básica a deficiência de

enzimas que atuam no processo de sua degradação. O acúmulo de glicogênio pode ocorrer também por outros mecanismos, como por exemplo, nas células dos túbulos renais de indivíduos com DM por causa de reabsorção de glicose presente em excesso no filtrado glomerular (BRASILEIRO FILHO, 2004).

Boor et. al (2009) encontraram células dos glomérulos renais coradas pelo PAS positivo em ratos Zucker obesos, o que segundo os autores demonstra um estado de proteinúria, foi demonstrado também que o grupo treinado apresentou uma quantidade menor (39%) de células PAS positivas. No presente estudo não foi encontrado células PAS positivas nos glomérulos renais.

De acordo com Dunnill (1976), no diabético não tratado existe um grande aumento de glicogênio no epitélio dos túbulos renais, principalmente na medula externa e no córtex interno. O programa de natação empregado no presente estudo não foi capaz de reduzir o número de células PAS positivas (Figura 8). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os grupos DE e DS ($30,800 \pm 29,869$ vs $41,875 \pm 31,457$, respectivamente).

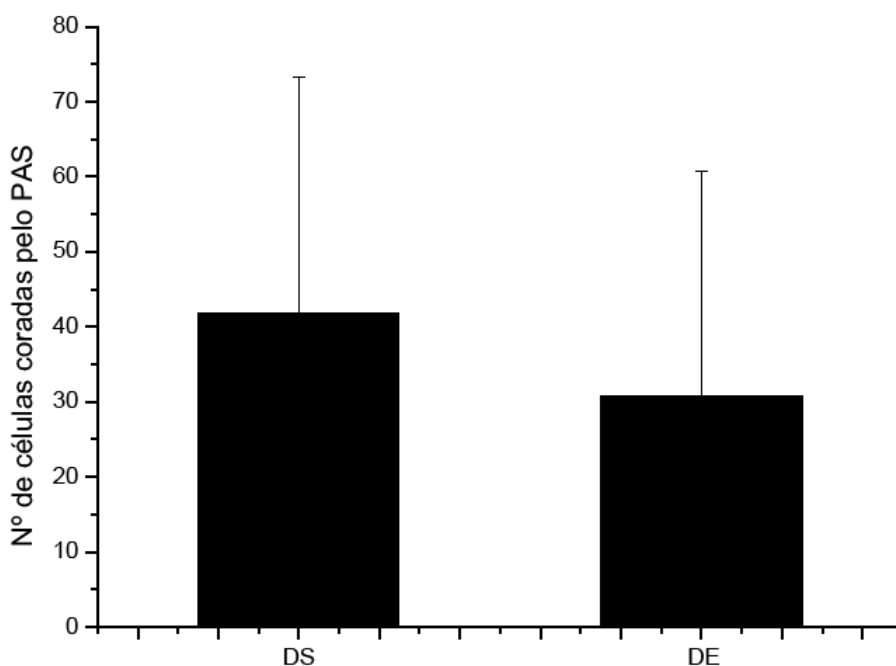


Figura 8. Quantidade de células coradas pelo PAS nos diferentes grupos experimentais. Os dados são expressos em média ± EPM. DS, diabéticos sedentários; DE, diabéticos exercitados.

Quando o ultrafiltrado glomerular passa pelos túbulos uriníferos e coletores do rim, sofre alterações que envolvem tanto a absorção passiva como ativa, bem como a secreção. Certas substâncias no ultrafiltrado são reabsorvidas; algumas parcialmente (água, sódio e bicarbonato) e outras completamente (glicose) (ROSS e PAWLINA, 2008). Isso ocorre em condições normais, onde a reabsorção de glicose é completamente realizada nos túbulos proximais. Em situações onde o ambiente intracelular se encontra com grandes concentrações de glicose, o acúmulo de glicogênio nas células dos túbulos distais ocorre, pois a condutância do túbulo contorcido distal é baixa (muito menor que a do túbulo proximal), desfavorecendo o transporte passivo de íons e água. Assim, esse segmento é classificado, como segmento de baixa capacidade de transporte e de alto gradiente de concentração, reabsorvendo menores frações do filtrado que o túbulo proximal (AIRES, 2008).

Com a continuidade da nefropatia diabética, o elevado nível de glicose nos túbulos renais provoca alterações ainda mais graves. De acordo com Brande et. al. (2005) os mecanismos da lesão tubular estão relacionados com a proliferação celular e dilatação tubular, seguido de atrofia e/ou fibrose e apoptose.

6. CONCLUSÕES

Concluiu-se que o DM aumentou o número de células renais com degeneração glicogênica, mas não alterou as áreas interna e externa e o diâmetro do glomérulo renal de ratos. O protocolo de exercício usado não alterou este quadro.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIRES M M. **Fisiologia**. 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.

AKBARZADEH, A; NOROUZIAN, D. MEHRABI, M. R, et. al.. **Induction of diabetes by streptozotocin in rats**. Indian J Clin Bioch. V. 22, Sep p.60-64, 2007.

ALBRIGHT, A., FRANZ, M., HORNSBY, G., KRISKA, A., et. al. **American College of Sports Medicine position stand. Exercise and type 2 diabetes.** Med Sci Sports Exerc, v.32, n.7, Jul, p.1345-60. 2000.

ALVES, C.M.P., LIMA, C.S., OLIVEIRA, F.J.L. **Nefropatia diabetic: avaliação dos fatores de risco para seu desenvolvimento.** Rev Bras Clin Med. v. 9, n 2, mar/abr p. 97-100. 2011.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **standards of medical care in diabetes-2011.** Diabetes Care. v34. 2011.

ARDUINO, F. **Diabetes Mellitus.** 3ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1980.

ARIMA, S, ENDO, Y, YAOITA. et. al. **Possible role of P-450 metabolite of arachidonic acid in vasodilatador mechanism of angioten II type 2 receptor in the isolated microperfused rabbit afferent arteriole.** J.Clin. Invest. v100: 2816. 1997.

BERNE RM. et. al. **Fisiologia.** 5ª edição. Rio de Janeiro. Elsevier; 2004.

BLOOMGARDEN, Z.T. **Diabetic nephropathy.** Diabetes Care. v. 31, n. 4, april. 2008.

BLOOMGARDEN, Z.T. **Blood Pressure and diabetic nephropathy.** Diabetes Care. v.33, n.3 march. 2010.

BRAAM, B, KOOMANS, H.A. **Renal responses to antagonismo f the renin-angiotensin system.** Curr Opin Nephrol Hypertens. v. 5, p. 89. 1996.

BRANDE, G.L., O'SHEA, M.H., MULHRN, J.G. **Tubulointerstitial diseases.** American Journal of Kidney Diseases. v. 46, n. 3, Sept p. 560-572. 2005.

BRASILEIRO FILHO, G.. **Bogliolo Patologia Geral.** 3ªedição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004.

BOOR, P., CELEC, P., BEHULIAK, M. **Regular moderate exercise advanced glycation and ameliorates early diabetic nephropathy in obese Zucker rats.** Metabolism Clinical Experimental. v. 58, p. 1669-1677, 2009.

BURMEISTER, J.E., AGNOLIN,R., COSTA, M.G., et. al. **Creatinina plasmática normal significa função renal normal?** Revista AMRIGS. v. 51, n. 2, Abr-jun p. 114-120, 2007.

CARPENA, M.P., RADOS, D.V, SORTICA, D.A., et. al. **Genetics of diabetic nephropathy.** Arq Bras Endocrinol Metab. v. 54. n. 3. p. 253-61. 2010.

CLAUSEN, J.O., KLAUSEN, K., RASMUSSEN, B., TRAP-JENSEN, J. **Central and peripheral circulatory changes after training of the arms or legs.** Am J Physiol. v.225, p. 675-82. 1973.

CRESPILHO, D.M. et.al. **Effects of physical training on the immune system in diabetic rats.** Int J Diabetes Dev Ctries. v.30 n.1; Sept p. 33-7, 2010.

DUNNILL, M.S. **Pathological Basis of Renal Disease.** Oxford. 1976

FARIA, J.B.L. **Atualização em fisiologia e fisiopatologia: Patogênese da nefropatia diabética.** J Bras Nefrol. v.23 n. 2, p. 121 – 9, 2001.

FARIA, M.C., GOMES, R.J., LUCIANO, E. **Influência do exercício físico crônico sobre a morfologia renal de ratos diabéticos experimentais.** Atividade Física e Saúde. V. 6, n. 3, 2001.

FANG, Z. Y., PRINS, J. B. and MARWICK, T. H. **Diabetic cardiomyopathy: evidence, mechanisms, and therapeutic implications.** Endocr Rev, v.25, n.4, Aug, p.543-67. 2004.

GHOSH, S., KHAZAEI, M., MOIEN-ASHARI, F., et. al. **Moderate exercise attenuates caspase-3 activity, oxidative stress, and inhibits progression of diabetic**

renal disease in db/db mice. Am J Physiol Renal Physiol. v. 296. Jan p. 700-708, 2009.

GOMES, R. J.; LEME, J. A.; DE MOURA, L. P.; DE ARAUJO, M. B.; ROGATTO, G. P.; DE MOURA, R. F.; LUCIANO, E. AND DE MELLO, M. A. **Growth factors and glucose homeostasis in diabetic rats: effects of exercise training.** Cell Biochem Funct, v.27, n.4, Jun, p.199-204. 2009.

GROSS, J.L., et. al. **Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment.** Diabetes Care. v.28, n.1, Jan., 2005.

GUELFİ, K.J, JONES, T.W., FOURNIER, P.A. **The decline in blood glucose levels is less with intermittent high-intensity compared with moderate exercise in individuals with type 1 diabetes.** Diabetes Care. v. 28, n. 6, June, 2005.

GUSMÃO, L., GALVÃO, J., POSSANTE, M. **A resposta do rim ao esforço físico.** Rev Port Nefro Hipert, v.17: p.73-80, 2003.

HO, S, ARINA, S, REN, Y.J. et. al. **Endothelin-derived relaxing factor/nitric oxide modalities angiotensina II action in the isolated microperfused afferent but not efferent arteriole.** J Clin Invest. v.91, 1993.

HOHIMER, A.R, HALLES, J.R, ROWELL, L.B, SMITH, O.R. **Regional distribution of blood during mild dynamic leg exercise in baboon.** J Appl Physiol. p. 173-7, 1983.

HOWARTH, F. C., et al.. **Effects of streptozotocin-induced diabetes on connexin43 mRNA and protein expression in ventricular muscle.** Mol Cell Biochem, v.319, n.1-2, Dec, p.105-14. 2008.

JOHANSEN, K.L. **Exercise in the end-stage renal disease population.** J Am Soc Nephrol. 18: 1845-1857, 2007.

JOHANSEN, K.L. PAINTER, P. **Exercise in individuals with CKD**. Am J Kidney Dis. 59(1): 126-134. 2012.

KOSMADAKIS, G.C.; JOHN. S.G.; CLAPP, E.L.; et. al. **Benefits of regular walking exercise in advanced pre-dialysis chronic kidney disease**. Nephrol.Dial. Transplant. v. 27, n. 3, p. 997-1004. 2012.

KURDAK, H. et al. **The effects of regular aerobic exercise on renal functions in streptozotocin induced diabetic rats**. Journal os Sports Sience and Medicine. v 9, June p. 294-299, 2010.

LEEHEY,DJ., et al. **Aerobic exercise in obese diabetic patients with chronic kidney disease: a randomized and controlled pilot study**. Cardiovascular Diabetology. v8, December p. 62. 2009.

LEWIS, M.I., FOURNIER, M. WANG, H., et. al. **Metabolic and morphometric profile of muscle fibers in chronic hemodialysis patients**. J Appl Physiol. October, 2011.

LUCIANO, E., CARNEIRO, E.M., CARVALHO, J.B., et. al. **Endurance training improves responsiveness to insulin and modulates insulin signal transduction through the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt-1 pathway**. Eur J Endocrinal. v.147, p. 149-57, 2002.

MEDEIROS, A; GIANOLLA, R. M; KALIL, L. M. P; et. al. **Efeito do treinamento físico com natação sobre o sistema cardiovascular de ratos normotensos**. Rev. Paul. Educ. Fís.v.14, p.7-15, jan./jun. 2000.

MEDEIROS, R.H., PINENT. C.R., MEYER. F. **Aptidão física de indivíduo com doença renal crônica**. J Bras Nefrol. v. 24, n. 2, p. 81-7, 2002.

MITCHELL, J.H. **Neural control of the circulation during exercise**. Med Sci Sports Exerc. v. 22, p. 141-54, 1990.

O'CONNOR, A.S., SCHELLING, J.R. **Diabetes and the kidney**. American Journal of Kidney Diseases. v.46, n.4, outubro, p. 766-773. 2005.

OLIVEIRA, V.M.; CAPELLINI, V.K.; CELOTTO, A.C. **Avaliação da função hepática, renal e perfil lipídico em animais diabéticos induzidos por aloxana**. Anais da 13ª Jornada de Biomedicina. Universidade de Franca. Agosto, 2009.

PAULINI, J. **Influência dos barorreceptores na evolução da cardiomiopatia e da nefropatia diabética em ratos (tese)**. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 154p. 2011.

PESCE, G., GUILLAUME, V., DUTOUR, A., et al.. **Effect of streptozotocin-induced diabetes on somatostatin receptors in the anterior pituitary, hypothalamus and cerebral cortex of the male rat**. Life Sci. v.54, n.24, p.1927-33. 1994.

SILVA, M., LIMA, G., SILVA, M.E., PEDROSA, M.L. **Efeitos da streptozotocina sobre os perfis glicêmico e lipídico e o estresse oxidativo em hamsters**. Arq Bras Endocrinol Metab. v. 55, n. 1, p. 46-53. 2011.

ROSS, M.H. e PAWLINA, W. **Histologia texto e atlas – Em correlação com biologia celular e molecular**. 2008.

ROSSI, D.M. VALENTI, V.E. NAVEGA, M.T. **Exercise training attenuates acute hyperalgesia in streptozotocin-induced diabetic female rats**. Clinics. v. 66 n.9, p. 1615-1619, 2011.

RUBIN, E., GORSTEIN, F. **Rubin, patologia: bases clinicopatológicas da medicina**. 4ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006.

SHARMA, R.; SCHUMACHER, U.; RONAASEN, V.; COATES, M. **Rat intestinal mucosal responses to a microbial flora and different diets**. Gut, v. 36, p. 209-214, 1995.

SILVA, M.F. **Efeitos do exercício físico sobre as propriedades morfológicas e mecânicas de miócitos cardíacos de ratos diabéticos**. 2010 (Mestrado em Educação Física) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 2010.

SIGAL, R.J., KENNY, G.P., WASSERMAN, D.H., CASTANEDA-SCEPPA, C. **Physical Activity/exercise and type 2 diabetes**. *Diabetes Care*. v. 27, n. 10. October p. 2518 – 2539, 2004.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2009**. 3ed., Itapevi, SP: A. Araújo Silva Farmacêutica, 2009.

SOUZA, P.S. **Ação terapêutica do exercício físico sobre os marcadores de estresse oxidativo induzidos pela insuficiência renal crônica**. Trabalho de Conclusão de Curso; Curso de Fisioterapia; UNESC. Criciúma. Novembro de 2009.

WADEN, J., FORSBLOM, C., THORN, L.M., et. al. **Physical activity and diabetes complications in patients with type 1 diabetes**. *Diabetes Care*. v. 31, n. 2, February p. 2030 – 232, 2008.

WOLF, G.; ZIYADEH, F.N. **Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy**. *Kidney International*, v. 56, p. 393-405. 1999.

ZANELLA, M.T. **Microalbuminúria: fator de risco cardiovascular e renal subestimado na prática clínica**. *Arq Bras Endocrinol Metab*. v. 50, n. 2, Abril p. 313-321, 2006.