



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA E BIOFÍSICA
LABORATÓRIO DE FISIOLÓGIA RENAL "PROF. FERNANDO ALZAMORA"

TREINAMENTO FÍSICO DE INTENSIDADE MODERADA COMO FATOR PREVENTIVO DA INJÚRIA RENAL AGUDA MEDICAMENTOSA

ESDRAS GUEDES FONSECA

Orientadora: Profa. Dra. Maria Aparecida Ribeiro Vieira

Belo Horizonte

2016

ESDRAS GUEDES FONSECA

**TREINAMENTO FÍSICO DE INTENSIDADE MODERADA COMO
FATOR PREVENTIVO DA INJÚRIA RENAL AGUDA
MEDICAMENTOSA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do grau de mestre em Ciências Biológicas, área de concentração Fisiologia, sob a orientação da Profa. Dra. Maria Aparecida Ribeiro Vieira.

Belo Horizonte

2016

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Renal “Prof. Fernando Alzamora”, do Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais com suporte financeiro das seguintes agencias de fomento: CAPES e FAPEMIG.

Aos meus queridos familiares Lenice
A. Guedes, Dirson S. Fonseca (em
memória), Sulamita Guedes S.
Fonseca e Vilher R. Carvalho.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, sou grato a Deus que permanece no meu caminhar nos momentos de tormenta e bonança.

Pelo milagre da vida e por constituir peça fundamental na construção do ser humano que sou, agradeço aos meus familiares Lenice Guedes, Dirson Fonseca (em memória), Vilher Rodrigues e Sulamita Guedes Fonseca.

Indubitavelmente, a conquista deste título também se deve ao amor e dedicação à ciência que transborda aos olhos da minha querida orientadora Maria Aparecida Ribeiro Vieira e que nos contagia. Serei eternamente grato pela confiança depositada, pelos esforços incansáveis na empreitada de ensinar e de fazer-me ir além. Saiba que admiro a orientadora Vieira M.A.R., a mãe científica Maria Aparecida, o ser humano extraordinário Cida. Obrigado por tudo.

Confesso que a caminhada não seria menos árdua e tão agradável se não estivesse rodeado por pessoas especiais. Por isso, também sou grato a vocês do Laboratório de Fisiologia Renal “Prof. Fernando Alzamora”, todos sem exceção, em especial: André Mota, Carolina Moreira, Fernando Pedro, Leda Coimbra, Mariana Chagas, Roberta Silva e Tatiana Almeida. Torço para que cada um continue persistindo em seu propósito e brilhando como diamantes. Lembre-se: “shine bright like a diamond”.

Não posso deixar de mencionar minha gratidão a cada profissional do Departamento de Fisiologia e Biofísica. Desde a Kátia que mantém o nosso Laboratório sempre limpo, o Silvio que cuida dos nossos animais, até os professores, coordenadores e chefe. Todos são fundamentais na nossa formação.

Por fim, o meu muito obrigado aos amigos que independente do quão distante ou perto, estarão sempre guardados no peito e, com certeza, felizes por mais uma conquista. Ao Alexandre Miranda, Marco Prais, Jonas César, Bruno Teixeira, Graciele Vidal, Ronara Gróia, Tamires Cardoso e Natália Brito.

**“Tudo posso nAquele que me provém
força....”**

Felipenses 4:13.

ABREVIATURAS

- **BK**: Bradicininina
- **Ccreat**: *Clearance* de creatinina
- **CH₂O**: *Clearance* de água livre
- **Cosm**: *Clearance* osmolar
- **CS**: Citrato sintase
- **DRC**: Doença renal crônica
- **eNOS**: Óxido nítrico sintase endotelial
- **FEH₂O**: Fração de excreção de água
- **FEK⁺**: Fração de excreção de potássio
- **FENa⁺**: Fração de excreção de sódio
- **FSR**: Fluxo sanguíneo renal
- **FU**: Fluxo Urinário
- **Gama GT**: enzima gama glutamil transferase
- **GM**: Gentamicina
- **IECA**: Inibidor de ECA
- **IRA**: Injúria renal aguda
- **KKS**: Kallikreins-kinins system
- **LBK**: Lisilbradicininina
- **NF- F β** : Fator nuclear Kappa B
- **nNOS**: Óxido nítrico sintase neuronal
- **RAS**: Renin-angiotensins system

- **RFG:** Ritmo de filtração glomerular

-**SAL:** Salina

- **SCC:** Sistema calicreínas-cininas

- **SED:** Sedentário

- **SHR:** *spontaneously hypertensive rats* (ratos espontaneamente hipertensos)

SRA: Sistema renina-angiotensinas

-**T:** Treinados

- **TEMP:** Teste de esforço máximo progressivo

-**TK:** T-cinina

- **VO₂máx:** Consumo máximo de oxigênio

RESUMO

Sabe-se que o treinamento físico induz adaptações cardiovasculares; no entanto, há poucos estudos que relatam as possíveis adaptações renais, especialmente, em casos de injúria renal aguda (IRA). Neste estudo, foi investigado o efeito do exercício aeróbio de intensidade moderada, sobre a prevenção da IRA induzida por gentamicina (GM). O procedimento experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso de Animal (CEUA, Protocolo nº 59 / 2015). Antes do início do treinamento, 28 ratos Wistar (250-300 g) foram submetidos a um teste de esforço máximo progressivo (TEMP). Logo depois, os animais foram divididos em dois grupos: não treinados (NT) e treinados (T). O protocolo de treinamento consistiu em corrida em esteira com intensidade moderada a 65% da velocidade máxima alcançada no TEMP (60 min/dia, 5 dias/semana, durante 8 semanas) (grupo T). Os ratos do grupo NT também tiveram acesso à esteira rolante (5 m/min, 5 min/dia, 5 dias/semana, durante 8 semanas). Após o período de treino, os ratos foram colocados em gaiolas metabólicas individuais e divididos em quatro subgrupos. Os grupos NT SAL e T SAL foram injetados, subcutaneamente, com NaCl 0,9% (SAL) e os grupos NT GM e T GM foram injetados com GM (Gentatec®, 80 mg/kg/dia, 2 vezes/dia, 0,1 ml/100 g), durante 5 dias. Amostras de urina e de sangue foram coletadas antes e após o tratamento, para análise de parâmetros de função renal. Ao final do experimento, os ratos foram sacrificados e os rins e músculo sóleo foram removidos para posteriores análise morfológica e dosagem da enzima citrato sintase, respectivamente. O treinamento prévio evitou a redução do ritmo de filtração glomerular (RFG) induzida pela GM. A redução de $1.561,0 \pm 225,7$ (NT SAL) para $512,0 \pm 154,0$ ml/24h (NT GM) foi muito mais acentuada do que aquela observada nos grupos T ($2.634,0 \pm 535,0$, T SAL para $1.451,0 \pm 185,0$ ml/24h, T GM, $p < 0,05$). Isoladamente, a GM e o treinamento aumentaram a expressão renal de RNA mensageiro que codifica a enzima conversora de Ang I (ECA). No entanto, a prática física impediu a elevação da expressão renal tanto de ECA como do receptor B1 de cininas no grupo T GM. A expressão de outros componentes do SRA e SCC não foi alterada (enzima ECA2 e receptores AT1, MAS e B2). Os dados indicam que o treinamento físico tem efeito preventivo quanto aos danos renais induzidos por GM, possível e principalmente devido a interações com o SCC, especialmente reduzindo a expressão e/ou densidade de receptores do tipo B1 de cininas no tecido renal.

Palavras chaves: Treinamento aeróbio, injúria renal aguda, gentamicina, sistema calicreínas – cininas, sistema renina-angiotensinas

ABSTRACT

It is well known that physical training induces cardiovascular adaptations; however, there are few studies reporting possible kidney adaptations, specially in acute kidney injury (AKI). In this study, we investigated the effect of moderate intensity aerobic exercise on the prevention of AKI induced by gentamicin (GM). Experimental procedure was approved by the Ethics Committee on Animal Use (CEUA, Protocol 59 / 2015). Before start training procedure, 28 Wistar rats (250-300 g) underwent a maximal progressive exercise test (MPET). Thereafter, rats were divided into two groups: not trained (NT) and trained (T). The training protocol consisted of running in a treadmill at 65% of maximum speed reached in MPET (60 min/day, 5 days/week for 8 weeks) (T group). NT group also had access to treadmill (5 m/min, 5 min/day, 5 days/week, for 8 weeks). At the end of training, rats were placed individually in metabolic cages and divided into 4 subgroups. NT SAL and T SAL subgroups were injected subcutaneously with 0.9% NaCl (SAL) and NT GM and T GM subgroups were injected with GM (Gentatec®, 80 mg/kg/day, twice a day, 0.1 ml/100g) for 5 days. Urine and blood samples were collected before and after GM treatment for further renal function analysis. At the end of experiment, rats were sacrificed and kidneys and soleum muscle were collected for further morphological analysis and citrate sinthase assay, respectively. Previous training prevented glomerular filtration rate (GFR) reduction in response to GM. A reduction of $1,561.0 \pm 225.0$ (NT-SAL) to 512.0 ± 154.0 ml/24h (NT-GM) was much more marked than that observed in T groups ($2,634.0 \pm 535.0$, T SAL, to $1,451.0 \pm 185.0$ ml/24h, T GM, $p < 0.05$). Both GM and training, *per se*, increased renal mRNA expression coding for angiotensin I-converting enzyme (ACE). However, previous training prevented the augmentation of renal expression of both ACE and kinin B1 receptor in T GM group. Expression of other RAS and KKS components was unaffected (ACE2 enzyme and AT1, MAS and B2 receptors). The data indicate that physical training has a preventive effect regarding to renal damages induced by GM, possibly and mainly due to interaction with KKS specially reducing B1 kinin receptors expression and/or density in renal tissue.

Key words: Aerobic training, acute kidney injury, gentamicin, kallikreins – kinins system, renin - angiotensins system

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Sequência de aminoácidos da BK e LBK	10
Figura 2. Fotografia esteira rolante para corrida	14
Figura 3. Fotografia de gaiolas metabólicas individuais	17
Figura 4. Sumário dos grupos e procedimentos	18
Figura 5. Esquema cronológico dos procedimentos executados	19
Figura 6. Imagem de um pletismógrafo	20
Figura 7. Imagem de um espectrofotômetro	21
Figura 8. Imagem de um fotômetro de chama	22
Figura 9. Imagem de um osmômetro	23
Figura 10. Variáveis medidas no TEMP	28
Figura 11. Efeito do treinamento sobre a citrato sintase	29
Figura 12. Pressão arterial média e frequência cardíaca	30
Figura 13. Peso corporal	31
Figura 14. Ingestão de água, fluxo urinário e balanço hídrico	32
Figura 15. Creatinina plasmática	33
Figura 16. Filtração glomerular, fluxo urinário e fração de excreção de H ₂ O	35
Figura 17. Frações de excreção de sódio e de potássio	36
Figura 18. Clearance osmolar e clearance de H ₂ O livre	37
Figura 19. Proteinúria	38
Figura 20. Gama GT urinária	39
Figura 21. Aspecto morfológico renal	40

Figura 22. RNA mensageiro para ECA, AT1, ECA2 e MAS	41
Figura 23. RNA mensageiro para B2 e B1	42
Figura 24. RNA mensageiro para TNF α , IL6 e IL10	43
Figura 25. Hipótese para a via de atuação do treinamento	58

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO	01
1.1 Função renal e injúria aguda	01
1.2 Injúria renal aguda medicamentosa	03
1.3 Treinamento físico como estratégia terapêutica	05
1.4 Sistemas Angiotensinérgico e Cininérgico na função renal	08
2 JUSTIFICATIVA	13
3 OBJETIVO	13
4 METODOLOGIA	14
5 RESULTADOS	28
6 DISCUSSÃO	44
7 CONCLUSÕES	59
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

1 INTRODUÇÃO

1.1 Função renal e injúria aguda

O sistema renal ou urinário é constituído por dois rins localizados fora da cavidade peritoneal sendo um de cada lado da coluna vertebral. Cada um dos rins é penetrado por uma artéria renal, uma veia renal, nervos e um ureter por onde a urina é drenada para a bexiga e, sequencialmente, para a uretra (Moore *et al.*, 2007; Di Dio *et al.*, 1999; Gardner *et al.*, 1988). Este conjunto de estruturas é responsável, primariamente, pela remoção dos resíduos metabólicos do organismo. No entanto, inúmeras outras funções renais importantes podem ser mencionadas, como a regulação do equilíbrio hídroeletrolítico, regulação da pressão sanguínea arterial, regulação da produção das células vermelhas do sangue (eritrócitos), gliconeogênese, regulação da produção de vitamina D e excreção de várias substâncias (Guyton & Hall, 2011; Aires, 1991).

Considerando a enorme relevância do sistema urinário na manutenção da homeostasia corporal, é necessário ter em mente a importância de se conhecer os diversos distúrbios que afetam o mesmo e que, conseqüentemente, ocasionam um funcionamento ineficiente das estruturas que o compõem. Inúmeras doenças de origem imunológica, inflamatória, infecciosa, neoplásica, degenerativa, congênita e hereditária podem comprometer os rins. As principais são: nefrite, infecção urinária, cálculo renal, obstrução urinária, tumores renais, nefropatias tóxicas, injúria renal crônica e IRA (Brenner *et al.*, 2000).

A IRA é uma síndrome caracterizada pela incapacidade dos rins em exercer suas funções básicas de excreção e manutenção da homeostase hídroeletrolítica corporal e está fortemente associada com o aumento de morbidade e de mortalidade de pacientes em períodos variáveis, além de desenvolvimento subsequente da doença renal crônica (DRC). Esta enfermidade é comumente diagnosticada pelo acúmulo de produtos finais do metabolismo de nitrogênio, como a ureia e a creatinina, acompanhado ou não da diminuição da excreção urinária e da redução do ritmo de filtração glomerular (RFG) (Bellomo *et al.*, 2012; Brenner *et al.*, 2000). É uma síndrome clínica ampla, abrangendo várias etiologias, incluindo doenças renais específicas como a glomerulonefrite intersticial aguda e vasculite renal, condições não específicas como a lesão tóxica e isquêmica e

também patologias extra-renais como a azotemia pré-renal e a nefropatia aguda obstrutiva pós-renal (Hoste *et al.*, 2006). Atualmente, o RFG é considerado o melhor índice geral para análise da função renal tanto em indivíduos saudáveis, como em doentes (KDIGO, 2012). Este parâmetro é calculado a partir dos níveis sérico e urinário do marcador endógeno creatinina (Maryam *et al.*, 2012). Vários estudos já demonstraram que o aumento da creatinina sérica está associado, de forma independente, com a mortalidade (Chertow *et al.*, 2005; Lassnigg *et al.*, 2004). No entanto, as razões pelas quais as alterações na creatinina sérica levam a aumentos na mortalidade hospitalar não são totalmente esclarecidas. As possíveis explicações consideram as consequências desfavoráveis da função renal diminuída como a sobrecarga de volume, retenção de compostos urêmicos, desordens eletrolíticas, acidose, anemia e risco aumentado de infecção (Hoste *et al.*, 2004).

A incidência de IRA na população mundial varia de 2.147 a 4.085 casos por milhão de habitantes por ano em países desenvolvidos (Ali *et al.*, 2007; Hsu *et al.*, 2007). Estudos mais recentes mostram que a IRA ocorre em 3,2 a 9,6% das internações, com mortalidade hospitalar total em torno de 20% dos pacientes e em até 50% dos pacientes internados em unidade de terapia intensiva (UTI) (Fang *et al.*, 2010; Lafrance *et al.*, 2010). Cerca de 5 a 6% dos pacientes internados em UTI, diagnosticados com IRA, necessitam de terapia de transplante renal, e estes apresentam uma taxa de mortalidade hospitalar extremamente elevada, da ordem de 60%. Calcula-se que, por ano, aproximadamente 2 milhões de pessoas morrem de IRA e aqueles que sobrevivem à injúria têm um maior risco para o desenvolvimento posterior de DRC (Coca *et al.*, 2012; Murugan *et al.*, 2011; Uchino *et al.*, 2005). A ocorrência desta enfermidade em países desenvolvidos tem aumentado na última década acometendo, atualmente, 45% dos pacientes internados em UTI e 20% dos pacientes hospitalizados (Bellomo *et al.*, 2012; Goldstein, 2012; Cruz *et al.*, 2009). Este aumento da prevalência reflete um envelhecimento da população, agravado por múltiplas comorbidades, que são frequentemente tratadas com drogas múltiplas (Chronopoulos *et al.*, 2010; Waikar *et al.*, 2008). Portanto, nestas condições, as infecções hospitalares, sepse, drogas que induzem injúria renal, cirurgias e procedimentos diagnósticos complexos que requerem contraste radiográfico intravenoso são fatores de risco importantes para o desenvolvimento de IRA (Perazella, 2012; Zarjou *et al.*, 2011). Já nos países em

desenvolvimento, a realidade é diferente. As principais causas de IRA em áreas urbanas é a isquemia renal, devido principalmente à sepse e as drogas nefrotóxicas (Santos *et al.*, 2006). Nas áreas rurais, a IRA é uma doença adquirida na comunidade, afetando indivíduos jovens e previamente saudáveis. Especificamente, as causas de IRA incluem as doenças infecciosas como dengue, tétano, malária, febre amarela, leptospirose e vírus da imunodeficiência humana, venenos de animais peçonhentos (abelhas, cobras, aranhas), medicamentos naturais, aborto séptico e diarreia com desidratação. É importante salientar que nos países em desenvolvimento a pobreza está associada com a maioria destes fatores desencadeantes de IRA (Lombardi *et al.*, 2008; Abdulkader *et al.*, 2008).

1.2 Injúria renal aguda medicamentosa

Em ordem decrescente, as principais causas de IRA aguda em UTI são: sepse, cirurgias cardiovasculares, baixo débito cardíaco, hipovolemia e medicação (Dennen *et al.*, 2010). Portanto, a medicação constitui a quinta maior causa de IRA em UTI e a literatura tem relatado aumento desta injúria nefrotóxica sendo, os antibióticos, responsáveis pela maioria dos casos. Entre eles, destacam-se os aminoglicosídeos (Nash *et al.*, 2002; Burdmann *et al.*, 1997). Desde seu descobrimento na década de 40 na Universidade Rutgers, EUA, este grupo de medicamentos constitui importante agente terapêutico antibacteriano. Inicialmente, foi isolada a estreptomicina e, desde então, inúmeras outras substâncias com potencial antibacteriano foram descobertas (Tavares, 2001; Gilbert, 1995). Na prática clínica, estes antibióticos têm sido utilizados tanto no tratamento de infecções, por exemplo, em casos de mediastinite e endocardites associadas à cirurgia cardiovascular, como na profilaxia (Senechal *et al.*, 2004; Haessler *et al.*, 2003; Mercieri *et al.*, 1999). Neste contexto, tais antibióticos podem produzir dano renal significativo. O nome aminoglicosídeo é devido à sua constituição química. A molécula é formada por dois ou mais aminoaçúcares que se ligam à hexose ou aminociclitol localizado comumente em sua porção central. São bastante solúveis em água, o peso molecular varia de 445 a 600 daltons, apresentam estabilidade em pH de 6 a 8 e possuem estrutura polar catiônica. Quanto à farmacocinética, todos os aminoglicosídeos apresentam características similares. Pouca quantidade destes antibióticos é absorvida pelo trato gastrointestinal e menos de 1% da dose é absorvida após administração por via oral ou retal devido à sua polaridade. Desta forma, a via

parenteral é a principal via de administração. Nesta, após 30 a 90 min da aplicação intramuscular, a droga atinge concentração plasmática máxima e, por via intravenosa, 30 min após sua injeção. Em pacientes com funcionamento renal normal, a meia vida sanguínea do aminoglicosídeo é de 2 a 3 h e, após este período, por meio da filtração glomerular, será excretado pelos rins. Já no córtex renal, a meia vida está entre 30 e 700 h. Esta característica permite concluir que após a administração da última dose da droga, ainda haverá eliminação da mesma após 20 a 30 dias (Badreldin *et al.*, 2011; Tavares, 2001; Gilbert, 1995).

O efeito bactericida de todos os aminoglicosídeos se dá por um mesmo mecanismo de ação, devido à capacidade de ligação do antibiótico ao ribossomo bacteriano, conseqüentemente, promovendo falhas no processo de leitura do RNA mensageiro e reduzindo a síntese proteica. Estas alterações impedem o funcionamento adequado da membrana celular resultando, posteriormente, na morte bacteriana. Entretanto, é importante destacar que a toxicidade celular é também uma característica comum dos aminoglicosídeos em função de sua absorção para o meio intracelular. Dentre os seus efeitos tóxicos mais importantes relata-se nefrotoxicidade, ototoxicidade e bloqueio neuromuscular. É raro o bloqueio neuromuscular e a ototoxicidade varia de 0 a 62%. Já a nefrotoxicidade varia de 0 a 50% salientando que, ao correlacionar as concentrações séricas obtidas com doses terapêuticas, observa-se que estas estão próximas das doses tóxicas (Badreldin *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2006; Tavares, 2001; Gilbert, 1995).

A GM é o aminoglicosídeo mais estudado e utilizado. No entanto, devido aos efeitos adversos da mesma, calcula-se que até 30% dos pacientes tratados com GM, por mais de 7 dias, mostram algum sinal de injúria renal (Balakumar *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2006; Ali, 2003). Alterações morfológicas, muito semelhantes em seres humanos e em animais experimentais, são induzidas pelo acúmulo de GM no córtex renal (Gerlach *et al.*, 2011; Oliveira *et al.*, 2009; Luft *et al.*, 1977). A nefrotoxicidade deste aminoglicosídeo é caracterizada por dano em nível tubular, mais especificamente, nas células epiteliais tubulares, o que resulta em apoptose e em necrose destas células tanto *in vivo*, como *in vitro* (Li *et al.*, 2009; Pessoa *et al.*, 2009; Edwards *et al.*, 2007). Baixas concentrações de GM causam apoptose, enquanto que altas concentrações podem causar necrose (Saito *et al.*, 2006; Edinger & Thompson, 2004). Outros fatores também modulam o processo de morte celular como, por exemplo, a redução do FSR que resulta na diminuição da

disponibilidade de oxigênio para algumas áreas dos rins. Neste caso, a morte celular adquire as características de necrose (Quiros *et al.*, 2011; Chiarugi, 2005).

O acúmulo de GM nas células epiteliais do túbulo proximal renal é específico devido à existência de uma membrana endocítica que envolve as proteínas megalina e cubilina (Lee *et al.*, 2009; Nagai *et al.*, 2002; 2006). Estas proteínas estão relacionadas com a entrada de GM no meio intracelular (Schmitz *et al.*, 2002). Isto resulta, conseqüentemente, na alteração funcional de inúmeras organelas que são preponderantes para a manutenção da atividade celular normal. Há também a ativação de receptores extracelulares sensíveis ao Ca^{2+} que estão associados com a morte das células tubulares. Grande quantidade de GM, já no meio intracelular, acumula-se nos lisossomos. Nestes, o antibiótico produz desestabilização da membrana, agregação lisossomal, liberação de catepsinas, alteração do metabolismo lipídico e fosfolipidose (De Broe *et al.*, 1984). Todos estes fatores estão associados à morte celular. Encontra-se GM também no complexo de Golgi e no retículo endoplasmático alterando a movimentação vesicular, produzindo *stress* oxidativo e diminuindo a reserva de ATP (Morales *et al.*, 2010). Além disso, a nefrotoxicidade desta substância envolve resposta inflamatória mediada pelo desequilíbrio na produção de espécies ativas de oxigênio (ROS), o que contribui ainda mais para a progressão do dano renal (Quiros *et al.*, 2011; Kalayarasan *et al.*, 2009; Servais *et al.*, 2006; 2008; Bledsoe *et al.*, 2006; Kadkhodae *et al.*, 2005; Sandoval & Molitoris, 2004).

Trabalhos realizados em células tubulares, mantidas em cultura, têm demonstrado que a GM, independentemente da desestabilização intrínseca das principais organelas celulares, inibe uma variedade de transportadores de membrana, incluindo os co-transportadores Na^+/K^+ , Na^+/H^+ ; e a bomba Na^+ , K^+ - ATPase (Levi *et al.*, 1990; Sorribas *et al.*, 2001; Sassen *et al.*, 2006). Além disso, resíduos teciduais decorrentes da necrose ou apoptose, causados pela IRA medicamentosa, podem obstruir parcial ou totalmente o lúmen tubular o que explica, em parte, a filtração glomerular reduzida pela GM (Neugorten *et al.*, 1983; Vallen *et al.*, 2003). Neste processo, observa-se aumento da pressão hidrostática no interior do túbulo renal e da cápsula de Bowman, o que resulta na diminuição do gradiente da pressão de filtração e, conseqüentemente, do RFG. O dano tubular promove uma reabsorção disfuncional que favorece um fornecimento excessivo de água e eletrólitos para a parte distal do nefrón disparando, posteriormete, o

mecanismo de retroalimentação tubuloglomerular. Este mecanismo é ativado para evitar a perda maciça de água e eletrólitos (Blantz *et al.*, 2007; Komlosi *et al.*, 2009). Outro mecanismo que está envolvido com alterações no RFG é a proliferação e contração mesangial, ambas estimuladas pelo aminoglicosídeo (Martinez-Salgado *et al.*, 2005; Martinez-Salgado *et al.*, 2007; Stojiljkovic *et al.*, 2008).

2.3 Treinamento físico como estratégia terapêutica na prevenção da IRA medicamentosa

Sabe-se que o exercício físico aeróbio é toda atividade física planejada, estruturada e repetitiva com o intuito de promover a melhoria e manutenção de um ou mais componentes da aptidão física (Mendes, 2009; *Physical Activity Guidelines Advisory Committee*, 2008; ACSM, 2003; Carpersen *et al.*, 1985). Esta prática constitui um fator indiscutível de um estilo de vida saudável (Loosemore, 2011). Já o sedentarismo tem sido descrito como a maior ameaça à saúde pública nos últimos anos, apresentando relação direta com a fisiopatologia da inflamação e com o aceleração do desenvolvimento de doenças crônicas (Blair, 2009; Mathur & Pederson, 2008). Portanto, o papel do exercício na promoção, bem como na prevenção de doenças crônicas é cada vez mais aceito (Loosemore, 2011). Desta forma, o aconselhamento para a realização de atividade física tornou-se um elemento integrante do plano de tratamento de várias condições, especialmente, doenças cardíacas, pulmonares, diabetes e hipertensão.

Não existe dúvida de que o exercício aeróbio crônico induz adaptações funcionais e estruturais no sistema cardiovascular, respiratório, músculo-esquelético e metabólico. Estas adaptações específicas aumentam a eficiência e a capacidade do organismo contribuindo positivamente para a prevenção de doenças cardíacas, hipertensão, câncer de cólon, diabetes mellitus e atua como instrumento não farmacológico no tratamento de condições fisiopatológicas (Gleeson, 2011; Mathur & Pederson, 2008; Costa Rosa, 2004). A literatura relata que os benefícios do exercício aeróbio crônico sobre o coração fizeram aumentar a expectativa de vida, bem como reduziu a ocorrência de eventos cardiovasculares (Gleeson *et al.*, 2011; ACSM, 2003). Há relatos de melhora na capacidade cardiovascular associada com uma menor frequência cardíaca de repouso e aumento no volume e massa ventricular, além de permitir uma redistribuição mais eficiente do débito cardíaco em direção aos músculos de trabalho (Schuler, 2013; Morris

Froelicher, 1993). Chen, em 2007, mostrou em seus estudos que ratos treinados por 4 semanas a uma intensidade moderada, quando submetidos à infusão de lipopolissacarídeo, por 20 min, apresentavam uma produção menor de TNF- α e IL-1 β pelas células sanguíneas (monócitos/neutrófilos) em relação ao grupo sedentário. Também constataram efeitos benéficos sobre o sistema cardíaco com consequente diminuição de radicais livres e mediadores inflamatórios. Adaptações em nível renal também podem ser verificadas em decorrência da atividade física regular. Di Carlo & Bishop (1990) e Armstrong & Laughlin (1984) observaram que durante uma sessão de exercício agudo havia uma menor redução no fluxo de sangue para os órgãos esplânicos e os rins de coelhos e ratos treinados, comparada com os não-treinados. Essa menor redução do fluxo sanguíneo renal e esplânico nos animais treinados pode ser atribuída a uma menor atividade simpática em uma mesma intensidade absoluta de exercício. De Moraes *et al.* (2004) verificaram que o treinamento aeróbio de intensidade moderada alterou a reatividade vascular em rins de coelhos, potencializando a vasodilatação renal dependente e independente do endotélio.

Com o intuito de contribuir com o esclarecimento das modificações causadas pelo treinamento físico no sistema renal, o nosso grupo de pesquisa (Laboratório de Fisiologia Renal “Fernando Alzamora”, Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB/UFMG) iniciou, em 2008, inúmeras investigações que culminaram em achados interessantes. Experimentos realizados por Ribeiro (2009) estabeleceram e aprimoraram métodos que foram essenciais na instalação desta linha de pesquisa em nosso laboratório. Desta forma, o trabalho inicial teve como perspectiva investigar as possíveis adaptações causadas pelo exercício físico crônico de intensidade moderada na função renal de ratos normais em duas situações distintas: em repouso e sob efeito de exercício agudo. Resultados desta investigação mostraram que o treinamento aeróbio crônico aumentou a filtração glomerular de animais treinados em repouso, como já descrito, e sugeriu que esta alteração pode, em parte, ser atribuída à vasopressina. Foi verificado, no mesmo estudo, que também ocorre maior reabsorção de Na⁺ no grupo submetido ao exercício crônico e que este aumento, provavelmente, não é devido a aldosterona, ao passo que a reabsorção aumentada de água está associada à vasopressina. No entanto, houve reabsorção mais acentuada de K⁺, mas esta alteração pareceu não ocorrer via inibição

da aldosterona. É importante salientar que a magnitude destas mudanças depende da intensidade, tipo e duração da atividade física realizada.

Infelizmente, apesar de o exercício regular ser considerado importante na manutenção da saúde e prevenção de doenças crônicas, tornando-se um método cada vez mais aceito como intervenção valiosa em muitas condições a longo prazo, o papel do exercício físico na doença renal tem sido pouco abordado. Como consequência, o aconselhamento de programas de reabilitação utilizando o exercício como estratégia terapêutica para pacientes renais, fica bem atrás da cardiologia e dos serviços pulmonares. Pesquisas indicam que esta atividade pode ter um impacto positivo sobre muitos dos problemas de saúde associados com o declínio da função renal e transplante dos rins (Heiwe & Jacobson, 2011). A investigação sobre o exercício para pacientes com DRC está em andamento há várias décadas, mas muitos estudos envolvem amostras de pequenas dimensões e resultados de curto prazo (Smith, 2012; Heiwe & Jacobson, 2011). No entanto, estas investigações demonstram uma série de benefícios claros, especialmente relacionados ao exercício aeróbio. Da mesma forma, estudos que investigam a prática do exercício em pacientes em uso de hemodiálise também mostraram benefícios significativos e sem implicações de segurança aparentes (Smart & Steele, 2011; Kutner *et al.*, 2006;). Apesar de poucos, os trabalhos atuais têm concluído que o exercício aeróbio de intensidade moderada/leve melhora a qualidade de vida e a baixa capacidade funcional de pacientes com doenças renais (Smith & Borton, 2012; Cheema & Singh, 2005; Molsted *et al.*, 2004). Mesmo assim, as adaptações cardiovasculares seguidas de adaptações bioquímicas e metabólicas induzidas pelo treinamento aeróbio são muito mais citadas nos livros de Fisiologia do Exercício (Powers *et al.*, 2000; Mcardle *et al.*, 1998) do que adaptações de outros sistemas como, por exemplo, aquelas que podem ocorrer no sistema renal. É importante destacar também, que são pouquíssimos os trabalhos demonstrando algum efeito preventivo do exercício nos casos de IRA medicamentosa. A grande maioria dos artigos encontrados relaciona esta prática física à injúria renal crônica e também à rabdomiólise (Mustata, 2010; Heyne *et al.*, 2009; Leehey *et al.*, 2009; Mrsić *et al.*, 2008).

Há muitas perguntas a serem respondidas sobre os efeitos do exercício aeróbio sobre os rins. O conhecimento dessa interação servirá para identificar os benefícios do exercício físico sobre a função renal para prescrição de exercícios para indivíduos

normais ou propensos a doenças renais. As adaptações vasculares crônicas causadas pelo exercício podem contribuir na preservação da função renal durante o exercício e podem promover efeitos renoprotetores em doenças onde a função endotelial é comprometida.

1.4 Sistemas angiotensinérgico e cininérgico na função renal

Atualmente, há um consenso de que os produtos ativos formados pela ativação dos sistemas renina-angiotensinas (SRA) e calicreínas-cininas (SCC) podem regular direta ou indiretamente diversos aspectos da função renal.

A ativação do SRA culmina com a liberação de angiotensina II (Ang II), a qual exerce a maioria de seus efeitos pela interação com receptores do tipo AT1. A principal função do SRA é regular o conteúdo do fluido corporal e a pressão sanguínea (Wolf *et al.*, 1996). Entretanto, é importante ressaltar que o SRA é complexo por ser composto por diversos outros peptídeos dotados de atividade biológica, entre os quais incluem a Ang (1-7), Ang (1-9), Ang (2-8), também chamada Ang III, e Ang (3-8). Todos estes peptídeos têm como alvo o sistema renal. Além disso, o próprio rim apresenta, intrinsecamente, um SRA capaz de produzir peptídeos bioativos que são eficientes na ativação dos seus receptores específicos de uma forma autócrina ou parácrina (Chappell *et al.*, 2014; Ellis *et al.*, 2014; Chappell, 2012; Navar *et al.*, 2011). O SRA, considerando o organismo como um todo ou apenas o rim, é constituído pelo eixo vasoconstritor ECA/Ang II/receptor AT1 e pelo eixo vasodilatador ECA2/Ang (1-7)/receptor MAS (Navar *et al.*, 2011; Shaltout *et al.*, 2007). Estas duas vias apresentam efeitos antagônicos. Por exemplo, após ativação do receptor AT1 pela Ang II, pode haver uma melhoria dos mecanismos de transporte para tornar mais eficaz a reabsorção do íon Na⁺. O contrário acontece quando a via Ang (1-7)/receptor MAS é ativada; nesta condição, percebe-se uma acentuação dos efeitos natriuréticos e diuréticos com maior liberação de óxido nítrico e atenuação do estresse oxidativo (Chappell *et al.*, 2014; Chappell, 2012; Navar *et al.*, 2011).

A Ang II se caracteriza por regular o conteúdo de fluido corporal e pressão arterial através de alterações na homeostasia de íons e água, além de promover mudanças na filtração glomerular (Navar *et al.*, 2011; McDonough *et al.*, 2010). Este octapeptídeo também estimula a secreção de vasopressina pela glândula pituitária e de aldosterona pelo córtex da glândula adrenal (Rossier *et al.*, 2002). No entanto, é importante ressaltar

que a Ang II, formada pela ativação do SRA, pode produzir efeitos nem sempre benéficos como, por exemplo, induzir fibrose tecidual e atuar como agente pró-inflamatório (Ma *et al.*, 2012). A inibição de componentes deste sistema tornou-se um importante alvo da indústria farmacêutica porque além de controlar a hipertensão, também exibe inúmeros efeitos protetores sobre a função renal e cardiovascular (Feng *et al.*, 2015; Fraga-Silva *et al.*, 2013; Fraga-Silva *et al.*, 2011; Santos *et al.*, 2003).

A ativação do SCC culmina com a liberação das cininas por cininogêneses, como as calicreínas plasmática e tecidual, que hidrolisam os substratos cininogênicos presentes em altas concentrações no plasma, mas também presentes em tecidos como o rim. As cininas mais conhecidas são a bradicinina (BK) e lisilbradicinina (LBK) liberadas, predominantemente, no plasma e tecidos (rim), respectivamente. Como a LBK, a T-cinina, é uma cinina alongada na porção N-terminal mas que foi descrita posteriormente e parece estar associada a processos patológicos como em tumor de ovários em humanos (Wunderer *et al.*, 1986). Esses peptídeos são rapidamente hidrolisados por um grupo de peptidases denominadas cininases (Rhaleb *et al.*, 2011). Atualmente, sabe-se que existem dois subtipos principais de receptores para cinina, chamdos receptores B1 e B2 (Regoli & Barabé, 1989; Regoli & Barabé, 1983). Os receptores B1 estão presentes em baixa densidade (ou não) no tecido normal, mas são superexpressos durante quadros de lesão e inflamação. Seus principais agonistas são a des-Arg⁹-BK e des-Arg¹⁰-LBK. Já os receptores B2 medeiam a maior parte dos efeitos da BK sendo os principais receptores de cininas. As cininas, a exemplo da Ang II, também podem ser hidrolizadas pela ECA que remove o dipeptídeo Phe-Arg de suas porções C terminais. Além da ECA, a cininase I, uma carboxipeptidase N, é uma enzima importante na hidrólise das cininas por remover apenas o aminoácido Arg da porção carboxi-terminal. A Figura 1 mostra a sequência de aminoácidos da BK e LBK com os sítios para as principais enzimas que as hidrolisam pela extremidade C-terminal.

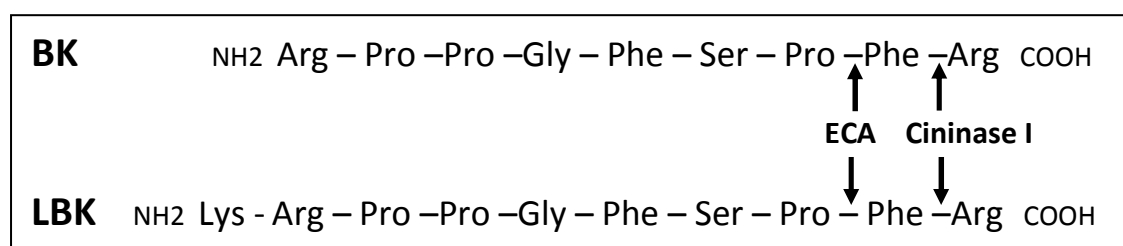


Figura 1. Sequência de aminoácidos da BK e LBK mostrando os sítios de hidrólise das enzimas ECA e cininase I.

A ligação das cininas ao receptor B2, constitutivamente expressos, resulta em efeitos como aumento de Ca^{2+} intracelular, liberação de prostaglandinas, produção de óxido nítrico, de AMP e GMP cíclicos (Regoli *et al.*, 1990). Já os receptores B1 parecem estar predominantemente expressos em situações como trauma, anóxia e estímulos nocivos (Guimarães *et al.*, 1986).

Nos últimos anos, a investigação dos mecanismos pelos quais o exercício físico exerce seus efeitos benéficos tem sido do interesse de um número cada vez maior de pesquisadores. Neste contexto, o envolvimento de sistemas peptídicos tem merecido atenção especial desses investigadores.

Com relação ao SRA, desde meados de 1991, sabe-se que a secreção de renina é estimulada durante a prática física e que a redução do RFG e o aumento da reabsorção tubular de Na^+ podem estimular, via mácula densa, a secreção de renina. (Castenfors, 1967, Castenfors & Piscator 1967). Outros estudos têm demonstrado que até mesmo o genótipo da ECA é afetado por esta prática (Dietze & Henriksen, 2008). Adicionalmente, foi mostrado em outro estudo que o nível plasmático de ECA, em equinos, estava significativamente menor, após 15 semanas de treinamento físico. Embora o mecanismo envolvido neste processo ainda não esteja esclarecido, acredita-se que a adaptação cardiovascular ao exercício e as alterações da pressão arterial podem ser responsáveis por esta regulação (Costa *et al.*, 2011).

Relatos da literatura científica também revelam que inibidores da ECA (IECA) podem melhorar o condicionamento físico e as ações benéficas em resposta ao treinamento. Sabe-se que indivíduos mais jovens portadores do genótipo II do gene da ECA têm valores sorológicos mais baixos desta enzima. Observa-se neste grupo não só um melhor desempenho, como também maior resistência durante o treinamento (Woods *et al.*, 2000). Sumukadas *et al.* (2007) observaram que IECA (perindopril, 2 mg/dia durante 20 semanas) produziu uma melhora significativa na distância de caminhada em idosos com idade média de 79 anos e que não apresentavam insuficiência cardíaca. Da mesma forma, mais recentemente, Buford *et al.* (2012) verificaram que idosos que utilizaram IECA por indicação clínica tiveram uma resposta funcional ao exercício melhor que aqueles que não faziam uso desta substância. No entanto, não há estudos randomizados para examinar o efeito do uso de IECA sobre a função física em seres

humanos durante o treinamento. Análises observacionais têm demonstrado que a utilização dos IECA está associada a um declínio mais lento da massa muscular, força muscular e velocidade de andar, em idosos (Order *et al.*, 2002; Di Bari *et al.*, 2004).

Já com relação ao SCC, muito pouco tem sido investigado sobre sua possível participação nos efeitos do exercício físico. Em um dos trabalhos encontrados na literatura, foi observado que o SCC renal é ativado durante a 1ª semana de exercício físico, em decorrência da estimulação da síntese renal de dopamina (Miura *et al.*, 1994). Este seria um dos mecanismos anti-hipertensivos do exercício físico (Sakai *et al.*, 1998). Em um outro estudo, Moraes *et al.* (2007) investigaram o envolvimento da BK e da des-Arg⁹-BK na hipotensão promovida pelo exercício usando protocolos de treino em bicicleta ergométrica (35 min) ou circuito de musculação, em voluntários normotensos e hipertensos. Uma redução significativa na pressão arterial média foi observada nos dois grupos avaliados, submetidos aos diferentes programas de exercício. Foi constatado também que, antes da prática física, a concentração de BK plasmática e a atividade da caliceína foram maiores nos hipertensos em comparação aos normotensos. A concentração plasmática das cininas BK e des-Arg⁹-BK foi aumentada, nos 2 grupos avaliados no final do período de treinamento, aumento este, que permaneceu até 60 min pós-exercício. Estas observações ratificam que o SCC está envolvido na hipotensão pós-exercício em indivíduos normotensos e hipertensos submetidos à prática física.

Considerando a importância do SRA e do SCC na regulação da homeostasia do organismo, no presente estudo, foi investigado um possível envolvimento dos mesmos nos efeitos do treinamento aeróbio prévio à indução de IRA induzida por GM.

2 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO

- Aumento global da incidência de injúria renal;
- Necessidade de entender melhor a relação exercício físico e sistema renal;
- Raros são os estudos que analisam o potencial preventivo do exercício físico aeróbio no desenvolvimento da injúria renal aguda.

3 OBJETIVO

Investigar um possível efeito preventivo do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada, no desenvolvimento da IRA medicamentosa induzida pela GM.

3.1 Objetivos específicos

- Analisar se o treinamento aeróbio, previamente à indução de IRA, afeta a hemodinâmica renal pós-IRA;
- Investigar se o exercício aeróbio previne os danos renais tubulares observados na IRA induzida pela GM;
- Avaliar se o exercício aeróbio previne os danos morfológicos renais observados na IRA induzida pela GM;
- Investigar o efeito do treinamento aeróbio sobre a expressão renal de componentes do SRA (enzimas ECA e ECA2, receptores AT1 e Mas), em ratos com IRA induzida por GM após o término do treinamento;
- Investigar o efeito do treinamento aeróbio sobre a expressão renal de componentes do SCC (enzimas ECA e receptores B1 e B2 de cininas), em ratos com IRA induzida por GM após o término do treinamento;
- Investigar o efeito do treinamento aeróbio sobre a expressão renal de citocinas anti- (IL-10) e pro-inflamatórias (TNF α e IL-6), em ratos com IRA induzida por GM após o término do treinamento.

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados ratos Wistar, machos, procedentes do Centro de Bioterismo (CEBIO) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, com peso variando entre 250 e 300 g. Desde o nascimento, os animais foram mantidos sob um ciclo de claridade - escuridão sendo, 14 h de claridade e 10 h de escuridão, recebendo água e alimentação *ad libitum*. Todos os procedimentos foram conduzidos de acordo com o Comitê de Ética em Uso de Animal (CEUA) da Universidade Federal de Minas Gerais (Protocolo nº. 59 / 2015).

4.2 Aclimação em esteira de corrida

Inicialmente, na 1ª semana de experimento, os animais foram submetidos à adaptação em esteira rolante (Fig. 2). O intuito deste procedimento foi familiarizar os animais ao ambiente de treino, sala de corrida, esteira e ainda permitir que os mesmos “aprendessem” a correr no equipamento utilizado (Gaustec, Belo Horizonte\MG). Nesta etapa, a velocidade de corrida utilizada foi de 5 m/min, com duração de 5 min\dia, por 5 dias.



Figura 2. Fotografia da esteira rolante utilizada no treinamento (corrida) dos ratos.

4.3 Treinamento aeróbio de intensidade moderada

Todos os ratos foram submetidos ao TEMP antes do início do processo de treinamento físico. O objetivo do TEMP foi caracterizar a capacidade física de cada rato medindo-se parâmetros de desempenho no teste de esforço. Os grupos utilizados foram grupos controle, que consistiram de ratos não treinados (NT), e grupos experimentais, que consistiram de ratos treinados (T) a uma intensidade moderada, correspondente a 65% da velocidade máxima de corrida ($V_{m\acute{a}x}$) atingida no TEMP.

Os ratos dos grupos T foram treinados em uma esteira motorizada de cinco pistas. O treinamento físico foi realizado em uma sala de experimentação animal do próprio Laboratório de Fisiologia Renal “Prof. Fernando Alzamora” (ICB/UFMG) e, nesse local, houve monitoramento da temperatura ambiente durante todo o período de treinamento.

Os ratos foram submetidos a um protocolo de treinamento de 8 semanas, já descrito na literatura (Priviero *et al.*, 2004). Nesse estudo, a velocidade de corrida corresponde a 1,2 km/h (20 m/min), correspondente a 66,6% do $VO_{2m\acute{a}x}$. A duração das sessões foi de 60 min/dia e frequência de 5 dias/semana. As sessões de treinamento foram sempre realizadas no período vespertino. Os ratos do grupo NT (sedentários) também tiveram acesso à esteira para garantir a mesma manipulação entre os grupos. Durante as 8 semanas de treinamento, os ratos NT foram colocados na esteira por 5 min a 5 m/min, mantendo a mesma frequência semanal de treinamento dos ratos treinados, 5 dias/semana.

O Quadro 1 mostra como foi a progressão das sessões de exercício, em termos de intensidade e duração, até atingir a intensidade desejada de 65% da capacidade máxima de cada rato, respeitando-se o princípio da individualidade do treinamento.

Quadro 1. Progressão do treinamento físico de intensidade moderada. Na primeira semana houve um aumento gradual da velocidade e duração das sessões de exercício até atingir a velocidade de corrida desejada (65% V_{máx} atingida no TEMP). Frequência: 5 dias/semana. Adaptado de Priviero *et al.* (2004).

Progressão do treinamento	
1º Teste de Esforço	Medição da V _{máx} de cada rato; Medição de outros parâmetros de desempenho do TEMP: TTE e DTP
1ª SEMANA	Intensidade: 28% V _{máx} Duração: 30 – 40 min diários
2ª SEMANA	Intensidade: 44% V _{máx} Duração: 45 min
3ª SEMANA	Intensidade: 65% V _{máx} Duração: 50 min
4ª SEMANA	60 min a 65% V _{máx}
2º Teste de Esforço	Medição da V _{máx} de cada rato novamente; Medição de outros parâmetros de desempenho do TEMP: TTE e DTP
5ª a 8ª SEMANA	60 min a 65% da V _{máx} corrigida pelo 2º TEMP (realizado após a 4ª semana).
3º Teste de Esforço	Medição da V _{máx} de cada rato novamente; Medição de outros parâmetros de desempenho do TEMP: TTE e DTP

4.4 Coleta de sangue via veia da cauda

A coleta de sangue dos animais foi feita via uma veia da cauda e foi realizada no último dia de aclimatação nas gaiolas metabólicas, ou seja, antes do período de indução da IRA. O método empregado foi descrito no protocolo aprovado pelo CEUA /UFMG e ocorreu da forma menos estressante e dolorosa possível, a fim de não afetar o resultado do estudo. As amostras de sangue (~1 ml) foram coletadas utilizando-se cateter intravenoso estéril (18 G, 1,3mm X 32mm). Além dos cateteres foi necessário a utilização de luvas, algodão, tubos tipo *ependorff*, câmara para aquecimento do animal e contensor para rato.

Inicialmente, recomenda-se higienizar a superfície onde será inserido o cateter, 30 min antes do procedimento. Logo após, o animal é mantido confortavelmente em câmara aquecida, com regulação térmica em torno de 27 a 32 °C, por 5 min. Se a veia não é visível, a cauda é mergulhada em água morna (40 °C). Em seguida, apenas o bisel de um cateter 18G/23G é inserido no vaso sanguíneo, formando um ângulo de 90° com a superfície da pele. Lentamente, a agulha do cateter deve ser pressionada até que a

mesma forme um ângulo de 45° com a cauda do animal. Ao penetrar no vaso é possível sentir o cateter movimentando livremente no seu interior. O sangue então é recolhido através de um tubo capilar. A cauda não deve ser friccionada a partir da base para a ponta, uma vez que este procedimento pode resultar em leucocitose (Parasuraman, 2010).

Terminada a coleta de sangue, a área lesionada deve ser pressionada com algodão embebido em solução salina com o intuito de cessar o sangramento. Cateteres não devem ser reutilizados para evitar infecção cruzada.

4.5 Aclimação às gaiolas metabólicas

No final do período de utilização da esteira motorizada, 8ª semana do protocolo de treinamento estabelecido, todos os animais foram transferidos de caixas coletivas para gaiolas metabólicas individuais (Fig. 3). Esta etapa foi primordial para adaptação dos animais ao ambiente isolado onde, posteriormente, foram submetidos ao processo de indução da IRA medicamentosa. O período de aclimação às gaiolas metabólicas foi de 3 dias sem interrupção do protocolo de treinamento. A utilização dessas gaiolas é importante devido à possibilidade de monitorar a ingestão de água e ração, volume urinário e produção de fezes. Os ratos permaneceram nestas gaiolas desde a adaptação até o dia da eutanásia (8 dias no total).



Figura 3. Fotografia de gaiolas metabólicas individuais (esquerda). À direita, figura esquemática de uma gaiola mostrando os seus componentes.

4.6 Indução de IRA por gentamicina

Após o período de treinamento, os ratos foram divididos em 4 grupos: não treinados salina (NT-SAL), não treinados GM (NT-GM), treinados salina (T-SAL) e treinados GM (T-GM). A Figura 4 e o Quadro 2 resumiram os grupos e procedimentos utilizados. Para a indução da IRA, os ratos já aclimatados às gaiolas metabólicas (3 dias) foram tratados com GM (grupos NT-GM e T-GM) ou NaCl 0,9% (grupos NT-SAL e T-SAL), por 5 dias. Os ratos dos grupos NT-SAL e T-SAL receberam, por via subcutânea, NaCl 0,9% (0,1 ml/100g de peso corporal, 2 vezes/dia), por 5 dias. Já os ratos dos grupos NT-GM e T-GM receberam, também por via subcutânea, GM (Gentatec, 80 mg/kg/dia, 0,1 ml/100 g da solução 40 mg/ml, 2 vezes/dia, às 8:00 e 16:00 h), por 5 dias.

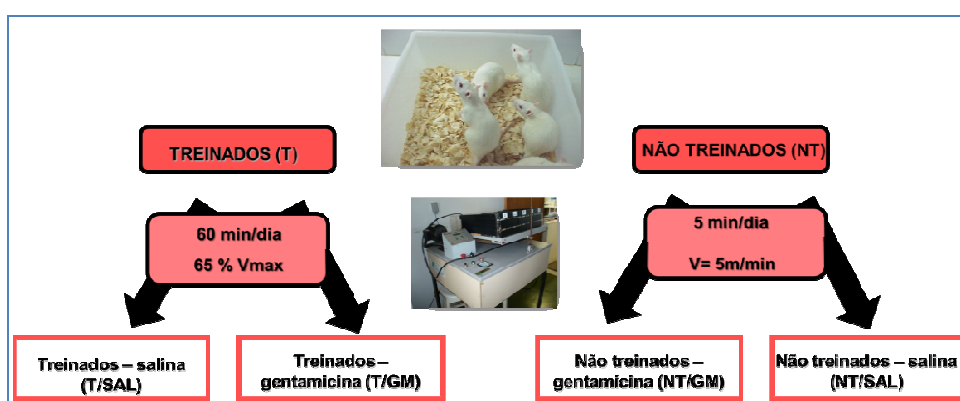


Figura 4. Sumário dos grupos e procedimentos experimentais usados no treinamento.

Quadro 2. Sumário do esquema de treinamento e de indução da IRA nos 4 grupos experimentais utilizados.

EFEITO PREVENTIVO DO TREINAMENTO NA IRA INDUZIDA POR GENTAMICINA		
Grupos	Antes da indução da IRA	Indução da IRA
NT-SAL (n = 7)	Falso treinamento (8 semanas)	NaCl 0,9%, s.c., bid, 5 dias
NT-GM (n = 7)	Falso treinamento (8 semanas)	Gentamicina, s.c., bid, 5 dias
T-SAL (n = 7)	Treinamento (8 semanas)	NaCl 0,9%, s.c, bid, 5 dias
T-GM (n = 7)	Treinamento (8 semanas)	Gentamicina, s.c., bid, 5 dias

s.c., via subcutânea; bid, 2 vezes/dia.

Finalmente, a Figura 5 resume, sequencialmente, todos os procedimentos utilizados, desde a aclimação à esteira até o sacrifício dos animais.



Figura 5. Esquema cronológico de todos os procedimentos executados.

4.7 Parâmetros gerais avaliados

A pressão arterial e a frequência cardíaca foram aferidas, por pletismografia, antes do período de treino e ao final da 4ª e 8ª semanas de treinamento. O volume de urina, a ingestão de água e o peso dos animais foram medidos diariamente durante o período de aclimação às gaiolas metabólicas e indução da IRA. Para análises posteriores, uma alíquota de urina (~ 1 ml) foi coletada em tubos de microcentrífuga (tipo *ependorf*) e armazenada a -20 °C. Uma alíquota de sangue (~1 ml) também foi coletada de uma das veias da cauda antes e após o período de indução da IRA. O plasma foi separado por centrifugação a 1500 rpm, por 10 min e armazenado a -20 °C até o momento das dosagens para avaliação de parâmetros de função renal (creatinina, osmolalidade, Na⁺, K⁺, etc). Ao término do experimento, final dos 5 dias de indução da IRA, os animais foram sacrificados e os rins isolados para análise morfológica. Uma porção do músculo sóleo também foi coletada para determinação da atividade da enzima CS.

A aferição das pressões arteriais sistólica, diastólica e média e frequência cardíaca foi feita 3 vezes durante o período experimental e ocorria sempre no período vespertino sendo que os animais, no dia da aferição, não eram submetidos à esteira. As medidas, nos 4 grupos experimentais, foi feita em um sistema não invasivo, a pletismografia de cauda (Kent Scientific, CODA- Torrington, CT, EUA) (Fig. 6). Os animais permaneciam

acordados, em repouso, em ambiente livre de ruído e mantidos sob restrição de movimento em uma câmara cilíndrica de acrílico. Para que as medidas fossem realizadas os ratos foram colocados sobre placa de aquecimento (Fernandes *et al.*, 2012).

Este sistema utiliza um manguito que é adaptado à região proximal da cauda, que fica conectado ao pletismógrafo para insuflar e desinsuflar gradualmente o manguito. Em uma porção mais distal da cauda é acoplado um transdutor de pulso pneumático para detecção dos sinais de passagem da onda de pulso de pressão arterial na artéria caudal e registrado em um sistema acoplado a um programa de computador.

Em cada animal, por aferência, foram obtidos no mínimo 5 medidas de pressão arterial e frequência cardíaca. A média destes valores foi calculada posteriormente para determinação do valor final destes parâmetros. É importante ressaltar que para evitar interferências na obtenção destes valores, os ratos passaram por aclimação ao pletismógrafo que consistia em submissão dos mesmos à câmara acrílica, manipulação do manguito na cauda e aquecimento da placa, por 3 min/dia, durante os 3 dias que antecediam à aferição de pressão arterial e frequência cardíaca reais do experimento.



Figura 6. Imagem de um pletismógrafo (modelo V2.1, Insight).

4.8 Procedimentos analíticos para avaliação da função renal

4.8.1 Dosagem de creatinina

O RFG foi estimado através do *clearance* de creatinina, a qual é dosada utilizando o kit Bioclin (Quibasa), conforme instruções do fornecedor. As amostras de urina diluídas

(1:25) e plasma reagem em meio alcalino com o ácido pícrico formando um complexo creatinina-picrato de cor amarelo-avermelhada. A absorbância deste complexo foi lida em espectrofotômetro (Barnstead/Turner SP-830 plus) (Fig. 7) a um comprimento de onda de 510 nm. Como o ácido pícrico também reage com os cromogênios plasmáticos, ácido acético foi adicionado nas amostras de plasma, reduzindo o pH do meio e promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogênios. A amostra de plasma foi novamente lida a 510 nm no espectrofotômetro e a diferença entre as duas leituras das amostras de plasma forneceu o valor final da absorbância da creatinina plasmática. A absorbância da creatinina urinária foi corrigida pela diluição da urina (1:25).

As concentrações de creatinina no plasma e urina foram determinadas multiplicando-se os valores das absorbâncias pelo fator de calibração. Esse foi calculado a partir da curva padrão de creatinina feita com o reagente padrão do Kit (creatinina 3mg/dl). Os pontos utilizados na curva foram: 0,375, 0,75, 1,5 e 3 mg/dl. O RFG foi determinado por meio da seguinte equação:

$$RFG (ml/min) = ([Creatinina]_{urina} \times Fluxo\ urinário) / [Creatinina]_{plasma}$$



Figura 7. Imagem de um espectrofotômetro (modelo SP- 220, Biospectro).

4.8.2 Dosagem de sódio e potássio

As concentrações de Na⁺ e K⁺, nas amostras de urina e plasma, foram determinadas por fotometria de chama (CELM, FC 280) (Fig. 8), que mede a intensidade

da radiação emitida pelos átomos excitados dos metais-terrosos que é proporcional à concentração desses metais na amostra. Utilizou-se padrão contendo 140 mEq/l de Na^+ e 5 mEq/l de K^+ , diluído em água destilada (1:200).

Para a determinação do Na^+ e K^+ , todas as amostras também foram diluídas 200 vezes em água destilada. Para isso, alíquotas de 15 μl da amostra foram diluídas para 3 ml em água destilada sendo, a dosagem em cada amostra, feita em duplicata contra o padrão apropriado (140 mEq/l de Na^+ e 5 mEq/l de K^+). Especificamente para o K^+ na urina, foi preparada uma diluição prévia da mesma, na proporção de 1:30 (em água destilada), antes de se preparar a diluição de 1:200.



Figura 8. Imagem de um fotômetro de chama (modelo FC- 280, CELM).

4.8.3 Determinação das osmolalidades plasmática e urinária

A determinação das osmolalidades plasmática e urinária foi realizada utilizando o osmômetro de ponto de congelamento (Microsmette, Advanced Instruments USA) (Fig. 9). As amostras de plasma foram diluídas 1:2 e as amostras de urina diluídas 1:5 em água destilada. Previamente à leitura das amostras, o osmômetro foi calibrado com soluções padrões cujas concentrações são 100, 290 e 500 mOsm/kg.



Figura 9. Imagem de um osmômetro (modelo 3320, *Advanced Instruments*).

4.8.4 Cálculo de outros parâmetros renais

Conhecendo-se os valores de *clearance* de creatinina, fluxo urinário, concentração de Na^+ e K^+ no plasma e urina, bem como as osmolalidades plasmática e urinária, outros parâmetros renais foram determinados conforme a seguir:

- **Balço hídrico:** $\text{BH} (\%) = \text{FU} / \text{H}_2\text{O ingerida} \times 100$
- **Fração de excreção de água:** $\text{FEH}_2\text{O} (\%) = \text{FU} / \text{RFG} \times 100$
- **Fração de excreção de Na^+ :** $\text{FENa}^+ (\%) = \text{QENa}^+ / \text{QFNa}^+ \times 100$
- **Fração de excreção de K^+ :** $\text{FEK}^+ (\%) = \text{QEK}^+ / \text{QFK}^+ \times 100$
- **Clearance de água livre:** $\text{CH}_2\text{O} (\text{Litros}/24\text{h}) = \text{FU} - \text{Cosm}$
- **Clearance osmolar:** $\text{Cosm} (\text{Litros}/24\text{h}) = \text{Osmolalidade}_{\text{urina}} \times \text{FU} / \text{Osmolalidade}_{\text{plasma}}$

Sendo:

- **Quantidade excretada de Na^+ :** $\text{QENa}^+ = [\text{Na}^+]_{\text{urina}} \times \text{FU}$
- **Quantidade excretada de K^+ :** $\text{QEK}^+ = [\text{K}^+]_{\text{urina}} \times \text{FU}$
- **Quantidade filtrada de Na^+ :** $\text{QFNa}^+ = [\text{Na}^+]_{\text{plasma}} \times \text{RFG}$
- **Quantidade filtrada de K^+ :** $\text{QFK}^+ = [\text{K}^+]_{\text{plasma}} \times \text{RFG}$

4.8.5 Proteinúria

Esta dosagem foi feita utilizando-se o kit comercial SensiProt (Labtest®, Lagoa Santa, MG, Brasil) de acordo com as instruções do fornecedor. A reação se dá entre o vermelho de pirogalol e o molibdato de sódio que, quando combinado com a proteína presente na amostra, em meio ácido, desenvolve um cromóforo de cor azul. A absorvância da cor formada foi lida, em espectrofotômetro, a 600 nm, sendo proporcional à concentração proteica presente na amostra.

Os valores foram calculados com base no fator de calibração e a concentração da proteína foi expressa em mg/dl, sendo:

Fator de calibração= concentração do padrão/absorvância do padrão

Concentração urinária de proteínas (mg/dl)= absorvância da amostra x fator de calibração

Quantidade de proteínas na urina (mg/24 h)= Concentração urinária de proteínas x FU.

4.8.6 Determinação da gama GT urinária

A enzima gama GT está presente no citoplasma de células que apresentam intensa atividade secretora e função de absorção tais como as células epiteliais dos túbulos proximais renais. Sendo assim, a gama GT pode ser quantificada na urina e apresenta-se elevada quando em presença de necrose de células dos túbulos proximais (Veado, 2007). O ensaio da gama GT foi feito utilizando um kit da Synermed de acordo com as instruções do fornecedor. A gama GT catalisa a transferência do grupamento glutamil da L-glutamil-3-carboxi-4-nitroanilida para a glicilglicina, formando a L- γ -glutamilglicilglicina e p-nitroanilina, de acordo com a reação seguinte:

L- γ -Glutamil-3-Carboxi-4-Nitroanilida + Glicilglicina \longrightarrow Glicilglicina+ P-nitroanilina

A p-Nitroanilina liberada é diazotada através da reação de Bratton-Marshall modificada:

P-Nitroanilina + NaNO₂ $\xrightarrow{\text{meio ácido}}$ Composto diazo

Composto diazo + N - (1-Naftil)-Etilenodiamina \longrightarrow Composto final de cor rósea

A quantidade formada de p-nitroanilina é diretamente proporcional à quantidade de gama GT na amostra. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 530 nm ou filtro verde. Os resultados foram expressos em mU/24 h.

4.9 Avaliação da atividade da enzima citrato sintase

Os músculos sóleos (0,5 g de tecido/ml de tampão) foram extraídos tanto dos animais treinados, quanto dos não treinados. Para a determinação da atividade da citrato sintase, os mesmos foram homogeneizados em PBS 10 mM (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM, KH_2PO_4 0,9 mM, Na_2HPO_4 6,4 mM, pH 7,4) contendo 0,1 % de Triton X -100 e um coquetel de inibidores de protease sem EDTA (Roche ®). O coquetel foi usado na proporção de um mini-comprimido para cada 10 ml de tampão usado no preparo do homogenato. O homogeneizado foi centrifugado por 15 min a 10000 rpm em centrífuga refrigerada a 4 °C e o sobrenadante foi, então, armazenado em freezer a - 80 °C até o momento da dosagem enzimática (Alp *et al.*, 1976).

A enzima CS é considerada um indicador de adaptação ao exercício físico uma vez que é utilizada como um marcador da capacidade aeróbica do tecido avaliado. Sua atividade foi determinada segundo o método descrito por Alp *et al.* (1976) com algumas pequenas modificações, a partir da quantificação do complexo amarelo formado entre a coenzima A (CoA) liberada na reação com o ácido ditionitrobenzóico (DTNB) presente no tampão de ensaio.

Suscintamente, o ensaio consistiu na utilização de um tampão contendo 50 mM Tris-HCl, EDTA 5 mM, 0,05% de Triton X-100, 30 mM de acetil-CoA, 10 mM de DTNB, pH 8,1, ao qual foi adicionado 5 µl do homogeneizado para incubação e transferido para placas de 96 poços. A reação foi iniciada pela adição de 10 µl de oxaloacetato 10 mM ao meio de ensaio e a cinética da reação realizou-se a 25 °C em um intervalo de 10 min. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a um comprimento de onda de 412 nm. Os resultados foram expressos em µmol/ml/min/mg de tecido muscular (Alp *et al.*, 1976).

4.10 Análise morfológica renal

O rim direito de todos os animais foi coletado, colocado em solução de formol tamponado a 10% e submetido à análise histológica. Técnicas convencionais de coloração – hematoxilina-eosina – foram usadas na preparação das lâminas. Os cortes dos blocos foram não seriados com a intenção de visualizar néfrons diferentes. As fotos foram capturadas no aumento de 40 vezes. Esta análise morfológica foi realizada no Departamento de Patologia ICB/UFMG.

4.11 Conteúdo renal de RNA

4.11.1 Extração de RNA e análise da expressão gênica

Para a extração de RNA total utilizou-se o reagente Trizol® (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA-USA) seguindo o protocolo do fabricante. O RNA total foi quantificado em NanoVue Plus Spectrophotometer (GE Healthcare, Piscataway, NJ, USA), utilizando-se 2 µl de cada amostra. Todas as amostras de RNA total foram tratadas com DNase (TURBO DNA-free kit, Ambion Inc., Foster, California, USA), e requantificadas. A reação de transcrição reversa (RT) foi feita a partir de 733 ng de RNA total em 20,4 µl de volume final de reação, utilizando-se oligonucleotídeos iniciadores específicos, *primers* (Quadro 3) para RT dos transcritos alvos.

O RNA total foi inicialmente desnaturado a 70 °C por 10 min juntamente com os iniciadores reversos (10 pmoles cada). Em seguida, foram incubados com MMLV Reverse Transcriptase em tampão (KCl 50 mM, Tris-HCl 20 mM, pH 8,4), 2 µl de dNTP mix (10 mM de cada) e água livre de RNase para completar o volume final. A reação foi incubada a 45 °C por 1 h, finalizada a 4 °C e utilizada imediatamente para a PCR. Todos os reagentes foram provenientes da Invitrogen™ (Life Technologies, Carlsbad, CA-USA).

As amostras de cDNA resultantes da RT foram submetidas à reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real realizada no equipamento de Sistema de PCR em tempo real ViiA™ 7 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, USA), utilizando-se SYBR Green PCR Master Mix Kit (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA).

As amostras foram aplicadas em placas de 384 poços (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA), em triplicata, em um volume final de reação de 10 µl.

Em cada poço foi pipetado 0,8 µl de amostra, e adicionados posteriormente 9,8 µl do Mix contendo 15 µl do SYBR Green PCR Master Mix Kit, 0,06 µl de cada iniciador (senso e anti-senso – Quadro 3) (10 pmoles) e 4,08 µl de água estéril filtrada. A placa foi selada com adesivo óptico (ABI PRISM® Optical Adhesive Covers, Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA, USA).

As reações de PCR em tempo real ocorreram no seguinte ciclo termal: [estágio 1] um ciclo de 52 °C/2 min; [estágio 2] um ciclo a 95 °C/10 min; [estágio 3] 40 ciclos de 95 °C/0,15 min e 50 °C/1 min. Ao término da ciclagem foi realizada a curva de *melting* a 60 °C por 1 minuto, para a construção da curva de dissociação, que tem por objetivo determinar a especificidade dos fragmentos amplificados.

Quadro 3. Oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) utilizados na síntese e amplificação do cDNA.

Oligonucleotídeo	Senso	Anti-senso
ECA	5'CTCTGCTAAGCAACATGAGC3'	5'TGTTGGTGAGCTCTGGGTC3'
ECA2	5'CAAAGTTCACTTGCTTCTTGG3'	5'TCATAAAAGGCAGACCATTGG3'
MAS	5'CCGAGAGGAGAGATGCTCATG3'	5'CCCACCCATTCCCATAGTGC3'
AT1	5'ATGGCTGGCATTGCTCTGG3'	5'GTTGAGTTGGTCTCAGACAC3'
B1	5'AACATCGGGAACCGTTTCAAC3'	5'CACCCGGCAGAGGTCAGTT3
B2	5'TTCCGAAAGAAGTCCCGAGA3'	5'GCCTCCCTTCCGGCATATT3'
S26	5'CGTGCTTCCCAAGCTCTATGT3'	5'CGATTCCTGACAACCTTGCTATG3.

4.12 Análise Estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média ($X \pm EPM$). Para a comparação dos 4 grupos, os dados foram analisados por *One-way* ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls. Quando apropriado, também foi utilizado o teste t para amostras não pareadas. As análises estatísticas foram feitas usando os programas GraphPad Prism, versão 5 para Windows (GraphPad Software, San Diego, CA).

5 Resultados

A seguir, serão apresentados os resultados obtidos na investigação do efeito do exercício aeróbio de intensidade moderada sobre a função renal de ratos, posteriormente submetidos à injúria renal aguda medicamentosa, induzida pela gentamicina.

5.1 Caracterização e eficácia do protocolo de treinamento físico de intensidade moderada

5.1.1 Teste de esforço máximo progressivo

No presente trabalho, foi utilizado um protocolo de treinamento aeróbio de intensidade moderada que consistia em corrida em esteira motorizada. Para avaliar a eficácia do treinamento foram realizados 2 TEMP sendo, o primeiro, antes do início e o segundo, imediatamente após o término do período de treinamento (fim da 8ª semana) e antes do início da indução de IRA. A Figura 10 mostra que o protocolo utilizado foi eficaz, uma vez que houve aumento do tempo total de exercício (Fig. 10A), da distância percorrida (Fig. 10B) e da velocidade máxima de corrida (Fig. 10C).

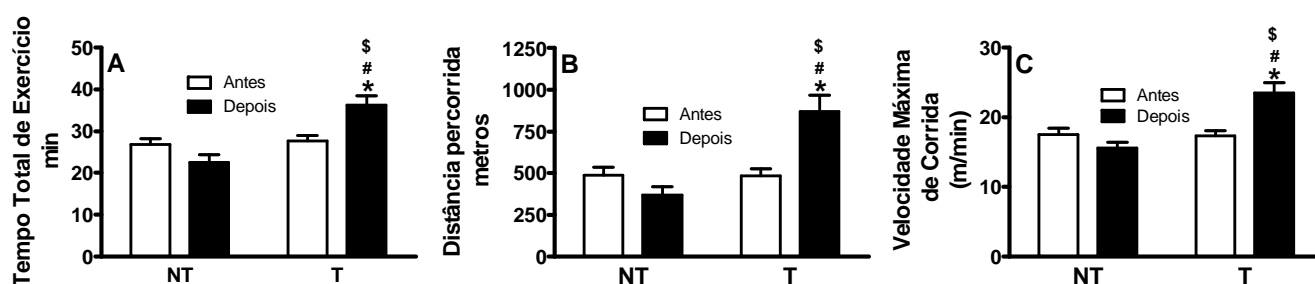


Figura 10. Tempo total de exercício (A), distância percorrida (B) e velocidade máxima de corrida (C) em ratos submetidos a um protocolo de treinamento (corrida) por 8 semanas. NT, grupo não treinado (n = 13); T, grupo treinado (n = 15). Esses parâmetros foram avaliados pela realização de 2 TEMP sendo, o 1º TEMP, realizado antes do início do treinamento (Antes, nos gráficos) e o 2º TEMP realizado ao término do treinamento (Depois, nos gráficos). One-way ANOVA seguida de pós-teste de Newmann-Keuls: *p < 0,05, TAntes vs TDepois; #p < 0,05, NTDepois vs TDepois; \$p < 0,05, NTAntes vs TDepois.

O TTE, distância percorrida e a velocidade máxima alcançada no grupo T foram elevados de $27,7 \pm 1,3$, $481,4 \pm 43,7$ e $17,4 \pm 0,7$ (antes do início do treinamento, 1º TEMP) para $36,2 \pm 2,2$ min, $869,5 \pm 98,1$ metros e $23,5 \pm 1,5$ metros/min, respectivamente. Com relação ao grupo NT, observa-se que não houve alterações significativas no TTE, distância percorrida e velocidade máxima medidas antes e após o período de treinamento (Figs. 10A, 10B e 10C).

5.1.2 Atividade da enzima citrato sintase

Em concordância com o observado para os parâmetros obtidos no TEMP, a Figura 11 mostra que o protocolo de treinamento utilizado foi eficaz visto que houve aumento da atividade da enzima citrato sintase do músculo sóleo nos ratos dos grupos T (T-SAL e T-GM). O aumento de atividade dessa enzima não foi afetada pela administração do agente indutor de IRA, a GM (T-GM). Nos grupos T-SAL e T-GM, a atividade da citrato sintase foi de $16,02 \pm 8,70$ e $16,33 \pm 6,20$ $\mu\text{mol/mL/min/mg}$, respectivamente vs (em $\mu\text{mol/mL/min/mg}$: NT-SAL, $2,22 \pm 0,79$; NT-GM, $5,93 \pm 1,71$).

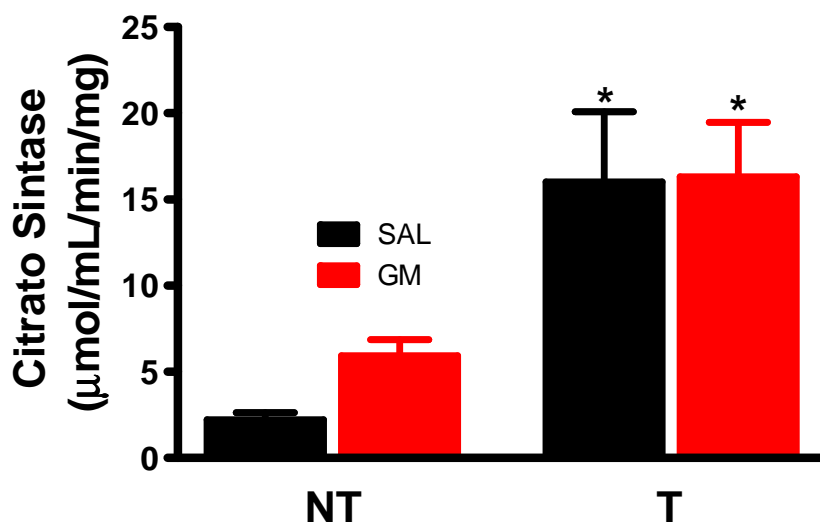


Figura 11. Efeito do treinamento físico sobre a atividade da enzima citrato sintase em ratos com IRA induzida pela GM. A atividade da citrato sintase foi determinada no músculo sóleo de ratos dos grupos T e NT após indução da IRA. NT-SAL (n = 6); NT-GM (n = 7); T-SAL (n = 6); T-GM (n = 7). One-way ANOVA seguida de pós-teste de Newman-Keuls: *p < 0,05 (T-SAL vs NT-SAL e T-GM vs NT-SAL).

5.2 Parâmetros cardiovasculares: Pressão arterial e frequência cardíaca

Pela Figura 12A pode-se observar que o exercício aeróbio de intensidade moderada não alterou a pressão arterial média nos grupos T e NT, quando comparados antes do início do treinamento e imediatamente após o seu término. Importante, no entanto, foi a redução da frequência cardíaca (Fig. 12B) observada ao final do treinamento. Esse parâmetro, no grupo T, foi reduzido de $398,4 \pm 12,6$ (antes do treinamento), para $357,0 \pm 6,0$ BPM ao final das 8 semanas de treinamento. Nenhuma alteração significativa foi observada no grupo NT.

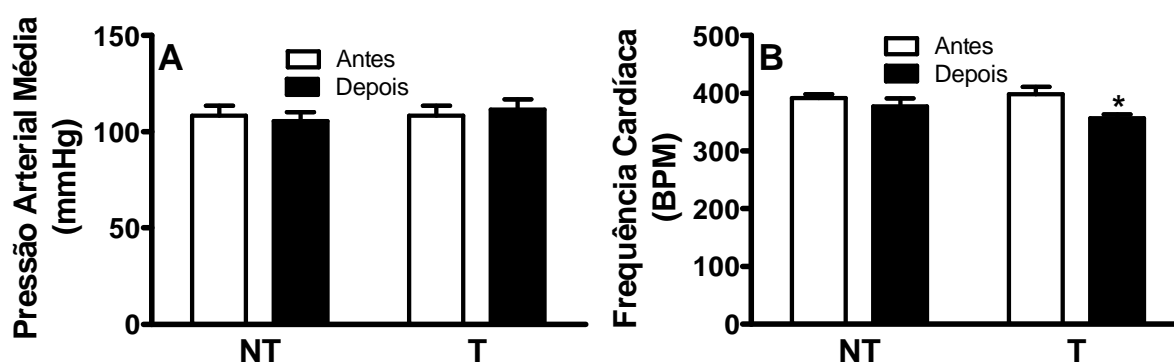


Figura 12. Pressão arterial média (A) e frequência cardíaca (B) em ratos submetidos a um protocolo de treinamento (corrida) por 8 semanas. NT, grupo não treinado ($n = 7$); T, grupo treinado ($n = 7$). Esses parâmetros foram determinados por pletismografia de cauda antes do início do treinamento (Antes, nos gráficos) e ao término do treinamento (Depois, nos gráficos). One-way ANOVA seguida de pós-teste de Newman-Keuls: * $p < 0,05$, TAntes vs TDepois.

5.3 Parâmetros gerais de avaliação

Como pode ser observado pela Figura 13, houve um aumento do peso corporal dos ratos de ambos os grupos (NT e T) ao final do treinamento. O peso corporal nos grupos NT e T foram elevados de $249,7 \pm 17,0$ e $245,7 \pm 9,9$ (antes do treinamento, dia zero) para $398,3 \pm 25,7$ e $363,2 \pm 9,9$ g depois do treinamento (dia 60), respectivamente.

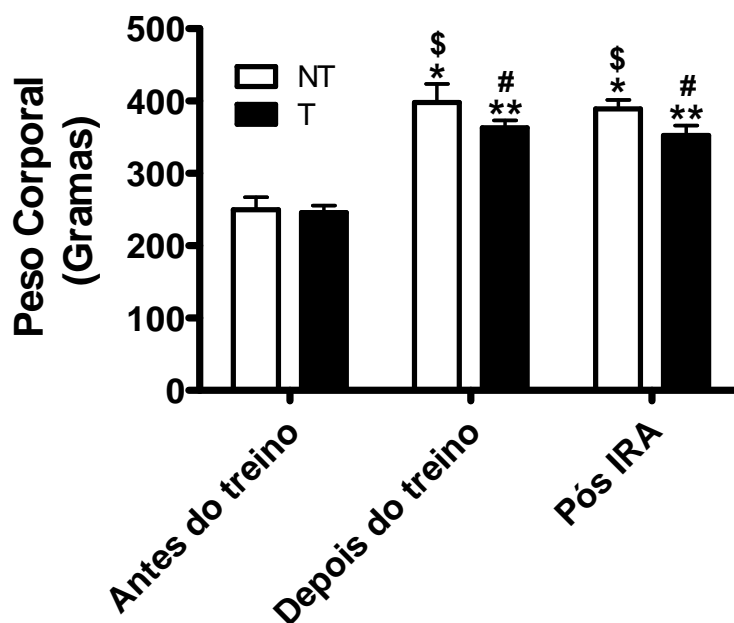


Figura 13. Peso corporal em ratos submetidos a um protocolo de treinamento (corrida) por 8 semanas (60 dias) seguido de indução de IRA (5 dias). NT, grupo não treinado (n = 6); T, grupo treinado (n = 8). O peso foi determinado por gravimetria antes do início e depois do treino, e ao final do período de indução da IRA. Oneway ANOVA seguida de pós-teste de Newmann-Keuls: *p < 0,05, NTDepois ou NTPós IRA vs NTAntes; **p < 0,05, TDepois ou TPós IRA vs TAntes; \$p < 0,05, NTDepois ou NTPós IRA vs TAntes; #p < 0,05, TDepois ou TPós IRA vs TAntes.

A Figura 14 mostra que apesar das alterações na ingestão de água não terem sido significativas (Fig. 14A) entre os grupos sob estudo, houve um aumento do FU (Fig. 14B) em resposta à GM ($21,0 \pm 2,6$ ml/24h no grupo NT-GM vs $12,3 \pm 2,6$ ml/24h no grupo NT-SAL). Esse aumento, não foi significativamente bloqueado no grupo previamente submetido ao treinamento físico (grupo T-GM). A não alteração na ingestão de água associada a um aumento do FU pela GM no grupo NT-GM refletiu em um aumento no balanço hídrico (Fig. 14C) neste mesmo grupo ($82 \pm 12\%$ no grupo NT-GM vs $44 \pm 5\%$ no grupo NT-SAL). O aumento nesse balanço, a exemplo do observado para o FU, também não foi estatisticamente diferente do balanço no grupo previamente submetido ao treinamento físico (grupo T-GM).

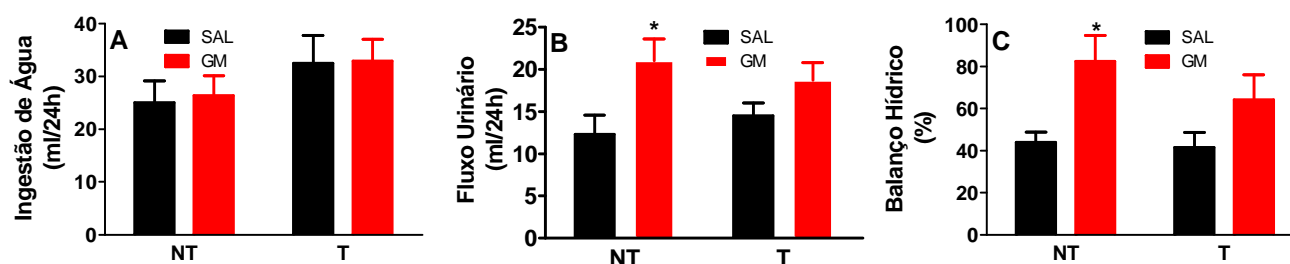


Figura 14. Ingestão de água (A), fluxo urinário (B) e balanço hídrico (C) em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. Os parâmetros foram determinados ao final do período da indução da IRA. NT-SAL (n = 5-6), NT-GM (n = 5-7); T-SAL (n = 4-6); T-GM (n = 7). *One-way ANOVA* com pós-teste de Newman-Keuls: *p < 0,05 (NT-GM vs NT-SAL).

5.4 Parâmetros de função renal

A Figura 15 mostra que a concentração plasmática de creatinina foi significativamente aumentada pela GM no grupo NT (em mg/dl: $2,01 \pm 0,40$ no grupo NT-GM vs $0,41 \pm 0,04$ no grupo NT-SAL). Relevantemente, o treinamento prévio à indução da IRA pela GM, bloqueou parcialmente esse aumento da creatinina (em mg/dl: $0,72 \pm 0,05$ no grupo T-GM vs $2,01 \pm 0,40$ no grupo NT-GM) (Fig. 17). Embora não tenha alcançado significância estatística, o treinamento físico, por si só, promoveu uma redução de cerca de 35% no nível sérico de creatinina (de $0,34 \pm 0,04$ no grupo NT SAL para $0,22 \pm 0,7$ mg/dl no grupo T SAL).

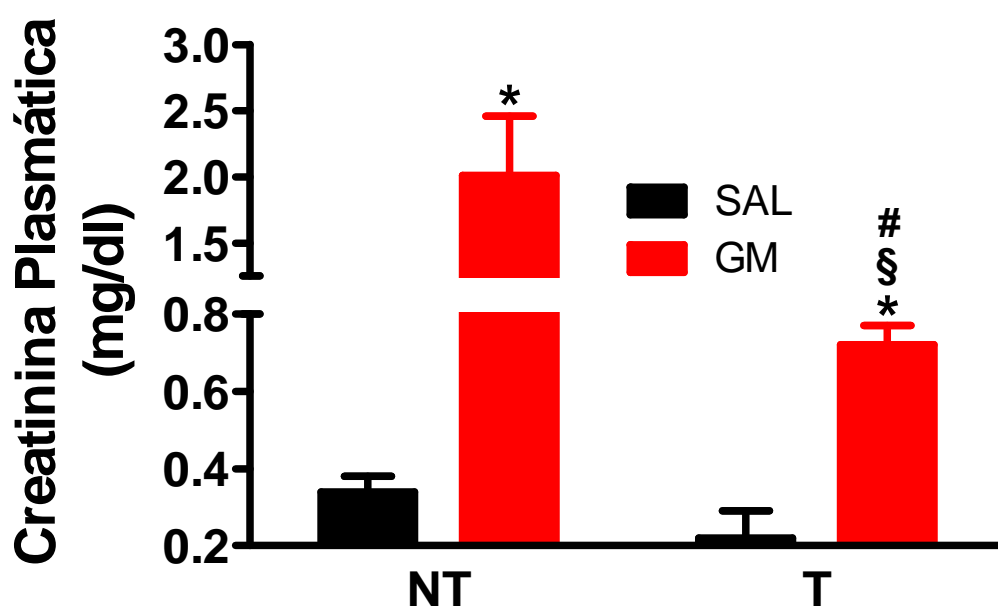


Figura 15. Creatinina plasmática em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. A creatinina foi determinada colorimetricamente em amostras de plasma e urina coletadas ao final do período de indução da IRA. NT-SAL (n = 6); NT-GM (n = 5); T-SAL (n = 6); T-GM (n = 7). *One-way ANOVA* com pós-teste de Newman-Keuls: *p < 0,05 (NT-GM vs NT-SAL e T-GM vs T-SAL), §p < 0,05 (T-GM vs NT-SAL) e # p < 0,05 (T-GM vs NT-GM).

Conforme mostrado na Figura 16, o aumento da concentração plasmática de creatinina no grupo NT-GM (Fig. 15) foi acompanhado por uma redução no RFG (Fig. 16A). O RFG foi reduzido de $1.561,9 \pm 223,7$ (grupo NT-SAL) para $547,0 \pm 224,4$ ml/24h no grupo NT-GM (Fig. 16). Embora o treinamento prévio tenha inibido parcialmente a queda no RFG induzida pela GM, tal inibição não foi estatisticamente diferente (em ml/24h: T-GM, $906,9 \pm 169,0$ vs NT-GM, $547,0 \pm 224,4$). Em termos percentuais, a diminuição no grupo T-GM foi de cerca de 42% contra 65% no grupo NT-GM, em relação ao grupo NT-SAL ($1.561,9 \pm 223,7$ ml/24h). Evento similar ao observado para a creatinina plasmática, o treinamento físico, por si só, promoveu um aumento de aproximadamente de 2,8 vezes no RFG (de $1.561,9 \pm 223,7$ no grupo NT SAL para $4.331,9 \pm 1.601,8$ ml/24h no grupo T SAL). No entanto, tal elevação não foi estatisticamente diferente entre os 2 grupos (Fig. 16A). Já pela Figura 16B pode-se

observar que a GM aumentou de forma significativa o FU. Este aumento foi de $12,3 \pm 2,6$ (grupo NT-SAL) para $21,0 \pm 2,6$ ml/24h no grupo NT-GM. Novamente, o treinamento prévio inibiu suavemente o aumento no FU causado pela GM, mas tal efeito foi desprovido de significância estatística (em ml/24h: T-GM, $18,7 \pm 2,1$ vs NT-GM, $21,0 \pm 2,6$). Percentualmente, o aumento no grupo T-GM foi de cerca de 1,5 vezes contra 1,7 vezes no grupo NT-GM, em comparação ao grupo NT-SAL ($12,3 \pm 2,3$ ml/24h). O treinamento físico, por si só, promoveu um aumento bastante suave, cerca de 1,14 vezes, no FU (de $12,3 \pm 2,3$ no grupo NT SAL para $14,0 \pm 1,0$ ml/24h no grupo T SAL). Este pequeno aumento não foi estatisticamente diferente entre os 2 grupos (Fig. 16B). Quando a fração de excreção de H_2O foi analisada (Fig. 16C), verificou-se que a GM aumentou de forma significativa. Este aumento foi de $0,78 \pm 0,09$ (grupo NT-SAL) para $12,7 \pm 7,3\%$ no grupo NT-GM. O treinamento prévio bloqueou tal elevação, a qual não atingiu significância estatística (em %: T-GM, $2,71 \pm 0,78$ vs NT-GM, $12,7 \pm 7,3$). Em termos percentuais, o aumento no grupo T-GM foi de, aproximadamente, 3,4 vezes contra 16,1 vezes no grupo NT-GM, em comparação ao grupo NT-SAL ($0,79 \pm 0,09\%$) (Fig. 16C). O treinamento físico, por si só, não afetou a fração de excreção de H_2O ($0,79 \pm 0,09$ no grupo NT SAL vs $0,78 \pm 0,32\%$ no grupo T SAL).

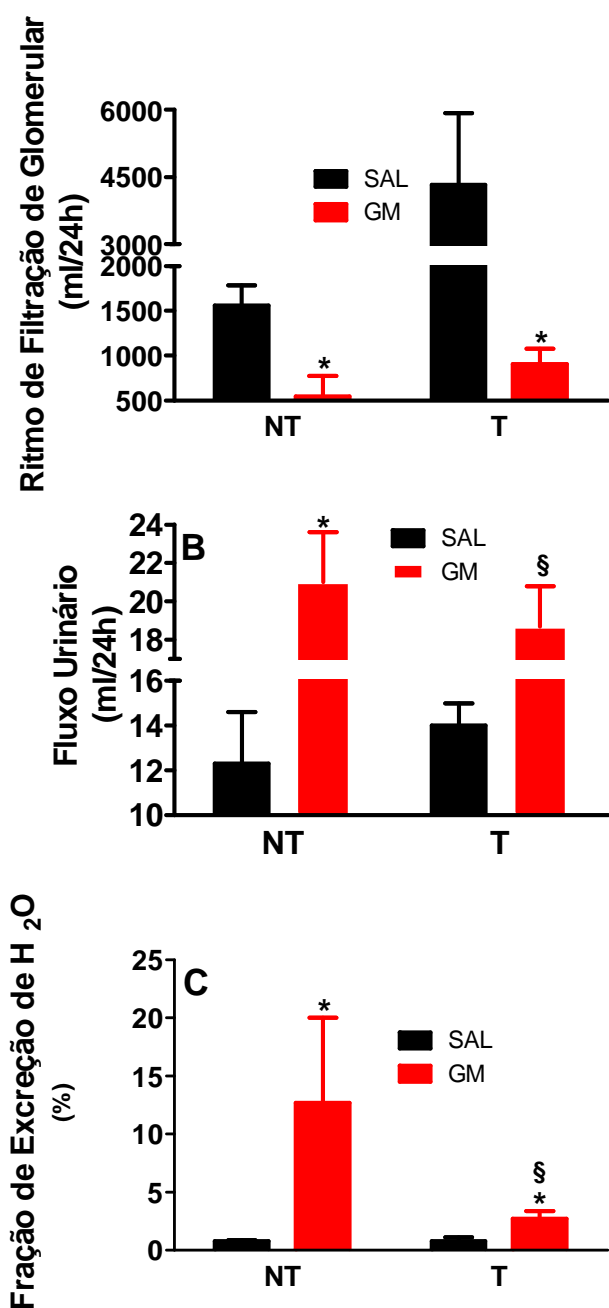


Figura 16. Ritmo de filtração glomerular (A), fluxo urinário (B) e fração de excreção de água (C) em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. Os dados de FU são os mesmos já mostrados na Fig. 14B. A GM foi usada como agente indutor da IRA sendo, os parâmetros determinados ao final do período de indução da mesma. O RFG foi estimado pelo *clearance* da creatinina. NT-SAL (n = 6), NT-GM (n = 5); T-SAL (n = 6); T-GM (n = 7). One-way ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls: *p < 0,05 (NT-GM vs NT-SAL e T-GM vs T-SAL), §p < 0,05 (T-GM vs NT-SAL).

Os resultados obtidos para as frações de excreção de Na^+ e K^+ estão ilustrados na Figura 17. Pode-se observar que, embora tenha havido um aumento da FENa^+ no grupo NT-GM, o mesmo não alcançou significância estatística e o treinamento físico prévio à indução da IRA não interferiu com esta resposta (Fig.17A). O treinamento físico, por si só, tende a aumentar a excreção de Na^+ em cerca de 1,4 vezes (de $0,28 \pm 0,06$ no grupo NT SAL para $0,38 \pm 0,174$ h no grupo T SAL), aumento este sem significância estatística (Fig. 17A). Já a fração de excreção de K^+ foi significativamente aumentada pela GM no grupo NT (em %: $167,8 \pm 52,9$ no grupo NT-GM vs $49,0 \pm 14,2$ no grupo NT-SAL) (Fig. 17B). De forma interessante, o treinamento prévio à indução de IRA pela GM, bloqueou totalmente esse aumento da excreção de K^+ (em %: $42,5 \pm 6,0$ no grupo T-GM vs $167,8 \pm 52,9$ no grupo NT-GM) (Fig. 17B). Também, sem que tenha atingido significância estatística, o treinamento físico, por si só, promoveu uma redução de cerca de 57% na fração de excreção do K^+ (de $49,0 \pm 14,2$ no grupo NT SAL para $21,3 \pm 7,6\%$ T SAL).

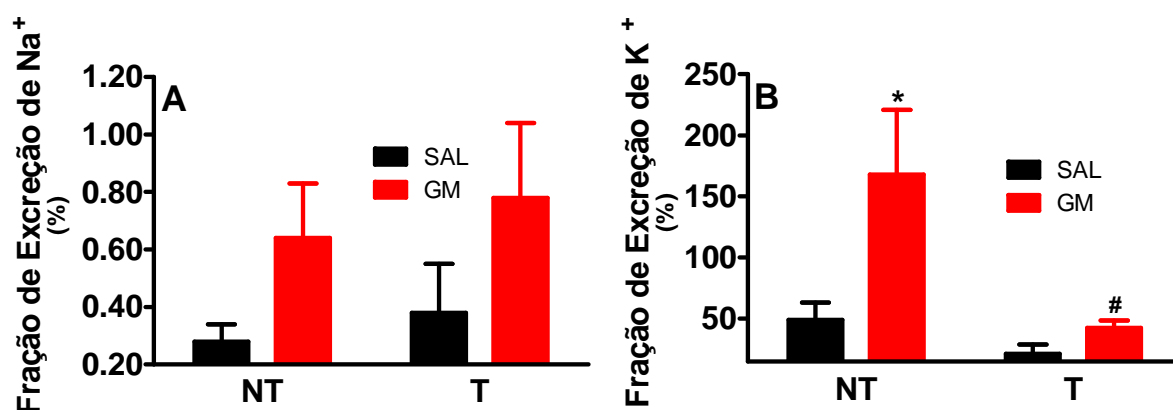


Figura 17. Frações de excreção de sódio (A) e de potássio (B) em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA sendo, os parâmetros determinados ao final do período de indução da mesma. O Na^+ e o K^+ foram medidos por fotometria de chama. NT-SAL (n = 6), NT-GM (n = 5); T-SAL (n = 4); T-GM (n = 7). *One-way ANOVA* com pós-teste de Newman-Keuls: * $p < 0,05$ (NT-GM vs NT-SAL) e # $p < 0,05$ (NT-GM vs T-GM).

Na Figura 18 estão representados os dados obtidos para *clearance* osmolar e *clearance* de H_2O livre. Nenhuma alteração significativa no *clearance* osmolar foi detectada entre os 4 grupos sob estudo (Fig. 18A). Com relação ao *clearance* de H_2O livre, embora não significativa, pode-se observar que este tornou-se menos negativo no

grupo NT-GM ($-32,4 \pm 11,1$ vs $-50,1 \pm 7,5$ ml/24h no grupo NT-SAL). O treinamento físico, por si só, não produziu alteração detectável no *clearance* de H₂O livre (Fig. 18B).

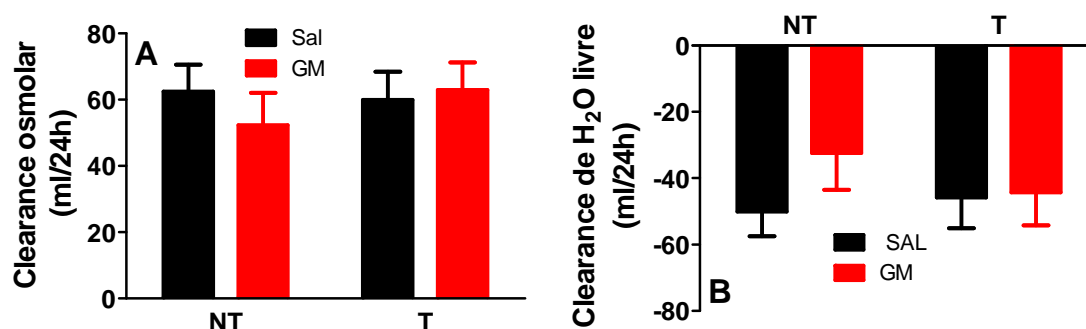


Figura 18. Clearance osmolar (A) e clearance de H₂O livre (B) em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA sendo, os parâmetros determinados ao final do período de indução da mesma. A osmolalidade foi mensurada por osmometria de congelamento. NT-SAL (n = 6), NT-GM (n = 7); T-SAL (n = 6); T-GM (n = 7).

A análise da excreção urinária de proteínas (proteinúria) mostrou que a GM eleva significativamente tal excreção (em mg/24h: de $9,2 \pm 2,4$ no grupo NT-SAL para $31,0 \pm 1,5$ no grupo NT-GM). (Fig. 19). Interessantemente, o treinamento prévio à indução da IRA pela GM, bloqueou parcialmente esse aumento da proteinúria (em mg/24h: $19,8 \pm 2,8$ no grupo T-GM vs $31,0 \pm 1,5$ no grupo NT-GM) (Fig. 19). Embora sem significância estatística, o treinamento físico, por si só, reduziu em cerca de 22% a excreção de proteínas na urina (de $9,2 \pm 2,4$ no grupo NT SAL para $7,2 \pm 1,4$ mg/24h no grupo T-SAL).

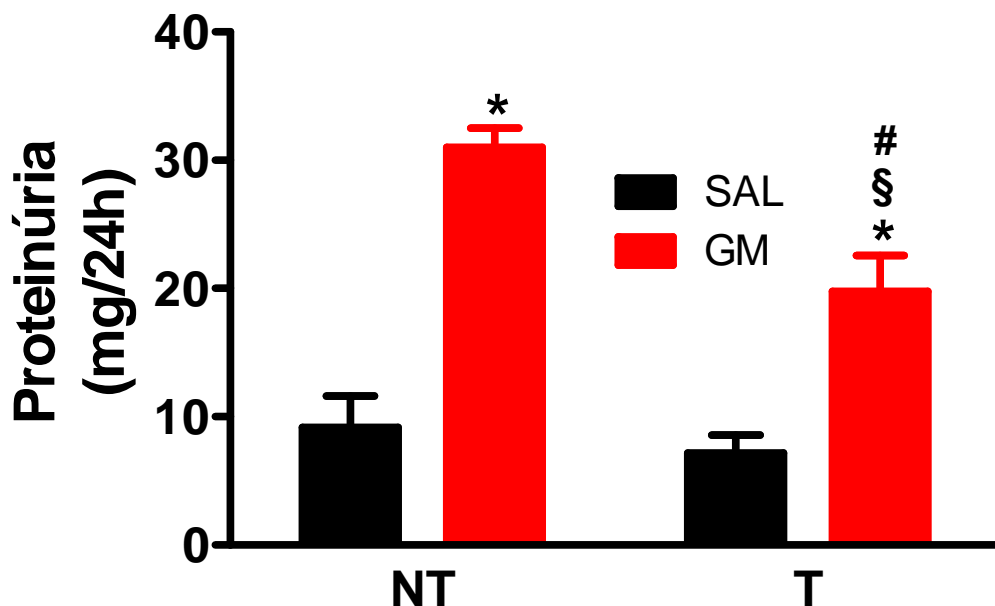


Figura 19. Proteinúria em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. A concentração de proteínas na urina foi determinada colorimetricamente, em amostras de urina coletadas ao final do período de indução da IRA, usando um kit comercial (Bioclin). NT-SAL (n = 6); NT-GM (n = 6); T-SAL (n = 6); T-GM (n = 7). *One-way ANOVA* com pós-teste de Newman-Keuls: *p < 0,05 (NT-GM vs NT-SAL e T-GM vs T-SAL), §p < 0,05 (T-GM vs NT-SAL) e # p < 0,05 (T-GM vs NT-GM).

A investigação da enzima gama glutamil transferase (Gama GT) na urina revelou que a GM aumenta significativamente a excreção da mesma (em mg/24h: de $16,3 \pm 3,9$ no grupo NT-SAL para $139,8 \pm 17,2$ no grupo NT-GM). (Fig. 20). Similar ao observado para a proteinúria, o treinamento físico prévio à indução da IRA pela GM, bloqueou o aumento da excreção desta enzima (em mg/24h: $55,1 \pm 9,1$ no grupo T-GM vs $139,8 \pm 17,2$ no grupo NT-GM) (Fig. 20). Essa inibição, pelo treinamento físico, foi mais proeminente do que aquela observada sobre a proteinúria (cerca de 36% contra cerca de 61% sobre a Gama GT). Novamente sem significância estatística, o treinamento físico, por si só, aumentou cerca 1,6 vezes a excreção urinária da enzima Gama GT (de $16,3 \pm 3,9$ no grupo NT SAL para $25,8 \pm 6,2$ mg/24h no grupo T-SAL).

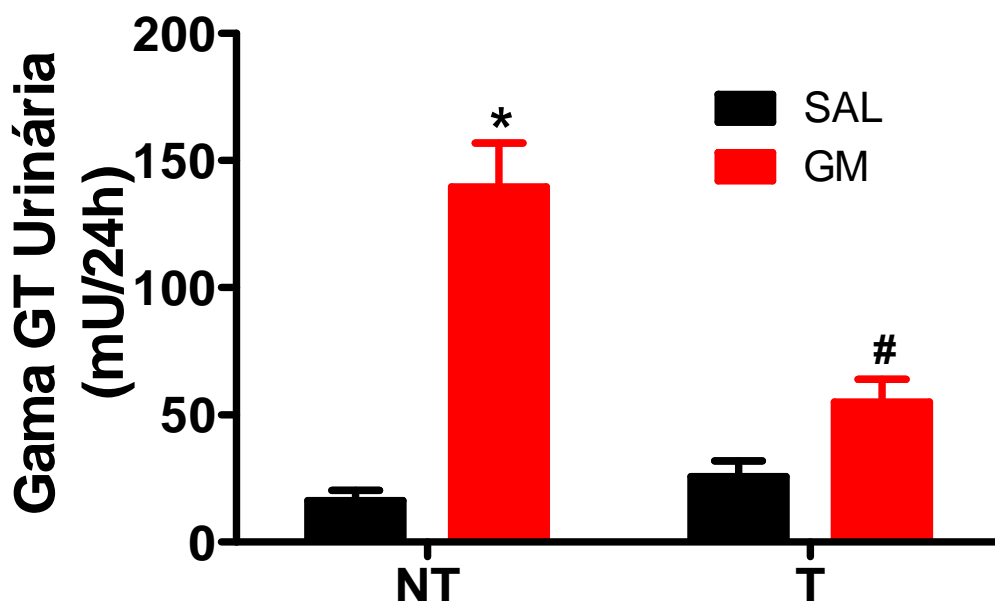


Figura 20. Excreção urinária da enzima gama glutamil transferase em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. A concentração da enzima Gama GT na urina foi determinada colorimetricamente, em amostras de urina coletadas ao final do período de indução da IRA, usando um kit comercial (Bioclin). NT-SAL (n = 5); NT-GM (n = 7); T-SAL (n = 6); T-GM (n = 7). *One-way ANOVA* com pós-teste de Newman-Keuls: * $p < 0,05$ (NT-GM vs NT-SAL) e # $p < 0,05$ (T-GM vs NT-GM).

5.5 Análise morfológica renal

A Figura 21 mostra o aspecto morfológico renal típico de rins dos 4 grupos sob estudo. Pode-se observar que a principal lesão causada pela GM é a necrose tubular aguda, a qual é evidenciada pela presença de vacuolização celular e presença de núcleos picnóticos. A maioria dos sinais de necrose tubular aguda não foi observada nos grupos treinados (Figs. 21C e 21D). No entanto, os animais NT doentes (tratados com GM), aparentemente, desenvolveram necrose tubular de forma mais intensa, caracterizada pela presença de núcleos picnóticos e maior vacuolização celular (Figs. 21A e 21B).

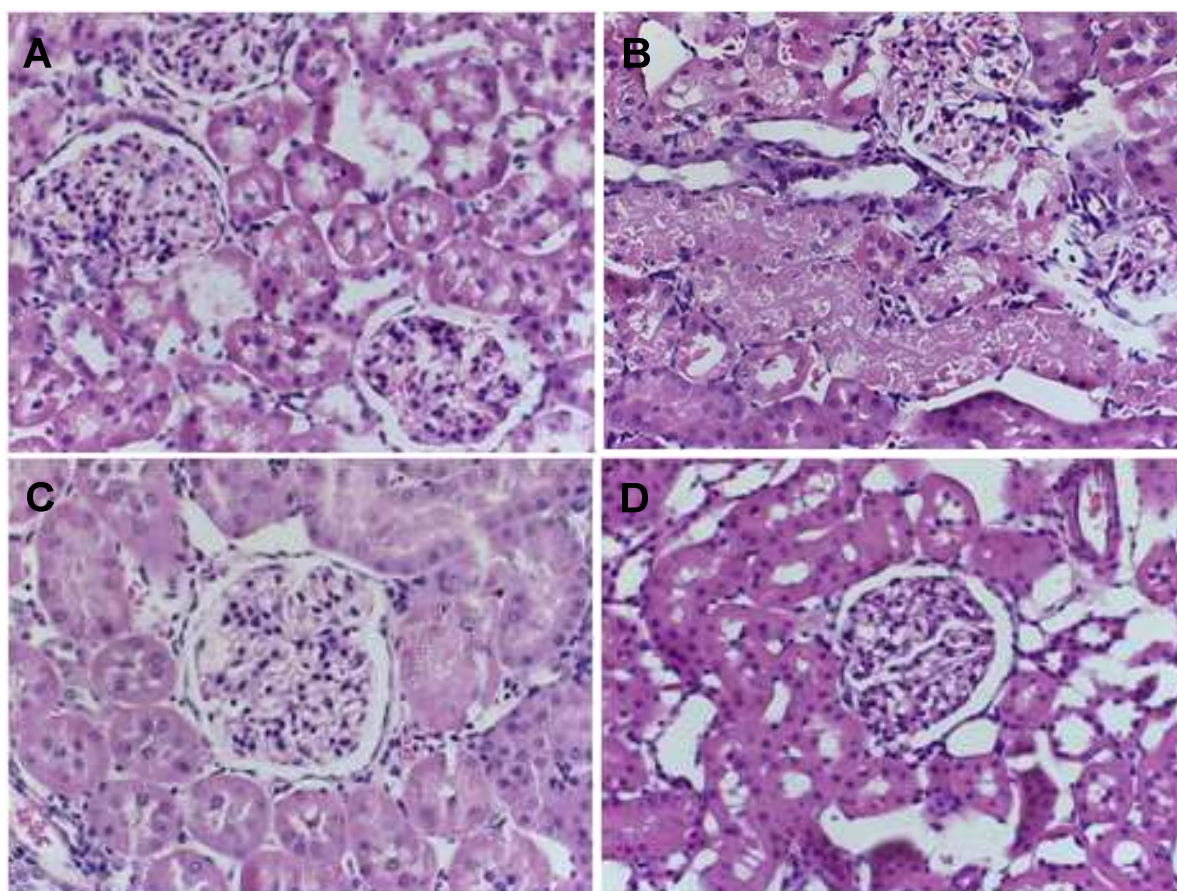


Figura 21. Aspecto morfológico renal típico em ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. As imagens são representativas de rins de ratos dos grupos T-SAL (A), T-GM (B), NT-SAL (C) e NT-GM (D). As imagens histológicas foram obtidas por meio de técnicas convencionais de coloração – hematoxilina-eosina e as fotos foram capturadas no aumento de 40 vezes. As análises foram realizadas no Departamento de Patologia ICB/UFMG, com a colaboração do Prof. Marcelo Caliarí.

5.6 RNA mensageiro renal que codifica componentes dos sistemas renina-angiotensina e caliceínas-cininas

A Figura 22 mostra o conteúdo de RNA mensageiro que codifica os componentes do sistema renina-angiotensina: ECA e ECA2 e dos receptores AT1 e MAS em rins de ratos treinados e submetidos à IRA induzida pela GM. Como pode ser observado pela Figura 22A, a expressão de RNA mensageiro que codifica para a ECA é significativamente elevada pela GM (em unidades arbitrárias: $1,66 \pm 0,05$ no grupo NT-GM contra $0,15 \pm 0,06$ no grupo NT-SAL). O treinamento prévio à indução da IRA pela GM (grupo T-GM), inibiu parcialmente a expressão renal da ECA quando comparada à

expressão observada no grupo NT-GM ($p < 0,05$). O treinamento físico, por si só, também foi capaz de elevar, de forma significativa, a expressão renal da enzima de $0,15 \pm 0,06$ (grupo NT-SAL) para $1,08 \pm 0,18$ unidades arbitrárias no grupo T-SAL (Fig. 22A). Paralelamente, a expressão renal de receptores AT1 não foi significativamente afetada em nenhum dos 4 grupos estudados AT1 (Fig. 22B). A expressão renal desses receptores foi como a seguir (em unidades arbitrárias): NT-SAL, $1,20 \pm 0,27$; NT-GM, $1,10 \pm 0,17$; T-SAL, $1,04 \pm 0,12$ e $1,81 \pm 0,45$ no grupo T-GM. Contudo, a expressão renal da enzima ECA2 e receptores MAS foi similar nos 4 grupos sob estudo (Figs. 22C e 22D, respectivamente).

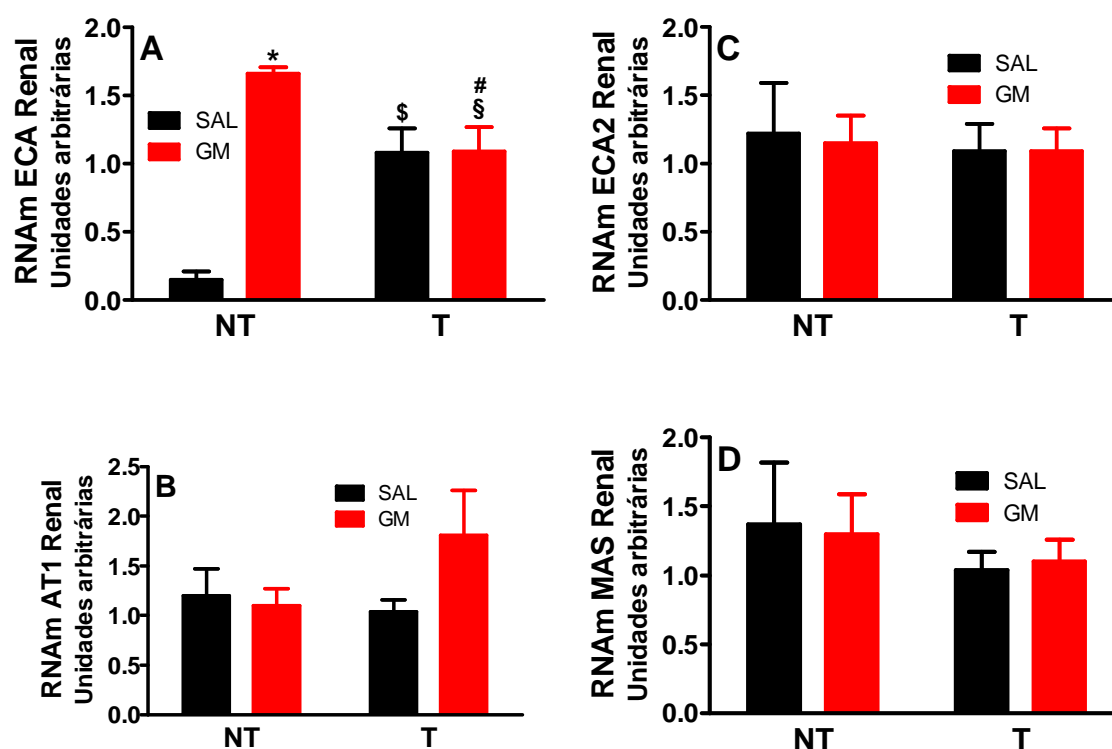


Figura 22. Conteúdo renal de RNA mensageiro que codifica ECA (A), receptores AT1 (B), ECA2 (C) e receptores MAS (D) em rins de ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. A quantificação de RNAm foi feita por PCR em tempo real ao final do período de indução da IRA. NT-SAL (ECA, $n = 3$, AT1, ECA2 e MAS, $n = 6$); NT-GM (ECA, $n = 4$, AT1, ECA2 e MAS, $n = 7$); T-SAL (ECA, AT1, ECA2 e MAS, $n = 6$); T-GM (ECA, ECA2 e MAS, $n = 7$, AT1, $n = 5$). *One-way* ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls: * $p < 0,05$ (NT-GM vs NT-SAL), \$ $p < 0,05$ (T-SAL vs NT-SAL), § $p < 0,05$ (T-GM vs NT-SAL) e # $p < 0,05$ (T-GM vs NT-GM).

A expressão renal dos receptores B1 e B2 de cininas está mostrada na Figura 23. O treinamento físico associado ou não à indução de IRA pela GM, não produziu qualquer efeito sobre a expressão renal de receptores de cininas do tipo B2 (Fig. 23A). No entanto, a GM aumentou a expressão renal de receptores do tipo B1 (Fig. 23B). De forma curiosa, embora o treinamento físico, por si só, não tenha afetado a expressão desses receptores, ele foi capaz de bloquear o aumento da mesma quando comparada à expressão observada no grupo NT-GM ($1,72 \pm 0,19$ para $1,08 \pm 0,18$ unidades arbitrárias no grupo T-GM) (Fig. 23B).

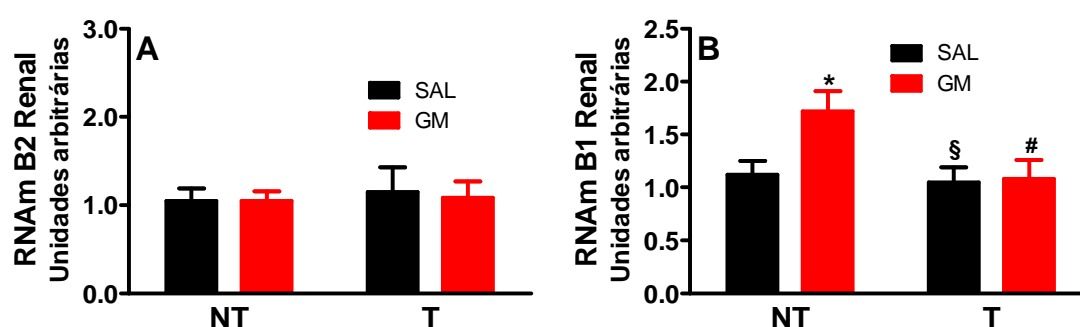


Figura 23. Conteúdo renal de RNA mensageiro que codifica receptores de cininas dos tipos B2 (A) e B1 (B) em rins de ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. A quantificação de RNAm foi feita por PCR em tempo real ao final do período de indução da IRA. NT-SAL (B2, n = 6 e B1, n = 4); NT-GM (B2, n = 7 e B1, n = 5); T-SAL (B2 e B1, n = 6); T-GM (B2, n = 7 e B1, n = 6). *One-way ANOVA* com pós-teste de Newman-Keuls: * $p < 0,05$ (NT-GM vs NT-SAL), § $p < 0,05$ (T-SAL vs NT-GM) e # $p < 0,05$ (T-GM vs NT-GM).

5.7 RNA mensageiro renal que codifica citocinas pró- e antiinflamatória

Na Figura 24 estão mostradas as expressões renais de RNA mensageiro que codifica TNF α , IL6 e IL10. Verifica-se, a exemplo do observado para os receptores B2 de cininas, que o treinamento físico associado ou não à indução de IRA pela GM, não produziu qualquer efeito sobre a expressão renal do TNF α e da IL6 (Figs. 24A e 24B). Porém, a GM aumentou, significativamente, a expressão renal de IL10 (Fig. 24C) e o treinamento físico anterior à indução da IRA impediu esse aumento. O treinamento físico, por si só, embora de forma não significativa, reduziu a expressão da IL10 (Fig. 24C).

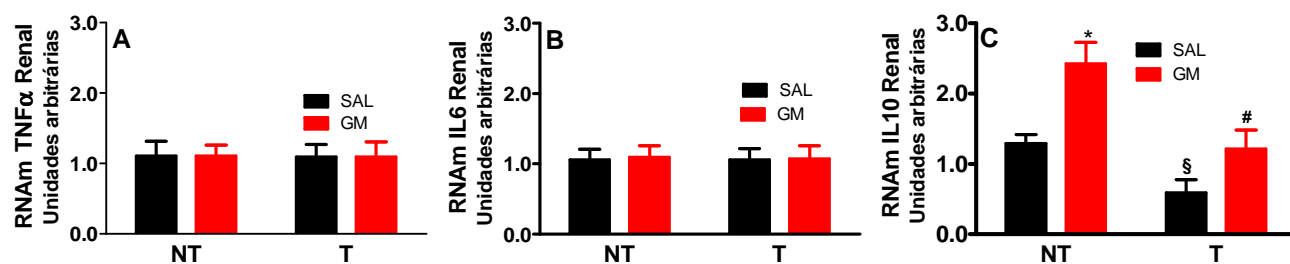


Figura 24. Conteúdo renal de RNA mensageiro que codifica as citocinas TNF α (A), IL6 (B) e IL10 (C) em rins de ratos com IRA induzida posteriormente ao treinamento físico. A GM foi usada como agente indutor da IRA. A quantificação de RNAm foi feita por PCR em tempo real ao final do período de indução da IRA. NT-SAL (TNF α e IL6, n = 6 e IL10, n = 4); NT-GM (TNF α e IL6, n = 7 e IL10, n = 5); T-SAL (TNF α e IL6, n = 6 e IL10, n = 4); T-GM (TNF α , IL6 e IL10, n = 7). One-way ANOVA com pós-teste de Newman-Keuls: *p < 0,05 (NT-GM vs NT-SAL), §p < 0,05 (T-SAL vs NT-GM) e #p < 0,05 (T-GM vs NT-GM).

6 DISCUSSÃO

6.1 Eficiência do protocolo de treinamento físico

O protocolo de treinamento físico utilizado no presente trabalho mostrou-se eficaz na melhora do desempenho físico dos animais submetidos à corrida em esteira. Todos os parâmetros de desempenho físico como tempo total de exercício, distância percorrida e velocidade máxima de corrida, avaliados no TEMP antes e depois das 8 semanas de treinamento, indicaram um aumento na capacidade aeróbia do grupo T em comparação ao grupo NT. Esta melhora no condicionamento físico observado nos animais treinados confirmam que a velocidade correspondente a 65 % da velocidade máxima atingida no TEMP é adequada para o treinamento com base no TEMP inicial e está de acordo com o já relatado por Priviero *et al.* (2004). A 65 % da velocidade máxima, o metabolismo aeróbio parece ser predominante (Ferreira *et al.*, 2007) e representa o limiar máximo de lactato (Rosa *et al.*, 2016; Teixeira *et al.*, 2012; Rodrigues *et al.*, 2007; Irigoyen *et al.*, 2005). O conhecimento da intensidade do esforço ideal para detectar a melhora do nível de aptidão física é fundamental, uma vez que a tolerância em desempenhar esforço pode ser definida como a quantidade máxima de atividade física realizada em um determinado teste físico progressivo até a exaustão (Rosa *et al.*, 2016; Carvalho *et al.*, 2005). Neste contexto e de acordo com Bernstein (2003), o TEMP torna-se uma ferramenta essencial para quantificar a capacidade de realização de exercício físico e determinar a *performance* dos grupos experimentais (Rosa *et al.*, 2016; Libby *et al.*, 2007; Gobatto *et al.*, 1991).

No presente estudo, o exercício moderado também aumentou a atividade da enzima CS muscular (sóleo) no grupo T, o que reforça a eficácia do protocolo de treinamento utilizado e está de acordo com os dados obtidos no TEMP. A enzima CS é considerada um marcador de adaptação oxidativa do músculo esquelético ao treinamento aeróbio devido ao seu papel de enzima reguladora da entrada de carbono no ciclo de Krebs, contribuindo com a manutenção da atividade aeróbia (Newshome & Leech, 1989). Neste ciclo, mudança na atividade máxima desta enzima pode ser um indicativo de aprimoramento do fluxo de substratos ao músculo culminando com a adaptação ao treinamento (Henriksson, 1992). Assim, a atividade máxima da CS é um preditor qualitativo do grau de metabolismo oxidativo em resposta ao exercício crônico.

Quanto ao tempo mínimo de treinamento necessário para a detecção de alterações na atividade da CS muscular, alguns autores têm relatado um aumento rápido da mesma após poucos dias de treinamento (Durante *et al.*, 2002). Já outros autores (Steiner *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2005) observaram mudanças relevantes da atividade desta mesma enzima, apenas depois de 10 ou mais dias de treinamento. Importante a ser considerado é que a natureza e a intensidade da resposta de adaptação ao exercício estão correlacionadas a diversos fatores, como a magnitude e duração das sessões, tipo de treinamento, frequência da atividade, fatores genéticos e nível prévio de aptidão física do indivíduo. Assim, princípios como o da especificidade, da resposta individual e o da reversibilidade devem ser respeitados (Coggan *et al.*, 2000).

Em resumo, os nossos dados estão de acordo com diversos trabalhos da literatura (Pedroza *et al.*, 2015; Barcelos *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2009; Siu *et al.*, 2003), que nos permitem concluir que houve uma melhora na capacidade aeróbia dos animais submetidos ao protocolo de treinamento (grupo T) por nós utilizado.

6. 2 Propriedades hemodinâmicas cardiovasculares

A pressão arterial média e a frequência cardíaca foram aferidas antes e ao término das 8 semanas de treinamento. O treinamento, de acordo com o protocolo aqui utilizado, não afetou de forma detectável, a pressão arterial média, independente do grupo analisado. Esta observação está de acordo com os achados de diversos autores, os quais relataram que o efeito do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial em animais normotensos e em humanos parece ser mínimo ou mesmo inexistente (Roquel *et al.*, 2011, Oliveira *et al.*, 2009, Medeiros *et al.*, 2004, Krieger *et al.*, 1998, Desai *et al.*, 1997, Negrão *et al.*, 1993). Por outro lado, o protocolo de treinamento promoveu uma redução da frequência cardíaca de repouso, o que indica que o mesmo foi capaz de produzir adaptação do sistema nervoso autônomo e, assim, melhorar a função cardiovascular. Resultado similar foi obtido por De Angelis *et al.* (2004) que verificaram que o treinamento físico em ratos induziu bradicardia de repouso e melhoria da taquicardia mediada por barorreflexo, sugerindo que tais alterações estão, provavelmente, relacionadas a um aumento do tônus vagal e diminuição do tônus simpático. Assim, a redução da frequência cardíaca pode ser considerada um marcador

fisiológico para a adaptação aeróbia ao treinamento, achado este, já relatado por diversos outros autores (Stojanovic *et al.*, 2015; Wichi, 2009; Oliveira *et al.*, 2009; Medeiros *et al.*, 2004).

6. 3 Parâmetros de avaliação de função renal

6.3.1 A gentamicina induziu IRA medicamentosa

As manifestações clínicas típicas de toxicidade do aminoglicosídeo são as disfunções não oligúricas ou poliúricas acompanhadas por um aumento de creatinina e ureia plasmáticas, proteinúria, enzimúria, aminoacidúria, glicosúria, e alterações eletrolíticas (Banday *et al.*, 2008; Mingeot-Leclercq *et al.*, 1999).

Neste trabalho, alterações características da IRA induzida por GM como aumentos do fluxo urinário e da concentração plasmática de creatinina e concomitante queda do RFG (*clearance* de creatinina) foram observadas no grupo NT-GM. Luft *et al.* (1977), foram os primeiros a descrever as alterações morfológicas renais causadas pela GM e sua capacidade de se acumular nas células epiteliais do túbulo proximal. Sabe-se, atualmente, que o acúmulo de GM no interior destas células desestabiliza o funcionamento adequado de diversas organelas, desencadeando o quadro de necrose tubular aguda, que compromete o funcionamento normal do sistema urinário e, assim, afetando a homeostasia corporal (Taccone *et al.*, 2010; Pogue *et al.*, 2010; Oliveira *et al.*, 2009; Lee *et al.*, 2009; Falagas *et al.*, 2007). A princípio, o prejuízo é caracterizado por diversas alterações referentes ao processo de filtração, reabsorção e secreção renais. A diminuição do RFG é explicada pela entrada de resíduos celulares para o lúmen tubular ocasionando obstrução parcial ou total do mesmo (De-Barros-e-Silva *et al.*, 1992). Além disso, a pressão hidrostática no interior do túbulo e na cápsula de Bowman, é aumentada causando uma redução do gradiente de pressão de filtração e, por conseguinte, redução do RFG. A deficiência no processo de reabsorção no túbulo proximal, em decorrência da especificidade da GM para estas células, possibilita também a chegada de um maior volume de água e eletrólitos na porção distal dos túbulos renais, o que determina a ativação do mecanismo de *feedback* túbulo-glomerular. Este é provocado pela ação da Ang II nas arteríolas aferentes e eferentes e é ativado para inibir a perda acentuada de água e eletrólitos, atuando em um período de, no máximo, 24 h. Portanto, o seu papel na

redução da filtração glomerular deveria, teoricamente, desaparecer após este intervalo. No entanto, o RFG continua diminuindo no decorrer do tratamento com GM e isso pode ser explicado como sendo consequência da inflamação, estresse oxidativo e da liberação de vasoconstritores que estimulam a contração vascular e mesangial (Thomson *et al.*, 2010; Komlosi *et al.*, 2009; Blantz *et al.*, 2007; Deng *et al.*, 2004). A perda da seletividade da barreira de filtração glomerular, devido à neutralização das suas cargas negativas, além da redução da quantidade e do tamanho dos poros das células do epitélio capilar glomerular, repercutindo em menor área para ultrafiltração renal, são danos observados e que também explicam o excesso de proteína urinária nos ratos com IRA induzida pela GM (Grauer *et al.*, 2001; De-Barros-e-Silva *et al.*, 1992).

Os dados obtidos, neste estudo, permitem afirmar que a metodologia utilizada para induzir a lesão renal foi eficiente. O comprometimento dos parâmetros hemodinâmicos renais avaliados comprovam a instalação da injúria assim como já demonstrado em diversos estudos recentes que utilizaram a GM como indutor de nefrotoxicidade (Kopler *et al.*, 2015; Sawardekar *et al.*, 2015; Samarghandian *et al.*, 2015; Sadeghi *et al.*, 2015).

6.3.2 *Exercício aeróbio de intensidade moderada preveniu danos glomerulares induzidos pela IRA medicamentosa*

De modo geral, o exercício aeróbio moderado, prévio à IRA, foi eficiente em atenuar os danos renais glomerulares característicos do modelo de lesão utilizado. O interesse de se investigar o efeito preventivo do exercício físico sobre a função renal de animais com IRA teve origem, além da constatação da escassez de dados na literatura relacionando exercício físico e função renal, em resultados anteriormente obtidos pelo nosso grupo de pesquisa onde Ribeiro (2009) verificou que o treinamento físico de intensidade moderada induzia adaptações na função glomerular de ratos normais submetidos ao treinamento usando protocolo similar ao utilizado nesse estudo. Atualmente, já existem alguns relatos sobre os efeitos do exercício no desenvolvimento e progressão de doenças renais, principalmente em quadros crônicos (Sugama *et al.*, 2015; Neil *et al.*, 2013; Nascimento *et al.*, 2012; Kirsten *et al.*, 2011; Heiwe *et al.*, 2011; Straznicky, 2011; Mustata, 2011; OH *et al.*, 2006). Por exemplo, Fassett *et al.* (2009), ao examinar a interação do exercício físico em indivíduos adultos com doença renal crônica

(DRC), observaram que esta prática se relaciona com uma melhora no RFG. Entretanto, nenhum trabalho relatando um possível efeito do exercício como estratégia terapêutica na prevenção e desenvolvimento da lesão renal aguda foi encontrado na literatura disponível.

No presente trabalho, o treinamento prévio à indução de IRA atenuou os danos glomerulares produzidos pela GM refletidos em uma menor elevação da creatinina plasmática e menor redução do RFG (grupo T GM), quando comparados ao grupo NT GM. Essa menor redução do RFG, nesse grupo, foi acompanhada por um menor aumento do FU, embora não tenha alcançado significância estatística, e por uma menor fração de excreção de água. O treinamento prévio também tornou a proteinúria, causada pela GM, menos intensa.

Dados anteriormente obtidos em nosso laboratório, mostraram que o exercício, por si só, foi capaz de aumentar o RFG em ratos treinados, com protocolo similar ao aqui utilizado, e mantidos em repouso (Ribeiro, 2009). Este aumento estava, em parte, associado à elevação da vasopressina plasmática. Aumentos no RFG causados por este hormônio, em ratos normais e não treinados, já têm sido bastante relatados. Gellai *et al.* (1984) verificaram que a infusão crônica de arginina-vasopressina, em ratos Brattleboro, eleva o FSR e o RFG em cerca de 40%; esse aumento é reversível após o término da infusão. Outros autores já fizeram a mesma constatação; no entanto, o efeito da vasopressina, sobre o RFG, dever-se-ia à sua ação antidiurética e não à sua ação vasoconstritora renal, visto que esta correlação não é observada após a administração aguda de vasopressina (Frenkel *et al.*, 2015; Geysant *et al.*, 1981). O aumento da vasopressina induziria um aumento da reciclagem intra-renal de ureia que, por sua vez, reduziria a concentração de NaCl na mácula densa do aparelho justaglomerular. Esta menor concentração de NaCl levaria a um aumento do RFG pelo mecanismo de *feedback* túbulo-glomerular (Bankir *et al.*, 2014; Fenton *et al.*, 2014). Estudos revelam que o aumento no RFG observado em pacientes com queimadura pode resultar de um aumento da reciclagem de ureia, favorecida pela maior excreção desta e maior concentração plasmática de vasopressina (Shirani *et al.*, 1983). De forma similar, o baixo RFG observado em ratos papilectomizados pode ser explicado pelo fato de que, embora os níveis de vasopressina e ureia estejam normais, a reciclagem da ureia é interrompida

pela remoção da porção terminal do ducto coletor, onde a ação da vasopressina na permeabilidade à ureia inicia o processo de reciclagem.

Em nosso estudo, pode-se especular que o treinamento físico induziria liberações crônicas de vasopressina que, pelo menos em parte, estaria relacionada ao aumento do RFG observado no grupo T-GM. Ou melhor, em condições de injúria onde o RFG encontra-se reduzido, tal redução não ocorreria ou ocorreria de forma menos acentuada.

A prevenção, pelo treinamento, dos danos glomerulares causados pela GM também poderia ser atribuída aos efeitos cardiovasculares do exercício. De fato, vários trabalhos mostram que os nervos simpáticos eferentes renais desempenham um papel importante na regulação do FSR e, conseqüentemente, do RFG (Clayton *et al.*, 2011; Evans *et al.*, 2007; Guil *et al.*, 2004; Guild *et al.*, 2002), uma vez que estímulos elétricos nessas terminações diminuem o FSR total e a perfusão cortical (Janssen *et al.*, 1997). Deste modo, existem indícios apontando para o efeito do exercício físico na função autonômica, bem como na modulação do *feedback* aferente dos reflexos cardiovasculares periféricos (Mortensen *et al.*, 2014; Martinez *et al.*, 2011; Negrão *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008). Em humanos com DRC, o exercício reduziu a atividade simpática renal (Noah, 2015; Li *et al.*, 2008; Gao *et al.*, 2007) provavelmente mediada pelo quimiorreflexo (Ding *et al.*, 2008). Por conseguinte, estes dados sugerem que, em condições de lesão, a redução na perfusão renal com ativação do quimiorreflexo resulta em alterações na função renal, o que repercute em menor RFG e distúrbios no metabolismo do Na⁺ (Evans *et al.*, 2007), parâmetros estes que poderiam ser preventivamente melhorados pelo exercício.

Outro fator relevante e que não pode deixar de ser considerado, por se relacionar com o efeito do exercício na prevenção dos danos glomerulares nos animais com IRA, é a produção de óxido nítrico (NO) no endotélio. O estresse por cisalhamento, devido ao aumento do fluxo sanguíneo em resposta à atividade física, leva à produção de NO no coração, na aorta e no músculo esquelético (McAllister *et al.*, 2008; Zago *et al.*, 2006). O NO tem um papel importante no controle da pressão arterial, além de apresentar inúmeros efeitos renais como a regulação da hemodinâmica renal, da reabsorção tubular de Na⁺ e da atividade nervosa simpática (Garvin *et al.*, 2011; Mount *et al.*, 2006), ações estas, envolvidas em mecanismos de proteção renal. Adicionalmente, trabalhos da

literatura revelam que a inibição crônica da NO sintase (NOS) induz danos no sistema urinário com proteinúria e esclerose glomerular já que a expressão protéica de eNOS e nNOS encontra-se diminuída em ratos com DRC (Erdely *et al.*, 2003; Fujihara *et al.*, 2002; Verhagen *et al.*, 2001). De acordo com Ito *et al.* (2013), ratos SHR que se submeteram a exercício físico, apresentam um aumento na expressão de eNOS e nNOS medular. Esta observação sugere que a produção de NO induzida pela prática física pode inibir a reabsorção de NaCl na medula renal e diminuir a permeabilidade à água nos ductos coletores (Garvin *et al.*, 2011; Mount *et al.*, 2006), além de melhorar o fluxo sanguíneo medular e o próprio RFG (Mori *et al.*, 2007; Tojo *et al.*, 2006; Mount *et al.*, 2006). Em concordância com esses dados, Agarwal *et al.* (2013) relataram que o exercício aumenta o RFG e atenua a injúria glomerular com a elevação da atividade da eNOS no córtex renal de animais SHR.

Assim, a melhora verificada no RFG, em nosso estudo, poderia ser explicada, pelo menos em parte, pelo aumento da síntese de NO em decorrência do exercício crônico.

Apesar de todas estas considerações, não se pode deixar de ser ressaltado que dados obtidos por nosso grupo (dados não mostrados) indicam que as alterações de RFG observadas, neste estudo, não devem ser resultantes de mudanças na perfusão renal visto que em experimentos utilizando *Doppler* da artéria renal de ratos treinados e, em seguida, submetidos à indução de IRA com GM (grupo T GM), não foram detectadas alterações no índice de resistividade, quando comparados aos outros grupos. O índice de resistividade reflete alterações no FSR.

5.3.3 O exercício aeróbio de intensidade moderada atenuou os danos renais tubulares induzidos pela IRA medicamentosa

No presente estudo, o treinamento, por si só, não afetou significativamente a excreção urinária tanto de Na⁺ como de K⁺. Esta observação está em desacordo com os achados de Ribeiro (2009), onde uma redução da FENa⁺ e um aumento na FEK⁺ foi relatada em ratos treinados, por protocolo similar ao utilizado neste estudo, mantidos em repouso. Uma possível explicação para tal discrepância pode ser o fato de que, no estudo de Ribeiro, mesmo após o término do treinamento (8 semanas), os ratos eram submetidos, em dias alternados, a sessões de exercício nas mesmas condições usadas durante o treinamento. Em nosso estudo, os resultados apresentados foram obtidos

apenas ao final do período de indução de IRA, ou seja, 5 dias após o término do treinamento.

Já a inibição do aumento da FEK^+ pela GM, por nós observada, nos animais treinados (grupo T-GM) pode estar relacionada à ação protetora renal atribuída ao treino, de forma a atenuar a nefrotoxicidade do aminoglicosídeo, que atua especificamente no local onde ocorre maior reabsorção do íon K^+ (túbulo proximal). A ativação do co-transportador Na-K-2Cl pode estar super regulada em condições de IRA associada ao treino a fim de manter a homeostase corporal e evitar a perda excessiva de K^+ pela urina.

Novamente, no estudo de Ribeiro (2009), a menor $FENa^+$ e a maior FEK^+ em animais treinados por protocolo similar foi acompanhada por uma tendência de aumento (não alcançou significância estatística) da concentração plasmática de aldosterona. Este hormônio aumenta a concentração intracelular de K^+ por ativar a Na^+,K^+ -ATPase estimulando, assim, a reabsorção de Na^+ , o que eleva a eletronegatividade do lúmen e, conseqüentemente, favorece a secreção de K^+ . Adicionalmente, a aldosterona apresenta um efeito direto sobre a membrana luminal para aumentar a permeabilidade ao K^+ (Palmer *et al.*, 2015).

No entanto, pouco se sabe sobre a relação do exercício crônico moderado e os processos renais de reabsorção e secreção iônicas. Menos ainda se sabe a respeito da ação dessa prática sobre a ativação de transportadores de Na^+ e K^+ em nível renal. Mais estudos são imprescindíveis para o entendimento destas interações.

A GM embora tenha produzido um aumento detectável na $FENa^+$ (grupo NT-GM), este não alcançou significância estatística e o treinamento prévio à indução de IRA não afetou tal resposta (grupo T-GM). Já a FEK^+ foi acentuadamente elevada pela GM (grupo NT-GM), elevação esta, bloqueada pelo treinamento prévio ao tratamento com GM (grupo T-GM). Sabe-se que o íon Na^+ sofre apenas reabsorção tubular ao passo que o K^+ sofre reabsorção e secreção tubulares, via bomba Na^+,K^+ -ATPase. No entanto, este processo poderá sofrer desestabilização decorrente da nefrotoxicidade da GM, que ocorre devido à sua capacidade de se acumular nas células do córtex renal promovendo danos estruturais e funcionais, mais especificamente, nos segmentos S1 e S2 dos túbulos proximais (Lopez-Novoa *et al.*, 2011; Murer *et al.*, 1998; Biber *et al.*, 1996; Vandewalle *et al.*, 1981; Silverblatt *et al.*, 1979). A enzima Na^+,K^+ -ATPase é bastante expressa na

membrana basolateral das células tubulares e desempenha um papel crucial na reabsorção e secreção destes íons. Sassen *et al.* (2006) observaram que ratos tratados com GM apresentavam diminuição seletiva na expressão do co-transportador $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}$ (NKCC2) no ramo ascendente espesso da alça de Henle. Neste segmento tubular, a expressão reduzida de NKCC2 prejudica significativamente a concentração urinária, ao impedir a formação da hipertonicidade do interstício medular. Portanto, a *downregulation* do NKCC2 e de outros importantes transportadores de íons, pela GM, poderia contribuir para o aumento da excreção urinária do Na^+ e do K^+ .

Em resumo, o treinamento prévio também foi eficiente em atenuar a nefrotoxicidade da GM em nível tubular. A razão comprovada para tal efeito é desconhecida, mas poder-se-ia especular que a proteção poderia ter ocorrido através da inibição dos mecanismos fisiopatológicos celulares desencadeados pelo antibiótico. Estes mecanismos resultariam em morte celular ou impediria a redução da expressão de transportadores de Na^+ e K^+ , principalmente, nos túbulos proximais a fim de manter a homeostase corporal.

Embora não exista nenhum relato sobre o mecanismo pelo qual o treinamento previne o aumento, pela GM, da excreção urinária de íons como o K^+ , alguns trabalhos têm mostrado que existe uma correlação entre o exercício e os transportadores renais de Na^+ e K^+ . Por exemplo, Ciampone *et al.* (2011), ao investigar a participação do supressor de sinalização de citocinas (SOCS-3 renal) no controle da atividade da Ang II renal em ratos hipertensos e treinados, verificaram que o exercício pode alterar, via receptor AT1 e SOCS-3, o transporte de Na^+ e K^+ principalmente no túbulo proximal. Sabe-se que a regulação da distribuição do K^+ para o meio intra ou extracelular é definido como equilíbrio interno de K^+ e, sob condições normais, os fatores mais importantes que orquestram este movimento são as ações exercidas pelas catecolaminas e insulina (Palmer *et al.*, 2010). A entrada do K^+ para o interior da célula é estimulada por receptores β -adrenérgicos que, por sua vez, ativa a bomba $\text{Na}^+, \text{K}^+ - \text{ATPase}$. Estes efeitos desempenham um papel importante na regulação da liberação celular de K^+ durante o exercício físico (Williams *et al.*, 1985). Em circunstâncias normais, esta prática está associada com o movimento de K^+ intracelular para o espaço intersticial no músculo esquelético. O acúmulo deste íon no meio extracelular é um fator limitante da excitabilidade e da força contrátil do músculo e está envolvido com o desenvolvimento da fadiga (McKenna *et al.*, 2008; Clausen *et al.*, 2007). Adicionalmente, este aumento

intersticial também desempenha um papel importante na indução da vasodilatação rápida, permitindo maior fluxo sanguíneo muscular durante o trabalho físico (Clifford, 2007). No entanto, nestas condições, a liberação de catecolaminas limita o aumento extracelular de K^+ , através da estimulação dos receptores β -adrenérgicos, prevenindo a despolarização exacerbada e a perda de excitabilidade e força contrátil.

Por fim, ratificando o efeito preventivo do exercício ao impedir o aumento da excreção de K^+ (dano tubular) induzido pela GM, o aumento da excreção urinária da enzima gama GT, em resposta ao antibiótico (grupo NT GM), também foi bloqueado pelo treinamento prévio à IRA (grupo T GM).

A enzima gama GT é uma enzima de membrana que tem um papel crítico na homeostase da glutatona, além de atuar como um importante fator antioxidante de defesa (Karp *et al.*, 2001). A gama GT está localizada principalmente na superfície luminal da membrana plasmática do epitélio dos túbulos proximais onde, então, a sua atividade é mais elevada (Turgut *et al.*, 2003; Nemesanszky *et al.*, 1985; Tate *et al.*, 1985). O aumento da excreção urinária de gama GT pode ser devido a 2 fatores: O primeiro, é a isquemia parcial ou completa dos rins que impede a oxigenação do epitélio tubular e leva à redução do ATP, desencadeando eventos bioquímicos responsáveis por danos fatais e morte celular (Henry *et al.*, 2002). O segundo, pode ser devido à entrada de mioglobina nos rins causando danos renais e liberação de gama GT que é excretada na urina (Clarkson *et al.*, 2006).

Inúmeros trabalhos têm relatado que a excreção de proteínas na urina aumenta após sessões de treinamento e, este aumento, depende mais da intensidade do exercício do que da duração (Shavandi *et al.*, 2012; Ayça *et al.*, 2008; Bellinghieri *et al.*, 2008). No entanto, nenhum dado relacionando a gama GT urinária ao exercício físico em condições de IRA foi encontrado na literatura.

A habilidade dos rins em manter a tonicidade e o balanço hídrico requer que os túbulos sejam funcionais e responsivos à vasopressina. Estas funções podem ser avaliadas por medidas de concentrações de solutos na urina. Em nosso estudo, nenhuma diferença significativa foi detectada no *clearance* osmolar, entre os 4 grupos estudados. Já o *clearance* de água livre, embora mais positivo no grupo NT-GM, quando comparado com os grupos NT-SAL e T-GM, tais diferenças não alcançaram significância

estatística. Ao comparar os grupos NT-GM e T-GM, poder-se-ia especular que uma maior reabsorção de água livre no grupo T-GM seria em decorrência de um possível aumento da vasopressina circulante em resposta ao exercício físico. Neste estudo, no entanto, a concentração da vasopressina plasmática não foi determinada mas, em estudo anterior, Ribeiro (2009) mostrou que o treinamento moderado eleva o nível circulante desse hormônio, o que resultaria em menor perda de água livre pela urina.

6.4 Possíveis mecanismos associados ao exercício aeróbio moderado envolvidos na melhora da IRA medicamentosa

Com o intuito de investigar os possíveis mecanismos de ação do exercício aeróbio de intensidade moderada, na atenuação dos danos glomerulares e tubulares induzidos pela GM, a expressão renal de RNA mensageiro que codifica alguns componentes do SRA e do SCC foi analisada. A expressão de RNA mensageiro que codifica a ECA, enzima que produz Ang II e hidrolisa cininas como a BK, LBK e TK, foi elevada tanto pela GM (grupo NT-GM), como pelo exercício (grupo T-SAL), isoladamente, sendo que o treinamento prévio bloqueou totalmente o aumento da ECA induzido pela GM. Esta observação poderia indicar um aumento da produção de Ang II e/ou da hidrólise de cininas nas condições isoladas de treinamento prévio ou de lesão renal. No entanto, de forma contrária e já na década de 80, Luft *et al.* (1982) relataram que o captopril, um inibidor da ECA, administrado concomitantemente com GM (80 mg/kg/dia), por 10 dias, em ratos, não impediu o desenvolvimento de alterações glomerulares nem tubulares associadas à toxicidade da GM. Cabe ressaltar que um paralelo entre os resultados obtidos nos dois estudos é difícil de ser traçado porque o captopril, ao inibir a ECA, além de bloquear a formação de Ang II também impede a degradação de cininas que poderia favorecer o processo inflamatório desencadeado pela GM. Nesse contexto, em nosso estudo, foi observado que a GM aumenta a expressão de receptores B1 de cininas, os quais estão relacionados a processos inflamatórios (Schanstra *et al.*, 2000; Marin-Castano *et al.*, 1998) e, uma vez acionados, causam vasoconstrição renal (Guimarães *et al.*, 1986).

Com o aumento da expressão renal de ECA, poder-se-ia esperar um aumento da expressão de RNA mensageiro que codifica receptores AT1, também no rim. No entanto,

no presente estudo, a expressão de tais receptores não foi significativamente afetada em nenhum dos 4 grupos. Ou seja, o treinamento prévio à GM (grupo T-GM) não modificou a expressão de AT1 quando comparada ao grupo NT-GM. Contrariamente, Ciampone *et al.* (2011) relataram que ratos hipertensos (SHR), submetidos a treinamento por natação durante 16 semanas, apresentaram uma diminuição da expressão do receptor AT1 renal. Esta redução não foi observada em ratos normotensos. É importante salientar que em nosso estudo, os ratos permaneceram normotensos nos 4 grupos e que a técnica de treinamento foi corrida em esteira e não natação (estudo de Ciampone *et al.*). Por isso, é importante frisar que alguns trabalhos recentes confirmam que o exercício físico, embora não modifique a expressão renal de ECA e dos receptores AT1 em animais normotensos, promove redução dos mesmos em animais SHR (Silva Jr *et al.*, 2015; Agarwal *et al.*, 2012).

Nenhuma alteração significativa foi detectada na expressão renal de RNA mensageiro que codifica para a ECA 2 e para o receptor MAS, o que indica que, sob as condições utilizadas neste estudo, o eixo ECA2/Ang(1-7)/MAS parece não ser acionado. Estudo recente (Ren *et al.*, 2016) mostrou que o treinamento utilizando técnica e protocolo similares aos usados em nosso estudo promoveu *upregulation* do eixo ECA2/Ang(1-7)/MAS. Porém, novamente tal observação foi obtida em ratos SHR, o que difere do que ocorre com animais normotensos, onde tal eixo permaneceu inalterado após o exercício.

Com relação ao SCC, dados da literatura têm mostrado que o bloqueio da ação da BK tem efeito protetor em modelos de injúrias renais crônica e aguda (Aburto *et al.*, 2014; Pereira *et al.*, 2011; Klein *et al.*, 2009; Christopher *et al.*, 2002). Além do mais, a ausência ou bloqueio dos receptores B1 pode impedir os danos nefrotóxicos característicos dos modelos de doença renal (Estrela *et al.*, 2014; Tu *et al.*, 2008; Schanstra *et al.*, 2002; Hirawa *et al.*, 1999; Chao *et al.*, 1998). Este efeito benéfico (redução da atividade de receptores B1) está relacionado com a redução de espécies reativas de oxigênio e apoptose (Estrela *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2009; Kakoki *et al.*, 2007; Bledsoe *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2004). Utilizando um modelo de hipertrofia cardíaca induzida por isoproterenol ($0,3 \text{ mg.kg}^{-1}.\text{day}^{-1}$), Silva Jr *et al.* (2014) observaram que o exercício pode prevenir a hipertrofia pela modulação do SCC e angiogênese. A expressão de RNA mensageiro para o receptor B1 no coração dos animais treinados foi

inibida pelo protocolo de treinamento (corrida em esteira/1 h por dia/6 dias por semana/13 semanas), resultado similar ao obtido neste estudo quando se associou o treinamento à IRA.

Está bem estabelecido que apesar das diferenças entre o SRA e o SCC, os mesmos têm em comum a participação da ECA. A razão pela qual, em uma dada situação, essa enzima pode favorecer a formação de Ang II ou a degradação de cininas, no entanto, não é conhecida. Nesse sentido, levando-se em consideração apenas as cininas BK e cininas alongadas na posição N-terminal, como a LBK e TK, alguns trabalhos mostraram que além destas 2 últimas poderem dar origem à BK por ação de aminopeptidases, que as hidrolisam na porção N-terminal, por outro lado e de forma curiosa, a LBK e TK parecem ser mais resistentes à hidrólise pela ECA pela porção C-terminal (Passaglio & Vieira, 1996; Guimarães *et al.*, 1986). Mesmo que mais resistentes, tais cininas seriam capazes de reconhecer e ligar ao sítio ativo da ECA, mas a hidrólise não ocorreria. Com esta ligação à ECA sem a subsequente hidrólise, a ação da cininase I, que também hidrolisa LBK e TK e forma agonistas de receptores B1 (des-Arg¹⁰-LBK e des-Arg¹¹-TK), seria favorecida pela maior “disponibilidade” de substrato (LBK e TK), o que resultaria em uma maior formação de agonistas B1 e maior expressão de receptores B1, como observado para a GM, em nosso estudo. Adicionalmente, a exemplo do observado por Silva Jr *et al.* (2014) na hipertrofia cardíaca, o treinamento físico prévio bloqueou o aumento da expressão de receptores B1 na IRA induzida pela GM, indicando que o exercício exerce, assim, um efeito benéfico na prevenção dos danos renais característicos de uma IRA como a induzida pela GM.

Considerando que tanto o SRA como o SCC possuem componentes relacionados a processos inflamatórios e que ao exercício físico tem sido atribuída uma ação antiinflamatória (Ren *et al.*, 2015; Ciampone *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2008), a expressão de RNA mensageiro que codifica algumas citocinas também foi investigada neste estudo. A expressão renal das citocinas proinflamatórias TNF- α e IL-6 foi similar nos 4 grupos sob estudo, ou seja, a GM ou o treinamento, *per se*, ou a GM precedida pelo treinamento não afetou a expressão de tais citocinas. Já está bem estabelecido que a GM aumenta a infiltração de macrófagos e eleva o TNF- α renal contribuindo para a progressão da nefrite medicamentosa (Sahu *et al.*, 2013). Esta citocina pode ativar a transcrição do fator nuclear-kB (NF-kB) que ao ser translocado para o núcleo, aumenta a ativação de genes,

como por exemplo, da IL-6, iNOS, TNF- α e COX-2 (Gonzalez-Ramos *et al.*, 2012; Ozbek *et al.*, 2009; Amigo *et al.*, 2008). A IL-6, outra citocina proinflamatória, também está envolvida nos processos inflamatórios (Kishimoto *et al.*, 2010). Segundo El Gamal *et al.* (2014), ratos tratados com GM (85mg/kg, por 8 dias), exibiram elevação significativa da expressão da proteína renal IL-6, como também de TNF- α . Estes dados corroboram resultados de estudos anteriores que mostraram aumento da ativação de NF-kB, seguido por um aumento da concentração das citocinas inflamatórias TNF- α e IL-6 (Bae *et al.*, 2013; Kalayarasan *et al.*, 2009). Como já dito anteriormente, nesse estudo, nenhuma alteração foi observada na expressão renal do TNF- α e da IL-6. Uma possível explicação para tal resultado é que a expressão foi analisada ao final de todos os procedimentos experimentais. Como a expressão gênica, em nosso estudo, antecede a expressão protéica, como no trabalho de El Gamal *et al.*, a primeira já poderia ter retornado aos níveis basais e, assim, qualquer alteração que eventualmente tenha ocorrido mais precocemente, não poderia ser detectada tardiamente (ao final do exercício e tratamento com GM). Para esclarecer esta hipótese, torna-se importante a medida da concentração das proteínas TNF- α e IL-6 renais. Por fim, a expressão de RNA mensageiro que codifica a citocina antiinflamatória IL-10 também foi objeto deste estudo. Primeiramente e de forma inexplicável, o treinamento, por si só (grupo T-SAL), reduziu a expressão da IL-10 quando comparada ao grupo NT-SAL. Mais uma vez poder-se-ia especular que a expressão gênica diminuída reflete um aumento na expressão protéica renal dessa citocina (também não mensurada neste trabalho). A expressão renal de IL-10 foi aumentada pela GM, efeito este, bloqueado pelo treinamento prévio à indução da IRA. O resultado obtido com a GM, neste estudo, está de acordo com trabalhos da literatura que relataram uma elevação dos níveis sanguíneos de IL-10 em seres humanos com IRA (Karkar *et al.*, 2008; Simmons *et al.*, 2004). Cabe ressaltar que em nosso estudo a análise da expressão de IL-10 foi feita após a interrupção da indução da IRA. A diferença para com os trabalhos supracitados pode residir no fato de que o aumento da concentração plasmática dessa citocina foi observado em seres humanos francamente doentes.

A Figura 25 mostra um esquema que compara e sumariza os eventos que poderiam estar acontecendo na IRA induzida pela GM em ratos sedentários (grupo NT-GM) (à esquerda) e o efeito do treinamento prévio nesse mesmo tipo de IRA (grupo T-

GM) (à direita). Observa-se que a GM é capaz de ativar o SCC, por uma via hipotética, uma vez que cininas alongadas na porção N-terminal (LBK, principal cinina renal) apresentam maior resistência à hidrólise pela ECA, o que favorecerá a atividade da cininase I, aumento da síntese de agonistas do receptor B1 e consequentes alterações de parâmetros renais como aumentos de creatinina plasmática, de K⁺, gama GT urinários, proteinúria e queda de RFG (Fig. 25, esquerda). O treinamento físico, provavelmente, é capaz de reduzir a resistência atribuída à LBK pela ECA, desta forma, desfavorecendo a atividade da cininase I, a formação dos agonistas de B1, a ativação deste receptor e consequentemente todas as alterações observadas nos parâmetros renais (Fig. 25, direita).

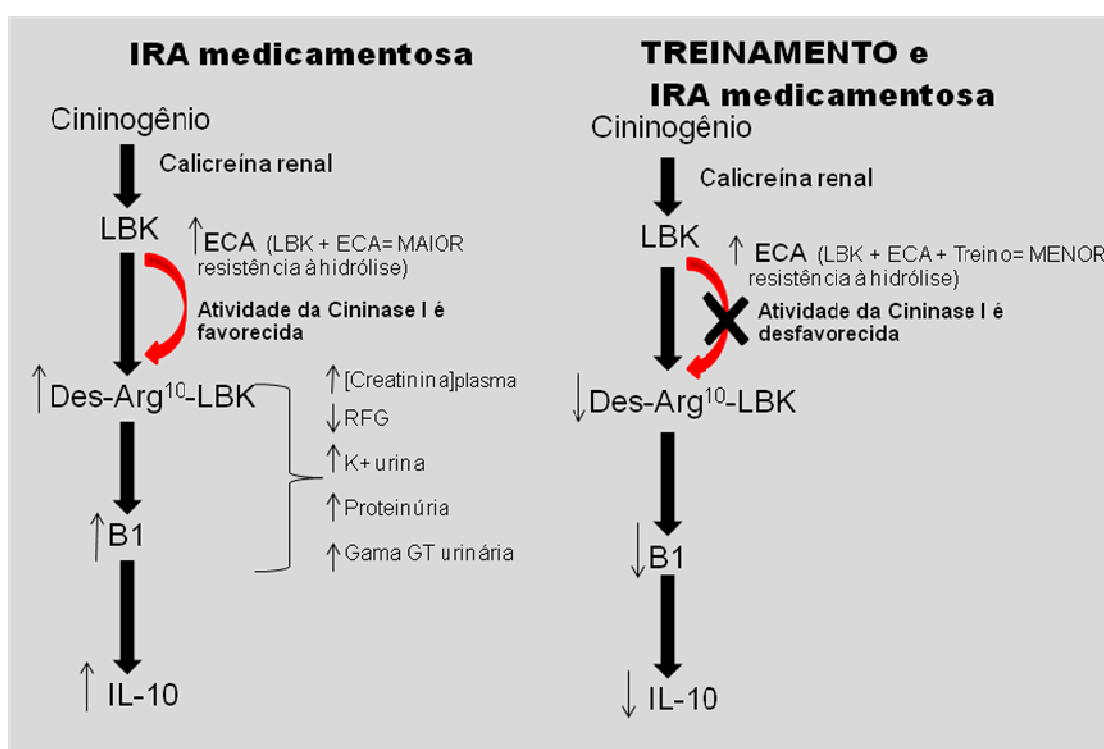


Figura 25. Esquema que sumariza os eventos que poderiam estar ocorrendo nos grupos NT-GM (à esquerda) e T-GM (à direita). O esquema tem como base parte dos resultados descritos no presente estudo, bem como dados da literatura e algumas hipóteses ainda não comprovadas mas que constituem boas hipóteses a serem investigadas

7 CONCLUSÃO

O treinamento aeróbio de intensidade moderada minimizou os efeitos renais da GM e envolve a participação do sistema caliceínas – cininas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

SORRIBAS, V.; HALAIHEL, N.; PUTTAPARTHI, K. et al. Gentamicin causes endocytosis of Na/Pi cotransporter protein (NaPi-2). *Kidney Int*, 59: 1024–1036, 2001.

LEVI, M.; CRONIN, R.E. Early selective effects of gentamicin on renal brushborder membrane Na-Pi cotransport and Na-H exchange. *Am J Physiol*; 258: F1379–F1387, 1990.

ABDULKADER, R.C.; BARBARO, K.C.; BARROS, E.J.; BURDMANN, E.A. Nephrotoxicity of insect and spider venoms in Latin America. *Semin Nephrol.* v. 4, p. 373-382, 2008.

ABDEL - GAYOUM, A. A.; ALHI, B. H.; GHAWARSHA, K. Plasma lipid profile in rats with gentamicin-induced nephrotoxicity. *Hum Exp Toxicol.* v. 12, p. 371–375, 1993.

AGARWAL, D.; CARRIE, M.E.; SCOTT, D.R.; NITHYA M.; DEWAN, A.M.; JOSEPH, F. Chronic Exercise Preserves Renal Structure and Hemodynamics in Spontaneously Hypertensive Rats. *Antioxidants & Redox signaling.* v. 16, n. 2, 2012.

AIRES, M.M. Fisiologia. 8ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991.

ALI, B.H. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem Toxicol.* v. 41, p. 1447 – 1452, 2003.

ALI, B.H.; AL ZA'ABI, M.; BLUNDEN, G.; NEMMAR, A. Experimental gentamicin nephrotoxicity and agents that modify it: a mini-review of recent research. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* v. 4, p. 225 – 232, 2011.

ALI, T.; KHAN, I.; SIMPSON, W., PRESCOTT, G.; TOWNEND, J.; SMITH, W.; MACLEOD, A. Incidence and outcomes in acute kidney injury: a comprehensive population-based study. *J Am Soc Nephrol.* v. 18, p. 1292 - 1298, 2007.

ALP, P.R.; NEWSHOLME, E.A.; ZAMMIT, V.A. Activities of citrate synthase and NAD⁺-linked and NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochem J.* v. 3, p. 689 - 700, 1976.

AMIGO, M.; PAYA, M.; BRAZA-BOILS, A.; DE ROSA, S.; TERCENIO, M.C. Avarol inhibits TNF- α generation and NF-kappaB activation in human cells and in animal models. *Life Sci.* v. 82, n. 5, p. 256-64, 2008.

AUBERT, A.E.; BECKERS, F.; RAMAEKERS, D. Short-term heart rate variability in young athletes. *J Cardiol.* v. 37, p. 85-8, 2001.

AYÇA, B., AGOPYA, N.; SENER, A.; OBA, R.; PASTIRMACI, G. Evaluation of gamma- glutamyl transferase changing in urine related to the training load in the rhythmic gymnasts competitors aged. *Biology of Sport.* v. 25, n. 3, 2008.

BALAKUMAR, P.; ROHILLA, A.; THANGATHIRUPATHI, A. Gentamicin induced nephrotoxicity: do we have a promising therapeutic approach to blunt it? *Pharmacol Res.* v. 62, p. 179 –186, 2010.

BANDAY, A. A.; FAROOQ, N.; PRIYAMVADA, S. Time dependent effects of gentamicin on the enzymes of carbohydrate metabolism, brush border membrane and oxidative stress in rat kidney tissues. *Life Sci.* v. 82, p. 450–459, 2008.

BANKIR, L.; ROUSSEL, R.; BOUBY, N. Protein- and diabetes-induced glomerular hyperfiltration : role of glucagon, vasopressin, and urea. *American Journal of Physiology - Renal Physiology.* 2015.

BANKIR, L.; KRIZ, W. Adaptation of the kidney to protein intake and to urine concentrating activity: similar consequences in health and disease [Editorial Review]. *Kidney Int.* v. 47, p. 7 - 24, 1995.

REGOLI, D.; BARABÉ, J. Receptors for kinins in isolated arterial vessels of dogs. *Eur J Pharmacol.* v.162, p.419-27, 1989.

REGOLI, D.; DION, S.; RHALEB, N.E.; DRAPEAU, G.; D'ORLEANS-JUSTE, P. Vasoactive peptides and their receptors. *Blood Vessels.* 1990;27(2-5):137-45.

BARCELOS, R.P.; SOUZA, M.A.; AMARAL G.P.; STEFANELLO, S.T.; BRESCIANI, G.; FIGHERA, M.R.; SOARES, F.A.; BARBOSA, N.V. Caffeine supplementation modulates oxidative stress markers in the liver of trained rats. *Life Sci.* v. 6, p. 1-2, 2014.

BEDFORD, M.; FARMER, C.K.; IRVING, J.; STEVENS, P.E. Acute kidney injury: an acceptable risk of treatment with renin-angiotensin system blockade in primary care? *Can J Kidney Health Dis.* 2014.

BELLOMO, R.; KELLUM, J.A.; RONCO, C. Acute kidney injury. *Lancet.* v. 380, p. 756 –766, 2012.

BELLINGHERI, G.; SAVICA, V.; SANTORO, D. Renal alterations during exercise. *J Ren Nutr.* v. 18, p. 158-64; 2008.

BENEDETTI, G.; FREDRIKSSON, L.; HERPERS, B.; MEERMAN, J.; VAN DE WATER, B.; DE GRAAUW, M. TNF- α -mediated NF- κ B survival signaling impairment by cisplatin enhances JNK activation allowing synergistic apoptosis of renal proximal tubular cells. *Biochem Pharmacol.* 2013.

BENIGNI, A.; TOMASONI, S.; GAGLIARDINI, E.; et al. Blocking angiotensin II synthesis/activity preserves glomerular nephrin in rats with severe nephrosis. *J Am Soc Nephrol.* v. 12, p. 941–948, 2001.

BIBER, J.; CUSTER, M.; MAGAGNIN, S. et al. Renal Na/Pi-cotransporters. *Kidney Int.* v. 49, p. 981–985. 1996.

BIRN, H.; CHRISTENSEN, E. Renal albumin absorption in physiology and pathology. *Kidney Int.* v. 69, p. 440–449, 2006.

BLANTZ, R. C.; DENG, A.; MIRACLE, C. M. Regulation of kidney function and metabolism: a question of supply and demand. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* v. 118, p. 23–43, 2007.

BLEDISOE, G.; CRICKMAN, S.; MAO, J.; XIA, C.F.; MURAKAMI, H.; CHAO, L.; CHAO, J. Kallikrein/kinin protects against gentamicin-induced nephrotoxicity by inhibition of inflammation and apoptosis. *Nephrol Dial Transplant.* v. 21, p. 624 – 633, 2006.

BRENNER, B.M.; BRADY, H.R.; LIEBERTHAL, W. Acute renal failure: Pathogenesis of renal disease. In: *Brenner B.M. The Kidney Company.* p. 1201 - 1262, 2000.

BREWSTER, U. C.; PERAZELLA, M. A. The Renin-Angiotensin-Aldosterone System and the Kidney: Effects on Kidney Disease. *Am J Med.* v. 116, p. 263–272, 2004.

BRINKKOETTER, P.T.; HOLTGREFE, S.; VAN DER WOUDE, F.J.; YARD, B.A. Angiotensin II type 1-receptor mediated changes in heparin sulfate proteoglycans in human SV40 transformed podocytes. *J Am Soc Nephrol.* v. 15, p. 33–40, 2004.

BUFORD, T.W.; MANINI, T.M.; HSU, F.C.; CESARI, M.; ANTON, S.D.; NAYFIELD, S.; STAFFORD, R.S.; CHURCH, T.S.; PAHOR, M.; CARTER, C.S. Angiotensin-converting enzyme inhibitor use by older adults is associated with greater functional responses to exercise. *J Am Geriatr Soc.* v.60,p.1244-52, 2012.

BURDMANN, E.A.; OLIVEIRA, M.B.; FERRABOLI, R.; MALHEIROS, P.; ABDULKADER, R.; YU, L. Epidemiologia. Insuficiência renal aguda: fisiopatologia, clínica e tratamento. São Paulo: *Sarvier.* v. 2, p. 1 – 7, 1997.

BURNIER, M. Blockade of the Renin-Angiotensin System and the Risk of Acute Kidney Injury. *J Clin Hypertens (Greenwich).* v. 14, 2016.

CARVALHO, J.F.; MASUDA, M.O.; POMPEU, F.A. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* v. 140, p. 409 - 13, 2005.

CARUSO-NEVES, C.; KWON, S.H.; GUGGINO, W.B. Albumin endocytosis in proximal tubule cells is modulated by angiotensin II through an AT2 receptor-mediated protein kinase B activation. *Proc Nat Acad Sci U S A.* v. 102, p. 17513 – 17518, 2005.

CASTENFORS, J.; MOSSFELDT, F.; PISCATOR, M. Effect of prolonged heavy exercise on renal function and urinary protein excretion. *Acta Physiol Scand.* v.70, p.194-206, 1967.

CASPERSEN, C.J.; POWELL, K.E.; CHRISTENSON, G.M. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep.* v.100, p. 126 - 131, 1985.

CHAPPELL, M.C.; MARSHALL, A.C.; ALZAYADNEH, E.M.; SHALTOUT, H.A.; DIZ, D. Update on the Angiotensin converting enzyme 2-Angiotensin (1-7)-MAS receptor axis: fetal programming, sex differences, and intracellular pathways. *Front Endocrinol.* v.9, p.4-201, 2014.

CIAMPONE, S.; BORGES, R.; LIMA, I.P.; MESQUITA, F.F.; CAMBIUCCI, E.C.; GONTIJO, J.A.R. Long-term exercise attenuates blood pressure responsiveness and modulates kidney angiotensin II signalling and urinary sodium excretion in SHR. *Journal of the Renin-AngiotensinAldosterone System*. v. 12, p. 394 – 403, 2011.

CLARKSON, P.M.; KEARNS, A.K.; ROUZIER, P., et al. Serum creatine kinase levels and renal function measures in evelctional muscle damage. *Med Sci Sports Exerc*. v. 38, 623 – 7, 2006.

CLAUSEN, T.; NIELSEN, O.B. Potassium, Na⁺,K⁺-pumps and fatigue in rat muscle. *J Physiol*. v. 584, p. 295 – 304, 2007.

CLAYTON, S.C.; HAACK, K.K.; ZUCKER, I.H. Renal denervation modulates angiotensin receptor expression in the renal cortex of rabbits with chronic heart failure. *Am J Physiol Renal Physiol*. v. 300, p. 31 – 39, 2011.

CLIFFORD, P.S. Skeletal muscle vasodilatation at the onset of exercise. *J Physiol*. v. 583, p. 825–833, 2007.

CHEEMA, B.S.; SINGH, M.A. Exercise training in patients receiving maintenance hemodialysis: a systematic review of clinical trial. *Am J Nephrol*. v. 25, p. 352 - 364, 2005.

CHEN, H.I.; HSIEH, S.Y.; YANG, F.L.; HSU, Y.H.; LIN, C.C. Exercise training attenuates septic responses in conscious rats. *Medicine Science Sports Exercise*. v. 39, p. 435 – 442, 2007.

CHERTOW, G.M.; BURDICK, E.; HONOUR, M.; BONVENTRE, J.V.; BATES, D.W. Acute kidney injury, mortality, length of stay, and costs in hospitalized patients. *J Am Soc Nephrol*. v. 16, p. 3365 – 3370, 2005.

CHIARUGI, A. “Simple but not simpler”: toward a unified picture of energy requirements in cell death. *FASEB J*. v. 19, p. 1783 – 1788, 2005.

CHRONOPOULOS, A.; CRUZ, D.N.; RONCO, C. Hospital-acquired acute kidney injury in the elderly. *Nat Rev Nephrol*. v. 6, p. 141 – 149, 2010.

COCA, S.G.; SINGANAMALA, S.; PARIKH, C.R. Chronic kidney disease after acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Int*. v.81, p. 442-448, 2012.

COGGAN, A.R.; RAGUSO, C.A.; GASTALDELLI, A.; SIDOSSIS, L.S.; YECKEL, C.W. Fat metabolism during high-intensity exercise in endurance-trained and untrained men. *Metabolism*. v.49, p. 122-8, 2000.

CONVERTINO, V. A.; KEIL, L. C.; BERNAUER, E. M. GREENLEAF, J. E. Plasma volume, osmolality, vasopressin, and renin activity during graded exercise in man. *Journal of Applied Physiology*. v. 50, n. 1, p. 123-128, 1981.

COSTA, M.F.; DAVIES, H.M.; ANDERSON, G.A.; SLOCOMBE, R.F. Effects of two training protocols on Angiotensin I-converting enzyme (ACE) activity in horses. *Equine Vet J*. v. 43, p. 466-70, 2011.

CRUZ, D.N.; RICCI, Z.; RONCO, C. Clinical review: RIFLE and AKIN--time for reappraisal. *Crit Care*. v. 13, p. 211, 2009.

CUI, J.J.; BAI, X.Y.; SUN, X.; CAI, G.; HONG, Q.; DING, R.; CHEN, X. Rapamycin protects against gentamicin-induced acute kidney injury via autophagy in mini-pig models. *Sci Rep*. v. 8, p. 5-11256, 2015.

DA SILVA, L. A.; PINHO, C.A.; ROCHA, L.G.C.; TUON, T.; SILVEIRA, P.C.L.; PINHOA, R.A. Effect of different models of physical exercise on oxidative stress markers in mouse liver. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. v. 34, p. 60-65, 2009.

DA SILVA, P.C.A.; ROCHA, L.G.; TUON, T.; SILVEIRA, P.C.; PINHO, R.A. Effect of different models of physical exercise on oxidative stress markers in mouse liver. *Appl Physiol Nutr Metab*. v. 34, p. 60-5, 2009.

DE ANGELIS, K.; WICHI, R.B.; JESUS, W.R.; MOREIRA, E.D.; MORRIS, M.; KRIEGER, E.M.; IRIGOYEN, M.C. Exercise training changes autonomic cardiovascular balance in mice. *J Appl Physiol*. v. 96, p. 2174-8, 2004.

DE-BARROS-E-SILVA, M.L.; VARANDA, W.A.; LACHAT, J.J.; ALVES-DA-SILVA, C.G.; COIMBRA, T.M. Glomerular permeability to macromolecules in gentamicin-treated rats. *Braz J Med Biol Res*. v. 25, p. 409-17, 1992.

DE BROE, M. E.; PAULUS, G.J.; VERPOOTEN, G.A.; ROELS, F.; BUYSENS, N.; WEDEEN, R.; VAN HOOFF, F.; TULKENS, P.M. Early effects of gentamicin, tobramycin, and amikacin on the human kidney. *Kidney Int*. v. 25, p. 643 – 652, 1984.

DENG, A.; WEAD, L. M.; BLANTZ, R. C. Temporal adaptation of tubuloglomerular feedback: effects of COX-2. *Kidney Int*. v.66, p. 2348–2353, 2004.

DENG, J.; KOHDA, Y.; CHIAO, H.; WANG, Y.; HU, X.; HEWITT, S.M.; MIYAJI, T.; MCLEROY, P.; NIBHANUPUDY, B.; LI, S.; STAR, R.A. Interleukin-10 inhibits ischemic and cisplatin-induced acute renal injury. *Kidney Int*. v. 60, p. 2118-28, 2001.

DENNEN, P.; DOUGLAS, I.S.; ANDERSON, R. Acute kidney injury in the intensive care unit: An update and primer for the intensivist. *Crit. Care Med*. v. 38, p. 261 - 275, 2010.

DI DIO LIBERATO, J.A. Tratado de anatomia aplicada.1.ed. São Paulo: Pólus Editorial, 1999.

DIETZE, G.J.; HENRIKSEN, E.J. Angiotensin-converting enzyme in skeletal muscle: sentinel of blood pressure control and glucose homeostasis. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. v.9, p. 75-88, 2008.

EDINGER, A.L.; THOMPSON, C.B. Death by design: apoptosis, necrosis and autophagy. *Curr Opin Cell Biol*. v. 16, p. 663–669, 2004.

EDWARDS, J.R.; DIAMANTAKOS, E.A.; PEULER, J.D.; LAMAR, P.C.; PROZIALECK, W.C. A novel method for the evaluation of proximal tubule epithelial cellular necrosis in the intact rat kidney using ethidium homodimer. *BMC Physiol*. v.7, p. 1, 2007.

ELKS, C.M.; MARIAPPAN, N.; HAQUE, M.; GUGGILAM, A.; MAJID, D.S.; FRANCIS, J. Chronic NF- κ B blockade reduces cytosolic and mitochondrial oxidative stress and attenuates renal injury and hypertension in SHR. *Am J Physiol Renal Physiol*. v. 296, p. 298–305, 2009.

EL GAMAL, A.A.; ALSAID, M.S, RAISH, M.; AL-SOHAIBANI, M.; AL-MASSARANI, S.M.; AHMAD, A.; HEFNAWY, M.; AL-YAHYA, M.; BASOUDAN, O.A.; RAFATULLAH, S. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. *Mediators Inflamm*. 2014.

EL MOUEDDEN, M.; LAURENT, G.; MINGEOT-LECLERCQ, M.P. Apoptosis in renal proximal tubules of rats treated with low doses of aminoglycosides. *Antimicrob Agents Chemother*. v.44, p.665–67, 2000.

ESTRELA, G.R.; WASINSKI, F.; ALMEIDA, D.C.; AMANO, M.T.; CASTOLDI, A.; DIAS, C.C.; MALHEIROS, D.M.; ALMEIDA, S.S.; PAREDES-GAMERO, E.J.; PESQUERO, J.B.; BARROS, C.C.; CAMARA, N.O.; ARAUJO, R.C. Kinin B1 receptor deficiency attenuates cisplatin-induced acute kidney injury by modulating immune cell migration. *J Mol Med (Berl)*. v.92, p.399-409, 2014.

EVANS, R.G.; BURKE, S.L.; LAMBERT, G.W.; HEAD, G.A. Renal responses to acute reflex activation of renal sympathetic nerve activity and renal denervation in secondary hypertension. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. v. 293, p. 1247–1256, 2007.

EXERCISE IS MEDICINE. <http://exerciseismedicine.org/global.htm>, 2011.

FALAGAS, M.E.; KOPTERIDES, P. Old antibiotics for infections in critically ill patients. *Curr Opin Crit Care*. v.13, p.592-7, 2007.

FANG, Y.; DING, X.; ZHONG, Y.; ZOU, J.; TENG, J.; TANG, Y.; LIN, J.; LIN, P. Acute kidney injury in a Chinese hospitalized population. *Blood Purif*. v.30, p. 120-126, 2010.

FASSETT, R.G.; ROBERTSON, I.K.; GERAGHTY, D.P.; BALL, M.J.; BURTON, N.W.; COOMBES, J.S. Physical activity levels in patients with chronic kidney disease entering the LORD trial. *Med Sci Sports Exerc*. v.41, p.985-91, 2009.

FENG, Y.H.; FU, P. Dual Blockade of the Renin-angiotensin-aldosterone System in Type 2 Diabetic Kidney Disease. *Chin Med J*. v. 5, p. 81-7, 2015.

FENTON, R.A.; YANG, B. Urea transporter knockout mice and their renal phenotypes. *Subcell Biochem*. v.73, p. 137-52, 2014.

FERREIRA, J.C.; ROLIM, N.P.; BARTHOLOMEU, J.B.; GOBATTO, C.A.; KOKUBUN, E.; BRUM, P.C. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. v.34, p.760-5, 2007.

FRAGA-SILVA, R.A.; FERREIRA, A.J., DOS SANTOS, R.A. Opportunities for targeting the angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/mas receptor pathway in hypertension. *Curr Hypertens Rep*. v.15, p.31-8, 2013.

FRENKEL, N. J.; VOGT, L.; DE ROOIJ, S. E.; TRIMPERT, C. L.; MARCEL, M.; DEEN, P. M. T.; VAN DEN BORN, B. H. Thiazide-induced hyponatraemia is associated with increased water intake and impaired urea-mediated water excretion at low plasma antidiuretic hormone and urine aquaporin-2. *Journal of Hypertension*. v.33, p. 627-633, 2015.

FUJIHARA, C.K.; MATTAR, A.L.; VIEIRA, J.M al. Evidence for the existence of two distinct functions for the inducible NO synthase in the rat kidney: Effect of aminoguanidine in rats with 5/6 ablation. *J. Am. Soc. Nephrol*. v.13, p. 2278–87, 2002.

FUJIWARA, C.K.; SHIN, M.; MATSUNAGA, H.; SAITA, T.; LARSSON, L. Light-microscopic immunocytochemistry for gentamicin and its use for studying uptake of the drug in kidney. *Antimicrob Agents Chemother*. v.53, p.3302-7, 2009.

FUKUDA, Y.; MALMBORG, A. S.; APERIA, A. Gentamicin inhibition of Na⁺,K⁽⁺⁾-ATPase in r at kidney cells. *Acta Physiol Scand*. v.141, p. 27–34, 1991.

GARDNER, E. Anatomia. IN GARDNER, E.; GREY, D.J.; O'RAHILLY, R. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.

GARVIN, J.L.; HERRERA, M.; ORTIZ, P.A. Regulation of renal nacl transport by nitric oxide, endothelin, and ATP: Clinical implications. *Annu. Rev. Physiol*. v.73, p.359–76, 2011.

GELEILETE, T.J.; MELO, G.C.; COSTA, R.S. *et al*. Role of myofibroblasts, macrophages, transforming growth factor-beta endothelin, angiotensin-II, and fibronectin in the progression of tubulointerstitial nephritis induced by gentamicin. *J Nephrol*. v.15, p. 633–642, 2002.

GELLAI, M.; SILVERSTEIN, J.H.; HWANG, J.C.; LAROCHELLE, F.T.; VALTIN, H. Influence of vasopressin on renal hemodynamics in conscious Brattleboro rats. *Am J Physiol*. 1984.

GERLACH, A.T.; STAWICKI, S.P.; COOK, C.H.; MURPHY, C. Risk factors for aminoglycoside associated nephrotoxicity in surgical intensive care unit patients. *Int J Crit Illn Inj Sci*. v. 1, p. 17-21, 2011.

GEYSSANT, A.; GEELLEN, G.; DENIS, C.; ALLEVARD, A. M.; VINCENT, M.; JARSAILLON, E.; BIZOLLON, C. A.; LACOUR, J. R.; GHARIB, C. Plasma vasopressin, renin activity, and aldosterone: effect of exercise and training. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. v.46, p.21-30, 1981.

GILBERT, D.N. Aminoglycosides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Principles and practice of infectious diseases.4th ed. p. 279 – 306, 1995.

GLEESON, M.; BISHOP, N.; STENSEL, D.J.; LINDLEY, M.R.; MASTANA, S.S.; NIMMO, M.A. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Rev Immunol*. v.11, p. 607 – 615, 2011.

GOLDSTEIN, S.L. Acute kidney injury in children and its potential consequences in adulthood. *Blood Purif*. v.33, p. 131 – 137, 2012.

GOTO, T.; FUJIGAKI, Y.; SUN, D.F.; YAMAMOTO, T.; HISHIDA, A. Plasma protein extravasation and vascular endothelial growth factor expression with endothelial nitric oxide synthase induction in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *Virchows Arch*. v.444, p. 362, 2004.

GREENLAND, P.; DAVIGLUS, M.L.; DYER, A.R.; LIU, K.; HUANG, C.F.; GOLDBERGER, J.J. et al. Resting heart rate is a risk factor for cardiovascular and noncardiovascular mortality: the Chicago Heart Association Detection Project in Industry. *Am J Epidemiol.* v.149, p. 853-62, 1999.

GUILD, S.J.; EPPEL, G.A.; MALPAS, S.C.; RAJAPAKSE, N.W.; STEWART, A.; EVANS, R.G. Regional responsiveness of renal perfusion to activation of the renal nerves. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* v. 283, p. 1177–1186, 2002.

GUIMARAES, J. A.; VIEIRA, M.A.R.; CAMARGO, M. J.F.; MAACK, T. Renal vasoconstrictive effect of kinins mediated by B kinin. *European Journal of Pharmacology.* v. 130, p. 177-185 177, 1986.

GUYTON A. C. & HALL JR. Tratado de Fisiologia Médica. 12ª edição, Guanabara Koogan, RJ, 2011.

GU, Q.; WANG, B.; ZHANG, X-F.; MA, Y-P.; LIU, J-D.; WANG, X-Z. Contribution of renin–angiotensin system to exercise-induced attenuation of aortic remodeling and improvement of endothelial function in spontaneously hypertensive rats. *Cardiovascular Pathology.* V. 23, p. 298–305, 2014.

HAESSLER, D.; REVERDY, M.E.; NEIDECKER, J.; BRULE, P.; NINET, J.; LEHOT, J.J. Antibiotic prophylaxis with cefazolin and gentamicin in cardiac surgery for children less than ten kilograms. *J Cardiothorac Vasc Anesth.* v. 17, p. 221 - 225, 2003.

HAMPEL, H.; BYNUM, G.D.; ZAMORA, E.; EL-SERAG, H.B. Risk factors for the development of renal dysfunction in hospitalized patients with cirrhosis. *Am J Gastroenterol.* v.96, p. 2206 – 2210, 2001.

HEEBA, G.H. Angiotensin II Receptor Blocker, Losartan, Ameliorates Gentamicin-Induced Oxidative Stress and Nephrotoxicity in Rats. *Pharmacology.* v.87, p. 232–240, 2011.

HEIWE, S.; JACOBSON, S.H. Exercise training for adults with chronic kidney disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* v. 10, p. 1 – 386, 2011.

HEIWE, S.; JACOBSON, S.H. Exercise training in adults with CKD: a systematic review and meta-analysis. *Am J Kidney Dis.* v.64, p. 383-93, 2014.

HENRIKSSON, J. Effects of physical training on the metabolism of skeletal muscle. *Diabetes Care.* v.15, p. 1701-11, 1992.

HENRY, J.B. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods.* 20th Ed, 2001, Translated by: Asgari M, Setareshenas R, Shayanfar N. Tehran: Iran's University of Medical Sciences Publishing, 2002.

HEYNE, N.; GUTHOFF, M.; WEISEL, K.C. Rhabdomyolysis and acute kidney injury. *N Engl J Med.* v.361, p. 1412 - 1413, 2009.

HIRAWA, N.; UEHARA, Y.; SUZUKI, T.; KAWABATA, Y.; NUMABE, A.; GOMI, T.; Lkeda, T.; KIZUKI, K.; OMATA, M. Regression of glomerular injury by kallikrein infusion in Dahl salt-sensitive rats is a bradykinin B2-receptor-mediated event. *Nephron.* v.81, p.183-93, 1999.

HORITA, S.; NAKAMURA, M.; SHIRAI, A.; YAMAZAKI, O.; SATOH, N.; SUZUKI, M.; SEKI, G. Regulatory roles of nitric oxide and angiotensin II on renal tubular transport. *World J Nephrol.* v. 6, p. 295-30, 2014.

HOSTE, E.A.J; KELLUM, J.A. Acute renal failure in the critically ill: impact on morbidity and mortality. *Contrib Nephrol.* v. 144, p. 1 – 11, 2004.

HOSTE, E.A.J., CLERMONT, G.; KERSTEN, A.; VENKATARAMAN, R.; ANGUS, D.C.; DE BACQUER, D.; KELLUM, J.A. RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Crit Care.* v. 10, p. 73, 2006.

HSU, C.Y.; MCCULLOCH, C.E.; FAN, D.; ORDONEZ, J.D.; CHERTOW, G.M.; GO, A.S. Community-based incidence of acute renal failure. *Kidney Int.* v. 72, p. 208 – 212, 2007.

IRIGOYEN, M.C.; PAULINI, J.; FLORES, L.J.; FLUES, K.; BERTAGNOLLI, M.; MOREIRA, E.D.; CONSOLIM-COLOMBO, F.; BELLO-KLEIN, A.; DE ANGELIS, K. Exercise training improves baroreflex sensitivity associated with oxidative stress reduction in ovariectomized rats. *Hypertension.* v.46, p. 998-1003, 2005.

ITO, D.; ITO, O.; MORI, N.; CAO, P.; SUDA, C.; MUROYA, Y.; HAO, K.; SHIMOKAWA, H.; KOHZUKI, M. Exercise training upregulates nitric oxide synthases in the kidney of rats with chronic heart failure. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* v.40, p. 617-25, 2013.

JANSSEN, B.J.; MALPAS, S.C.; BURKE, S.L. Head GA Frequency-dependent modulation of renal blood flow by renal nerve activity in conscious rabbits. *Am J Physiol.* v. 273, 1997.

KADLHODAE, M.; KHASTAR, H.; FAGHIHI, M.; GHAZNAVI, R.; ZAHMATKESH, M. Effects of co-supplementation of vitamins E and C on gentamicin-induced nephrotoxicity in rat. *Exp Physiol.* v. 90, p. 571 – 576, 2005.

KALAYARASAN, S.; PRABHU, P.N.; SRIRAM, N.; MANIKANDAN, R.; ARUMUGAM, M.; SUDHANDIRAN, G. Diallyl sulfide enhances antioxidants and inhibits inflammation through the activation of Nrf2 against gentamicin-induced nephrotoxicity in Wistar rats. *Eur. J. Pharmacol.* v.606, p. 162 – 171, 2009.

KARKAR, A. Modulation of renal inflammation: therapeutic strategies. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* v.19, p. 1-19, 2008.

KARP, D.R.; SHIMOOKU, K.; LIPSKY, P.E. Expression of gamma-glutamyl transpeptidase protects Ramos B cells from oxidation-induced cell death. *J Biol Chem.* v. 276, p. 3798-804, 2001.

KDIGO. Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Official J Int Soc Nephrol.* 2012.

KIRSTEN, L. J.; PAINTER, P. Exercise in Individuals With CKD. *Am J Kidney Dis.* v. 59, p. 126-134, 2011.

KOMLOSI, P.; BELL, P. D.; ZHANG, Z. R. Tubuloglomerular feedback mechanisms in nephron segments beyond the macula densa. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* v. 18, p. 57–62, 2009.

KRIEGER, E.M.; BRUM, P.C.; NEGRAO, C.E. Role of arterial baroreceptor function on cardiovascular adjustments to acute and chronic dynamic exercise. *Biol Res.* v. 31, p. 273-9, 1998.

KUTNER, N.G.; Zhang, R.; BOWLES, T.; PAINTER, P. Pretransplant physical functioning and kidney patients' risk for posttransplantation hospitalization/death: evidence from a national cohort. *Clin J Am Soc Nephrol.* v. 1, p. 837 – 843, 2006.

LAFRANCE, J.P.; MILLER, D.R. Acute kidney injury associates with increased long-term mortality. *J Am Soc Nephrol.* v. 21, p. 345 - 352, 2010.

LASSNIGG, A.; SCHMIDLIN, D.; MOUHIEDDINE, M.; BACHMANN, L.M.; DUML, W.; BAUER, P., HIESMAYR, M. Minimal changes of serum creatinine predict prognosis in patients after cardiothoracic surgery: a prospective cohort study. *J Am Soc Nephrol.* v. 15, p. 1597 – 1605, 2004.

LEE, B.H.; LEE, S.H.; CHOI, H.J.; KANG, H.G.; OH, S.W.; LEE, D.S.; HA, I.S.; CHOI, Y.; CHEONG, H. I. Decreased renal uptake of (99m)Tc- DMSA in patients with tubular proteinuria. *Pediatr Nephrol.* v. 24, p. 2211 – 2216, 2009.

LEEHEY, D.J.; MOINUDDIN, I.; BAST, J.P.; QURESHI, S.; JELINEK, C.S.; COOPER, C.; EDWARDS, L.C.; SMITH, B.M.; COLLINS, E.G. Aerobic exercise in obese diabetic patients with chronic kidney disease: a randomized and controlled pilot study. *Cardiovasc Diabetol.* v. 8, p. 62, 2009.

LEIGHTON, B.; BLOMSTRAND, E.; CHALLISS, R.A.; LOZEMAN, F.J.; PARRY-BILLINGS, M.; DIMITRIADIS, G.D.; NEWSHOLME, E.A. Acute and chronic effects of strenuous exercise on glucose metabolism in isolated, incubated soleus muscle of exercise-trained rats. *Acta Physiol Scand.* v. 136, p. 177-84, 1989.

LEONARD, B.L.; MALPAS, S.C.; DENTON, K.M.; MADDEN, A.C.; EVANS, R.G. Differential control of intrarenal blood flow during reflex increases in sympathetic nerve activity. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* v. 280, p. 62–68, 2001.

LEVI, M.; CRONIN, R. E. Early selective effects of gentamicin on renal brushborder membrane Na-Pi cotransport and Na-H exchange. *Am J Physiol.* v.258, p. 1379–1387, 1990.

LIANO, F.; FELIPE, C.; TENORIO, M.T.; et al. Long-term outcome of acute tubular necrosis: a contribution to its natural history. *Kidney Int.* v. 71, p. 679 - 86, 2007.

LIBBY, P.; BONOW, R.O.; MANN, D.L.; ZIPES, D.P. Exercise stress testing. Braunwald E, ed. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine.* 8th ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 2007.

LI, J.; LI, Q.X.; XIE, X.F.; AO, Y.; TIE, C.R.; SONG, R.J. Differential roles of dihydropyridine calcium antagonist nifedipine, nitrendipine and amlodipine on gentamicin-induced renal tubular toxicity in rats. *Eur J Pharmacol.* v.620, p. 97 –104, 2009.

LINOSSIER, M.T.; DORMOIS D.; PERIER, C.; FREY, J.; GEYSSANT, A.; DENIS, C. Enzyme adaptations of human skeletal muscle during bicycle short-sprint training and detraining. *Acta Physiol Scand.* v.161, p. 439-45, 1997.

LI, P.K.T.; BURDMANN, E.A.; MEHTA, R.L. Acute Kidney Injury: a global alert. *J Bras Nefrol.* 35 (1): editorial, 2013.

LI, Y.; DING, Y.; AGNEW, C.; SCHULTZ, H.D. Exercise training improves peripheral chemoreflex function in heart failure rabbits. *J Appl Physiol.* v.105, p. 782–790, 2008.

LEVI, M.; CRONIN, R. E. Early selective effects of gentamicin on renal brushborder membrane Na-Pi cotransport and Na-H exchange. *Am J Physiol.* v.258, p. 1379–1387, 1990.

LOMBARDI, R.; YU, L.; YOUNES-IBRAHIM, M.; SCHOR, N.; BURDMANN, E.A. Epidemiology of acute kidney injury in Latin America. *Semin Nephrol.* v. 28, p. 320 - 329, 2008.

LOPEZ-NOVOA, J.M.; QUIROS, Y.; VICENTE, L.; MORALES, A.I. and LOPEZ- HERNANDEZ, F.J. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. *Kidney International.* v.79, p. 33-45, 2011.

LUFT, F.C.; ARONOFF, G.R.; EVAN, A.P.; CONNORS, B.A.; WEINBERGER, M.H.; KLEIT, S.A. The renin-angiotensin system in aminoglycoside-induced acute renal failure. *J Pharmacol.* p. 433-439, 1982.

LUFT, F.C.; YUM, M.N.; WALKER, P.D.; KLEIT, S.A. Gentamicin gradient patterns and morphological changes in human kidneys. *Nephron.* v. 18, p. 167 – 174, 1977.

MA, F.; LI, Y.; JIA, L.; HAN, Y.; CHENG, J.; LI, H.; QI, Y.; DU, J. Macrophage-stimulated cardiac fibroblast production of IL-6 is essential for TGF β /Smad activation and cardiac fibrosis induced by angiotensin II. *PLoS One*, v. 7 (5), p 2012..

MARIAPPAN, N.; SOORAPPAN, R.N.; HAQUE, M.; SRIRAMULA, S.; FRANCIS, J. TNF-alpha-induced mitochondrial oxidative stress and cardiac dysfunction: Restoration by superoxide dismutase mimetic Tempol. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* v. 293, p. 2726–2737, 2007.

MARIE-PAULE, M.; TULKENS, P. M. Aminoglycosides: Nephrotoxicity. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* p. 1003–1012, 1999.

MARIN-CASTANO, M.E.; SCHANSTRA, J.P.; PRADDAUDE, F.; et al. Differential induction of functional B1-bradykinin receptors along the rat nephron in endotoxin induced inflammation. *Kidney Int.* v. 54, p. 1888–1898, 1998.

MARTINEZ, D.G.; NICOLAU, J.C.; LAGE, R.L.; TOSCHI-DIAS, E.; DE MATOS, L.D.; ALVES, M.J.; TROMBETTA, I.C.; DIAS DA SILVA, V.J.; MIDDLEKAUFF, H.R.; NEGRAO, C.E.; RONDON, M.U. Effects of long-term exercise training on autonomic control in myocardial infarction patients. *Hypertension.* v. 58, p. 1049–1056, 2011.

MATHUR, N.; PEDERSEN, B.K. Exercise as a mean to control low-grade systemic inflammation. *Hindawi Publishing Corporation*, 2008.

MCALLISTER, R.M.; NEWCOMER, S.C, LAUGHLIN, M.H. Vascular nitric oxide: Effects of exercise training in animals. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* v. 33, p. 173–8, 2008.

MCARDLE, W.D.; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. *Fisiologia do Exercício: energia, nutrição e desempenho humano*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. p. 695, 1998.

MCDONOUGH, A.A.; YANG, L.E.; LEONG, P.K. Reducing blood pressure in SHR with enalapril provokes redistribution of NHE3, NaPi2, and NCC and decreases NaPi2 and ACE abundance. *Am J Physiol Renal Physiol.* v.293, p. 1197-208, 2007.

MCKENNA, M.J.; BANGSBO, J.; RENAUD, J.M. Muscle K1, Na1, and Cl disturbances and Na1-K1 pump inactivation: Implications for fatigue. *J Appl Physiol* (1985). v.104, p. 288–295, 2008.

MENDES, A.M. *Exercício Físico e Saúde*. <http://www.nutrimais.com/nutri/esporte/exerc.asp>. 2009

MERCIERI, M.; MERCIERI, A.; TRITAPEPE, L.; RUGGERI, M.; ARCIONI, R.; REPETTO, M.; BOTTARI, B.; MENICHETTI, A. High-dose aprotinin with gentamicin-vancomycin antibiotic prophylaxis increases blood concentrations of creatinine and cystatin C in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Br J Anaesth.* v. 82, p. 531 -536, 1999.

MINGEOT-LECLERCQ, M.P.; TULKENS, P.M. Aminoglycosides: nephrotoxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* v.43, p. 1003–1012, 1999.

MIURA, S.; TASHIRO, E.; SAKAI, T.; et al. Urinary kallikrein activity is increased during the first few weeks of exercise training in essential hypertension. *J Hypertens.* v. 12, p. 815-823, 1994.

MIYAGI, M.Y.S.; SEELAENDER, M.; CASTOLDI, A.; DE ALMEIDA, D.C.; BACURAU, A.V.N. Long-Term Aerobic Exercise Protects against Cisplatin-Induced Nephrotoxicity by Modulating the Expression of IL-6 and HO-1. *PLoS ONE.* v.9, 2014.

MOLÉ, P.A.; BALDWIN, K.M.; TERJUNG, R.L.; HOLLOSZY, J.O. Enzymatic pathways of pyruvate metabolism in skeletal muscle: adaptations to exercise. *Am J Physiol.* v. 224, p. 50-4, 1973.

MOLSTED, S.; EIDEMAK, I.; SORENSEN, H.T.; KRISTENSEN, J.H. Five months of physical exercise in hemodialysis patients: effects on aerobic capacity, physical function and self-rated health. *Nephron Clin Pract.* v. 96, p. 76 - 81, 2004.

MOORE, K.L.; F.DALLEY, A. *Anatomia orientada para a clínica*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2007.

MOORE, R.D.; SMITH, C.R.; LIPSKY, J.J.; MELLITS, E.D.; LIETMAN, P.S. Risk factors for nephrotoxicity in patients treated with aminoglycosides. *Ann Intern Med.* v. 100, p. 352 -357, 1984.

MORAES, M.R.; BACURAU, R.F.; RAMALHO, J.D.; REIS, F.C.; CASARINI, D.E.; CHAGAS, J.R.; OLIVEIRA, V.; HIGA, E.M.; ABDALLA, D.S.; PESQUERO, J.L.; PESQUERO,

J.B.; ARAUJO, R.C. Increase in kinins on post-exercise hypotension in normotensive and hypertensive volunteers. *Biol Chem.* v.388, p.533-40, 2007.

MORALES, A.I.; DETAILLE, D.; PRIETO, M.; PUENTE, A.; BRIONES, E.; AREVALO, M.; LEVERVE, X.; LOPEZ-NOVOA, J.M.; EL-MIR, M.Y. Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria dependent pathway. *Kidney Int.* v. 77, p. 861 – 869, 2010.

MORI, T.; O'CONNOR, P.M.; ABE, M.; COWLEY, A.W. Enhanced superoxide production in renal outer medulla of Dahl salt-sensitive rats reduces nitric oxide tubular–vascular cross-talk. *Hypertension.* v. 49, p. 1336–41, 2007.

MORTENSEN, S.P.; NYBER, M.; GLIEMANN, L.; THANING, P.; SALTIN, B.; HELLSTEN, Y. Exercise training modulates functional sympatholysis and -adrenergic vasoconstrictor responsiveness in hypertensive and normotensive individuals. *J Physiol.* v. 592, p. 3063–3073, 2014.

MOUNT, P.F.; POWER, D.A. Nitric oxide in the kidney: Functions and regulation of synthesis. *Acta Physiol.* v.187, p. 433–46. 2006.

MRSIC, V.; NESEK, A.V.; GRIZELJ, S.E.; RASIC, Z.; SMILJANIC, A.; TURCIC, I. Acute rhabdomyolysis: a case report and literature review. *Acta Med Croatica.* V. 62, p. 317 - 322, 2008.

MURER, H.; FORSTER, I.; HILFIKER, H. et al. Cellular/molecular control of renal Na/Pi-cotransport. *Kidney Int Suppl.* v.65, p.2–10, 1998.

MURUGAN, R.; KELLUM, J.A. Acute kidney injury: what's the prognosis? *Nat Rev Nephrol.* v.7, p. 209 – 217, 2011.

MUSTATA, S.; GROENEVELD, S.; DAVIDSON, W.; FORD, G.; KILAND, K.; MANNIS, B. Effects of exercise training on physical impairment, arterial stiffness and health-related quality of life in patients with chronic kidney disease: a pilot study. *Int Urol Nephrol.* v. 43, p. 1133 – 1141, 2011.

NAGAI, J.; KATSUBE, T.; MURAKAMI, T.; TAKANO, M. Effect of gentamicin on pharmacokinetics of lysozyme in rats: interaction between megalin substrates in the kidney. *J Pharm Pharmacol.* v.54, p. 1491 – 1496, 2002.

NAMIAS, N.; MEIZOSO, J.P.; LIVINGSTON, D.H. Survey of surgical infections currently known (SOSICK): A multicenter examination of antimicrobial use from the surgical infection society scientific studies committee. *Surg Infect (Larchmt).* v.9, p. 509-14, 2008.

NAGAI, J.; SAITO, M.; ADACHI, Y.; YUMOTO, R.; TAKANO, M. Inhibition of gentamicin binding to rat renal brush-border membrane by megalin ligands and basic peptides. *J Control Release.* v. 112, p. 43 – 50, 2006.

NAVAR, L.G.; PRIETO, M.C.; SATOU, R.; KOBORI, H. Intrarenal angiotensin II and its contribution to the genesis of chronic hypertension. *Curr Opin Pharmacol.* v.11, p.180-6, 2011.

NASH, K.; HAFEEZ, A.; HOU, S. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am J Kidney Dis.* v. 39, p. 930- 936, 2002.

NEGRAO, C.E.; MIDDLEKAUFF, H.R. Exercise training in heart failure: reduction in angiotensin II, sympathetic nerve activity, and baroreflex control. *J Appl Physiol.* v.104, p. 577–578, 2008.

NEJAT, M.; PICKERING, J.W.; DEVARAJAN, P.; BONVENTRE, J.V.; EDELSTEIN, C.L.; WALKER, R.J.; ENDRE, Z.H. Some biomarkers of acute kidney injury are increased in pre-renal acute injury. *Kidney Int.* v.81, p. 1254 – 1262, 2012.

NEMESANSZKY, E.; LOTT, J.A. Gamma-glutamyl transferase and its iso enzymes: progress and problems. *Clin Chem.* v.31, p.797-803, 1985.

NERI, M.; CERRETANI, D.; FIASCHI, A.I.; LAGHI, P.F.; LAZZERINI, P.E.; MAFFIONE, A.B.; MICHELI, L.; BRUNI, G.; NENCINI, C.; GIORGI, G.; D'ERRICO, S.; FIORE, C.; POMARA, C.; RIEZZO, I.; TURILLAZZI, E.; FINESCHI, V. Correlation between cardiac oxidative stress and myocardial pathology due to acute and chronic norepinephrine administration in rats. *J Cell Mol Med.* v. 11, p. 156–170, 2007.

OH, K. J.; LEE, H. H.; LEE, J. H.; KIM, S. H.; LEE, J. S. Reversible renal vasoconstriction in a patient with acute renal failure after exercise. *Clin Nephrol.* v. 66, p. 297-301, 2006.

OLESEN, E.T.; DE SEIGNEUX, S.; WANG, G.; LUTKEN, S.C.; FROKIAER, J.; KWON, T.H.; NIELSEN, S. Rapid and segmental specific dysregulation of AQP2, S256-pAQP2 and renal sodium transporters in rats with LPS-induced endotoxaemia. *Nephrol Dial Transplant.* v. 24, p. 2338–2349, 2009.

OLIVEIRA, J.F.; SILVA, C.A.; BARBIERI, C.D.; OLIVEIRA, G.M.; ZANETTA, D.M.; BURDMANN, E.A. Prevalence and risk factors for aminoglycoside nephrotoxicity in intensive care units. *Antimicrob Agents Chemother.* v. 53, p. 2887 – 2891, 2009.

OLIVEIRA, J.F.P.; CIPULLO, J.P.; BURDMANN, E.A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. *Braz J Cardiovasc Surg.* v.21, p. 444 – 452, 2006.

OZBEK, E.; CEKMEN, M.; IIBEY, Y.O.; SIMSEK, A.; POLAT, E.C.; SOMAY, A. Atorvastatin prevents gentamicin-induced renal damage in rats through the inhibition of p38-MAPK and NF-kappaB pathways. *Ren Fail.* v. 31, p. 382-9, 2009.

PALMER, B.F. A physiologic-based approach to the evaluation of a patient with hyperkalemia. *Am J Kidney Dis.* v. 56, p. 387–393, 2010.

PARASURAMAN, S.; RAVEENDRAN, R.; KESAVAN, R. Blood sample collection in small laboratory animals. *Journal of pharmacology & pharmacotherapeutics.* v.1, p. 87–93, 2010.

PARK, J.W.; BAE, E.H.; KIM, I.J. *et al.* Renoprotective effects of paricalcitol on gentamicin induced kidney injury in rats. *Am J Physiol Renal Physiol.* v.298, p. 301–313, 2009.

PASSAGLIO, K.T.; VIEIRA, M.A. T-kinin is resistant to hydrolysis by angiotensin I-converting enzyme. *Immunopharmacology.* v.32, p.166-8, 1996.

PATERSON, D.L.; ROBSON, J.M.; WAGNER, M.M. Risk factors for toxicity in elderly patients given aminoglycosides once daily. *J Gen Intern Med.* v. 13, p. 735 -739, 1998.

PEDROZA, A.A.S.; LOPES, A.; SILVA, R.F.M; BRAZA G.R.; NASCIMENTO, L.P.; FERREIRA, D.S.; SANTOS, A.A.; HORNSBY, M.B.O.; LAGRANHA, C.. Can fish oil supplementation and physical training improve oxidative metabolism in aged rat hearts? *Life Sci.* 2015.

PERAZELLA, M.A. Drug use and nephrotoxicity in the intensive care unit. *Kidney Int.* v.81, p. 1172 – 1178, 2012.

PESSOA, E.A.; CONVENTO, M.B.; SILVA, R.G.; OLIVEIRA, A.S., BORGES, F.T.; SCHOR, N. Gentamicin-induced preconditioning of proximal tubular LLC-PK1 cells stimulates nitric oxide production but not the synthesis of heat shock protein. *Braz. J. Med. Biol. Res.* v.42, p. 614 – 620, 2009.

PETERSON, J.C.; ADLER, S.; BURKART, J.M. et al. Blood pressure control, proteinuria, and the progression of renal disease: the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Ann Intern Med.* v.123, p.754–762, 1995.

PHYSICAL ACTIVITY GUIDELINES ADVISORY COMMITTEE: Physical activity guidelines advisory committee report. Washington DC: U.S. Department of Health and Human Services, 2008.

PINTO, P.S.; CARMINATTI, M.; LACET,T.; RODRIGUES, D.F.; NOGUEIRA, L.O.; BASTOS, M.G. Nephrotoxicity acute renal failure: prevalence, clinical course and outcome. *J Bras Nefrol.* v. 31, p. 183 - 189, 2009.

POWERS, S.; HOWLEY, E.T. Fisiologia do Exercício – Teoria e aplicação ao condicionamento e ao desempenho. 1ª ed., São Paulo: Manole Ltda. p. 527, 2000.

PRIVIERO, F.; DE NUCCI, G.; ANTUNES, E.; ZANESCO, A. Negative chronotropic response to adenosine receptor stimulation in rat right atria after run training. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* v.31, p.741-743, 2004.

QUIROS, Y.; VICENTE, L.V.; MORALES, A.I.; LOPEZ, J.M.; LOPEZ-HERNANDEZ, F.J. An integrative overview on the mechanisms underlying the renal tubular cytotoxicity of gentamicin. *Toxicol Sci.* v.119, p. 245 – 256, 2011.

REIS, L.A.; BORGES, F.T.; SIMOES, M.J.; BORGES, A.A.; SINIGAGLIA-COIMBRA, R.; SCHOR, N. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells repaired but did not prevent gentamicin-induced acute kidney injury through paracrine effects in rats. *PLoS One.* v. 7, 2012.

REN, C.Z; YANG, Y.H.; SUN, J.C.; WU, Z.T.; ZHANG, R.W.; SHEN, D.; WANG, Y.K. Exercise Training Improves the Altered Renin-Angiotensin System in the Rostral Ventrolateral Medulla of Hypertensive Rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2016.

RHALEB, N.E.; YANG, X.P.; CARRETERO, O.A.The kallikrein-kinin system as a regulator of cardiovascular and renal function. *Compr Physiol.* V.1, p.971-93, 2011.

RIBEIRO, A.P.A.F. Adaptações renais induzidas pelo treinamento aeróbio em ratos normais em repouso e sob efeito do exercício. *Tese de Doutorado*, ICB/UFMG, 2009.

RODRIGUES, B.; FIGUEROA, D.M.; MOSTARDA, C.T.; HEEREN, M.V.; IRIGOYEN, M.C.; DE ANGELIS, K. Maximal exercise test is a useful method for physical capacity and oxygen consumption determination in streptozotocin-diabetic rats. *Cardiovasc Diabetol.* v. 13, p. 6- 38, 2007.

ROSA, T.S.; SIMÕES, H.G.; ROGERO, M.M.; MORAES, M.R.; DENADAI, B.S.; ARIDA, R.M.; ANDRADE, M.S.; SILVA, B.M. Severe Obesity Shifts Metabolic Thresholds but Does Not Attenuate Aerobic Training Adaptations in Zucker Rats. *Front Physiol.* v.7, p.122, 2016.

ROSIVALL, L. Intrarenal renin-angiotensin system. *Mol Cell Endocrin.* v.302, p. 185–192, 2009.

RUIZ-ORTEGA, M.; ESTEBAN, V.; RUPEREZ, M.; SANCHEZ-LOPEZ, E.; RODRIGUEZ-VITA, J.; CARVAJAL, G.; EGIDO, J. Renal and vascular hypertension-induced inflammation: Role of angiotensin II. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* v. 15, p. 159–166, 2006.

RUSTER, C. R and WOLF, G. Renin-Angiotensin-Aldosterone System and Progression of Renal Disease Department of Internal Medicine III, Friedrich-Schiller-University, Jena, Germany. *J Am Soc Nephrol.* v.17, p. 2985–2991, 2006.

SADEGHI, F.; NEMATBAKHSI, M.; NOORI-DIZICHE, A.; ESHRAGHI-JAZI, F.; TALEBI, A.; NASRI, H.; MANSOURI, A.; DEGHANI, A.; SABERI, S.; SHIRDAVANI, S.; ASHRAFI, F. Protective effect of pomegranate flower extract against gentamicin-induced renal toxicity in male rats. *J Renal Inj Prev.* Jun 1;4(2):45-50. 2015.

SAHU, B.D.; KUNCHA, M.; SINDHURA, G.J.; SISTLA, R. Hesperidin attenuates cisplatin-induced acute renal injury by decreasing oxidative stress, inflammation and DNA damage. *Phytomedicine.* 15;20(5):453-60; Mar 2013.

SAITO, Y.; NISHIO, K.; OGAWA, Y.; KIMATA, J.; KINUMI, T.; YOSHIDA, Y.; NOGUCHI, N.; NIKI, E. Turning point in apoptosis/necrosis induced by hydrogen peroxide. *Free Radic Res* 40: 619 – 630, 2006.

SAKAI, T.; IDEISHI, M.; MIURA, S.; et al. Mild exercise activates renal dopamine system in mild hypertensives. *J Hum Hypertens.* v.12, p. 355-362, 1998.

SAMARGHANDIAN, S.; AZIMI- NEZHAD M.; MEHRAD-MAJD, H.; MIRHAFEZ, S. R. Thymoquinone Ameliorates Acute Renal Failure in Gentamicin-Treated Adult Male Rats. *Pharmacology* 96:112-117, 2015.

SANDOVAL, R.M.; MOLITORIS, B.A. Gentamicin traffics retrograde through the secretory pathway and is released in the cytosol via the endoplasmic reticulum. *Am J Physiol Renal Physiol* 286: F617 – F624, 2004.

SANTOS, W.J.; ZANETTA, D.M.; PIRES, A.C.; LOBO, S.M.; LIMA, E.Q.; BURDMANN, E.A. Patients with ischaemic, mixed and nephrotoxic acute tubular necrosis in the intensive care unit - a homogeneous population? *Crit Care* 10 (2): R68, 2006.

SANTOS-ALVES, E.; MARQUES-ALEIXO, I.; RIZO-ROCA, D.; TORRELLA, J.R.; OLIVEIRA, P.J.; MAGALHAES, J.; ASCENSÃO, A. Exercise modulates liver cellular and mitochondrial proteins related to quality control signaling. *Life Sci.*, 30. Jun, 2015.

SASSEN, M. C.; KIM, S. W.; KWON, T. H.; KNEPPER, M. A.; MILLER, R. T.; NIELSEN, S. Dysregulation of renal sodium transporters in gentamicin-treated rats. *Kidney International*. p. 1026–1037, 2006.

SAWARDEKAR, S.B.; PATEL, T.C. Evaluation of the effect of *Boerhavia diffusa* on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *J Ayurveda Integr Med*. v.6, p. 95-103, 2015.

SCHANSTRA, J.P.; MARIN – CASTANO, M. E.; PRADDAUDE, F.; et al. Bradykinin B(1) receptor-mediated changes in renal hemodynamics during endotoxin-induced inflammation. *J Am Soc Nephrol* . v. 11, p. 1208–1215, 2000.

SCHMITZ, C.; HILPERT, J.; JACOBSEN, C.; BOENSCH, C.; CHRISTENSEN, E.I.; LUFT, F.C.; WILLNOW, T.E. Megalin deficiency offers protection from renal aminoglycoside accumulation. *J Biol Chem*. v.277, p. 618 – 622, 2002.

SCHULER, G.; ADAMS, V.; GOTO, Y. Role of exercise in the prevention of cardiovascular disease: results, mechanisms, and new perspectives. *Eur Heart J*. v.34, p. 1790 - 1799, 2013.

SENECHAL, M.; LEPRINCE, P.; TEZENAS DU MONTCEL, S.; BONNET N.; DUBOIS, M.; EL-SERAFI, M.; GHOSSOUB, J.J.; PAVIE, A.; GANDJBAKHCH, I.; DORENT, R. Bacterial mediastinitis after heart transplantation: clinical presentation, risk factors and treatment. *J Heart Lung Transplant*. v. 23, p. 165 – 1670, 2004.

SERVAIS, H.; ORTIZ, A.; DEVUYST, O.; DENAMUR, S.; TULKENS, P.M.; MINGEOT-LECLERCQ, M.P. Renal cell apoptosis induced by nephrotoxic drugs: cellular and molecular mechanisms and potential approaches to modulation. *Apoptosis*. v. 13, p. 11 – 32, 2008.

SHALTOUT, H.A.; WESTWOOD, B.M.; AVERILL, D.B.; FERRARIO, C.M.; FIGUEROA, J.P.; DIZ, D.I.; ROSE, J.C.; CHAPPELL, M.C. Angiotensin metabolism in renal proximal tubules, urine, and serum of sheep: evidence for ACE2-dependent processing of angiotensin II. *Am J Physiol Renal Physiol*. v.292, p. 82-91, 2007.

SHARMA, K.; COOK, A.; SMITH, M.; VALANCIUS, C.; INSCHO, E.W. TGF-beta impairs renal autoregulation via generation of ROS. *Am J Physiol Renal Physiol*. v. 288, p.1069–1077, 2005.

SHAVANDI, N.; SAMIEI, A.; AFSHAR, R.; SAREMI, A. The Effect of Exercise on Urinary Gamma-Glutamyltransferase and Protein Levels in Elite Female Karate Athletes. *Asian Journal of Sports Medicine*. v. 3, 2012.

SHIRANI, K. H.; VAUGHAN, G. M.; ROBERTSON, G. L. Inappropriate vasopressin secretion (SIADH) in burned patients. *J Trauma*. v.23, p. 217-224, 1983.

SHUSTERMAN, N.; STROM, B.L.; MURRAY, T.G.; MORRISON, G.; WEST, S.L.; MAISLIN, G. Risk factors and outcome of hospital acquired acute renal failure: clinical epidemiologic study. *Am J Med*. v.83, p. 65 – 71, 1987.

SILVA JR., S.D.; ZAMPIERI, T.T.; RUGGERI, A.; CERONI, A.; ARAGÃO, D.S.; FERNANDES, F.B.; CASARINI, D.E.; MICHELINI, L.C. Downregulation of the Vascular Renin-Angiotensin System by Aerobic Training – Focus on the Balance Between Vasoconstrictor and Vasodilator Axes –PhD. *Circulation Journal*. v.79, 2015.

SILVA JR, J.A.; ARAUJO, R.C.; BALTATU, O.; OLIVEIRA, S.M.; TSCHOPE, C. et al. Reduced cardiac hypertrophy and altered blood pressure control in transgenic rats with the human tissue kallikrein gene. *FASEB J*. v.14, p. 1858–1860, 2000.

SIU, P.M.; DONLEY, D.A.; BRYNER, R.W.; ALWAYS, S.E. Citrate synthase expression and enzyme activity after endurance training in cardiac and skeletal muscles. *Journal of Applied Physiology*. v. 94, 2003.

SIVERBLATT, F.J.; KUEHN, C. Autoradiography of gentamicin uptake by the rat proximal tubule cell. *Kidney Int*. v.15, p. 335–345, 1979.

SMART, N.; STEELE, M. Exercise training in haemodialysis patients: A systematic review and meta-analysis. *Nephrology*. v.16, p. 626 – 632, 2011.

SMITH, A.C.; BURTON, J.O. Exercise in kidney disease and diabetes: time for action. *J Ren Care*. v. 38, p. 52 – 58, 2012.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE NEFROLOGIA. Censo de Diálise Disponível em: www.sbn.org.br/censos/censos_antteriores/censo_2008, 2008.

SORRIBAS, V.; HALAIHEL, N.; PUTTAPARTHI, K. Gentamicin causes endocytosis of Na/Pi cotransporter protein (NaPi-2). *Kidney Int*. v.59, p. 1024–1036, 2001.

STEINER, J.L.; MURPHY, E.A.; MCCLELLAN, J.L.; CARMICHAEL, M.D.; DAVIS, J.M. Exercise training increases mitochondrial biogenesis in the brain. *J Appl Physiol* (1985). v.111, p. 1066-71, 2011.

STRAZNICKY, N. E.; GRIMA, M. T.; LAMBERT, E. A.; EIKELIS, N.; DAWOOD, T.; LAMBERT, G. W.; NESTEL, P. J; MASUO, K.; SARI, C.; CHOPRA, R.; MARIANI, J. A.; SCHLAICH, M. P. Exercise augments weight loss induced improvement in renal function in obese metabolic syndrome individuals. *Journal of Hypertension*. v.29, p. 553–564, 2011.

SUE, Y.M.; CHENG, C.F.; CHANG, C.C.; CHOU, Y.; CHEN, C.H.; JUAN, S.H. Antioxidation and anti-inflammation by haem oxygenase-1 contribute to protection by tetramethylpyrazine against gentamicin-induced apoptosis in murine renal tubular cells. *Nephrol Dial Transplant*. v.24, p.769-77, 2009.

SUGAMA, K.; SUZUKI, K.; YOSHITANI, K.; SHIRAISHI, K.; MIURA, S.; YOSHIOKA, H.; MORI, Y.; KOMETANI, T. Changes of thioredoxin, oxidative stress markers, inflammation and muscle/renal damage following intensive endurance exercise. *Clin Nephrol*. v.66, p. 297-301, 2006.

SUMUKADAS, D.; WITHAM, M.D.; STRUTHERS, A.D.; MCMURDO, M.E. Effect of perindopril on physical function in elderly people with functional impairment: a randomized controlled trial. *CMAJ*. V. 9, p.867-74, 2007.

TACCONI, F.S.; LATERRI, P.F.; SPAPEN, H.; DUGERNIER, T.; DELATTRE, I.; LAYEUX, B. Revisiting the loading dose of amikacin for patients with severe sepsis and septic shock. *Crit Care*. 14:53, 2010.

TADAGAVADI, R.K.; REEVES, W.B. Endogenous IL-10 attenuates cisplatin nephrotoxicity: role of dendritic cells. *J Immunol*. v.185, p. 4904-11, 2010.

TAKAHASHI, P. Doença renal crônica ameaça 15 milhões de brasileiros e poderá ser uma das principais epidemias do século. In: <http://sites.uai.com.br/app/noticia/saudeplena>.

TATE, S.S.; MEISTER, A. Gamma-glutamyl transpeptidase from kidney. *Methods Enzymol*. v.113, p.400-19, 1985.

TAVARES, W. Aminociclítóis aminoglicosídeos. In: Tavares W., ed. Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos. São Paulo: *Atheneu*. p. 573-626, 2001.

TAYLOR, N.F.; DODD, K.J.; DAMIANO, D.L. Progressive resistance exercise in physical therapy: a summary of systematic reviews. *Phys Ther*. v.85, 2005.

TEIXEIRA, P.S.A.; DO REGO, I.C.C.; MONTEIRO, T.I.L.; DOS SANTOS, A.C.C.; CECCATTO, V.M. Prescription of aerobic exercise training based on the incremental load test: a model of anaerobic threshold for Rats. *J. Exerc. Physiol*. v.15, p. 45–52, 2012.

TOJO, A.; ONOZATO, M.L.; FUJITA, T. Role of macula densa neuronal nitric oxide synthase in renal diseases. *Med. Mol. Morphol*. v.39, p. 2–7, 2006.

TRINH-TRANG-TAN, M. M.; BOUBY, N.; DOUT, M.; BANKIR, L. Effect of long- and short-term antidiuretic hormone availability on internephron heterogeneity in the adult rat. *Am J Physiol*. v. 246, p. 879-888, 1984.

TURGUT, G.; KAPTANOGLU, B.; TURGUT, S. Influence of acute exercise on urinary protein, creatinine, insulin-like growth factor (IGF-1) and IGF binding protein-3 concentration in children. *Tohoku J Exp Med*. v.201, p.165-70, 2003.

UCHINO, S.; KELLUM, J.A.; BELLOMO, R.; DOIG, G.S.; MORIMATSU, H.; SCHETZ, M.; TAN, I.; BOUMAN, C.; MACEDO, E.; GIBNEY, N.; TOLWANI, A.; RONCO, C. Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study. *JAMA*. v. 294, p. 813 - 818, 2005.

VANDEWALLE, A.; FARMAN, N.; MORIN, J.P. et al. Gentamicin incorporation along the nephron: autoradiographic study on isolated tubules. *Kidney Int*. v.19, p. 529–539, 1981.

VEADO, J.C.C. Nefrologia em medicina veterinária: alterações renais e Renoproteção. Revista Veterinária E Zootecnia Em Minas, Belo Horizonte, MG: Conselho Regional de Medicina Veterinária de Minas Gerais, v. 27, n. 94, p. 19-23, 2007.

VERHAGEN, A.M.; KOOMANS, H.A.; JOLES, J.A. Predisposition of spontaneously hypertensive rats to develop renal injury during nitric oxide synthase inhibition. *Eur. J. Pharmacol*. v. 411, p. 175–80, 2001.

VERPOOTEN, G. A.; GIULIANO, R. A.; VERBIST, L. Once-daily dosing decreases renal accumulation of gentamicin and netilmicin. *Clin Pharmacol Ther*. v. 45, p. 22–27, 1989.

VIGELSO, A.; ANDERSEN, N.B.; DELA, F. The relationship between skeletal muscle mitochondrial citrate synthase activity and whole body oxygen uptake adaptations in response to exercise training. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*. v.6, p. 84-101, 2014.

VOGIATZIS, I.; TERZIS, G.; NANAS, S.; STRATAKOS, G.; SIMOES, D.C.; GEORGIADOU, O.; ZAKYNTHINOS, S.; ROUSSOS, C. Skeletal muscle adaptations to interval training in patients with advanced COPD. *Chest*. v. 128, p. 3838-45, 2005.

WAIKAR, S.S.; LIU, K.D.; CHERTOW, G.M. Diagnosis, epidemiology and outcomes of acute kidney injury. *Clin J Am Soc Nephrol*. v.3, p. 844 - 861, 2008.

WANG, P.H.; CENEDEZE, M.A.; CAMPANHOLLE, G. et al. Deletion of bradykinin B1 receptor reduces renal fibrosis. *Int Immunopharmacol*. v.9, p. 653–657, 2009.

WILLIAMS, M.E.; GERVINO, E.V.; ROSA, R.M.; LANDSBERG, L.; YOUNG, J.B.; SILVA, P.; EPSTEIN, F.H. Catecholamine modulation of rapid potassium shifts during exercise. *N Engl J Med*. v. 312, p. 823–827, 1985.

WOLF, G.; NEILSON, E.G. From converting enzyme inhibition to angiotensin II receptor blockade: New insights on angiotensin II receptor subtypes in the kidney. *Exp Nephrol*. v. 4, p. 8–19, 1996.

WOLF, G.; CHEN, S.; ZIYADEH, F.N. From the periphery of the glomerular capillary wall toward the center of disease. Podocyte injury comes of age in diabetic nephropathy. *Diabetes*. v. 54, p. 1626–1634, 2005.

WOLF, G.; BUTZMANN, U.; WENZEL, U.O. The renin-angiotensin system and progression of renal disease: From hemodynamics to cell biology. *Nephron Physiol*. v.93, p. 3–13, 2003.

Wunderer, G.; Walter, I.; Müller, E.; Henschen, A. Human Ile-Ser-bradykinin, identical with rat T-kinin, is a major permeability factor in ovarian carcinoma ascites. *Biol Chem Hoppe Seyler*, v. 367(12): 1231-1234, 1986.

ZARJOU, A.; AGARWAL, A. Sepsis and acute kidney injury. *J Am Soc Nephrol*. v.22, p.999 – 1006, 2011.

ZAGO A.S.; ZANESCO, A. Nitric oxide, cardiovascular disease and physical exercise. *Arq. Bras. Cardiol*. v.87, p. 264–70, 2006.

ZHANG, Y.; ADNER, M.; CARDELL, L.O. Up-regulation of bradykinin receptors in a murine in-vitro model of chronic airway inflammation. *Eur J Pharmacol*. v.5, p.117-26, 2004.