

Universidade Federal de Minas Gerais  
Instituto de Ciências Biológicas  
Departamento de Fisiologia e Biofísica  
Pós-Graduação em Ciência Biológicas: Fisiologia e Farmacologia

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO  
SOBRE A INJÚRIA RENAL AGUDA INDUZIDA PELA  
GENTAMICINA**

JULIANA BARROS ALMEIDA

**Orientadora:** Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Aparecida Ribeiro Vieira

Belo Horizonte  
2014

**Juliana Barros Almeida**

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO MODERADO  
SOBRE A INJÚRIA RENAL AGUDA INDUZIDA PELA  
GENTAMICINA**

Dissertação 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, na área de concentração de Fisiologia, sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Maria Aparecida Ribeiro Vieira.

Belo Horizonte

2014

Este 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 Apoio financeiro das agências CAPES e FAPEMIG.

## Ficha catalográfica

Almeida, Juliana Barros

Efeito do treinamento físico moderado sobre a injúria renal aguda induzida gentamicina.

Belo Horizonte, 2014

78 páginas

Dissertação de Mestrado, apresentada à Universidade Federal de Minas Gerais. Área de concentração: Fisiologia

Orientadora: Vieira, Maria AR

1. Função renal. 2. injúria renal aguda.  
3. gentamicina. 4. treinamento físico.

**Aos meus queridos pais José Benedito de Almeida e Ednéa Martins de Barros Almeida, por todo amor dedicado.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo amparo nos momentos difíceis, por iluminar o meu caminho mostrando a direção correta a seguir e por ser uma presença constante em minha vida.

À prof<sup>a</sup> Maria Aparecida, minha orientadora, pela confiança e acolhida em um momento difícil.

À prof<sup>a</sup> Mércia por ter aberto a primeira porta e pela disposição em ajudar sempre.

Ao amigo Esdras pela valiosa ajuda na realização dos experimentos.

Ao prof. Marcelo Caliari, do Depto. de Patologia, pela grande contribuição nas análises morfológicas. Agradeço ainda aos seus alunos Fabrício e Moacir pela receptividade e ajuda sempre que necessária.

Ao prof. Anderson, por permitir a utilização do pletismógrafo e a todos os seus orientandos, em especial, à Tatiane, pela disposição em auxiliar.

Ao prof. Geovanni Dantas Cassali, pelo auxílio na análise histológica.

Aos meus queridos pais José Benedito e Ednéa, pela compreensão, ajuda infindável e por estarem sempre ao meu lado. A vocês sou eternamente grata por tudo que sou e conquistei.

Ao meu namorado Lúcio, ouvinte atento de dúvidas, inquietações, desânimos e, sobretudo, um grande parceiro de vida.

À minha querida irmã, Luciana, pela amizade, torcida, ajuda e companheirismo constante.

À tia Lalá, pessoa incrível a quem agradeço, sobretudo, por ensinar-me a ser uma pessoa mais forte, corajosa e destemida. Você é um exemplo de vida.

À Pituxa, cachorrinha de estimação que, por 15 anos, tornou meus dias mais doces e alegres.

Aos amigos que fiz durante essa jornada, especialmente à Rose e à Letícia.

À CAPES, pela concessão da minha bolsa de estudo.

À UFMG, instituição da qual muito me orgulho pois aqui obtive a graduação e, agora, tenho a oportunidade de obter o título de mestre.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

## LISTA DE ABREVIATURAS

- AMPc: Adensina monofosfato cíclico
- ATP: Adenosina trifosfato
- Ccreat: *Clearance* de creatinina
- CH<sub>2</sub>O: *Clearance* de água livre
- Cosm: *Clearance* osmolar
- FEH<sub>2</sub>O: Fração de excreção de água
- FEK<sup>+</sup>: Fração de excreção de potássio
- FENa<sup>+</sup>: Fração de excreção de sódio
- FU: Fluxo urinário
- GM: Gentamicina
- IRA: Injúria renal aguda
- NOS: Óxido nítrico sintetase
- RFG: Ritmo de filtração glomerular
- SAL: salina (NaCl 0,9%)
- Sed: Sedentário
- SHR: Ratos espontaneamente hipertensos
- T: treinado
- TEMP: Teste de esforço máximo progressivo
- VO<sub>2</sub>máx: consumo máximo de oxigênio

## RESUMO

Embora os efeitos benéficos do treinamento físico sobre o sistema cardiovascular sejam amplamente conhecidos, poucos são os dados a respeito dos seus possíveis efeitos em outros sistemas como, por exemplo, o sistema renal. Assim, o objetivo desse estudo foi investigar os efeitos do treinamento físico de intensidade moderada na melhoria da injúria renal aguda induzida pela gentamicina (GM). O experimento, com ratos Wistar, teve a duração de 5 semanas. Na 1ª semana, os ratos foram adaptados à esteira e às gaiolas metabólicas, nas quais foram colocados individualmente. Os ratos foram divididos nos grupos sedentário (Sed) e treinados (T). Estes ainda foram divididos nos subgrupos: Sed salina (Sed SAL), Sed GM, T salina (T SAL) e T GM. Na 2ª semana, iniciou-se o treinamento dos grupos T (T SAL e T GM) por meio de corrida em esteira (18 metros/min, 30 min/dia, 3 dias/semana, por 4 semanas) até a 5ª semana. Os grupos Sed (Sed SAL e Sed GM) também tiveram acesso à esteira (5 metros/min, 3 dias/semana, por 4 semanas). Ainda na 2ª semana, foi administrada GM (80 mg/kg/dia, 0,1 ml/100g) nos ratos dos grupos Sed GM e T GM por via subcutânea (s.c.), por 5 dias. Os grupos Sed SAL e T SAL receberam NaCl 0,9%, s.c., por 5 dias. Amostras de urina e sangue foram coletadas ao final de cada semana para avaliação de parâmetros de função renal. Ao final do experimento, os rins foram coletados para análises histológica e morfométrica. Os dados foram analisados por One-way Anova seguidos de teste de Newman-Kewls e teste t pareado, quando apropriado. Uma melhoria da função renal, no grupo T GM, foi observada, em geral, na 2ª e 3ª semanas de treinamento. Assim, na 2ª semana alguns parâmetros variaram como a seguir: creatinina plasmática (T GM,  $0,54 \pm 0,09$  vs Sed GM,  $1,08 \pm 0,15$  mg/dl), *clearance* de creatinina (T GM,  $1,36 \pm 0,22$  vs Sed GM,  $0,57 \pm 0,22$  L/24h), FEH<sub>2</sub>O (T GM,  $1,51 \pm 0,38$  vs Sed GM,  $7,46 \pm 1,89\%$ ), FENa<sup>+</sup> (T GM,  $0,86 \pm 0,15$  vs Sed GM,  $2,6 \pm 1\%$ ). Já a proteinúria, na 3ª semana, foi: grupo T GM,  $9,45 \pm 1,51$  vs Sed GM,  $17,77 \pm 3,95$  mg/24h e, ao final do experimento, a análise morfométrica mostrou: grupo T GM,  $54,23 \pm 7,30$  vs Sed GM,  $92,15 \pm 18,48$  células/campo e tamanho da área intersticial em  $\mu\text{m}^2$  – T GM,  $7.934,84 \pm 1.095,47$  vs Sed GM:  $10.711,0 \pm 1.097,7$ . Nesse estudo, as alterações na maioria dos parâmetros renais avaliados iniciaram na 2ª semana e persistiram até a 3ª semana, retornando aos níveis basais a partir desse período. Os dados sugerem, portanto, que o treinamento físico de intensidade moderada promoveu uma melhoria dos danos renais observados na injúria renal aguda induzida pela GM.

**Palavras chaves:** Função renal, injúria renal aguda, gentamicina, treinamento físico.

## ABSTRACT

Although beneficial effects of exercise training on cardiovascular system are well established, data regarding exercise effects on other physiological systems as renal system are scarce. Thus, the aim of this study was to investigate the effect of moderate aerobic exercise training in improving acute renal injury induced by gentamicin (GM). Experiment with Wistar rats lasted for 5 weeks. In the 1<sup>st</sup> week rats were adapted to treadmill and metabolic cages where they were kept individually. Rats were divided into sedentary (Sed) and trained (T) groups. Sed and T groups were then divided into Sed saline (Sed SAL), Sed GM, T saline (T SAL) and T GM subgroups. Exercise training of T groups (T SAL and T GM) in treadmill (18 meters/min, 30 min/day, 3 days/week, 4 weeks) started in the 2<sup>nd</sup> week and lasted until 5<sup>th</sup> week. Rats of Sed groups (Sed SAL and Sed GM) also had access to treadmill (5 meters/min, 5 min/day, 3 days/week, 4 weeks). In 2<sup>nd</sup> week GM (80 mg/kg/day, 0.1 ml/100g) was administered to rats of Sed GM and T GM groups, subcutaneously (s.c.), for 5 days. Rats of Sed SAL and T SAL groups were injected with 0.9% NaCl (sc), for 5 days. Urine and blood were collected at the end of each week in order to evaluate renal function parameters. At the end of experiment, kidneys were collected for histological and morphometric analysis. Data were analysed by One-way Anova followed by Newmann-Keuls test or by paired t test. An improvement in renal function of T GM group was observed in 2<sup>nd</sup> and 3<sup>rd</sup> weeks of training. In 2<sup>nd</sup> week some renal parameters were as following: plasma creatinine (T GM,  $0.54 \pm 0.09$  vs Sed GM,  $1.08 \pm 0.15$  mg/dl), creatinine clearance (T GM,  $1.36 \pm 0.22$  vs Sed GM,  $0.57 \pm 0.22$  L/24h), FEH<sub>2</sub>O (T GM,  $1.51 \pm 0.38$  vs Sed GM,  $7.46 \pm 0.89\%$ ), FENa<sup>+</sup> (T GM,  $0.86 \pm 0.15$  vs Sed GM,  $2.60 \pm 1.00\%$ ). In addition, proteinuria in the 3<sup>rd</sup> week was: T GM,  $9.45 \pm 1.51$  vs Sed GM,  $17.77 \pm 3.95$  mg/24h and, at the end of experiment, morphometric analysis showed: T GM group,  $54.23 \pm 7.30$  vs Sed GM,  $92.15 \pm 18.48$  cells/field and interstitial area in  $\mu\text{m}^2$ : T GM,  $7,934.8 \pm 1,095.5$  vs Sed GM,  $10,711.0 \pm 1097.7$ ). Renal changes usually started in 2<sup>nd</sup> week and remained in 3<sup>rd</sup> week reaching basal levels after that for most renal parameters evaluated. Data suggest that moderate aerobic training induces an improvement in renal damages observed in acute renal injury induced by GM.

**Keywords:** Renal function, acute renal injury, gentamicin, aerobic exercise.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Função renal.....	1
1.2 Injúria renal aguda .....	1
1.3 Gentamicina.....	3
1.4 Treinamento físico .....	4
1.5 Treinamento físico e função renal .....	8
2. OBJETIVOS.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 Objetivos específicos .....	14
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	15
3.1 Animais .....	15
3.2 Aclimação .....	15
3.3 Indução da injúria renal aguda por gentamicina .....	17
3.4 Protocolo experimental do treinamento físico aeróbio moderado .....	17
3.5 Parâmetros experimentais avaliados .....	19
3.6 Avaliação da atividade da enzima citrato sintase.....	21
3.7 Avaliação das respostas hemodinâmicas .....	22
3.8 Procedimentos analíticos para avaliação da função renal .....	23
3.8.1 Dosagem de creatinina .....	23
3.8.2 Dosagem de sódio e potássio.....	24
3.8.3 Determinação das osmolalidades plasmática e urinária .....	25
3.8.4 Cálculo dos outros parâmetros renais .....	25
3.8.5 Proteinúria .....	26
3.9 Análise morfológica renal .....	26
3.9.1 Análise histológica .....	27
3.9.2 Análise morfométrica.....	28
3.10 Análise estatística .....	28

4. RESULTADOS.....	29
4.1 Parâmetros gerais.....	29
4.1.1 Peso Corporal.....	29
4.1.2 Ingestão de água.....	30
4.1.3 Balanço hídrico.....	30
4.2 Avaliação do treinamento físico.....	31
4.2.1 Teste de esforço máximo progressivo.....	31
4.2.2 Atividade da enzima citrato sintase.....	33
4.3 Parâmetros hemodinâmicos.....	33
4.3.1 Pressão arterial média e frequência cardíaca.....	33
4.4 Função renal.....	34
4.4.1 Creatinina plasmática.....	34
4.4.2 <i>Clearance</i> de creatinina, fluxo urinário e fração de excreção de água.....	35
4.4.3 Excreção urinária de sódio e potássio.....	37
4.4.4 <i>Clearance</i> osmolar e <i>clearance</i> de água livre.....	37
4.4.5 Proteinúria.....	40
4.4.6 Análise morfológica.....	41
4.4.7 Morfometria.....	42
5. DISCUSSÃO.....	44
5.1 Considerações gerais.....	44
5.2 Avaliação da eficácia do treinamento físico.....	44
5.3 Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos.....	45
5.4 Avaliação da função renal.....	46
6. CONCLUSÕES.....	54
6.1 Avaliação do treinamento físico.....	54
6.2 Avaliação da função renal.....	54
7. REFERÊNCIAS.....	55

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> – Estrutura química da gentamicina ( $C_{21}H_{43}N_5O_7$ ).....	03
<b>Figura 2</b> – Vista superior da esteira rolante utilizada no treinamento físico.....	16
<b>Figura 3</b> – Representação esquemática da gaiola metabólica e vista frontal da gaiola metabólica utilizada no estudo.....	16
<b>Figura 4</b> – Sequência dos procedimentos adotados ao longo das 5 semanas experimentais.....	20
<b>Figura 5</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o peso corporal de ratos tratados e não tratados com GM.....	29
<b>Figura 6</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a ingestão de água por ratos com injúria renal aguda induzida por GM.....	30
<b>Figuras 7</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o balanço hídrico em ratos tratados e não tratados com gentamicina.....	31
<b>Figura 8</b> – Tempo total de exercício e velocidade máxima alcançados pelos ratos no 1º TEMP.....	32
<b>Figura 9</b> – Tempo total de exercício e velocidade máxima alcançados pelos ratos no 2º TEMP.....	33
<b>Figura 10</b> – Atividade da enzima citrato sintase do músculo sóleo ao final do treinamento.....	34
<b>Figura 11</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a pressão arterial média e frequência cardíaca de ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina .....	35
<b>Figura 12</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a concentração de creatinina plasmática em ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	36
<b>Figura 13</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o Ccreat (A), FU (B) e FEH <sub>2</sub> O (C) em ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	38
<b>Figura 14</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a FENa <sup>+</sup> e FEK <sup>+</sup> em ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	39

<b>Figura 15</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o Cosm e $\text{CH}_2\text{O}$ livre em ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	39
<b>Figura 16</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a excreção urinária de proteína em ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	40
<b>Figura 17</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o aspecto morfológico de rins de ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	41
<b>Figura 18</b> – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o número de células (A) e área intersticial (B) de rins de ratos com injúria renal aguda induzida por gentamicina.....	43

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Função renal

Os rins realizam uma ampla variedade de funções no organismo, sendo a maioria delas de fundamental importância para a vida. Dentre as funções realizadas pelos rins estão a regulação do equilíbrio hídrico e eletrolítico, excreção de resíduos metabólicos e substâncias bioativas – hormônios e muitas outras substâncias estranhas, especialmente fármacos – que afetam a função do organismo, regulação da pressão arterial, produção de eritrócitos, por meio da síntese da eritropoietina, e regulação da produção de vitamina D. O processo de gliconeogênese, embora ocorra principalmente no fígado, também ocorre no tecido renal (Eaton & Pooler, 2006).

Quando os rins, por algum motivo, tornam-se incapazes de remover os produtos da degradação metabólica do organismo ou de realizar suas funções reguladoras, instala-se a injúria renal (Ribeiro *et al.*, 2008). A injúria renal é uma doença sistêmica e consiste na via comum de muitas doenças renais e do trato urinário (Smeltzer & Bare, 2002), além de outras doenças sistêmicas como a hipertensão arterial sistêmica e diabetes *mellitus* (Jenkis *et al.*, 2010).

## 1.2 Injúria renal aguda

Quando os rins diminuem, de forma lenta e gradual, a sua capacidade funcional instala-se um processo conhecido como doença renal crônica, patologia que apresenta grande importância na morbidade e mortalidade no Brasil. Estudo epidemiológico realizado no Brasil sobre terapia renal

substitutiva revelou que em 2009 havia 77.589 pacientes em diálise e que a prevalência e a incidência de doença renal crônica em estágio terminal correspondia a cerca de 405 e 144 por milhão na população, respectivamente (Sesso *et al.*, 2010). Essa disfunção caracteriza-se por alterações na taxa de filtração glomerular e/ou presença de lesão parenquimatosa mantidas por pelo menos três meses (Kirsztajn & Bastos, 2007).

Por outro lado, a diminuição da função renal pode ocorrer de maneira abrupta e nesse caso é denominada por injúria renal aguda (IRA) (Portella *et al.*, 2012). Nessa situação os rins podem, em um período futuro, recuperar o seu funcionamento de maneira quase normal (Guyton & Hall, 2011; Portella *et al.*, 2012). Com a perda da função renal ocorre acúmulo de substâncias nitrogenadas (ureia e creatinina) e incapacidade renal de manter a homeostase hidroeletrólítica do organismo (Monedero *et al.*, 2011). A redução do ritmo de filtração glomerular (RFG) e do fluxo sanguíneo renal é o ponto crucial da IRA (Santos, 2001). No entanto, apesar dos avanços importantes obtidos no entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da doença, nas técnicas de terapia intensiva e nos métodos dialíticos a mortalidade se mantém elevada, em torno de 50% dos casos (Schor *et al.*, 2003).

Diante das dificuldades de se investigar, em humanos, os mecanismos pelos quais essa fisiopatologia aguda se instala e evolui, tem sido utilizados modelos experimentais de IRA em animais objetivando reproduzir esse quadro em relação ao observado na prática clínica (Zhou *et al.*, 2000; Chen *et al.*, 2003). Esses modelos de estudo permitem, portanto, uma análise mais aproximada e detalhada dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nesse distúrbio.

### 1.3 Gentamicina

Dentre os modelos de estudo utilizados encontra-se a IRA induzida por medicação como, por exemplo, por antibióticos como a gentamicina (GM) (Singh *et al.*, 2012). A GM é um aminoglicosídeo comumente utilizado na prática clínica no tratamento de infecções por bactérias Gram-negativas, porém, é altamente nefrotóxico. Dados demonstram que aproximadamente 30% dos pacientes tratados com esse fármaco por um período maior que sete dias apresentam sinais de nefrotoxicidade e a porcentagem dos pacientes com lesões renais aumenta com a duração do tratamento atingindo cerca de 50% após o 14º dia (Ali, 2003; Atessahin *et al.*, 2003). A toxicidade da GM é atribuída aos grupamentos amina encontrados em sua constituição molecular (Santos *et al.*, 1990) (Fig. 1).

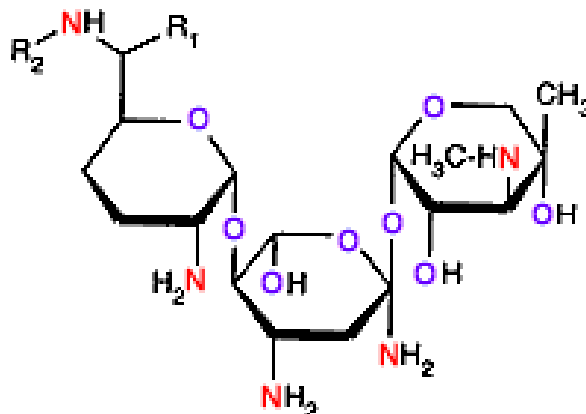


Figura 1 – Estrutura química da GM (C<sub>21</sub>H<sub>43</sub>N<sub>5</sub>O<sub>7</sub>).

A lesão causada pela GM tem sido, tradicionalmente, caracterizada por lesão no túbulo proximal, denominada de necrose tubular aguda (Ekor *et al.*, 2006). A droga acumula-se nas células epiteliais tubulares, especialmente nos

lisossomos, causando uma série de efeitos como destruição da borda em escova, necrose tubular, apoptose e proteólise maciça. Além disso, também provoca morte celular por geração de radicais livres, fosfolipidose, estimulação do receptor sensível ao cálcio extracelular e catástrofe energética, redução do fluxo sanguíneo renal e inflamação. Contudo, os danos causados pela GM não são apenas tubulares uma vez que a redução do RFG e consequente aumento da concentração plasmática de creatinina são quadros característicos da nefrotoxicidade causada por esse fármaco (Cuzzocrea *et al.*, 2002; Ekor *et al.*, 2006; Portella *et al.*, 2012) e não podem ser explicados apenas por obstruções causadas por detritos celulares nos túbulos renais. De fato, estudos mais recentes têm demonstrado interações tubulares, glomerulares e vasculares da GM para explicar a nefrotoxicidade observada no tratamento com esse fármaco (Lopez-Novoa *et al.*, 2011).

Diante da gravidade que representa o quadro de injúria renal, é muito importante que múltiplas estratégias terapêuticas sejam adotadas para se evitar a instalação e cronificação desse distúrbio. Nesse sentido, ressalta-se que medidas terapêuticas não farmacológicas, como a prática de exercícios físicos, por exemplo, além de apresentarem baixo custo, apresentam risco mínimo para saúde e ainda podem contribuir para o aumento da eficácia do tratamento medicamentoso.

## **1.4 Treinamento físico**

O exercício físico é uma situação que requer um aumento da demanda energética da musculatura exercitada e, conseqüentemente, do organismo como um todo, retirando-o de sua homeostase (Brum *et al.*, 2004). Enquanto

uma única sessão leva a comportamentos fisiológicos transitórios, a realização de várias sessões de exercício físico produzem adaptações crônicas que podem ser denominadas de respostas ao treinamento físico (Hamer *et al.*, 2006).

O treinamento físico tem papel bastante relevante para a saúde, pois atua na prevenção e no tratamento de diversas patologias, entre elas a hipertensão arterial sistêmica (Pescatello *et al.*, 2004; Coelho & Burini, 2009; Leosco *et al.*, 2013; Sharman *et al.*, 2014), dislipidemias e diabetes *mellitus*, causas importantes de morbidade e mortalidade entre adultos e idosos (Coelho & Burini, 2009).

Estudos demonstram que tanto o treinamento físico aeróbio quanto o resistido promovem melhorias na saúde (Kelley *et al.*, 2000; Fagard *et al.*, 2001; Moraes *et al.*, 2005; Casonatto *et al.*, 2009). O treinamento físico aeróbio é geralmente definido como a prática regular de qualquer exercício que envolva o uso de grandes grupos musculares por intensidade e duração suficientes para treinar o sistema cardiorrespiratório (ACSM, 2003). Nesse tipo de treinamento físico há o predomínio do metabolismo aeróbio, ou seja, da via oxidativa para o fornecimento de ATP, tendo carboidratos e gordura como seus principais substratos energéticos (Fox *et al.*, 1992)

O treinamento físico causa adaptações que conferem maior capacidade ao organismo para responder ao estresse do exercício (Diretriz de reabilitação cardíaca, 2005). Desta forma, após ajustes morfológicos e funcionais, um exercício de mesma intensidade absoluta (mesma velocidade e inclinação da esteira, por exemplo), provocaria menores efeitos agudos após um período de treinamento físico (Moraes *et al.*, 2005). Ainda segundo Moraes *et al.* (2005), as adaptações decorrentes do treinamento físico podem ser muito heterogêneas,

dependendo não só das características do exercício a ser realizado, mas também da presença de condições patológicas associadas e da capacidade funcional prévia do praticante.

Dentre as abordagens mais discutidas relacionadas ao treinamento físico estão as melhorias que ele promove no sistema cardiovascular, principalmente, aquelas induzidas pelo treinamento físico aeróbio (Almeida & Araújo, 2003; Cornelissen & Fagard, 2005). Esse tipo de treinamento, de modo geral, aumenta o volume sistólico máximo, o débito cardíaco máximo e a tolerância à acidose muscular, permitindo o alcance do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2$  máx) (Moraes *et al.*, 2005).

Os componentes essenciais do treinamento físico são a intensidade, a duração, a frequência e a progressão do exercício. A interação dessas variáveis resulta na sobrecarga cumulativa à qual o tecido ou órgão terá que adaptar-se. Protocolos de treinamento físico aeróbio usados recentemente em estudos com ratos, camundongos e coelhos foram determinados a partir das respostas desses animais aos testes de esforço máximo progressivo (TEMP) (Véras-Silva *et al.*, 1997; Moraes *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2005; Evangelista *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2005;). Semelhante aos estudos conduzidos em humanos, nem todos os TEMP realizados em animais são acompanhados da medida direta do  $VO_2$  máx (Moraes *et al.*, 2004; Carvalho *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2005;).

A intensidade ideal do treinamento físico que promove benefícios à saúde é um tema controverso na literatura. Estudos têm demonstrado que a intensidade moderada, em conjunto com uma regularidade de treino, parece ser a mais eficiente, por exemplo, na promoção de benefícios à função

endotelial. Ao contrário, exercícios de leve e alta intensidades não foram capazes de gerar nenhum benefício semelhante (Goto *et al.*, 2003).

Já Rossoni *et al.* (2011), descrevem que os exercícios de leve a moderada intensidade são capazes de reverter alterações cardíacas associadas à hipertensão arterial sistêmica reduzindo, inclusive, a pressão arterial (Véras-Silva *et al.*, 1997; Rondon & Brun, 2003; Laterza *et al.*, 2007). Corroborando com essa idéia Pinho *et al.* (2010) também relatam que o treinamento físico de intensidade leve a moderada, é recomendado para a manutenção da saúde e prevenção de inúmeras doenças cardiovasculares. Além disso, segundo Polidori *et al.* (2000), exercícios regulares nessa faixa de intensidade reduzem a produção de oxidantes e a ocorrência de danos oxidativos melhorando o sistema de defesa antioxidante e aumentando a resistência dos órgãos e tecidos contra a ação deletéria dos radicais livres.

Por outro lado, exercícios de alta intensidade, segundo Ferreira *et al.* (2003), podem acarretar dores articulares, musculares e fadiga precoce acarretando menor adesão do praticante ao programa. Além disso, parecem induzir reações inflamatórias e produção exacerbada de radicais livres (Telesi & Manchado, 2008; Pinho *et al.*, 2010; Ochoa *et al.*, 2011). Ademais, segundo estudo realizado por Véras-Silva *et al.* (1997), o treinamento físico de alta intensidade também não foi capaz de reduzir a pressão arterial após 12 semanas de treinamento em ratos espontaneamente hipertensos. Reduções crônicas na pressão arterial parecem ser maiores para treinamentos com intensidades moderadas do que para altas intensidades (Kesaniemi *et al.*, 2001). Nesse contexto, durante o exercício, treinar em intensidades moderadas pode repercutir em menor estresse cardíaco, além do resultado, a longo prazo, ser mais eficiente. Assim, apesar da polêmica existente em torno

dessa questão, a intensidade moderada parece ser a mais apropriada para indivíduos sedentários que buscam benefícios cardiovasculares por meio do exercício aeróbico regular (Goto *et al.*, 2003; Almeida & Araújo *et al.*, 2003; Santulli *et al.*, 2013).

## 1.5 Treinamento físico e função renal

Os benefícios do exercício aeróbio crônico sobre o coração aumentaram a expectativa de vida, bem como reduziram a ocorrência de eventos cardiovasculares (ACSM, 2003). Como mencionado, existem atualmente inúmeros estudos que abordam variáveis relacionadas a tais benefícios (Powers & Howley, 2009; Mcardle *et al.*, 2011). Nestes trabalhos, as adaptações cardiovasculares, seguidas de adaptações bioquímicas e metabólicas induzidas pelo treinamento físico aeróbio, são investigadas com frequência bastante superior quando comparada aos estudos referentes às adaptações geradas em outros sistemas fisiológicos. Ressalta-se, por exemplo, que não há menção às adaptações renais causadas pelo exercício aeróbio regular nessas fontes bibliográficas. Contudo, apesar dos poucos trabalhos, tem sido demonstrado que o exercício aeróbio crônico apropriado melhora a qualidade de vida e a baixa capacidade funcional de pacientes com doenças renais (Cheema & Singh, 2005; Molsted *et al.*, 2004; Kanazawa *et al.*, 2006).

Diante a escassez de dados relacionando exercício físico e função renal, em 2009, foi instalado no laboratório de Fisiologia Renal “Prof. Fernando Alzamora” uma esteira que permite o treinamento físico de animais, a fim de se investigar seu possível efeito sobre o sistema renal. O primeiro trabalho realizado nesse período objetivou mostrar se, mesmo em animais saudáveis, o

treinamento físico era capaz de produzir adaptações a nível renal (Ribeiro, 2009). Os ratos foram então submetidos a um protocolo que consistiu em um período de treinamento de oito semanas com sessões de 60 min/dia e frequência de 5 dias/semana. Os resultados, dentre outros, mostraram que os animais treinados em relação aos não treinados apresentaram uma menor fração de excreção de sódio ( $FENa^+$ ), acompanhada por uma tendência de aumento da aldosterona plasmática, assim como uma menor fração de excreção de potássio ( $FEK^+$ ). Além disso, os animais treinados apresentaram um *clearance* de água livre mais negativo ( $CH_2O$ ) em relação aos não treinados, fato esse acompanhado por um aumento plasmático do hormônio anti-diurético (HAD) ou vasopressina.

Contudo, a maioria dos trabalhos existentes na literatura que procuram investigar a relação entre treinamento físico e sistema renal utilizam animais já debilitados por alguma patologia. Por exemplo, Mustata *et al.* (2011) mostraram que o treinamento físico em pacientes com doença renal crônica é capaz de diminuir o índice de rigidez arterial, o que pode ser atribuído ao aumento da produção e atividade da óxido nítrico sintetase (NOS), bem como de fatores que afetam a estrutura da parede vascular. Esse mesmo trabalho demonstrou que o treinamento físico, por 12 meses, acarretava uma melhora importante da capacidade física que, normalmente, está diminuída nesses pacientes. Ainda nesse contexto, estudo conduzido por Ito *et al.* (2013), mostrou que ratos espontaneamente hipertensos (SHR) submetidos à corrida regular em esteira apresentaram, após 8 semanas de treinamento físico, pressão arterial significativamente diminuída em decorrência da elevação da NOS em segmentos renais. Além disso, esses animais também apresentaram redução da excreção urinária de albumina e redução dos níveis de substâncias reativas

ao ácido tiobarbitúrico e da atividade NADPH oxidase renal, além de aumento da depuração da creatinina.

Evidências de efeito anti-inflamatório do exercício físico moderado em indivíduos com doença renal crônica foi avaliado por Viana *et al.* (2014). Nesse estudo, os pesquisadores tiveram como objetivo avaliar, em separado, o efeito do exercício agudo e do exercício regular aeróbio de intensidade moderada sobre o estado inflamatório, decorrente da disfunção do sistema imunológico, presente em quadros de doença renal crônica. Uma única sessão aguda de caminhada resultou em padrão normal de mobilização de leucócitos sem efeito na ativação de monócitos ou linfócitos T. Contudo, houve melhora na responsividade de neutrófilos a desafio bacteriano no período pós-exercício. Já após um protocolo de treinamento aeróbio moderado de 30 min/dia, 5x/semana, por um período de 6 meses (caminhada regular), pacientes acometidos por essa patologia obtiveram redução plasmática dos níveis de interleucinas 6 e 10 (IL-6 e IL-10), além de regulação para baixo de linfócitos T e ativação de monócitos. Contudo, a função renal, proteinúria e pressão arterial não foram alteradas nesses indivíduos. Por outro lado, Heifets *et al.* (1987) verificaram melhora da função renal após treinamento físico independentemente da influência da pressão arterial. Nesse estudo, ratos foram submetidos inicialmente a 1 ½ nefrectomia subtotal e posteriormente ao treinamento físico moderado em piscina (natação) por dois meses. Os ratos treinados apresentaram melhora dos parâmetros renais como aumento do *clearance* de creatinina e redução da proteinúria, bem como dos níveis de colesterol de baixa densidade e triglicerídeos. Uma redução da proteinúria também foi obtida em estudo realizado por Ito *et al.* (1992). Nesse trabalho, ratos tiveram nefrite induzida após injeção de anticorpos anti-membrana basal

glomerular seguido de ligadura da artéria renal esquerda após nefrectomia de rim direito e foram submetidos a exercício moderado em esteira por 10 semanas. Ratos sedentários com nefrite sofreram aumento progressivo de proteinúria no decorrer do experimento, enquanto os ratos nefríticos submetidos ao exercício em esteira diariamente apresentaram menor proteinúria. Além disso, exames microscópicos revelaram lesão glomerular grave nos ratos nefríticos sedentários. Em contrapartida, menor dano glomerular foi observado nos ratos nefríticos treinados.

O quadro I sumariza os estudos descritos anteriormente bem como seus respectivos objetivos e resultados encontrados.

**Quadro 1** – Sumário dos objetivos e resultados dos estudos descritos acima.

Autor(es)/ano	Objetivo(s)	Resultados
Ribeiro, 2009	Analisar o efeito do treinamento físico no sistema renal de ratos saudáveis.	O treinamento físico em esteira, por 8 semanas, reduziu a FENa <sup>+</sup> e a FEK <sup>+</sup> e tornou o CH <sub>2</sub> O livre mais negativo com concomitante com aumento do HAD plasmático.
Mustata <i>et al.</i> , 2011	Analisar o efeito do treinamento físico sobre os parâmetros funcionais de indivíduos com doença renal crônica.	O treinamento físico promoveu melhora da capacidade física, aumento do VO <sub>2</sub> máx e melhora da qualidade de vida após 12 meses de treinamento.
Ito <i>et al.</i> , 2013	Avaliar os efeitos do treinamento físico na NOS de segmentos renais de ratos SHR.	O treinamento físico em esteira, por 8 semanas, elevou a NOS renal reduziu a pressão arterial e a albuminúria. Houve redução dos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e da atividade da NADPH oxidase renal e aumento da depuração de creatinina.
Viana <i>et al.</i> , 2014	Avaliar, em separado, o efeito do exercício agudo e do exercício regular aeróbio de intensidade moderada sobre o estado inflamatório presente em quadros de doença renal crônica.	Após uma única sessão aguda de caminhada, houve melhora na responsividade de neutrófilos a um desafio bacteriano. Já após um protocolo de treinamento aeróbio moderado (30 min/dia, 5x/semana, 6 meses) (caminhada regular), os pacientes apresentaram redução dos níveis plasmáticos de IL-6 e IL-10, além de regulação para baixo de linfócitos T e ativação de monócitos.
Heifets <i>et al.</i> , 1987	Determinar o efeito do treinamento físico moderado (natação) em ratos com insuficiência renal moderada.	Após nefrectomia subtotal, ratos submetidos à natação, por dois meses, apresentaram aumento do <i>clearance</i> de creatinina e redução da proteinúria, bem como dos níveis de colesterol de baixa densidade e triglicerídeos.
Ito <i>et al.</i> , 1992	Avaliar o efeito do exercício em ratos com IRA.	Ratos nefríticos submetidos ao exercício diário em esteira por 10 semanas apresentaram proteinúria reduzida e menor dano glomerular.

Apesar dos resultados animadores já obtidos, ainda há muitas questões a serem avaliadas sobre os efeitos do exercício aeróbio regular na função renal. A análise dessa interação servirá para identificar os benefícios do exercício físico aeróbio sobre o sistema renal contribuindo futuramente para prescrição de exercícios para indivíduos saudáveis ou já acometidos por alguma disfunção renal.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Avaliar um possível efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a IRA induzida pela GM.

### 2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito do treinamento físico de intensidade moderada sobre parâmetros renais, tais como: *clearance* de creatinina, excreção de água e eletrólitos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$ ) e proteinúria em ratos com IRA induzida pela GM;
- Avaliar o efeito do treinamento físico de intensidade moderada sobre os aspectos morfológico e morfométrico renais em ratos com injúria renal aguda induzida pela GM.

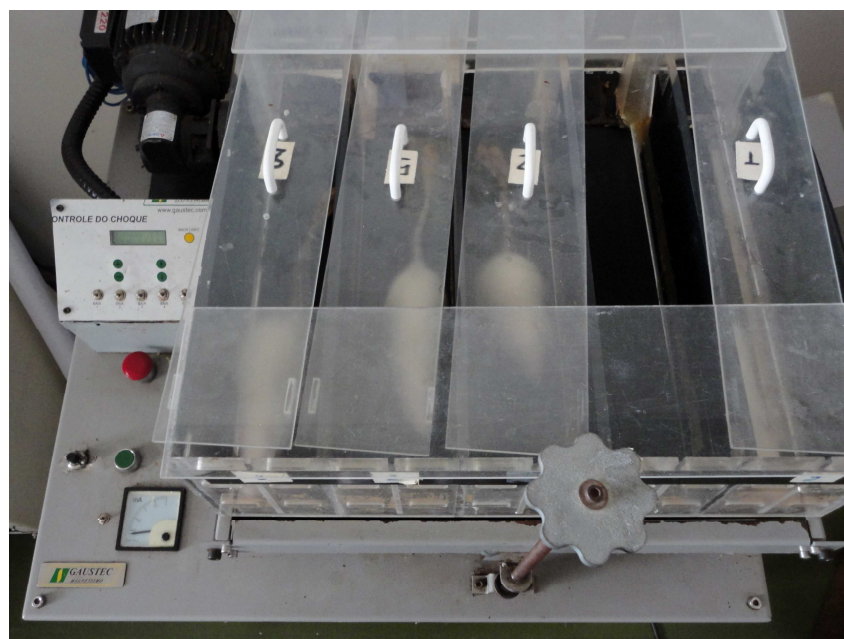
### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Animais**

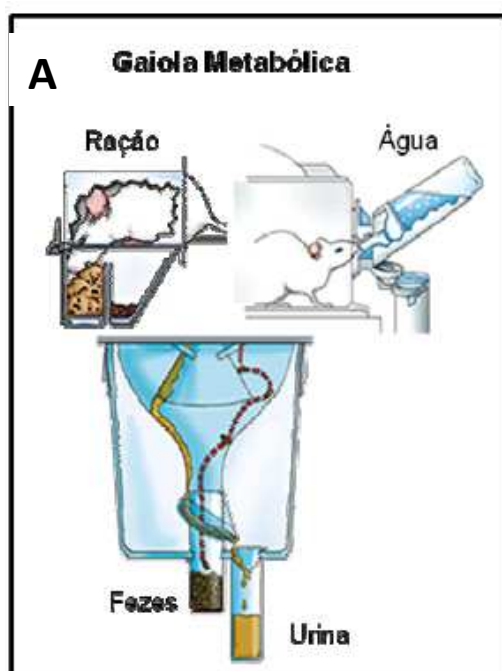
Para o desenvolvimento desse trabalho foram utilizados ratos Wistar, machos, procedentes do Centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, com peso variando entre 250 e 300g. Desde o nascimento, os animais foram mantidos sob um ciclo de claridade - escuridão 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 177/2008).

#### **3.2 Aclimação**

Na 1ª semana, antes da indução da IRA, os ratos foram adaptados na esteira rolante. Esse procedimento foi realizado visando familiarizar os animais ao local do experimento e ainda permitir que os mesmos “aprendessem” a correr na esteira (Gaustec, Belo Horizonte/MG) (Fig. 2). Nessa fase inicial a velocidade utilizada foi entre 5 e 8 metros/min, durante 5 dias por período de 5 min/dia. No 5º dia, os animais foram colocados, individualmente, em gaiolas metabólicas (Figs. 3A e 3B) durante um período de 3 dias para aclimação com o propósito de se adaptarem ao novo ambiente reduzindo-se, assim, o estresse. Durante este período de aclimação, a adaptação à esteira rolante teve continuidade usando o mesmo procedimento acima (5 min/dia, 5 – 8 metros/min).



**Figura 2** – Vista superior da esteira rolante utilizada para o treinamento aeróbio de ratos.



**Figura 3** – Representação esquemática da gaiola metabólica na qual é possível monitorar a ingestão de água e ração, volume urinário e produção de fezes (**A**). **B**, vista frontal da gaiola metabólica utilizada nesse estudo. Os ratos foram mantidos, individualmente, em tais gaiolas desde a adaptação até o final do estudo.

### **3.3 Indução da injúria renal aguda por gentamicina**

A indução da IRA e o treinamento físico de intensidade moderada tiveram início no 1º dia da 2ª semana do experimento. Os ratos foram, aleatoriamente, divididos em dois grupos: i) ratos sedentários (Sed) e ratos treinados (T). Esses grupos, por sua vez, foram subdivididos em: Sed SAL e Sed GM (Sed tratados com NaCl 0,9% e GM, respectivamente) e T SAL e T GM (T tratados com NaCl 0,9% e GM, respectivamente).

A GM (Gentatec®, 80 mg/kg/dia em 2 doses diárias sendo 40 mg/kg no período da manhã e 40 mg/kg no período da tarde em um volume de 0,1 ml/100g de peso corporal da solução 40 mg/ml, por 5 dias) foi administrada, via subcutânea, nos ratos dos grupos Sed GM e T GM. Nos ratos dos grupos Sed SAL e T SAL foi administrado 0,1 ml/100g de peso corporal de NaCl 0,9%, seguindo o mesmo protocolo usado para a GM.

### **3.4 Protocolo experimental do treinamento físico aeróbio moderado**

Após o período de adaptação na esteira (5 dias), foi realizado o 1º TEMP baseado no protocolo de Carvalho *et al.* (2005) para determinação da velocidade de corrida correspondente à intensidade moderada. Alguns parâmetros medidos em TEMP ou em testes não exaustivos vem sendo utilizados como preditores da intensidade do treinamento aeróbio em animais, na ausência da medida do  $VO_{2máx.}$ , sendo eles: a velocidade máxima de corrida atingida no TEMP, o limiar de lactato sanguíneo, a velocidade crítica e o estado estável do lactato sanguíneo. Todos esses parâmetros mostraram-se

adequados para tal objetivo (Billat *et al.*, 2005; Carvalho *et al.*, 2005; Manchado *et al.*, 2005; Martins *et al.*, 2005; Priviero *et al.*, 2004).

O TEMP foi realizado na esteira sem inclinação. Todos os animais foram submetidos, primeiramente, a um período de 5 min de aquecimento a uma velocidade de 5 metros/min. Após um período de 3 min, os ratos iniciaram o teste com a velocidade de 6 metros/min e a cada 3 min de exercício houve incremento da mesma em 3 metros/min. A velocidade foi aumentada até que o animal atingisse a fadiga, caracterizada pela recusa do rato em continuar a correr, mesmo sob a influência de estimulação elétrica de baixa intensidade no local inicial da corrida e/ou pela perda da coordenação motora das patas (American physiological society, 2006). Nesse estágio a velocidade máxima alcançada pelo animal foi anotada e utilizada para determinar a velocidade do treinamento físico de intensidade moderada, a qual foi equivalente a 60% do valor da velocidade máxima alcançada.

O treinamento físico aeróbio moderado foi realizado a uma velocidade média de 18 metros/min, por 30 min, 3 vezes/semana até a 5ª semana (tempo total do treinamento: 4 semanas). Os animais sedentários também foram colocados na esteira a uma velocidade de 5 metros/min, por 5 min, 3 vezes/semana também até a 5ª semana. No dia anterior ao sacrifício dos animais (último dia da 5ª semana), um 2º TEMP foi realizado em todos os animais.

O quadro II sumariza os grupos experimentais, bem como os protocolos de indução da IRA e do exercício aeróbio moderado.

**Quadro 2** – Sumário dos grupos experimentais e do protocolo de indução de injúria renal aguda por GM e do treinamento físico.

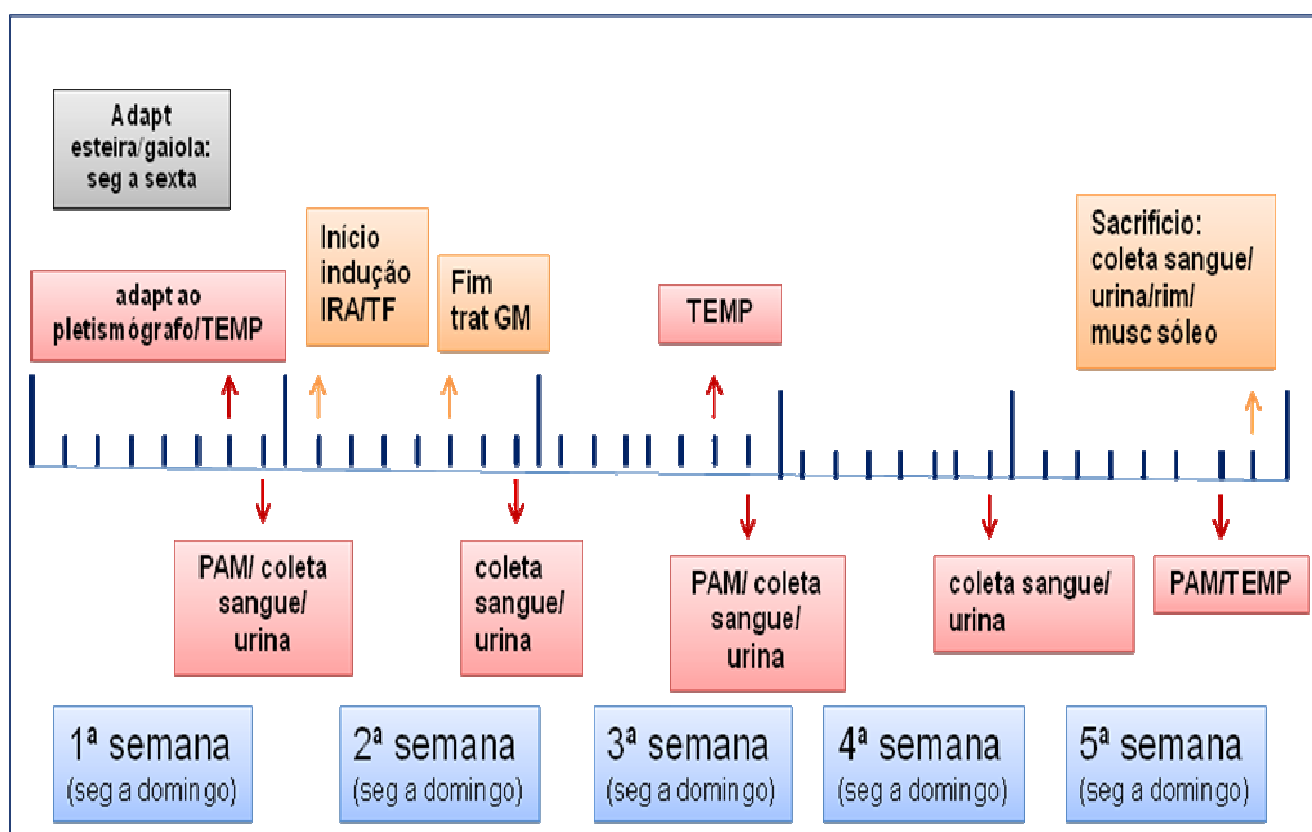
Grupos	1ª semana	2ª semana	2ª à 5ª semana
	Anterior à indução da IRA e ao treinamento físico	Indução da IRA (GM ou NaCl 0,9%-controle)	Treinamento físico
Sed SAL (8)	Esteira por 5 dias, aclimatação nas gaiolas metabólicas por 3 dias (últimos 3 dos 7 dias)	NaCl 0,9%, subcutâneo, 2x/dia, 5 dias	Não Esteira (5 min, 3x/semana)
Sed GM (12)	Esteira por 5 dias, aclimatação nas gaiolas metabólicas por 3 dias (últimos 3 dos 7 dias)	GM 80 mg/kg/dia: 40 mg/kg pela manhã e 40 mg/kg à tarde, subcutâneo, 5 dias	Não Esteira (5 min, 5-8 m/min, 3x/semana)
T SAL (8)	Esteira por 5 dias, aclimatação nas gaiolas metabólicas por 3 dias (últimos 3 dos 7 dias)	NaCl 0,9%, subcutâneo, 2x/dia, 5 dias	<b>Sim</b> Esteira (30 min, 3x/semana, ~18m/min)
T GM (12)	Esteira por 5 dias, aclimatação nas gaiolas metabólicas por 3 dias (últimos 3 dos 7 dias)	GM 80 mg/kg/dia: 40 mg/kg pela manhã e 40 mg/kg à tarde, subcutâneo, 5 dias	<b>Sim</b> Esteira (30 min, 3x/semana, ~18m/min)
<b>TOTAL 40 ANIMAIS*</b>			
* representa o número de animais no início do experimento.			

### 3.5 Parâmetros experimentais avaliados

Durante todo o período experimental, o fluxo urinário e a ingestão de água foram medidos diariamente, enquanto que o peso corporal foi determinado ao final de cada uma das 5 semanas. A pressão arterial média e a frequência cardíaca foram aferidas 3 vezes ao longo do experimento: antes do início do exercício aeróbio moderado (fim da 1ª semana), no início da 3ª semana e ao término (fim da 5ª semana) do estudo, na véspera do sacrifício dos animais.

Ao final de cada uma das 5 semanas, alíquotas de urina (~ 1 ml) e de sangue (~ 1 ml, de uma das veias da cauda) foram coletadas. O plasma foi separado por centrifugação (5000 rpm, 10 min) e, juntamente com a urina, foram armazenados a -20 °C para análises posteriores de concentração de creatinina, osmolalidade, Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> e proteinúria. Ao término do experimento (fim da 5ª semana), os ratos foram sacrificados e os rins isolados para análises morfológica e morfométrica. Uma porção do músculo sóleo também foi coletada para determinação da atividade da enzima citrato sintase.

A Figura 4 apresenta um esquema resumindo a sequência dos procedimentos adotados ao longo de todo o experimento:



**Figura 4 – Sequência dos procedimentos adotados ao longo das 5 semanas experimentais.** Adapt, Adaptação; IRA, Injúria renal aguda; TF, Treinamento físico; GM, Gentamicina; PAM, Pressão artéria média; TEMP, Teste de esforço máximo progressivo.

### 3.6 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 sedentários. Para a determinação da atividade da citrato sintase, os mesmos foram homogeneizados em PBS 10 mM (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,9 mM,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  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 citrato sintase 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.

Sucintamente, 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  $\mu\text{L}$  do homogeneizado para incubação e transferido para placas de 96 poços. A reação foi iniciada pela adição de 10  $\mu\text{L}$  de oxaloacetato 10 mM ao meio de ensaio e a cinética da reação se realizou 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

reusltados foram expressos em  $\mu\text{mol/ml/min/mg}$  de tecido muscular (Alp *et al.*, 1976).

### **3.7 Avaliação das respostas hemodinâmicas**

A aferição da pressão arterial média e da frequência cardíaca foi realizada três vezes durante o período experimental: ao final da primeira semana, anterior ao início do treinamento físico e ao final da terceira e quinta semanas. As medições iniciavam-se sempre pela manhã e nesses dias os animais não eram submetidos a esteira, excetuando-se a última aferição, a qual foi realizada previamente ao 2° TEMP na última semana do experimento, na véspera do sacrifício dos animais.

A avaliação foi feita por pletismografia de cauda (Kent Scientific, CODA - Torrington, CT, EUA), nos quatro grupos de animais. Os animais permaneciam acordados, em repouso, em ambiente livre de ruído e mantidos sob restrição de movimentos em uma câmara cilíndrica de acrílico e colocados sobre uma placa de aquecimento para que as medidas fossem realizadas (Fernandes *et al.*, 2012).

O equipamento de registro da pressão arterial de cauda consiste em um manguito de borracha que é adaptado à região proximal da cauda, que fica conectado ao pletismógrafo para insuflar e desinsuflar gradualmente o manguito de 1 a 250/300mmHg. Em uma região 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 no sistema de aquisição de dados.

Foram obtidas no mínimo 5 medidas a cada sessão e a média foi calculada para obter o valor final da pressão arterial. Para evitar erros de

medida e análise, os ratos foram previamente submetidos à ambientação com a técnica de medida. A adaptação dos animais ao pletismógrafo foi realizada somente uma vez, na véspera da primeira aferição (ao final da primeira semana). Essa técnica de medida indireta da pressão arterial também permite medir a frequência cardíaca.

### **3.8 Procedimentos analíticos para avaliação da função renal**

#### **3.8.1 Dosagem de creatinina**

A dosagem de creatinina foi determinada por meio do *clearance* de creatinina que foi quantificada no plasma e urina utilizando-se o kit colorimétrico da Bioclin (Quibasa, Brasil), conforme instruções do fornecedor. As amostras de urina diluídas (1:25) e plasma reagem em meio alcalino com o ácido pícrico (60 mmol/l) formando um complexo creatinina-picrato de cor amarelo-avermelhada (Ribeiro, 2009).

A absorvância desse complexo foi lida em espectrofotômetro (Barnstead/Turner SP-830 plus) a um comprimento de onda de 510 nm. Como o ácido pícrico também reage com os cromogênios plasmáticos, ácido acético (12,25 mol/l) 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 absorvância da creatinina plasmática. A absorvância 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 3 mg/dl). Os pontos utilizados na curva foram (em mg/dl): 0,375, 0,75, 1,5 e 3. O RFG foi estimado através do *clearance* de creatinina utilizando a equação abaixo:

$$\text{Ccreat (Litros/24h)} = ( [\text{CREA}]_{\text{urina}} \times \text{FU} ) / [\text{CREA}]_{\text{plasma}}$$

Sendo:

Ccreat: *clearance* de creatinina

[CREA]<sub>urina</sub> : concentração de creatinina na urina (µg/ml)

[CREA]<sub>plasma</sub>: concentração de creatinina no plasma (µg/ml)

FU: fluxo urinário (Litros/24h)

### 3.8.2 Dosagem de sódio e potássio

As concentrações de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> nas amostras de urina e plasma foram determinadas por fotometria de chama (CELM, FC 280) que mede a intensidade da radiação emitida pelos átomos excitados dos metais-terrosos que é proporcional à concentração desses metais nas amostras. Foi utilizado padrão contendo 140 mEq/l de Na<sup>+</sup> e 5 mEq/l de K<sup>+</sup> preparado em água destilada numa diluição de 1:200.

Para determinação de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup>, 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<sup>+</sup> e 5 mEq/l de K<sup>+</sup>). Especificamente para o K<sup>+</sup> na urina, preparava-se uma diluição

prévia da mesma, na proporção de 1:30 (em água destilada), antes de se preparar a diluição de 1:200 (Diniz, 2011).

### 3.8.3 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). As amostras de plasma foram diluídas 1:2 e as amostras de urina foram diluídas 1:5 em água destilada. Previamente à leitura das amostras, o osmômetro foi calibrado com soluções padrões cujas concentrações eram 100, 290 e 500 mOsm/kg.

### 3.8.4 Cálculo de outros parâmetros renais

Conhecendo-se os valores de *clearance* de creatinina, fluxo urinário, concentração de  $\text{Na}^+$  e  $\text{K}^+$  no plasma e urina bem como a osmolalidade plasmática e urinária, calculou-se outros parâmetros renais como mostrado 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  $\text{Na}^+$ :**  $\text{FENa}^+ (\%) = \text{QENa}^+ / \text{QFNa}^+ \times 100$
- **Fração de excreção de  $\text{K}^+$ :**  $\text{FEK}^+ (\%) = \text{QEK}^+ / \text{QFK}^+ \times 100$
- **Clearance de água livre:**  $\text{CH}_2\text{O} (\text{Litros}/24\text{h}) = \text{FU} - \text{Cosm}$
- **Clearance osmolar:**  $\text{Cosm} (\text{Litros}/24\text{h}) = \frac{\text{Osmolalidade}_{\text{urina}} \times \text{FU}}{\text{Osmolalidade}_{\text{plasma}}}$

Sendo:

- **Quantidade excretada de  $\text{Na}^+$ :**  $Q_{\text{ex}} \text{Na}^+ = [\text{Na}^+]_{\text{urina}} \times \text{FU}$
- **Quantidade excretada de  $\text{K}^+$ :**  $Q_{\text{ex}} \text{K}^+ = [\text{K}^+]_{\text{urina}} \times \text{FU}$

- **Quantidade filtrada de Na<sup>+</sup>:**  $Q_F \text{ Na}^+ = [\text{Na}^+]_{\text{plasma}} \times \text{RFG}$
- **Quantidade filtrada de K<sup>+</sup>:**  $Q_F \text{ K}^+ = [\text{K}^+]_{\text{plasma}} \times \text{RFG}$

### 3.8.5 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 Na<sup>+</sup> que, quando combinado com a proteína presente na amostra, em meio ácido, desenvolve um cromóforo de cor azul. A cor formada foi quantificada a 600 nm, sendo proporcional à concentração de proteína 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/absorbância do padrão

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

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

## 3.9 Análise morfológica renal

### 3.9.1 Análise histológica

O rim direito de todos os animais foram coletados, colocados em solução de formol tamponado a 10% e submetidos à análise histológica. Técnicas convencionais de coloração – hematoxilina-eosina – foram usadas na preparação das lâminas. O corte dos blocos foram não seriados com a intenção

de visualizar néfrons diferentes. As fotos foram capturadas no aumento de 40 vezes.

### **3.9.2 Análise morfométrica**

Todos os cortes histológicos foram visualizados pela objetiva de 40X para digitalização de 40 imagens através da microcâmera JVC TK-1270/RGB (Tokyo, Japan), perfazendo uma área total de  $21,3 \times 10^5 \mu\text{m}^2$  de interstício cortical renal analisado em cada animal. Uma sequência de algoritmos do programa *KS300 software* foi elaborada para o processamento das imagens, segmentação, definição das condições de morfometria e contagem dos núcleos (Caliari *et al.*, 1997).

As técnicas de processamento de imagens foram aplicadas para evidenciar os núcleos das células. Através da segmentação, foram selecionados os pixels dos núcleos de todos os tipos celulares presentes no interstício renal e excluídos aqueles do citoplasma celular e de outras estruturas do corte histológico. Mediante este processo, foi criada uma imagem binária e contados os núcleos de todos os tipos celulares presentes no interstício renal.

A contagem obtida nos animais controles foi considerada como o padrão normal de celularidade do interstício renal, sem infiltrado inflamatório. Já nos animais tratados com GM, foram contados os núcleos dos tipos celulares normalmente presentes no interstício renal e os núcleos dos leucócitos recrutados no processo inflamatório, permitindo a avaliação quantitativa da inflamação através de metodologia já utilizada por nós em outros trabalhos (Pacheco *et al.*, 2009). Em sequência, foram selecionados todos os pixels do interstício renal para a obtenção de outra imagem binária e o cálculo da área em

$\mu\text{m}^2$ . Esta análise foi feita no Depto. de Patologia Geral, com a colaboração do Prof. Marcelo Vidigal Caliari.

### **3.10 Análise Estatística**

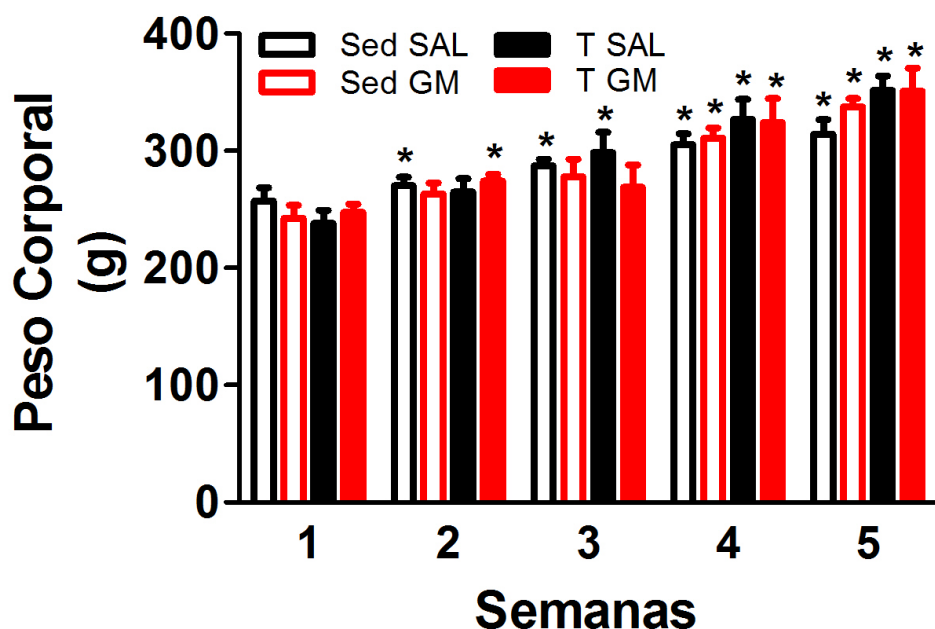
Os resultados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média ( $X \pm \text{EPM}$ ). Para a comparação dos 4 grupos dentro de uma mesma semana, os dados foram analisados por *One-way* ANOVA seguida do teste de Newman-Keuls. Já para a comparação dentro de um mesmo grupo, da 2<sup>a</sup> à 5<sup>a</sup> semana com a 1<sup>a</sup> semana, foi utilizado o teste 't' de *student* para amostras pareadas.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Parâmetros gerais

#### 4.1.1 Peso Corporal

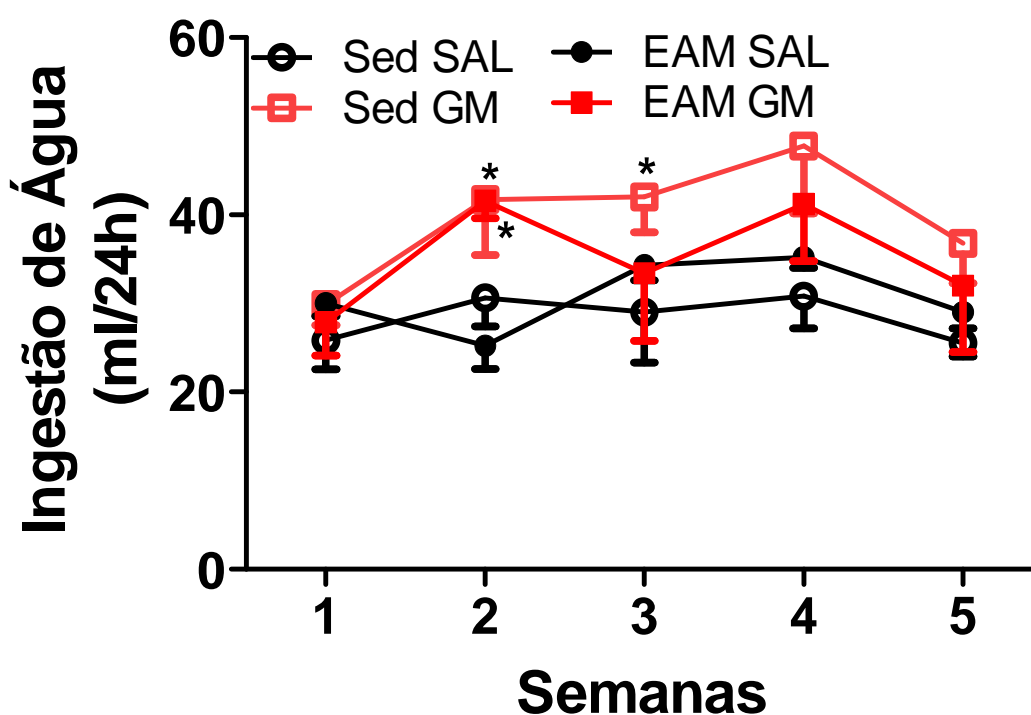
Os animais foram pesados ao final de cada uma das 5 semanas do estudo. Nota-se que, no decorrer do experimento, os pesos corporais dos animais, de maneira geral, aumentaram e foram, na maioria das vezes, estatisticamente diferentes em relação aos encontrados para cada grupo na 1ª semana (Fig. 5). Por exemplo, nos grupos Sed SAL e T SAL, o peso corporal foi elevado de  $257,3 \pm 11,3$  e  $238,0 \pm 11,2$  g, na 1ª semana, para  $314,0 \pm 12,4$  g e  $351,4 \pm 12,3$  g, na 5ª semana, respectivamente. Semelhantemente, o treinamento físico (grupo T GM) não afetou, de forma significativa, o ganho de peso observado no grupo Sed GM (Fig. 5).



**Figura 5 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o peso corporal de ratos tratados e não tratados com GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 7-11); T SAL (n = 8); T GM (n = 9-11). \*p < 0,05 (t pareado) vs mesmo grupo na 1ª semana.

#### 4.1.2 Ingestão de água

A GM, *per se*, aumentou a ingestão de água pelos animais do grupo Sed GM de  $29,9 \pm 2,3$  para  $41,7 \pm 6,2$  ml/24h (n = 7-8) na 2ª semana, e para  $42,0 \pm 4,0$  ml/24h na 3ª semana (n = 5) (Fig. 6). O treinamento físico não foi capaz de modificar esse efeito da GM sobre a ingestão de água (Fig. 6).

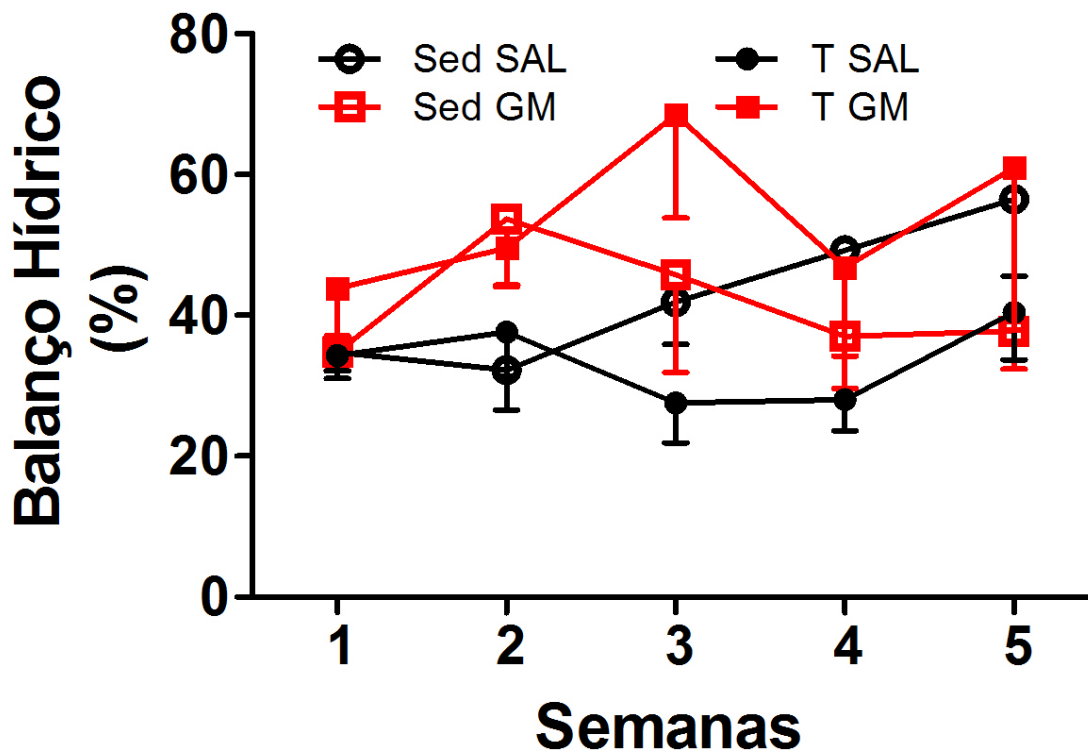


**Figura 6 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a ingestão de água por ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 5-8); T SAL (n = 5); T GM (n = 4-7). \*p < 0,05 (t pareado) vs mesmo grupo na 1ª semana.

#### 4.1.3 Balanço hídrico

A Figura 7 mostra que as oscilações no balanço hídrico não foram estatisticamente diferentes, quer seja quando os 4 grupos foram comparados

dentro de uma mesma semana, quer seja quando comparadas (2ª à 5ª semanas) com a 1ª semana, dentro de um mesmo grupo experimental.



**Figura 7 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o balanço hídrico de ratos tratados e não tratados com GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 5-8); T SAL (n = 5); T GM (n = 4-7). Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos numa mesma semana, nem dentro do mesmo grupo comparando 2ª à 5ª semanas com a 1ª.

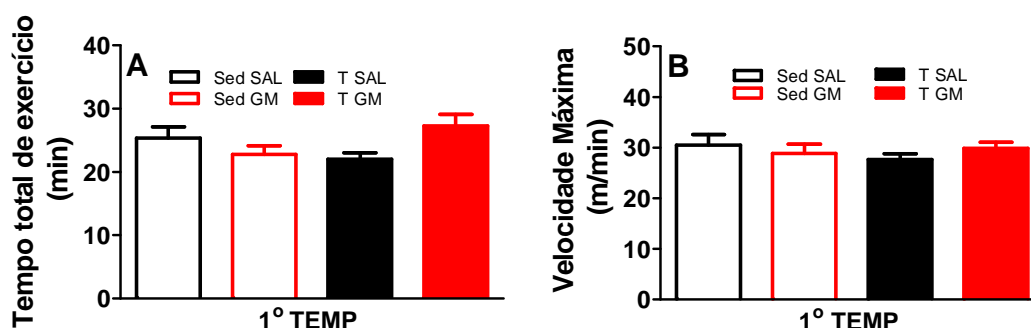
## 4.1 Avaliação do treinamento físico

### 4.1.1 Teste de esforço máximo progressivo

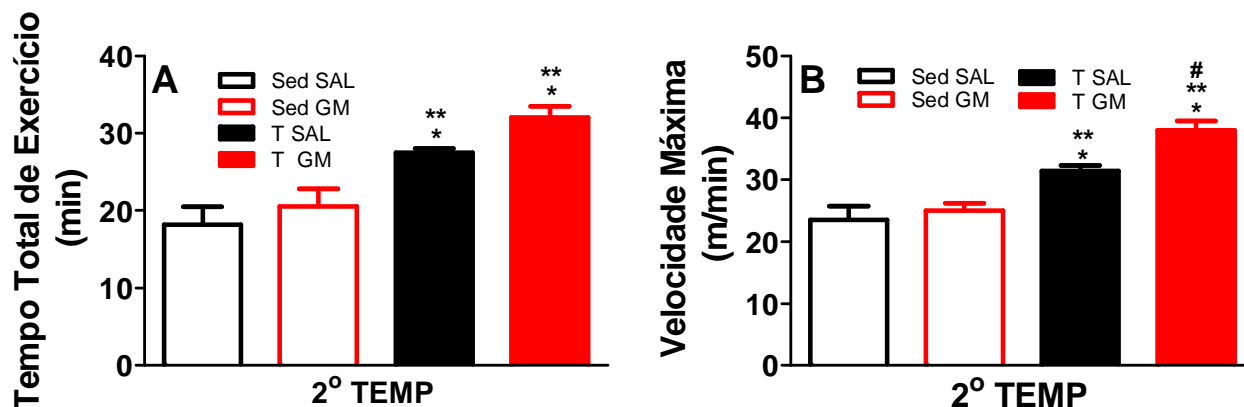
No presente trabalho, o TEMP foi realizado duas vezes ao longo do período experimental: i) 1º TEMP, antes do início do treinamento físico e do tratamento com GM (1ª semana) e ii) 2º TEMP, ao final do treinamento físico (5ª semana), previamente ao sacrifício dos animais. As variáveis consideradas

nesse teste foram o tempo total de exercício alcançado pelos animais e as velocidades máximas obtidas no intervalo de tempo considerado. A Figura 8 mostra as duas variáveis referentes ao 1º TEMP, na qual pode ser observado que não houve diferença significativa entre os grupos tanto em relação ao tempo total de exercício, como na velocidade máxima alcançada pelos animais.

Já a Figura 9 mostra as duas variáveis referentes ao 2º TEMP (final do treinamento, 5ª semana). Nota-se que, ao contrário do 1º TEMP, houve diferença significativa nas duas variáveis em análise. O tempo total de exercício foi maior nos grupos T SAL ( $27,47 \pm 0,58$  min) e T GM ( $32,01 \pm 1,52$  min) quando comparado com os valores encontrados nos grupos sedentários, Sed SAL ( $18,17 \pm 2,31$  min) e Sed GM ( $20,50 \pm 2,29$  min). De maneira semelhante, a velocidade máxima obtida pelos animais foi maior nos grupos que praticaram o exercício, T SAL ( $31,42 \pm 0,92$  metros/min) e T GM ( $38,0 \pm 1,5$  metros/min) em relação à alcançada nos grupos Sed SAL ( $23,5 \pm 2,29$  m/min) e Sed GM ( $25,00 \pm 1,22$  metros/min). Esses dados indicam que o protocolo de treinamento foi eficaz, pois aumentou a capacidade de corrida dos animais.



**Figura 8 – Tempo total de exercício (A) e velocidade máxima (B) alcançados pelos ratos no 1º TEMP.** Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 10); T SAL (n = 8); T GM (n = 11). Como esperado, não houve diferenças estatisticamente significativas entre os 4 grupos experimentais.



**Figura 9 – Tempo total de exercício (A) e velocidade máxima (B) alcançados pelos ratos no 2º TEMP (final do treinamento). Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 4); T SAL (n = 5-7); T GM (n = 9). Como esperado, houve diferenças estatisticamente significativas entre os 4 grupos experimentais. \*p < 0,05 e \*\*p < 0,05 vs Sed SAL e vs Sed GM.**

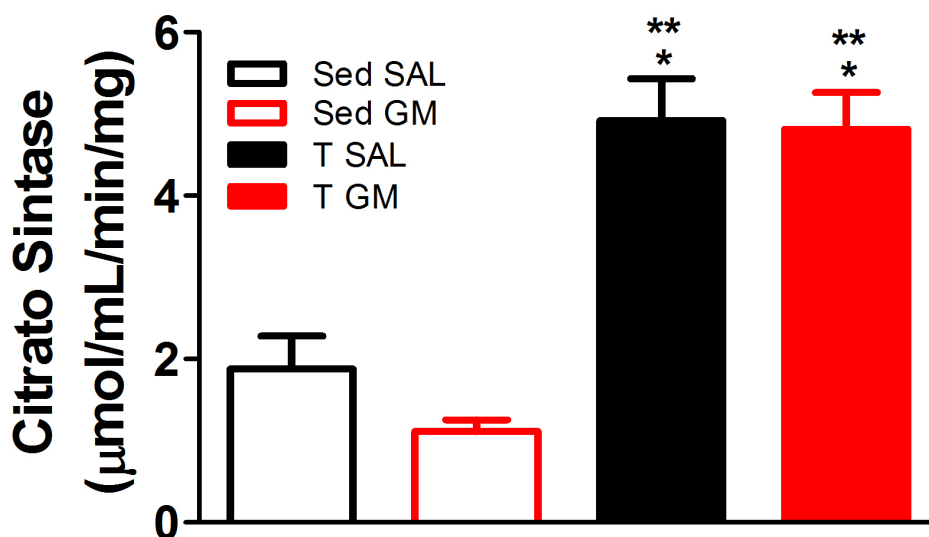
#### 4.1.2 Atividade da enzima citrato sintase

Para avaliar a eficácia do protocolo de treinamento, a atividade da enzima citrato sintase foi determinada no músculo sóleo dos ratos sob estudo (Henriksson *et al.*, 1992; Kriketos *et al.*, 1995). A Figura 10 mostra que o treinamento foi capaz de aumentar a atividade dessa enzima em cerca de 3 vezes nos grupos T SAL e T GM, o que reforça a observação anterior (TEMP e Vmax) de que o protocolo de treinamento foi eficaz.

## 4.2 Parâmetros hemodinâmicos

### 4.2.1 Pressão arterial média e frequência cardíaca

A pressão arterial média e a frequência cardíaca foram aferidas três vezes durante o experimento: ao final da 1ª, 3ª e 5ª semanas. Como ilustrado



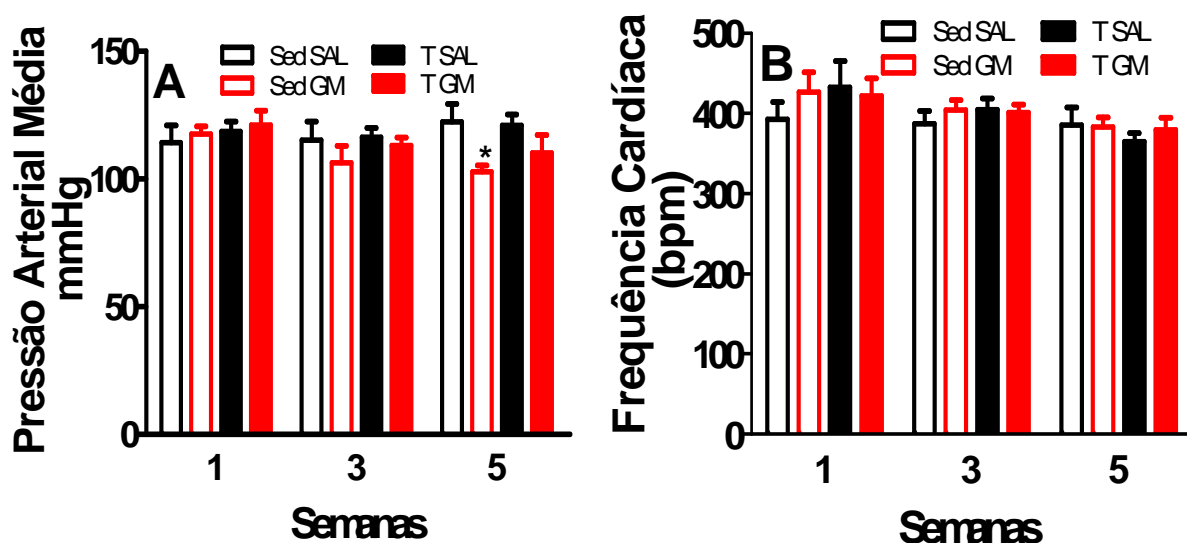
**Figura 10 – Atividade da enzima citrato sintase do músculo sóleo ao final do treinamento (5ª semana).** Sed SAL (n = 8); Sed GM (n = 8); T SAL (n = 6); T GM (n = 8). \*p < 0,05 e \*\*p < 0,05 vs Sed SAL e vs Sed GM, respectivamente.

na Figura 11 nota-se que o treinamento aeróbio moderado não alterou a pressão arterial média dos animais uma vez que não houve diferenças significativas entre os grupos dentro de uma mesma semana ou dentro do mesmo grupo ao comparar da 2ª à 5ª semanas com a 1ª semana. Também com relação à frequência cardíaca, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos dentro de uma mesma semana ou dentro do mesmo grupo ao comparar da 2ª à 5ª semanas com a 1ª semana.

## 4.3 Função renal

### 4.3.1 Creatinina plasmática

Como mostrado na Figura 12, a GM promoveu um aumento significativo da creatinina plasmática em ratos do grupo Sed GM na 2ª e 3ª semanas do experimento (de  $0,40 \pm 0,03$  para  $1,08 \pm 0,15$  e  $0,95 \pm 0,19$  mg/dl,

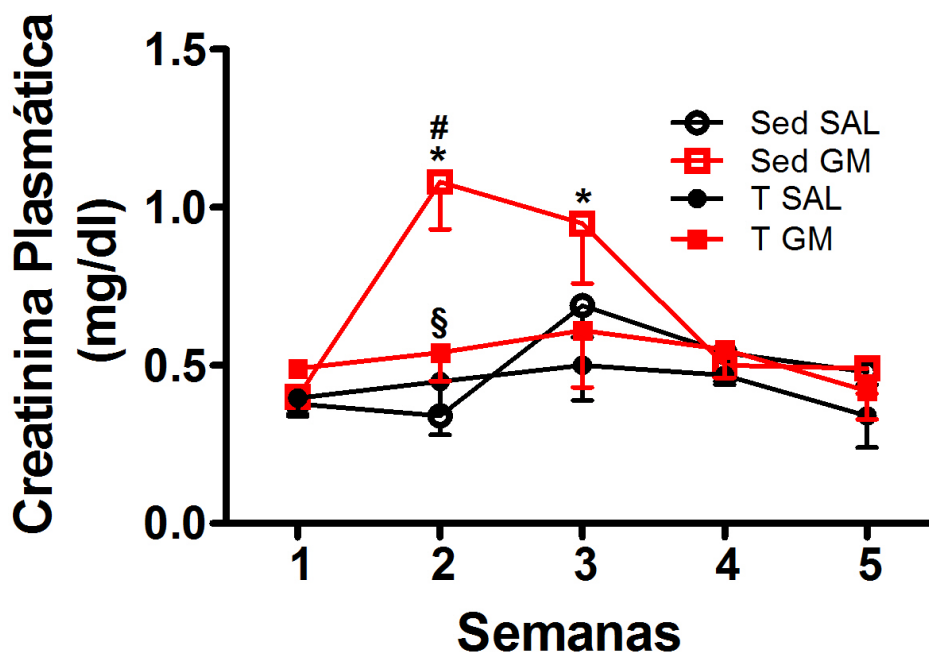


**Figura 11 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a pressão arterial média (A) e frequência cardíaca (B) de ratos com IRAa induzida por GM. A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 7-9); T SAL (n = 7-8); T GM (n = 8-10). \*p < 0,05 (t pareado) vs mesmo grupo na 1ª semana.**

respectivamente). Mais importante, o treinamento físico abrandou esse aumento na creatinina ( $0,54 \pm 0,1$  vs Sed GM,  $1,08 \pm 0,15$  mg/dl) na 2ª semana (semana em que GM foi administrada). A partir da 4ª semana, os níveis plasmáticos de creatinina já haviam alcançado os valores basais.

#### 4.3.2 Clearance de creatinina, fluxo urinário e fração de excreção de água

O ritmo de filtração glomerular, estimado pelo *clearance* de creatinina, foi bastante reduzido pela GM nos ratos do grupo Sed GM da 2ª à 5ª semana. Esta redução foi de  $2,04 \pm 0,21$  (1ª semana) para  $0,57 \pm 0,16$  e  $0,86 \pm 0,21$  Litros/24h na 2ª e 3ª semanas, respectivamente (Fig. 13A). Similarmente ao observado para a creatinina plasmática, o treinamento físico (grupo T GM) bloqueou parcialmente a queda do *clearance* de creatinina ( $1,36 \pm 0,22$  vs Sed



**Figura 12 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a concentração de creatinina plasmática em ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n =5-6); Sed GM (n = 6-10); T SAL (n = 5-8); T GM (n = 6-11). \*p < 0,05 vs 1ª semana no mesmo grupo (t pareado); #p < 0,05 vs Sed SAL e §p < 0,05 vs Sed GM.

GM,  $0,57 \pm 0,16$  Litros/24h) na 2ª semana (semana em que GM foi administrada). Conforme ilustrado na Figura 13B, a GM aumentou o fluxo urinário tanto no grupo Sed GM, como no grupo T GM na 2ª e 3ª semanas do experimento. Na 3ª semana, este aumento foi de  $0,011 \pm 0,001$  (1ª semana) para  $0,024 \pm 0,005$  Litros/24h no grupo Sed GM e de  $0,013 \pm 0,001$  (1ª semana) para  $0,029 \pm 0,005$  Litros/24h no grupo T GM. Ao comparar os grupos Sed GM e T GM, verifica-se que o treinamento físico não interferiu com o aumento do fluxo urinário induzido pela GM. A partir da 4ª semana, o fluxo urinário praticamente já havia retornado aos valores basais (Fig. 13B).

Quando a FEH<sub>2</sub>O foi analisada, observou-se, como era de se esperar, um aumento da mesma da 2ª (semana em que a GM foi administrada) à 5ª semana no grupo Sed GM (Fig. 13C), sendo que o pico máximo de aumento

ocorreu na 2ª semana. Nesta semana, o aumento foi de  $0,59 \pm 0,11$  (1ª semana) para  $7,46 \pm 1,90\%$ , aumento este, que foi praticamente abolido pelo treinamento físico.

#### 4.3.3 Excreção urinária de sódio e potássio

Embora não estatisticamente significativo, a GM, no grupo Sed GM, produziu um aumento na  $FENa^+$  observada na 2ª semana experimental (Fig. 14A). Este aumento mostrou-se significativo apenas na 5ª semana, onde a  $FENa^+$  foi elevada de  $0,52 \pm 0,13\%$  para  $1,32 \pm 0,33\%$ . O aumento na  $FENa^+$  foi totalmente bloqueado pelo treinamento físico. De forma semelhante, a  $FEK^+$  foi bastante elevada pela GM no grupo Sed GM, elevação esta, que foi sustentada até a 5ª semana (Fig. 14B). Por exemplo, na 2ª semana, a  $FEK^+$  foi elevada de  $34,4 \pm 4,5\%$  (1ª semana) para  $133,9 \pm 21,9\%$ . Já no grupo T GM, a  $FEK^+$  mostrou-se levemente aumentada apenas na 2ª semana. Como observado para a  $FENa^+$ , o aumento na  $FEK^+$  foi quase que totalmente abolido pelo treinamento físico ( $133,9 \pm 21,9\%$  no grupo Sed GM vs  $69,7 \pm 12,2\%$  no grupo T GM (14B)).

#### 4.3.4 Clearance osmolar e clearance de água livre

Como pode ser observado pela Figura 15A, o  $Cosm$  não foi significativamente afetado nem pela GM, nem pelo treinamento físico. Já o  $CH_2O$  livre foi menos negativo no grupo Sed GM na 2ª e 3ª semanas e o treinamento físico não foi capaz de alterar este efeito (Fig. 15B). Na 2ª semana, o  $CH_2O$  livre foi de  $-32,7 \pm 4,7$  e  $-31,6 \pm 3,6$  ml/24h nos grupos Sed GM e T GM, respectivamente.

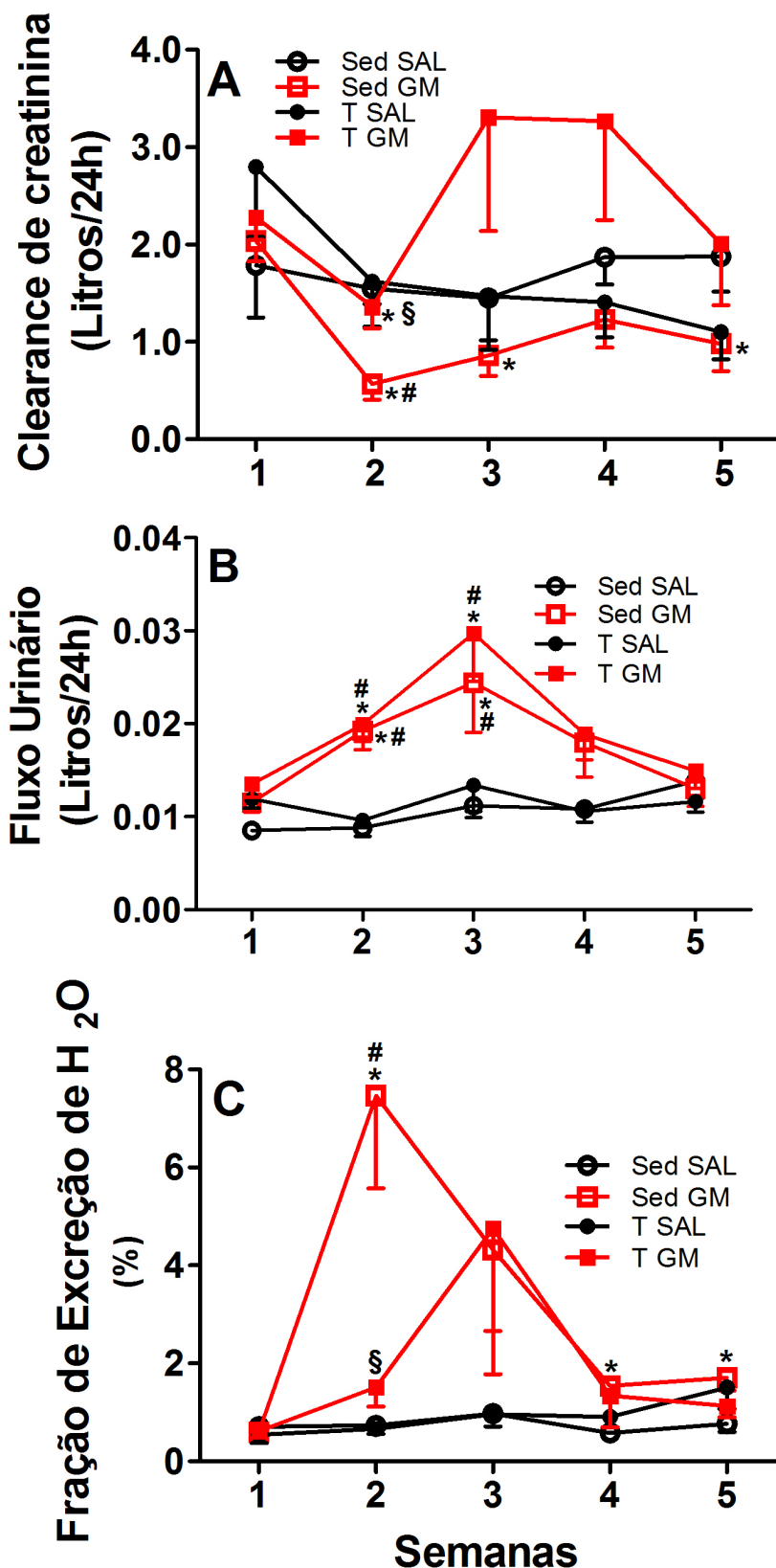
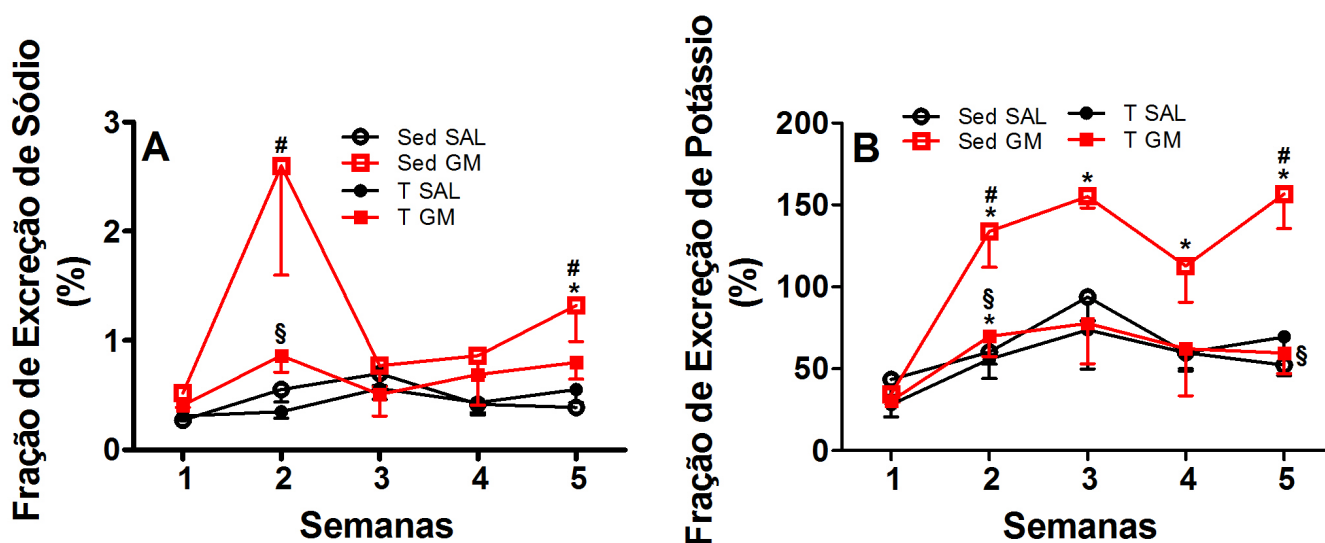
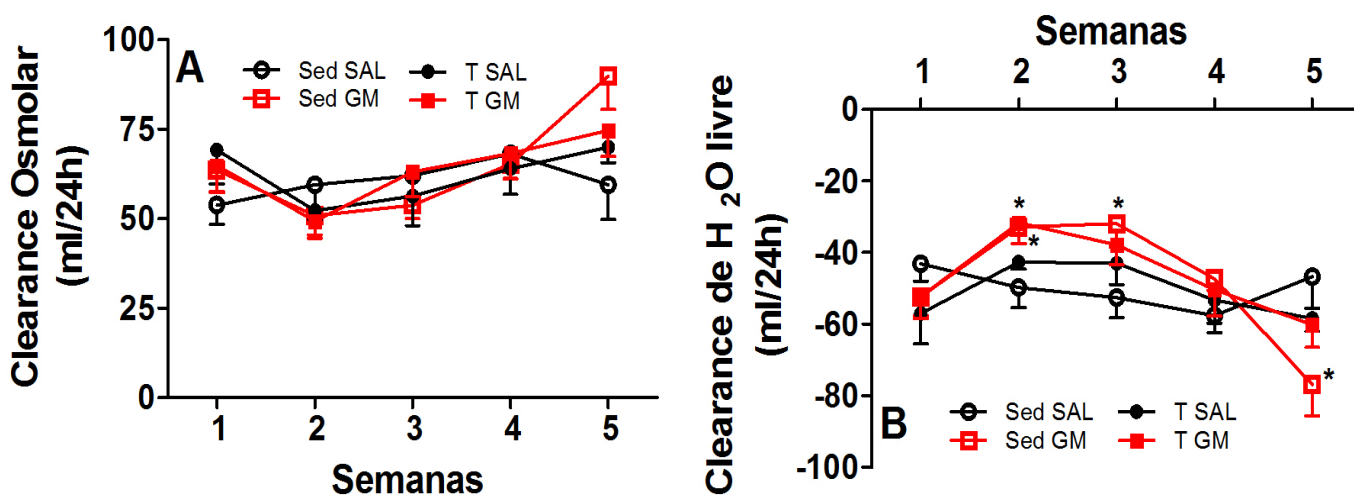


Figura 13 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o *clearance* de creatinina (Ccreat) (A), FU (B) e FEH<sub>2</sub>O (C) em ratos com IRA induzida por GM. A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (RFG, n = 4-8; FU, 5-8; FEH<sub>2</sub>O, n = 4-8); Sed GM (Ccreat, n = 4-8; FU, 7-12; FEH<sub>2</sub>O, n = 4-6); T SAL (RFG, n = 4-5; FU, 7-8; FEH<sub>2</sub>O, n = 4-5); T GM (Ccreat, n = 5-11; FU, 8-11; FEH<sub>2</sub>O, n = 5-11). \*p < 0,05 vs 1ª semana no mesmo grupo (t pareado); #p < 0,05 vs Sed SAL e §p < 0,05 vs Sed GM.



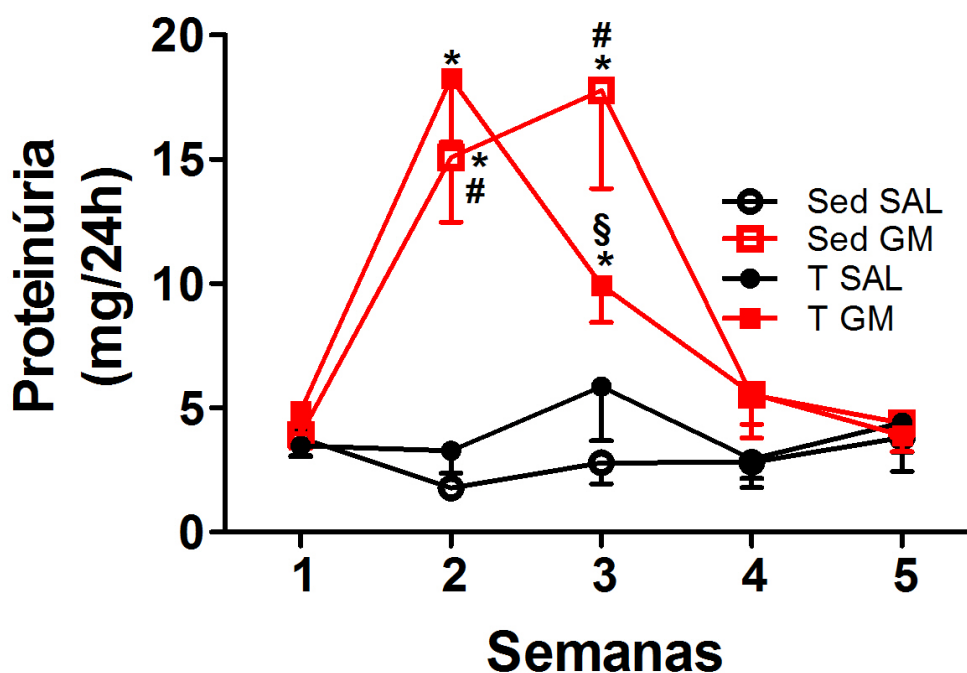
**Figura 14 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a FENa<sup>+</sup> (A) e FEK<sup>+</sup> (B) em ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2<sup>a</sup> semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (FENa<sup>+</sup>, n = 4-7; FEK<sup>+</sup>, 4-6); Sed GM (FENa<sup>+</sup>, n = 4-6; FEK<sup>+</sup>, 4-6); T SAL (FENa<sup>+</sup>, n = 4-5; FEK<sup>+</sup>, 4-5); T GM (FENa<sup>+</sup>, n = 7-11; FEK<sup>+</sup>, 5-11). \*p < 0,05 vs 1<sup>a</sup> semana no mesmo grupo (t pareado); <sup>#</sup>p < 0,05 vs Sed SAL e <sup>§</sup>p < 0,05 vs Sed GM.



**Figura 15 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o Cosm (A) e CH<sub>2</sub>O livre (B) em ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2<sup>a</sup> semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n = 5-6); Sed GM (n = 7-10); T SAL (n = 7-8); T GM (n = 7-9). \*p < 0,05 vs 1<sup>a</sup> semana no mesmo grupo (t pareado).

### 4.3.5 Proteinúria

A Figura 16 mostra a excreção urinária de proteína ao final de cada uma das 5 semanas experimentais. A GM aumentou significativamente a quantidade de proteína excretada na urina de ratos do grupo Sed GM, na 2ª e 3ª semanas (de  $3,92 \pm 0,55$  para  $15,08 \pm 2,61$  e  $17,77 \pm 3,95$  mg/24h, respectivamente). A proteinúria também estava elevada na urina dos ratos do grupo T GM na 2ª e 3ª semanas (de  $4,87 \pm 0,90$  para  $18,25 \pm 2,55$  e  $9,95 \pm 1,51$  mg/24h, respectivamente). Porém, esse efeito da GM, na 3ª semana, foi significativamente menor no grupo submetido ao treinamento físico ( $17,77 \pm 3,95$  no grupo Sed GM vs  $9,95 \pm 1,51$  mg/24h no grupo T GM). A partir da 4ª semana, a proteinúria já estava próxima dos valores basais (1ª semana).

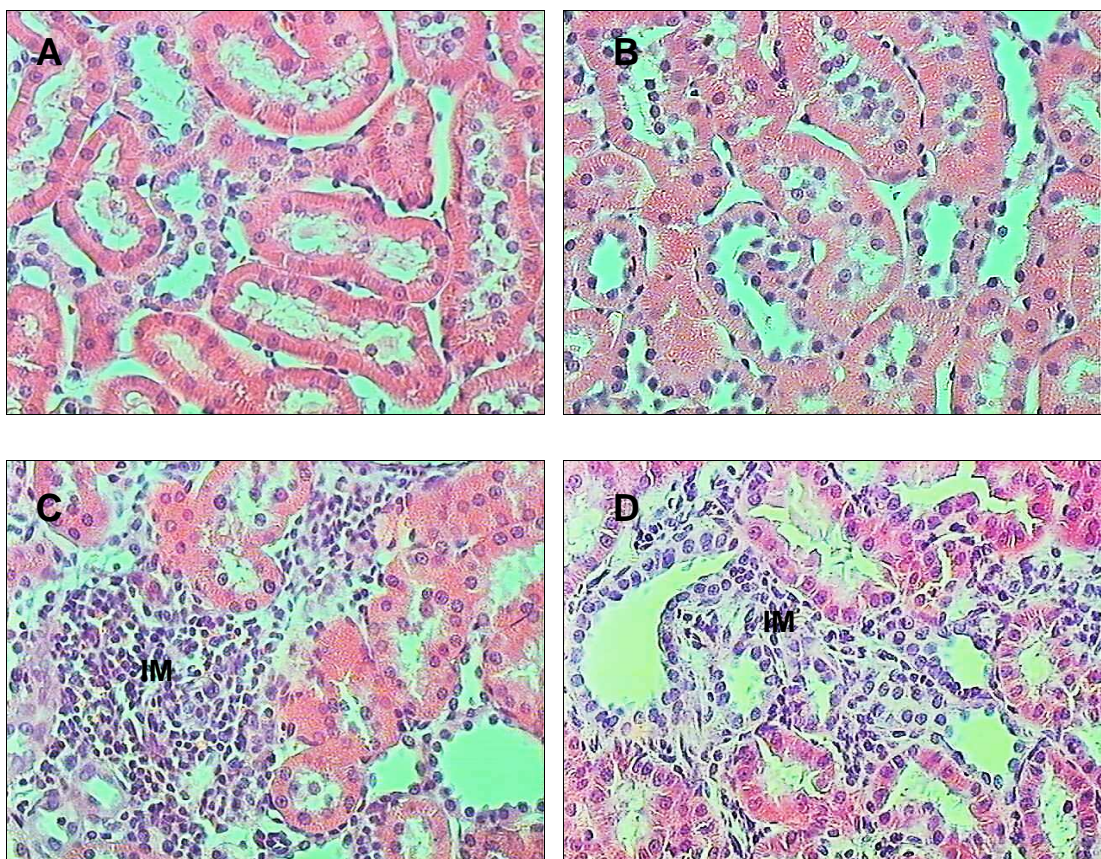


**Figura 16 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre a excreção urinária de proteína em ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 6-9); T SAL (n = 6-8); T GM (n = 7-11). \*p < 0,05 vs 1ª semana no mesmo grupo (t pareado); #p < 0,05 vs Sed SAL e §p < 0,05 vs Sed GM.

#### 4.3.6 Análise morfológica

Este estudo foi feito ao final do experimento (final da 5ª semana), após o sacrifício dos ratos. A análise morfológica dos rins dos animais dos 4 grupos de estudo mostrou que a GM, administrada na 2ª semana, atuou como um agente pró-inflamatório causando aumento focal do número de células inflamatórias assim como da área intersticial nos grupos em que foi administrada (grupos Sed GM e T GM) (Figs. 17C e 17D). Esse quadro, quando comparado aos grupos Sed SAL (Fig. 17A) e T SAL (Fig. 17B), mostrou-se muito mais severo.

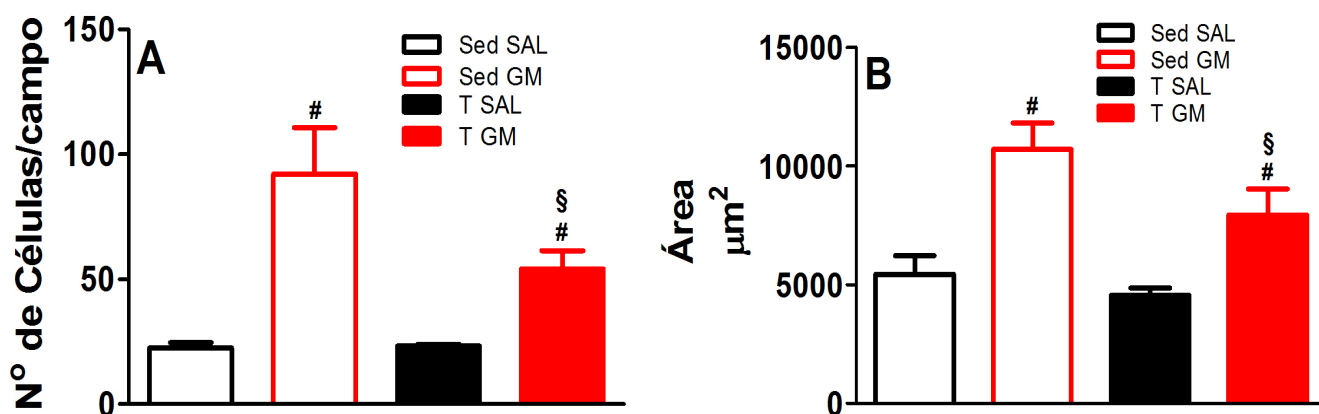
Entretanto, quando se analisou apenas os grupos Sed GM e T GM foi verificado que o processo inflamatório nos ratos sedentários foi bem mais intenso que nos treinados. Portanto, o treinamento físico foi capaz de amenizar a inflamação decorrente da injúria renal aguda causada pela GM.



**Figura 17 – Efeito do treinamento físico aeróbico moderado sobre o aspecto morfológico de rins de ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Os cortes histológicos são do córtex renal e mostram túbulos contorcidos proximais. Esta análise foi feita ao final do experimento (final da 5ª semana), após o sacrifício dos ratos. **A**, Sed SAL; **B**, T SAL; **C**, Sed GM; **D**, T GM. Em **C** nota-se um infiltrado inflamatório mononuclear mais intenso que em **D**. Aumento 40X. Coloração pelo método de HE.

#### 4.3.7 Morfometria

Esta análise foi feita ao final do experimento (final da 5ª semana), após o sacrifício dos ratos. Os resultados da pesquisa de celularidade do interstício renal, assim como da área intersticial ( $\mu\text{m}^2$ ) estão ilustrados nas Figuras 18A e 18B. Nota-se que em ambos os grupos nos quais a GM foi administrada, houve aumento, tanto do número de células (Sed GM,  $92 \pm 18$  células/campo e T GM,  $54 \pm 7$  células/campo), como do tamanho da área intersticial (Sed GM,  $10.711,8 \pm 1.097,7 \mu\text{m}^2$  e T GM,  $7.934,8 \pm 1.095,5 \mu\text{m}^2$ ). Estes valores foram significativamente maiores do que aqueles observados nos animais que receberam solução NaCl 0,9% (número de células: Sed SAL,  $22 \pm 2$  células/campo e T SAL,  $23 \pm 1$  células/campo) (área intersticial: Sed SAL,  $5.426,2 \pm 798,5 \mu\text{m}^2$  e T SAL,  $4.561,6 \pm 293,0 \mu\text{m}^2$ ). Interessantemente, os animais do grupo Sed GM apresentaram valores estatisticamente mais elevados em ambas as variáveis analisadas ( $p < 0,05$ ). Assim, o treinamento físico abrandou as alterações na histologia renal agindo como um anti-inflamatório, o que confirma a análise morfológica mostrada anteriormente (Figura 18).



**Figura 18 – Efeito do treinamento físico aeróbio de intensidade moderada sobre o número de células (A) e área intersticial (B) de rins de ratos com IRA induzida por GM.** A GM (dose diária: 80 mg/kg, 2 vezes/dia) foi administrada na 2ª semana experimental, por 5 dias. Esta análise morfométrica foi feita ao final do experimento (5ª semana), após o sacrifício dos animais. Sed SAL (n = 6); Sed GM (n = 6); T SAL (n = 6); T GM (n = 6). Os ratos do grupo Sed GM apresentaram maior número de células por campo (A) assim como um maior tamanho da área intersticial (B). Dimensão do Campo: 53250  $\mu\text{m}^2$ . <sup>#</sup>p<0,05 vs Sed SAL e T Sal; <sup>§</sup>p<0,05 vs Sed GM.

## **5 DISCUSSÃO**

### **5.1 Considerações gerais**

Como pode ser observado ao longo da seção “Resultados”, o n experimental foi variável. Isto pode ter sido devido ao que se segue: i) o estudo envolveu a utilização de 4 grupos experimentais, ii) em 2 grupos, os animais foram tratados com GM que, por ser um agente nefrotóxico, não raramente levou parte dos animais à morte; iii) diversos parâmetros foram avaliados em 5 tempos diferentes (5 semanas) e iv) devido à dimensão do experimento, houve perdas de coleta de amostras ou deterioração das mesmas.

### **5.2 Avaliação da eficácia do treinamento físico**

O treinamento físico utilizado no presente estudo mostrou-se eficiente uma vez que os parâmetros utilizados para avaliá-lo foram satisfatórios. No TEMP, realizado antes do tratamento com a GM e ao final do experimento, duas variáveis foram consideradas; o tempo total de exercício e a velocidade máxima atingida pelos animais. Essa foi utilizada para determinar a velocidade de corrida correspondente à intensidade moderada utilizada no estudo. O TEMP, aplicado ao final do experimento, revelou uma diferença significativa dos animais treinados em relação aos não treinados para as duas variáveis analisadas, indicando maior adaptação dos animais treinados ao exercício físico.

Outra ferramenta utilizada para verificar a eficiência do treinamento foi a determinação da atividade da enzima citrato sintase cujo aumento foi significativo nos animais submetidos ao treinamento físico moderado. Essa enzima é responsável por catalisar a reação de condensação do oxaloacetato e

da acetil coenzima A formando um citrato utilizado no ciclo de Krebs. Assim, por estar envolvida na via metabólica oxidativa para geração de energia, a atividade da enzima citrato sintase foi elevada nos grupos dos animais treinados. Este dado está de acordo com o de Siu *et al.* (2002) , o qual também observou um aumento desta enzima após treinamento físico de intensidade moderada.

### **5.3 Avaliação dos parâmetros hemodinâmicos**

A pressão arterial média, assim como a frequência cardíaca, foram aferidas ao final da 1<sup>a</sup>, 3<sup>a</sup> e 5<sup>a</sup> semanas do experimento e não houve diferenças significativas entre os grupos em nenhuma das mensurações realizadas. Os resultados encontrados para a pressão arterial média estão em conformidade com os achados de outros estudos. Embora haja consenso na literatura de que o exercício aeróbio causa diminuição da pressão arterial de repouso (VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial das Sociedades Brasileiras de Cardiologia, Hipertensão, e Nefrologia, 2010), esse efeito é mais pronunciado em indivíduos hipertensos. A maioria dos estudos realizados em animais normotensos demonstrou uma influência mínima do treinamento físico aeróbio sobre a pressão arterial (Medeiros *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2009; Roque *et al.*, 2011).

Em relação à frequência cardíaca, também já está estabelecido na literatura que o treinamento físico aeróbio resulta em bradicardia de repouso (Medeiros *et al.*, 2004; Alom *et al.*, 2011). Embora os resultados, neste estudo, entre os grupos Sed e T não tenham sido estatisticamente diferentes, observa-se uma tendência à diminuição da frequência cardíaca em ambos os grupos

que praticaram exercício físico (T SAL e T GM). Caso o treinamento físico se prolongasse por um período maior de tempo, essa diferença poderia tornar-se mais evidente entre os grupos.

#### **5.4 Avaliação da função renal**

Para investigar o efeito do exercício sobre a função renal de ratos sedentários e submetidos ao treinamento físico, amostras de sangue e urina foram coletadas ao final de cada semana durante o estudo.

De maneira geral, os efeitos benéficos do exercício foram verificados, sobretudo, na 2ª e 3ª semanas por serem esse período o pico de ação do efeito nefrotóxico da GM. Após esse período, ocorre gradativa recuperação renal, o que também foi observado em estudo realizado por Volpini *et al.* (2006), no qual ratos tratados com GM (80 mg/kg/dia por 9 dias) e que foram sacrificados somente após o 30º dia após o término do tratamento, apresentaram concentração normal de creatinina no plasma ( $0,57 \pm 0,04$  mg/dL). Por outro lado, ratos sacrificados após o 5ª dia apresentaram níveis elevados de creatinina plasmática ( $1,65 \pm 0,34$  mg/dL) quando comparados ao grupo controle ( $0,48 \pm 0,03$  mg/dL;  $p < 001$ ).

Para a mensuração do RFG foi adotado o método do *clearance* de creatinina, conforme descrito anteriormente. A constância na formação e excreção de creatinina faz dela um marcador de RFG comumente usado nos últimos 40 anos, em virtude de sua estreita relação com o *clearance* de inulina e da sua relativa independência de fatores como dieta, grau de hidratação e metabolismo protéico (Gualano *et al.*, 2008; Fleck *et al.*, 1999; Poortmans & Vanderstraeten, 1994).

Na intoxicação por GM, a necrose tubular aguda ocorre nos túbulos contorcidos proximais, uma vez que os receptores de membrana existentes nessa porção renal internalizam o aminoglicosídeo ocasionando seu acúmulo e consequente nefrotoxicidade (Watanabe *et al.*, 2004). Os aminoglicosídeos também afetam diretamente a filtração glomerular uma vez que diminuem tanto o número, quanto o tamanho dos poros das células do epitélio capilar glomerular reduzindo assim, a área disponível para a ultrafiltração (Grauer *et al.*, 2001).

Ainda nesse contexto, alguns estudos têm demonstrado relação entre a IRA induzida pelo uso da GM e o sistema renina-angiotensina como, por exemplo, aumento da atividade da enzima renina induzida pelo uso da GM e consequente diminuição do RFG (Luft & Evan, 1980; Nakajima *et al.*, 1994). Já estudo realizado por Ortega *et al.* (2005) demonstrou que o bloqueio da ação da angiotensina II, pelo uso do antagonista do receptor AT1, losartan, causa uma melhora significativa da função renal após indução de injúria renal pela GM em ratos.

No presente estudo, nota-se que o treinamento, na 2ª semana, impediu o aumento da creatinina plasmática induzido pela GM, uma vez que nos animais do grupo T GM sua concentração mostrou-se bem menor quando comparada aos animais do grupo Sed GM. Essa concentração reduzida de creatinina plasmática reflete em uma queda menor no RFG dos animais T GM em relação aos do grupo Sed GM.

Embora se conheça pouco a respeito do efeito do treinamento físico sobre os rins, sabe-se que a reatividade vascular renal encontra-se alterada nesse contexto. Moraes *et al.* (2004) observaram aumento da vasodilatação renal dependente e independente do endotélio induzida pelo treinamento

aeróbio. Nesse trabalho foi verificado que o treinamento físico aeróbio de intensidade moderada foi capaz de alterar a reatividade vascular em rins de coelho, potencializando a vasodilatação renal dependente e independente do endotélio. Os pesquisadores, utilizando o método de perfusão de rim isolado, observaram aumento da vasodilatação dependente do endotélio ( $54 \pm 6\%$ ) em animais treinados comparado com os não-treinados ( $41 \pm 8\%$ ). A perfusão contínua dos rins isolados com inibidor da síntese de óxido nítrico (L-NAME) bloqueou completamente a vasodilatação adicional induzida pela acetilcolina nos animais treinados, resposta não encontrada nos não-treinados. A pressão de perfusão renal nos animais treinados foi reduzida de  $54 \pm 6\%$  para  $38 \pm 5\%$  em rins perfundidos com L-NAME. A bradicinina induziu respostas vasodilatadoras similares nos rins dos animais treinados e não-treinados.

Já a vasodilatação independente do endotélio induzida pelo nitroprussiato de  $\text{Na}^+$  elevou-se com o treinamento ( $45 \pm 10\%$  vs  $36 \pm 7\%$ ). Esses resultados sugerem que o aumento da vasodilatação em rins de coelhos treinados está relacionado a um aumento da biodisponibilidade do óxido nítrico (NO), provocada provavelmente por alterações funcionais no endotélio vascular, e a um aumento da sensibilidade do músculo liso vascular renal ao NO.

A necrose tubular aguda causada por GM é do tipo não oligúrica (Oliveira *et al.*, 2006). Os túbulos contorcidos proximais absorvem grande quantidade de água e eletrólitos, e, especificamente, nessa porção renal, a reabsorção de água está acoplada à de solutos. Assim a necrose tubular aguda provoca poliúria sendo, o fluxo urinário aumentado, uma característica presente nesse quadro. Nesse estudo, nos animais nos quais a GM foi administrada, observou-se elevação do fluxo urinário em relação aos animais controle como

era, de fato, esperado. Contudo, o treinamento físico não foi capaz de atenuar esse efeito, uma vez que não houve diferença estatística entre os grupos que receberam GM. Sumarizando, a diminuição do *clearance* de creatinina e elevação do fluxo urinário no grupo Sed GM (2ª semana) refletiu em um aumento acentuado na FEH<sub>2</sub>O aumento este bloqueado no grupo T GM.

Com relação aos eletrólitos Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> ressalta-se a importância dos mesmos na manutenção do equilíbrio hidroeletrolítico do organismo. Em condições fisiológicas normais espera-se que o Na<sup>+</sup> seja reabsorvido nos túbulos renais, em especial, no túbulo proximal no qual 65% da carga filtrada desse íon são reabsorvidos (Eaton & Pooler, 2006; Guyton & Hall, 2011). Da mesma maneira o túbulo proximal também é responsável pela maior parte da reabsorção do K<sup>+</sup> filtrado, cerca de 67%, enquanto 20% são reabsorvidos pela alça de Henle. Assim, a excreção urinária de K<sup>+</sup> corresponde a cerca de 15% da quantidade filtrada e ressalta-se que tanto o túbulo distal, quanto o ducto coletor podem reabsorver ou secretar esse íon (Berne & Levy, 2006). A lesão tubular causada pela GM, dentre outros agravos, causa estresse oxidativo levando a célula tubular renal a apoptose (Shin *et al.*, 2014). Assim, na IRA induzida por GM espera-se excreção elevada tanto de Na<sup>+</sup>, quanto de K<sup>+</sup>. O treinamento físico, nesse estudo, contudo atenuou a FENa<sup>+</sup> e FEK<sup>+</sup>, uma vez que nos animais treinados e sob efeito do aminoglicosídeo (grupo T GM) houve diminuição desses eletrólitos na urina. Esses achados estão em concordância com estudo realizado previamente em nosso laboratório, conforme já mencionado, cujos animais treinados em relação aos não treinados também apresentaram uma menor fração de excreção de sódio (FENa<sup>+</sup>), acompanhada por uma tendência de aumento da aldosterona plasmática, assim como uma menor FEK<sup>+</sup> (Ribeiro, 2009).

Além do fator hormonal relacionado à reabsorção de  $\text{Na}^+$ , existe a atuação direta e indireta da bomba  $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase localizada na membrana basolateral das células tanto no túbulo proximal, quanto no segmento espesso ascendente da alça de Henle. No entanto, até o presente, não se sabe o efeito do treinamento físico sobre esse transportador nos diferentes segmentos do néfron. Assim, o efeito observado de redução tanto da  $\text{FENa}^+$ , como da  $\text{FEK}^+$  pode ser explicado também pelo fato do exercício físico ocasionar uma redução do estresse oxidativo e da inflamação conforme alguns estudos vem constatando (Agarwall *et al.*, 2012; De Souza *et al.*, 2012).

O Cosm expressa a quantidade de água com carga variável de soluto depurado do plasma por unidade de tempo. Observa-se que o exercício não foi capaz de atuar nesse parâmetro, uma vez que não se obteve diferença estatística entre os grupos. Contudo, observa-se uma tendência de aumento desse parâmetro, sobretudo nos animais GM, os quais obtiveram na última semana o valor mais alto de Cosm que se traduz em urina concentrada, reflexo da maior absorção de água nesses animais nesse período.

A diferença entre o volume total de urina e o Cosm é chamado  $\text{CH}_2\text{O}$ . Uma excreção de água livre aumentada reflete uma menor reabsorção. Nota-se, nesse trabalho, que esse parâmetro aumentou nos animais GM na 2ª semana tornando-se estatisticamente significativo em relação aos animais do grupo salina. O aumento do  $\text{CH}_2\text{O}$  é reflexo da poliúria provocada pela GM em decorrência de lesão dos túbulos proximais cuja função, entre outras, é de reabsorção de água.

Na 3ª semana, o  $\text{CH}_2\text{O}$  permaneceu aumentado no grupo Sed GM, mas diminui no grupo T GM, situação essa que se estendeu até a 5ª semana. Conclui-se, portanto, que o treinamento foi capaz de atenuar esse parâmetro

nos animais desse grupo. Isto se deu, provavelmente, em decorrência da associação do efeito antiinflamatório, conforme observado nas análises histológica e morfométricas renais e a um provável aumento de HAD conforme já relatado por Ribeiro (2009), ambas implicações decorrentes do treinamento físico. A diminuição da inflamação ocasionada pelo treinamento físico pode ter reduzido o efeito da GM por impedir a formação de adenosina monofosfato cíclico (AMPc), o que reduz a formação e mobilização dos canais de aquaporinas para a membrana apical das células principais dos ductos coletores. Conseqüentemente, a reabsorção de água nessa porção renal diminui, culminando com um aumento na excreção da mesma (Lee *et al.*, 2001). Em relação ao HAD, embora sua concentração plasmática não tenha sido mensurada nesse trabalho, estudo prévio realizado em nosso laboratório (Ribeiro, 2009), conforme já mencionado, demonstrou aumento desse hormônio em animais treinados quando comparados a animais não treinados.

Interessante ressaltar que a partir da 3ª semana houve diminuição contínua no CH<sub>2</sub>O no grupo Sed GM, tornando-se inclusive, diferente estatisticamente dos demais grupos na última semana do experimento. Isso pode ter sido decorrente do fato de que com a recuperação do quadro de necrose tubular aguda, o tecido renal foi, nesse momento, capaz de responder ao HAD. Esse hormônio, provavelmente, encontra-se aumentado nesses animais em decorrência do estabelecimento do quadro de poliúria, com formação de urina hiposmótica o que é percebido imediatamente pelos osmorreceptores desencadeando um processo que resulta no estímulo da secreção de HAD (Naves *et al.*, 2003). Contudo, a ausência de AMPc provocada pela GM, dificulta a resposta renal à concentração sérica de ADH aumentada. A progressiva melhora renal, entretanto, propicia,

progressivamente, aumento da resposta renal ao HAD e, conseqüentemente, maior reabsorção de água.

A origem do quadro de proteinúria verificado nos animais que receberam GM pode ser explicada pela junção de três fatores. Embora o glomérulo, em condições normais, seja impermeável a proteínas de alto peso molecular, eventualmente moléculas proteicas de baixo peso molecular ultrapassam a barreira glomerular. Nesse caso, a reabsorção dessas proteínas é realizada pelos túbulos proximais, que na necrose tubular aguda encontram-se lesados e, portanto, incapacitados de realizar tal função (Vianna *et al.*, 2006; Langston *et al.*, 2008). Como a GM provoca, além das lesões tubulares, danos glomerulares por mecanismos ainda não esclarecidos totalmente (Lopez-Novoa *et al.*, 2011), ocorre o surgimento da proteinúria, um indicativo de lesão glomerular ou tubular (Consenza, 2010). Além disso, as proteínas encontradas na urina são também, provavelmente, decorrentes da proteólise maciça causado pela GM no quadro de necrose tubular aguda.

Na condução desse estudo houve considerável aumento desse parâmetro renal nos animais do grupo GM visualizado, principalmente, na 2ª semana. O aumento da proteinúria reflete uma grave lesão renal nos ratos que receberam GM. Contudo, a partir da terceira semana o treinamento físico foi capaz de atenuar esse efeito, uma vez que houve redução considerável da proteinúria nos animais treinados que foi estatisticamente diferente dos valores encontrados no grupo de animais Sed GM. De fato, alguns estudos têm demonstrado que o treino aeróbio regular possui papel preventivo e terapêutico no desenvolvimento da proteinúria (Calle-Pascual *et al.*, 1993; Lazarevic *et al.*, 2007; Kurdak *et al.*, 2010) e redução da lesão glomerular em quadros de diabetes mellitus (Ishikawa *et al.*, 2012).

As causas para o desenvolvimento da lesão renal induzida pela GM podem ser várias. Tem sido proposto, por exemplo, que espécies reativas de oxigênio (EROS) podem ser os agentes causadores da morte celular em diferentes estágios patológicos da injúria renal (Fantone & Ward, 1982; Weiss & Lobuglio, 1982; Halliwell & Gutteridge, 1990). A produção de EROS pode, ainda, estimular a ativação ou expressão de mediadores proinflamatórios o que contribuiria para o desenvolvimento progressivo da lesão renal induzida pela GM. A resposta inflamatória e fibrogênica associada ao aumento dos níveis do fator de crescimento tumoral (TGF)-  $\beta$ , endotelina e angiotensina II, durante o tratamento com GM, foram implicados na progressão da necrose tubulointersticial (Shaheen, 2014). Da mesma forma, Geleilate *et al.* (2002) verificaram que os miofibroblastos, macrófagos, fator de transformação do crescimento- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), endotelina e angiotensina II contribuem para o desenvolvimento da fibrose renal em ratos tratados com GM.

Neste trabalho observou-se que o treinamento físico aeróbio moderado foi capaz de reduzir o quadro inflamatório provocado pela GM assim como o aumento da área intersticial que se reflete por perda tecidual e diminuição, portanto, da funcionalidade renal.

## 6 CONCLUSÕES

### 6.1 Avaliação do treinamento físico

Os resultados mostram que o protocolo de treinamento físico empregado foi efetivo, uma vez que os animais apresentaram:

- Aumento da atividade da enzima citrato sintase;
- Aumento do tempo total de exercício e da velocidade máxima constatado no 2º TEMP.

### 6.2 Avaliação da função renal

Nossos resultados mostraram que o treinamento físico apresenta aspectos nefroprotetores já que os ratos submetidos ao treinamento e que receberam a GM apresentaram:

- Melhora dos danos renais hemodinâmicos, o que foi constatado pela diminuição da concentração plasmática de creatinina e aumento do *clearance* de creatinina;
- Redução dos danos renais tubulares, uma vez que a excreção de Na<sup>+</sup> e K<sup>+</sup> encontram-se reduzidas;
- Redução das lesões glomerular e tubular uma vez que houve menor proteinúria;
- Melhora do efeito inflamatório causado pela GM o que foi evidenciado pelas análises histológica e morfométrica que revelaram menor número de células inflamatórias além de menor área intersticial no grupo T GM.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGARWALL, D.; ELKS, C.M.; REED, S. D.; MARIAPPAN, N.; MAJID, D.S.A.; FRANCIS, J. Chronic Exercise Preserves Renal Structure and Hemodynamics in Spontaneously Hypertensive Rats. *Antioxidants and redox signaling* 16 (2): 139 - 152, 2012.

ALI, B.H. Agents ameliorating or augmenting experimental gentamicin nephrotoxicity: some recent research. *Food Chem Toxicol* 41(11): 1447 - 1452, 2003.

ALMEIDA, M.B.; ARAÚJO, C.G. Efeitos do treinamento aeróbico sobre a frequência cardíaca. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 9 (2): 113 – 120, 2003.

ALOM, M.M.; BHUIYAN, N.I.; HOSSAIN, M.M.; HOQUE, M.F.; ROZARIO, R.J.; NESSA, W. Physical training induced resting bradycardia and its association with cardiac autonomic nervous activities. *Mymensingh Med J* 20 (4): 665 - 670, 2011.,

ALP, P.R.; NEWSHOLME, E.A.; ZAMMIT, V.A. Activities of citrate synthase and NAD<sup>+</sup>-linked and NADP<sup>+</sup>-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. *Biochem J* 154 (3): 689 - 700, 1976.

AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE. Diretrizes do ACSM para os testes de esforços e sua prescrição. 6<sup>a</sup>.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2003.

AMERICAN PHYSIOLOGICAL SOCIETY. Resource book for the design of animal exercise protocols. 2006.

ATESSAHIN, A.; KARAHAN, I.; YILMAZ, S.; CERIBASI, A.O.; PRINCCI, I. The effect of manganese chloride on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Pharmacological Research* 48 (6): 637 – 642, 2003.

BERNE, R.M.; LEVY, M.N. Berne e Levy: Fundamentos de Fisiologia. 6<sup>a</sup> Ed. Editora Elsevier, 2009.

BILLAT, V.; MOUISEL, E.; ROBLOT, N.; MELKI, J. Inter and intrain strain variation in mouse critical running speed. *J Appl Physiol* 98: 1258 - 1263, 2005.

BRUM, P. C.; FORJAZ, C.L.deM; TINUCCI, T.; NEGRÃO, C.E. Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. *Revista Paulista de Educação Física* 18: 21 - 31, 2004.

CALIARI, M. V. Princípios de Morfometria Digital: KS300 para iniciantes. Belo Horizonte: UFMG, 1997.

CALLE-PASCUAL, A.L.; MARTIN-ALVAREZ, P.J.; REYES, C.; CALLE, J.R. Regular physical activity and reduced occurrence of microalbuminuria in type 2 diabetic patients. *Diabete & metabolism* 19 (3): 304 - 309, 1993.

CARVALHO, J. F.; MASUDA, M. O.; POMPEU, F. A.M.S. Method for diagnosis and control of aerobic training in rats based on lactate threshold. *Comparative Biochemistry and Physiology* 140 (parte A): 409 - 413, 2005.

CASONATTO, J.; POLITO, M.D. Hipotensão pós-exercício aeróbio: uma revisão sistemática. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 15 (2): 151 - 157, 2009.

CHEEMA, B.S.; SINGH, M.A. Exercise training in patients receiving maintenance hemodialysis: a systematic review of clinical trial. *Am J Nephrol* 25 (4): 352 - 364, 2005.

CHEN, J.L.; ZHOU, T.; CHEN, W.X.; ZHU, J.S.; CHEN, N.W.; ZHANG, M.J.; WU, Y.L. Effect of tetramethylpyrazine on P-selectin and hepatic/renal ischemia and reperfusion injury in rats. *World J Gastroenterol* 9 (7): 1563 - 1566, 2003.

COELHO, C.deF.; BURINI, R.C. Atividade física para prevenção e tratamento das doenças crônicas não transmissíveis e da incapacidade funcional. *Revista de Nutrição* 22 (6): 937 - 946, 2009.

CORNELISEN, V.A.; FAGARD, R.H. Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. *Hypertension* 46 (4): 667 - 675, 2005.

COSENZA, G.P. Efeito do extrato bruto das folhas de *echinodorus macrophyllus* e de frações semipurificadas sobre a função renal em ratos com necrose tubular aguda induzida por gentamicina. 2010. 95 p. Dissertação (Mestrado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

COSTA, R.V.C. Insuficiência cardíaca crônica e atividade física. *Rev SOCERJ*, 13 (4): 34 - 36, 2001.

CUZZOCREA, S.; MAZZON, E.; DUGO, L.; SERRAINO, I.; DI, P. R.; BRITTI, D. A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Eur J Pharmacol* 450 (1): 67 - 76, 2002.

EATON, D.C.; POOLER, J.P. Fisiologia renal de Vander. 6ª ed. Editora Artmed, 2006.

EKOR, M.; FAROMBI, E.O.; EMEROLE, G.O. Modulation of gentamicin-induced renal dysfunction and injury by the phenolic extract of soybean (*Glycine max*). *Fundam Clin Pharmacol* 20 (3): 263 - 271, 2006.

EVANGELISTA, F.S.; MARTUCHI, S.E.D.; NEGRÃO, C.E.; BRUM, P. C. Loss of resting bradycardia with detraining is associated with intrinsic heart rate

changes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 38: 1141 - 1146, 2005.

DE SOUZA, P.S.; DA ROCHA, L.G.; TROMM, C.B.; SCHEFFER, D.L.; VICTOR, E.G.; DA SILVEIRA, P.C.; DE SOUZA, C.T.; SILVA, L.A.; PINHO, R.A. Therapeutic action of physical exercise on markers of oxidative stress induced by chronic kidney disease. *Life Sci* 91 (3-4): 132 - 136, 2012.

DINIZ, R.L. Disfunção Renal Induzida por Modelo Polimicrobiano de Sepsis: Avaliação de Componentes do Sistema Renina-Angiotensina. 2011. 104 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

DIRETRIZ DE REABILITAÇÃO CARDÍACA. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 84 (5): 431 - 440, 2005.

FAGARD, R.H. Exercise characteristics and the blood pressure response to dynamic physical training. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 33 (suppl.6): 484 - 492, 2001.

FANTONE, J.C.; WARD, P.A. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 107 (3): 395 - 418, 1982.

FERNANDES, T.; ROQUE, F.R.; CASTRO, F.de; CARMO, E.C.do; OLIVEIRA, E. M. de. O treinamento físico aeróbio corrige a rarefação capilar e as alterações nas proporções dos tipos de fibra muscular esquelética em ratos espontaneamente hipertensos. *Rev Bras Med Esporte* 18 (4): 267 -272, 2012.

FERREIRA, M.T. O papel da atividade física na composição corporal de idosos. *Revista Brasileira de Ciências da Saúde* 1 (1): 43 - 53, 2003.

FLECK, C. Determination of the glomerular filtration rate (GFR): methodological problems, age-dependence, consequences of various surgical interventions, and the influence of different drugs and toxic substances. *Physiol Res* 48: 267 - 279, 1999.

FOX, E.L.; BOWERS, R.W.; FOSS, M.L. Bases fisiológicas da educação física e dos desportos. Tradução de Giuseppe Taranto. 4ª ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara koogan, 1992

GELEILETE, T.J.; MELO, G.C.; COSTA, R.S.; VOLPINI, R.A.; SOARES, T.J.; COIMBRA, T.J. Role of myofibroblasts, macrophages, transforming growth factor-beta, endothelin, angiotensin-II, and fibronectin in the progression of tubulointerstitial nephritis induced by gentamicin. *Journal of Nephrology* 15 (6): 633 - 642, 2002.

GOTO, C.; HIGASHI, Y.; KIMURA, M.; NOMA, K.; HARA, K.; NAKAGAWA, K.; NARA, I. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation* 108 (5): 530 - 535, 2003.

GRAUER, G. Distúrbios urinários. In: NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Fundamentos de medicina interna de pequenos animais. São Paulo: Guanabara Koogan, p.331 - 385, 2001.

GUALANO, B.; UGRINOWITSCH, C.; NOVAES, R.B.; ARTIOLI, G.G.; SHIMIZU, M.H.; SEGURO, A.C.; HARRIS, R.C.; LANCH JR, A.H. Effects of creatine supplementation on renal function: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Eur J Appl Physiol* 103: 33 - 40, 2008.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. Guyton & Hall: Tratado de Fisiologia. 12<sup>a</sup> ed. Editora Elsevier, 2011.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys* 280 (1): 1 - 8, 1990.

HAMER, M. The anti-hypertensive effects of exercise: Integrating Acute and Chronic Mechanisms. *Sports Medicine* 36 (2): 109 - 116, 2006.

HEIFETS, M.; DAVIS, T.A.; TEGTMEYER, E.; KLAHR, S. Exercise training ameliorates progressive renal disease in rats with subtotal nephrectomy. *Kidney Int* 32 (6): 815 - 820, 1987.

ISHIKAWA, Y.; GOHDA, T.; TANIMOTO, M.; OMOTE, K.; FURUKAWA, M.; YAMAGUCHI, S.; MURAKOSHI, M.; HAGIWARA, S.; HORIKOSHI, S.; FUNABIKI, K.; TOMINO, Y. Effect of Exercise on Kidney Function, Oxidative Stress, and Inflammation in Type 2 Diabetic KK-Ay Mice. *Experimental Diabetes Research* 2012 (Special section): 1 - 10, 2012.

ITO, S.; SHINBO, H.; BOKU, M.; UCHIDA, J.; YAMAMOTO, J.; SATO, S.; SUGISAKI, T. Effect of exercise on rats with renal injury. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 34 (3): 295 - 299, 1992.

ITO, I.; ITO, O.; CAO, P.; MORJ, N.; SUDA, C.; MUROYA, Y.; TAKASHIMA, K.; ITO, S.; KOHZUKI, M. Effects of exercise training on nitric oxide synthase in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 40 (2): 74 - 82, 2013.

JENKINS, K.; KIRK, M. Heart failure and chronic kidney disease: an integrated care approach. *Journal of Renal Care* 36 (suppl. 1): 127-135, 2010.

KANAZAWA, M.; KAWAMURA, T.; LI L, SASAKI Y, MATSUMOTO K, KATAOKA H, ITO O, MINAMI N, SATO T, OOTAKA T, KOHZUKI M. Combination of exercise and enalapril enhances renoprotective and peripheral effects in rats with renal ablation. *Am J Hypertens* 19 (1): 80 -86, 2006.

KELLEY, G.A; KELLEY, K.S. Progressive resistance exercise and resting blood pressure: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hypertension* 35 (3): 838 - 843, 2000.

KESANIEMI, Y.K.; DANFORTH, E. Jr.; JENSEN, M.D.; KOPELMAN, P.G.; LEFÈBVRE, P.; REEDER, B.A. Dose-response issues concerning physical activity and health: an evidence-based symposium. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 33 (suppl.6): 351 - 358, 2001.

KIRSZTAJN, G.M.; BASTOS, M.G. Proposta de padronização de um programa de rastreamento da doença renal crônica. *J Bras Nefrol* 29: 18 - 22, 2007.

KURDAK, H.; SANDIKÇI, S.; ERGEN, N.; DOGAN, A.; KURDAK, S.S. The effects of regular aerobic exercise on renal functions in streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Sports Science and Medicine* 9: 294 - 299, 2010.

LANGSTON, C. Managing fluid and electrolyte disorders in renal failure. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 38 (3): 677 - 697, 2008.

LATERZA, M.C.; RONDON, M.U.P.B.; NEGRÃO, C.E. Efeito anti-hipertensivo do exercício. *Revista Brasileira de Hipertensão* 14 (2): 104 - 111, 2007.

LAZAREVIC, G.; ANTIC, S.; VIAHOVIC, P.; VLAHOVIC, P.; DJORDJEVIC, V.; ZVEZDANOVIC, L.; STEFANOVIC, V. Effects of aerobic exercise on microalbuminuria and enzymuria in type 2 diabetic patients. *Renal Failure* 29 (2): 199 - 205, 2007.

LEE JU, YOO KS, KANG DG, KIM SW, CHOI KC. Gentamicin decreases the abundance of Aquaporin Channels in rat kidney. *Jpn J Pharmacol* 85: 391 - 398, 2001.

LEOSCO, D.; PARISI, V.; FEMMINELLA, G.D.; FORMISANO, R.; PETRAGLIA, L.; ALLOCCA, E.; BONADUCE, D. Effects of exercise training on cardiovascular adrenergic system, *Front Physiol* 4 (348): 1 - 7, 2013.

LOPEZ-NOVOA, J.M.; QUIROS, Y.; VICENTE, L.; MORALES, A.I.; LOPEZ-HERNANDEZ, F.J. Newinsights into the mechanismof aminoglycoside nephrotoxicity: anintegrative pointof view. *Kidney Int* 79 (1): 33 - 45, 2011.

LUFT FC, EVAN, A. R Glomerular filtration barrier in aminoglycoside-induced nephrotoxic acute renal failure. *Renal Physiol* 3: 265 - 271, 1980.

MANCHADO, F.B.; BOBATTO, C.A.; CONTARTEZE, R.V.; PAPOTI, M.; DE MELLO, M.A.R. Maximal lactate steady state in running rats. *JEPonline* 8 (4): 29 - 35, 2005.

MARTINS, A.S.; CRESCENZI, A.; STERN, J.E.; BORDIN, S.; MICHELINI, C. Hypertension and exercise training differentially affect oxytocin receptor expression in the brain. *Hypertension* 46: 1004 - 1009, 2005.

McARDLE, W.D; KATCH, F.I.; KATCH, V.L. Fisiologia do Exercício: Energia, Nutrição e Desempenho Humano. 7ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2011.

MEDEIROS, A.; OLIVEIRA, E.M.; GIANOLLA R, CASARINI, D.E.; NEGRAO, C.E.; BRUM, P.C. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Braz J Med Biol Res* 37: 1909 - 1917, 2004.

MONEDERO, P.; GARCIA-FERNÁNDEZ, N.; PÉREZ-VALDIVIESO, J.R.; VIVES, M.; LAVILLA, J. Insuficiência renal aguda. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación* 58 (6): 365 - 374, 2011.

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* 96 (3): 76 - 81, 2004.

MORAES, R.de; GIOSEFFI, G.; NÓBREGA, A.C.L.; TIBIRIÇÁ, E. Effects of exercise training on the vascular reactivity of the whole kidney circulation in rabbits. *J Appl Physiol* 97 (2): 683 - 688, 2004.

MORAES, R.S.; NÓBREGA, A.C.L.da; CASTRO, R.R.T et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Diretriz de reabilitação cardíaca. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 84 (5): 431 - 440, 2005.

MUSTATA, S.; GROENEVELD, S.; DAVIDSON, W.; FORD, G.; KILAND, K.; MANNS, 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. *International Urology Nephrology* 43 (4): 1133 – 1141, 2011.

NAKAJIMA T, HISHIDA A, KATO A. Mechanisms for protective effects of free radical scavengers on gentamicin-mediated nephropathy in rats. *Am J Physiol* 266 (3 Pt 2): 25 - 31, 1994.

NAVES, L.A.; VILAR, L.; COSTA, A.C.F.; DOMINGUES, L.; CASULARI, L.A. Distúrbios na secreção e ação do hormônio antidiurético. *Arq Bras Endocrinol Metab* 47 (4): 467 - 481, 2003.

NEGRÃO, C.E.; IRIGOYEN, M.C.; MOREIRA, E.D.; BRUM, P.C.; FREIRE, P.M.; KRIEGER, E.M. Effect of exercise training on RSNA, baroreflex control, and blood pressure responsiveness. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol* 265 (34): R365 - R370, 1993.

OCHOA, J.J; DIAZ-CASTRO, J.; KAJARABIBLLE, N.;GARCÍA, C.; GUISADO I.M.; De TERESA, C.; GUISADO, R. Melatonin supplementatios ameliorates oxidative stress and inflamatory signaling by strenous exercise in adult human males. *Journal of Pineal Research* 51 (4): 373 - 380, 2011.

OLIVEIRA, E.M.; SASAKI, M.S.; CERENCIO, M.; BARAUNA, V.G.; KRIEGER, J.E. Local renin-angiotensin system regulates LV hypertrophy induced by swimming training independent of circulating renin: a pharmacological study. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* 10 (1): 15 - 23, 2009.

OLIVEIRA, J.F.P.; CIRCULLO, J.P.; BURDMANN, E.A. Nefrotoxicidade dos aminoglicosídeos. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular* 21 (4): 444 - 452, 2006.

ORTEGA, A.; RÁMILA, D.; IZQUIERDO, A.; GONZÁLEZ, L.; BARAT, A.; GAZAPO, R.; BOSCH, R.J.; ESBRI, P. Role of the renin-angiotensin system on the parathyroid hormone-related protein overexpression induced by nephrotoxic acute renal failure in the rat. *J Am Soc Nephrol* 16 (4): 939 - 949, 2005.

PESCATELLO, L.S.; FRANKLIN, B.A.; FAGARD, R.; FARQUHAR, W.B.; KELLEY, G.A.; RAY, C.A. American College of Sports Medicine. Exercise and hypertension. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 36 (3): 533 - 553, 2004.

PINHO, R. A. de; ARAÚJO, M.C.de; GHISI, G.L.deM.; BENETTI, M. Coronary Heart Disease, Physical Exercise and Oxidative Stress. *Arq Bras Cardiol* 94 (4): 515 - 521, 2010.

POLIDORI, M.C.; MECOCCHI, P.; CHERUBINI, A.; SENIN, U. Physical activity and oxidative stress during aging. *International Journal of Sports Medicine* 21: 154 - 157, 2000.

POORTMANS, J.R.; VANDERSTRAETEN, J. Kidney function during exercise in healthy and diseased humans. *Sports Med* 18 (6): 419 - 437, 1994.

PORTELLA, V.G.; COSENZA, G.P.; DINIZ, L.R.; PACHECO, L.F.; CASSALI, G.D.; CALIARI, M.V.; BRANDÃO, M.D.; VIEIRA, M.A. Nephroprotective Effect of *Echinodorus macrophyllus* Micheli on Gentamicin-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Nephron Extra* 2 (1): 177 - 183, 2012.

POWERS, S.; HOWLEY, E.T. Fisiologia do Exercício – Teoria e Aplicação ao Condicionamento e ao Desempenho. 6ª ed. Editora Manole Ltda, 2009.

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* 31: 741 - 743, 2004.

RIBEIRO, A.P.A.F. Adaptações renais induzidas pelo treinamento aeróbio em ratos normais em repouso e sob efeito do exercício. 2009. 93 p. Tese (Doutorado em Fisiologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

RIBEIRO, R.C.H.M.; OLIVEIRA, G.A.S.A.; RIBEIRO, D.F.; BERTOLIN, D.C.; CESARINO, C.B.; LIMA, L.C.E.Q.; OLIVEIRA, S.M. Caracterização e etiologia da insuficiência renal crônica em unidade de nefrologia do interior do Estado de São Paulo. *Acta Paulista de Enfermagem* 21: 207 - 211, 2008.

RONDON, M.U.P.B.; BRUM, P.C. Exercício físico como tratamento não-farmacológico da hipertensão arterial. *Revista Brasileira de Hipertensão* 10: 134 - 139, 2003.

ROQUE, F.R.; SOCI, U.P.; ANGELIS, K.de; COELHO, M.A.; FURSTENAU, C.R.; VASSALLO, D.V.; IRIGGOYEN, M.C. Moderate exercise training promote adaptations in coronary blood flow and adenosine production in normotensive rats. *Clinics* 66 (12): 2105 - 2111, 2011.

ROSSONI, L.V.; OLIVEIRA, R.A.; CAFFARO, R.R.; MIANA, M., SANZ-ROSA, D.; KOIKE, M.K.; AMARAL, S.Ldo.; MICHELINI, L.C.; LAHERA, V.; CACHOFEIRO, V. Cardiac benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. *Journal of Hypertension* 29 (12): 2349 - 2358, 2011.

SANTOS, O.F.P. Participação do fator ativador de plaquetas em alguns modelos de nefrotoxicidade em ratos. 1990. 149 p. Tese (Doutorado em Medicina) – Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, 1990.

SANTOS, C.B. Atualização em insuficiência renal aguda: resposta celular ao estresse na insuficiência renal aguda. *J Bras Nefrol* 23 (1): 64 - 67, 2001.

SANTULLI, G.; CICCARELLI, M.; TRIMARCO, B.; IACCARINO, G. Physical activity ameliorates cardiovascular health in elderly subjects: the functional role of the  $\beta$  adrenergic system. *Front Physiol* 4 (209): 1 - 7, 2013.

SCHOR, N.; SANTOS, O.F.P.dos; BOIM, M.P. Insuficiência renal aguda. Cap. 13, p.65-71. In: Wroclawski, E.R. Guia prático de urologia. Sociedade Brasileira de Urologia, 2003.

SESSO, R.C.C; LOPES, A.A.; THOMÉ, F.S.; LUGON, J.R.; BURDMAN, E.A. Censo Brasileiro de Diálise, 2009. *J Bras Nefrol* 32: 380 - 384, 2010.

SHAHEEN, U.; MANZOOR, Z.; KHALING, T.; KANWAL, A.; MUHAMMAD, F.; HASSAN, I.J.; MUNAWAR, S.H.; MAZHAR-UL-HAQ. Evaluation of nephroprotective effects of *Foeniculum vulgare* Mill, *Solanum Nigrum* Linn and their mixture against gentamicin-induced nephrotoxicity in albino rabbits. *Int J Pharm Sci Rev Res* 25 (1): 1 - 9, 2014.

SHARMAN, J.E.; LA GERCHE, A.; COOMBES, J.S. Exercise and cardiovascular risk in patients with hypertension. *American Journal of Hypertension* 28 (2): 147 – 158, 2015.

SHIN, H-S.; YU, M.; KIM, M.; CHOI, H.S.; KANG, D-H. Renoprotective effect of red ginseng in gentamicin-inuced acute kidney injury. *Laboratory investigation* 94 (10): 114 - 160, 2014.

SINGH, A.P.; JUNEMANN, A.; MUTHURAMAN, A.; JAGGI, A.S.; SINGH, N.; GROVER, K.; DHAWAN, R. *Animal models of acute renal failure* 64 (1):31 - 44, 2012.

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 Appl Physiol* 94: 555 - 560, 2002.

SMELTZER, S.C.; BARE, B. G. Brunner & Suddarth: tratado de enfermagem médico-cirúrgica. 9ª. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 3, 2002.

Sociedade Brasileira de Cardiologia/Sociedade Brasileira de Hipertensão/Sociedade Brasileira de Nefrologia. VI Diretrizes Brasileira de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 95 (supl 1): 1 - 51, 2010.

TELESI, M.; MACHADO, F.A. A influência do exercício físico e dos sistemas antioxidantes na formação de radicais livres no organismo humano. *SaBios: Rev. Saúde e Biol* 3 (1): 40 - 49, 2008.

VÉRAS-SILVA, A.S.; MATTOS, K.C.; GAVA, N.S.; BRUM, P.C.; NEGRÃO, C.E.; KRIEGER, E.M. Low intensity exercise training decreases cardiac output and hypertension in spontaneously hypertensive rats. *American Journal of Physiology: Heart Circ Physiol* 273: 2627 - 2733, 1997.

VIANA, J.L.; KOSMADAKIS, G.C.; WATSON, E.L.; BEVINGTON, A.; FEEHALLY, J.; BISHOP, N.C.; SMITH, A.C. Evidence for Anti-Inflammatory Effects of Exercise in CKD. *J Am Soc Nephrol* 25 (9): 2121 - 2130, 2014.

VIANNA, P.T.G. Marcadores biomoleculares da insuficiência renal. Cap 10, p. 57-61. In: CAVALCANTI, I.L.; CANTINHO, F.A.F.; ASSAD, A. Medicina Perioperatória. Sociedade de Anestesiologia do Estado do Rio de Janeiro, 2006.

VOLPINI, R.A.; BALBI, A.P.C.; COSTA, R.S.; COIMBRA, T.M. Increased expression of p38 mitogenactivated protein kinase is related to the acute renal lesions induced by gentamicin. *Braz J Med Biol Res* 39 (6): 817 - 823, 2006.

WATANABE, A.; NAGAI, J.; ADACHI, Y.; KATSUBE, T.; KITAHARA, Y.; MURAKAMI, T.; TAKANO, M. Targeted prevention of renal accumulation and toxicity of gentamicin by aminoglycoside binding receptor antagonists. *Journal of Controlled Release* 95 (3): 423 - 433, 2004.

WEISS, S.J.; LOBUGLIO, A.F. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 47 (1): 5 - 18, 1982.

ZHOU, T.; LI, X.; WU, P.; ZHANG, D.; ZHANG, M.; CHEN, N.; DONG, D. Effect of anti-P-selectin monoclonal antibody on renal ischemia/reperfusion injury in rats. *Chin Med J (Engl)* 113 (9): 790 - 793, 2000.