

ELIANE BARBOSA TOGOE

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM UM MODELO
DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM COELHOS**

CAMPO GRANDE

2012

ELIANE BARBOSA TOGOE

**ANÁLISE DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM UM MODELO
DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM COELHOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof^a Dr. Iandara Schettert Silva

CAMPO GRANDE
2012

FOLHA DE APROVAÇÃO

ELIANE BARBOSA TOGOE

ANÁLISE DOS EFEITOS DO EXERCÍCIO FÍSICO EM UM MODELO DE INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA EM COELHOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado: Aprovado

Campo Grande (MS), 20 de Dezembro de 2012.

BANCA EXAMINADORA

Profª Dra. Iandara Schettert Silva

Instituição: Universidade Federal Do Mato Grosso Do Sul - UFMS

Profª Dra. Suzi Rosa Miziara Barbosa

Instituição: Universidade Federal Do Mato Grosso Do Sul – UFMS

Prof. Dr. Gustavo Christofolotti

Instituição: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul - UFMS

Dedico este trabalho á meu saudoso pai, que não está mais comigo, mas me deixou ensinamentos para uma vida inteira, entre eles o de não desistir de alcançar meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

-À **Meu Deus** por ter colocado no meu caminho pessoas maravilhosas que me apoiaram e ter me dado força para continuar a lutar sempre.

-À minha orientadora **Profª Dra. Iandara Schettert Silva**, que dedicou seu tempo e doou seu conhecimento, me mostrou os caminhos a percorrer, e depositou em mim sua confiança. Minha gratidão.

-À minha professora de Graduação **Profª Me. Juliana Loprete Cury**, que me iniciou os passos para a realização desta pesquisa e sempre esteve presente.

-À Universidade da Grande Dourados, que gentilmente cedeu laboratórios e profissionais.

-À todos os professores e acadêmicos do curso de veterinária da Universidade da Grande Dourados – UNIGRAN, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

-Aos coordenadores do Hospital Veterinário da UNIGRAN que cederem tão gentilmente o espaço para que a presente pesquisa pudesse ser realizada.

-Ao Programa de Pós-graduação Saúde e Desenvolvimento da Região Centro Oeste, através de seus professores e funcionários, que possibilitaram a realização de um grande sonho.

-À minha família que esteve sempre ao meu lado e me incentivou a nunca desistir dos meus sonhos.

-Ao meu companheiro de jornada, que sem saber e quase que sem querer, tanto me ajudou, sem ter nada em troca. Sem sua ajuda tudo teria sido mais difícil. De coração, obrigada.

“Há um tempo em que é preciso abandonar as roupas usadas, que já tem a forma do nosso corpo, e esquecer os nossos caminhos, que nos levam sempre aos mesmos lugares. É o tempo da travessia: e, se não ousarmos fazê-la, teremos ficado, para sempre, à margem de nós mesmos.”

(Fernando Pessoa)

RESUMO

TOGOE EB. Análise dos efeitos do exercício físico em um modelo de Insuficiência Renal Crônica em Coelhos. Campo Grande; 2012. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

A Insuficiência Renal Crônica está associada a alterações sistêmicas que levam o paciente renal ao sedentarismo e grave descondição físico. A função muscular diminui decorrente de distúrbios que podem ser melhorados de forma independente das estratégias que abordem a doença primária. O exercício programado pode trazer benefícios significativos e proporcionar melhor qualidade de vida. O objetivo desta pesquisa foi analisar o efeito do exercício físico aeróbico e exercício resistido, através da análise histopatológica (muscular, renal, pulmonar e cardíaca) e bioquímica sanguínea (uréia, creatinina) em um modelo animal de insuficiência renal crônica em coelhos. Foram utilizados 28 coelhos da variedade Nova Zelândia Branco. Os animais foram submetidos ao procedimento cirúrgico de Isquemia e Reperfusão Renal. Após 6 semanas da cirurgia os animais foram distribuídos em três grupos randomizados para a realização do protocolo de exercício físico: grupo exercício aeróbico (GA), grupo exercício resistido (GR) e grupo controle (GC). Foram realizadas coletas de sangue (ureia, creatinina) em três momentos: pré-operatório, pré-intervenção (após 6 semanas da cirurgia) e pós-intervenção (após 8 semanas de treinamento físico). Para análise histopatológica foi coletados músculo esquelético e cardíaco, rim e pulmão. Para análise estatística das variáveis quantitativas, os resultados foram expressos em média e desvio-padrão. Os resultados das variáveis qualitativas foram expressos em porcentagem. Para comparação de medidas repetidas, utilizou-se a análise de variância ANOVA (*two-way*), seguida do teste *post hoc* de *Tukey Test*, significância estatística foi estabelecida para $\alpha = 5\%$ ($p < 0,05$). Os valores obtidos para ureia apresentaram um aumento gradativo até o momento pré-intervenção ($p < 0,05$), e voltaram a reduzir. Os níveis de creatinina apresentaram progressiva elevação em relação a coleta no momento pré-operatório continuando em elevação no momento pós-intervenção ($p < 0,05$). As análises histopatológicas demonstraram lesões sistêmicas: rim direito e esquerdo, coração, pulmão. Entretanto não foram identificadas lesões musculares detectáveis ao método utilizado. O modelo animal em coelhos mostrou-se viável e eficaz devido às lesões sistêmicas identificadas, boa sobrevida dos animais e a possibilidade da execução de exercício físico.

Palavras Chaves: insuficiência renal crônica, histopatológica, análise bioquímica, exercício físico.

ABSTRACT

TOGOE EB. Analysis of the effects of physical exercise on a model of Chronic Renal Failure in Rabbits. Campo Grande; 2012 [Dissertation - Federal University of Mato Grosso do Sul]

The Chronic Kidney Disease is associated with systemic changes that lead the renal patient to physical inactivity and serious physical deconditioning. Muscle function decreases due to disorders that can be upgraded independently of strategies that address the primary disease. The programmed exercise can bring significant benefits and provide better quality of life. The objective of this research was to analyze the effect of aerobic exercise and resistance exercise, through the Histopathological Analysis (muscular, renal, cardiac and lung) and blood Biochemistry (urea, creatinine) in an animal model of chronic renal failure in rabbits. Were used 28 rabbits varieties White New Zealand. The animals were submitted to surgical procedure of ischemia and Reperfusion. After 6 weeks of surgery the animals were divided into three groups randomized to the realization of the Protocol of exercise: aerobic exercise group (GA), group resisted exercise (GR) and control group (GC). Blood collections were performed (urea, creatinine) in three moments: pre-operation, pre-intervention (after 6 weeks postoperatively) and post-intervention (after 8 weeks of physical training). For histopathological analysis was found in cardiac and skeletal muscle, kidney, and lung. For statistical analysis of quantitative variables, the results were expressed as mean and standard deviation. The results of the qualitative variables were expressed as percentage. For repeated measures comparison, we used analysis of variance ANOVA (two-way) followed by the Tukey post hoc test Test, statistical significance was established for $\alpha = 5\%$ ($p < 0.05$). The values obtained for urea presented a gradual increase so far pre-intervention ($p < 0.05$), and returned to reduce. Creatinine levels have progressively increased over time preoperative collection continuing in elevation in the post-intervention time ($< p 0.05$). The Histopathological Analysis showed systemic injuries: left and right kidney, heart, lungs. However were not identified muscle injuries detectable to the method used. The animal model in rabbits showed to be viable and effective due to systemic lesions identified, good survival of animals and the possibility of executing the exercise.

Key words: chronic renal failure, pathology, biochemistry analysis exercise.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Animais dentro da caixa de contenção sobre a esteira elétrica na prática de exercício aeróbico	32
Figura 2 - Rampa de madeira utilizada para o exercício Resistido dos animais.....	32
Figura 3 - Coloração do rim esquerdo após 20 minutos de isquemia renal.....	35
Figura 4 - Fotografia de lâmina histopatológica do rim esquerdo (A) e rim direito (B) mostrando congestão medular e cortical (aumento 10x HE).....	38
Figura 5 - Fotografia de lâmina histológica do rim esquerdo mostrando atrofia glomerular (A) e degeneração hidrópica (B) de células tubulares (aumento 40x HE).....	38
Figura 6 - Fotografia de lâmina histológica do rim direito mostrando Glomerulonefrite. (aumento 10x HE).....	38
Figura 7 - Fotografia de lâmina histológica mostrando necrose de ventrículo esquerdo.....	40
Figura 8 - Fotografia de lâmina histológica mostrando atelectasia pulmonar difusa.....	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Média e desvio padrão dos níveis de uréia para todos os grupos.....	36
Tabela 2 - Média e desvio padrão dos níveis de creatinina para todos os grupos.....	36
Tabela 3 - Distribuição percentual das alterações histopatológicas renais encontradas nos animais por grupo de intervenção.....	37
Tabela 4 - Distribuição percentual das alterações histopatológicas cardíacas e pulmonares encontradas nos animais por grupo de intervenção.....	39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA	15
2.2 Isquemia e Reperfusão Renal.....	16
2.3 Manifestações Sistêmicas da IRC	18
2.3.1 Miopatia Urêmica.....	19
2.3.2 Doença Cardiovascular	20
2.3.3 Alterações Pulmonares	21
2.4 Avaliação da Função e Lesão Renal	22
2.5 EXERCÍCIO FÍSICO NA IRC.....	24
3. OBJETIVO GERAL	27
3.1 Objetivos Específicos	27
4 MÉTODOS	28
4.1 Tipo de Estudo	28
4.2 Amostra	28
4.3 Delineamento	28
4.3.1 Distribuição dos Grupos	29
4.4 Procedimentos	29
4.4.1 Pré – anestesia.....	29

4.4.2 Primeira Coleta de sangue: momento pré-operatório.....	30
4.4.3 Cirurgia: Isquemia e Reperusão Renal	30
4.4.4 Pós – Operatório.....	31
4.4.5 Segunda Coleta de Sangue: Momento Pré-intervenção	31
4.5 Protocolo de Exercício Físico.....	31
4.6 Terceira Coleta de Sangue: Momento Pós-intervenção	33
4.7 Eutanásia	33
4.8 Coletas de Amostras	33
4.9 Preparo Histológico	34
4.10 Análises histopatológicas	34
4.12 Análise Estatística	34
5 RESULTADOS	35
6 DISCUSSÃO	41
CONCLUSÕES	48
REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	49
ANEXO A – Aprovação Comissão de Ética no Uso de Animais/ CEUA/UFMS....	58

1 INTRODUÇÃO

A Insuficiência Renal Crônica (IRC) é considerada um dos principais problemas de saúde do mundo, sendo importante causa de morbidade e mortalidade, caracterizada por perdas lentas, progressivas e irreversíveis da função renal. Os principais fatores de risco para o desenvolvimento da IRC são: hipertensão arterial sistêmica, *diabetes mellitus* e história familiar da doença renal (SESSO;GORDAN, 2007).

A incidência da IRC aumenta cerca de 8% ao ano no Brasil e a prevalência de indivíduos mantidos em diálise aumentou mais de 100% nos últimos 8 anos. A região Centro Oeste ocupou em 2008 o terceiro lugar de maior prevalência e aumento de casos novos de IRC de todo Brasil, na marca de 18,3 %. Estima-se que cerca de 96% dos atendimentos dialíticos sejam realizados em unidades vinculadas ao Sistema Único de Saúde (SUS), gerando um gasto para os cofres públicos de cerca de 1,4 bilhões de reais por ano (SESSO *et al.*, 2007).

As fases avançadas da IRC têm sido associadas a alterações fisiológicas em vários sistemas: nervoso, cardiovascular, respiratório, músculo esquelético, imunológico e endócrino/metabólico. É comum, entre pacientes com IRC em hemodiálise (HD), a limitação na tolerância ao exercício físico, que pode estar relacionada à anemia, disfunção cardiovascular e redução da capacidade do músculo esquelético na extração de oxigênio. Estas condições são caracterizadas por graves limitações funcionais, que incluem baixa aptidão cardiorrespiratória, fadiga persistente e de início precoce, muitas vezes com os pacientes submetidos a um período de grave descondicionamento e, em alguns casos, resultando em incapacidade física (COELHO *et al.*, 2009).

Embora não totalmente compreendido, descondicionamento e incapacidade física parecem estar relacionadas à atrofia muscular, miopatia e desnutrição. O estilo de vida sedentário e a inatividade se associam às condições psicológicas (como depressão), que leva muitos pacientes com IRC a relatar influência negativa no condicionamento físico. Todas essas alterações estruturais são conhecidas como Miopatia Urêmica que pode manifestar-se por atrofia e fraqueza muscular, dificuldade na marcha, mioclonias, câimbras e diminuição na capacidade aeróbica (MOREIRA; BARROS, 2000).

Em virtude dessas alterações, têm sido propostos programas de exercício físico que visam não somente o tratamento dos sinais clínicos da doença, mas de suas repercussões na função e na qualidade de vida (QV), já que esses indivíduos tendem ao sedentarismo e à limitação funcional (REBOREDO *et al*, 2010).

Desde a década de 80, programas de exercício físico para pacientes renais crônicos começaram a ser implantados. A partir de então há inúmeros estudos que relatam os benefícios do exercício neste tipo de paciente, tanto a nível fisiológico, funcional e psicológico. Mais de 30 anos de investigação demonstram que exercícios físicos para pacientes renais crônicos é seguro. Entretanto a implantação de programas para a reabilitação física desses pacientes não é usual quando comparados aos pacientes com doenças cardiovasculares e pulmonares. Esse fato pode ser devido à alta comorbidade que esses pacientes apresentam, com terapia substitutiva, medicamentos e hospitalizações que dificultam a investigação do exercício. Além disso, a falta de protocolos, frutos de investigações de qualidade pode ter favorecido a deficiência da aplicação clínica do exercício nessa população (SEGURA – ORTÍ, 2010).

Os vários protocolos de treinamentos estudados até hoje, demonstram a melhora da capacidade de exercício desses pacientes, bem como melhora da qualidade de vida. Mas a análise histopatológica especificamente não é feita, visto que se trata de um exame pouco usual e dada à quantidade de procedimentos invasivos que esses pacientes são submetidos, não é um processo cômodo e viável. Portanto realizar a análise do efeito do exercício físico a partir de um modelo animal experimental de IRC poderá esclarecer os efeitos dos exercícios físicos nessa população. Assim protocolos de exercícios físicos podem ser adotados como parte da rotina de tratamento desses pacientes, com incremento do tratamento dialítico, que muitas vezes se baseia apenas na manutenção da função renal, contribuindo para a realização de uma terapêutica que leve em consideração as repercussões sistêmicas da IRC na vida diária do paciente (NAJAS *et al*, 2009).

Dessa forma o objetivo desta pesquisa é analisar o efeito do exercício físico resistido e exercício físico aeróbico, através da análise histopatológica (muscular, renal, pulmonar e cardíaca) e bioquímica sanguínea (uréia, creatinina) em um modelo animal de insuficiência renal crônica experimental em coelhos Nova Zelândia Branco.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 INSUFICIÊNCIA RENAL CRÔNICA

A insuficiência renal Crônica (IRC) é um problema de saúde pública que está associado à morbidade e mortalidade. Embora a maioria dos pacientes com IRC possa estar com o grau leve da doença (estágio 1-2), uma grande parcela apresentam a doença moderada a grave (estágios 3-4) e o número de pacientes que se encontram no estágio final da doença renal (estágio 5) tem aumentado consideravelmente ao longo dos anos (KESTENBAUM; BELOZEROFF, 2007).

A causa da doença renal, muitas vezes não é facilmente perceptível, porém evidência epidemiológica sugere que a doença vascular pode ser a etiologia predominante (LESLEY; VISWANATHAN; WEINER, 2010).

A lesão por isquemia/reperfusão renal pode ser a causa mais comum de lesão renal, que resulta de uma deficiência generalizada de oxigênio e nutrientes. Há um desequilíbrio na oferta e demanda de oxigênio e acúmulo de resíduos do metabolismo, causando lesão nas células do epitélio tubular renal, morte por apoptose e necrose. Vários estados fisiopatológicos e medicamentos podem contribuir para a diminuição do fluxo sanguíneo renal e levar a lesão por isquemia (BONVENTRE; IANG, 2011).

Nas fases iniciais da IRC a maioria dos órgãos funciona normalmente, de forma que o paciente só procura atenção médica quando seu mal já evoluiu para a síndrome urêmica, causada por distúrbios funcionais em inúmeros órgãos e representa os estágios finais da progressão da IRC. As substâncias normalmente eliminadas na urina acumulam nos líquidos corporais em virtude do comprometimento da função renal e levam a uma ruptura nas funções endócrinas e metabólicas, com conseqüente distúrbio hidroeletrólíticos e acidobásico (RIBEIRO *et al*, 2008).

2.2 Isquemia e Reperfusão Renal

A lesão por isquemia e reperfusão pode ser definida como toda alteração devida à privação e re-estabelecimento do suprimento de oxigênio aos tecidos e órgãos. Trata-se de um fenômeno complexo que envolve não apenas os efeitos intracelulares, mas também uma lesão inflamatória. Pesquisas anteriores em modelos animais demonstraram que as consequências da isquemia/reperfusão dependem da duração, resultando em alterações bioquímicas e até necrose celular, sendo 20 a 35 minutos, o tempo máximo que o rim pode tolerar a isquemia. Os rins mantêm a auto regulação da Taxa de Filtração Glomerular (TFG) independente das mudanças da pressão arteriolar, enquanto a pressão arterial sistêmica flutua entre 80 e 180 mmHg, a TFG permanece constante. Em condições fisiológicas o córtex renal, onde se encontra a maioria dos glomérulos (unidades de filtração), recebe a maior parte do fluxo renal, e a região medular recebe em torno de 10% (THOMPSON *et al.*, 2007) .

Durante a isquemia renal a diminuição do fluxo sanguíneo não é uniforme, sendo mais proeminente na região medular que no córtex renal. Quando o suprimento de sangue torna-se interrompido transitoriamente, os níveis de oxigênio são mantidos através da redução da TFG e transportes de solutos nos túbulos renais. Esse mecanismo protetor é prejudicado pela produção das espécies reativas de oxigênio (EROS), que causa uma diminuição ainda maior do fluxo sanguíneo medular. O aumento na produção de EROS leva a uma lesão endotelial durante a reperfusão, responsável por uma cascata de eventos lesivos ao tecido renal. Além disso, a consequente resposta inflamatória também leva à congestão vascular que se propaga no ambiente hipóxico e reduz a capacidade de limpeza dos radicais tóxicos. Assim a região corticomedular é a região renal mais vulnerável a lesão com a contínua hipoperfusão (SUTTON, 2009).

Dessa forma, a hipoperfusão contínua leva a alterações vasculares que incluem desprendimento celular da monocamada endotelial, resultando em aumento da permeabilidade da barreira endotelial vascular e reatividade. A resposta inflamatória gera um aumento de moléculas de adesão intercelular (ICAM-1, P-e e E-selectina), que estão relacionadas ao aumento da injúria renal durante a isquemia (LEGRAND, 2008).

Esses fatores em conjunto criam um ambiente que levam a uma maior lesão tubular renal, diminuição TFG e função renal, levando conseqüentemente a IRC (MUNSHI; HSU; HIMMELFARB, 2011).

A hipótese de hipóxia crônica foi formulada por Fine e colaboradores (1998) *apud* Munshi, Hsu e Himmelfarb (2011) há mais de uma década atrás, com base em achados de biopsia renal em pacientes com IRC, e demonstraram rarefação acentuada dos capilares peritubulares. Sua hipótese propôs que a lesão glomerular primária leva a um fluxo reduzido, o que culmina em perda capilar peritubular. Esse fato cria um ambiente hipóxico que produz uma resposta fibrótica, comprometendo ainda mais os capilares adjacentes. Outra perspectiva é que a lesão renal desencadeia uma resposta inflamatória que recruta citocinas fibróticas, como fator transformador de crescimento e induz a transformação das células epiteliais e endoteliais renais para miofibroblastos, um processo chamado de transição epitelial mesenquimiais, que leva a produção de fibroblastos e miofibroblastos, com lesão intersticial subsequente e atrofia (YOUHUA, 2010).

A principal característica histopatológica da doença renal crônica é a fibrose túbulo-intersticial, sendo que o grau de fibrose é o melhor preditor da progressão para a fase final da doença renal (SINHA *et al.*, 2009). A perda da microvasculatura renal cria um ambiente hipóxico e produz a progressão da fibrose, rarefação dos capilares peritubulares, que pode ser observado em biopsia de modelos animais (KANG *et al.*, 2002). Em um estudo com modelos animais observou-se uma relação direta entre rarefação capilar peritubular e o desenvolvimento de cicatrizes glomerular e túbulo intersticial, associado a uma redução permanente da densidade capilar peritubular após reversão da isquemia, sugerindo que a agressão isquêmica leva a um estado hipóxico crônico (BASILE *et al.*, 2001).

As mitocôndrias são importantes alvos do processo isquemia/reperfusão. Dentro da mitocôndria ocorre uma diminuição do NADH, ADP/ATP sintetase, aumento da fosfolipase, acúmulo de cálcio e radicais livres produzidos pelas mitocôndrias. A associação dessas alterações pode ser responsável pela morte celular devido principalmente a reperfusão. Estudos recentes sobre a patogênese da isquemia renal fazem uma relação temporal entre os estágios clínicos e as alterações celulares. No rim exposto à isquemia, a depleção intracelular é intensa, ocorre produção de espécies reativas de oxigênio, lesão endotelial e ativação de

mecanismos inflamatórios. Em seguida os mecanismos de proteção intrarrenal são solicitados e se a isquemia for interrompida pode ocorrer uma completa recuperação. Caso isso não ocorra, a cronicidade da hipóxia leva a IRC (DEVARAJAN, 2006; SILVA, 2011).

Como consequência a todas essas alterações no ambiente celular renal e cronicidade da isquemia/reperfusão, ocorre os sinais e sintomas característicos da IRC, conhecidos também como síndrome urêmica. Perdas de função renal de até 50% não se manifestam clinicamente, porém reduções maiores causam a Síndrome Urêmica, caracterizada por um conjunto de sinais, sintomas e complicações que atingem praticamente todos os órgãos e sistemas do organismo (PALM *et al.*, 2010).

2.3 Manifestações Sistêmicas da IRC

Os rins têm inúmeras funções, mas a principal função é manter a homeostase celular, ideal para o metabolismo dos tecidos. Isso é possível através do equilíbrio do transporte de água e de soluto, excreção de resíduos metabólicos, conservação de nutrientes e regulação de ácidos e bases. O rim também tem uma função endócrina e secreta os hormônios renina, eritropoetina e dihidroxivitamina D³ para a regulação da pressão arterial, produção de eritrócitos e metabolismo do cálcio, respectivamente. Além disso, quando necessário os rins podem sintetizar glicose a partir de aminoácidos e realizar o processo de gliconeogênese. Assim a urina é formada por filtração, reabsorção e secreção por glomérulos e túbulos renais dentro do rim (CHIKOTAS *et al.*, 2006). Quando um desequilíbrio das funções do rim ocorre, desenvolve-se como consequência a Síndrome Urêmica. Embora os mecanismos específicos que contribuam para a uremia ou sintomas tóxicos sejam ainda desconhecidos, sabe-se que envolve uma combinação de fatores como: retenção de moléculas, deficiência de hormônios e fatores metabólicos (WOEKENEH; MITCH, 2010).

Os sintomas de fraqueza muscular e fadiga são característicos de uma complicação da IRC conhecida como miopatia urêmica. Estes sintomas aparecem frequentemente nos relatos de pacientes com IRC e foram, no passado,

erroneamente traduzidos como decorrentes da debilidade geral, pobre estado de saúde ou desequilíbrio eletrolítico (QUINTANILLA; SAHGAL, 1984).

2.3.1 Miopatia Urêmica

A síndrome da miopatia urêmica tem seus primeiros sintomas relacionados à fraqueza da musculatura proximal, afetando principalmente os músculos dos membros inferiores como flexores, extensores e abdutores do quadril. Os pacientes relatam também dificuldades na marcha, câimbras, mioclonias e diminuição da capacidade aeróbica (QUINTANILLA; SAHGAL, 1984; MOREIRA; BARROS, 2000).

Existem diversos fatores causais inter-relacionados no desenvolvimento das alterações musculares que acometem o paciente com IRC. Dentre estes se destacam a diminuição da ingestão protéico-calórica, atrofia de desuso e desbalanço proteico e muscular, que favorece o catabolismo (SAKKAS *et al.*, 2003). Porém, a patogenia da miopatia urêmica é complexa e envolve fatores que não estão totalmente estabelecidos, como a própria toxicidade urêmica, deficiência da vitamina D (associada à doença óssea), alterações mitocondriais, desnutrição e atrofia por desuso, que contribuem para as alterações estruturais e funcionais das fibras musculares. Em análises histológicas de músculos de pacientes urêmicos foram encontrados atrofia das fibras musculares tipo II, redução do leito vascular e capilar, e aumento da matriz conjuntiva intersticial (CUPISTI *et al.*, 2004; MCINTYRE *et al.*, 2006).

A alteração muscular causada pela ausência da função renal normal ocorre principalmente por diminuição da síntese de proteína contrátil em relação ao aumento da degradação proteica no músculo. Além disso, alterações nas proteínas mitocondriais levam à diminuição da capacidade oxidativa mitocondrial e consequente perda no fornecimento de energia proveniente da molécula de adenosina trifosfato (ATP) para a contração muscular. Essas alterações metabólicas são responsáveis pelo estado de caquexia dos pacientes com IRC, que culminam com a perda de massa muscular e fraqueza muscular (ADEY *et al.*, 2000).

Quanto ao tipo de fibra muscular, a do tipo II é a mais acometida na miopatia urêmica. Quintanilha e Sahgal (1984) observaram que, segundo estudos consultados, a atrofia muscular era restrita às fibras tipo II e que apenas um pequeno número de fibras tipo I eram acometidas. As alterações mais encontradas foram perda da conformação poligonal normal e do diâmetro celular. Outros achados como núcleo centralizado, acúmulo de vacúolos de glicogênio nas fibras tipo II foram relatados. Além disso, destacam o acúmulo de gotículas de lipídio em ambas as fibras, tipo I e tipo II.

2.3.2 Doença Cardiovascular

Pacientes com IRC são considerados de alto risco para doenças cardiovasculares (DCV), responsáveis por 40-50% dos óbitos nessa população. Durante o tratamento conservador de pacientes com IRC, observa-se que o declínio do ritmo de filtração glomerular está associado à hipertrofia ventricular esquerda (HVE). A presença de HVE, por sua vez, constitui em importante fator independente de risco cardiovascular para os pacientes com DRC (ARAUJO *et al.*, 2011).

O elevado risco cardiovascular na IRC poderia, em parte, ser explicado por um sinergismo entre os fatores de risco tradicionais e os denominados emergentes, derivados do estado urêmico, o qual predispõe aterosclerose acelerada e mortalidade precoce (LORDSLEEM *et al.*, 2012). Os determinantes da DCV são múltiplos e incluem os fatores de risco encontrados na população em geral e os fatores específicos da IRC. A relação entre anemia e DCV já é bem estabelecida e resulta em alteração da estrutura do ventrículo esquerdo (VE) e sua função. Essas alterações levam a uma hipertrofia ventricular esquerda adaptativa, evoluindo para uma cardiomiopatia descompensada, que predispõe a uma ICC, doença cardíaca isquêmica e morte prematura. Existe associação entre anemia da DRC e desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda. Podem ocorrer dois tipos de alterações: aumento exclusivo da massa muscular do VE ou dilatação do volume diastólico final do VE. Pode haver um aumento do diâmetro da artéria carótida, aumento da espessura do músculo da camada media e distensibilidade muscular

reduzida. Quando essas alterações são combinadas com aumento do fluxo sanguíneo visto na IRC, existe risco para aterosclerose. Todas essas alterações levam a um risco cardíaco aumentado (MIRANDA *et al.*, 2009).

No curso da IRC, a calcificação vascular é fortemente associada a eventos cardiovasculares e à morte. Os distúrbios do metabolismo mineral e ósseo, caracterizados por alterações nas concentrações séricas de cálcio, fósforo e paratormônio, associam-se com calcificação extraóssea, seja arterial, valvular e miocárdica, além de desempenharem importante papel na patogênese da hipertrofia e fibrose miocárdica (LORDSLEEM *et al.*, 2012).

2.3.3 Alterações Pulmonares

A relação entre o pulmão e o rim é clinicamente importante para a manutenção da homeostasia do organismo. Os pulmões e os rins trabalham juntos para manter o equilíbrio acidobásico do corpo. Os pacientes com IRC sofrem de um grande número de complicações relacionadas com o sistema respiratório (PIERSON, 2006).

O edema pulmonar e fibrose pleural são comuns no estágio final da doença renal, no entanto, outras alterações pulmonares estão associadas a IRC, como: fibrose pulmonar, calcificação, hipertensão pulmonar (KARACAN *et al.*, 2006). Em um estudo que revisou registros de autópsias de 20 pacientes com IRC, foram encontradas doenças agudas e crônicas. As doenças agudas mais comuns eram pneumonia e sobrecarga de fluido pulmonar, enquanto que as doenças crônicas mais encontradas foram fibrose intersticial e pleural, calcificação e aterosclerose (FAIRSHTER, 1983).

O edema pulmonar pode ser causado pela hipoalbuminemia, característica da IRC, que diminui a pressão osmótica do plasma, forçando o fluido a sair dos capilares pulmonares. Outro fator que pode contribuir para o edema pulmonar é o aumento da pressão hidrostática, que ocorre quando há associação da Insuficiência cardíaca congestiva e IRC. Os pacientes são assintomáticos e algumas

vezes podem ser possíveis auscultar a fricção dos folhetos pleurais (PIERSON, 2006).

A alteração muscular é outro fator que afeta o sistema respiratório do paciente renal. As toxinas urêmicas se acumulam nos músculos respiratórios, levando a fraqueza muscular. Foi observado durante um estudo, que pacientes dialisados que apresentam uremia crônica tinham diminuição da força e resistência dos músculos respiratórios (BARK *et al.*, 1988). Portanto, a Miopatia Urêmica também afeta os músculos respiratórios. A alteração muscular respiratória foi confirmada em um estudo com ratos urêmicos. Neste estudo realizaram a dissecação do músculo sóleo e do diafragma de ratos urêmicos e normais, realizando então a estimulação com eletrodos. Observou-se que ambos os músculos são acometidos pela miopatia urêmica, porém o diafragma é afetado em maior grau no estágio final da doença, enquanto que o músculo sóleo é afetado em estágios iniciais da IRC. Os autores sugeriram então que o diafragma é mais resistente aos efeitos da miopatia urêmica devido sua contínua atividade no suporte ventilatório (TARASUIK; HEIMER; BARK, 1992). Esse fato sugere que a atividade física pode retardar os efeitos da miopatia urêmica no músculo esquelético.

Dessa forma, todas essas alterações levam a uma alteração dos volumes e capacidade pulmonares, interferem nas vias de transporte de oxigênio, comprometendo a adequada distribuição de oxigênio aos tecidos.

2.4 Avaliação da Função e Lesão Renal

A avaliação da progressão da IR é baseada nos sinais, sintomas e história clínica do paciente. Em geral, os exames laboratoriais que avaliam a função renal tentam estimar a taxa de filtração glomerular (TFG), definida como o volume plasmático de uma substância que pode ser completamente filtrada pelos rins em uma determinada unidade de tempo. A TFG é uma das mais importantes ferramentas na análise da função renal, sendo também um indicador do número de

néfrons funcionais. Como medida fisiológica, ela já provou ser o mais sensível e específico marcador de mudanças na função renal (SODRÉ, COSTA, LIMA, 2007).

Quando a TFG permanece abaixo de 75 ml/min e creatinina sérica 1,5 mg/dL em mulheres e 2,0mg/dL em homens geralmente é indicativo de IR . A diálise é iniciada quando a TFG cai para 10 e 15ml/min e a creatinina sérica atinge 8 mg/dL (CHIKOTAS *et al.*, 2006).

As manifestações clínicas da IR são incipientes, silenciosas e se confundem com sinais clínicos de diversas outras morbidades, sendo frequentemente percebidas quando constatadas alterações em exames laboratoriais de rotina, como a uréia e principalmente a creatinina (MAGRO; VATTIMO, 2007).

A uréia é um metabólico nitrogenado, derivado da degradação de proteínas pelo organismo, sendo 90% excretados pelos rins e o restante eliminado pelo trato gastrintestinal e pela pele. A principal utilidade clínica da uréia esta na determinação em conjunto com a creatinina. A razão uréia sérica/ creatinina pode indicar estados patológicos diferentes. Em valor abaixo do esperado ela pode ser encontrada em patologias como a necrose tubular aguda, baixa ingestão de proteínas, condições de privação alimentar ou redução da síntese de uréia por insuficiência hepática. A análise dessa razão elevada, com a creatinina dentro do valor de referência, indica processos que levam a diminuição do fluxo sanguíneo renal, aumento na ingestão proteica, ou sangramento gastrintestinal; e com a creatinina acima do valor normal, denota processos obstrutivos pós-renais, como tumores ou estenose de vias urinárias (SODRÉ; COSTA; LIMA, 2007).

A creatinina é um produto residual da creatina e sua transformação acontece no tecido muscular, no qual 1% a 2% da creatina livre se converte espontânea e irreversivelmente em creatinina todos os dias. Assim, a quantidade de creatinina produzida é dependente da massa muscular e não apresenta grandes variações diárias, sendo filtrada livremente no glomérulo. Em termos gerais, 7%-10% da creatinina presente na urina é secretada. Apesar de algumas limitações do seu uso, a creatinina tornou-se um biomarcador quase universal para a avaliação da FG, sendo possível não só o diagnóstico de doença renal, como o monitoramento preciso da progressão da doença (KIRSZTAJN; BASTOS; ADRIOLO, 2011).

2.5 EXERCÍCIO FÍSICO NA IRC

A importância da atividade física para a manutenção da saúde é cada vez mais evidente. Em muitas partes do mundo, as atividades ocupacionais de grande parte da população são cada vez mais sedentárias. Nesses ambientes, a substituição de algum nível de lazer ou exercício programado pode conferir benefício para a manutenção da saúde (HENRIQUE *et al.*, 2009).

No que diz respeito a IRC, não é claro em que medida o declínio da função muscular é um resultado direto das alterações relacionadas com a doença na fisiologia do músculo esquelético, em oposição à redução da atividade física e má nutrição. No entanto, um crescente consenso emergiu que a função muscular diminui decorrente de distúrbios que podem ser melhorados de forma independente das estratégias que abordem a doença primária subjacente. (ADAMS; VAZIRI, 2006). Há um crescente corpo de evidências que o exercício físico programado pode trazer benefícios significativos.

O exercício resistido é uma forma de treinamento de força contra uma resistência, usado para desenvolver a força e o tamanho dos músculos esqueléticos. Corretamente realizado, pode proporcionar significativos benefícios funcionais e de melhoria na saúde e bem-estar. O treinamento de resistência não deve ser confundido com musculação, levantamento de peso, que envolvem diferentes tipos de treinamento de força. Uma gama completa de movimento é importante no treinamento de resistência, porque a sobrecarga muscular ocorre apenas nos ângulos específicos comuns onde o músculo é trabalhado. O treinamento aeróbico (por exemplo, esteira ergométrica) é um exercício que melhora o consumo de oxigênio no metabolismo do corpo ou processos de geração de energia. Além disso, diminui a resistência à insulina, aumentam força e resistência muscular, melhora a flexibilidade, altera a composição corporal (particularmente aumenta a perda de gordura), e também diminui os fatores de risco para doença cardiovascular (AFSHAR *et al.*, 2010).

Há muito interesse nos efeitos do exercício aeróbico e de resistência (força) na doença renal crônica. Estas medidas podem diminuir a morbidade e a mortalidade, reduzindo a inflamação, o estresse oxidativo e a disfunção endotelial. Em algumas doenças crônicas o exercício aeróbico e treinamento de resistência têm

sido relatados ter uma influência benéfica sobre citocinas inflamatórias, resistência á insulina, obesidade, doenças cardiovasculares, porém ainda não é claro se esses benefícios do exercício físico podem favorecer os pacientes com IRC. Em virtude disso é possível que a reabilitação renal ainda não seja usada de forma regular (MOINUDDIN; LEEHEY,2008).

A IRC está associada com níveis aumentados de circulação citocinas pró-inflamatórias e outros marcadores de inflamação. Neste sentido Castaneda e colaboradores (2004), realizaram um estudo randomizado de 12 semanas de treinamento com exercício de resistência, 3 vezes por semana em 26 pacientes com IRC. Além da análise de resultados relacionados de tamanho e força muscular, eles mediram PCR (proteína C-reativa) e IL-6 (interleucina 6) antes e após a intervenção e observou uma diminuição desses níveis, além da hipertrofia muscular e aumento da força.

Em uma revisão realizada por Johansen e Painter (2012) constatou-se que o exercício físico aeróbico pode levar a uma diminuição da pressão sanguínea, níveis de colesterol e do estresse oxidativo indicado por diminuição nos produtos de peroxidação lípica. O exercício físico conduz também a uma menor proteinúria e um menor índice de esclerose glomerular em ratos após nefrectomia. Além disso, observou-se que nenhum estudo examinou o efeito do treinamento físico sobre as alterações da função renal com rigor suficiente para ser conclusivo, porém ressalta que nenhum estudo até hoje demonstrou um efeito negativo do exercício na progressão da IRC.

Segundo Adams e Vaziri (2006), o exercício físico pode causar alterações agudas na hemodiálise renal, o que pode resultar em uma queda transitória na taxa de filtração glomerular e retenção de fluidos em pacientes com IRC. No entanto essas alterações não aparecem para exarcebar uma disfunção renal preexistente. Por outro lado o exercício regular pode atenuar a degradação da proteína muscular e levar a uma melhor absorção dos aminoácidos essenciais e produção de proteína muscular, reduzindo a atrofia muscular (IKIZLER, 2004).

Em um estudo realizado por Headley e colaboradores (2002) durante 12 semanas, constatou-se que o treinamento físico levou a um aumento significativo na força de músculos dos membros inferiores em pacientes que realizavam hemodiálise. Além disso, histologicamente o treinamento de resistência levou a

hipertrofia do músculo esquelético demonstrada por redução do número de fibras atroficas e aumento significativo nos tipos de fibras I e II (KOUIDI *et al.*, 1998)

Em uma revisão de literatura realizada por Kosmadakis e colaboradores (2010), sobre o efeito do exercício físico na doença renal crônica severa, constatou que o exercício aeróbico levou a uma melhora da função cardíaca (fração de ejeção, volume sistólico e débito cardíaco), redução da pressão arterial diastólica e sistólica, diminuição dos níveis de colesterol e triglicerídeos com incremento da lipoproteína de alta densidade (colesterol bom) associado à diminuição da rigidez arterial, além da melhoria dos sintomas de depressão e qualidade de vida. Em conformidade com esses achados clínicos na publicação para identificação precoce e tratamento da IRC do *Royal College of Physicians* (2008), encontra-se a recomendação para incentivar as pessoas com IRC a praticarem exercícios.

Um estudo demonstrou aumento significativo na eficiência da hemodiálise com o exercício aeróbico. Após uma sessão HD, uréia, creatinina, potássio e toxinas urêmicas são lentamente transferidas dos tecidos mal perfundidos (especialmente músculos inativos) para a circulação. Uma única sessão de exercício aeróbico reduz o rebote da uréia, creatinina e potássio, possivelmente devido há perfusão aumentada do músculo esquelético (PARSONS; TOFFELMIRE; VLACK, 2006).

Apesar da crescente evidência dos efeitos benéficos do exercício na IRC, não há protocolos específicos para a prática do exercício físico nesta população. Geralmente as pessoas com IRC devem ser instruídas a iniciar uma rotina de atividade física segundo o nível de aptidão física e condição clínica. Para pacientes que não possuam contra indicação para a pratica de exercício, o treinamento aeróbico deve ser praticado por 30 minutos com intensidade moderada durante 5 dias por semana. Pacientes com IRC mais severa devem iniciar o exercício com uma intensidade mais baixa e acumular múltiplas sessões de exercício durante o dia (10 minutos). O treinamento resistido deve ser gradual e ser praticado pelo menos 2 vezes por semana associado ao exercício de flexibilidade diariamente (JOHANSEN, 2008).

3. OBJETIVO GERAL

Analisar o efeito do exercício físico resistido e exercício físico aeróbico, através da análise histopatológica (muscular, renal, pulmonar e cardíaca) e bioquímica sanguínea (uréia, creatinina) em um modelo animal de insuficiência renal crônica em coelhos Nova Zelândia Branco.

3.1 Objetivos Específicos

- Desenvolver um modelo experimental de insuficiência renal crônica em coelhos;
- Analisar alterações histopatológicas em rins, coração e pulmão;
- Analisar o efeito exercício físico aeróbico e resistido;
- Determinar a influência do exercício físico sobre os níveis de creatinina e uréia;

4 MÉTODOS

4.1 Tipo de Estudo

Foi utilizado nesta pesquisa o estudo experimental com uso de animais. A pesquisa foi aprovada pelo Comissão no Uso de Animais (Anexo A).

4.2 Amostra

Foram utilizados 28 coelhos da variedade Nova Zelândia Branco, com peso entre 2,5 a 3 kg, procedentes do criadouro da Universidade Estadual de Maringá – UEM. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais, em ambiente com euxastão e ventilação constante e temperatura apropriada, com livre acesso à água e ração comercial.

4.3 Delineamento

Inicialmente os 28 animais foram submetidos à coleta de sangue (uréia e creatinina) e em seguida cirurgia de isquemia e reperfusão para induzir IRC. Após o procedimento cirúrgico os coelhos permaneceram em observação por 6 semanas até que se constatassem alterações renais através da análise de uréia e creatinina. Decorrido esse período, os animais foram distribuídos em dois grupos de 10 e um grupo de 8 coelhos por distribuição randomizada para a realização do exercício físico.

4.3.1 Distribuição dos Grupos

Os coelhos foram distribuídos de forma randomizada em 3 grupos:

- a) Grupo Exercício Aeróbico (GA): formado por 10 coelhos que realizaram o exercício aeróbico em esteira. O treino aeróbico era realizado por 15 minutos ou era interrompido quando os coelhos apresentavam sinais de exaustão. O treinamento foi realizado diariamente por 5 semanas.
- b) Grupo Exercício Resistido (GR): formado por grupo de 10 coelhos que realizaram treinamento em rampa de madeira. O treinamento resistido era realizado induzindo o animal a subir a rampa, com estímulo tátil. Foram realizados 15 repetições do exercício diariamente por 5 semanas.
- c) Grupo Controle (GC): fizeram parte deste grupo 8 animais que permaneceram sedentários e que não praticaram nenhuma atividade.

4.4 Procedimentos

4.4.1 Pré – anestesia

Para realizar a coleta de sangue e procedimento cirúrgico proposto utilizaram-se os seguintes medicamentos pré-anestésicos: acepromazina (0,05g/Kg) associado a butorfanol (1mg/Kg) por via intramuscular 15 minutos antes da anestesia.

4.4.2 Primeira Coleta de sangue: momento pré-operatório

Antes da realização do procedimento de isquemia e reperfusão renal realizou-se coleta de sangue para dosagem de creatinina e uréia, caracterizando valores de referência para animais saudáveis. A coleta de sangue foi obtida por punção cardíaca, após pré - anestesia, feita pelo Veterinário responsável técnico da pesquisa. Para coleta utilizou-se os seguintes materiais: seringa descartável, agulha 25/7, descartak, tubo para coleta de sangue com anticoagulante, algodão e álcool 70%, luvas de procedimento.

4.4.3 Cirurgia: Isquemia e Reperfusão Renal

A cirurgia para induzir o modelo animal de insuficiência renal foi realizada no centro cirúrgico do Hospital Veterinário da Universidade da Grande Dourados – UNIGRAN. O procedimento foi realizado pelo Veterinário responsável técnico da presente pesquisa e a equipe de veterinários do Hospital Veterinário.

Para a anestesia foram utilizados os seguintes medicamentos: anestésico dissociativo (Cloridrato de tiletamina e Cloridrato de Zolazepam) na dose de 5mg/Kg por via intramuscular.

A indução da lesão renal foi realizada utilizando a técnica de isquemia e reperfusão renal. Após laparotomia nos coelhos realizou-se clampeamento do pedículo vascular do rim esquerdo, por vinte minutos, para gerar isquemia renal. Após esse período procedeu-se a remoção dos clampes e reperfusão do rim esquerdo. Foi feita síntese por planos com fio de mononylon 4-0.

4.4.4 Pós – Operatório

Em seguida ao término da cirurgia os coelhos receberam administração de analgésico butorfanol (1mg/Kg) durante 3 dias e cuidados com a ferida cirúrgica. Após o procedimento cirúrgico os animais permaneceram em observação por 6 semanas dias recebendo cuidados diários de higiene e livre acesso à ração comercial e água.

4.4.5 Segunda Coleta de Sangue: Momento Pré-intervenção

Após os 6 semanas de observação, os coelhos foram submetidos à nova coleta de sangue a fim de detectar alterações nos níveis de uréia e creatinina, e dessa forma caracterizar a lesão renal para então iniciar os exercícios físicos. Essa coleta seguiu moldes da primeira coleta de sangue.

4.5 Protocolo de Exercício Físico

O Treinamento aeróbico dos animais foi realizado utilizando esteira elétrica, marca *Movement Technology* com velocidade de 1km/h. Para direcionar os animais durante o exercício foi confeccionado uma caixa de madeira com quatro repartições, e colocada em cima da esteira. Cada coelho ocupava uma repartição e assim tinha que seguir uma única direção durante o exercício. Os coelhos realizaram treinamento por 15 minutos, com frequência de 5 vezes por semana durante 5 semanas. O exercício era interrompido quando os animais apresentavam sinais de exaustão (Figura 1).



Figura 1 - Animais dentro da caixa de contenção sobre a esteira elétrica na prática de exercício aeróbico.

Para a realização do treinamento resistido foi utilizado uma rampa confeccionada em madeira medindo 2,20 x 1,10 cm e inclinação de 45° (Figura 2). Para que os animais realizassem a subida utilizou-se o estímulo tátil na região glútea. Foi realizado 15 repetições, com frequência de 5 vezes por semana durante 5 semanas. Os coelhos foram previamente adaptados (uma semana) ao exercício e equipamentos antes do início do treinamento.



Figura 2 – Rampa de madeira utilizada para o exercício resistido dos animais.

4.6 Terceira Coleta de Sangue: Momento Pós-intervenção

Após 5 semanas de treinamento, procedeu-se nova coleta de sangue para dosagem de uréia e creatinina. O procedimento decorreu conforme descrito na primeira coleta e teve objetivo de identificar possíveis alterações nas concentrações de uréia e creatinina induzidas pelo exercício físico. Em seguida foi realizada a eutanásia dos animais.

4.7 Eutanásia

A eutanásia dos animais foi realizada mediante dose letal de barbitúrico intravenoso (100mg/kg).

4.8 Coletas de Amostras

Após eutanásia dos animais, foram retiradas amostras de peças anatômicas para histopatologia. Foram coletadas porções das seguintes estruturas: músculo gastrocnêmio, quadríceps e diafragma, rim, pulmão e coração.

4.9 Preparo Histológico

Após a coleta do material histopatológico, as peças foram mergulhadas em formol a 10% e então processadas para blocagem em parafina (5 cm). Em seguida as peças foram cortadas em micrótomo na espessura de 5 micrômetro e coradas com Hematoxilina e Eosina – HE.

4.10 Análises histopatológicas

As lâminas histológicas foram avaliadas por patologista através de microscópio eletrônico *Nikon Eclipse E 200*. As análises das lâminas foram utilizadas para constatar a presença ou ausência de lesões renais, bem como lesões em órgão distantes (coração e pulmão) características da Insuficiência Renal Crônica. Além disso, foram analisadas as fibras musculares do músculo gastrocnêmio, para detectar possíveis alterações decorrentes da miopatia urêmica, e que poderiam ser alteradas com a prática do exercício físico.

4.12 Análise Estatística

Para análise estatística das variáveis quantitativas, os resultados foram expressos em médias e desvios-padrão. Os resultados das variáveis qualitativas foram expressos em porcentagem. Para comparação de medidas repetidas, utilizou-se a análise de variância ANOVA (*two-way*), seguida do teste *post hoc* de *Tukey Test*. Significância estatística foi estabelecida para $\alpha = 5\%$ ($p < 0,05$).

5 RESULTADOS

O modelo animal de IRC em coelhos Nova Zelândia Branco apresentou boa sobrevida e possibilitou coletas de sangue consecutivas sem comprometer a volemia do animal. Durante a cirurgia o rim esquerdo apresentou uma alteração na coloração, após 20 minutos, devido o processo de isquemia renal (Figura 3). Dos 28 coelhos que foram submetidos à cirurgia de isquemia e reperfusão renal, onze animais foram a óbito no seguimento da pesquisa e foram excluídos das análises finais. Dessa forma ao término do experimento o GC, CA e GR ficaram com 6,5 e 6 animais respectivamente



Figura 3 – Coloração do rim esquerdo após 20 minutos de isquemia renal

As análises foram realizadas considerando o momento da coleta para todos os grupos. Assim foram divididos em momento pré-operatório da cirurgia de isquemia e reperfusão, momento pré-intervenção que se refere ao período após 45 dias da cirurgia e pré – treinamento físico e momento pós- intervenção que refere-se ao período após 5 semanas de treinamento físico e pré – eutanásia. Os valores referentes aos níveis de uréia e creatinina estão apresentados na tabela 01 e 02, consecutivamente.

Tabela 1 - Média e Desvio padrão dos níveis de uréia para todos os grupos

Grupos	Pré - Operatório	Pré - Intervenção	Pós - Intervenção
Controle	29,00±6,78	40,40±3,54*#	35,17±6,08
Exercício Aeróbico	32,22±4,35	38,14±3,64*#	30,78±6,34
Exercício Resistido	30,44±3,13	40,25±3,95*#	31,62±5,05

*Valores de uréia estatisticamente significativo para todos os grupos no momento pré-intervenção em relação ao momento pré-operatório ($p < 0,05$).

Valores de uréia estatisticamente significativo para todos os grupos no momento pré-intervenção em relação ao momento pós-intervenção ($p < 0,05$).

Os níveis de uréia no momento pré-operatório são valores para animais saudáveis e representam valores de normalidade para todos os grupos. No momento pré-intervenção, houve um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) dos níveis de uréia em relação ao momento pré-operatório, demonstrando uma alteração na filtração renal desse metabólico. No momento pós-intervenção, os valores de uréia apresentaram um declínio, quase voltando aos valores coletados no momento pré-operatório. Houve uma diferença significativa ($p < 0,05$) dos níveis de uréia no momento pré-intervenção, em relação ao momento pós-intervenção, ou seja, esses valores eram significativamente maiores após 6 semanas de cirurgia, porém voltaram a diminuir após o treinamento físico.

Tabela 2 - Média e desvio padrão dos níveis de creatinina para todos os grupos

Grupo	Pré – operatório	Pré - intervenção	Pós-Intervenção
Controle	0,97 ± 0,12	1,23 ± 0,26	1,97 ± 1,06*#
Exercício Aeróbico	1,02 ± 0,20	1,14 ± 0,09	1,32 ± 0,13*#
Exercício Resistido	1,03 ± 0,16	1,08 ± 0,05	1,85 ± 1,23*#

* Valores de creatinina estatisticamente significativo para todos os grupos no momento pós-intervenção em relação ao momento pré-operatório ($p < 0,05$).

Valores de creatinina estatisticamente significativo para todos os grupos no momento pós-intervenção em relação ao momento pré- intervenção ($p < 0,05$).

Os níveis de creatinina no momento pré-operatório representam valores de normalidade para esses animais. No momento pré-intervenção, os níveis de creatinina apresentaram um aumento, porém não foram estatisticamente

significativos. No momento pós-intervenção, os níveis de creatinina estavam mais elevados, sendo estatisticamente significativo ($p < 0,05$), em relação ao momento pré-operatório e pré - intervenção. Esse valor pode demonstrar o declínio da filtração glomerular com o passar do tempo. Não houve diferença estatisticamente significativa dos níveis de creatinina entre os grupos, porém o grupo controle e grupo que praticaram exercícios resistidos apresentaram níveis de creatinina mais elevados que o grupo que praticou exercício aeróbico.

As análises histopatológicas demonstraram lesões no tecido renal. As lesões apareceram no rim esquerdo e rim direito. As alterações estão relacionadas abaixo (tabela 3). Os valores estão apresentados em porcentagem de ocorrência nos animais, considerando a divisão dos grupos de intervenção.

Tabela 3 – Distribuição percentual das alterações histopatológicas renais encontradas nos animais por grupo de intervenção

Alterações Histopatológicas	Rim Direito			Rim Esquerdo		
	GC (n=6)	G A (n=5)	G R (n=6)	GC (n=6)	G A (n=5)	G R (n=6)
Congestão Medular e Cortical	83,4	60,0	66,7	33,4	40,0	33,4
Infiltrado Linfoplasmocitário	16,7	20,0	16,7	0	20,0	16,7
Degeneração Hidrópica Células Tubulares	0	0	16,7	33,3	20,0	50,0
Aumento do Espaço de Bowmann	0	0	0	16,7	20,0	0
Retração Glomerular	0	0	0	33,4	0	0
Repleção dos Capilares Glomerulares	0	20	0	0	0	0
Glomerulonefrite	40	0	0	20	0	16,7
Atrofia Glomerular	0	0	0	0	40	66,7
Fibrose	0	0	0	0	20	16,7

Alterações histopatológicas em rim direito e esquerdo. Grupo Controle (GC), Grupo aeróbico (GA), Grupo resistido (GR).

n – Número de animais

De acordo com as análises das lâminas histopatológicas foi possível observar congestão medular e cortical em rim esquerdo e direito (Figura 4), atrofia glomerular e degeneração hidrópica no rim esquerdo (Figura 5) e glomerulonefrite no rim Direito (Figura 6).

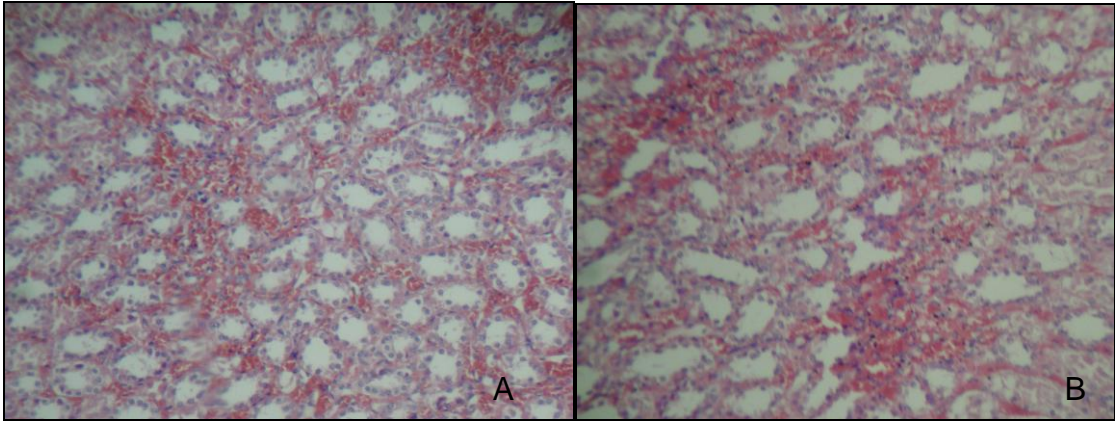


Figura 4 – Fotografia de lâmina histopatológica do rim esquerdo (A) e rim direito (B) mostrando congestão medular e cortical (aumento 10x HE).

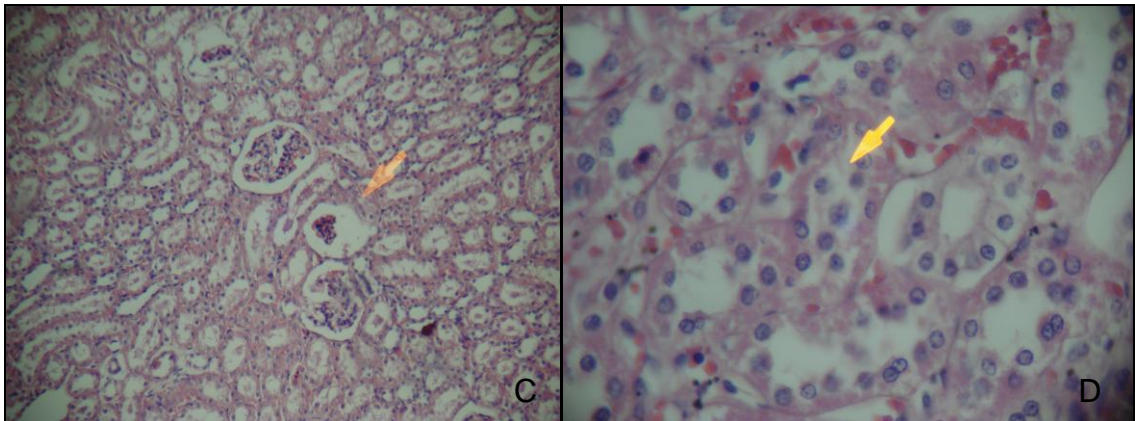


Figura 5 – Fotografia de lâmina histológica do rim esquerdo mostrando atrofia glomerular (C) e degeneração hidrópica (D) de células tubulares (aumento 40x HE).

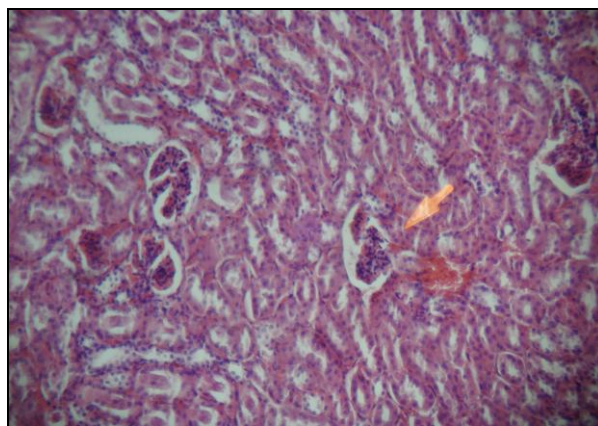


Figura 6 – Fotografia de lâmina histológica do rim direito mostrando Glomerulonefrite. (aumento 10x HE).

Foram encontradas alterações histopatológicas em coração e o pulmão dos animais (Tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição Percentual das alterações histopatológicas cardíacas e pulmonares encontradas nos animais por grupo de intervenção

Alterações Histopatológicas	Coração		
	GC	GA	GR
	(n=6)	(n=5)	(n=6)
Necrose Ventrículo Esquerdo	33,3	60,0	88,3
Necrose Ventrículo Direito	16,7	0	0
Congestão	33,3	20	0
Acúmulo de Células polimorfunucleares	0	20	0
Infiltrado Linfocitário	0	0	16,7
	Pulmão		
	GC	GA	GR
	(n=6)	(n=5)	(n=6)
Congestão Pulmonar Difusa	100	0	0
Atelectasia Difusa	88,3	40	33,3
Hemorragia Intrabronquial	0	20	0
Repleção de Capilares Alveolares	0	0	16,7
Hemorragia Multifocal	0	0	16,7
Broncopneumonia Supurativa	0	0	16,7

Alterações histopatológicas em rim direito e esquerdo. Grupo Controle (GC), Grupo aeróbico (GA), Grupo resistido (GR). n – Número de animais

Os principais achados histológicos incluem Necrose do ventrículo esquerdo (Figura 7) e atelectasia pulmonar difusa (Figura 8)

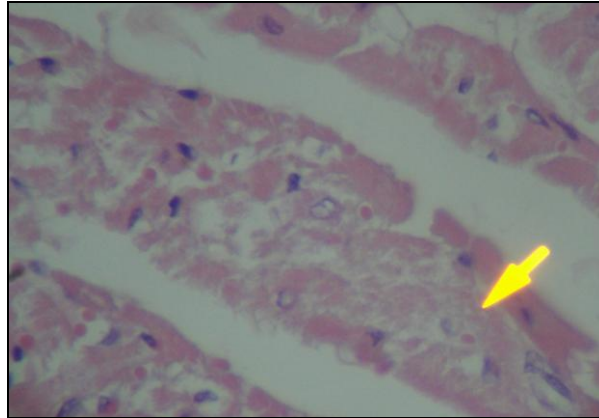


Figura 7 - Fotografia de lâmina histológica mostrando necrose de ventrículo esquerdo (aumento 40x HE)

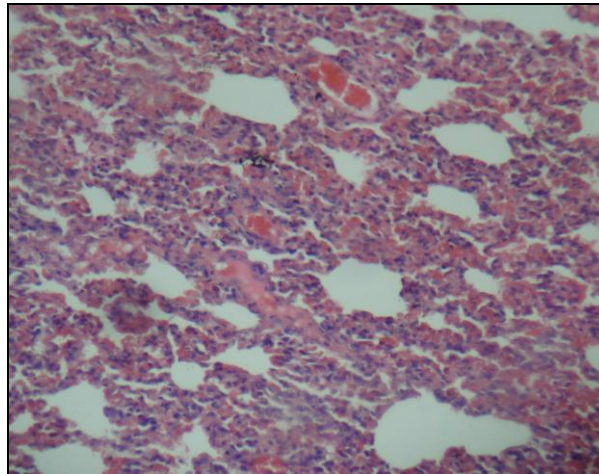


Figura 8 - Fotografia de lâmina histológica mostrando atelectasia pulmonar difusa (aumento 10x HE).

Todos os animais do GC apresentaram comprometimento pulmonar associado às alterações renais. As análises musculares apresentaram integridade das fibras musculares e ausência de atrofia muscular detectável pelo método de preparação histológica – HE.

6 DISCUSSÃO

A escolha dos coelhos para a realização deste experimento se deve a melhor sobrevida desses animais após a indução da insuficiência renal crônica, pois segundo estudo, esses animais oferecem uma janela terapêutica de 12 semanas, o que possibilita o treinamento muscular. Ao considerar a expectativa de vida de um coelho, em torno de sete a oito anos, aproximadamente dez vezes menor do que dos seres humanos, pode-se analogamente supor que o intervalo de observação de 12 semanas equivale a dois anos e meio de vida em *anima móbile*, o que caracteriza tempo suficiente para instalação da IRC. Além disso, apresentam uma maior volemia, comparados com os ratos, facilitando a retirada de amostras para as análises bioquímicas (COSTA *et al.*, 2009). No presente experimento foi possível realizar coletas consecutivas de sangue para análises bioquímicas sem comprometer a vida dos animais, que permaneceram viáveis em torno de 11,5 semanas até a eutanásia. Os trabalhos experimentais são fundamentais para que hipóteses possam ser mais bem estudadas e fatores de potencial interferência possam ser controlados. Formam a base para que ensaios clínicos possam ser delineados com menor risco para os pacientes.

O valor de normalidade para uréia e creatinina tem uma grande variação na literatura, entretanto os valores encontrados inicialmente no experimento estão próximos aos obtidos por Emanuelli e colaboradores (2008), que encontrou como valores normais para uréia em coelhos $36,44 \pm 10,66$ e para creatinina $0,94 \pm 0,22$. Segundo esses autores condições diferenciadas de clima e instalação podem interferir nestas variáveis.

Após primeira coleta de sangue os animais passaram pelo procedimento cirúrgico de Isquemia e Reperusão renal, para induzir o modelo animal de Insuficiência Renal Crônica Experimental. Assim realizou-se o camplamento do pedículo renal esquerdo por 20 minutos. Acreditava-se que em contraste com o coração e o cérebro, os rins poderiam recuperar-se completamente de um insulto isquêmico. Entretanto isso tem ocorrido com menos frequência, sendo reconhecido que lesão por isquemia/reperusão (mais que 20 minutos) pode levar a IRC (ISHANI *et al.*, 2009). Um estudo realizado por Thompson e colaboradores (2007) sobre o impacto clínico relacionado ao tempo de isquemia renal, sugere que o

campeamento vascular do pedículo renal está associado com aumento do risco de deterioração crônica da função renal. Este estudo demonstrou que isquemia por mais de 20 minutos está associado ao desenvolvimento de IRC. Danos irreversíveis ocasionados pelo processo de isquemia ocorrem após 30 a 45 minutos. No experimento proposto por esta pesquisa, a isquemia renal durou 20 minutos, esse tempo foi suficiente para gerar lesões comprovadas pelas análises histopatológicas.

A lesão renal por isquemia/reperfusão é resultado de uma deficiência de oxigênio e liberação de nutrientes para a remoção de resíduos. Há uma incompatibilidade entre a demanda e oferta de O_2 , associado ao acúmulo de substâncias, produtos do metabolismo. Como resultado do desequilíbrio, as células do epitélio tubular renal sofrem danos graves, como morte por apoptose e necrose celular, gerando perturbações da homeostase da água e eletrólitos e consequente redução da excreção de resíduos de produtos do metabolismo (BONVENTRE; YANG, 2011).

Uma razão para a sensibilidade renal à isquemia é que a microvasculatura renal é altamente complexa e deve atender a uma demanda de alta energia. Esse delicado equilíbrio entre oferta e demanda de O_2 é facilmente perturbado em casos de isquemia (SUTTON, 2009). Segundo Bonventre e Yang (2011) durante o processo de isquemia/reperfusão o fluxo de sangue para a medula renal é reduzido desproporcionalmente para a redução da perfusão renal. O endotélio vascular é lesado e pequenas arteríolas renais sofrem vasoconstrição em resposta a níveis teciduais elevados de mediadores químicos da inflamação (endotelina-1, angiotensina II, tromboxano A_2 · leucotrienos) e estimulação do Sistema Nervoso Periférico. Além disso, ocorre diminuição da resposta vasodilatadora das arteríolas, pelo declínio do óxido nítrico e outras substâncias vasodilatadoras, associado ao aumento de citocinas vasoativas ($TNF-\alpha$, IL, endotelina), gerando como resultado ativação e adesão de leucócitos no endotélio. A formação de edema contribui ainda mais para a vasoconstrição arteriolar, resultando na interferência do fluxo sanguíneo para o túbulo proximal e alça de henle, que já são normalmente hipóxicos devido às propriedades de permuta com os vasos retos renais.

Clinicamente todas essas alterações traduzem um aumento da lesão durante a fase de reperfusão, quando o consumo de O_2 aumenta com a demanda do transporte tubular. Dessa forma a lesão inicial leva a uma cascata de eventos que

culminam em lesão vascular, congestão vascular e redução da capacidade de neutralizar os radicais tóxicos (MUNSHI *et al.*, 2011). A filtração renal é prejudicada levando ao aumento progressivo dos níveis de uréia e principalmente de creatinina, fato esse confirmado no presente experimento, pois os níveis de creatinina do GC sofreram um aumento gradativo com o passar do tempo, demonstrando a queda da TFG causada pela lesão de isquemia/reperfusão.

Dessa forma ao analisar os dados obtidos na presente pesquisa em relação à uréia e creatinina dos animais pode-se constatar que após 6 semanas da cirurgia de isquemia e reperfusão renal as concentrações séricas de uréia e creatinina dos coelhos aumentaram condizentes com diminuição da filtração renal.

No entanto os níveis de uréia apresentaram um declínio com o passar do tempo, quase voltando aos valores obtidos no momento pré-operatório, após o período de exercício físico, sendo mais intenso no grupo aeróbico e grupo resistido do que no grupo controle. Tal melhora nos animais que realizaram exercício físico pode ser atribuída ao aumento do fluxo sanguíneo durante o exercício, que eleva a perfusão muscular e conseqüentemente melhora a filtração renal desse soluto, já que 40% da uréia são reabsorvidas pelos túbulos renais (PERES *et al.*, 2009; EMANUELLI *et al.*, 2008).

A creatinina é utilizada como índice de função renal, devido à constância de formação e excreção. Em virtude da sua relativa independência a fatores como dieta, grau de hidratação e metabolismo das proteínas, é um teste de triagem renal confiável (KIRSZTAJN; BASTOS; ANDRIOLO, 2011). É derivada da creatina e da fosfocreatina durante o metabolismo muscular e também é excretada pelos glomérulos renais (SODRÉ; COSTA; LIMA, 2007).

No presente experimento, quando iniciou os exercícios físicos com os coelhos, os níveis de creatinina estavam alterados, porém ainda não eram estatisticamente diferentes em relação ao momento pré-cirurgia. Ao final das 5 semanas de treinamento físico os níveis séricos de creatinina continuaram alterados, sendo que neste momento eram significativamente diferentes em relação aos outros momentos. Esse aumento gradativo da creatinina aconteceu em todos os grupos de intervenção. Entretanto, houve uma tendência dos níveis de creatinina serem maior no grupo controle e grupo exercício resistido do que no grupo exercício aeróbico. O aumento da creatinina no grupo controle pode estar ligado á queda da filtração glomerular com o passar do tempo, demonstrando que a lesão por isquemia e

reperfusão renal, gradativamente levou ao comprometimento renal. Para cada redução de 50% da taxa de filtração glomerular, a concentração sérica de creatinina pode duplicar (STEVENS *et al*, 2010).

Há muito interesse nos efeitos dos exercícios aeróbicos e de resistência na doença renal crônicas com o objetivo de reduzir a morbidade e mortalidade, reduzindo o stress oxidativo, inflamação e disfunção endotelial. O exercício aeróbico e treinamento de resistência foram reportados ter uma influência benéfica sobre citocinas inflamatória, resistência à insulina, obesidade, fatores de risco doenças cardiovasculares, microalbuminúrica e anemia relacionada à doença crônica. Não está claro se os benefícios relacionados ao exercício físico estendem-se para pacientes com IRC. Possivelmente por causa dessa incerteza que a reabilitação física renal raramente é usado em pacientes com IRC. Entretanto especialistas em reabilitação renal recomendam que um bom programa de exercícios deve combinar treinamento aeróbico e de resistência para que o catabolismo possa ser revertido (MOINUDDIN; LEEHEY, 2008).

A Insuficiência renal leva a uma gradativa perda de massa muscular, devido o aumento da degradação muscular de proteínas, diminuição da síntese de proteína muscular, ou uma combinação de ambos os fatores (ADEY *et al.*, 2000). Alguns estudos têm testado a eficácia do exercício resistido e consistentemente tem demonstrado que o treinamento de resistência muscular aumenta a massa muscular, melhora a transferrina sérica, hipertrofia muscular, aumenta a força muscular, e contribui para a manutenção do peso corporal de indivíduos com insuficiência renal (CASTANEDA *et al.*, 2001; CASTANEDA *et al.*, 2004; ADAMS; VAZIRI, 2006).

O aumento dos níveis de creatinina sérica nos coelhos que praticaram exercício resistido pode estar relacionado a um aumento da massa muscular, que apesar de não ter sido medida, pode ter influenciado os níveis de creatinina sérica obtidos com o exercício. Outra hipótese é o aumento da degradação muscular e deficiência de filtração renal e conseqüentemente, acúmulo desse metabólico no sangue. Apesar de alguns estudos demonstrarem que o exercício físico não tem influencia na taxa de filtração renal, o comportamento dos níveis de creatinina neste estudo evidencia certa influência do exercício, principalmente o exercício resistido, na taxa de filtração da creatinina, já que os animais encontravam-se em condições controladas e iguais (MOINUDDIN; LEEHE, 2008). A alteração da creatinina

encontrada no GR permite supor que o exercício resistido feito de forma não controlada, pode agravar o quadro do paciente renal. Essa hipótese reforça a importância de haver um rígido controle nas variáveis do exercício físico na IRC.

Os animais que praticaram exercício aeróbico apresentaram menores níveis de uréia e creatinina, apesar de não ter significância estatística. Os benefícios do exercício aeróbico incluem: aumento no consumo máximo de oxigênio, diminuição da pressão arterial, aumento na capacidade de exercício, porém nenhum efeito sobre as taxas de filtração Glomerular (AFSHAR *et al.*, 2010). Entretanto estudos relatam que o exercício pode melhorar a remoção de soluto durante a diálise, aumentando o fluxo sanguíneo muscular, o que resulta em maior fluxo de toxinas urêmicas no compartimento vascular (HENRIQUE *et al.*, 2009; REBOREDO, *et al.*, 2010). Provavelmente o aumento do fluxo sanguíneo causado pelo exercício aeróbico facilitou as trocas metabólicas nos animais. Menores níveis de creatinina e uréia encontrados no GA demonstram que o exercício aeróbico pode ser bem tolerado pelo paciente renal, assim como pode trazer maiores benefícios em relação ao exercício resistido. Entretanto para que essas afirmativas possam ser consideradas, ainda é necessário que outros experimentos, comparando os efeitos do exercício físico na IRC, possam ser desenvolvidos.

As análises histopatológicas demonstraram alterações renais e sistêmicas, comprovadas por achados histopatológicos em coração e pulmão. A lesão por isquemia e reperfusão foi realizada no rim esquerdo, porém podemos observar lesões histopatológicas no rim direito (tabela 04).

Os mecanismos de lesão tecidual renal devido à isquemia e reperfusão são multifatoriais, interdependentes e envolvem hipóxia, resposta inflamatória e dano por radicais livres. A hipóxia tecidual no rim leva a depleção de ATP com consequente disfunção mitocondrial, acúmulo de sódio intracelular, cálcio e radicais livres de oxigênio e leva a ativação de múltiplos sistemas enzimáticos incluindo proteases, óxido nítrico sintases, fosfolipases e endonucleases. Estes sistemas são responsáveis pela destruição do citoesqueleto, lesão de membranas citoplasmáticas, degradação de DNA e morte celular (BERNARDI, 2007; COSTA-HONG *et al.*, 2009). A lesão por isquemia e reperfusão foi demonstrada em nosso experimento por achados histopatológicos em ambos os rins, principalmente, congestão medular e cortical e Infiltrado Linfoplasmocitário.

A doença cardiovascular representa a principal causa de morbidade e mortalidade entre os pacientes com disfunção renal, postula-se que fatores de risco peculiares da uremia, como: anemia, sobrecarga de volume, toxicidade urêmica, inflamação sistêmica e distúrbios do metabolismo mineral estejam intimamente envolvidos na fisiopatologia da DCV relacionada à disfunção renal. Uma resposta inflamatória sistêmica relacionada à disfunção renal é caracterizada por elevados níveis de proteína C-reativa (PCR) e citocinas pró-inflamatórias em até 50% dos pacientes em tratamento dialítico crônico. Acredita-se que esse estado de inflamação sistêmica e a consequente exacerbação do estresse oxidativo colaboram para a aceleração das alterações cardiovasculares na uremia (BAI *et al.*, 2009).

Do ponto de vista miocárdico, as três lesões que constituem o remodelamento estrutural do miocárdio observado na doença renal crônica (DRC) são: hipertrofia miocárdica, fibrose intersticial e espessamento intramural de artérias e arteríolas. A doença vascular provocada pela uremia é tanto macrovascular quanto microvascular, e está associada a uma diminuição na complacência das artérias, em que a permeabilidade do vaso e a expressão de moléculas de adesão estariam alteradas (CARMONA *et al.*, 2011) As alterações histopatológicas cardíacas no presente experimento demonstraram uma predominância de necrose do ventrículo esquerdo, principalmente nos grupos de animais que praticam exercício físico em comparação aos que permaneceram sedentários. Esse fato pode ter ocorrido devido o acúmulo das toxinas urêmicas no tecido cardíaco e a sobre carga imposta pelo exercício aeróbico e resistido pode ter acelerado a lesão. Essa hipótese é subjetiva, porém demonstra a necessidade de determinar a carga imposta pelo exercício físico com extrema cautela na população portadora de doença renal crônica, para que o exercício não intensifique as alterações sistêmicas.

Cury e colaboradores (2009) relataram que a doença renal crônica pode levar á alterações no tecido pulmonar como: edema pulmonar, derrame pleural, fibrose e calcificação pulmonar e pleural, hipertensão pulmonar, diminuição do fluxo sanguíneo capilar pulmonar e hipoxemia. As alterações histopatológicas pulmonares revelaram comprometimento pulmonar, representado principalmente por atelectasia pulmonar difusa, congestão pulmonar que pode ter ocorrido como consequência do estado urêmico causado pela diminuição da filtração renal. Além disso, o tempo de sobrevivência dos animais após a lesão renal possivelmente levou os coelhos a desenvolverem disfunções relacionadas á idade e ao estado urêmico.

As alterações encontradas no experimento demonstraram que o exercício físico deve ser bem orientado por profissional habilitado, pois necessita de um monitoramento constante das variáveis sanguíneas, para que possa contribuir com o aumento da qualidade de vida do paciente com IRC, sem causar maiores lesões. Outros experimentos devem ser construídos para esclarecer melhor as alterações encontradas nos níveis de creatinina referentes ao grupo que realizou exercício resistido. Dessa forma será possível estabelecer o benefício do exercício físico na IRC e tornar a reabilitação física como protocolo no acompanhamento desses indivíduos, proporcionando melhor qualidade de vida.

CONCLUSÕES

Mediante as análises realizadas pode-se concluir:

- a) O modelo animal em coelhos Nova Zelândia Branco apresentou lesão renal em ambos os rins após procedimento de Isquemia e reperfusão renal unilateral.
- b) A lesão renal unilateral provocou alterações no coração, pulmão condizentes com o curso da IRC
- c) Não houve alterações musculares detectáveis ao método HE.
- d) O exercício físico aeróbico e exercício físico resistido não apresentaram influência nos níveis de uréia sérica.
- e) O grupo que realizou exercício físico resistido apresentou aumento gradativo dos níveis de creatinina sérica sem diferença significativa do grupo controle
- f) Não se pode afirmar que a pratica do exercício resistido é lesivo no curso da IRC, apenas que houve uma alteração dos níveis de creatinina sérica provocada ou não pelo exercício resistido.
- g) O grupo que realizou exercício físico aeróbico apresentou melhor progredção do níveis de creatinina.
- h) O exercício físico em humanos deve ser bem orientado por profissional habilitado, pois necessita de um monitoramento constante das varáveis sanguíneas, para que possa contribuir com o aumento da qualidade de vida do paciente com IRC, sem causar maiores lesões.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

Adams GR, Vaziri ND. Skeletal muscle dysfunction in chronic renal failure: effects of exercise. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2006; v 290: p. 753-761.

Adey D, Kumar R, MacCarthy JT, Nair KS. Reduced synthesis of muscle proteins in chronic renal failure. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*. 2000; v 278: E219-E225.

Afshar R, Shergarfy L, Shavandi N, Sanavi S. Effects of aerobic and resistance training on lipid profile and state of inflammation in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Indian J Nephrol*. 2010; v 20(4): 185-189.

Araújo S, Lemes RP, Cunha DA, Queiroz VS, Nascimento DD, Rodrigues S, Filho F. Morfologia e função cardíacas em pacientes renais crônicos, com ou sem diurese residual, em tratamento hemodialítico. *J Bras Nefrol*. 2011; 33 (1): 74-81.

Bai Y, Sigala W, Adams GR, Vaziri ND. Effect of Exercise on Cardiac Tissue Oxidative and Inflammatory Mediators in Chronic Kidney Disease. *Am J Nephrol*. 2009; 29: 213-221.

Bark, H. *et al*. Effect of chronic renal failure on respiratory muscle strength. *Respiration*. 1988; 54 (3):153-61.

Basile DP, Donohoe D, Roethe K, Osborn L. Renal ischemic injury results in permanent damage to peritubular capillaries and influences long-term function. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2001; 281: 887-899.

Bastos RMR, Teixeira MTB, Chaoubah A, Bastos RV, Bastos MG. Hiperucemia: Um marcador para Doença Renal Crônica Pré-Clínica. *J. Bras. Nefrol.* 2009; 31 (1):32-38

Bernardi, R. M. Papel do estresse oxidativo no desenvolvimento da insuficiência renal isquêmica: possibilidade terapêutica do uso de antioxidantes. Criciúma; 2007.

Bonventre JV, Yang L. Cellular pathophysiology of ischemic acute kidney injury. *J Clin Invest.* Boston. 2011; 121 (11): 4210 -21.

Carmona AA, Rigon RGS, Barroso MPBS, Hauser AB, Précoma D, Bucharles S. Noronha L, Pécoits Filho R. Indução de resposta inflamatória sistêmica e espessamento de artérias subepicárdicas em um modelo animal de uremia. *J Bras Nefrol.* 2011; 33 (4):408-412.

Castaneda C, Gordon PL, Uhlin KL, Levey A, Kehaias J, et al. Resistance Training To Counteract the Catabolism of a Low-Protein Diet in patients with Chronic Renal Insufficiency. *Annals of Internal Medicine.* 2001; 135 (11): 965-976.

Castaneda C, Gordon PL, Parker RC, Uhlin KL, Roubenoff, ILevey A. Resistance Training to Reduce the Malnutrition-Inflammation Complex Syndrome of Chronic Kidney Disease. *American Journal of Kidney Diseases.* 2004; 43 (4):607-616.

Chikotas N, Gunderman A, Oman T. Uremic syndrome and end-stage renal disease: Physical manifestations and beyond. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners.* 2006; 18:195-202.

Coelho DC, Godoy CC, Tavares H, Navarro F, Almeida AL. Avaliação Funcional e Prescrição de Treinamento Para Paciente Portador de Insuficiência Renal Crônica Submetido á Hemodiálise: Um Relato de Caso. *Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício*. 2007; 1(3): 29-41.

Costa AFN, Pereira LPM, Ferreira ML, Silva PC, Chagar VLA, Schanaider A. Modelo cirúrgico de insuficiência renal crônica: Estudo em coelhos. *Rev. Col. Bras. Cir. V*. 2009; 36 (1): 78-84.

Costa- Hong V, Bortolotto LA, Jorgetti V, Colombo-Consolim F, Krieger EM, Lima JJG. Estresse Oxidativo e Disfunção Endotelial na Doença Renal Crônica. *Arq Bras Cardiol*. 2009; 92 (5): 413-418.

Cupisti RL, Chisari C, Stampacchia G, Alessandro CD, Galletta F, Rossi B, Barsotti, Skeletal muscle and nutritional assessment in chronic renal failure patients on a protein-restricted diet. *Jornal of internal medicine*. 2004; 255: 115-124.

Cury, Brunetto JL, Aydos RD. Efeitos negativos da insuficiência renal crônica sobre a função pulmonar e a capacidade funcional. *Rev Bras Fisioter*. 2009.

Devarajan P. Update on Mechanisms of Ischemic Acute Kidney Injury. *J Am Soc Nephrol*. 2006; 17:1503–1520.

Emanuelli MP, Lopes STA, Maciel RM, Garmatza BC, Tavares MO. Concentração sérica de fosfatase alcalina, Gama-glutamil transferase, ureia e creatinina em coelhos (*Oryctolagus cuniculu*). *Ciência Animal Brasileira*. . 2008; 9 (1): 251-255.

Fairshter RD, Vaziri ND, Gordon S. Frequency and spectrum of pulmonary diseases in patients with chronic renal failure associated with spinal cord injury. *Respiration*. 1983; 44 (1):58-62.

Henrique DMN, Reboredo MM, Chaoubah A, Paula RB. Treinamento aeróbico melhora a capacidade funcional de pacientes em hemodiálise crônica. [homepage na Internet]. *Juís de Fora: Sociedade Brasileira de Cardiologia*; 2009 [acesso em 8 julho 2012]. Disponível em: <http://www.arquivosonline.com.br>

Ikizler TA. Protein and Energy: Recommended Intake and Nutrient Supplementation in Chronic Dialysis Patients. *Seminars in Dialysis*. 2004; 17 (6): 471-478.

Ishani A, Xue JL, Himmelfarb J, Eggers PW, Kimmel PL, Molitoris BA, Collins AJ. Acute Kidney Injury Increases Risk of ESRD among Elderly. *J Am Soc Nephrol*. 2009; 20: 223–228.

Johansen KL. Exercise and dialysis. *Hemodialysis International*. v. 12, p. 290-300, 2008.

Johansen KL, Painter PP. Exercise in Individuals With CKD. *Am J Kidney Dis*. 2012; 59 (1):126-134.

Kang D, Kanellis J, Hugo C, Truong L, Anderson A, Kerjaschki. Role of the Microvascular Endothelium in Progressive Renal Disease. *Am Soc Nephrol*. 2002; 13: 806–816.

Karacan O, Tatal E, Colak T, Sezer S, Eyüboğlu FO, Haberal M. Pulmonary Function in Renal Transplant Recipients and End-Stage Renal Disease Patients Undergoing Maintenance Dialysis. *Transplantation Proceedings*. 2006; 38:396-400.

Kestenbaun E, Belozeroff V. Mineral metabolism disturbances in patients with chronic kidney disease. *European Journal of Clinical Investigation*. 2007; 37: 607 -22.

Kirsztajn GM; Basto MG; Adriolo A. Proteinúria e creatinina sérica: testes essenciais para diagnóstico de doença renal crônica. *J Bras Patol Med Lab*. 2011; 47 (2):100-103.

Kosmadakis GC, Bevington A, Smith AC, Clapp EL, Viana JL, Bishop NC, Feehally J. Physical Exercise in patients with Severe Kidney. Disease. *Nephron Clin Pract*. 2010; 115: 7-16.

Kouidi, E. et al. The effects of exercise training on muscle atrophy in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. V.13, p. 685-699. 1998.

Legrand M, Mik EJ, Johannes T, Payen D, Ince C. Reperfusion of the Ischemic Kidney. *J Mol Med*. 2008; 14 (7-8): 502 -516.

Lesley AS, Viswanathan G, Weiner DE. Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the elderly Population: Current Prevalence, future projections, and clinical significance. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2010; 17 (4): 293-301.

Lordsleem A, Gueiros APS, Gueiros , Markman Filho B, Victor EG. Avaliação cardiológica de pacientes portadores de doença renal crônica: quais as lições? J Bras Nefrol. 2012; 34 (1):8-15.

Magro MCS, Vattimo MF. Avaliação da Função Renal: Creatinina e outros Biomarcadores. Revista Brasileira de Terapia Intensiva. 2007; 19 (2): 182-185.

McIntyre CW, Selby NM, Sigrist M, Pearce L, Mercer TH, Naish PF. Patients receiving maintenance dialysis have more severe functionally significant skeletal muscle wasting than patients with dialysis-independent chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant. 2006; 21: 2210-2216.

Miranda SP, Macedo RN, Silva Júnior GB, Daher EF. Síndrome Cardiorrenal: Fisiopatologia e Tratamento. Rev Assoc Med Bras. 2009; 55 (1): 89-94.

Moinuddin I, Leehey DJ. A Comparison of Aerobic Exercise and Resistance Training in Patients With and Without Chronic Kidney Disease. Advances in Chronic Kidney Disease. 2008; 15 (1):83-96.

Moreira PR, Barros E. Atualização e Fisiopatologia Renal: Bases Fisiopatológicas da Miopatia na Insuficiência Renal Crônica. J Brás Nefrol. 2000; 22 (1): 201-8.

Munshi R, Hsu C, Himmelfarb J. Advances in understanding ischemic acute. BMC Medicine. 2011; 9 (11): 1-6.

Najas CS, Pissulin FDM, Pacagnelli FL, Betonico GN, Almeida IC, Neder JA. Segurança e eficácia do treinamento físico na Insuficiência Renal Crônica. Rev Bras Med Esporte. 2009; 15 (5): 384-388.

Palm F, Nangaku M, Fasching A, Tanaka T, Nordquist L, Hansell P, et al. Uremia induces abnormal oxygen consumption in tubules and aggravates chronic hypoxia of the kidney via oxidative stress. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010; 299: 380-386

Parsons TL, Toffelmire EB, Vlack CEK. Exercise Training During Hemodialysis Improves Dialysis Efficacy and Physical Performance. *Arch Phys Med Rehabil.* 2006; 87: 680-687.

Peres CPA, Delfi VDA, Peres DK, Brunetto AF. Efeitos de um programa de exercícios físicos em pacientes com doença renal crônica terminal em hemodiálise. *J Bras Nefrol.* 2009; 31 (2):105-113.

Pierson DJ. Respiratory considerations in the Patient with Renal Failure. *Respiratory Care.* 2006; 51 (4):413-22.

Quintanilha AP, Sahgal V. Uremic Myopathy. *The International Journal of Artificial Organs.* 1984; 7 (5): 239-242.

Reboredo MM, Pinheiro BV, Neder JA, Ávila MPW, Ribeiro MLBA, Mendonça AF, et al. Effects of aerobic training during hemodialysis on heart rate variability and left ventricular function in end-stage renal disease patients. *J Bras Nefro.* 2010; 32 (4): 367-373.

Ribeiro RCHM, Oliveira GASA, Ribeiro DF, Bertolin DC, Cesariano CB, Lima E, et al. Caracterização e etiologia da insuficiência renal crônica em unidade de nefrologia do interior do Estado de São Paulo. *Acta Paul Enferm.* 2008; 21: 207-11.

Royal College of Physicians. Chronic Kidney Disease: National clinical guideline for early identification and management in adults in primary and secondary care. Londres. 2008.

Sakkas GK, Sargeant AJ, Mercer TH, Ball D, Koufaki P, Karatzaferi C. Changes in muscle morphology in dialysis patients after 6 months of aerobic exercise training. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 18: 1854-1861.

Segura-Ortí E. Ejercicio en pacientes en Hemodiálisis: revisión sistemática de la literatura. *Revista Nefrología Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología*. 2010;30 (2): 236-46.

Sesso, R. et al. Resultados do Censo de Diálise da SBN, 2007. [S.l.] *J Bras Nefrol*, v 26,n 4, p 197-202, 2007.

Stevens LA, Viswanathan G, Weiner DE. Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the Elderly Population: Current Prevalence, Future Projections, and Clinical Significance. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2010; 17 (4): 293-30.

Meyer F, Silva FMDS, Bombonato GM, Lizana JN, Dziedricki LF, Krieger ML. Histological analysis and the blood flux in kidneys submitted to different periods of ischemia/reperfusion. *Acta Cirúrgica Brasileira*. 2011; 2 (6):451-455.

Sinha, R. et al. Ten-year follow-up of children after acute renal failure from a developing country. *Nephrol Dial Transplant* , London, v. 24, p. 829–833, 2009.

Sodré FL, Costa JCB, Lima JC. Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. *J Bras Patol Med Lab.*2007; 43 (5): 329-337.

Sutton TA. A. Alteration of microvascular permeability in acute kidney injury. *Microvasc Res.* 2009; 77 (1): 4-7.

Tarasuik A, Heimer D, Bark H. Effect of chronic renal failure on skeletal and diaphragmatic muscle contraction. *Am Rev Respir Dis.* 1992; 146:.1383-8.

Thompson RH, Frank I, Lohse CM,. Saad IR, Fergany A, Zincke H. The Impact of Ischemia Time During Open Nephron Sparing Surgery on Solitary Kidneys: A Multi-Institutional Study. *The Journal of Urology.*2007; 177: 471-476.

Workeneh BT, Mitch W. Review of muscle wasting associated with chronic kidney disease. *Am J Clin Nutr.*2010; 91: 1128 – 32.

Youhua L. New Insights into Epithelial-Mesenchymal Transition in Kidney Fibrosis. *J Am Soc Nephrol.*2010; 21: 212–222.

ANEXO A – Aprovação Comissão de Ética no Uso de Animais/ CEUA/UFMS**C E R T I F I C A D O**

Certificamos que o Protocolo nº 280 da Mestranda Eliane Barbosa Togoe, sob a orientação da Profª. Drª. Iandara Schetter Silva, referente ao projeto de pesquisa, “Análise histopatológica da estrutura de um modelo de insuficiência renal crônica em coelhos submetidos ao exercício físico aeróbico e resistido”, está de acordo com os princípios éticos adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), com a legislação vigente e demais disposições da ética em investigação que envolvem diretamente os animais e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA/UFMS, em reunião de 11 de março de 2011.

Campo Grande (MS), 11 de março de 2011.



Drª Joice Stein
Presidente da CEUA