

INFLUÊNCIA DO EXERCÍCIO FÍSICO CRÔNICO SOBRE A MORFOLOGIA RENAL DE RATOS DIABÉTICOS EXPERIMENTAIS

MARCEL CARDOSO FARIA
RICARDO JOSÉ GOMES
ELIETE LUCIANO

Departamento de Educação Física - Instituto de Biociências
Universidade Estadual Paulista - Câmpus de Rio Claro

resumo

O diabetes mellitus é uma doença crônica caracterizada por alterações bioquímicas relacionadas a deficiência de insulina. A atividade física realizada regularmente promove benéficas adaptações estruturais e funcionais nos organismos diabéticos. O trabalho investigou possíveis alterações glicêmicas e renais em ratos diabéticos sedentários e treinados. Os ratos foram distribuídos nos seguintes grupos: controle sedentário, controle treinado, diabético sedentário e diabético treinado. O programa de exercício consistiu em natação: 60 min/dia, 5 d/semana, 6 semanas. Ao final do período experimental os ratos foram sacrificados e retiradas amostras de sangue para análise de glicemia, insulina, albumina e proteínas totais e retirados os rins para análises histológicas. Os cortes foram corados com (HE). A ANOVA mostrou elevação na glicemia (DS 209% acima do CS, DT 95% acima do CT) e redução da insulina nos diabéticos (CS = 15,4 +/- 1,3; CT = 13,7 +/- 1,2; DS = 10,7* +/- 1,6; DT = 14,1 +/- 2,6 mUI/ml). Não foram encontradas diferenças significativas para proteínas totais e albumina. A análise histológica mostrou que os corpúsculos renais foram semelhantes entre os grupos CS e CT, mas apresentaram-se aumentados principalmente entre os DS. Portanto, o treinamento físico foi efetivo em reduzir os níveis glicêmicos, bem como, em melhorar os aspectos morfológicos renais dos diabéticos.

PALAVRAS-CHAVE: Exercício físico, Diabetes Mellitus, Morfologia renal, Glicemia, Insulina.

abstract

RELATIONSHIP BETWEEN OF PHYSICAL ACTIVITY, DIET COMPOSITION, AND BODY FAT AMONG ADULTS

The diabetes mellitus is a chronic disease characterized by biochemistries changes related with deficiency of insulin. The regular physical exercise activity promotes useful structural and functional changes in these organisms. The purpose of this study was to investigate possible renal and glucose changes in sedentary and trained rats. The rats were divided in the following groups: sedentary control (SC), trained control (TC), sedentary diabetic (SD), trained diabetic (TD). The exercise program consisted in swimming: 60 min/ day, 5 d/ week, for 6 weeks. At the end of experimental period the rats were sacrificed and blood samples were collected for glucose, insulin, albumin, and serum protein of analysis and the kidneys were used for histology analysis. The slabs were dyed with Hematoxilina Eosina (HE). A ANOVA presented increase of glucose (SD 209% up to SC, TD 95% up to TC) and decrease of insulin in the diabetic rats (SC = 15,4 +/- 1,3; TC = 13,7 +/- 1,2; SD = 10,7* +/- 1,6; TD 14,1 +/- 2,6 mUI/ml), there were not found significant difference in serum protein and albumin. The histology analysis presented that renal corpuscles were similar among SC and TC, but they presented increased main by among SD. So the physical training was efficient to decreased glucose levels, as well as an improve the renal morphological aspect of diabetics.

KEY WORDS: Physical exercise, Diabetes Mellitus, Renal morphology, Glucose, Insulin.

INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus, doença metabólica degenerativa, promove o desenvolvimento de complicações em diversos sistemas, em especial, cardiovascular, esquelético e renal. A prolongada exposição a hiperglicemia parece constituir a causa primária das alterações nos rins, o que leva a um aumento na taxa de filtração glomerular, hipertrofia e hiperplasia do tecido, mudanças na matriz extracelular e microalbuminúria (JENSEN et al., 1981, HOSTETER, 1990). A proteinúria diabética está relacionada com o aumento da filtração glomerular de proteínas e impedimento na reabsorção tubular, sendo que esses fatores são influenciados pelo grau de controle metabólico do estado diabético (ABRASS, 1984). O aumento na concentração de proteínas glicosiladas circulantes pode ser responsável pela mudança na permeabilidade seletiva da membrana e provavelmente pela alteração nas propriedades da filtração glomerular levando a nefropatia diabética (LONDOÑO & BENDAYAN, 2001).

A atividade física realizada regularmente, por outro lado, tem sido reconhecida como importante no controle do metabolismo dos diabéticos. A atividade aeróbia pode contribuir na redução da glicemia, hipertensão e hiperlipidemia em pacientes diabéticos (ZINMAN et al., 1984) e na regulação do metabolismo dos carboidratos em ratos diabéticos experimentais (LUCIANO et al., 1998). É possível que esses efeitos do exercício possam diminuir o desenvolvimento e progressão da nefropatia diabética (ALBRIGHT et al., 1995). Foi demonstrado, no entanto, em animais experimentais com nefropatia, que exercícios de elevada intensidade podem provocar danos renais progressivos (CORNACOFF et al., 1985). Trabalhos envolvendo exercícios físicos de intensidade moderada e alterações renais em organismos diabéticos têm sido pouco frequentes na literatura, o que demonstra a necessidade de estudos para tentar esclarecer o referido assunto.

OBJETIVO

O objetivo deste trabalho foi investigar os efeitos do exercício físico moderado sobre alguns aspectos histológicos renais de ratos diabéticos experimentais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados ratos machos adultos Wistar. Antes e du-

rante a fase experimental, esses animais foram alimentados com ração balanceada padrão para roedores (purina) e água "ad libitum", e mantidos em gaiolas coletivas a uma temperatura ambiente de 25 °C, com fotoperíodo de 12 horas de claro e 12 horas de escuro (7:00/ 19:00 h).

Os ratos foram distribuídos em quatro grupos experimentais, controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS), diabético treinado (DT).

Para a produção do "Diabetes Mellitus" experimental, os ratos, depois de permanecerem 24 em jejum, foram anestesiados com éter etílico e receberam aloxana monoidratada Sigma (30mg/Kg de peso), dissolvida em tampão citrato, pH- 4,5 e injetado na veia dorsal do pênis (Luciano & Lima, 1997). A seguir os ratos foram recolocados nas gaiolas com alimento e solução glicosada a 15%, no primeiro dia após aloxana. Foram considerados diabéticos os ratos que apresentavam glicemia acima de 200 mg%.

O programa de treinamento de físico consistiu de natação com carga de 2,5% em relação ao peso corporal, 60 minutos por dia, 5 dias na semana num total de 6 semanas consecutivas. Esse esquema de atividade física além de não apresentar nenhum impacto, tem sido considerado de intensidade adequada para organismos diabéticos (Luciano, 2000).

Ao final do período experimental os ratos foram mantidos em repouso por 48 horas e sacrificados sem jejum prévio. O sacrifício ocorreu por decapitação, com coleta de sangue em tubos de vidro sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 3.000 r.p.m. por 10 minutos e o soro utilizado para realização das seguintes dosagens: glicose, albumina e proteínas totais por método colorimétrico (Nogueira et al, 1990). A insulina analisada por Radioimunoensaio (Kit Coat-A count USA). Foram retirados os rins esquerdos para análises histológicas e os cortes foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE) e fotomicrografados em Microscópio Zeiss.

RESULTADOS

A análise de variância mostrou elevação na glicemia (**Figura 1**) e redução na insulina sérica (**Figura 4**) dos ratos diabéticos, com melhoras destes parâmetros nos ratos diabéticos treinados. Não foram encontradas diferenças significativas para proteínas totais e albumina (**Figuras 2 e 3**).

A análise histológica mostrou que os corpúsculos renais foram semelhantes entre os grupos CS e CT

(Figuras 5 e 6), mas apresentaram-se aumentados principalmente entre os DS (Figura 7). No grupo DT (Figura 8) os corpúsculos foram semelhantes aos con-

troles, demonstrando que o treinamento físico foi importante para melhorar os aspectos morfológicos renais dos diabéticos.

Figura 1

Média e desvio padrão da glicose: Glicemia (mg%) dos ratos dos grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS), e diabético treinado (DT), ao final do período experimental.

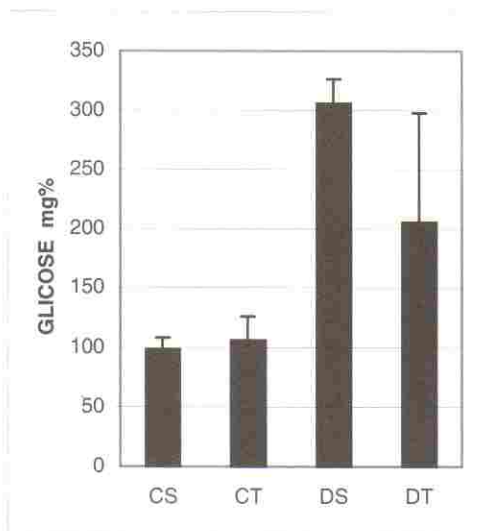


Figura 2

Média e desvio padrão das proteínas totais: Proteínas Totais (mg%) no soro dos ratos do grupo controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS), diabético treinado (DT), ao final do período experimental.

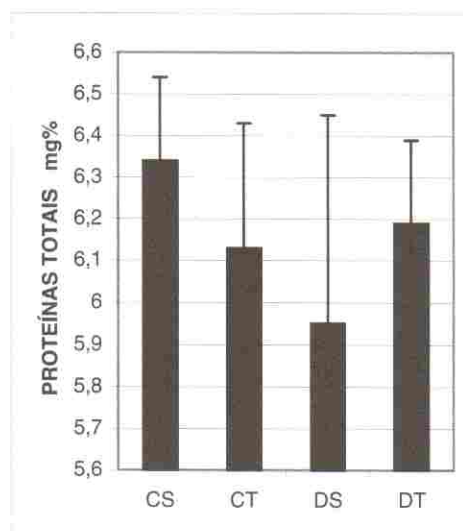


Figura 3

Média e desvio padrão da albumina: Albumina (mg%) no soro dos ratos dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT), ao final do período experimental.

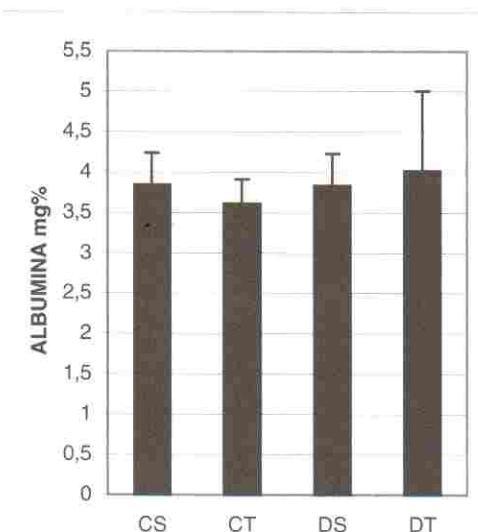


Figura 4

Média e desvio padrão da insulina: Insulina (mUI/ml) no soro dos ratos dos grupos controle sedentário (CS), controle treinado (CT), diabético sedentário (DS) e diabético treinado (DT), ao final do período experimental.

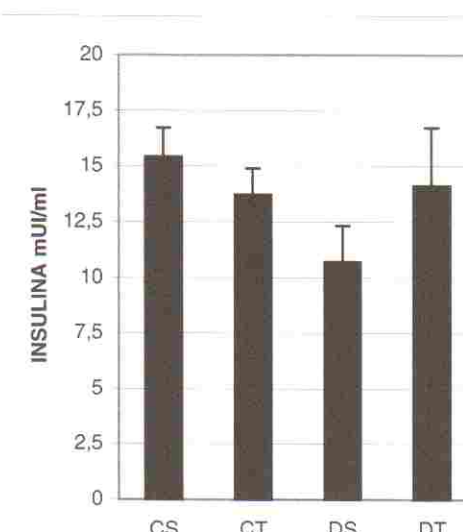
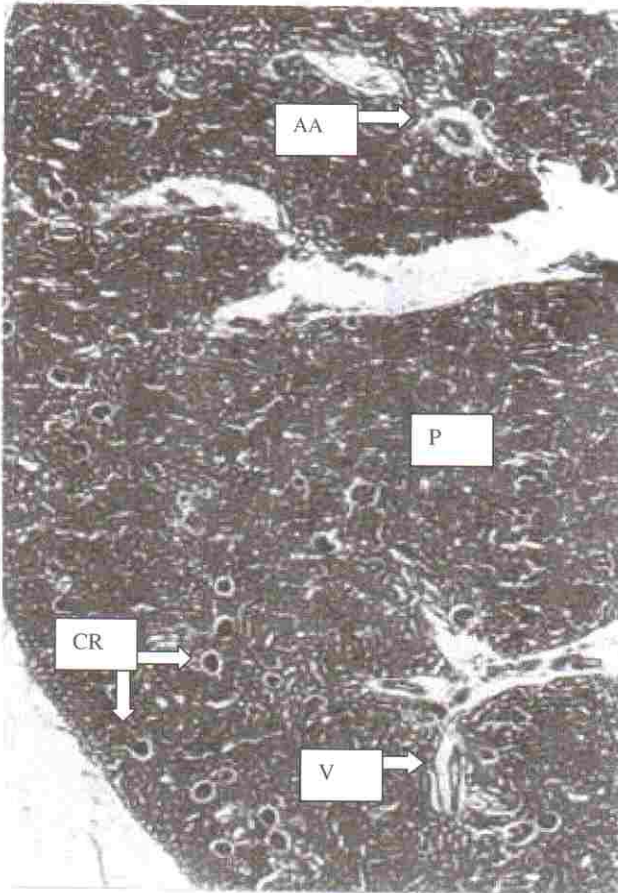


Figura 5

Corte longitudinal do rim esquerdo do rato controle sedentário (CS), aos 30 dias do início do treinamento. Presença de corpúsculos renais (CR), parênquima (P), e veia (V), na região cortical, seguida de artéria arqueada (aa) na área que delimita a medula. HE (1600x).

**Figura 6**

Corte longitudinal do rim esquerdo do rato controle treinado (CT), aos 30 dias do início do treinamento. Presença de corpúsculos renais (CR), parênquima (P), e veia (V), na região cortical, seguida de artéria arqueada (AA) na área que delimita a medula. HE. (1600x).

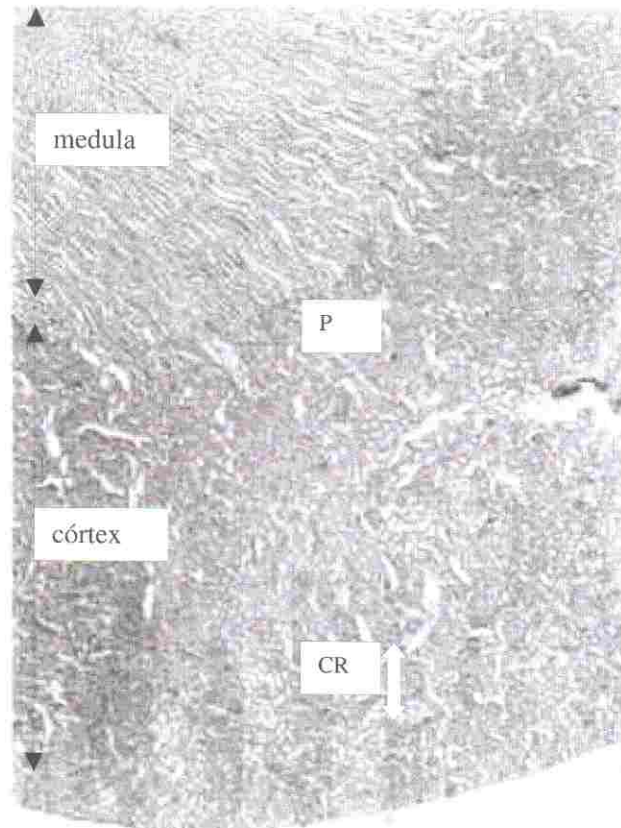
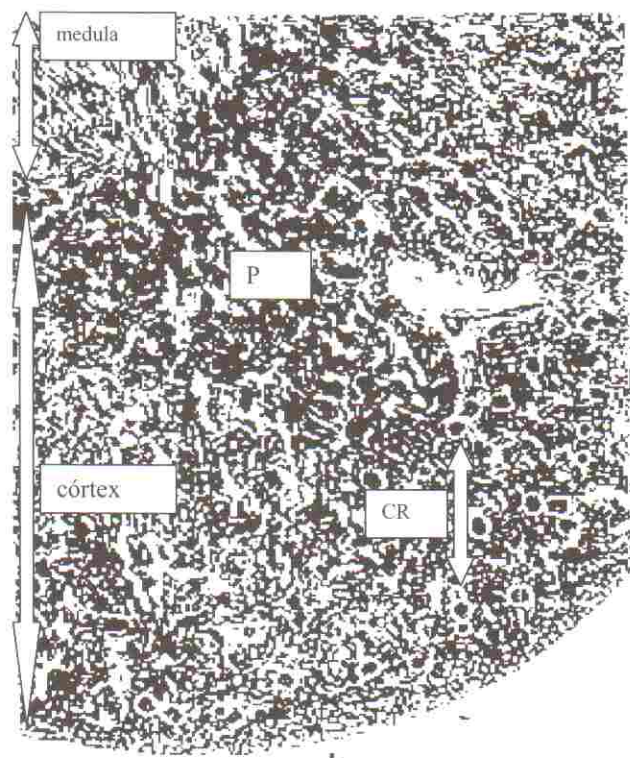
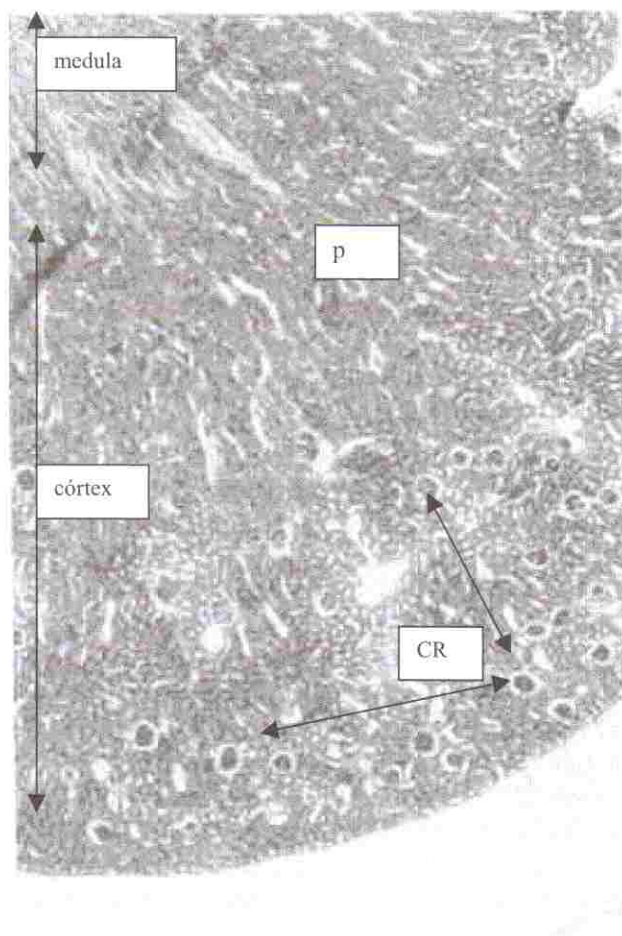


Figura 7

Corte longitudinal do rim esquerdo do rato diabético sedentário (DS) aos 30 dias do início do treinamento. Presença de um maior número de corpúsculos (CR) e parênquima (P) mais desenvolvidos em relação aos controle. HE. (1600x).

**Figura 8**

Corte longitudinal do rim esquerdo do rato diabético treinado (DT), aos 30 dias do início do treinamento. Presença de corpúsculos renais (CR), parênquima (P), veia arqueada (VA), no córtex e artéria arqueada (AA) delimitando a medula. Os corpúsculos renais se encontram em número intermediários entre os CS e DS. HE. (1600X).



DISCUSSÃO

A incidência de complicações envolvidas no Diabetes Mellitus assemelha-se entre as diferentes modalidades da doença, variando com o tempo de evolução e o grau de descompensação metabólica existente. Tais complicações comumente estão relacionadas com microangiopatias, nefropatias, neuropatias, retinopatias e outras. A nefropatia diabética afeta grande parte da população com Diabetes Mellitus insulino-dependente e também tem sido demonstrada em ratos diabéticos induzidos experimentalmente (JENSEN et al. , 1981).

Como se pode observar, no presente estudo, os corpúsculos renais apresentam-se aumentados e em maior número entre os diabéticos, com membrana basais mais espessas no grupo sedentário. Este aspecto está de acordo com a literatura, que tem apontado para o modelo de indução do Diabetes experimental como adequado ao estudo da função renal, simulando o Diabetes Mellitus insulino-dependente em humanos (JENSEN et al. , 1981). Grande parte dos trabalhos, no entanto, tem sido realizada com indução por estreptozotocina. Neste estudo, mostramos alterações morfológicas renais decorrentes da indução por aloxana, o que evidencia a importância desse modelo experimental no estudo do rim diabético.

A variedade de fatores que contribuem para o declínio da função renal inclui hiperglicemia, hipertensão, hiperlipidemia e cetonúria, característicos de uma diminuição no controle metabólico. No presente estudo, verificou-se uma significativa elevação da glicemia dos diabéticos sedentários em relação aos controles (CS = 98,5 +/- 9,4; CT = 105,8 +/- 19,9; DS = 305,8 +/- 20,4*; DT = 205,3 +/- 92,4* mg%) acompanhada de diminuição da insulinemia (CS = 15,4 +/- 1,34; CT = 13,7 +/- 1,2; DS = 10,7 +/- 1,6* DT = 14,1 +/- 2,65 mUI/ml), mostrando uma nítida alteração metabólica entre esses ratos.

Durante a hiperglicemia, a glicosilação das proteínas estruturais e circulantes constitui um evento crítico associado com a disfunção glomerular que acompanha a nefropatia diabética (COHEN & ZIYADEN, 1996, LONDOÑO & BENDAYAN, 2001). A albumina, maior constituinte sérico envolvido na regulação osmótica e transporte de substratos metabólicos, hormônios, etc, pode sofrer glicosilação quando expostas ao aumento da concentração de glicose. A glicosilação pode ser responsável pela alteração na seletividade e filtração glomerulares e levar a nefropatia diabética (LONDOÑO & BENDAYAN, 2001). Em nosso estudo, a exposição a hiperglicemia foi bastante acentuada, possivelmente favorecendo a ocorrência da glicosilação.

Outros aspectos importantes a ressaltar que normalmente acontecem no Diabetes Mellitus, incluem aumento acentuado no fluxo sanguíneo renal e na filtração glomerular frente à grandes níveis de glicemia, e a dilatação das artérias aferentes. Da mesma maneira que os aminoácidos, a glicose é reabsorvida no túbulo contorcido proximal juntamente com o sódio. No Diabetes Mellitus o aumento da oferta de glicose aos túbulos faz com que os mesmos reabsorvam um excesso de sódio juntamente com a glicose, diminuindo a oferta de cloreto de sódio na mácula densa. Graças ao feedback tubuloglomerular ocorre dilatação das artérias aferentes (GUYTON & HALL, 1996). Provavelmente essas alterações ocorreram no presente estudo levando a dilatação das artérias aferentes.

O exercício físico praticado de forma regular, por outro lado, pode apresentar efeitos benéficos sobre as manifestações do Diabetes Mellitus, tanto em seres humanos (KRISKA et al. , 1994, HARGREEVES, 1997), quanto em modelos experimentais com animais (TAN & BONEN, 1987, RODNICK et al. ,1992; LUCIANO & LIMA, 1997). Treinamento aeróbio de intensidade moderada induziu melhora do controle glicêmico, diminuição da elevada excreção urinária de albumina e proteínas totais e redução dos danos renais dos ratos diabéticos (ALBRIGHT et al. , 1995). Em nosso trabalho, também ocorreu melhora glicêmica e insulinêmica, porém, não houve modificação nos níveis circulantes de albumina e proteínas totais. Embora não tenhamos medido esses parâmetros na urina, eles provavelmente estiveram elevados, o que se refletiu no aumento dos corpúsculos renais e espessamento das membranas basais. O grau de excreção de proteínas totais e albumina é dependente de diversos fatores, incluindo a severidade do Diabetes e o estado de progressão da doença. Considerando que o treinamento foi eficiente em produzir melhoras no controle metabólico dos diabéticos, possivelmente minimizou as complicações renais, diminuindo as dimensões dos corpúsculos renais e a espessura das membranas basais.

De acordo com alguns pesquisadores, o aumento na síntese e decréscimo na degradação dos componentes da matriz extracelular renal ocorrem precocemente no diabetes experimental e representa mudanças na expressão gênica dessas estruturas (WU et al. ,1997). Os aspectos morfológicos renais analisados no nosso trabalho confirmam as alterações decorrentes da doença e demonstram a melhora promovida pelo treinamento. Assim, o exercício físico regular de intensidade moderada parece interferir nesses processos retardando a ocorrência das modificações estruturais características do diabetes.

CONCLUSÃO

O esquema de treinamento físico utilizado foi eficiente na melhora do controle metabólico dos ratos diabéticos, bem como, na redução das complicações morfológicas renais decorrentes da patologia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRASS, C. K. Diabetic Proteinuria. **American Journal. Nephrology**, v. 4, p. 337-46, 1984.
- ALBRIGHT, A. L., KIRBY, T. E., MAHAN, J. D., SHERMAN, K. L. Diabetic nephropathy in an aerobically trained rat model of diabetes. **Medicine Science Sports Exercise**, v.27, n.9, p.1270-77, 1995.
- CORNACOFF, J. B., HEBERT, L. A., SHARMA, H. M. Adverse effects of strenuous exercise on immune complex-mediated glomerulosclerosis. **Nephron**, v.40, p.292-96, 1985.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Tratado de Fisiologia Médica. 9.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. p. 291-386, 883-894.
- HARGREEVES, M. Interaction between muscle glycogen and blood glucose during exercise. **Exercise and Sports Science Reviews**, v.25, p. 21-39, 1997.
- HOSTETER, T. H. Pathogenesis of Diabetic Glomerulopathy: Hemodynamic Considerations. **Seminars in nephrology**, v.10, n.3, p.219-27, 1990.
- JENSEN, P. K., CHRISTIANSEN, J. S., STEVEN, K., PARVING, H.H. Renal function in streptozotocin-diabetic rats. **Diabetologia**, v.21, p.409-11, 1981.
- KRISKA, A.M., BLAIR, S. N., PEREIRA, M. A. The potential role of physical activity in the prevention of Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: epidemiological evidence. **Exercise and Sports Sci. Reviews**, v.2, p.121-43, 1994.
- LONDOÑO, I., BENDAYAN, M., Temporary effects of circulating Amadori products on glomerular filtration properties in the normal mouse. **American Journal of Physiology Renal**, v.280, p.103-11, 2001.
- LUCIANO, E., LIMA, F. B. Metabolismo de ratos diabéticos treinados submetidos ao jejum e ao exercício agudo. **Revista de Ciências Biomédicas**, v.18, p.47-60, 1997.
- LUCIANO, E., CARNEIRO, E.M., REIS, M.A.B., PERES, S.B., VELLOSO, L.A, BOSCHERO, A.C., SAAD, M.J.A. Endurance training modulates early steps of insulin signaling in rat muscle. **Medicine Science Sports Exercise**, v.30, n.5, p.524,1998.
- LUCIANO, E., **Adaptações osteogênicas e musculares à atividade física e ultra-som no diabetes experimental (SP)**, Brasil. Tese de livre Docência, Rio Claro: Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências, UNESP, câmpus de Rio Claro 2000.
- RODNICK, K. J., HENRIKSEN, E. J., JAMES, D. E., HOLLOSZY, J.O. Exercise training, glucose transporters, and glucose transport in rat skeletal muscles. **American Journal of Physiology**, v.262, p.9-14, 1992.
- TAN, M.H., BONEN, A. Effect of exercise training on insulin binding and glucose metabolism in mouse soleus muscle. **Canadian Journal of Physiology Pharmacology**, v.65, p.2231-4, 1987.
- ZINMAN, B., GUAJARDO, S. Z., KELLY, D. Comparison of the acute and long-term effects of exercise on glucose control in type 1 diabetes. **Diabetes Care**, v.1, p.515-19, 1984.
- WU, K., SETTY, S., MAUER, S. M., KILLEN, P., NAGASE, H., MICHAEL, A. F., TSILIBARY, E. C., Altered kidney matrix gene expression in early stages of experimental diabetes. **Acta anatomia**, v.158, p. 155-65, 1997.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Departamento de Educação Física, Instituto de Biociências,
Universidade Estadual Paulista - Câmpus de Rio Claro
Av. 24-A, 1515 - C.P. 199
CEP 13506-900
Rio Claro - SP
Fone (19) 526.4165