



IMPACTO DA TERAPIA TÉRMICA NA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO FÍGADO E PREVENÇÃO DO DIABETES TIPO 2 EM RATOS WISTAR¹

Jordana Teixeira Giménez², Welerson dos Reis³, Vanessa dos Santos⁴, Lucas Sulzbacher⁵, Vitor Antunes de Oliveira⁶, Thiago Gomes Heck^{6,7}

¹ Pesquisa desenvolvida na Unijuí; financiado pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - PIBIC/UNIJUÍ. E CNPq proc. #307926/2022-2. Projeto alinhado com as ODS da ONU.

² Bolsista PIBIC UNIJUÍ; estudante do curso Nutrição da UNIJUÍ.

³ Bolsista CNPq; estudante do curso Medicina da UNIJUÍ.

⁴ Bolsista CNPq; estudante do curso Biomedicina da UNIJUÍ.

⁵ Enfermeiro, Mestre em Atenção Integral à Saúde PPGAIS-UNIJUÍ/UNICRUZ/URI

⁶ PPG em Atenção Integral à Saúde

⁷ Professor orientador da UNIJUÍ.

INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), a diabetes mellitus é uma doença metabólica crônica caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue que, ao longo do tempo, causam danos ao coração e em vasos sanguíneos. O diabetes tipo 2 ocorre devido à resistência à insulina em vários órgãos e à diminuição da função das células que secretam insulina (Bogardus e Tataranni, 2002). O aumento global na prevalência da obesidade é provavelmente a causa do recente aumento nos casos de diabetes tipo 2. Tanto a obesidade quanto o diabetes são condições pró-inflamatórias, nas quais os processos inflamatórios podem contribuir para a resistência à insulina e ao acúmulo de gordura no fígado, condição conhecida como esteatose hepática não alcoólica (EHNA). A EHNA pode progredir para esteato-hepatite não alcoólica (NASH), fibrose hepática e, em casos graves, cirrose hepática (Targher, 2018). Tanto o diabetes tipo 2 quanto a EHNA estão associados a mecanismos patogênicos comuns, como a inflamação de baixo grau e disfunção mitocondrial. Esses fatores contribuem para o desenvolvimento de resistência à insulina, dislipidemia e estresse oxidativo, criando um ciclo vicioso que agrava ambas as condições (Adams et al., 2017).

O tratamento do diabetes tipo 2 envolve uma abordagem multifacetada advinda de uma equipe multidisciplinar. Isso pode incluir mudanças no estilo de vida, como alimentação saudável e exercícios de forma regular, visando a perda de peso e os benefícios metabólicos desta perda. Dentre os novos tratamentos que estão sendo avaliados para DM2, está a terapia



térmica. Estudos têm demonstrado que a terapia térmica, como a imersão em água quente ou sauna, pode ter um impacto positivo no controle da glicose (Ely, 2017).

Estudos com animais obesos (induzidos por dieta hiperlipídica) mostram que a terapia de choque térmico melhora a tolerância à glicose, restaura o transporte de glicose estimulado por insulina, e aumenta a sinalização da insulina no músculo esquelético, protegendo-o do desenvolvimento da resistência insulínica, todos associados ao aumento da expressão de hsp70 e consequente inibição da jnk (Gupte et al., 2009).

Embora relatados impactos positivos do aquecimento passivo na saúde, como no metabolismo da glicose, ainda carece de evidências robustas acerca do tema. Por esse motivo, o objetivo do estudo foi avaliar se a terapia térmica de calor foi capaz de modificar marcadores de estresse oxidativo no fígado de ratos Wistar.

METODOLOGIA

Neste estudo, investigamos o efeito da Terapia Térmica por Calor (TTC) na prevenção do DM2. Também examinamos qual frequência semanal de sessões de TTC é mais eficaz na prevenção do DM2 usando um modelo animal. Para isso, realizamos TTC durante 2 meses em *Rattus norvegicus* Wistar adultos (n=24 fêmeas) em diferentes frequências semanais (1 ou 3 vezes por semana) antes de induzir o DM2 com uma dieta rica em gordura. Os ratos foram divididos em 4 grupos: Controle (sem intervenção por 4 meses + dieta padrão); DM2 (sem intervenção por 2 meses + 2 meses de dieta rica em gordura); TTC1x (terapia térmica por 2 meses 1 vez por semana + 2 meses de dieta rica em gordura); e TTC3x (terapia térmica por 2 meses 3 vezes por semana + 2 meses de dieta rica em gordura). O protocolo de TTC envolve colocar os ratos em recipientes dentro de um banho-maria a 41°C por 20 minutos, enquanto os grupos Controle e DM2 foram submetidos a 20 minutos em 37°C para simular estresse

Foi realizada a coleta do fígado, que posteriormente foi homogeneizado para a realização dos experimentos de estresse oxidativo, incluindo a análise de tióis. O método tiol foi usado para medir a concentração de grupos sulfidríla (-SH) em proteínas ou outras moléculas, sendo especialmente útil para avaliar a presença e a quantidade de tiol livre em amostras biológicas. Os grupos tiol reagem com reagentes específicos, como o ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) (DTNB), formando um complexo de cor amarela que pode ser



medido em um espectrofotômetro a uma absorvância de 405 nm. A intensidade da cor é proporcional à concentração de tiol na amostra.

Para a análise dos níveis de tióis totais e não proteicos, o fígado foi homogeneizado em KPI. Para o branco, utilizou-se 237 μL de TFK e 13 μL de DTNB. Para avaliar os níveis de tióis totais em duplicatas, foi adicionado a 50 μL de sobrenadante, 187 μL de TFK e 13 μL de DTNB. Aguardou-se 10 minutos e foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 405nm. Para avaliação dos níveis de tióis não proteicos, foi adicionado a 100 μL de amostra, 100 μL de TCA 10%, agitado em vórtex e centrifugado por 10 minutos a 5000 rpm. Em duplicatas, foi adicionado 50 μL de sobrenadante, 187 μL de TFK e 13 μL de DTNB. Aguardou-se 10 minutos e foi realizada a leitura em espectrofotômetro a 405nm.

O teste de Kolmogorov-Smirnov foi empregado para análise estatística, exigindo a transformação de variáveis que não apresentavam distribuição normal. Os grupos foram comparados por ANOVA de duas vias (ou similar não paramétrico). O nível de significância adotado foi $P < 0,05$, com análises e apresentação dos resultados feitos usando o software GraphPad 8.0. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UNIJUÍ com parecer 005/2021.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Primeiramente, realizamos a análise dos níveis de tiol não proteico separados pelo sexo dos animais. Em fêmeas, a comparação entre o grupo TT3 + DM F e o grupo controle (CONT F) apresentou uma diferença significativa ($P=0,0309$). Igualmente, ao comparar o grupo DM F com o grupo TT3 + DM F, também observamos diferenças significativas ($P=0,0215$). Para os machos, a comparação entre o grupo controle (CONT M) e o grupo TT1 + DM M mostrou uma diferença significativa ($P=0,0395$). Não houve diferença significativa entre machos e fêmeas, permitindo a combinação dos dados para análise comparativa entre grupos sem distinção de sexo. Assim, os resultados a seguir referem-se aos níveis de tiol não protéico de machos + fêmeas.

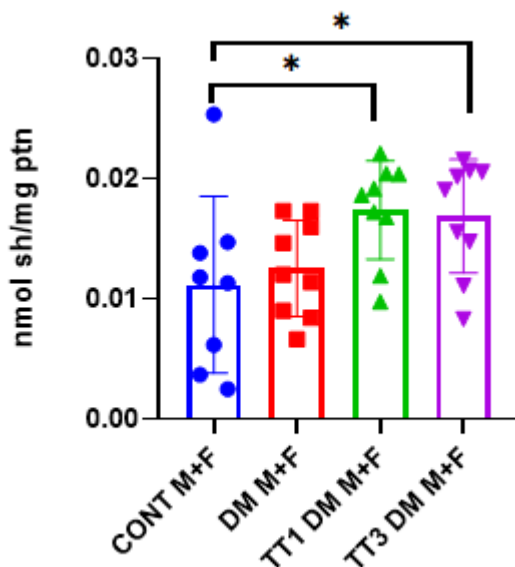


Figura 1 - Dosagem de tiol. Grupos: Controle (n=8) DM2 (n=9), TT1+DM2 (n=9), TT3+DM2 (n=9). CONT M+F vs. TT1 DM M+F, P= 0,0184. CONT M+F vs. TT3 DM M+F, P = 0,0294. Teste Uncorrected Fisher's LSD

Os resultados demonstraram que a terapia térmica influencia significativamente os níveis de tiol não proteico elevando seus níveis, o que revela que houve redução do estresse oxidativo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados sugerem que a terapia térmica pode ser uma estratégia eficaz para atenuar o estresse oxidativo no fígado, contribuindo para a prevenção do DM2. Este estudo fornece evidências para o uso da terapia térmica como uma intervenção não farmacológica no tratamento do DM2, destacando a necessidade de mais estudos para confirmar esses resultados.

Palavras-chave: Diabetes tipo 2. Terapia térmica. Estresse oxidativo. Fígado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da UNIJUÍ pelo financiamento e à equipe do Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPef) pela colaboração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, v. 82, n. 1, p. 70-77, 1959. Disponível em:



<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986159900906?via%3Dihub>. Acesso em: 04 jun. 2024.

DANDONA, Paresh; ALJADA, Ahmad; BANDYOPADHYAY, Arindam. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. **Trends in Immunology**. Disponível em:

[https://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S1471-4906\(03\)00336-3?returnURL=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490603003363%3Fshowall%3Dtrue&cc=y%3D#](https://www.cell.com/trends/immunology/fulltext/S1471-4906(03)00336-3?returnURL=http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1471490603003363%3Fshowall%3Dtrue&cc=y%3D#). Acesso em: 04 jun. 2024.

TARGHER, G. Non-alcoholic fatty liver disease, the metabolic syndrome and the risk of cardiovascular disease: the plot thickens. **Diabetic Medicine**. Disponível em:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17227317/>. Acesso em: 04 jun. 2024.

BABA, Shahid P.; BHATNAGAR, Aruni. Role of thiols in oxidative stress. **Current Opinion in Toxicology**, [s.l.], v. 7, p. 133-139, fev. 2018. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.cotox.2018.03.005>. Acesso em: 12 jun. 2024.