



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA E DO EXERCÍCIO FÍSICO NA REDUÇÃO DE DANOS OXIDATIVOS AO PÂNCREAS DE RATAS WISTAR¹

Analú Bender dos Santos², Maicon Machado Sulzbacher³, Eloisa Gabriela de Pelegrini Basso⁴, Bethânia Salamoni⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷.

¹ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) - Departamento de Ciências da Vida – UNIJUI

² Aluna do curso de Educação Física da UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

³ Aluno do curso de Enfermagem da UNIJUI. estagiário rumo certo de fisiologia humana. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF.

⁴ Aluna do curso de Biologia da UNIJUI. Bolsista PET/MEC SISU. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁵ Aluna de Mestrado da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF.

⁶ Professora do Departamento de Ciências da Vida da UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁷ Professor do departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI. Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF

Resumo: A suplementação com aminoácidos é frequente no ambiente desportivo, buscando a melhoria da performance ou a manutenção das condições metabólicas ideais. O aminoácido glutamina, por ser essencial para a síntese de GSH (principal antioxidante celular não enzimático), representa uma importante estratégia antioxidante indireta no ambiente esportivo, além de ser usada no auxílio ao controle glicêmico. Portanto, o objetivo deste trabalho é verificar o efeito do exercício moderado de natação (com 4% de carga) e da suplementação de curto prazo (5 dias) com glutamina em parâmetros bioquímicos de animais submetidos ao exercício moderado. Em nosso estudo, não foi observado modificações em nenhum dos parâmetros avaliados com intensidade moderada de exercício e com protocolo de suplementação de curto prazo.

Palavras-Chave: Exercício Físico, Suplementação com Glutamina, Estresse Oxidativo.

Introdução

Sessões de exercício físico deflagram metabólicas, durante e depois do esforço. Durante a atividade muscular, a demanda energética pode superar a de repouso em até 35 vezes, enquanto o consumo de oxigênio pode aumentar de dez a quinze vezes. No metabolismo energético celular ocorre a redução completa de aproximadamente 95% do O₂ no sistema de transporte de elétrons mitocondrial, enquanto que o restante pode ser reduzido pelo metabolismo celular formando Espécies Ativas de Oxigênio (EAO), tanto em condições de repouso como durante o exercício. As EAO em excesso podem promover oxidações/danos celulares causando estresse oxidativo. Dentre as EAO produzidas no exercício físico, destacam-se os radicais livres como a hidroxila (OH) e o superóxido (O₂⁻) (PEREIRA,





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

1996; VALKO et al, 2006), as quais por serem eletronicamente instáveis causam modificações moleculares gerando, por exemplo, lipoperoxidação de membranas lipídicas (PEREIRA, 1996).

O exercício físico está relacionado ao estresse oxidativo de duas maneiras: por um lado, o exercício acelera o metabolismo oxidativo gerando uma maior formação de EAO e, por outro, através de um efeito protetor antioxidante gerado através de sessões regulares que aumentam a disponibilização de antioxidantes e podem prevenir o dano oxidativo e conseqüentemente estresse oxidativo (CRUZAT et al, 2007).

O organismo possui mecanismos enzimáticos e não enzimáticos que oferecem proteção contra as EAO. Dentre os mecanismos não enzimáticos temos o α -tocoferol (vitamina E), o β -caroteno, o ácido ascórbico (vitamina C) e o principal antioxidante intracelular, a glutathiona (GSH). Os enzimáticos são representados pelas enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx) e glutathiona redutase (GR) (JUNIOR et al, 2001).

A suplementação com aminoácidos é frequente no ambiente desportivo, buscando a melhoria da performance ou a manutenção das condições metabólicas ótimas de atletas. Esta última pode ocorrer por meio do combate eficiente aos danos oxidativo gerados pelo treinamento excessivo. Neste sentido, a glutamina por ser essencial para a síntese de GSH (principal antioxidante celular não enzimático), representa uma importante estratégia antioxidante indireta no ambiente esportivo. A glutamina também pode ser usada no auxílio ao controle glicêmico, entretanto, apesar de muitos estudos demonstrarem os efeitos da glutamina no metabolismo, não há consenso sobre a influência desta no metabolismo lipídico (triglicerídeos e colesterol).

Embora a glutamina seja o aminoácido livre mais abundante no plasma e no tecido muscular, este é utilizado em altas proporções por células de divisão rápida, incluindo enterócitos e leucócitos, para fornecer energia e favorecer a síntese de nucleotídeos, o que em certos casos é compensado pela suplementação deste aminoácido na dieta (CRUZAT, 2007). Durante uma sessão de exercício aeróbio pode haver uma diminuição na concentração plasmática de glutamina (CRUZAT et al, 2007; JÚNIOR e CURI, 2000), o que sugere sua utilização em processos fisiológicos durante o esforço.

Deste modo, torna-se relevante um estudo que avalie o efeito da suplementação com glutamina nos níveis de estresse oxidativo nos tecidos que captam a glicose (músculo esquelético), e também no órgão que secreta hormônios para controle glicêmico (pâncreas). Portanto, o objetivo deste trabalho é verificar o efeito do exercício moderado e da suplementação de curto prazo com glutamina em parâmetros bioquímicos de animais submetidos ao exercício moderado.

Metodologia

Animais

Foram utilizados 12 Ratos Wistar fêmeas ($195,50g \pm 8,03g$), mantidos em gaiolas semi-metabólicas provenientes do Biotério do DCVida, da UNIJUI – Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Em ambiente com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ C$), umidade relativa do ar entre 50% e 60% e iluminação artificial com ciclos de 12 horas claro/escuro. Os animais receberam ração padronizada para animais de laboratório (Nuvilab CR-1) e água potável ad libitum.

Adaptação





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

Os animais foram submetidos a um período de adaptação a natação em três consecutivos dias, entre 8 e 11 horas da manhã. A adaptação consistiu em administrar 1mL de H₂O destilada via gavagem oral, e após 1 hora manter os animais nadando sem carga por 10 minutos em tanque de vidro (55x55x56cm) com capacidade para quatro animais nadarem simultânea e individualmente (25x25x56cm para cada animal), preenchidos com 45cm de água a 30±1°C. O procedimento tem como objetivo, adaptar os animais ao meio líquido para reduzir a ocorrência de comportamentos de natação relacionados com estresse durante o experimento sem promover adaptações físicas relacionadas ao treinamento físico. Após adaptação, os animais foram mantidos sem nenhuma manipulação por 24hs (Heck, 2011).

Grupos Experimentais

Após o período de adaptação os animais foram divididos em quatro grupos: Controle Sedentário (S, n=4); Controle Treinado (T, n=3); Controle Sedentário+Glutamina (SG, n=3); Controle Treinado+Glutamina (TG, n=2).

Tratamento

Os grupos SG e TG foram tratados com glutamina (L-glutamina 1.0g/Kg, v.o.) enquanto os grupos S e T receberam H₂O destilada (1mL/100g de peso corporal v.o.).

Protocolo de Exercício Físico

Os grupos T e TG foram submetidos ao exercício físico de natação (temperatura da água = 30°C+1°C) por 20 minutos com cargas no valor de 4% do peso corporal acopladas na cauda, o que representa uma intensidade moderada de esforço (HECK, 2011). Os grupos S e SG foram mantidos durante o mesmo período de tempo em um recipiente com 4 centímetros de água. O estudo teve a duração de 5 dias consecutivos (5 dias de suplementação e de exercício físico).

Preparação das amostras biológicas

Ao final do estudo, houve um período de repouso de 72 horas, após o qual foi verificado a fase do ciclo estral de cada animal e os animais foram mortos, para coleta do sangue, pâncreas e do músculo gastrocnêmio. Estas amostras foram homogeneizadas em Tampão Kpi (9mL/g de tecido) contendo inibidor de protease (PMSF) para avaliação da lipoperoxidação, pela técnica do teste de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Análise do Perfil Glicêmico e Lipídico

A taxa de glicose sanguínea foi verificada no período de adaptação, pré-tratamento e pós-tratamento (48hs após último dia do tratamento), com Glicosímetro Optium Xceed da Abbott, em punção da parte distal da cauda dos ratos após jejum de 12 horas. Para determinação do perfil lipídico foram analisados os parâmetros bioquímicos referentes ao colesterol total (CT), triglicérides (TG) e colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C), através de análise enzimática colorimétrica, pelos Kits Colesterol-PP, Triglicérides-PP, Colesterol HDL-PP. A leitura foi realizada por espectrofotometria através do espectrofotômetro UV Vis (Metrolab 1700) em comprimentos de onda indicado segundo protocolo de procedimento de análise dos kits.

Consumo de Água e Ração

O consumo de água e ração foi verificado diariamente antes do desenvolvimento do protocolo de exercício físico, nos períodos de adaptação, pré-tratamento e pós-tratamento.

Análise Estatística





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

Utilizou-se o programa Graph Pad 3.0., os resultados foram expressos como médias \pm EPM e analisados por ANOVA, com teste post-hoc de SNK, considerando nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e discussão

Os dados apresentados nas Tabelas 01 e 02 demonstram que o protocolo utilizado neste estudo, de suplementação com glutamina e exercício não modificou o consumo de água e ração por estes animais. Da mesma forma, o perfil glicêmico e lipídico, apresentados nas Tabelas 03 e 04 não foram diferentes entre os grupos no período avaliado.

Na Tabela 05 verificamos que a lipoperoxidação no pâncreas e no músculo gastrocnêmio não sofreram alterações diante a suplementação com glutamina e exercício físico.

Grupos	Adaptação	Tratamento	Pós*
S	25,00 \pm 6,25	23,00 \pm 0,68	16,88
SG	24,17 \pm 6,34	21,80 \pm 2,43	17,50
T	22,50 \pm 9,01	32,13 \pm 21,35	18,33
TG	25,00 \pm 7,50	24,00 \pm 2,24	20,00

Grupos	Adaptação	Tratamento	Pós
S	16,83 \pm 7,65	12,85 \pm 0,48	09,13
SG	15,92 \pm 7,07	13,27 \pm 0,42	10,17
T	17,64 \pm 8,13	15,93 \pm 1,57	12,33
TG	18,17 \pm 8,37	13,70 \pm 1,02	11,25

Grupos	Adaptação	Pré-Tratamento	Pós-Tratamento
S	67,75 \pm 02,87	66,00 \pm 03,74	67,25 \pm 04,57
SG	71,67 \pm 03,06	64,33 \pm 03,51	73,00 \pm 08,54
T	76,33 \pm 11,72	68,33 \pm 07,57	84,00 \pm 02,66
TG	64,50 \pm 03,54	64,00 \pm 01,41	70,50 \pm 06,36

Grupos	Triglicerídeos (mg/dL)	HDL (mg/dL)	Colesterol Total (mg/dL)
S	71,30 \pm 12,39	31,5 \pm 3,16	43,7 \pm 4,10
SG	71,00 \pm 19,56	29,3 \pm 7,74	39,6 \pm 10,32
T	77,30 \pm 18,28	26,0 \pm 6,26	42,4 \pm 4,06
TG	84,08 \pm 31,65	27,8 \pm 1,40	41,7 \pm 0,46

Grupos	TBARS PÂNCREAS (μ M/mg)	TBARS GASTROCNÊMIO (μ M/mg)
	Pós-Tratamento	Pós-Tratamento
S	0,77 \pm 0,25	4,58 \pm 1,52
SG	0,92 \pm 0,52	4,68 \pm 0,38
T	0,62 \pm 0,19	5,72 \pm 1,88
TG	1,43 \pm 0,01	11,89 \pm 9,52

Segundo Rogero et al (2002) o treinamento intenso ou o exercício exaustivo podem ocasionar imunossupressão em atletas por meio da diminuição da concentração plasmática de glutamina, o que influencia as concentrações plasmáticas de GSH (CRUZAT et al, 2009). Além disso, a suplementação com os animais somente nos últimos 21 dias de treinamento imediatamente após o término de cada sessão de treinamento crônico não gerou diferença no consumo de ração.

Existem evidências de que a suplementação de glutamina seja também uma estratégia de auxílio ao sistema imunológico e de controle glicêmico diante de desafios como o exercício físico extenuante (CRUZAT, 2007). Além disso, a suplementação com esse aminoácido pode influenciar no metabolismo energético, aumentando o conteúdo muscular de glicogênio e reduzindo a degradação protéica. A suplementação com glutamina aumenta a sensibilidade à insulina no músculo esquelético modificando o metabolismo da glicose.

Conclusão

Em nosso estudo, não foi observado modificações em nenhum dos parâmetros avaliados com intensidade moderada de exercício e com protocolo de suplementação de curto prazo.





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XX Seminário de Iniciação Científica

Agradecimentos

A UNIJUI pela infra-estrutura do Laboratório de Ensaio Biológicos e ao Laboratório de Fisiologia Celular (FISCEL) da UFRGS pelo apoio na aquisição de material de consumo, e especialmente aos colegas de Laboratório que auxiliaram no decorrer do procedimento Eliara Martins, Pauline Goettens, Fernanda Baldissera.

REFERÊNCIAS

- CRUZAT, V.F.; ROGERO, M.M.; BORGES, M.C.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Revista Brasileira de Medicina e Esporte*, v.13, n.5, p.336-342, 2007.
- CRUZAT, V.F.; PETRY, E.R.; TIRAPEGUI, J. Glutamina: Aspectos Bioquímicos, Metabólicos, Moleculares e Suplementação. *Revista Brasileira de Medicina e Esporte*, v.15, n.5, p.392-397, 2009.
- CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. Jair Rodrigues Garcia Júnior. *GLUTAMINA E EXERCÍCIO*. Rio de Janeiro: Sprint, 2000. 244-255.
- PEREIRA, B. Radicais Livres de Oxigênio e sua Importância para a Funcionalidade Imunológica. *Revista Motriz*, v.2, n.2, p.71-80, 1996.
- JÚNIOR, L. R; HÖEHR, N. F.; VELLASCO, A. P. Sistema Antioxidante Envolvendo o Ciclo Metabólico da Glutathione Associado a Métodos Eletroanalíticos na Avaliação do Estresse Oxidativo. *Revista Química Nova*, v.24, n.1, p.112-119, 2001.
- VALKO, M.; RHODES, C. J.; MONCOL; IZAKOVIC, M.; MAZUR, M.. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, v.160, p.1-40, 2006.
- ROGERO, M. M.; TIRAPEGUI, J; PEDROSA, R. G.; CASTRO, I. A.; PIRES, I. S. O.; OLIVEIRA, A. A. M.; SALGADO, M. M.; PINTO, A. R.; UEDA, M. Efeito da suplementação com L-alanil-L-Glutamina sobre a resposta de hipersensibilidade do tipo tardio em ratos submetidos ao treinamento intenso. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. Vol. 38, nº 4, out./dez., 2002.
- HECK, T. G.; Razão entre o conteúdo extracelular e intracelular de HSP70 como um sinal de alerta imunológico e marcador de intensidade de exercício. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Escola de Educação Física – Programa de Pós-Graduação em Ciências do Movimento Humano, 2011.