



Evento: XXXIII Seminário de Iniciação Científica ▾

EFEITOS DA TERAPIA TÉRMICA DE CALOR NA LIPOPEROXIDAÇÃO DE TECIDO CARDÍACO EM RATOS WISTAR MACHOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA ¹

**Luã Henrique Urrutigaray², Vanessa dos Santos³, Welerson Roberto dos Reis⁴, Mirna
Stela Ludwig⁵, Thiago Gomes Heck⁶**

¹ Pesquisa desenvolvida na Unijuí; financiado pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação - PIBITI/CNPq. E CNPq proc. #307926/2022-2.

² Bolsista; estudante do curso Psicologia; Bolsista do programa de fomento: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq

³ Bolsista; estudante do curso Biomedicina; Bolsista do programa de fomento: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq

⁴ Mestrando em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS. Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF-UNIJUÍ

⁵ PPG em Atenção Integral à Saúde.

⁶ Professor (a) Dr. orientador(a) do projeto Terapia Térmica De Calor Como Estratégia Na Prevenção De Diabetes Tipo 2: Papel Das Proteínas De Choque Térmico De 70 Kda (Hsp70), Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, docente do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS e do Programa de Pós-Graduação em Modelagem Matemática e Computacional - PPGMMC, da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUÍ/ INCT (In)atividade Física e Exercício, CNPq, Brasil.

INTRODUÇÃO

A Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) representa um dos maiores desafios de saúde pública global na atualidade, caracteriza-se por uma prevalência crescente e um impacto significativo na morbimortalidade e qualidade de vida das populações. Esta condição metabólica é primariamente definida pela hiperglicemia crônica, resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. Fisiopatologicamente, o DM2 está intrinsecamente associado à obesidade, impulsionada por fatores como o sedentarismo e dietas ricas em gorduras e açúcares, a um estado de inflamação crônica de baixo grau e ao estresse oxidativo exacerbado. Sendo esse, caracterizado por um desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) que superam a capacidade dos sistemas de defesa celular, leva a danos em macromoléculas vitais, como a lipoperoxidação das membranas celulares, contribuindo diretamente para a disfunção celular, resistência à insulina e, eventualmente, falência das células beta pancreáticas (Ighodaro, 2018).

Devido a estes fatores, justifica-se a busca por estratégias preventivas e terapêuticas eficazes e acessíveis. Embora o tratamento farmacológico seja uma ferramenta importante, abordagens não farmacológicas, como modificações no estilo de vida, incluindo dieta e



exercício físico são fundamentais. O exercício físico, por exemplo, tem demonstrado efeitos anti-inflamatórios e melhora da sensibilidade à insulina, em parte mediados pela liberação de miocinas e pela modulação de proteínas de choque térmico DE 70 kDa (HSP70s), (Archer et al., 2017).

Nesse contexto, As HSP70s são chaperonas moleculares altamente conservadas, cuja expressão é induzida por diversos estressores celulares, incluindo o calor, com o objetivo de manter a homeostase proteica e proteger as células contra danos. No ambiente intracelular, as HSP70s exercem funções citoprotetoras, anti apoptóticas e anti-inflamatórias, inclusive inibindo vias pró-inflamatórias como a do NF- κ B, o que pode ser crucial na atenuação da resistência à insulina (Mulyani et al., 2020).

A terapia térmica de calor (TTC), que envolve a exposição controlada do corpo a um aumento de sua temperatura, tem sido investigada como uma intervenção capaz de induzir a expressão de HSP70s e, conseqüentemente, conferir benefícios metabólicos. Estudos pré-clínicos e clínicos demonstraram que a TTC pode melhorar a tolerância à glicose, aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir complicações em modelos de DM2 estabelecido e em pacientes diabéticos. Esses efeitos parecem estar, ao menos parcialmente, associados ao aumento da expressão de iHSP70 e à inibição de vias inflamatórias (Bathaie et al., 2010; Krause et al., 2015).

Apesar dos promissores resultados da TTC no tratamento do DM2, não está claro, por exemplo, qual a frequência semanal e a duração de cada sessão de TTC seriam mais eficazes para prevenir o desenvolvimento do DM2 em um contexto de predisposição, como o induzido por uma dieta hiperlipídica (HFD), portanto, este estudo se enquadra como uma prioridade alinhada ao Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 3 (ODS 3) da Organização das Nações Unidas (ONU), que visa assegurar uma vida saudável e promover o bem-estar para todos.

METODOLOGIA

O projeto se constituiu em aplicar a Terapia Térmica por Calor (TTC) durante 2 meses em *Rattus Norvegicus Wistar* adultos (n=12, machos), com diferentes frequências de sessões semanais (1 ou 3x por semana), antes da indução da resistência insulínica, por meio do consumo de ração hiperlipídica. Portanto, os animais foram divididos em 4 grupos experimentais, sendo cada grupo com 3 animais, sendo eles: Controle (4 meses sem



intervenção + ração padrão); HFD (2 meses sem intervenção + 2 meses de consumo de ração hiperlipídica); TT1+HFD (2 meses de terapia térmica de 20 min, sendo 1 vez por semana + 2 meses de consumo de ração hiperlipídica); e, TT3+HFD (2 meses de terapia térmica de 20 min, sendo 3 vezes por semana + 2 meses de consumo de ração hiperlipídica). O procedimento aplicado para a TTC consistiu na disposição dos animais em recipientes de polipropileno adaptados a cada rato. Em seguida, inseridos em banho-maria com a temperatura da água controlada e mantida a 41°C, permanecendo submersos por 20 minutos. Por sua vez, os grupos Controle e HFD, colocados em recipientes no banho-maria em temperatura ambiente (37°C), durante 20 minutos, com o intuito de simular o estresse ocasionado pela manipulação.

Para as análises, fragmentos do tecido cardíaco foram homogeneizados em tampão Tris-HCl com um homogeneizador tipo Potter-Elvehjem e centrifugados (2500 rpm por 10 min), sendo o sobrenadante coletado e armazenado a -80°C. A lipoperoxidação foi quantificada pelo ensaio de Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS), conforme Buege e Aust (1978). Brevemente, alíquotas do sobrenadante foram incubadas com ácido tricloroacético (TCA) e ácido tiobarbitúrico (TBA) em banho-maria fervente por 15 minutos, e a absorbância do produto colorido foi mensurada por espectrofotometria. Para a normalização dos dados, a concentração de proteínas totais no mesmo sobrenadante foi determinada pelo método de Bradford, com leitura a 535 nm, utilizando albumina bovina como padrão. Os resultados de malondialdeído (MDA) foram então calculados e expressos em relação ao conteúdo de proteína total de cada amostra.

Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism versão 8.0.1. As comparações entre as médias dos diferentes grupos experimentais (CONT, HFD, TT1+HFD e TT3+HFD) foram realizadas por meio da Análise de Variância de uma via (One-way ANOVA), seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey para identificar as diferenças específicas entre os pares de grupos. O nível de significância adotado para todos os testes foi de $p < 0,05$. Os resultados nos gráficos foram expressos como média \pm erro padrão da média (EPM).



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de malondialdeído (MDA), principal produto analisado, foram mensurados nos quatro grupos experimentais. Os valores médios de MDA (\pm erro padrão da média - EPM), expressos em nmol/g de proteína, para cada grupo foram: $6,58 \pm 4,01$ para o grupo CONT; $6,36 \pm 0,59$ para o grupo HFD; $2,26 \pm 1,21$ para o grupo TT1+HFD M; e $4,69 \pm 2,61$ para o grupo TT3+HFD. Ao analisar as médias dos grupos, observa-se que o tratamento térmico uma vez por semana (TT1+HFD) resultou no menor valor médio de lipoperoxidação, aproximadamente 65% inferior ao do grupo diabético não tratado (HFD), sugerindo um potencial efeito protetor. Contudo, ao se realizar a Análise de Variância (One-way ANOVA) para comparar o conjunto dos grupos, não foi detectada diferença ($P = 0,567$). A ausência de significância estatística, apesar da aparente redução no grupo TT1+HFD, é justificada pela elevada variabilidade biológica intragrupo, particularmente nos grupos Controle e TT3+HFD, refletida nos altos valores do erro padrão da média. Essa grande dispersão nos dados limitou o poder estatístico do estudo, impedindo a confirmação de que as diferenças observadas nas médias representem um efeito real da intervenção neste estudo piloto.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se presumir que, nas condições experimentais deste projeto, não foi possível identificar um efeito modulador da terapia térmica de calor sobre a lipoperoxidação cardíaca induzida pelo consumo de HFD. Destaca-se a importância da continuidade da pesquisa, sendo essencial a realização de novos estudos com um número maior de animais, isso permitirá reduzir a influência da variabilidade biológica individual e aumentar a robustez estatística, possibilitando assim confirmar ou refutar as tendências aqui observadas e elucidar o real potencial terapêutico dos compostos investigados.

Palavras-chave: Terapia Térmica de Calor, Dieta Hiperlipídica, Lipoperoxidação

AGRADECIMENTOS

Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC CNPq, PIBIC UNIJUÍ, PROBIC FAPERGS, PIBIT CNPq, PIBIT UNIJUÍ, PROBIT FAPERGS) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão das bolsas. E também ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia da UNIJUÍ.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCHER, A. E.; VON SCHULZE, A. T.; GEIGER, P. C. **Exercise, heat shock proteins and insulin resistance.** Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, v. 373, n. 1738, 2017.

DOI: <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0529>

BATHAIE, S. Z., A. JAFARNEJAD, ET AL. **The effect of hot-tub therapy on serum Hsp70 level and its benefit on diabetic rats: a preliminary report.** Int J Hyperthermia, v.26, n.6, p.577-585. 2010. DOI: <https://doi.org/10.3109/02656736.2010.485594>

IGHODARO, O. M. **Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus.** Biomedicine & Pharmacotherapy, v. 108, p. 656-662, 2018.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.058>

KRAUSE, M., M. S. LUDWIG, ET AL. **Heat shock proteins and heat therapy for type 2 diabetes: pros and cons.** Curr Opin Clin Nutr Metab Care, v.18, n.4, Jul, p.374-380. 2015.

DOI: <https://doi.org/10.1097/mco.000000000000183>

MULYANI, W. R. W. et al. **Chaperone-Based Therapeutic Target Innovation: Heat Shock Protein 70 (HSP70) for Type 2 Diabetes Mellitus.** Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy, v. 13, p. 559-568, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.2147/dmso.s232133>