

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**EFEITO AGUDO DO CHOQUE TÉRMICO ASSOCIADO AO EXERCÍCIO
SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO MUSCULAR DE RATOS TRATADOS COM
DIETA HIPERLIPÍDICA¹**

**ACUTE EFFECTS OF HEAT SHOCK ASSOCIATED TO EXERCISE ON
MUSCULAR OXIDATIVE STRESS OF RATS TREATED WITH HIGH FAT
DIET**

**Luana Weizenmann², Analu Bender Dos Santos³, Mirna Stela Ludwig⁴,
Thiago Gomes Heck⁵**

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Departamento de Ciências da Vida, UNIJUI

² Acadêmica do curso de Fisioterapia da UNIJUI. Bolsista PROBIC-FAPERGS, Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

³ Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ, Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

⁴ Docente do Programa de Pós-Graduação em em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS). Departamento de Ciências da Vida (DCVida). Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI), Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

⁵ Docente do Programa de Pós-Graduação em em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS). Departamento de Ciências da Vida (DCVida). Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI). Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

INTRODUÇÃO A obesidade continua a ser um problema de saúde pública mundial (ARROYO-JOHNSON et al.,2016), sendo considerado juntamente com o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) a principal epidemia global não associada a causas infecciosas (WHO, 2014), implicando em aumento na morbidade e mortalidade por doenças crônicas e debilitantes. Nos últimos 20 anos a taxa de obesidade triplicou nos países desenvolvidos (HAIDAR et al., 2011). Estima-se que até 2030, 38% da população adulta mundial estará acima do peso e outros 20% obesos.A prevalência de obesidade está associada ao aumento da urbanização, crescimento econômico e industrial, ocasionando em maior ingesta calórica associada ao estilo de vida sedentário (HAIDAR et al.,2011).O desequilíbrio de energia entre as calorias consumidas e as calorias gastas, gera um excedente de energia, resultando em um excesso de peso corporal (HRUBY AND HU, 2016). A obesidade abdominal está diretamente correlacionada com o desenvolvimento de resistência periférica à insulínica, caracterizada pela inibição da capacidade de tecidos periféricos, como o músculo esquelético, de captar glicose, sendo um fator primordial no desenvolvimento da síndrome metabólica (WHITE et al., 2013).Além disso, a obesidade está relacionada com uma inflamação sistêmica crônica de baixo grau no tecido adiposo, ocasionada pela ativação do sistema imune, que promove um estado pró-inflamatório e estresse oxidativo local e sistêmico. O tecido adiposo, quando em excesso, induz a síntese de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 e IL-6), que por sua vez, promovem a produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (ERO) por macrófagos e monócitos. Esse quadro inflamatório e de estresse oxidativo tem relação com o desenvolvimento de doenças crônicas, como o diabetes mellitus, doenças hepáticas e

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

cardiovasculares (MARSEGLIA et al., 2015). Quando a produção de ERO excede a capacidade antioxidante de um organismo, levando a um quadro de estresse oxidativo, pode-se ter como consequência níveis de peroxidação lipídica aumentados, não só no tecido adiposo, mas em outros tecidos como o muscular esquelético. Com o estresse pode haver prejuízo na sinalização celular, resultando em dano celular e tecidual (FRANÇA et al., 2013), prejudicando a sinalização da insulina gerando hiperglicemia. Entre as intervenções recomendadas, encontra-se a mudança no estilo de vida, em especial, o exercício físico. A contração muscular e as adaptações ao exercício geram produção de ERO, mas, quando realizado de forma moderada e regular, o exercício proporciona um aumento da atividade de enzimas antioxidantes, desencadeando assim maior proteção contra os danos oxidativos às moléculas proteicas e lipídicas (FIUZA-LUCES et al., 2013). Além disso, o exercício pode aumentar a captação de glicose periférica em indivíduos obesos e diabéticos (MARINHO et al., 2014). A terapia de choque térmico, através de sauna ou imersão em água quente, tem demonstrado efeitos semelhantes aos produzidos pelo exercício. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito agudo da terapia de choque térmico associado ao exercício físico sobre o estresse oxidativo no tecido musculoesquelético em ratos Wistar submetidos à dieta hiperlipídica. **METODOLOGIA Animais** Foram utilizados 50 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), adultos (12 semanas de idade), provenientes do biotério da UNIJUI (CEUA nº. 001/2015.). Os animais foram mantidos sob ciclo claro/escuro 12h/12h, temperatura ambiente de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, alimentados ad libitum, com ração comercial padrão (Controles) para ratos de laboratório NUVILAB com 11,4% gorduras, ou ração hiperlipídica (Obesos) com 58,3 % de gorduras, produzida no Laboratório de Ensaio Biológicos da UNIJUI, com livre acesso a água, durante 12 semanas. Após a 12ª semana os animais foram submetidos a um período de adaptação à esteira por cinco dias consecutivos, aumentando progressivamente e diariamente o tempo 5-10min, e a velocidade da esteira de 2 a 4 m/min. A seguir, os animais foram divididos em oito grupos experimentais: a) Animais que receberam ração padrão: C - Controle (sedentário); E - Exercício; HS - Choque Térmico (sedentário); E+HS - Exercício + Choque Térmico. b) Animais que receberam ração hiperlipídica: O - Obeso (sedentário); O+E - Obeso + Exercício; O+HS - Obeso + Choque Térmico (sedentário); O+E+HS - Obeso + Exercício + Choque Térmico. Em seguida os animais dos grupos E, E+HS, O+E e O+E+HS realizaram uma sessão de exercício de leve intensidade (8 m/min), com a duração de 20 minutos, em esteira rolante sem inclinação, enquanto os grupos C, HS, O e O+HS permaneceram em repouso. Após 24h da sessão de exercício, os grupos HS, E+HS, O+HS e O+E+HS passaram por uma sessão de choque térmico, enquanto os grupos C, E, O, e OE permaneceram normotérmicos. Após 12 horas da sessão de choque térmico, todos os animais foram eutanasiados por decapitação para a coleta dos músculos gastrocnêmio e sóleo para posteriores análises. **Estresse oxidativo** A determinação da lipoperoxidação foi realizada utilizando o método de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) (BUEGE & AUST, 1978), como medida dos parâmetros de estresse oxidativo, por espectrofotometria a 535 nm (ZANCHI et al., 2008). A atividade da Superóxido Dismutase (SOD) foi avaliada pelo método Marklund & Marklund (1974), a 420nm. A reação consiste na inibição da auto-oxidação do pirogallol pela atividade da enzima SOD. A atividade da Catalase (CAT) foi determinada através da decomposição do peróxido de hidrogênio a 240nm (AEBI, 1984). Os resultados foram expressos em USOD e pmol/mg de proteínas respectivamente. A concentração de proteínas de cada amostra foi determinada por espectrofotometria a 595nm, usando albumina sérica bovina como padrão (pontos de 0,04-5,0 mg/mL). Os resultados obtidos foram expressos em mg de proteínas por ml de

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

amostra (BRADFORD, 1976). **Análise Estatística** Para o tratamento estatístico os dados foram expressos em média \pm desvio padrão e submetidos à análise de variância (ANOVA) de uma via, seguido de teste *post-hoc* de Tukey, considerando nível de significância de 5%. **RESULTADOS E DISCUSSÃO** A indução a obesidade, pelo consumo de dieta hiperlipídica e as intervenções, exercício aeróbio leve e o choque térmico não geraram alterações nos níveis de peroxidação lipídica nos músculos esqueléticos gastrocnêmio, (figura 1A) e sóleo, (figura 1B) quando comparados ao grupo controle (C).

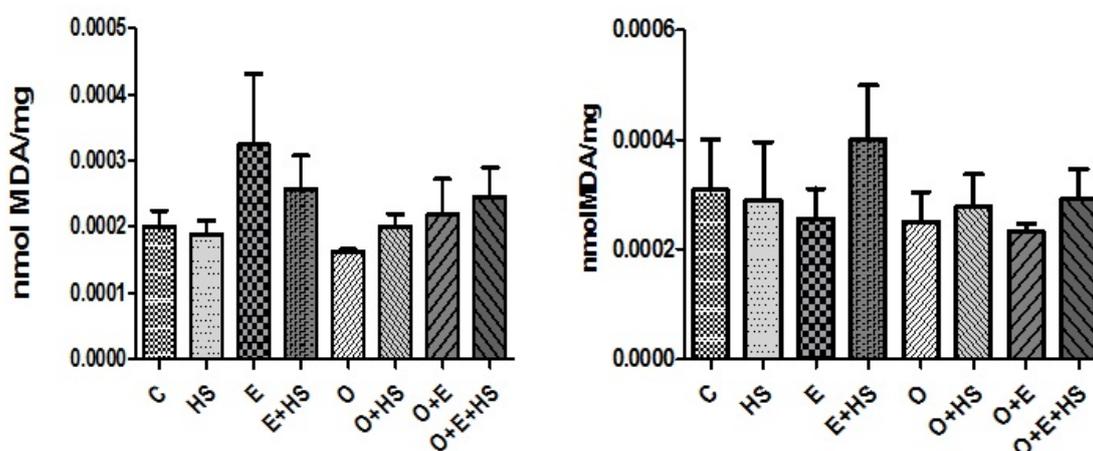


Figura 1-Avaliação da concentração de MDA do tecido musculoesquelético gastrocnêmio (1A) e sóleo (1B) de ratos obesos submetidos agudamente à terapia de choque térmico associado ao exercício físico. Os valores foram expressos em média \pm DP. C, Controle (n=6); HS, Choque Térmico (n=6); E, Exercício (n=6); E+HS, Exercício + Choque térmico (n=7); O, Obeso (n=6); O+HS, Obeso + Choque térmico (n=6); OE, Obeso Exercício (n=6) e OE + HS, Obeso Exercício + Choque térmico (n=7). Análise estatística por Anova de uma via, seguida do teste *post hoc* de Tukey. A) P= 0,4145; B) P= 0,7945. No estudo de Li e colaboradores, ratos machos obesos apresentaram aumento nos níveis de lipoperoxidação no músculo sóleo e os animais obesos que realizaram exercício físico em esteira rolante, 5 vezes por semana, apresentaram uma redução no MDA, sendo revertido parcialmente pelo exercício moderado (Li *et al.*, 2015). Os resultados são diferentes do nosso estudo possivelmente por um conjunto de fatores: a) dieta hiperlipídicas diferente; b) intensidade de exercício diferente, musculo esquelético diferente (o que significa um % de fibras tipo I e tipo II diferentes) e; d) nosso trabalho avaliou a resposta aguda e não do treinamento. No tecido musculoesquelético gastrocnêmio (Figura 2A), os grupos exercício (E) e choque térmico (HS) não apresentaram um aumento na atividade enzimática da Catalase (CAT) comparados ao grupo Controle (C), bem como o grupo Obeso Exercício (O+E). Já no sóleo (figura 2B), os animais induzidos a obesidade submetidos ao exercício físico e choque térmico (O+HS, O+E e O+E+HS) apresentaram um aumento na atividade da Catalase (CAT) comparados aos seus grupos controles (HS, E e E+HS, respectivamente) ,ou seja, a obesidade associada às intervenções provocou alteração na atividade enzimática.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

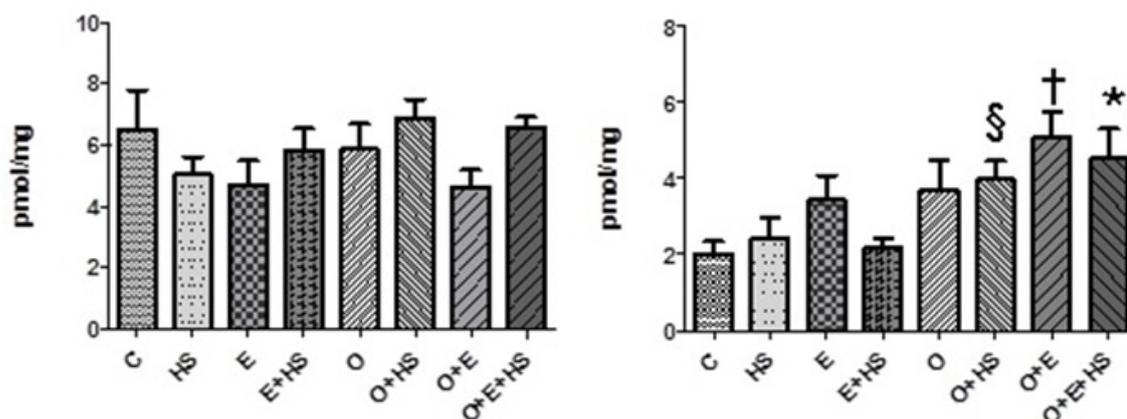


Figura 2-Análise da atividade da enzima Catalase (CAT) no tecido musculoesquelético gastrocnêmio (2A) e sóleo (2B) de ratos obesos submetidos agudamente à terapia de choque térmico associado ao exercício físico. Os valores foram expressos em média \pm DP. C, Controle (n=6); HS, Choque Térmico (n=6); E, Exercício (n=6); E+HS, Exercício + Choque térmico (n=7); O, Obeso (n=6); O+HS, Obeso + Choque térmico (n=6); OE, Obeso Exercício (n=6) e OE + HS, Obeso Exercício + Choque térmico (n=7). Análise estatística por Anova de uma via, seguida do teste post hoc de Tukey. A) P= 0,0149; B) P=0,2070. Na atividade enzimática da Superóxido Dismutase (SOD), os animais obesos submetidos ao exercício físico (O+E) apresentaram um aumento, comparados ao grupo controle (C), no tecido gastrocnêmio (figura 3A).

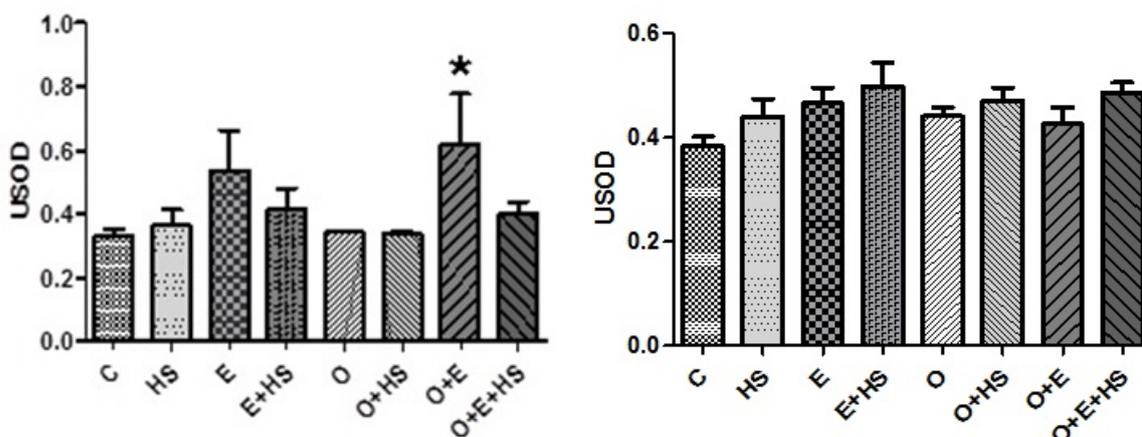


Figura 3-Análise da atividade da enzima Superóxido Dismutase (SOD) no tecido musculoesquelético gastrocnêmio (3A) e sóleo (3B) de ratos obesos submetidos agudamente à terapia de choque térmico associado ao exercício físico. Os valores foram

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

expressos em média \pm DP. C, Controle (n=6); HS, Choque Térmico (n=6); E, Exercício (n=6); E+HS, Exercício + Choque térmico (n=7); O, Obeso (n=6); O+HS, Obeso + Choque térmico (n=6); OE, Obeso Exercício (n=6) e OE + HS, Obeso Exercício + Choque térmico (n=7). Análise estatística por Anova de uma via, seguida do teste post hoc de Tukey. A) $P=0,1664$; B) $P=0,2825$. Similar aos nossos resultados, também foi observado um aumento da enzima SOD no tecido muscular, em homens obesos submetidos ao treinamento de resistência, melhorando a capacidade antioxidante nesse tecido (Samjoo *et al.*, 2013). **CONSIDERAÇÕES FINAIS** O exercício físico e o choque térmico têm efeitos diferentes dependendo da condição de obesidade e do músculo esquelético em análise, mas ambos foram capazes de alterar a resposta das defesas antioxidantes enzimáticas musculares. **Palavras-chave:** OBESIDADE; TERAPIA TÉRMICA; EXERCÍCIO FÍSICO; ESTRESSE OXIDATIVO. **Keywords:** OBESITY; THERMAL THERAPY; PHYSICAL EXERCISE; OXIDATIVE STRESS. **REFERÊNCIAS** ARROYO-JOHNSON, C.; MINCEY, K. D. Obesity Epidemiology Worldwide. **Gastroenterology Clinics of North America**. V. 45, n.4, p. 571-579, 2016. FRANÇA, B. K.; ALVES, M. R. M.; SOUTO, F. M. S.; Tiziane, L.; Boaventura, R. F.; Guimarães, A.; Jr, A. L. Peroxidação lipídica e obesidade: Métodos para aferição do estresse oxidativo em obesos. **Jornal Português de Gastreenterologia**, 2013;20(5):199-206. FIUZALUCES, C., N. GARATACHEA, ET AL. Exercise is the real polypill. **Physiology (Bethesda)**, v.28, n.5, p.330-358, 2013. HAIDAR, Y. M.; COSMAN, B. C. Obesity Epidemiology. **Clin Colon Rectal Surg**. v.24 p. 205-210, 2011. HRUBY, A.; HU, F. B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. **Pharmacoeconomics**. v.33, p. 673-689, 2016. LI, G. et al. Exercise training attenuates sympathetic activation and oxidative stress in diet-induced obesity. **Physiol Res**, v. 64, n. 3, p. 355-67, 2015. MARINHO, R. et al. Efeitos de diferentes intensidades de exercício físico sobre a sensibilidade à insulina e atividade da proteína quinase B/Akt no músculo esquelético de camundongos obesos. **Einstein**. 2014;12(1):82-9. MARSEGLIA, L. ; MANTI, S.; D'ANGELO, G. ; NICOTERA, N. ; PARISI, E.; DI ROSA, G.; GITTO, E.; ARRIGO, T. Oxidative Stress in Obesity: A Critical Component in Human Diseases. **International Journal Molecular Sciences**. V.16 p. 378-400, 2015. SAMJOO, I. A. et al. The effect of endurance exercise on both skeletal muscle and systemic oxidative stress in previously sedentary obese men. **Nutr Diabetes**, v. 3, p. e88, 2013. WHITE, P. A. S.; CERCATO, L. M.; ARAÚJO, J. M. D.; SOUZA, L. A.; SOARES, A. F.; BARBOSA, A. P. O.; NETO, J. M. R.; MARÇAI, A. C.; MACHADO, U.F.; CAMARGO, E. A.; SANTOS, M. R.; BRITO, L. C. Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância à glicose. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia e Metabologia**. 2013;57/5. WHO, World Health Statistics 2014.