

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

**EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NO ESTRESSE OXIDATIVO DO
TECIDO ADIPOSE DE ANIMAIS EXPOSTOS AO MATERIAL PARTICULADO
FINO E DIETA HIPERLIPÍDICA¹**

**EFFECT OF EXERCISE TRAINING ON THE OXIDATIVE STRESS IN
ADIPOSE TISSUE OF ANIMALS EXPOSED TO FINE PARTICULATE
MATTER AND HIGH-FAT DIET**

**Renan Daniel Bueno Basso², Aline Sfalcin Mai³, Analú Bender Dos Santos⁴,
Mirna Stela Ludwig⁵, Thiago Gomes Heck⁶**

¹ Trabalho de pesquisa realizado pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF/Unijui)

² Acadêmico de educação física da UNIJUI, Bolsista PIBITI/CNPq e membro do Grupo de Pesquisa em Fisiologia GPeF

³ Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS), Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI)

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

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

⁶ Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde-PPGAIS, Departamento de Ciências da Vida-DCVida, Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul-UNIJUI, Orientador.

Introdução

A poluição atmosférica por Material Particulado Fino (MP_{2,5}- partículas de até 2,5 µm), principalmente em grandes cidades, vem sendo relacionada ao desenvolvimento e agravamento de diversas doenças e com 7 milhões de mortes em todo o mundo (WHO,2014). Ao inalarmos estas partículas, as mesmas chegam até os alvéolos e podem atingir a corrente sanguínea causando complicações sistêmicas (HARRISON, 2000).

Outro problema de saúde pública é o estilo de vida contemporâneo, vinculado a facilidade de acesso a alimentos industrializados, hipercalóricos e pouco nutritivos, além do sedentarismo, que em conjunto, constituem os principais fatores que culminam no desenvolvimento da obesidade. Sobrepeso e obesidade estão relacionadas a alterações metabólicas e desenvolvimento de diabetes tipo 2 (DM2) (ABESO, 2009).

A inalação de MP_{2,5} concomitantemente ao consumo exagerado de gordura, gera um aumento na produção de moléculas oxidantes que leva a um quadro de estresse oxidativo em diferentes órgãos e sistemas, principalmente em tecidos relacionados ao controle metabólico (GOETTEMES-FIORIN, 2016). Entretanto, o exercício físico realizado regularmente/cronicamente (treinamento) tem a capacidade de adaptar o sistema antioxidante, incluído enzimas Superóxido dismutase (SOD) e Catalase (CAT)(CRUZAT., 2007).

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar o peso corporal, a atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT, relação SOD/CAT e lipoperoxidação no tecido adiposo em ratos submetidos ao treinamento físico, exposição a baixa dose de $MP_{2.5}$ e consumo de dieta hiperlipídica.

Metodologia

Neste trabalho (Projeto aprovado no CEUA, protocolo nº 011/2013) foi utilizado 96 camundongos da linhagem B6129SF2/J (B6) adultos com 21 dias, machos, provenientes do biotério da UNIJUI. Os animais receberam ração padrão (controle) ou Dieta Dieta Hiperlipídica por 12 semanas e simultaneamente foram subdivididos em grupos de acordo com a exposição a poluição (Exposto ou não ao $MP_{2.5}$) e também submetidos a três diferentes 3 situações (Repouso, Treinamento físico moderado e Treinamento físico intenso). Ao final das 12 semanas os animais foram eutanasiados e foi coletado o tecido adiposo para análise. O desenho experimental compôs os seguintes grupos (n = 8/grupo):

Grupo	Intervenções
C	Dieta padrão, solução fisiológica e repouso
P	Dieta padrão, Material particulado 2,5 μ m e repouso
D	Dieta hiperlipídica, solução fisiológica e repouso
DP	Dieta hiperlipídica, Material particulado 2,5 μ m e repouso
T4	Dieta padrão, solução fisiológica e treinamento moderado
TP4	Dieta padrão, material particulado 2,5 μ m e treinamento moderado
DT4	Dieta hiperlipídica, solução fisiológica e treinamento moderado
DTP4	Dieta hiperlipídica, material particulado 2,5 μ m e treinamento moderado
T8	Dieta padrão, solução fisiológica e treinamento intenso
TP8	Dieta padrão, material particulado 2,5 μ m e treinamento intenso
DT8	Dieta hiperlipídica, solução fisiológica e treinamento intenso
DTP8	Dieta hiperlipídica, material particulado 2,5 μ m e treinamento intenso

Tabela 1. Delineamento experimental

Procedimentos

Ração: Os animais foram alimentados com ração padrão (Nuvilab CR-1), contendo 11,4% de gordura, ou com Dieta Hiperlipídica, (ração com 60% de gordura, constituída de ração Nuvilab CR-1 com 22% de proteína, 40% de banha de porco, 37% de albumina, 14% aminomix vitaminas e minerais 8%, e 1% de farinha de osso e ostra, durante 12 semanas).

Material Particulado Fino ($MP_{2.5}$): O $MP_{2.5}$ foi coletado por um coletador gravimétrico instalado no terraço da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo na cidade de São Paulo, Brasil. Após 24 horas o filtro foi retirado e a coleta das partículas aderidas no mesmo foram obtidas por sonicação. As partículas então foram ressuspensas em solução fisiológica NaCl 0,9%, na concentração de 500 μ g/mL. As partículas foram administradas via intranasal, diariamente por 12 semanas (10 μ L da solução com 5 μ g de $MP_{2.5}$) na narina do animal, que por reflexo inala o poluente. Os grupos não expostos receberam 10 μ L de solução de salina 0,9%.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Treinamento Físico: Os animais que realizaram treinamento físico moderado, iniciaram com duração de 20 minutos na 1ª semana, com carga equivalente a 2% do peso corporal acoplada à cauda de cada animal. Na semana seguinte a carga foi de 4%. Foram acrescentados 10 minutos a cada semana subsequente, até 60 minutos na 6ª semana de treinamento e permanecendo com essa duração e intensidade de esforço até a 12ª semana. Os animais que realizaram treinamento físico intenso iniciaram o esforço com duração de 20 minutos, com carga equivalente a 2% do peso corporal adicionada à cauda de cada animal. Na 2ª semana realizaram o treinamento com carga de 4%. Foi acrescentada em 1% por semana, a cada semana subsequente, atingindo 8% de carga na 6ª semana de treinamento e permanecendo com essa duração (20 minutos) e intensidade de esforço (8%) até a 12ª semana. Os grupos controles permaneceram em recipiente com 4 cm de água a mesma temperatura que ocorreu a natação (30°C+1°C).

Estresse Oxidativo: A lipoperoxidação foi avaliada através da técnica de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico à 535nm (BUAGE,1978). A atividade da Superóxido Dismutase (SOD) foi avaliada à 420nm (MARKLUND, S.; MARKLUND, G., 1974). A reação consiste na inibição da auto oxidação do pirogalol pela atividade da enzima SOD. A atividade da Catalase (CAT) foi avaliada pela decomposição do peróxido de hidrogênio a 25°C, à 240nm (AEBI, 1984).

Resultados e Discussão

O exercício moderado (T4) e intenso (T8) não foram capazes de alterar os níveis de lipoperoxidação quando comparados ao grupo controle (figura 1A). O mesmo foi observado em animais submetidos ao treinamento que receberam dieta hiperlipídicas, quando comparados ao grupo sedentário (figura 1B, comparação como grupo D). A exposição ao poluente não alterou os níveis de lipoperoxidação nos animais treinados (figura 1C), mesmo aqueles que consumiram dieta hiperlipídicas. (figura 1D). O treinamento moderado ou intenso não alterou o peso do tecido adiposo dos animais, quando comparados aos animais sedentários dentro dos respectivos tratamentos. (figura 2 E-H).

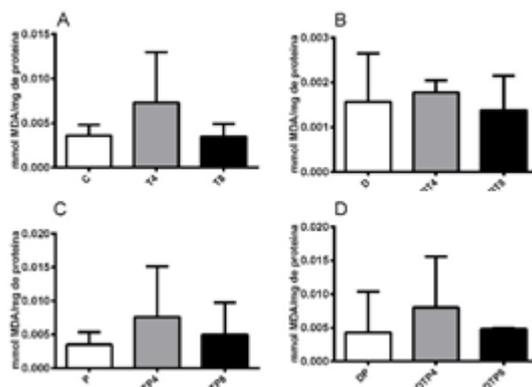


Figura 1. Avaliação da lipoperoxidação do tecido adiposo de camundongos expostos a poluição (P), Dieta (D), treinamento físico moderado(T4) e intenso (T8).Dados expressos em média ± desvio padrão, realizado teste de anova de uma via seguido de teste Post-hoc de Tukey, P<0,05.

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

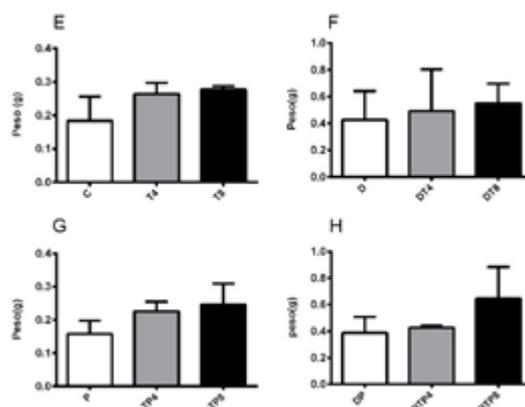


Figura 2. Peso do tecido adiposo de camundongos expostos a poluição (P), Dieta (D), treinamento físico moderado(T4) e intenso (T8).Dados expressos em média \pm desvio padrão, realizado teste de anova de uma via seguido de teste Post-hoc de Tukey, $P < 0,05$.

Grupos	C	T4%	T8%	P
SOD	0,32 \pm 0,20	1,13 \pm 0,46	0,83 \pm 0,36	0,773
CAT	0,27 \pm 0,13	0,51 \pm 0,13	0,36 \pm 0,12	0,080
SOD/CAT	1,1 \pm 0,48	2,30 \pm 1,04	2,53 \pm 1,60	0,611
Grupos	D	DT4%	DT8%	P
SOD	2,8 \pm 3,7	2,93 \pm 0,74	4,78 \pm 4,29	0,717
CAT	0,68 \pm 0,37	0,76 \pm 0,18	0,78 \pm 0,24	0,879
SOD/CAT	1,8 \pm 2,7	2,12 \pm 0,041	3,60 \pm 3,88	0,068
Grupos	P	TP4%	TP8%	P
SOD	0,73 \pm 0,81	0,94 \pm 0,58	1,40 \pm 1,35	0,663
CAT	0,36 \pm 0,071	0,43 \pm 0,028	0,36 \pm 0,12	0,662
SOD/CAT	1,85 \pm 1,97	2,12 \pm 1,18	3,60 \pm 2,89	0,543
Grupos	DP	DTP4%	DTP8%	P
SOD	3,83 \pm 3,78	27,64 \pm 28,61	0,95 \pm 0,74	0,138
CAT	0,70 \pm 0,15	1,539 \pm 1,213	0,34 \pm 0,14	0,169
SOD/CAT	5,1 \pm 4,7	14,59 \pm 15,28	2,52 \pm 1,12	0,310

Tabela 2. Atividade de Enzimas antioxidantes. CAT(pmol/s/mg de proteína *100000000000) n= 2-6 por grupo, SOD (unidades/mg de proteína) n=2-6 por grupo e SOD/CAT (uSOD/uCAT /1000000000000). Os dado são expressos em média \pm desvio padrão, foi realizado teste anova de uma via seguido de post-hoc de Tukey, os valores de P foi considerado $P < 0,05$.

A não alteração nos valores da lipoperoxidação no tecido adiposo deste trabalho, assim como foi observado no trabalho de Goettens-Fiorin, 2016, indica uma proteção ao tecido adiposo. Essa proteção pode ser devido a manutenção dos níveis de proteínas de choque térmico teciduais, agindo como citoprotetoras e antioxidante (MOSSER *et al.*, 2000). O tecido adiposo não apresentou alterações enzimáticas possivelmente por não sofrer alterações na resposta celular ao estresse gerado pela associação DHL+PM. Sendo assim, também não foi observado efeitos do exercício nesse processo. Apesar de bem conhecido o efeito sistêmico do MP_{2.5}, aumentando o estresse oxidativo (LIU *et al.*, 2014), a exposição a baixos níveis de MP_{2.5} não foi capaz de alterar o estado redox no tecido adiposo.

Considerações Finais

Evento: XXV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

O treinamento físico em ambas intensidades não alterou variáveis de estresse oxidativo e peso do tecido adiposo em animais tratados com material particulado fino e dieta hiperlipídica.

Palavras-chave: Diabetes Mellitus Tipo II, Exercício Físico, Poluição atmosférica.

Keywords: Diabetes Mellitus Type II, Exercise Training, Air Pollution.

Referências

ABESO (2009), Diretrizes brasileiras de obesidade 2009/2010 - **Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica**. - 3.ed. - Itapevi, SP : AC Farmacêutica.

AEBI, H. Oxygen Radicals in Biological Systems. **Methods in Enzymology**, 1984. v. 105, n. 1947, p. 121-126.

BUEGE, J.A., Aust, S.D. Microsomal lipid, Peroxidation. **Methods in Enzymology**. 1978. Vol. 52. Academic Press, New-York, pp. 302-310.

CRUZAT, V. F. *et al.* Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 2007. v. 13, n. 5.

GOETTEMS-FIORIN, P. B. *et al.* Fine particulate matter potentiates type 2 diabetes development in high-fat diet-treated mice: stress response and extracellular to intracellular HSP70 ratio analysis. **Journal of Physiology and Biochemistry**, 2016. v. 72, n. 4, p. 643-656.

LIU, C. *et al.* Epidemiological and Experimental Links between Air Pollution and Type 2 Diabetes. 2014. v. 41, n. 2, p. 361-373.

MARKLUND, S.; MARKLUND, G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. **European journal of biochemistry / FEBS**, 1974. v. 47, n. 3, p. 469-474.

MOSSER, D. D. *et al.* The Chaperone Function of hsp70 Is Required for Protection against Stress-Induced Apoptosis. **Molecular and Cellular Biology**, 2000. v. 20, n. 19, p. 7146-7159.

HARRISSON; YIN, J. Particulate matter in the atmosphere : which particle properties are important for its effects on health ? 2000.

WHO. 7 million premature deaths annually linked to air pollution. **WorldHealthOrganization**, 2014.