

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

**TERAPIA TÉRMICA MELHORA HIPERGLICEMIA E INTOLERÂNCIA À GLICOSE INDUZIDA POR DIETA HIPERLIPÍDICA<sup>1</sup>**  
**THERMAL THERAPY IMPROVES HYPERGLYCEMIA AND INTOLERANCE TO HYPERLIPID DIET INDUCED GLUCOSE**

**Luana Weizenmann<sup>2</sup>, Rafael Pereira<sup>3</sup>, Renan Daniel Bueno Basso<sup>4</sup>, Joao Schimidt Corso<sup>5</sup>, Denise Eliane Spengler<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia, Departamento de Ciências da Vida - UNIJUI

<sup>2</sup> Acadêmica do curso de Fisioterapia - UNIJUI Bolsista PROBIC/FAPERGS Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF

<sup>3</sup> Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS)UNIJUI/UNICRUZ Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

<sup>4</sup> Educador físico, Bacharelado pela UNIJUI, Residente R1 no Programa Multiprofissional em Saúde da Família UNIJUI/FUMSSAR Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

<sup>5</sup> Acadêmico do curso de Educação Física UNIJUI Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

<sup>6</sup> Bióloga Bacharelado e Licenciatura pela Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

<sup>7</sup> 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). Orientador. Grupo de Pesquisa em Fisiologia-GPeF

### **INTRODUÇÃO**

A obesidade é uma condição crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura que traz repercussões à saúde (WHO, 2000). Considerada juntamente com o diabetes mellitus tipo 2 (DM2) a principal epidemia global não associada a causas infecciosas (WHO, 2014). O DM2 é definido como um grupo de doenças metabólicas, caracterizadas por hiperglicemia crônica devido à ação insuficiente da insulina (SEINO et al.,2010). Pode-se destacar como fatores condicionantes, a alimentação rica em gorduras e açúcares, alimentos ultraprocessados, associado à inatividade física (Ministério da Saúde, 2014), urbanização, crescimento econômico e industrial (HAIDAR et al.,2011).

A obesidade abdominal está diretamente correlacionada com o desenvolvimento de resistência periférica à insulina. Na tentativa de manter a homeostase glicêmica, ocorre à exaustão das células  $\beta$ -pancreáticas e consequente queda na produção insulínica, intolerância à glicose e hiperglicemia. Causando falha na ação adequada da insulina sobre tecidos-alvo, principalmente músculo esquelético e tecido adiposo. Caracterizando um quadro de DM2 (WHITE et al., 2013).

A terapia de choque térmico, através de sauna e imersão em água quente, demonstra

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

desempenhar um papel importante na prevenção da resistência à insulina e no desenvolvimento de DM2 (ARCHER et al., 2017). A elevação da temperatura corporal acima de valores normais (hipertermia) desencadeia uma resposta ao choque térmico, promovendo a expressão de HSP70 (Heat Shock Protein), proteína com papel de chaperonas moleculares, que mantêm a função celular através da regulação da dobragem, degradação das proteínas e citoproteção, já evidenciado em antigos estudos (MORIMOTO, 1988). A expressão de HSP70 é um fator que determina extensão da inflamação e, portanto, uma patologia associada ao diabetes (EDKINS et al., 2017).

Adachi et al., 2010 observou que a expressão de HSP70 em DM2 é atenuada e a ativação da resposta ao choque térmico confere benefícios para melhorar o acúmulo de lipídios, sinais inflamatórios e resistência à insulina, levando a melhoras metabólicas em modelos diabéticos (ADACHI et al., 2010). A literatura indica que a terapia térmica pode ser uma estratégia útil no combate a distúrbios metabólicos como o diabetes DM2 (Krause et al., 2015). Portanto, objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos da terapia térmica sobre a glicemia e HSP70 de ratos hiperglicêmicos e intolerantes à glicose.

#### **MATERIAIS E MÉTODOS**

**Animais:** foram utilizados 15 ratos machos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), entre oito e nove semanas, provenientes do Biotério da UNIJUI. Os animais foram mantidos sob condições ideais para animais de laboratório, temperatura ambiente controlada de  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , sob iluminação com ciclo de claro/escuro de 12h.

**Delineamento experimental:** Os animais foram inicialmente divididos em dois grupos: animais que receberam dieta padrão (Controle,  $n = 6$ ) e animais que receberam dieta hiperlipídica (D,  $n = 9$ ) por 10 semanas. Após a 12ª semana, os animais do grupo D continuaram consumindo a ração hiperlipídica e foram subdivididos em dois novos grupos: D ( $n = 3$ ) mantido em repouso, e grupo DHS ( $n = 6$ ), submetido a terapia térmica 3x/sem. Na 1ª, 10ª e 20ª semana os animais realizaram o teste de tolerância à glicose (GTT). 72 horas após a última sessão de terapia de choque térmico os animais foram eutanasiados e os tecidos biológicos coletados para análise. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética de Uso de Animais (CEUA), parecer consubstanciado Nº. 001/2015 de 23/12/2015.

**Dieta:** os animais receberam ração *ad libitum* durante as 21 semanas de experimento. O grupo controle recebeu ração padrão (Nuvilab CR-1), com 11,4% de suas calorias provenientes de gorduras, 62,8% de carboidratos e 25,8% de proteínas. Os grupos D e DHS receberam ração hiperlipídica (DHL), 58,3% de suas calorias provenientes de gorduras, 24,5% de carboidratos e 17,2% de proteína.

**Teste de Tolerância a Glicose (GTT):** foi realizado antes o início da dieta (GTT1), após as 10 semanas de DHL (GTT2) e após a terapia térmica (GTT3, na 21ª semana). Após jejum de 12h, a glicemia ( $T=0$ ) foi verificada por punção venosa na parte distal da cauda e foi administrada solução de glicose (dose de 1g/kg) via intraperitoneal. A glicemia foi novamente verificada 15 ( $T=15$ ), 30

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

(T=30) e 120 (T = 120) minutos após a administração de glicose. Os dados foram apresentados em mg de glicose /dL de sangue.

**Terapia térmica:** os animais do grupo DHS foram submetidos à terapia de choque térmico a partir da 12ª semana, 3 vezes por semana, durante 20 minutos, por oito semanas. Foram colocados em um recipiente de polipropileno (11,5x15cm), profundidade de 7 cm, inclinação 10,6°, com orifícios nas laterais e parte superior, para a inundação no recipiente (furos inferiores) e oxigenação dos animais (furos superiores e laterais), imerso em banho-maria com água a 41°C (temperatura tolerada pelos animais), mantendo a maior parte do corpo submerso (exceto cabeça). Foram mantidos acordados para a indução da hipertermia e após cada sessão de terapia térmica, os animais receberam água e ração *ad libitum*.

**Expressão de HSP70:** As amostras foram homogeneizadas em tampão SDS 0,1% para mensurar expressão de HSP70, por Western blot (LAEMMLI, 1970). Esta técnica consiste de separação proteica por peso molecular (kDa) por eletroforese, eletrotransferência para membrana de PVDF e imunodeteção por meio de anticorpo monoclonal anti-HSP70 (Sigma H5147; diluído 1:1000), e anticorpo monoclonal anti-β-actina (Sigma A3854, diluído 1:5000) para normalização, todos revelados por quimiluminescência em filme (Amersham Hyperfilm ECL; GE, Health Care) após incubação da membrana em solução ECL (GE, Health Care). As imagens referentes à expressão de HSP70 e actina foram quantificadas com o uso do ImageJ, e os resultados expressos em unidades arbitrárias de HSP70/β-actina.

**Análise Estatística:** Os dados foram analisados no programa estatístico GraphPad Prism 6, e expressos em média e desvio-padrão. Para análise do GTT e HSP70 foi utilizado a análise de variância (ANOVA) de uma via seguido de pós teste de Tukey. Considerado o nível de significância de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira etapa do trabalho consistiu em induzir um quadro de desbalanço glicêmico nesses animais. Para isso, utilizou-se o modelo de dieta hiperlipídica. White et al., 2013 observou desenvolvimento de obesidade, resistência à ação da insulina e hiperglicemia de jejum em animais tratados com dieta hiperlipídica em um período de 10 semanas. Em nosso trabalho, foi possível verificar que 10 semanas de consumo de dieta hiperlipídica elevou a glicemia de jejum dos animais (Figura 1B). A terapia de choque térmico foi capaz de reduzi-la em relação aos níveis induzidos pela dieta hiperlipídica, melhorando a glicemia (Figura 1C).

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

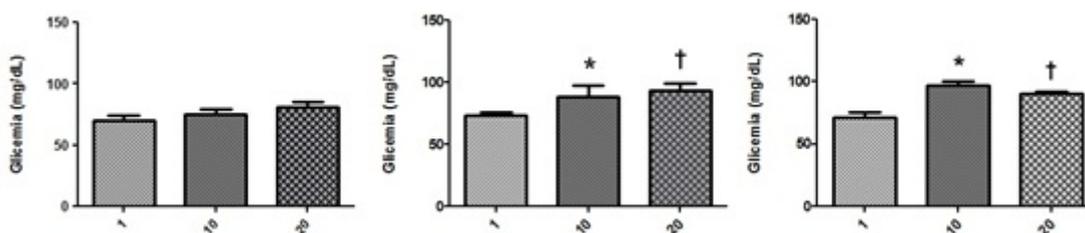


Figura 1. Glicemia de jejum dos animais que consumiram dieta padrão C (n=6) (A), que consumiram DHL D (n=3) (B) e que consumiram DHL e realizaram a terapia térmica DHS (n=6) (C), na 1ª, 10ª e 20ª semana. Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. 1, 10 e 20, C (n=6), D (n=3), DHS(n=6). A) P= 0,419 B) P= 0,235 C) \*DHS10 vs. DHS1 p=0,005 e †DHS20 vs. DHS10 p=0,046.

No teste de tolerância a glicose observou-se que 10 semanas de dieta hiperlipídica provocou um quadro de intolerância à glicose. Entretanto, a terapia térmica foi capaz de melhorar esse estado (Figura 2C).

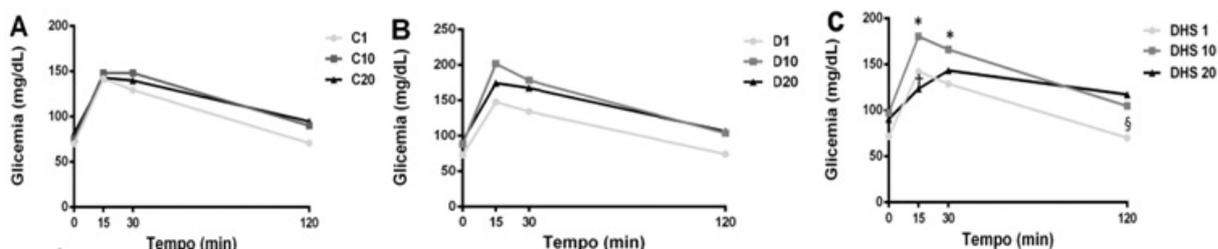


Figura 2. GTT realizado antes de qualquer intervenção (A1), após o consumo de dieta hiperlipídica por 10 semanas (B10) e após o choque térmico (C20), nos grupos C (n=6), D (n=3), DHS (n=6). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão. C) \* DHS10 vs. DHS1, † DHS10 vs. DHS20 e §DHS1 vs. DHS10 e DHS20. p<0,05.

A julgar pela melhora no perfil glicêmico, investigamos se isso poderia ser decorrente da indução do aumento da expressão de iHSP70 muscular devido a terapia térmica. Ao analisar a concentração de iHSP70 no gastrocnêmio, 72 horas após a última sessão de choque térmico, não observou-se diferenças entre os grupos. Porém, os resultados demonstram um aumento na concentração nos animais que realizaram terapia de choque térmico.

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

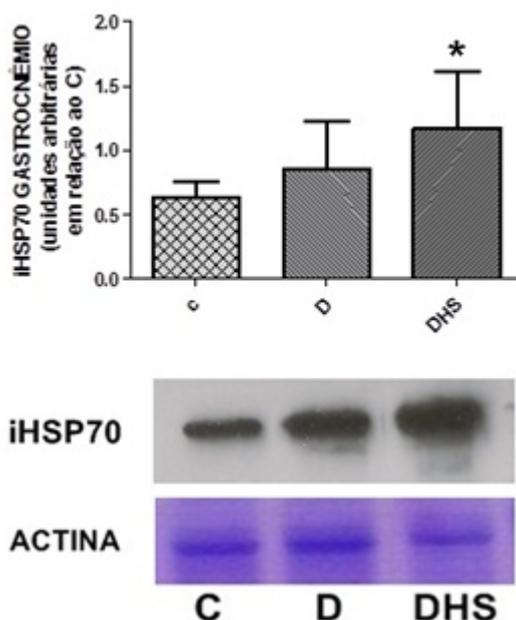


Figura 3. Valores de iHSP70 no músculo gastrocnêmio de animais C (n=6), D (n=3) e DHS (n=6). Dados expressos em média  $\pm$  desvio padrão.  $P < 0,05$

De acordo com os resultados, podemos sugerir que a elevação da concentração de iHSP70 foi suficiente para melhorar os índices glicêmicos de ratos obesos submetidos a terapia de choque térmico. Resultados similares já foram encontrados em macacos expostos a imersão em água quente, com melhora no perfil glicêmico (glicemia de jejum e secreção de insulina) acompanhada de aumento na concentração de HSP70 no músculo (KAVANAGH et al., 2016).

O mecanismo de ação de choque térmico sobre a resistência insulínica está relacionado a redução da inflamação, melhora da função mitocondrial, capacidade oxidativa e manutenção das proteostases, através da ação das HSPs em tecidos metabólicos (ARCHER; VON SCHULZE; GEIGER, 2017). Estudos com modelos experimentais de obesidade e resistência insulínica confirmam os efeitos protetores da terapia térmica sobre o desenvolvimento de complicações do DM2 em ratos. (GUPTA et al, 2009; CHUNG et al, 2008).

## CONCLUSÃO

A terapia térmica é capaz de melhorar um quadro de intolerância à glicose pelo aumento da expressão de HSP70 muscular.