

EFEITOS DO EXERCÍCIO EM DIFERENTES TEMPERATURAS EM VARIÁVEIS DE GLICEMIA E ESTRESSE OXIDATIVO DE RATAS IDOSAS¹

**Renan Daniel Bueno Basso², Analú Bender Dos Santos³, Maicon Machado Sulzbacher⁴,
Fernanda Giesel Baldissera⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷.**

¹ Projeto de Iniciação Científica

² Acadêmico do curso de Educação Física – UNIJUI; Bolsista PROBIC/FAPERGS – (DCVida); Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF; E-mail: renandbb@hotmail.com

³ Acadêmica do curso de Educação Física – UNIJUI; Bolsista PROBIC/FAPERGS – (DCVida); Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF;

⁴ Acadêmico do curso de Enfermagem – UNIJUI; Departamento de Ciências da Vida (DCVida) - Bolsista PIBIT/CNPQ; Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF

⁵ Aluna do curso de Mestrado em Ciências da Saúde de Porto Alegre(UFCSPA) ; Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF - Unijui

⁶ Professora do Departamento de Ciências da Vida (DCVida, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS)- Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF-UNIJUI.

⁷ Professor do Departamento de Ciências da Vida (DCVida, Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS)- Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF-UNIJUI.

Introdução

A população de idosos vem aumentando nos últimos anos e estima-se que a população > 65 anos aumente de 524 milhões (no ano de 2010) para 1,5 bilhões em 2050 (WHO, 2011). O envelhecimento leva a uma diminuição da eficiência na resposta dos sistemas do nosso organismo frente a desafios ou estresse metabólico (SPIRDUSO,2005), como a diminuição da massa magra e aumento de tecido adiposo decorrente da inatividade física. Estes são fatores que contribuem para o desenvolvimento de resistência insulínica e predisponentes para o desenvolvimento do diabetes melitus tipo 2 (FARINATTI,2008).

Apesar do envelhecimento ser decorrência natural do tempo sobre organismos animais, diferentes fatores podem influenciar este processo, como o estresse oxidativo, caracterizado pelo desbalanço entre a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) (MANSO, 1991), que causam dano a estruturas celulares, e os sistemas antioxidantes do organismo, contribuindo para surgimento de doenças no idoso (BARBOSA, 2010). Neste sentido a realização de exercício regularmente se torna um aliado na prevenção dos danos causados pelas ERO, por aprimorar o sistema de defesa antioxidante (CRUZAT, 2007). No entanto, o exercício físico agudo é um fator que gera uma situação de estresse metabólico e térmico ao organismo, devido ao aumento da demanda de energia e oxigênio, e produção de calor (CONTARTEZE et al., 2007). Estudos prévios de nosso grupo

demonstram que a realização de exercício físico em diferentes temperaturas, em diferentes intensidades, leva a uma mudança na resposta glicêmica de ratas adultas jovens (KOSTRICKI et al, 2012 e KOSTRYCKI, 2013). No entanto, não foi ainda investigada a resposta ao exercício realizado em diferentes temperatura sobre os parâmetros e estresse oxidativo e glicemia em ratas idosas, objetivo deste trabalho.

Metodologia

Foram utilizadas 33 ratas Wistar, 62±5,7 semanas, sedentárias, 245 ± 49,5g, provenientes do biotério da UNIJUI. Os animais receberam água e ração ad libitum e foram mantidos em ambiente com temperatura controlada, umidade relativa do ar entre 50 e 60%, com ciclo claro/escuro de 12h. Adaptação: os animais foram adaptados ao meio líquido (natação) por 3 dias consecutivos, entre 8 e 11 horas da manhã. Os animais nadaram por 10 min em tanque de natação de vidro (45 x 45 x 56 cm para cada animal), com capacidade para quatro animais nadarem simultaneamente (20x20x56cm para cada animal), preenchido com 45 cm de água à 30±1°C ou 40±1°C. Este procedimento tem como objetivo reduzir a ocorrência de estresse durante o experimento. Após adaptação, os animais foram mantidos sem manipulação por 24 h. Determinação do período do Ciclo Estral: No dia do experimento, o período do ciclo estral das ratas foi identificado por meio de esfregaço de tecido vaginal, posteriormente coradas pelo método de Shorr (1941). Exercício: As intervenções deste trabalho consistem de exercício agudo de natação em duas intensidades (moderado e intenso, ou seja, 4 % ou 8 % de carga presos à cauda do animal) e sob diferentes temperaturas (30 ± 1 °C ou 40 ± 1 °C). Foram realizados 20 min de natação. Os demais animais permaneceram 20 min em repouso em água rasa nas temperaturas mencionadas. Desta forma, os animais foram divididos em 6 grupos experimentais, apresentados na tabela 1:

Tabela 1: Grupos experimentais

Grupo	Repouso/Exercício	Temperatura	n
GC 30 °C	Repouso	30 °C	5
GC 40 °C	Repouso	40 °C	6
G4% 30 °C	Exercício à 4% de carga	30 °C	5
G4% 40 °C	Exercício à 4% de carga	40 °C	8
G8% 30 °C	Exercício à 8% de carga	30 °C	5
G8% 40 °C	Exercício à 8% de carga	40 °C	4

Temperatura dos animais: a temperatura retal das ratas foi aferida antes e imediatamente após o exercício, 20, 40 e 60 min após o exercício, utilizando termômetro digital. Teste de Tolerância à Glicose: 4h após a sessão de exercício foi realizado o teste de tolerância à glicose (Glucose Tolerance Test – GTT). A glicemia das ratas foi mensurada (T=0) e, posteriormente, foi administrado solução de glicose à 80% na dose de 1g/kg (i.p.). A glicemia das ratas foi mensurada 30, 60, 90 e 120 min após a administração de glicose. O sangue foi obtido por meio de punção

caudal e a glicemia aferida em glicosímetro (Optium Xceed, Abbott), expressa em mg/ dL de sangue. Obtenção e preparação dos tecidos: imediatamente após o término do GTT, os animais foram mortos com guilhotina, seguido da coleta do pâncreas, que foi imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado à -20 °C. Parte do pâncreas congelado foi homogeneizado em solução (KPi) com inibidores de protease(PMSF). Dosagem de proteína: A concentração de proteínas de cada amostra foi determinada pelo método de Bradford (1976). Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS): foi utilizado o método de Buege; Aust (1978). A absorbância foi mensurada à 535nm. Determinação da atividade enzimática da superóxido dismutase (SOD): A atividade da SOD foi mensurada por meio da inibição da auto oxidação do pirogallol em 60 s e 120 s à 420 nm(Marklund; Marklund, 1974). Análise Estatística: os resultados são expressos em média $\pm$ dp. Comparação: ANOVA de uma via seguido de teste post hoc de Tukey ($P < 0,05$).

Resultados e discussão

Os animais que realizaram exercício a 30°C apresentaram redução de temperatura corporal imediatamente após 20 minutos de natação quando comparados aos demais grupos (Figura 1A). Do contrário, os animais que realizaram exercício em água a 40°C não apresentaram alteração de temperatura (Figura 1B).

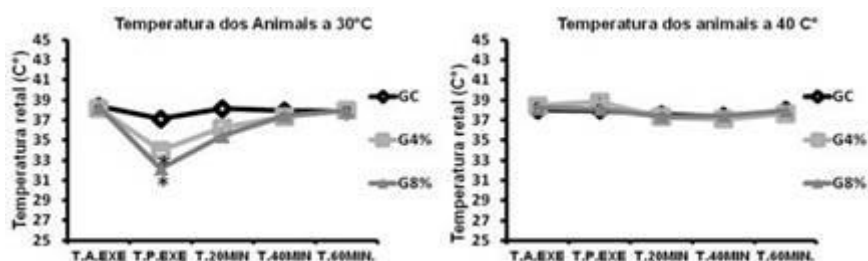


Figura 1. Temperatura corporal antes, imediatamente após e 20, 40 e 60 min após exercício a (A) 30 °C e a (B) 40°C. Os resultados são expressos em média $\pm$ desvio padrão, n = 4 – 8 ratas. * G4% e G8% vs GC ($P < 0,05$).

Estudos têm evidenciado que exercício de natação em água a 30 °C causam hipotermia imediatamente após o exercício em ratos machos (Heck, 2011) e em fêmeas (Kostycki, 2013). Os resultados deste estudo demonstram que o exercício de natação a 30 °C em ratas idosas também apresentam este comportamento térmico, não ocorrendo nos animais que realizaram exercício a 40°C. Para suprir a demanda de energia pelo exercício há aumento da produção energética intramuscular, gerando calor. Este calor produzido pelo organismo é expelido ao ambiente externo (por meio da pele para um resfriamento corporal. Contudo, a condutividade térmica da água é muito superior ao do ar e, conseqüentemente, a diminuição de temperatura corporal é exacerbada, necessitando elevado gasto energético para produção de calor na busca pela homeostase térmica corporal. (GUYTON; HALL, 2006)

O exercício de natação a 30°C não apresentou diferença no GTT entre os animais dos grupos que permaneceram em repouso ou que realizaram exercício a 30 °C (Figura 2A). Porém, os resultados relativos aos animais que nadaram em água a 40°C indicam que a realização de exercício sob intensidade moderada (G4%) melhora a tolerância à sobrecarga de glicose em relação à condição de exercício sob intensidade elevada (8% do peso corpóreo), bem como em relação aos animais que permaneceram em repouso, mostrando-se, portanto, mais eficiente para o controle glicêmico (Figura 2B).

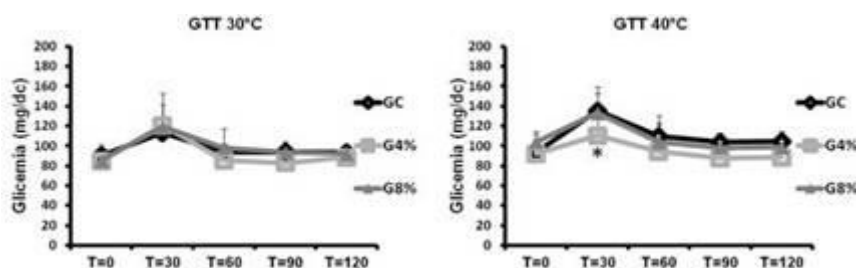


Figura 2. Teste de tolerância à glicose a 30 °C e a 40 °C. Os resultados são expressos em média + desvio padrão, n = 4 – 8 ratas. * G4%40°C vs GC40°C e G8%40°C (P < 0,05)

Todos os animais submetidos ao exercício, independentemente da intensidade, apresentaram menor lipoperoxidação pancreática quando comparados aos animais que permaneceram em repouso a 30°C. Analisando o efeito da temperatura sobre o nível de MDA entre os animais em repouso, observa-se menor concentração deste produto no grupo mantido em temperatura a 40°C, indicando menor peroxidação lipídica. Ainda sobre o efeito da temperatura, observou-se que a realização de exercício de intensidade moderada a 40 °C gera menor nível de peroxidação lipídica quando comparado ao exercício realizado a 30°C na mesma intensidade (G4%30°C) (Figura 3).

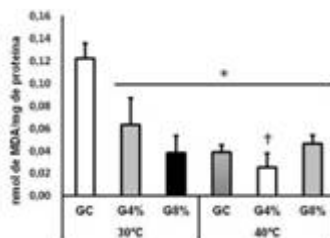


Figura 3. TBARS do tecido pancreático. Os valores são expressos em média + desvio padrão, n = 4 – 8 ratas. * G4%30°C; G8%30°C; GC40°C; G4%40°C; G8%40°C vs GC30°C (P < 0,05), § G4%40°C vs G4%30°C (P<0,05)

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

Ao mensurarmos a atividade da enzima SOD no pâncreas (Figura 4), observamos que os animais submetidos à natação a 40 °C (G4%40°C e G8%40°C) apresentaram maior atividade desta enzima quando comparados aos animais em repouso, tanto a 30 °C quanto a 40 °C (GC30°C e GC40°C). Além disso, os animais submetidos à natação sob alta intensidade a 40 °C (G8%40°C) apresentaram maior atividade da SOD quando comparados aos animais que realizaram exercício a 30 °C (G4%30°C e G8%30°C). A SOD é uma das enzimas antioxidantes do nosso organismo que atua na redução do ânion superóxido em peróxido de hidrogênio. Desta forma, o exercício sob temperatura elevada auxilia no aumento da defesa antioxidante pancreática, contribuindo na diminuição de dano oxidativo neste tecido.

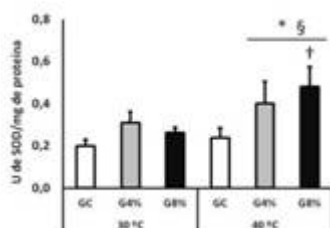


Figura 4. Atividade da enzima SOD no pâncreas, n = 4 – 8 ratas. Os dados são expressos em média $\pm$ desvio padrão. * G4%40°C e G8%40°C > GC30°C (P < 0,05); § G4%40°C e G8%40°C > GC40°C; † G8%40°C > G4%30°C e G8%30°C.

Conclusões

Os animais submetidos ao exercício de natação a 30 °C apresentaram redução da temperatura corporal e o exercício moderado a 40 °C foi capaz de melhorar a tolerância à glicose. Tanto o exercício quanto a exposição ao calor desencadearam alteração de variáveis de estresse oxidativo, com diminuição do dano oxidativo e aumento da SOD, ambos no tecido pancreático.

Palavras chave: envelhecimento; exercício físico; calor; resposta glicêmica; estresse oxidativo

Referências Bibliográficas

- ALBERTI, K. George M.M.; Impaired glucose tolerance: what are the clinical implications? Elsevier Science Ireland Ltd., 1998.
- BARBOSA, Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. Rev. Nutr., Campinas, 23(4):629-643, jul./ago., 2010.
- BUEGE, J. A; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol., v.52, p.302-309. 1978.
- CORTARTEZE, Ricardo. Biomarcadores de estresse em ratos exercitados por natação em intensidades igual e superior à máxima fase estável de lactato Rev Bras Med Esporte _ Vol. 13, Nº 3 – Mai/Jun, 2007

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XXII Seminário de Iniciação Científica

CRUZAT, Vinicius; Rogero, Marcelo Macedo; Borges, Maria Carolina; Tirapegui, Julio; Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. Rev Bras Med Esporte _ Vol. 13, Nº 5 – Set /Out, 2007

FERREIRA, A.L.A. and Matsubara, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. Rev. Assoc. Med. Bras., Mar 1997, vol.43, no.1, p.61-68. ISSN 0104-4230

FARINATTI, Paulo de Tarso Veras ; Envelhecimento promoção da saúde e exercício. Editora Manole, 2008, 499p.

GUYTON; HALL . Tratado de fisiologia médica. 2006. Editora Futura 1115p.

HECK, T.G., et al. HSP70 expression: does it a novel fatigue signalling factor from immune system to the brain ? Cell Biochem Funct, v.29, n.3, Apr, p.215-26. 2011

HIRATA, Lílían ; SATO Mayumi Eliza ; SANTOS Cid Aimbiré; Radicais Livres e o Envelhecimento Cutâneo acta farmacéutica bonaerense - vol. 23 nº 3 - año 2004

KOSTRYCKI, I. M., et al. Desenvolvimento de modelo experimental para estudo dos efeitos do exercício físico no controle glicêmico em ratas Wistar. XX Seminário de Iniciação Científica da UNIJUI, Salão do Conhecimento, 2012.

KOSTRYCKI, I. M.; exercício físico previne aumento de dano oxidativo muscular e alteração glicêmica causada pela exposição ao calor . Trabalho de conclusão de curso apresentado a universidade do noroeste do rio grande do sul unijuí. 2013

LOVLIM R, Cottle W, Pyke I, Kavanagh M, Belcastro AN. Are indices of free radical damage related to exercise intensity? Eur J Appl Physiol 1987;56:312-6.

MANSO, Carlos; Envelhecimento e Radicais Livres. Acta Médica Portuguesa 1992; 5:87-90.

SALVADOR, Mírian; Henriques, João A.P.; Radicais livres e a resposta celular ao estresse oxidativo. – Canoas: Ed. Ulbra, 2004.

Shorr E. A new technic for staining vaginal smears: iii, a single differential stain. Science 1941; 94:545–546.

SPIRDUSO, Waneen; Dimensões Físicas do Envelhecimento. Editora Manole, 2005, 483p.

VOLTARELLI, F. A. et al. Transição metabólica e teste do lactato mínimo em ratos: nova proposta de quantificação do esforço. Revista de Educação Física da Universidade Estadual de Maringá v.16, n.1, p.73-78, 2005.

WHO, World Health Organization Global Health and Aging. NIH publication no.11-7737 October 2011.