

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

SUPLEMENTAÇÃO COM L-GLUTAMINA: EFEITOS SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO ENCEFÁLICO¹

Marlon Turcato², Analú Bender Dos Santos³, Jéssyca Bandeira Corrêa⁴, Mirna Stela Ludwig⁵, Thiago Gomes Heck⁶.

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

² Acadêmico do 7o semestre de nutrição da UNIJUI. Bolsista de iniciação científica PROBIC-FAPERGS; turcato.marlon@gmail.com.

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

⁴ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), Mestranda Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS)UNIJUI/UNICRUZ

⁵ Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), 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 Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF), 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)

INTRODUÇÃO

A glutamina é o aminoácido livre mais abundante no corpo (ROWBOTTOM, KEAST E MORTON, 1996). Como o organismo a sintetiza, ela é considerada um aminoácido não essencial (MOREIRA et al., 2007). Entretanto, em situações críticas, como cirurgias, traumas e exercícios físicos exaustivos, a síntese de glutamina não supre a demanda do organismo (SANTOS, CAPERUTO E COSTA ROSA, 2007; WRAY, MAMMEN E HASSELGREN, 2002).

Neste sentido, acredita-se que a redução da disponibilidade de glutamina no período posterior a exercícios físicos intensos e prolongados possa estar envolvida no fenômeno conhecido como janela aberta imunológica, onde o organismo está susceptível a infecções. A suplementação com L-glutamina tem sido estudada como alternativa de redução ou até reversão desses eventos induzidos pelo exercício físico extenuante (CASTELL; NEWSHOLME, 1998; MOREIRA et al., 2007)

Por outro lado, o uso indiscriminado de suplementos alimentares (como por exemplo, com glutamina) por praticantes recreativos de exercícios físicos tem aumentado nos últimos anos. Esta suplementação pode estar ocorrendo sem a necessidade (falta) de glutamina em casos de exercício de intensidade moderada. Investigando experimentalmente esta questão, estudos recentes de nosso grupo demonstraram que a suplementação de L-glutamina em animais que treinaram aerobicamente em intensidade moderada apresentou aumento nos níveis de dano oxidativo lipídico muscular (SANTOS et al., 2014), sugerindo que neste caso, a suplementação pode ser prejudicial para alguns

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

órgãos. O dano oxidativo no tecido cerebral é um dos fatores que contribui para disfunção neuronal e degeneração na doença de Alzheimer (MATTSON, 1997).

Portanto, o objetivo deste estudo é investigar o efeito da suplementação com glutamina sobre parâmetros oxidativos encefálicos em camundongos submetidos ao treinamento moderado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 28 camundongos Swiss (13 semanas, peso 36,9±2,8g), provenientes do biotério da UNIJUI, mantidos em condições ideais. Estes foram adaptados por 3 dias com 100µL de PBS (pH 7,4) (v.o.) e 1h depois submetidos a natação por 10min sem adição de carga. Os animais permaneceram sem manipulação por 72h e então foram divididos em 4 grupos: C (sedentário PBS, n=7); T (treinado PBS, n=8); G (sedentário Gln, n=7); TG (treinado Gln, n=6). Treinamento: aeróbico de intensidade moderada, durante 6 semanas, com carga inicial de 2% de seu peso corporal na 1ª semana e de 4% a partir da 2ª semana. As sessões iniciaram com a duração de 20 min, aumentando 10min/semana até alcançar 60min, realizado em tanques (13x14x30cm) com água (30±1°C) a 20cm de profundidade (grupos T e TG) (adaptado de HECK, 2011). Os grupos C e G foram mantidos em tanque com 2cm de água. Suplementação: Os grupos G e TG receberam L-glutamina (1g/Kg) v.o. (100µL/10g) diariamente, 1 hora antes da sessão de exercício (CRUZAT & TIRAPEGUI, 2009). Os animais dos grupos C e T receberam PBS (pH 7,4). Morte: após 72 horas da última sessão de natação, os animais foram mortos por decapitação, para a coleta do tecido encefálico para posteriores análises bioquímicas. Dosagem de proteína: a concentração de proteína do tecido foi determinada pelo método espectrofotométrico de Bradford, a 595nm, utilizando curva padrão de albumina (1mg/mL) (BRADFORD, 1976). Lipoperoxidação (TBARS): 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 em 535 nm (ZANCHI et al., 2008). Atividade enzimática: a atividade da Superóxido Dismutase (SOD) foi avaliada pelo método Marklund&Marklund (1974), a 420 nm. A atividade da Catalase (CAT) foi determinada através da decomposição do peróxido de hidrogênio, em 240nm de absorvância. Os resultados foram expressos em pmol/mg de proteínas (AEBI, 1984). Estatística: foi utilizado o programa GraphPad 3.0. Os resultados foram expressos como médias ±DP e analisados por ANOVA de uma via, com teste post-hoc de TUKEY, considerando nível de significância estatística o limite de 5% (P<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo TG apresentou maiores concentrações de MDA (malondialdeído) no encéfalo em comparação aos grupos C e T (Figura 1A). Além disso, o grupo TG apresentou diminuição na atividade da enzima CAT em comparação com o grupo T (Figura 1B). Por outro lado, o grupo TG aumentou a atividade da enzima SOD em comparação com o grupo T (Figura 1C). Logo, a associação TG aumentou a relação SOD/CAT quando comparado aos animais T e C (Figura 1D), demonstrando que em animais treinados em intensidade moderada a suplementação com glutamina exerce efeito no equilíbrio redox do encéfalo.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

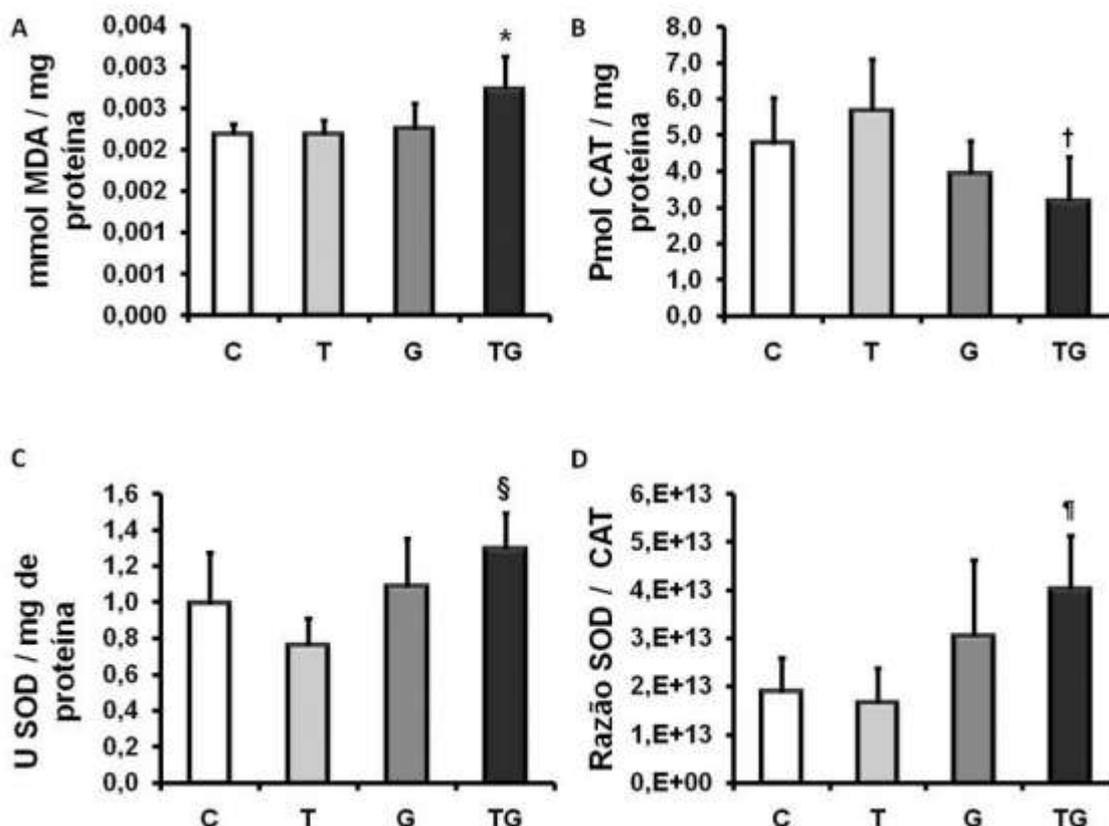


Figura 1. Avaliação de parâmetros relacionados ao estresse oxidativo tecidual do encéfalo em camundongos após seis semanas de tratamento de suplementação com l-glutamina e treinamento aeróbio moderado. Os valores foram expressos em média + DP. C, sedentário (n=7), T, treinado (n=8), G, sedentário suplementado com l-glutamina (n=7), TG, treinado suplementado com l-glutamina (n=6). Análise estatística por Anova de uma via, seguida do teste post hoc de Tukey. (A) Concentrações de MDA (*p<0,05 vs. C e T); (B) atividade enzimática da CAT († p<0,05 vs. T); (C) atividade enzimática SOD (§ p<0,05 vs. T); (D) razão SOD/CAT (¶ p<0,05 vs. C e T).

Esse desbalanço entre a atividade das enzimas SOD/CAT sugere que o produto da reação da SOD, o peróxido de hidrogênio, pode não estar sendo degradado pela ação da CAT adequadamente. Assim, pode ocorrer acúmulo do peróxido de hidrogênio, que por sua vez, pode levar a formação de radicais hidroxila (OH⁻) via reações de Fenton. Essas espécies ativas de oxigênio além de serem danosas às membranas podem ocasionar danos ao DNA, proteínas e a lipídios, sendo que este último participa da estrutura neuronal encefálica (RIEGEL, 2004).

Ou seja, a interação dos tratamentos (treinamento moderado com suplementação de glutamina) provocou maior lipoperoxidação no encéfalo, um indicativo de dano oxidativo encefálico aumentado. Isso pode ser decorrente do excesso de glutamina disponível, favorecendo a formação de amônia que tem potencial citotóxico ao sistema nervoso central (Norman, 2014).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: XXIII Seminário de Iniciação Científica

CONCLUSÃO

No treinamento aeróbico moderado associado à suplementação com glutamina em animais ocorreu aumento de indicadores de estresse oxidativo, no encéfalo. Estes resultados sugerem que a glutamina suplementada sem necessidade esteja sendo desviada de suas funções para outras vias.

PALAVRAS-CHAVE: Exercício Aeróbico Moderado; Dano Oxidativo; Glutamina.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFIA

- AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, v.105, p.121. 1984.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, v.72, p.248-54., 1976.
- BUEGE, J.A., AUST, S.D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.*, v.52, p.302-309. 1978.
- CASTELL, L M; NEWSHOLME, E a. Glutamine and the effects of exhaustive exercise upon the immune response. *Canadian journal of physiology and pharmacology*, v. 76, n. 5, p. 524–532, 1998.
- MATTSON, M P. Cellular actions of beta-amyloid precursor protein and its soluble and fibrillogenic derivatives. *Physiological Reviews*, v. 77, n. 4, p. 1081–1132, 1 out. 1997. Disponível em: <<http://physrev.physiology.org/content/77/4/1081.abstract>>.
- MOREIRA, A et al. Nutritional modulation of exercise-induced immunodepression in athletes: a systematic review and meta-analysis. *European journal of clinical nutrition*, v. 61, n. 4, p. 443–460, 2007.
- ROWBOTTOM, D G; KEAST, D; MORTON, A R. The emerging role of glutamine as an indicator of exercise stress and overtraining. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*, v. 21, n. 2, p. 80–97, fev. 1996. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8775515>>. Acesso em: 2 jul. 2015.
- SANTOS, R. V T; CAPERUTO, Érico ́ C; COSTA ROSA, L. F B P. Effects of acute exhaustive physical exercise upon glutamine metabolism of lymphocytes from trained rats. *Life Sciences*, v. 80, n. 6, p. 573–578, 2007.
- WRAY, Curtis J.; MAMMEN, Joshua M V; HASSELGREN, Per Olof. Catabolic response to stress and potential benefits of nutrition support. *Nutrition*, v. 18, n. 11-12, p. 971–977, 2002.
- ZANCHI, A.C. et al. Chronic Nasal Instillation of Residual-Oil Fly Ash (ROFA) Induces Brain Lipid Peroxidation and Behavioral Changes in Rats. *Inhalation Toxicology*, 20:795–800, 2008.