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

EXERCÍCIO AERÓBIO MODERADO EXPOSTOS AO ROFA AUMENTA A ATIVIDADE DA ENZIMA CATALASE MUSCULAR EM CAMUNDONGOS[1]

Lucas Machado Sulzbacher[2], Analú Bender Dos Santos[3], Maicon Machado Sulzbacher[4], Yohanna Hannah Donato[5], Mirna Stela Ludwig[6], Thiago Gomes Heck[7].

[1] Trabalho de pesquisa realizado pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF/Unijuí).
[2] Acadêmico de enfermagem da UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF.
[3] Mestranda Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUÍ/UNICRUZ, Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GpeF.
[4] Acadêmico de enfermagem da UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF, . Bolsista de iniciação científica CNpQ-UNIJUI
[5] Acadêmica de enfermagem da UNIJUÍ, Bolsista de iniciação científica PIBIC-UNIJUÍ, Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF
[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)
[7] 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)

O prejuízo na qualidade do ar pelo excesso de poluentes afeta grande parte da população mundial e se constitui um problema de saúde pública, principalmente em regiões metropolitanas. A poluição atmosférica é extremamente prejudicial à saúde humana e é resultado, especialmente, da queima de combustíveis de veículos automotores em circulação e de fábricas que utilizam a queima de combustíveis fósseis, responsáveis pela emissão de material particulado em larga escala (“Emissão Veicular - Cetesb”, [s.d.]).

O Residual Oil Fly-Ash (ROFA) é considerado um tipo de material particulado, proveniente da queima de combustíveis fósseis ricos em metais pesados, portanto mimetiza as emissões de veículos automotores (GHIO et al., 2002). A exposição à poluição e os modelos experimentais que utilizam ROFA têm demonstrado que a inalação dessas partículas causa aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) causando estresse oxidativo (EO) (RHODEN et al., 2004).

Para prevenir os danos oxidativos a lipídios, a proteínas e ao DNA, relacionados ao EO organismos vivos possuem um sistema de defesa antioxidante endógeno do qual fazem parte enzimas antioxidantes como a enzima catalase (CAT) e a superóxido dismutase (SOD)(POWERS; JI; LEEUWENBURGH, 1999).

A exposição a partículas com diâmetro igual ou inferior a 2,5 μm, como o ROFA, está relacionada ao aparecimento de doenças respiratórias e aos efeitos negativos no desempenho do exercício físico. Por outro lado, o exercício físico regular ajuda a melhorar a saúde do sistema respiratório, reduzindo assim os riscos induzidos pela poluição (ZHAN, 2014).

Sabemos que o músculo esquelético em atividade gera constantemente ERO. Durante o exercício físico o consumo de oxigênio pela musculatura esquelética exercitada pode ser aumentado em aproximadamente 100 vezes. Acredita-se que a geração de ERO deve ser proporcional a esse aumento (MACEDO; ALVES, 2006).

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

Um estudo, realizado em Hong Kong, avaliou o efeito do exercício regular associado com a exposição aguda à poluição relatou que o exercício realizado de forma regular pode prevenir contra dos efeitos da poluição do ar (WONG et al., 2007).

Considerando que a exposição à poluição é capaz de aumentar os níveis de ERO e que o exercício realizado de forma regular pode promover benefícios, o objetivo deste estudo é avaliar se o exercício aeróbio moderado previne alterações no estado redox do músculo gastrocnêmio de animais expostos cronicamente ao ROFA.

METODOLOGIA

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UNIJUÍ (Nº0.11/2013).

Animais: foram utilizados 30 camundongos fêmeas B6129SF2/J com três meses de idade. Os animais foram mantidos durante todo o período experimental no Biotério da UNIJUÍ em caixas semimetabólicas, com temperatura ambiente controlada (22±2ºC), umidade relativa de 50-60% e ciclo claro-escuro de 12 horas. Todos os animais receberam água a vontade (ad libitum).

Delineamento experimental: os animais foram inicialmente divididos em dois grupos: Controle (C) e ROFA (R). Durante 12 semanas estes animais receberam ração padrão para animais de laboratório (Nuvilab® CR-1) No mesmo período, os animais receberam diariamente instilação intranasal de 10 µL de solução fisiológica (C) ou 10 µL de ROFA (20 µg/10µL) (R). O ROFA foi obtido através de partículas retiradas de um precipitador eletrostático instalado em uma das chaminés de uma fábrica de aço de grandes dimensões localizado na cidade de São Paulo. Sua constituição é Fe 1058,9 + 2,37 µg g-1; Rb 719,7 + 1,0 µg g-1; Zn 491,9+ 3,1 µg g-1; As 154,4 + 0,8 µg g-1; Cr 107,7 + 1,4 µg g-1; V 35 + 4 µg g-1; Ce 16,3 + 0,3 µg g-1; La 10,3 + 0,1 µg g-1; Co9,9 +0,25 µg g-1; Mn 3,8 + 24 µg g-1; Sb 2,2 + 0,9 µg g-1; Br 1,5 + 19 µg g-1 (média + desvio padrão), sendo que as partículas apresentam diâmetro aerodinâmico médio de 1,2 + 2,24 µm. O poluente foi administrado por meio de instilação intranasal com utilização de micropipeta automática, utilizando-se do reflexo de apneia (GOETTEMS-FIORIN et al., 2016)

Na 13ª semana, os grupos C eR foram subdivididos, formando quatro grupos: Controle (C), Treinado (T), ROFA (R), Treinado-ROFA (TR). Os animais pertencentes aos grupos T e TR foram adaptados ao meio líquido em sessões com a duração de 10 minutos, sem adição de carga, por três dias, em água a 30ºC, numa profundidade de 20 cm. Nas seis semanas subsequentes eles realizaram treinamento de intensidade moderada, iniciando na 1ª semana com 4% de carga e 20 min de treinamento. Na 2ª semana foi acrescido 1% de carga e manteve-se o tempo. Nas quatro semanas subsequentes a duração do exercício foi aumentada em 10 minutos a cada semana, alcançando 60 minutos na sexta semana e mantendo a carga de 5%. Os animais não treinados (C, R) foram submetidos ao mesmo manuseio, permanecendo no tanque com água a 30ºC na profundidade de 2cm. Durante essas seis semanas a instilação de ROFA foi mantida, totalizando 19 semanas com esta intervenção e apenas seis de exercício moderado.

Ao fim das 19 semanas, os animais foram mortos por decapitação e o tecido muscular (gastrocnêmio) coletado. O tecido foi rapidamente congelado com auxílio de freeze-clamp (em nitrogênio líquido) e mantido em freezer a -20ºC. Posteriormente, foi homogeneizado em tampão fosfato de potássio (KPi, pH 7,4) contendo inibidor de protease (PMSF) para realização das análises bioquímicas.

Análises bioquímicas: a lipoperoxidação foi avaliada conforme o método de TBARS, a 535 nm (BUEGE; AUST, 1978). As enzimas antioxidantes também foram avaliadas sendo a atividade da

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

superóxido dismutase (SOD) determinada a partir da inibição da autoxidação do pirogalol a 420nm e a atividade da catalase (CAT) a partir da decomposição de peróxido de hidrogênio (H2O2) a 240 nm. Foi realizada a dosagem de proteína para padronização das amostras conforme o método espectrofotométrico de Bradford (1976) com leitura a 595 nm.

Análise estatística: foi realizada por ANOVA de uma via, seguido pelo teste post-hoc de Tukey. Para nível de significância estatística foi considerado P<0,05.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nossos resultados mostram que nem a exposição ao ROFA, nem o exercício físico realizado separadamente foram capazes de promover alterações nas variáveis de estresse oxidativo estudadas (Figura 1). De acordo com Grande (2012) e Hagen et al. (2000) o treinamento físico em intensidade moderada não causa danos no sistema antioxidante muscular. Outro estudo nos mostra que o exercício físico quando praticado de forma regular induz um aumento crônico da atividade do sistema de defesa antioxidante, protegendo o músculo esquelético do ataque das ERO (FERREIRA; FERREIRA; FERREIRA, 2007)

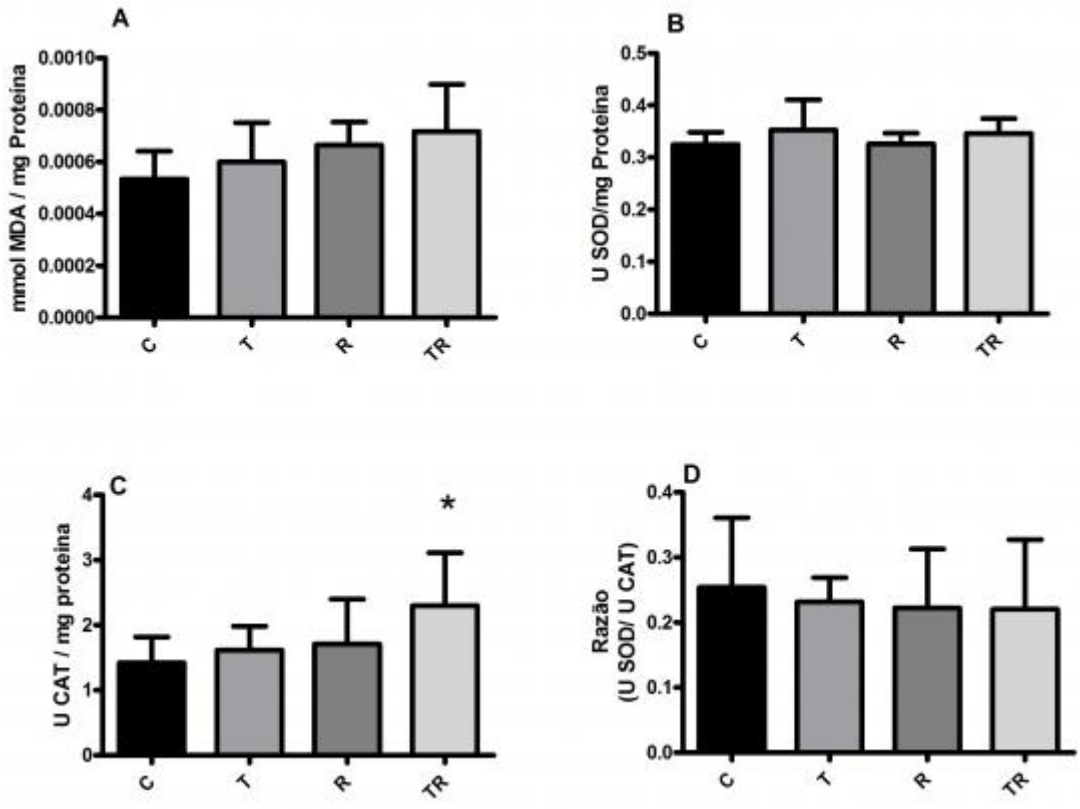

Figura 1. Avaliação de variáveis de estresse oxidativo no músculo gastrocnêmio de camundongos B6129SF2/J fêmeos após 19 semanas de instilação com ROFA e 6 semanas de treinamento aeróbio moderado: Controle (C), Treinado (T), ROFA (R), Treinado-ROFA (TR).Lipoperoxidação (A),atividade enzimática das enzimas Superóxido dismutase (B), e catalase (C) e razão entre SOD/CAT (D). Dados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de uma via seguido de teste post-hoc de Tukey. *P<0,05 vs. Grupo C

Por outro lado, quando fazemos a associação da poluição com o treinamento físico de intensidade moderada, temos elevação da atividade da enzima CAT, o que indica uma exigência maior do sistema de defesa antioxidante desses animais (Figura 1-C). A enzima CAT é responsável por impedir o acúmulo de peróxido de hidrogênio (H2O2), uma espécie altamente reativa capaz de causar danos às estruturas celulares devido à geração de radical hidroxila, por meio de reações de Fenton e Haber-Weiss (BARBOSA et al., 2010).

A SOD, através de dismutação do radical superóxido, leva à formação de H2O2 (BARBOSA et al., 2010), portanto um desequilibro entre SOD e CAT poderia levar a um acúmulo dessa espécie reativa no organismo. Em nosso estudo não encontramos diferença na razão entre as duas enzimas (Razão USOD/UCAT) (Figura 1-D).

O treinamento pode aumentar tanto a capacidade de resistência aeróbia quanto as defesas antioxidantes, limitando assim o dano tecidual causado por ERO (SCHNEIDER, 2004). Neste trabalho o treinamento físico moderado, realizado de forma crônica, em animais expostos à poluição, ao promover um aumento da enzima CAT, demonstra-se exigir mais da defesa antioxidante enzimática muscular para manter o equilíbrio redox, que pode ser alterado pela poluição atmosférica. Segundo Powers, Ji e Leeuwenburgh (1999). É possível que o exercício físico, em longo prazo, melhore o sistema de defesa contra a ação das ERO quando exigido, como no caso da inalação de poluentes.

CONCLUSÃO

Através desse estudo, podemos observar que o treinamento físico de intensidade moderada realizado de forma crônica por animais expostos à poluição leva a uma exigência maior do sistema de defesa antioxidante enzimático muscular.

Palavras – Chave: Estresse oxidativo, Poluição, Treinamento.

ReferênciasBibliográficas

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical biochemistry, v. 72, p. 248–54, maio 1976.

Emissão Veicular - Cetesb. Disponível em: <http://veicular.cetesb.sp.gov.br/>. Acesso em: 21 ago. 2015.

FERREIRA, R.; FERREIRA, F.; FERREIRA, R. Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético : Influência do exercício agudo inabitual e do treino físico Stress oxidativo e dano oxidativo muscular esquelético : influência do exercício agudo inabitual e do treino físico. n. June 2016, 2007.

GHIO, A. J. et al. Biologic effects of oil fly ash. Environmental Health Perspectives, v. 110, n. SUPPL. 1, p. 89–94, 2002.

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.

MACEDO, D. V. DE; ALVES, A. A. MUSCULATURA ESQUELÉTICA DURANTE O. Universidade Estadual De Campinas-unicamp, n. 02, 2006.

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

POWERS, S. K.; JI, L. I. L. I.; LEEUWENBURGH, C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. Medicine & Science in Sports & Exercise, v. 31, n. 7, 1999.

RHODEN, C. R. et al. N-acetylcysteine prevents lung inflammation after short-term inhalation exposure to concentrated ambient particles. Toxicological Sciences, v. 79, n. 2, p. 296–303, 2004.

WONG CM, OU CQ, THACH TQ, CHAU YK, CHAN KP, H. S.; AL., E. Does regular exercise protect against air pollution-associated mortality? 2007.

ZHAN, S. L. K. X. J. Environment of high temperature or air particle matter pollution, and health promotion of exercise. 2014.