

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

**EFEITOS DA ASSOCIAÇÃO DE TREINAMENTO FÍSICO E TERAPIA
TÉRMICA NAS CONCENTRAÇÕES DE HSP70 E NO CONTROLE
GLICÊMICO DE ANIMAIS DIABÉTICOS¹
EFFECTS OF HEAT SHOCK AND PHYSICAL TRAINING ASSOCIATION IN
CONCENTRATIONS OF HSP70 AND IN THE GLYCEMIC CONTROL OF
DIABETIC ANIMALS**

**Wellington Felipe Althaus², Luana Weizenmann³, João Schimidt Corso⁴,
Denise Eliane Spengler⁵, Rafael Pereira⁶, Thiago Gomes Heck⁷**

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

² Acadêmico do curso de Farmácia - UNIJUI, Bolsista PIBIC/CNPq, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

³ Acadêmica do curso de Fisioterapia - UNIJUI, Bolsista PROBIC/FAPERGS, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GpeF.

⁴ Acadêmico do curso de Educação Física - UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁵ Bacharel em Biologia - UNIJUI, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

⁶ Mestrando Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral a Saúde (PPGAIS) UNIJUI/UNICRUZ, Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GpeF.

⁷ Orientador. 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), Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF.

INTRODUÇÃO

Com a vida urbanizada é comum o consumo de alimentos industrializados, com dietas cada vez mais ricas em gorduras. A combinação disso com o sedentarismo, acaba predispondo o organismo para o desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como o diabetes mellitus tipo 2 (ABESO, 2016). Desta forma, dietas hiperlipídicas com alto teor de gordura proveniente de banha de porco são utilizadas para o desenvolvimento da diabetes mellitus tipo 2 em ratos (GOETTEM-S-FIORIN, 2016).

As proteínas de choque térmico possuem função chaperona, ou seja, auxiliam no dobramento correto de proteínas. Elas são sintetizadas em situações que promovem desafios celulares (estresse celular), como o exercício físico e altas temperaturas (CASTRO, 2013). Estas proteínas foram descobertas acidentalmente em 1962 (DE MAIO et al., 2012). Dentre este grupo de proteínas se destacam as proteínas de choque térmico de 70 kDa (HSP70), do inglês *Heat Shock Proteins* 70 kDa.

Estudos mostram que a HSP70, quando localizada intracelularmente (iHSP70), desempenha um papel anti-inflamatório, auxiliando no controle da obesidade e resistência à insulina, mostrando

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijuí

que a falta desta está relacionada a uma piora na sensibilidade à insulina (CHUNG et al., 2008).

O objetivo deste trabalho é avaliar os efeitos da associação de treinamento físico e terapia térmica nas concentrações de HSP70 e no controle glicêmico de animais diabéticos.

METODOLOGIA

Animais: Foram utilizados 15 Ratos Machos da linhagem Wistar entre oito e nove semanas, provenientes do Biotério da Unijuí. Projeto aprovado no CEUA-UNIJUI Protocolo N^o. 001/2015 de 23/12/2015.

Delineamento experimental: Os animais foram inicialmente divididos em 2 grupos: animais que receberam dieta padrão (C, n = 6) e animais que receberam dieta hiperlipídica (DHL, n = 9) por 12 semanas. Na 13^o semana, os animais do grupo DHL foram subdivididos em 2 grupos: Animais que continuaram recebendo Dieta Hiperlipídica (D, n = 3) e animais que receberam Dieta Hiperlipídica mas realizaram tratamento 3 vezes por semana por 8 semanas, alternando entre a realização de exercício e a terapia térmica, constituindo o grupo Dieta+Exercício+Choque Térmico (DEHS, n = 6). Foi realizado o teste de tolerância à glicose (GTT) antes do estudo, na 10^o semana (após DHL) e na 20^o semana (após tratamentos). Totalizando 20 semanas de estudo. Ao final, os animais foram eutanasiados e a expressão de HSP70 foi avaliada no músculo gastrocnêmio dos animais.

Dietas: O grupo controle recebeu ração padrão (Nuvilab CR-1) que consiste em 11,4% de gordura. A dieta hiperlipídica dos grupos D, DEHS foi preparada utilizando ração padrão (Nuvilab CR-1) moída, adicionando gordura de porco, AminomixTM (vitaminas e aminoácidos), albumina e farinha de osso e ostra (minerais), constituindo em 58,3% de gordura.

Treinamento: O treinamento do grupo DEHS foi realizado a partir da 12^o semana, durante 8 semanas, 1 a 2 vezes por semana (alternando com a terapia térmica), 20 minutos por dia. Para isso foi utilizada uma esteira rolante com uma inclinação de 7^o e velocidade de 15m/min, correspondendo a uma intensidade moderada.

Terapia térmica: Os animais do grupo DEHS foram submetidos à terapia de choque térmico a partir da 12^o semana, 1 a 2 vezes por semana (alternando com o exercício físico), durante 20 minutos, por 8 semanas. Foram colocados em um recipiente de polipropileno com orifícios para a inundação do recipiente e a oxigenação dos animais. O recipiente foi imerso em banho-maria com água a 41°C, mantendo a maior parte do corpo submerso (exceto cabeça).

HSP70: As amostras de músculos gastrocnêmios foram homogeneizadas em tampão SDS 0,1% para mensurar expressão de HSP70, por Western blot. Após incubação da membrana em solução ECL, as imagens referentes à expressão de HSP70 e actina foram quantificadas com o uso do ImageJ, sendo os resultados expressos em unidades arbitrárias de HSP70/ β -actina.

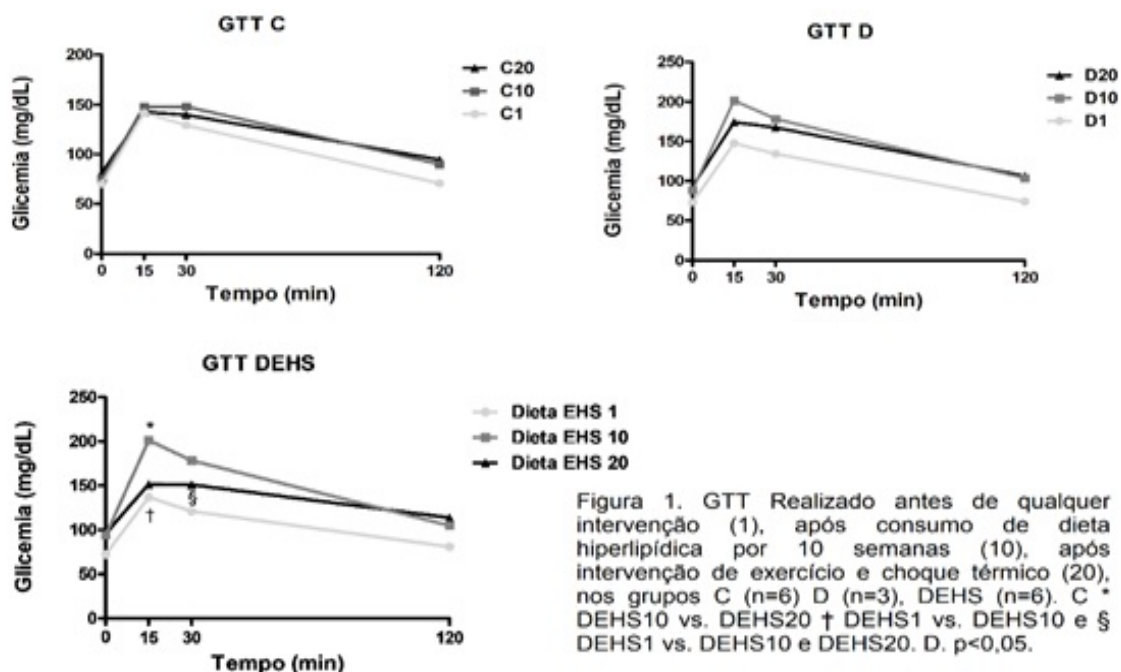
01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

Análise Estatística: Os dados foram analisados no programa GraphPad Prism 6 e expressos em média e desvio-padrão. Para as análises do GTT e da HSP70 foram utilizados a análise de variância (ANOVA) de uma via seguido de pós teste de Tukey. Foi considerado o nível de diferença estatístico de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 estão demonstrados os dados dos GTTs de cada grupo nos diferentes momentos: Antes de qualquer intervenção (1), após 10 semanas de dietas (10) e após o tratamento (20). O grupo C não apresentou alterações no GTT. Já o grupo D apresentou intolerância à glicose da 10^a até a 20^a semana. O grupo DEHS que desenvolveu intolerância à glicose observada na 10^a semana, teve a resposta ao GTT similar a animais que receberam dieta convencional na 20^o semana de estudo, ou seja, após 8 semanas de tratamento com terapia térmica e exercício físico.



Quanto à glicemia de jejum dos animais (Figura 2), todos os grupos apresentaram aumento na glicemia nas semanas 10 e 20 em relação à 1^a semana do estudo, independente da exposição à DHL ou do tratamento com DEHS.

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

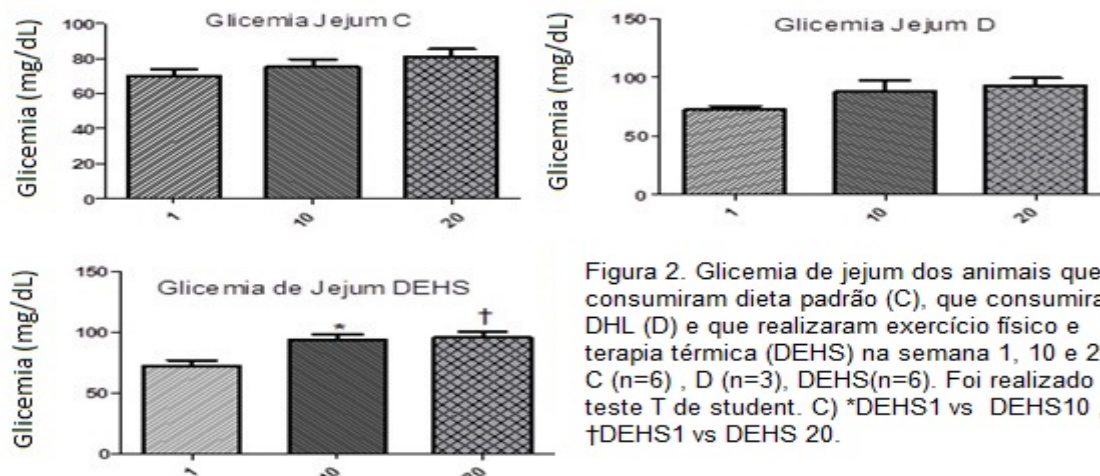


Figura 2. Glicemia de jejum dos animais que consumiram dieta padrão (C), que consumiram DHL (D) e que realizaram exercício físico e terapia térmica (DEHS) na semana 1, 10 e 20, C (n=6), D (n=3), DEHS(n=6). Foi realizado teste T de student. C) *DEHS1 vs DEHS10, †DEHS1 vs DEHS 20.

Os animais que receberam dieta hiperlipídica apresentaram maiores níveis de HSP70 muscular do que animais que receberam dieta padrão (Figura 3). Nos animais treinados e que foram expostos à terapia choque térmico, a expressão de HSP70 no músculo gastrocnêmio foi reduzida (Figura 3).

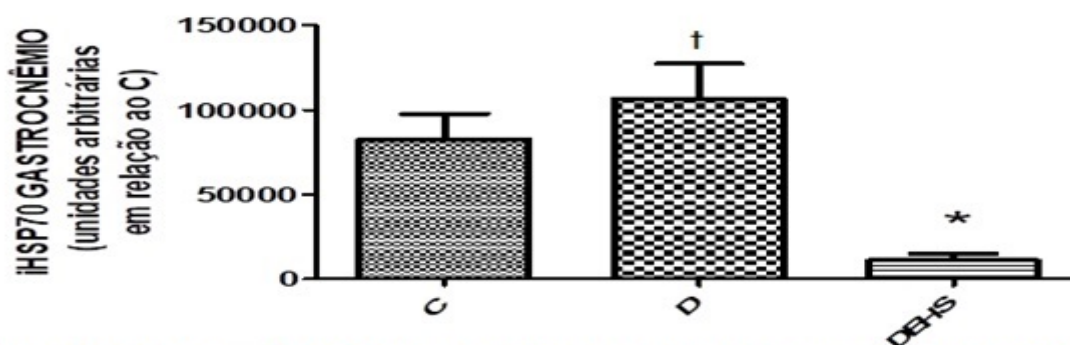


Figura 3. Valores de iHSP70 do gastrocnêmio. Grupos experimentais: Controle (C), Dieta (D) e Dieta+ Exercício+ Terapia de Choque Térmico (DEHS) Resultados expressos como média \pm DP. N (6-9). ANOVA, seguido pelo Teste de Tukey. * C vs DEHS, † D vs DEHS. Resultado expresso como média \pm DP. ANOVA, seguido pelo Teste de Tukey.

Estes resultados indicam primeiramente que os animais expostos à uma dieta hiperlipídica, tem como resposta ao estresse metabólico, um aumento na expressão de HSP70 muscular. No entanto, esta resposta é insuficiente para manter a homeostase glicêmica. Já o grupo que realizou exercício e terapia térmica obteve benefícios na homeostase glicêmica, e a concentração de HSP70 diminuída no músculo pode ser um indicador de menor estresse metabólico nesses animais.

Esse fenômeno da diminuição de expressão de HSP70 após períodos prolongados de exposição à

01 a 04 de outubro de 2018

Evento: Bolsistas de Iniciação Científica e Iniciação Tecnológica da Unijui

fatores indutores de expressão dessas proteínas como o calor ou exercício, é conhecido como termotolerância. Nesta situação, um organismo adaptado a condições de desafio (como calor e exercício) podem não ter níveis elevados de HSP70, mas expressa-las rapidamente diante de novos desafios, o que representa um estado de citoproteção (ASEA, PEDERSEN, 2010.)

CONCLUSÃO

A associação entre o exercício físico e terapia térmica pode ser uma estratégia terapêutica eficiente na melhora a tolerância à glicose

Palavras Chave: Exercício, Choque Térmico, HSP70, Diabetes

Keywords: *Exercise, Heat Shock, HSP70, Diabetes.*

REFERÊNCIAS

CASTRO, S. V. *et al.* Proteínas de choque térmico hsp 70: Estrutura e atuação em resposta ao estresse celular. *Acta Veterinaria Brasilica*, 2013. v. 7, n. 4. 261-271.

CHUNG, Jason *et al.* HSP72 protects against obesity-induced insulin resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, [s. l.], v. 105, n. 5, p. 1739-1744, 2008.

DE MAIO, Antonio *et al.* Ferruccio Ritossa's scientific legacy 50 years after his discovery of the heat shock response: a new view of biology, a new society, and a new journal. *Cell stress & chaperones*, [s. l.], v. 17, n. 2, p. 139-43, 2012.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE/ABESO. *Diretrizes brasileiras de obesidade 2016/ABESO*. 4.ed. - São Paulo, SP., [s. l.], v. 4, p. 1-188, 2016.

GOETTEMES-FIORIN, Pauline Brendler *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*, [s. l.], v. 72, n. 4, p. 643-656, 2016.

ASEA, Alexzander A. A.; PEDERSEN, Bente K. *Heat Shock Proteins and the Whole Body Physiology*. Editora Springer. 2010. 5e. p. 1-429.