

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** XXVI Seminário de Iniciação Científica - Participante ESTRANGEIRO

**TREINAMENTO FÍSICO MINIMIZA OS EFEITOS DA OBESIDADE SOBRE NEUTRÓFILOS E LINFÓCITOS EM MODELO EXPERIMENTAL DE DIETA HIPERLIPÍDICA<sup>1</sup>**

**PHYSICAL TRAINING MINIMIZES EFFECTS OF OBESITY ON NEUTROPHILS AND LYMPHOCYTES IN EXPERIMENTAL MODEL OF HYPERLIPIDIC DIET**

**Renan Daniel Bueno Basso<sup>2</sup>, Luana Weizenmann<sup>3</sup>, João Schmidt Corso<sup>4</sup>, Marlon Turcato<sup>5</sup>, Rafael Pereira<sup>6</sup>, Thiago Gomes Heck<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Trabalho de pesquisa realizado pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF/Unijui)

<sup>2</sup> Profissional de Educação Física - Integrante do Grupo de Pesquisa em Fisiologia GPeF - Residente do Programa de Residência Multiprofissional em Saúde da Família UNIJUI/FUMSSAR, renandbb@hotmail.com

<sup>3</sup> Acadêmica do Curso de Fisioterapia UNIJUI - Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI

<sup>4</sup> Acadêmico do Curso de Educação Física - Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI

<sup>5</sup> Nutricionista - Grupo de Pesquisa em Fisiologia - GPeF, Departamento de Ciências da Vida (DCVida), Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul - UNIJUI

<sup>6</sup> Biomédico - Mestrando do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS/UNICRUZ/UNIJUI)

<sup>7</sup> Docente do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS/UNICRUZ/UNIJUI)

Atualmente a obesidade é considerada um problema de saúde pública. O Brasil, em 2016, chegou a ter 18 milhões de obesos e 70 milhões de indivíduos com sobrepeso, o que em conjunto equivale a aproximadamente 42% da população brasileira. A obesidade está relacionado a diversas alterações metabólicas, que podem levar uma série de doenças crônicas não transmissíveis como doenças cardiovasculares, câncer e diabetes. Essas disfunções podem levar a outros problemas sistêmicos, diminuindo significativamente a qualidade de vida dessa parcela da população (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE OBESIDADE, 2016).

Dessa forma, estratégias para prevenir, frear ou reverter esse quadro, sem a necessidade medicamentosa, são mais indicadas para combater a obesidade. Assim, o exercício se torna uma opção viável para o tratamento e prevenção, por ter a capacidade de diminuir o volume do tecido adiposo, metabolizar nutrientes que estejam em excesso na circulação e evitar doenças crônicas não transmissíveis causadas pela obesidade, como o Diabetes Mellitus tipo II e Hipertensão. O exercício ainda otimiza a produção energética e diminui o quadro de inflamação crônica de baixo

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** XXVI Seminário de Iniciação Científica - Participante ESTRANGEIRO

grau geralmente presente no indivíduo obeso, auxiliando assim no controle da resistência insulínica e diabetes (FARIAS, 2014 ; MONTEIRO, MARIA DE FATIMA; FILHO, 2004).

A análise sanguínea do sistema hematológico é conhecida atualmente pelo exame de hemograma. A introdução do hemograma na prática médica ocorreu em 1925 por meio de critérios estabelecidos pelo médico e farmacêutico alemão V. Schilling. O hemograma é composto por três determinações básicas que incluem as avaliações dos eritrócitos (ou série vermelha), dos leucócitos (ou série branca) e das plaquetas (ou série plaquetária) (NAOUM, 2008). Esses parâmetros, permitem que se observe alterações metabólicas, inflamatórias e imunológicas, possivelmente geradas por alterações nos hábitos de vida, como dieta ou exercício físico (GROTTO, 2009). Dessa forma, o objetivo desse trabalho foi analisar as alterações geradas pelo treinamento físico no hemograma de ratos obesos.

#### Metodologia

Para esse trabalho foram utilizado 15 ratos da linhagem Wistar com 8 a 9 semanas de vida, proveniente do biotério da UNIJUI (Protocolo aprovado no CEUA 023/2017). Inicialmente os animais foram divididos em 2 grupos: grupo controle que recebeu dieta padrão de laboratório, (C, n = 6) e grupo dieta hiperlipídica (DHL) (grupo D n = 9). Após 10 semanas, todos animais foram adaptados a exercício em esteira rolante, e o grupo D foi subdividido em D (n = 3), que foram mantidos sedentários e consumindo DHL, e o grupo que seguiu consumindo DHL e realizou exercício (grupo DE, n = 6) por 8 semanas. A adaptação na esteira ocorreu por 5 dias consecutivos, com duração de 10 minutos cada, na velocidade de 8m/min, sem inclinação. O propósito da adaptação foi reduzir o estresse do animal sem, entretanto, promover adaptações fisiológicas decorrentes do treinamento físico.

O grupo C recebeu ração padrão (Nuvilab CR-1), com 11,4% de suas calorias provenientes de gorduras, 62,8% de carboidratos e 25,8% de proteínas. A DHL dos grupos D e DE foi preparada utilizando ração padrão (Nuvilab CR-1) moída, adicionando gordura suína, Aminomix™ (vitaminas e aminoácidos), albumina e farinha de osso e ostra (minerais), tendo por fim suas calorias provenientes 58,3% de gorduras, 24,5% de carboidratos e 17,2% como proteínas.

O treinamento do grupo DE foi realizado a partir da 12ª semana, durante 8 semanas, 5x/semana, 20 minutos por dia. Para isso foi utilizada uma esteira rolante com uma inclinação de 7º e velocidade de 15m/min. A intensidade foi determinada em relação ao teste de esforço máximo. Foi registrado a velocidade máxima atingida no teste e calculado 60 - 70% dessa velocidade, correspondendo a uma intensidade moderada. Após o fim do treinamento, os animais foram eutanasiados para coleta sanguínea.

O sangue foi acondicionado em tubo com anticoagulante (EDTA) para determinação dos parâmetros hematológicos (5µl de EDTA diluído em 45 µl de solução fisiológica a 0,9%, para 25µl de sangue, conferindo diluição 1:3). Para a determinação automatizada foi utilizado o analisador hematológico Micros 60 (Horiba), seguindo as recomendações do fabricante. Através desse

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** XXVI Seminário de Iniciação Científica - Participante ESTRANGEIRO

equipamento foi possível obter os seguintes parâmetros: contagem total de hemácias (RBC), hematócrito, hemoglobina, índices hematimétricos (VCM, HCM e CHCM), amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW), contagem total de leucócitos (WBC), contagem relativa e absoluta de leucócitos (neutrófilos, linfócitos e monócitos) além da contagem de plaquetas (Horiba - Manual do usuário). As amostras diluídas foram processadas em triplicata. Após, foram realizadas distensões hematológicas em lâmina, corados com coloração panótica (Newprov) e analisadas por profissional com experiência na área. Para cada lâmina uma contagem de 100 leucócitos. A análise entre os dados dos grupos C, D e DE foi realizada por ANOVA de uma via seguida pelo teste post hoc de Tukey, considerando nível de significância de 5%.

## Resultados

Os dados hematológicos (Tabela 1) obtidos após 8 semanas evidenciam aumento de WBC nos grupos D (55,5%), DE (19,4%), com aumento dos neutrófilos nos grupos D (106,7%), DE (83,5%), e aumento dos linfócitos nos grupos D (49,2%), DE (13,7%). Também foram observados aumento do RBC nos grupos D (9,71%), DE (18,63%). Aumento de hemoglobina nos grupos D (9,77%), DE (17,29%). Aumento do hematócrito nos grupos DE (13,34%). Por outro lado, observou-se diminuição de VCM apenas no grupo D (2,89%). Aumento de plaquetas nos grupos DE (20,35%). Aumento do RDW nos grupos D (10,08%). As demais variáveis hematológicas (monócitos, HCM e CHCM) não apresentaram alterações em relação ao grupo controle.

Tabela 1. Dados hematológicos de animais tratados com dieta hiperlipídica submetidos ao treinamento físico.

Parâmetros	C	D	DE
WBC (mm <sup>3</sup> )	3600±346	<b>5600±1104*</b>	<b>4300±538**</b>
Neutrófilo	309±24,2	<b>640±155,7*</b>	<b>568±93,9**</b>
Monócito	204±33,8	355±26,3	221±29,2
Linfócito	3087±338,8	<b>4605±898,3*</b>	<b>3511±547,5**</b>
RBC (10 <sup>6</sup> /mm <sup>3</sup> )	7,62±0,24	<b>8,36±0,30*</b>	<b>9,04±0,48*</b>
HGB (g/dL)	13,3±0,74	<b>14,6±0,61*</b>	<b>15,6±1,81*</b>
HCT (%)	40,85±1,04	42,4±0,98	<b>46,3±3,01*</b>
PLT (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	668±69,71	744±121,41	<b>804±19,59*</b>
VCM (fm <sup>3</sup> )	51,83±0,68	<b>50,33±0,47*</b>	51,5±0,76
HCM (pg)	17,5±0,52	17,7±0,18	17,6±0,41
CHCM (g/dL)	34,01±0,98	34,66±0,26	34,21±0,74
RDW (%)	11,5±0,31	<b>12,66±0,28*</b>	12,18±0,65

Os dados hematológicos estão expressos em média ± erro padrão. Os resultados que se encontram em **negrito** são considerados estatisticamente significativos por apresentarem um valor de \*P<0,05 vs Controle. Análises das variáveis feitas por ANOVA de uma via seguido do teste post hoc de Tukey.

Discussão

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** XXVI Seminário de Iniciação Científica - Participante ESTRANGEIRO

Em nosso estudo, o consumo de DHL por 10 semanas causou, dentre várias alterações, aumento nos neutrófilos. Os neutrófilos são células abundantes na corrente sanguínea, responsáveis pela defesa primária do sistema imune contra patógenos. Uma condição que gera o aumento de neutrófilos ocorre quando se instala uma infecção causada por bactérias, por exemplo (HARTL *et al.*, 2008). Em um estudo com ratos, foi observado que após a administração via intraperitoneal de lipopolissacarídeo (LPS) de bactéria Gram negativa, elevou-se o número de neutrófilos (SILVA, 2010). Nesse estudo, foi utilizado o consumo de DHL por 18 semanas em ratos Wistar e só depois ocorreu a administração de LPS. A comparação de neutrófilos entre ratos com dieta padrão *versus* ratos DHL, corrobora com nosso trabalho, mostrando que houve um aumento na contagem desses leucócitos e reforçando que a obesidade gerada pelo consumo de dieta hiperlipídica gera um estado de inflamação de baixo grau que está evidenciado pelo aumento dos neutrófilos.

Os linfócitos dividem-se em linfócitos T, linfócitos B e linfócitos NK (Natural Killers), sendo a resposta imunitária celular humoral, inespecífica e específica suas principais funções (ABBAS; LICHTMAN; PODER, 2003). No estudo de Estrela (2015), ratos que foram submetidos à dieta de cafeteria apresentaram valores aumentados de linfócitos. O autor sugere que essa alteração ocorra pelo aumento de leptina secretada pelos adipócitos com consequente aumento de citocinas pró-inflamatórias por parte dos monócitos que contribui para uma maior proliferação de linfócitos T (ESTRELA, 2015). O exercício, com efeitos anti-inflamatórios minimizou o efeito da DHL sobre os neutrófilos e linfócitos, mas ainda insuficiente para retornar aos níveis normais.

#### Conclusão

O treinamento físico minimizou os efeitos da dieta hiperlipídica sobre os neutrófilos e linfócitos.

#### Referencias:

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PODER, J.S. Citocinas. **Imunologia celular e molecular**. 4 ed. Rio de Janeiro: Revinter. 2003

ESTRELA, D. da C. Obesidade e estresse crônico em fêmeas de ratos Wistar: avaliação comportamental, bioquímica e hematológica. Dissertação (**Mestrado**) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Goiânia, 2015.

FARIAS, J. M. De. Efeitos do exercício físico em parâmetros moleculares da via de sinalização da insulina e obesidade. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, 2014.

GROTTO, H. Z. W. O hemograma: importância para a interpretação da biópsia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, 2009. v. 31, n. 3, p. 178-182. Disponível em: .

01 a 04 de outubro de 2018

**Evento:** XXVI Seminário de Iniciação Científica - Participante ESTRANGEIRO

HARTL, D.; LEHMANN, N.; HOFFMANN, F.; JANSSON, A.; HECTOR, A.; NOTHEIS, G.; ROOS, D.; BELOHRADSKY, B.; WINTERGERST, U. Dysregulation of innate immune receptors on neutrophils in chronic granulomatous disease. **J. Allergy Clin Immunol**, St. Louis, v.121, n.2, p.375-382, 2008.

MONTEIRO, MARIA DE FATIMA; FILHO, D. C. S. Exercício físico e o controle da pressão arterial. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 2004. v. 10, n. 6, p. 513-519.

SILVA, K. M. F. Efeitos da obesidade sobre parâmetros imunológicos, hematológicos e bioquímicos em ratos endotóxicos. Dissertação (**mestrado**) - Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Nutrição, 2010.