

EFEITO DE DIFERENTES VOLUMES DE EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS GPX E SOD NAS FIBRAS MUSCULARES GLICOLÍTICAS DO GASTROCNÊMIO DE RATOS WISTAR

Matheus Fernandes Montenegro e Silva¹; Carla Andressa Andrade dos Santos²; Sávio Victor Diógenes Mendes³; Israel Barbosa de Albuquerque⁴; Adriano César Carneiro Loureiro⁵

¹Universidade Estadual do Ceará: matheus.montenegro@aluno.uece.br

²Universidade Estadual do Ceará: carlaandressaimoveis@hotmail.com

³Universidade Estadual do Ceará: victormendes3@hotmail.com

⁴Universidade Estadual do Ceará: israelbalbuquerque@gmail.com

⁵Universidade Estadual do Ceará: adrianoccloureiro@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Durante a metabolização do oxigênio (O₂) para produção de energia para as células, ocorre a formação de subprodutos, que são as espécies reativas de oxigênio (ERO). As ERO são moléculas com uma alta capacidade oxidativa e podem ser classificadas como radicalares e não radicalares. (POWERS et al, 2011). Uma vez que essas ERO são formadas a partir do metabolismo do O₂, é necessário que haja um sistema capaz de detoxificar essas moléculas. Este é chamado sistema de defesa antioxidante, formado pela as enzimas Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathiona peroxidase (GPX), além de outras enzimas e moléculas antioxidantes não enzimáticas. As ERO são moléculas instáveis e reativas capazes de interagir facilmente com lipídios, proteínas, DNAs e RNAs, dentre outras moléculas (SIES, 1997). Devido a isso, é notável a relação das ERO com várias patologias, por exemplo, câncer e distrofia muscular de duchenne. Caso haja uma superprodução de ERO de forma que exceda a capacidade do sistema de defesa antioxidante, ocorre um processo chamado de desequilíbrio redox (LIOCHEV et al., 2013).

O exercício físico praticado de forma aguda aumenta as taxas de produção das EROs, tanto no músculo esquelético, como também em outros órgãos. Com a repetição regular do exercício físico (treinamento), os músculos aumentam a sua capacidade antioxidante, tornando-os mais protegidos contra as ERO formadas (FINAUD et al, 2006). Alguns fatores podem influenciar a adaptação do sistema de defesa antioxidante ao exercício, que são o tipo de exercício, intensidade, volume e o tipo de fibra predominante em determinado músculo esquelético. (GIBALA et al., 2012).

O músculo esquelético possui variados tipos de fibras, que podem ser classificadas em vermelhas, as que possuem o metabolismo predominantemente oxidativo, e as brancas com o metabolismo predominantemente glicolítico (MINAMOTO, 2005). A maior formação de agentes antioxidantes e pró-oxidantes encontra-se nas fibras vermelhas devido a seu modo oxidativo de produzir energia (MINAMOTO, 2005). Entretanto, a resposta do sistema de defesa antioxidante ao exercício nas fibras brancas ainda não está clara.

Dessa forma, a fim de esclarecer questões acerca da resposta do sistema de defesa antioxidante ao exercício nas fibras glicolíticas, e determinar qual volume de treino seria ideal para exercer uma resposta efetiva, o objetivo do nosso estudo foi avaliar o efeito de diferentes volumes de exercício físico aeróbio sobre a atividade das enzimas SOD e GPX nas fibras glicolíticas do músculo gastrocnêmio de ratos Wistar.

METODOLOGIA

Foram utilizados 24 ratos machos albinos da linhagem Wistar, com 60 dias de vida, obtidos do biotério do Instituto Superior de Ciências Biomédicas da Universidade Estadual do Ceará (UECE). Os animais foram mantidos em condições ideais, em ciclo claro/escuro (12h/12h), e com ração e água *ad libitum*. O estudo foi composto por 4 grupos experimentais, Controle (CON) (n=6), Sedentário (SED) (n=6), treinado por uma hora (T1) (n=6) e treinado por duas horas (T2) (n=6).

Os animais foram ambientados e adaptados fisicamente, por oito semanas, em uma esteira ergométrica adaptada, iniciando as 18 h, durante 5 dias por semana, por dez minutos a uma velocidade que variou de 0,4 a 1,1km/h, com o incremento da velocidade de 0,1km/h a cada semana. Para uma homogeneidade no experimento, foi utilizado um Teste de Velocidade Máxima (TVM). O teste foi realizado na sexta-feira da oitava semana do período de adaptação. O teste iniciou a uma velocidade de 0,3 km/h e a cada 3 minutos foram acrescentados 0,2 km/h de velocidade até o aparecimento da exaustão do animal. A exaustão dos animais foi determinada pela recusa do animal à corrida mesmo sob estimulação manual e pela perda da coordenação das patas anteriores e posteriores. Foi estabelecido que os animais que ficassem fora da faixa de velocidade entre 1,7 a 2,3 km/h seriam excluídos do experimento.

Na primeira semana após o TVM, todos os animais denominados SED foram mantidos sedentários e não voltaram mais para esteira. Já os animais dos grupos denominados T1 e T2

iniciaram o treinamento, enquanto os animais do grupo denominado CON não fizeram nenhum exercício físico desde o início do estudo. Na primeira semana após o TVM todos os grupos treinados correram por trinta minutos. O grupo T1 treinou por mais uma semana por uma hora. O grupo T2 treinou por mais duas semanas uma hora na segunda semana e duas horas na terceira semana. No início do treinamento os animais passaram por um aquecimento de três minutos, onde a velocidade variou de 0,6 km/h, 0,9km/h e 1,1km/h respectivamente a cada minuto, já no quarto minuto a velocidade foi para 1,2km/h, que é a velocidade que se deu ao restante do treinamento. Ao término do exercício ocorreu um desaquecimento de dois minutos, onde a velocidade variou de 0,9km/h e 0,6 respectivamente. Esse tempo de cinco minutos de aquecimento e desaquecimento foi contabilizado como tempo de treinamento.

A eutanásia foi feita por Dióxido de Carbono (CO₂), trinta e seis horas após o último dia de treinamento e porções do gastrocnêmio branco foram dissecadas e armazenadas em nitrogênio líquido a -80 oC. Para extração de proteínas foi feito a homogeneização de 100 miligramas de tecido muscular em 1 mililitro de tampão fosfato de potássio (KPE). Assim, o sobrenadante foi retirado contendo as proteínas. O conteúdo de proteína foi determinado pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). A atividade da enzima SOD foi mensurada pela auto-oxidação da adrenalina medida em espectrofotômetro (480nm), expressa em U de SOD/mg de proteína (BANNISTER, J.V. E CALABRESE, L., 1987). Atividade da enzima GPX foi mensurada a partir da taxa de decaimento da NADPH, determinada por espectrofotometria (340nm), e expressa em mM/min/mg de proteína (FLOHÉ E GUNZLER, 1984).

A significância estatística foi considerada quando os resultados apresentaram probabilidade de ocorrência da hipótese nula menor que 5% ($p < 0,05$). Para comparação dos grupos foi utilizado a Análise de Variância (ANOVA) *One-way* e pós teste de tukey para múltiplas comparações respeitando as hipóteses de normalidade de distribuição.

RESULTADOS

Os dados encontrados mostram um aumento significativo da atividade da enzima GPX do grupo T1, quando comparado aos grupos CON ($p < 0,01$) SED ($p < 0,05$). Nota-se uma tendência de aumento da atividade da enzima no grupo T2, entretanto, não houve diferença significativa em relação aos outros grupos (Fig. 1).

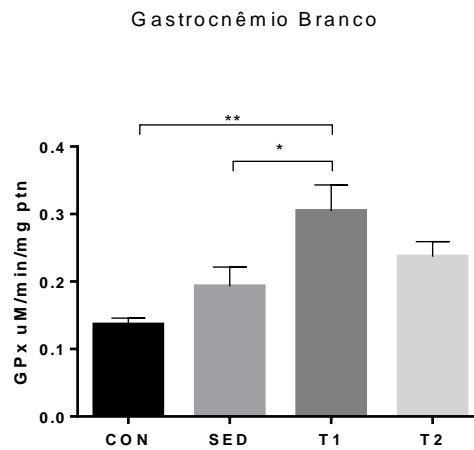


FIGURA 1 – Atividade da enzima GPX nas fibras brancas do músculo gastrocnêmio. Os valores da atividade enzimática representam a média \pm erro padrão e são expressos em unidade de GPX por minuto por miligrama de proteína. Diferenças estatísticas significantes entre os grupos são representadas por * ($p < 0,05$) e ** ($p < 0,01$)

Quanto a atividade da enzima SOD, os dados demonstraram um aumento significativo do grupo T1 comparado ao grupo CON ($p < 0,001$), e do grupo T2 comparado ao grupo CON ($p < 0,01$), como também, do grupo SED comparado ao CON ($p < 0,01$).

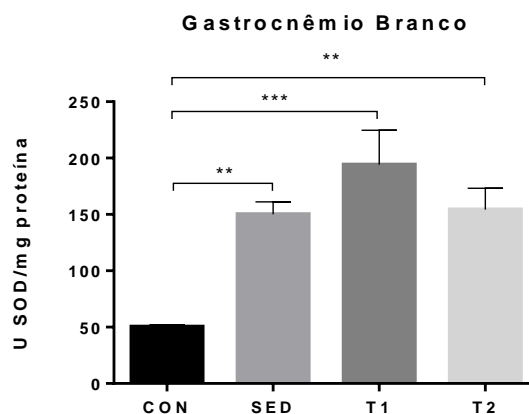


FIGURA 2 – Atividade da enzima SOD nas fibras brancas do músculo gastrocnêmio. Os valores da atividade enzimática representam a média \pm erro padrão e são expressos em unidade de SOD por miligrama de proteína. Diferenças estatísticas significantes entre os grupos são representadas por * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$) e *** ($p < 0,001$)

DISCUSSÃO

Há algum tempo já sabe-se que a prática de exercícios como componente do dia-a-dia condiciona o indivíduo de forma benéfica, e que a carga aguda pode causar problemas como lesões musculares e situação de *overtraining*, com grande parcela de culpa devido a produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio e o consequente estresse oxidativo (CRUZAT, 2007). Em resposta, para se adaptar a esse estresse o organismo produz de forma aumentada a síntese de enzimas como a SOD e a GPX, preparando o organismo para as possíveis próximas cargas a fim de manter o equilíbrio redox no corpo (CLARKSON, 1988; PEDERSEN, 1988). Além disso, no que diz respeito as fibras musculares, a literatura sugere que a atividade da SOD é maior em fibras de elevada capacidade oxidativa (ANTUNES-NETO, 2008).

No nosso estudo, foi verificado que as fibras glicolíticas também são sensíveis as ERO, o que foi possível gerar uma resposta adaptativa, caracterizada por um aumento na atividade das enzimas SOD e GPX. Foi visto que essa adaptação pode ser modulada pelo fator volume de treino, e que esse volume possui influencia distinta nas enzimas SOD e GPX, onde na enzima GPX o volume de 2 horas de treino não gerou aumento de atividade, aumento que pode ser observado na enzima SOD.

CONCLUSÃO

Dessa forma, concluiu-se que as enzimas SOD e GPX nas fibras musculares glicolíticas respondem de forma distinta ao exercício físico. Como demonstrado em nossos resultados, o volume de treino foi um fator modulador da adaptação do sistema de defesa, gerando diferentes respostas nas duas enzimas.

REFERÊNCIAS

- ANTUNES-NETO, J. M. F; SILVA, L. P; MACEDO, D. V. Biomarcadores de estresse oxidativo: novas possibilidades de monitoramento em treinamento físico. **Revista Brasileira de Ciência e Movimento**, v. 13, n. 3, p. 73-80, 2008.
- BANNISTER, J.V.; Calabrese, L. Assays for SOD. **Meth. Biochem. Anal.**, v. 32, p. 270-312, 1987.
- CLARKSON, PM; TREMBLAY, I. Exercise-induced muscle damage, repair, and adaptation in human. **J Appl Physiol**. 1988;65:1-6.
- CRUZAT, V.F; ROGERO, M.M; BORGES, M.C; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre estresse

- oxidativo, exercícios físicos e suplementação. **Rev Bras Med Esporte**, v. 13, n. 5, p. 336-42, 2007.
- MINAMOTO, V. B. Classificação e adaptações das fibras musculares: uma revisão. **Fisioterapia e pesquisa**, v. 12, n. 3, p. 50-55, 2005.
- KHAIRALLAH, R.J; SHI, G; SBRANA, F; PROSSER, B.L; BORROTO, C; MAZAITIS, M.J; HOFFMAN, E.P; MAHURKAR, A; SACHS, F; SUN, Y; CHEN, Y.W; RAITERI, R; LEDERER, W.J; DORSEY, S.G; WARD, C.W. Microtubules underlie dysfunction in duchenne muscular dystrophy. **Science signaling**, v. 5, n. 236, 2012.
- FINAUD, J; LAC, G; FILAIRE, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. **Sports Med**. 36(4): 327- 358. 2006.
- SIES, Helmut. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental physiology**, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.
- FLOHÉ, I; GUNZLER, W. Assays of glutathione peroxidase. **Methods Enzymol**. V. 105, p.114-21,1984.
- GIBALA, Martin J. et al. Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. **The Journal of physiology**, v. 590, n. 5, p. 1077-1084, 2012.
- JI, L.L; FU, R. Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. **J Appl Physiol** 1992;72:549-54.
- LIOCHEVSI.reactive oxygen species and the free radical the or yof aging. **Free Radic Biol Med**. 2013;60:1-4.
- PEDERSEN, BK; ROHDE, K; OSTROWSKI, K. Recovery of the immune system after exercise. **Acta Physiol Scand**. 1998a;162:325-32.
- POWERS, S. K; NELSON, W. B; HUDSON, M. B. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. **Free Radic Biol Med**. 51: 5: 942-950, 2011.
- SCHNEIDER, C.D; OLIVEIRA, A.R. Oxygen free radicals and exercise: mechanisms of synthesis and adaptation to the physical training. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, n. 4, p. 308-313, 2004.
- VENDITTI, P; DI MEO, S. Effect of training on antioxidant capacity, tissue damage, and endurance of adult male rats. **International journal of sports medicine**, v. 18, n. 07, p. 497-502, 1997.