

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

Effect of different volumes of aerobic exercise on the activity of GPX and SOD enzymes in the gastrocnemius wistar muscle fibers

DOI:10.34117/bjdv7n2-081

Recebimento dos originais: 21/01/2021

Aceitação para publicação: 05/02/2021

Sávio Victor Diógenes Mendes

Mestre

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: victormendes3@hotmail.com

Israel Barbosa de Albuquerque

Graduação

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: israel.barbosa@aluno.uece.br

Matheus Fernandes Montenegro e Silva

Graduação

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: matheus.montenegro@aluno.uece.br

Carla Andressa Andrade dos Santos

Graduação

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: carlaandressaimoveis@hotmail.com

Guilherme Lisboa de Serpa

Graduação

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: Guilherme.lisboa@aluno.uece.br

Ariclécio Cunha de Oliveira

Doutor

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: ariclecio.oliveira@uece.br

Vânia Marilande Ceccatto

Doutora

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: vceccatto@yahoo.com.br

Adriano César Carneiro Loureiro

Doutor

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE.
Endereço: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: adrianoccloureiro@yahoo.com.br

RESUMO

O sistema de defesa antioxidante enzimático, formado pelas enzimas Superóxido Dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione peroxidase (GPX), é responsável por detoxificar as espécies reativas do oxigênio (ERO). As ERO possuem uma alta capacidade oxidativa, e quando produzidas de forma que exceda a capacidade do sistema de defesa antioxidante, ocorre o processo chamado de desequilíbrio redox (DR). O DR está associado a alguns distúrbios no tecido muscular, como a sarcopenia e distrofia muscular de Duchenne. O exercício físico crônico atenua o DR, adaptando o sistema de defesa antioxidante. Entretanto, essa adaptação pode ser modulada por alguns fatores, como a intensidade do exercício, o volume do treinamento, e o tipo de fibra predominante no tecido muscular. Dessa forma, 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. Foram utilizados 24 ratos machos da linhagem Wistar com 60 dias de idade, mantidos em ciclo claro e escuro de 12h com água e comida ad libitum. Os animais foram divididos em quatro grupos: grupo controle (CON), sedentário (SED), treinado por uma hora (T1) e treinado por duas horas (T2), ambos os grupos contendo 6 animais. Os animais do grupo SED, T1 e T2 passaram por um período de oito semanas de adaptação em uma esteira adaptada, enquanto o grupo CON não realizou nenhum exercício físico. Após o período de adaptação, os animais realizaram um Teste de Velocidade Máxima (TVM). O TVM foi utilizado para separação dos grupos e garantir homogeneidade do experimento. Após o TVM, os animais do grupo SED foram mantidos sedentários e não voltaram mais para a esteira, enquanto o grupo T1 treinou por mais uma semana, uma hora por dia a uma velocidade de 1,2 km/h e o grupo T2 treinou por mais duas semanas duas horas por dia na mesma velocidade. A eutanásia foi feita por Dióxido de Carbono (CO₂) e a porção do gastrocnêmio branco foi dissecada e armazenada em nitrogênio líquido e posteriormente a -80 °C. A atividade da enzima SOD foi mensurada a partir do auto oxidação da adrenalina e lida em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 480 nm. A atividade da enzima GPX foi mensurada segundo o protocolo descrito por Aebi. Os dados demonstraram um aumento significativo da atividade da SOD 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). Houve um aumento significativo da atividade da enzima GPX do grupo T1, quando comparado aos grupos CON (p<0,01) SED (p<0,05). Dessa forma, concluiu-se que as enzimas SOD e GPX nas fibras musculares glicolíticas responderam de forma

distinta ao exercício físico e o volume de treino foi um fator modulador da adaptação do sistema de defesa, o que gerou diferentes respostas nas duas enzimas.

Palavras chaves: Exercício físico, Enzimas antioxidantes, Desequilíbrio redox.

1 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 Glutathione 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.

2 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 acrescidos 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 termino 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.

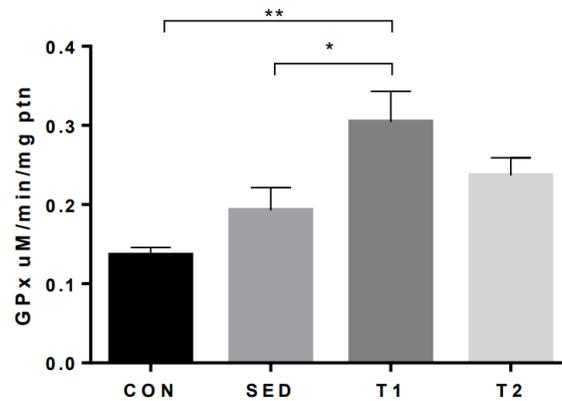
A eutanásia foi feita por Dióxido de Carbono (CO₂), trinta e seis horas após o último dia de treinamento e porções do gastrocnêmio branco foram dissecadas e armazenadas em nitrogênio líquido a -80 oC. Para extração de proteínas foi feito a homogeneização de 100 miligramas de tecido muscular em 1 mililitro 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.

3 RESULTADOS

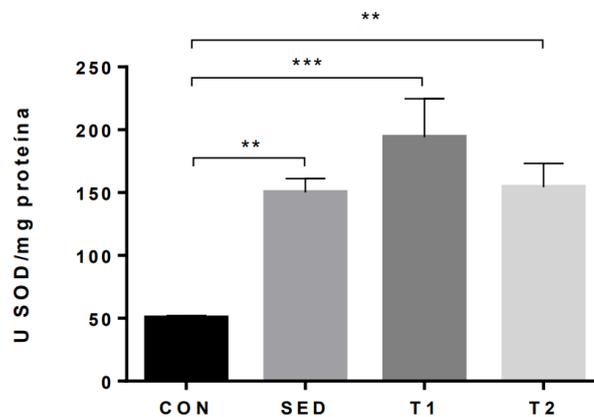
Os dados encontrados mostram um aumento significativo da atividade da enzima GPX do grupo T1, quando comparado aos grupos CON ($p < 0,01$) SED ($p < 0,05$). Nota-se uma tendência de aumento da atividade da enzima no grupo T2, entretanto, não houve diferença significativa em relação aos outros grupos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

FIGURA 1 – Atividade da enzima GPX nas fibras brancas do músculo gastrocnêmio.
Gastrocnêmio Branco



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.
Gastrocnêmio Branco



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 *** ($p < 0,001$).

4 DISCUSSÃO

Há algum tempo já se sabe que a prática de exercícios como componente do dia-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.

5 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.