

EFEITOS DE DIFERENTES VOLUMES DE EXERCÍCIO FÍSICO AERÓBIO SOBRE A ATIVIDADE DA ENZIMA CATALASE EM DIFERENTES TIPOS DE FIBRAS DO MÚSCULO ESQUELÉTICO EM RATOS WISTAR

Israel Barbosa de Albuquerque¹; Matheus Fernandes Montenegro e Silva²; Carla Andressa Andrade dos Santos³; Sávio Victor Diógenes Mendes⁴; Adriano César Carneiro Loureiro⁵

¹Universidade Estadual do Ceará, israelbalbuquerque@gmail.com

²Universidade Estadual do Ceará, metheus.montenegro@aluno.uece.br

³Universidade Estadual do Ceará, carlaandressaimoveis@hotmail.com

⁴Universidade Estadual do Ceará, victormendes3@hotmail.com

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

INTRODUÇÃO

Para suprir as necessidades metabólicas das células é necessário o consumo de oxigênio (O₂). Por sua vez, a metabolização do O₂ causa a produção de subprodutos, por exemplo, as espécies reativas de oxigênio (ERO) (POWERS et al, 2011). As ERO podem ser classificadas em radicalares, conhecidas como radicais livres (RL), como exemplo o ânion superóxido (O₂^{•-}) e o radical hidroxila (OH[•]), e não-radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (HALLIWELL, 1991). As ERO possuem uma elevada capacidade de desarranjo bioquímico, o que pode causar danos a moléculas e estruturas importantes como DNA, RNA, proteínas e lipídios de membrana (SIES, 1997).

Para evitar que essas moléculas causem danos as estruturas celulares, os organismos desenvolveram mecanismos capazes de detoxificar essas moléculas, o sistema de defesa antioxidante (BANERJEE et al, 2003). Quando o indivíduo é submetido a uma única sessão de exercício extenuante ocorre uma elevada produção de ERO, de modo que o sistema de defesa antioxidante não consegue detoxificar essas moléculas, gerando um quadro chamado de desequilíbrio redox (DR) (SIES, 1997). Estudos evidenciam que o DR está associado à algumas disfunções no músculo esquelético, por exemplo, sarcopenia (LEITE et al, 2012), distrofia muscular de Duchenne (KHAIRALLAH et al, 2012), dentre outras. Em contrapartida, o exercício físico praticado de forma crônica é capaz de aumentar a capacidade antioxidante das fibras musculares, tornando-as adaptadas para manter o equilíbrio redox (FINAUD et al, 2006).

A adaptação do sistema de defesa antioxidante no músculo esquelético em resposta ao exercício físico depende de alguns fatores, por exemplo, a intensidade do treino, volume do

exercício físico (SEN, 1995; JI, 2002; SCHNEIDER & OLIVEIRA, 2004) e quanto ao tipo de fibra (SCHIAFFINO & REGGIANI, 2011).

No músculo esquelético, basicamente, existem dois tipos de fibras: as fibras musculares de contração lenta, chamadas de fibras vermelhas, que são caracterizadas pelo metabolismo oxidativo, pois possuem alta concentração de mitocôndrias e mioglobina; e as fibras de contração rápida, conhecidas como fibras brancas, que são caracterizadas pelo metabolismo glicolítico, pois possuem baixas quantidades de mitocôndrias em relação as fibras vermelhas (SCHIAFFINO & REGGIANI, 2011). Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo verificar o efeito de diferentes volumes de exercício físico sobre a atividade da enzima antioxidante catalase (CAT) em fibras oxidativas e glicolíticas do músculo esquelético 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 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 – velocidade considerada para Máxima Fase Estável de Lactato. 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 vermelho e branco foram dissecadas e armazenadas em nitrogênio líquido posteriormente 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). Em seguida, com a utilização do espectrofotômetro, a análise bioquímica que avalia a atividade da enzima CAT foi mensurada em resposta a quantidade de peróxido de hidrogênio pelo método de AEBI (1984) e os valores da CAT foram corrigidos pelo valor da proteína de cada amostra (U catalase/mg proteína).

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

Nas fibras vermelhas do músculo gastrocnêmio, observou-se um aumento significativo da atividade da enzima CAT do grupo T2 comparado ao grupo T1 ($p < 0,01$), como também comparado ao grupo SED ($p < 0,001$) e ao grupo CON ($p < 0,0001$). Observa-se uma tendência de aumento do grupo T1, todavia não houve diferença significativa em relação aos grupos SED e C (Fig. 1).

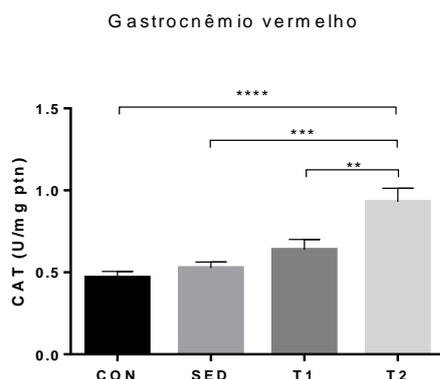


FIGURA 1 – Atividade da enzima antioxidante CAT na porção vermelha do músculo gastrocnêmio. Os valores da atividade enzimática representam a média \pm erro padrão e são expressos em unidade de catalase por miligrama de proteína. Diferenças estatísticas significantes entre os grupos são representadas por * ($p < 0,05$), ** ($p < 0,01$), *** ($p < 0,001$) e **** ($p < 0,0001$).

Nas fibras brancas, observou-se um aumento significativo da atividade da enzima CAT do grupo T2 comparado ao grupo SED ($p < 0,001$) e ao grupo C ($p < 0,05$). Novamente, é notável a tendência de aumento do grupo T1, porém sem diferença estatística quando comparado aos outros grupos (Fig. 2).

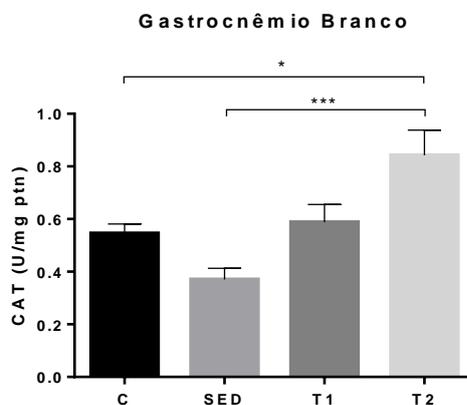


FIGURA 2 – Atividade da enzima antioxidante CAT na porção vermelha do músculo gastrocnêmio. Os valores da atividade enzimática representam a média \pm erro padrão e são expressos em unidade de catalase por miligrama de proteína. Diferenças estatísticas significantes entre os grupos são representadas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

DISCUSSÃO

Diferentes tipos de fibras musculares esquelética podem ter produções diferentes de agentes pró-oxidantes e antioxidantes, já que as fibras vermelhas possuem uma maior quantidade de

mitocôndrias em comparação as fibras brancas (SCHIAFFINO & REGGIANI, 2011). Entretanto, foi observado no nosso estudo que as fibras glicolíticas e oxidativas responderam de forma semelhante ao exercício físico.

Os dados do presente estudo corroboram com os resultados encontrados por Schneider e Oliveira (2004), o qual mostraram em seu estudo que as variáveis de intensidade e volume do exercício físico pode promover uma melhora do sistema de defesa antioxidante do músculo esquelético. Resultados esses que ficaram evidentes em nosso estudo, pois observamos que o volume de treino de duas horas foi mais eficiente para gerar uma adaptação no sistema de defesa antioxidante, demonstrando que volume de treino pode modular a adaptação desse sistema.

CONCLUSÃO

Dessa forma, concluiu-se que diferentes volumes de treinamento possui uma influência significativa sobre a atividade da enzima CAT, tanto nas fibras vermelhas, quanto nas fibras brancas. O volume de treinamento de duas horas foi mais eficiente para estimular uma melhor resposta da atividade da enzima CAT.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. **Met enzymol**, 105: 121-126. ,1984.
- BANERJEE, A. K; MANDAL, A; CHANDA, D; CHAKRABORTI, S. Oxidant, antioxidant and physical exercise. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 253, n. 1, p. 307-312, 2003.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**. 7: 72: 248-254, 1976.
- CADENAS, E; BOVERIS, A; RAGAN, C. I; STOPPANI, A. O. Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef-heart mitochondria. **Archives of biochemistry and biophysics**, v. 180, n. 2, p. 248-257, 1977.
- FINAUD, J; LAC, G; FILAIRE, E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. **Sports Med**. 36(4): 327- 358. 2006.
- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochemical journal**, v. 219, n. 1, p. 1, 1984.
- HALLIWELL, B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. **The American journal of medicine**, v. 91, n. 3, p. S14-S22, 1991.

- JI, L. L. Exercise-induced modulation of antioxidant defense. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 959, n. 1, p. 82-92, 2002.
- 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.
- LEITE, L. E. A; RESENDE, T. L; NOGUEIRA, G. M; CRUZ, I. B. M; SCHNEIDER, R. H; GOTTLIEB, M. G. V. Envelhecimento, estresse oxidativo e sarcopenia: uma abordagem sistêmica. **Revista Brasileira de Geriatria e Gerontologia**, v. 15, n. 2, p. 365-380, 2012.
- 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.
- PRYOR, William A. Oxy-radicals and related species: their formation, lifetimes, and reactions. **Annual review of Physiology**, v. 48, n. 1, p. 657-667, 1986.
- SIES, Helmut. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Experimental physiology**, v. 82, n. 2, p. 291-295, 1997.
- SCHIAFFINO, S; REGGIANI, C. Fiber types in mammalian skeletal muscles. **Physiol Rev**. 91: 4: 1447-1531, 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.
- SEN, C. K. Oxidants and antioxidants in exercise. **Journal of applied physiology**, v. 79, n. 3, p. 675-686, 1995.
- 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.

