

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

Effects of different volumes of aerobic exercise on catalase enzyme activity in different types of skeletal muscle fibers in Wistar rats

DOI:10.34117/bjdv7n4-546

Recebimento dos originais: 15/03/2021

Aceitação para publicação: 22/04/2021

Sávio Victor Diógenes Mendes

Mestre

Instituição de atuação atual: Universidade Estadual do Ceará – UECE

Endereço completo: 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 completo: 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 completo: 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 completo: 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 completo: 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 completo: 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 completo: 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 completo: Av. Dr. Silas Munguba, 1700 - Itaperi, Fortaleza - CE, 60714-903
E-mail: adrianoccloureiro@yahoo.com.br

RESUMO

O Desequilíbrio Redox (DR), que ocorre quando há uma excessiva produção de Espécies Reativas de Oxigênio (ERO) de forma que exceda a capacidade do sistema de defesa antioxidante, é um processo que está associado à alguns distúrbios no tecido muscular, por exemplo, sarcopenia e distrofia muscular de Duchenne. 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. 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 e quanto ao tipo de fibra. Sendo assim, o objetivo deste estudo 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. 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 porções do gastrocnêmio vermelho e branco foram dissecadas e armazenadas em nitrogênio líquido e posteriormente a -80 °C. Para analisar a atividade da enzima CAT, as amostras foram colocadas em um espectrofotômetro e lidos em um comprimento de onda de 240 nm, como descrito no protocolo de Aebi. Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA - oneway) e pós teste de Tukey (p <0,05). Os resultados mostraram um aumento significativo da atividade da enzima CAT do grupo T2 comparado ao grupo T1 (p<0,01), SED (p<0,001) e CON (p<0,0001) nas fibras vermelhas. Nas fibras brancas, houve um aumento significativo da atividade da enzima CAT do grupo T2 comparado ao grupo SED (p<0,001) e CON (p<0,05). Concluímos que o volume de treinamento possui uma influência significativa sobre a atividade da enzima CAT, influencia observada tanto nas

fibras vermelhas, quanto nas fibras brancas. O volume de treinamento de duas horas foi mais eficiente para modular atividade da enzima em ambos os tipos de fibras.

Palavras chaves: Desequilíbrio Redox, Músculo Esquelético, Exercício Físico.

ABSTRACT

The Redox Imbalance (DR), which occurs when there is an excessive production of Reactive Oxygen Species (ROS) in a way that exceeds the capacity of the antioxidant defense system, is a process that is associated with some disorders in muscle tissue, for example, sarcopenia and Duchenne muscular dystrophy. Exercise practiced chronically is capable of increasing the antioxidant capacity of the muscle fibers, making them adapted to maintain the redox balance. The adaptation of the antioxidant defense system in skeletal muscle in response to exercise depends on some factors, such as training intensity, exercise volume, and fiber type. Thus, the aim of this study was to verify the effect of different volumes of exercise on the activity of the antioxidant enzyme catalase (CAT) in oxidative and glycolytic fibers of the skeletal muscle of Wistar rats. Twenty-four male Wistar rats aged 60 days were used, maintained on a 12h light-dark cycle with food and water ad libitum. The animals were divided into four groups: control group (CON), sedentary group (SED), trained for one hour (T1) and trained for two hours (T2), both groups containing 6 animals. The animals in the SED, T1, and T2 groups went through an adaptation period of eight weeks on an adapted treadmill, while the CON group did not perform any exercise. After the adaptation period, the animals performed a Maximum Speed Test (TVM). The MVT was used to separate the groups and ensure the homogeneity of the experiment. After the TVM, the animals in the SED group were kept sedentary and did not return to the treadmill, while group T1 trained for another week, one hour a day at a speed of 1.2 km/h, and group T2 trained for another two weeks, two hours a day at the same speed. Euthanasia was performed by Carbon Dioxide (CO₂) and portions of the red and white gastrocnemius were dissected and stored in liquid nitrogen and subsequently at -80 °C. To analyze CAT enzyme activity, samples were placed in a spectrophotometer and read at a wavelength of 240 nm as described in Aebi's protocol. The results were evaluated by analysis of variance (ANOVA - oneway) and post Tukey's test ($p < 0.05$). The results showed a significant increase in CAT enzyme activity of group T2 compared to group T1 ($p < 0.01$), SED ($p < 0.001$) and CON ($p < 0.0001$) in red fibers. In white fibers, there was a significant increase in CAT enzyme activity of group T2 compared to group SED ($p < 0.001$) and CON ($p < 0.05$). We conclude that training volume has a significant influence on CAT enzyme activity, an influence observed in both red and white fibers. The training volume of two hours was more efficient to modulate the enzyme activity in both types of fibers.

Keywords: Redox Imbalance, Skeletal Muscle, Physical Exercise.

1 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 ($O_2^{\bullet-}$) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}), e não-radicalares, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (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). As enzimas superoxide dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GPX) nas fibras musculares glicolíticas respondem de forma distinta ao exercício físico (MENDES et al, 2021).

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.

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 – velocidade considerada para Máxima Fase Estável de Lactato. 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 vermelho e branco foram dissecadas e armazenadas em nitrogênio líquido posteriormente a -80 °C.

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

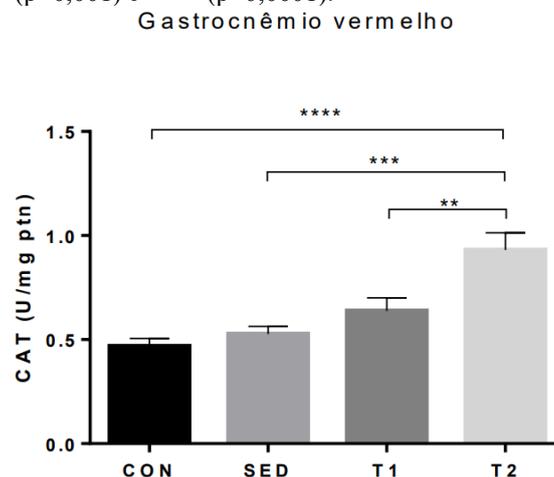
retirado contendo as proteínas. O conteúdo de proteína foi determinado pelo método de Bradford (BRADFORD, 1976). Em seguida, com a utilização do espectrofotômetro, a análise bioquímica que avalia a atividade da enzima CAT foi mensurada em resposta a quantidade de peróxido de hidrogênio pelo método de 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.

3 RESULTADOS

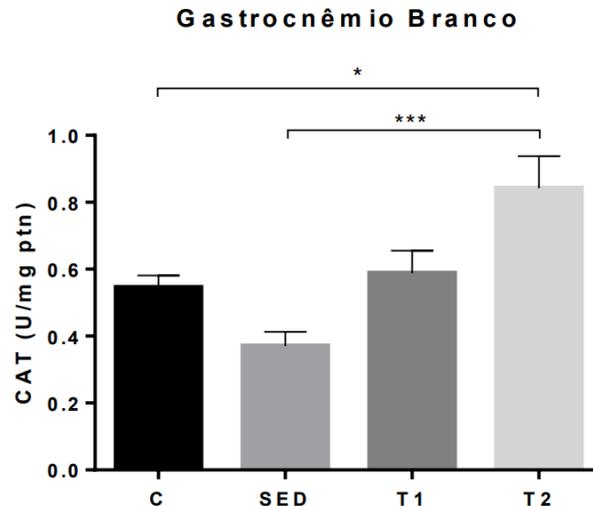
Nas fibras vermelhas do músculo gastrocnêmio, observou-se um aumento significativo da atividade da enzima CAT do grupo T2 comparado ao grupo T1 ($p < 0,01$), como também comparado ao grupo SED ($p < 0,001$) e ao grupo CON ($p < 0,0001$). Observa-se uma tendência de aumento do grupo T1, todavia não houve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



4 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.

5 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.
- Jl, 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.
- MENDES, S. V. D; ALBUQUERQUE, I. B; SILVA, M. F. M; SANTOS, C. A. A; SERPA, G. L; OLIVEIRA, A. C; CECCATTO, V. M; LOUREIRO, A. C. C. Effect of different volumes of aerobic exercise on the activity of GPX and SOD enzymes in the gastrocnemius wistar muscle fibers, v. 7, n. 2, p. 12934-12942, 2021.
- 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.