

EFEITOS DO TREINAMENTO AERÓBICO SOBRE O ESTRESSE OXIDATIVO EM MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATOS OBESOS



ARTIGO ORIGINAL
ORIGINAL ARTICLE
ARTÍCULO ORIGINAL

EFFECTS OF AEROBIC EXERCISE TRAINING ON OXIDATIVE STRESS IN THE SKELETAL MUSCLES OF OBESE RATS

EFFECTOS DEL ENTRENAMIENTO AERÓBICO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO EN MÚSCULOS ESQUELÉTICOS DE RATONES OBESOS

Ariene Sampaio Souza Farias Ulbricht¹ (Bióloga)
Daniela Delwing-de Lima^{1,2} (Farmacêutica Bioquímica)
Carla Werlang-Coelho^{3,4} (Profissional de Educação Física)
Débora Delwing-Dal Magro⁵ (Farmacêutica Bioquímica)
Bruna Donat³ (Profissional Educação Física)
Mariana Ramos Vieira¹ (Médica)
Marina Zordan Poletto¹ (Médica)
Eduardo Manoel Pereira⁶ (Farmacêutico Bioquímico)

1. Universidade da Região de Joinville, Departamento de Medicina, Joinville, SC, Brasil.
2. Universidade da Região de Joinville, Programa de Pós-Graduação em Saúde e Meio Ambiente, Joinville, SC, Brasil.
3. Universidade da Região de Joinville, Departamento de Educação Física, Joinville, SC, Brasil.
4. Universidade do Estado de Santa Catarina, Departamento de Química, Joinville, SC, Brasil.
5. Universidade Regional de Blumenau, Departamento de Ciências Naturais, Centro de Ciências Exatas e Naturais, Blumenau, SC, Brasil.
6. Universidade da Região de Joinville, Departamento de Farmácia, Joinville, SC, Brasil.

Correspondência:

Daniela Delwing-de Lima.
Rua Paulo Malschitzki, 10, Zona Industrial Norte, Joinville, SC, Brasil.
89201-972.
danieldelwing@hotmail.com;
daniela.delwing@univille.br

RESUMO

Introdução: Obesidade é uma desordem metabólica complexa e multifatorial, caracterizada pelo acúmulo de gordura corporal. O exercício físico tem a capacidade de aumentar o gasto energético e promover efeito reparador por meio da modulação das defesas antioxidantes endógenas. **Objetivo:** Avaliar os efeitos da dieta hiperlipídica (DHL) sobre parâmetros de estresse oxidativo em músculos esqueléticos de ratos, por protocolos de treinamento físico aeróbico (TFA), treinamento contínuo de intensidade moderada (TC) e treinamento intervalo de alta intensidade (HIIT). **Métodos:** O estudo foi quantitativo e experimental. Animais receberam 8 semanas de DHL ou dieta normal (DN), seguidas por 9 semanas de DHL ou DN e os dois TFA. **Resultados:** A DHL não alterou a formação de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), conteúdo total de sulfidrilas e de proteínas carboniladas nos músculos sóleo e plantar. Em contraste, os protocolos diminuíram TBA-RS no músculo plantar e aumentaram o conteúdo de sulfidrilas no músculo sóleo. TC aumentou o conteúdo de sulfidrilas no músculo plantar e reduziu o conteúdo de proteínas carboniladas em ambos os músculos. A DHL reduziu a atividade da SOD no músculo plantar; o TC aumentou a SOD no músculo sóleo e ambos os protocolos reverteram a diminuição da SOD no músculo plantar. A DHL aumentou a CAT no músculo sóleo, o HIIT preveniu essa alteração e ambos os protocolos aumentaram a CAT no músculo plantar. A DHL diminuiu a atividade da GSH-Px em ambos os músculos, e o TC preveniu esta diminuição no músculo sóleo, enquanto que o HIIT preveniu parcialmente esta diminuição. O TC não preveniu a redução da GSH-Px, e o HIIT preveniu parcialmente esta diminuição no músculo plantar. **Conclusão:** A DHL causou estresse oxidativo nos músculos esqueléticos de ratos, e ambos os protocolos foram capazes de prevenir a maioria das alterações nos parâmetros de estresse oxidativo causadas pela DHL. **Nível de evidência IV; Investigação dos resultados do tratamento.**

Descritores: Protocolos; Estresse oxidativo; Músculo esquelético.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is a complex and multifactorial metabolic disorder characterized by the accumulation of body fat; physical exercise increases energy expenditure and promotes a reparative effect through modulation of endogenous antioxidant defenses. **Objective:** To evaluate the effects of the high-fat diet (HFD) on oxidative stress parameters in skeletal muscles of rats using aerobic exercise training protocols (AETP), moderate-intensity continuous training (MICT) and high-intensity interval training (HIIT). **Methods:** The study was quantitative and experimental. Animals received 8 weeks of HFD or normal diet (ND), followed by 9 weeks of HFD or ND and the two AETPs. **Results:** HFD did not alter the formation of thiobarbituric acid reactive substances (TBA-RS), total sulfhydryl and protein carbonyl content in the soleus and plantaris muscles; in contrast, the protocols caused a decrease in TBA-RS levels in the plantaris muscle and increased the sulfhydryl content in the soleus muscle, while MICT increased the sulfhydryl content in the plantaris muscle and reduced protein carbonyl content in both muscles. HFD reduced SOD activity in the plantaris muscle while the MICT protocol enhanced SOD in the soleus muscle and both protocols reversed the decrease in SOD in the plantaris muscle. HFD increased CAT activity in the soleus muscle, the HIIT protocol prevented this alteration and both protocols increased CAT in the plantaris muscle. HFD reduced GSH-Px activity in both muscles, and the MICT protocol prevented this reduction in the soleus muscle, while the HIIT protocol partially prevented this decrease. The MICT protocol did not prevent the reduction of GSH-Px and the HIIT protocol partially prevented this decrease in the plantaris muscle. **Conclusions:** HFD elicited oxidative stress in the skeletal muscle of rats, and both protocols were able to prevent most of the alterations in oxidative stress parameters caused by the HFD. **Level of evidence IV; Investigation of treatment outcomes.**

Keywords: Protocols; Oxidative stress; Skeletal muscle.

RESUMEN

Introducción: La obesidad es un desorden metabólico complejo y multifactorial caracterizado por la acumulación de grasa corporal. El ejercicio físico tiene la capacidad de aumentar el gasto energético y promover efecto reparador por medio de la modulación de las defensas antioxidantes endógenas. **Objetivos:** Evaluar los efectos de la dieta hiperlipídica (DHL) sobre parámetros de estrés oxidativo en los músculos esqueléticos de las ratas, por protocolos de entrenamiento físico aeróbico (TFA), entrenamiento continuo de intensidad moderada (TCIM) y entrenamiento de intervalo de alta intensidad (HIIT). **Métodos:** El estudio fue cuantitativo y experimental. Los animales recibieron ocho semanas de DHL o dieta normal (DN), seguidas por nueve semanas de DHL o DN



y los dos TFA. Resultados: La DHL no alteró la formación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBA-RS), contenido total de sulfidrilos y de proteínas carboniladas en los músculos sóleo y plantar. En contraste, los protocolos disminuyeron TBA-RS en el músculo plantar y aumentaron el contenido de sulfidrilos en el músculo sóleo. TCIM aumentó el contenido de sulfidrilos en el músculo plantar y redujo el contenido de proteínas carboniladas en ambos músculos. La DHL redujo la actividad de la SOD en el músculo plantar, el TCIM aumentó la SOD en el músculo sóleo y ambos protocolos revirtieron la disminución de la SOD en el músculo plantar. La DHL aumentó la CAT en el músculo sóleo, el HIIT previno esa alteración y ambos protocolos aumentaron la CAT en el músculo plantar. La DHL disminuyó la actividad de GSH-Px en ambos músculos, y el TCIM previno esta disminución en el músculo sóleo, mientras que el HIIT previno parcialmente esta disminución. El TCIM no previno la reducción de la GSH-Px y el HIIT previno parcialmente esta disminución en el músculo plantar. Conclusión: La DHL causó estrés oxidativo en los músculos esqueléticos de ratones y ambos protocolos fueron capaces de prevenir la mayoría de las alteraciones en los parámetros de estrés oxidativo causados por DHL. **Nivel de evidencia IV; Investigación de los resultados del tratamiento.**

Descriptor: Protocolos; Estrés oxidativo; Músculo esquelético.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1517-869220192505184278>

Article received on 20/08/2017 accepted on 02/05/2019

INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica caracterizada pelo acúmulo excessivo de triglicerídeos no tecido adiposo, devido ao desequilíbrio da energia entre uma elevada ingestão de alimentos ricos em gordura e açúcar e um gasto de energia reduzido. Esta condição, que pode ser medida pelo Índice de Massa Corporal (IMC), tem uma etiologia complexa, devido a aspectos multifatoriais, como resultado de interações entre genética, metabolismo e fatores ambientais¹.

Simultaneamente, a obesidade é também um fator de risco para várias doenças cardiovasculares, como, por exemplo, a hipertensão e a aterosclerose, e doenças endócrino metabólicas tais como, a diabetes mellitus tipo 2. Esta interação ocorre como uma consequência de processos anormais biológicos e metabólicos, incluindo a disfunção endotelial induzida pela alteração no perfil lipídico, glicemia e a distribuição de solutos e água². A obesidade também está associada com a indução de eventos celulares que podem levar à disfunção mitocondrial, produzindo espécies reativas de oxigênio (EROs), através da cadeia respiratória^{3,4}. De acordo com Pimenta et al.⁵, dietas ricas em gordura exacerbam os efeitos deletérios dos radicais livres em modelo animal.

Várias terapias têm sido sugeridas para reduzir os resultados nocivos da obesidade e de suas comorbidades, entre estes estão as condutas que visam minimizar os efeitos deletérios nos níveis celulares e sistêmicos⁶⁻⁹. Estudos provaram que a atividade física regular é benéfica na prevenção e na reabilitação de danos à saúde, uma vez que pode regular o controle metabólico, ativando e ampliando o funcionamento de todos os órgãos, através de adaptações induzidas a vários sistemas do corpo. Entre os modelos de exercícios, destacamos o exercício intervalado e o contínuo^{10,11}. O exercício intervalado é realizado de forma intermitente, e é caracterizado por períodos alternados de exercício, combinado com intervalos de descanso, enquanto o de forma contínua é caracterizado pela execução de exercícios de baixa e média intensidade, por um período de tempo, com descanso somente após a realização do exercício^{5,12-13}. Considerando as elevadas taxas globais de obesidade, em associação com a inatividade física e as mudanças alimentares que resultam de estilos de vida populares¹⁴, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de dois protocolos de Treinamento Físico Aeróbico (TFA), treinamento contínuo de intensidade moderada (TC) e treinamento intervalado de alta intensidade (HIIT), sobre as alterações causadas por uma dieta hiperlipídica (DHL) sobre parâmetros de estresse oxidativo em músculo sóleo e plantar de ratos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Modelo animal e desenho experimental

Ratos Wistar machos adultos (70 dias de idade) foram obtidos da UNIVALI (Universidade do Vale do Itajaí, Brasil) em uma colônia de

reprodução e foram distribuídos aleatoriamente em grupos alimentados com uma DHL (proteína, 20%; carboidratos, 20%; e lipídios, 60% - Praga Soluções Biosciences, Jaú-SP) ou dieta normolipídica (DN) (proteína, 20 kcal%; carboidratos, 70 kcal%; e, lipídios, 10 kcal% - NUVITAL nutrientes, Curitiba-PR) durante 8 semanas. Os ratos foram mantidos em ciclo de claro-escuro (12:12-h ciclo de claro-escuro), num ambiente com temperatura controlada (22 ± 1°C), com livre acesso às respectivas dietas e água da torneira. Após a conclusão das oito semanas de dieta, os animais da DHL foram aleatoriamente designados para o grupo sedentário (DHL-SED, n=6) ou um dos grupos que receberam os diferentes TFA (DHL-TC, n=6 e DHL-HIIT, n=6). Animais da DN foram designados sedentários (DN-SED; n=6). Após essa fase, esses 4 grupos experimentais foram submetidos a mais 9 semanas de dieta e treinamento. Todos os ratos foram eutanasiados três dias após o último dia de treinamento. Este estudo foi realizado de acordo com os "Princípios de Cuidados *Laboratory Animal*" (publicação NIH 85-23, revista, 1985), e foi aprovado pelo Comitê de Ética da UNIVILLE (Universidade da Região de Joinville, Joinville, Brasil) (Protocolo nº 002 / 213 - COEA). Todos os produtos químicos utilizados na análise de estresse oxidativo foram adquiridos da Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, EUA.

Protocolos: (1) TC e (2) HIIT

Antes dos TFA, os ratos foram condicionados ao teste de exercício em esteira ergométrica, sendo colocados na esteira para aclimatarem-se por pelo menos 10 minutos; depois os ratos foram submetidos a um teste na esteira com 20° de inclinação, onde correram até a exaustão; a velocidade foi iniciada em 6 m/min e foi aumentada em 3 m/min a cada 3 min até que os ratos não pudessem mais correr¹⁵. Ambos os TFA consistiam em um programa de corrida de 8 semanas, 5 dias por semana.

(1) TC: foi realizado em uma velocidade de esteira que corresponde a 60% da velocidade máxima de corrida do teste, que foi mantida inalterada durante toda a sessão. (2) HIIT: os ratos correram por 3 min a 60% da velocidade máxima de corrida, seguidos por intervalos de 4 min a 85% da velocidade máxima de corrida atingida no teste, que foi repetida sete vezes, com duração de 49 min, sendo os protocolos TC e HIIT de volumes equivalentes¹⁶. Os animais DHL-SED e DN-SED foram colocados na esteira duas vezes por semana durante 10 min, a 40% da velocidade máxima de corrida para manter as habilidades de corrida.

Preparação do tecido

Após a decapitação, o músculo esquelético sóleo e plantar foram removidos e mantidos em fosfato de sódio tamponado com gelo. Os músculos esqueléticos sóleo e plantar foram homogeneizados em dez volumes (1:10 p/v) de tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,4, contendo

KCl 140,0 mM. Os homogenatos foram preparados passando 5 pulsos e foram centrifugados a 750 x g por 10 min a 4°C¹⁷. O pellet foi descartado e o sobrenadante foi guardado em alíquotas e armazenado a -80°C.

Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS)

TBA-RS foi determinada de acordo com o método descrito por Ohkawa et al.¹⁸. A metodologia para análise de TBA-RS mensura o malondialdeído (MDA), um produto da lipoperoxidação, causado principalmente por radicais hidroxila. Os tecidos foram misturados com 20% de ácido tricloroacético, 0,8% de ácido tiobarbitúrico e aquecidos num banho de água fervente durante 60 min. TBA-RS foi determinada pela absorbância à 535 nm. Os níveis de TBA-RS foram expressos em nmol de MDA/mg de proteína.

Conteúdo total de sulfidrilas

O conteúdo total de sulfidrilas foi determinado de acordo com o método descrito por Aksenov e Markersbery¹⁹. Resumidamente, 50 µL de homogeneizado foi adicionado a 1 mL de tampão PBS pH 7,4 contendo etilenodiaminotetracético (EDTA). A reação foi iniciada pela adição de 30 µL de ácido 5,5'-ditiobis- (ácido 2-nitrobenzóico) (DTNB) e incubada durante 30 minutos à temperatura ambiente em local escuro. O conteúdo total de sulfidrilas foi mensurado a 412 nm e os resultados foram expressos como nmol de ácido 3-tio-2-nitrobenzóico (TNB)/mg de proteína.

Teor de proteínas carboniladas

O teor de proteínas carboniladas foi ensaiado por um método descrito por Reznick e Packer²⁰, baseado na reação de proteínas carbonilas com dinitrofenilhidrazina para formar dinitrofenilhidrazona e medido espectrofotometricamente a 370 nm. 200 µL de homogenato foram adicionados à 400 µL de 10 mM dinitrofenilhidrazina (preparado em 2 M HCl). As amostras foram mantidas no escuro por 1h e vortexadas a cada 15 min., 500 µL de ácido tricloroacético a 20% foram adicionados, centrifugados a 14.000 xg por 3 min. O pellet foi lavado com 1 mL de etanol/acetato de etila, centrifugado a 14.000 xg por 3 min. O pellet foi ressuspenso em 600 µL de guanidina 6M (preparada em solução de fosfato de potássio 20mM, pH 2,3), antes de vortexar e incubar a 60°C por 15 min. As amostras foram centrifugadas a 14.000 x g durante 3 min e o sobrenadante foi utilizado para medir a absorbância a 370 nm. Resultados do teor de proteínas carboniladas foram expressos em nmol/mg proteína.

Catalase (CAT)

A atividade de CAT foi ensaiada pelo método de Aebi²¹, usando um espectrofotômetro. O método utilizado baseia-se no desaparecimento de H₂O₂ à 240 nm num meio de reação contendo 20 mM de H₂O₂, 0,1% de Triton X-100, 10 mM de tampão de fosfato de potássio, pH 7,0. Uma unidade de CAT é definida como 1 µmol de H₂O₂ consumido por minuto e a atividade específica é calculada como unidades de CAT/mg de proteína.

Glutaciona Peroxidase (GSH-Px)

A atividade de GSH-Px foi mensurada pelo método de Wendel²², utilizando tert-butil-hidroperóxido como substrato. A decomposição do NADPH foi monitorada em espectrofotômetro à 340 nm. O meio continha 2 mM de GSH, 0,15 U/mL de GSH redutase, 0,4 mM de azida, 0,5 mM de tert-butil-hidroperóxido e 0,1 mM de NADPH. Uma unidade de GSH-Px é definida como 1 µmol de NADPH consumido por minuto e a atividade específica é apresentada como unidades de GSH-Px/mg de proteína.

Superoxide Dismutase (SOD)

O método é baseado na capacidade de auto-oxidação do pirogalol²³. O meio contendo 15 µL de cada amostra foi adicionado à 215 µL de uma mistura contendo 50 µM de tampão Tris, 1 µM de EDTA, pH 8,2, e 30 µM de Catalase. Subseqüentemente, foram adicionados 20 µL

de pirogalol e a absorbância foi registrada imediatamente a cada 30 segundos durante 3 minutos à 420 nm usando um espectrofotômetro. A inibição da auto-oxidação do pirogalol ocorre na presença de SOD, e uma unidade de SOD é definida como a quantidade de SOD necessária para inibir 50% da auto-oxidação de pirogalol e a atividade específica é relatada como unidades de SOD/mg de proteína.

Dosagem de proteínas

A proteína foi medida pelo método de Lowry et al.²⁴, utilizando albumina bovina sérica.

Análise estatística

Os dados foram analisados por ANOVA, seguido pelo teste post-hoc de Duncan, quando indicado. As análises foram realizadas com o programa estatístico (SPSS) do windows versão 12 e valores de p<0,05 foram considerados significativos.

RESULTADOS

Verificamos os efeitos de dois protocolos de TFA, HIIT e TC, sobre um importante parâmetro de peroxidação lipídica, TBA-RS e sobre parâmetros de dano proteico, conteúdo total de sulfidrilas e teor de proteínas carboniladas nos músculos sóleo e plantar de ratos submetidos à DHL.

A Figura 1A mostra que a DHL não alterou os níveis de TBA-RS nos músculos sóleo e plantar. O HIIT e o TC não alteraram esse parâmetro no músculo sóleo, mas causaram uma diminuição dos níveis de TBA-RS no músculo plantar, quando comparado ao grupo DHL-SED (p <0,05). A DHL não alterou o conteúdo total de sulfidrilas (Figura 1B) nos músculos sóleo e plantar. Os protocolos HIIT e TC aumentaram o conteúdo total de sulfidrilas no músculo sóleo, enquanto o protocolo TC também aumentou o conteúdo total de sulfidrilas no músculo plantar de ratos. A DHL não alterou o teor de proteínas carboniladas (Figura 1C) nos músculos sóleo e plantar, quando comparado ao grupo controle (DN-SED). O protocolo HIIT não alterou o conteúdo de proteínas carboniladas nos músculos plantar e sóleo; o protocolo TC reduziu significativamente os níveis de proteínas carboniladas nos dois tipos de músculos esqueléticos, quando comparado ao grupo DHL-SED (p<0,05).

Os efeitos dos dois protocolos de TFA também foram investigados através da avaliação das atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px. Como pode ser visto na Figura 2A, a DHL não alterou a atividade da SOD no músculo sóleo no grupo DHL-SED, mas reduziu a atividade desta enzima no músculo plantar, quando comparado ao grupo DN-SED (p <0,05). O protocolo TC aumentou a atividade da SOD no grupo DHL-TC do músculo sóleo, quando comparado ao grupo DHL-SED (p<0,05). Ambos os protocolos revertem a diminuição da atividade da SOD causada pela DHL no músculo plantar de ratos (p<0,05). A Figura 2B mostra que a DHL aumentou a atividade da CAT no músculo sóleo no grupo DHL-SED, quando comparado ao grupo DN-SED, (p <0,05) e não alterou a atividade dessa enzima no músculo plantar. O protocolo HIIT reverteu essa alteração no músculo sóleo, quando comparado ao grupo DHL-SED (p<0,05) e ambos os protocolos aumentaram a atividade da CAT no músculo plantar nos grupos DHL-TC e DHL-HITT, quando comparado ao grupo DN-SED e DHL-SED (p <0,05). A Figura 2C mostra que a DHL reduziu a atividade da enzima GSH-Px em ambos os músculos no grupo DHL-SED, quando comparado ao grupo DN-SED (p<0,05). O protocolo TC preveniu essa redução no músculo sóleo, enquanto o protocolo HIIT preveniu parcialmente, quando comparado ao grupo DHL-SED. O protocolo TC não preveniu a redução da atividade da GSH-Px no músculo plantar, porém o protocolo HIIT foi capaz de prevenir parcialmente a redução na atividade da GSH-Px que foi observada no grupo DHL-SED (p<0,05).

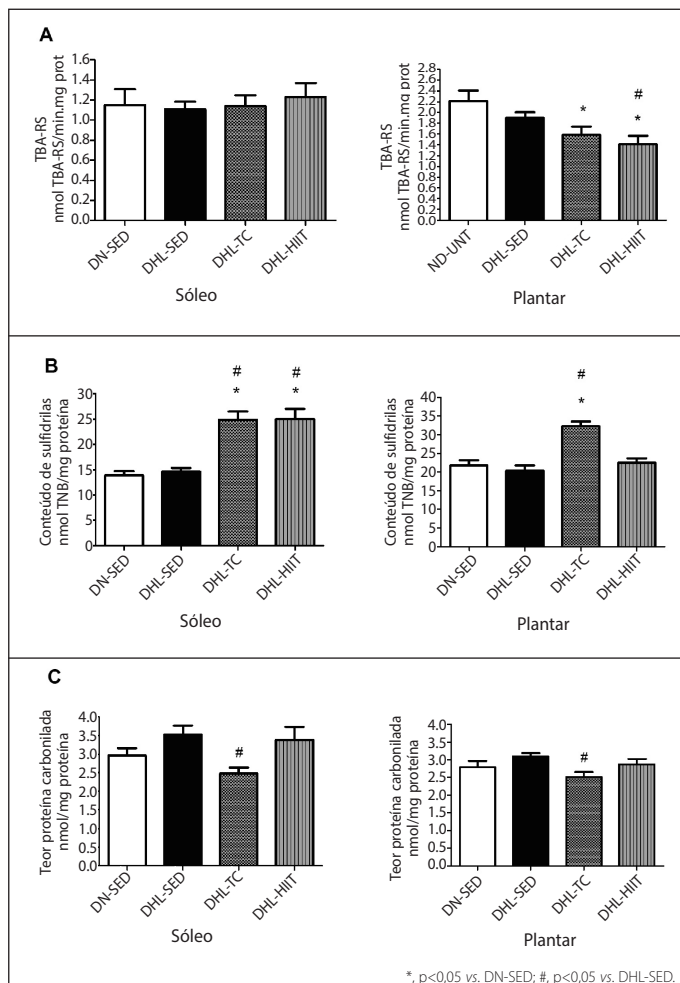


Figura 1. Parâmetros de estresse oxidativo, (A) substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBA-RS); (B) conteúdo total de sulfidrilas; e (C) teor de proteínas carboniladas no músculo sóleo e plantar de ratos de quatro grupos: DN-SED (dieta normolipídica e sedentários; n=6), DHL-SED (dieta hiperlipídica e sedentários; n=6), DHL-TC (dieta hiperlipídica e treinamento contínuo de intensidade moderada; n=6) e DHL-HIIT (dieta hiperlipídica e treinamento intervalado de alta intensidade; n=6). Os dados são apresentados como média ± EPM e comparados entre os grupos por análise de variância unidirecional (ANOVA) com teste post-hoc de Duncan.

DISCUSSÃO

A obesidade está fortemente relacionada ao estresse oxidativo; como o exercício físico aumenta o gasto energético corporal e estimula as defesas antioxidantes endógenas, é considerado um recurso importante para proporcionar um equilíbrio entre o dano pró-oxidante e os mecanismos de reparo de antioxidantes^{25,26}. O objetivo do presente estudo foi investigar o efeito de dois diferentes protocolos de TFA, HIIT e TC, sobre parâmetros de estresse oxidativo dos músculos sóleo e plantar de ratos submetidos à DHL, pois estes músculos têm funções importantes e podem ser danificados pelo estresse oxidativo.

Recente estudo conduzido por nosso grupo mostrou que a DHL provoca estresse oxidativo no sangue e no fígado de ratos e que ambos os protocolos de TFA (TC e HIIT) preveniram a maioria das alterações causadas pela DHL nos parâmetros de estresse oxidativo²⁷. De acordo com nossos resultados, embora a DHL não alterou os níveis de TBA-RS, o conteúdo total de sulfidrilas e o teor de proteínas carboniladas, ambos os tipos de exercício reduziram os níveis de TBA-RS no músculo plantar, sugerindo que a atividade física aeróbica, a longo prazo, pode ser eficaz na redução da peroxidação lipídica neste músculo. Além disso, nossos resultados sugerem que o exercício aeróbico também previne o dano proteico, uma vez que ambos os protocolos aumentaram o conteúdo total de sulfidrilas no músculo sóleo e o protocolo TC aumentou o conteúdo total de sulfidrilas no músculo plantar de ratos. Com relação à prevenção

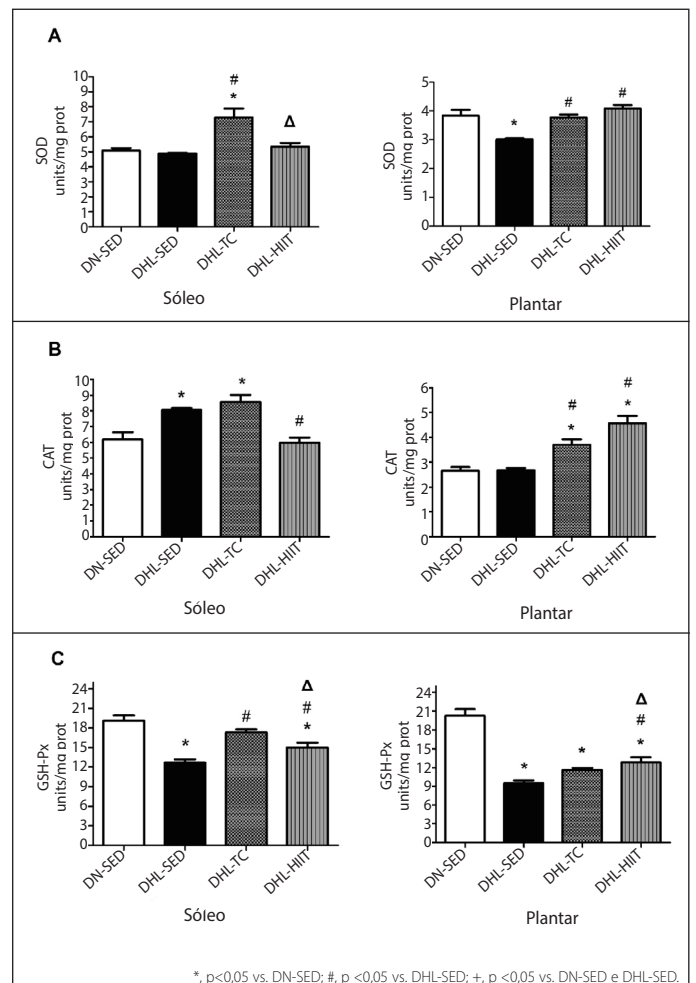


Figura 2. Atividade das enzimas antioxidantes, (A) superóxido dismutase (SOD), (B) catalase (CAT) e (C) glutathiona peroxidase (GSH-Px) nos músculos sóleo e plantar de ratos de quatro grupos experimentais: DN-SED (dieta normolipídica e sedentário; n=6), DHL-SED (dieta hiperlipídica e sedentário; n=6), DHL-TC (dieta hiperlipídica e treinamento contínuo de intensidade moderada; n=6) e DHL-HIIT (dieta hiperlipídica e treinamento intervalado de alta intensidade; n=6). Os dados são apresentados como média ± EPM e comparados entre os grupos por análise de variância unidirecional (ANOVA) com teste post-hoc de Duncan.

de danos às proteínas, o protocolo TC também mostrou uma tendência para reduzir os níveis de proteínas carboniladas em ambos os tipos de músculos esqueléticos. Esses resultados corroboram com efeitos positivos já conhecidos do exercício físico sobre biomarcadores de estresse oxidativo²⁸.

Com relação às enzimas antioxidantes, os resultados mostram que a DHL não alterou a atividade da SOD no músculo sóleo, mas reduziu a atividade dessa enzima no músculo plantar. O protocolo TC aumentou a atividade da SOD no músculo sóleo e ambos os protocolos reverteram a diminuição da atividade da SOD produzida pela DHL no músculo plantar de ratos. Com relação à atividade da CAT, a DHL aumentou a atividade desta enzima no músculo sóleo, no entanto, não causou alteração no músculo plantar. O protocolo HIIT preveniu essa alteração no músculo sóleo e ambos os protocolos aumentaram a atividade da CAT no músculo plantar. A DHL reduziu a atividade da enzima GSH-Px em ambos os músculos e o protocolo TC foi capaz de prevenir essa alteração no músculo sóleo, enquanto o protocolo HIIT preveniu parcialmente. Em contraste, o protocolo TC não impediu a redução da atividade da GSH-Px no músculo plantar, no entanto, o protocolo HIIT foi capaz de prevenir essa redução. Esse desequilíbrio causado pela DHL pode representar um risco para o sistema antioxidante a longo prazo, devido ao importante papel que as enzimas antioxidantes desempenham na redução do superóxido e do peróxido de hidrogênio e na proteção do DNA²⁹.

Pimenta et al.⁵ relataram que a DHL exacerba os efeitos deletérios dos radicais livres. Em contraste, rotinas de exercícios moderadamente intensas mostraram aumentar as defesas imunológicas. Motta et al.³⁰, mostraram que o protocolo HIIT de curto prazo, após nove sessões de treinamento, em um modelo animal, aumentou a expressão de enzimas antioxidantes, atenuando o estresse oxidativo e regulando a atividade antioxidante. Oh et al.³¹ e Delwing-de Lima et al.²⁷ mostraram que o treinamento físico é efetivo na redução dos níveis séricos de marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, como o TBA-RS. Além disso, Aguiar e Pinho³² mostraram que o treinamento físico aeróbico aumenta as defesas antioxidantes, em associação com o desenvolvimento de adaptações morfológicas e funcionais contra o estresse oxidativo no organismo.

Por conseguinte, sugere-se que as expressões de enzimas antioxidantes no músculo esquelético sejam moduladas por padrões de atividade, incluindo intensidade, duração e tipo, resultando em uma variabilidade de efeitos sobre as enzimas antioxidantes³³. Nossos resultados mostram que ambos os protocolos de TFA modularam positivamente a SOD e a CAT nos músculos esqueléticos estudados, mas foram menos eficazes na modulação da atividade da enzima GSH-Px.

Corroborando com estudos prévios, ambos os tipos de exercício aeróbico diminuíram os parâmetros de estresse oxidativo nos músculos

sóleo e plantar de ratos submetidos à DHL, alterando a atividade de enzimas antioxidantes e tendendo a reduzir a peroxidação lipídica e o dano proteico. Esses resultados positivos concordam com estudos recentes mostrando adaptações do sistema antioxidante após treinamento físico de maior intensidade^{34,35}. Nossos resultados também sugerem que a quantidade de treinamento diário, o tempo de treinamento e o tipo de exercício aeróbico escolhido também são essenciais para modular positivamente esse processo.

CONCLUSÃO

Em conclusão, nossos achados mostram que a obesidade altera a atividade de enzimas antioxidantes nos músculos sóleo e plantar e que ambos os tipos de TFA (TC e HIIT) foram eficazes na modulação do sistema enzimático, proporcionando maior proteção aos músculos contra o dano oxidativo causado pela obesidade.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado pela Universidade da Região de Joinville.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES: Cada autor contribuiu individual e significativamente para o desenvolvimento do manuscrito. ASSFU (0000-0001-5819-3560)*: experimento, análise estatística, interpretação dos dados, escrita do artigo, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; DD-deL (0000-0001-5335-5102)*: experimento, análise estatística, interpretação dos dados, escrita do artigo, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; CW-C (0000-0002-4606-2966)*: experimento, análise estatística, interpretação dos dados, escrita do artigo, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; DD-DM (0000-0003-4459-1562)*: experimento, análise estatística, interpretação dos dados, escrita do artigo, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; BD (0000-0002-5086-5198)*: experimento, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; MRV (0000-0003-0944-8402)*: experimento, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; MZP (0000-0002-8976-8918)*: experimento, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada; EMP (0000-0002-5734-626X)*: experimento, análise estatística, interpretação dos dados, escrita do artigo, revisão do artigo, aprovação final da versão do artigo a ser publicada. Todos os autores aprovaram a versão final do manuscrito. *ORCID (Open Researcher and Contributor ID).

REFERÊNCIAS

1. Curi R, Pompeia C, Miyasaka CK, Procópio J. Entendendo a Gordura. Os Ácidos Graxos. São Paulo: Manole; 2002.
2. Huang CJ, McAllister MJ, Slusher AL, Webb HE, Mock JT, Acevedo EO. Obesity-related oxidative stress: the impact of physical activity and diet manipulation. *Sports Med.* 2015;1:32.
3. Amarante RDM, Castro R, Lage AV, Cisternas JR. Diabetes Mellitus como fator de risco na aterogênese. *Arq Med Hosp Fac Cienc Med Santa Casa São Paulo.* 2007;52(3):87-93.
4. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. [Review] *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2003;23(2):168-75.
5. Pimenta M, Bringhenti I, Souza-Mello V, Dos Santos Mendes IK, Aguilá MB, Mandarim-de-Lacerda CA. High-intensity interval training beneficial effects on body mass, blood pressure, and oxidative stress in diet-induced obesity in ovariectomized mice. *Life Sci.* 2015;139:75-82.
6. Cancellor R, Clément K. Is obesity an inflammatory illness? Role of low-grade inflammation and macrophage infiltration in human white adipose tissue. *BJOG.* 2006;113(10): 1141-7.
7. Harman D. The Free Radical Theory of Aging. *Antioxid Redox Signal.* 2003;5(5):557-61.
8. Sassi F. Obesity and the economics of prevention: fit not fat. *OECD [Internet].* 2010. [acesso em 2017, setembro, 12]; 23-44. Disponível em: <https://www.oecd.org/els/health-systems/46044572.pdf>
9. Amorim PR, Faria FR. Dispendio energético das atividades humanas e sua repercussão para a saúde. *Motricidade.* 2012; 8(2): 295-302.
10. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ.* 2006;174(6):801-9.
11. Sijie T, Hainai Y, Fengying Y, Jianxiang W. High intensity interval exercise training in overweight young women. *J Sports Med Phys Fitness.* 2012;52(3):255-62.
12. Almeida PA, Pires CM. A importância do treinamento intervalado em programas de redução de peso e melhoria da composição corporal. *EFDeportes.* 2008;13(119).
13. Astorino TA, Schubert MM, Palumbo E, Stirling D, Mcmillan DW. Effect of two doses of interval training on maximal fat oxidation in sedentary women. *Med Sci Sports Exerc.* 2013; 45(10):1878-86.
14. Higa TS, Spinola AV, Fonseca-Alaniz MH, Evangelista FS. Comparison between cafeteria and high-fat diets in the induction of metabolic dysfunction in mice. *Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.* 2014; 6(1):47-54.
15. Ferreira JC, Rolim NP, Bartholomeu JB, Gobatto CA, Kokubun E, Brum PC. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2007;8:760-765.
16. Haram PM, Kemi OJ, Lee SJ, Bendheim MO, Al-Share QY, Waldum HL, et al. Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovasc Res.* 2009;81(4):723-32.
17. Evelson P, Travacio M, Repetto M, Escobar J, Llesuy S, Lissi E. Evaluation of total reactive antioxidant potential (TRAP) of tissue homogenates and their cytosols. *Arch Biochem Biophys.* 2001;388(2):261-6.
18. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95(2):351-8.
19. Aksenov MY, Markesbery WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett.* 2001;302(2-3):141-5.
20. Reznick AZ, Packer L. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol.* 1994;233:57-63.
21. Aebi H. Catalase in Vitro. *Methods Enzymol.* 1984;105:121-26.
22. Wendel A. Glutathione Peroxidase. *Methods Enzymol.* 1981;77:325-33.
23. Marklund S. Pyrogallol Autooxidation. In: Greenwald RA (ed). *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research.* CRC Press; Boca Raton, 1985:243-7.
24. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein Measurement with the Folin phenol reagents. *J Biol Chem.* 1951;193(1):265-75.
25. Cruzat VF, Rogero MM, Borges MC, Tirapegui J. Aspectos atuais sobre estresse oxidativo, exercícios físicos e suplementação. *Rev Bras Med Esporte.* 2007;13(5):336-42.
26. Pinho RA, Silva LA, Pinho CA, Scheffer DL, Souza CT, Benetti M, et al. Oxidative stress and inflammatory parameters after an Ironman race. *Clin J Sport Med.* 2010;20(4):306-11.
27. Delwing-de Lima D, Ulbricht AS, Werlang-Coelho C, Delwing-Dal Magro D, Joaquim VH, Salamaia EM, et al. Effects of two aerobic exercise training protocols on parameters of oxidative stress in the blood and liver of obese rats. *J Physiol Sci.* 2018;68(5):699-706.
28. Li G, Liu JY, Zhang HX, Li Q, Zhang SW. Exercise training attenuates sympathetic activation and oxidative stress in diet-induced obesity. *Physiol Res.* 2015;64(3):355-67.
29. Dannemann B, Lehle S, Hildebrand DG, Kübler A, Grondona P, Schmid V, et al. High glutathione and glutathione peroxidase-2 levels mediate cell-type-specific DNA damage protection in human induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Reports.* 2015;4(5):886-98.
30. Motta VF, Aguilá MB, Mandarim-De-Lacerda CA. High-intensity interval training (swimming) significantly improves the adverse metabolism and comorbidities in diet-induced obese mice. *J Sports Med Phys Fitness.* 2015;56:655-63.
31. Oh S, Tanaka K, Warabi E, Shoda J. Exercise reduces inflammation and oxidative stress in obesity-related liver diseases. *Med Sci Sports Exerc.* 2013;45(12):2214-22.
32. Aguiar Júnior AS, Pinho RA. Efeitos do exercício físico sobre o estado redox cerebral. *Rev Bras Med Esporte.* 2007;13(5):355-60.
33. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008;88(4):1243-76.
34. Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, Philippou A, Chatzinikolaou A, Draganidis D, et al. Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol.* 2013;61:171-7.
35. Fisher G, Schwartz DD, Quindry J, et al. Lymphocyte enzymatic antioxidant responses to oxidative stress following high-intensity interval exercise. *J Appl Physiol (1985).* 2011;110(3):730-37.