

Treino intervalado de alta intensidade altera a morfologia renal de ratos obesos tratados com dieta hiperlipídica

Izabella Ruella Martinoti (PIBIC/CNPq/UEM), Camila Quaglio Neves (Doutoranda/PBC/UEM), Karile Cristina da Costa Salomão (Doutoranda/PBC/UEM), Diogo Rodrigues Jimenes (Doutorando PEF/UEM), Carmem Patrícia Barbosa (Docente/DCM/UEM) Nilza Cristina Buttow (Orientadora), e-mail: izabellaruella@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Ciências Biológicas/Maringá, PR.

Ciências Biológicas: Morfologia e Histologia

Palavras-chave: Obesidade, estresse oxidativo, exercício físico.

Resumo:

A obesidade é uma patologia causada pelo acúmulo de gordura e geralmente pela ingestão de alimentos hipercalóricos e está relacionada a diversas doenças. Assim o treino intervalado de alta intensidade (HIIT) pode ser utilizado como meio para prevenir e melhorar a qualidade de vida de indivíduos que sofrem com a obesidade. Desta forma, o objetivo foi analisar os efeitos do HIIT sobre a morfologia e estresse oxidativo e inflamação renal de ratos *Wistar* obesos. Os animais foram divididos em 4 grupos: GCS (dieta padrão /sedentários); GCT (dieta padrão/HIIT); GS-HFD (dieta hiperlipídica/sedentário); GT-HFD (dieta hiperlipídica/HIIT). Com 8 meses de vida os animais foram eutanasiados e os rins coletados, o rim direito foi destinado as análises histológicas e o esquerdo para análises de estresse oxidativo e inflamação. A análise morfológica demonstrou diminuição na área dos glomérulos e corpúsculos renais no grupo GT-HFD quando comparado aos demais grupos, entretanto no estresse oxidativo e inflamação não apresentou alterações. Com isso pode-se concluir que a prática do HIIT promove alterações morfológicas renais em animais obesos.

Introdução

A obesidade é uma condição patológica caracterizada pelo acúmulo de tecido adiposo que leva a alterações bioquímicas e fisiológicas (NOEMAN et al., 2011). A dieta está diretamente relacionada ao desenvolvimento da obesidade, por induzir o acúmulo de tecido adiposo e levar a alterações sistêmicas. Demonstrando que essa condição afeta todos os sistemas do corpo, inclusive os rins, causando alterações morfológicas nas células mesangiais dos glomérulos (DEJI et al., 2009). Da mesma forma que a obesidade gera danos diretos e indiretos a diferentes órgãos, ela se associa ao estresse oxidativo e a inflamação, potencializando essa patologia (FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al. 2011). Isso se dá pois o indivíduo obeso apresenta um aumento desproporcional na produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) juntamente com a redução das defesas antioxidantes.

Sendo que as EROs acarretam na liberação de citocinas inflamatórias. Se tratando dos rins, Deji et al. (2009) descreve que o acúmulo de gordura no tecido renal causa alterações patológicas e fisiológicas, como a infiltração de macrófagos e aumento no estresse oxidativo.

Entre as melhores maneiras de lidar e prevenir a obesidade encontra-se o exercício físico, o qual está associado a diversos benefícios como uma melhor função corporal e cardiorrespiratória. O treino intervalado de alta intensidade (HIIT) consiste em sessões de exercícios que alternam entre exercício intenso com um período de recuperação. O qual se relaciona a uma maior perda de gordura visceral e melhora no perfil metabólico e função cardiorrespiratória em indivíduos obesos (GROUSSARD et al., 2019).

Ainda são escassos os dados que relacionam o HIIT a obesidade, ainda mais com enfoque no rim. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do HIIT sobre a morfologia, parâmetros oxidativos e inflamatórios do rim de ratos *Wistar* com obesidade induzida por dieta hiperlipídica (HFD).

Materiais e métodos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEM) sobre o protocolo nº 5230050620. Foram usados ratos machos *Wistar* com 25 dias de idade, os quais permaneceram 5 dias para ambientação no biotério, com condições controladas de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) e luminosidade (12 horas de claro e escuro), recebendo água e ração *ad libitum*. Após o período de adaptação foram distribuídos em 4 grupos ($n=7$): GCT (controle treinado com dieta padrão), GCS (controle sedentário com dieta padrão), GT-HFD (treinado com dieta hiperlipídica), GS-HFD (sedentário com dieta hiperlipídica). Durante 89 dias todos os animais se alimentaram com ração padrão para roedores (Nuvilab®). No 90º dia, foi introduzida a HFD apenas para os grupos GT-HFD e GS-HFD, contendo 35% de banha de porco para induzir a obesidade até o final do tratamento (mais 120 dias).

Os grupos GCS e GS-HFD não realizaram nenhuma atividade física. Enquanto os animais dos grupos GCT e GT-HFD foram submetidos a uma adaptação do exercício físico e posteriormente submetidos ao HIIT. Assim, aos 180 dias de idade, os animais iniciaram o treinamento em esteira três vezes na semana em dias alternados por 8 semanas consecutivas. O treinamento era precedido por um aquecimento de 5 minutos a 40% da Vpico. Esta sequência foi repetida 6 vezes totalizando 42 minutos em cada sessão. Aos 240 dias (8 meses de vida) os animais foram eutanasiados com injeção intramuscular de associação de cetamina (90mg/kg) e xilazina (10mg/kg) para a retirada dos rins. O rim direito foi destinado as técnicas histológicas, sendo fixado em paraformaldeído 4%, armazenado em álcool 70% e posteriormente embebido em parafina. O mesmo foi cortado em micrótomo (cortes semi-seriados de 5 micrômetros) e corados em Hematoxilina e Eosina (HE), para avaliar a área de glomérulos, corpúsculos renais, da cápsula de Bowman e densidade glomerular. As imagens das lâminas foram capturadas no microscópio óptico e analisadas no software Image Pro-plus. Para as análises de estresse oxidativo e inflamação, após a

coleta, o rim esquerdo foi lavado em PBS pH 7,4 e congelado, até as análises das amostras. Assim o material foi homogeneizado em Tampão Fosfato de Potássio pH 6,5 e centrifugado a 9000 rpm por 20 minutos. Do homogenato foi utilizado para a quantificação de grupos sulfídricos não proteicos (GSH), o sobrenadante foi utilizado para a mensuração da atividade enzimática de glutathione s-transferase (GST), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e para dosagem de hidroperóxidos lipídicos (LOOH). O *pellet* foi utilizado para análises inflamatórias de n-acetilglicosaminidase (NAG) e mieloperoxidase (MPO). As análises foram realizadas em placas de 96 poços com protocolo específico para cada uma e lidas em espectrofotômetro.

Por fim, as análises estatísticas foram realizadas no software GraphPad Prism 8 e o valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. Os dados paramétricos foram analisados pelo teste One-Way ANOVA seguido por pós-teste de Tukey (resultados representados em média \pm erro padrão). Os dados não paramétricos foram analisados por Kruskal-wallis seguido de pós teste de Dunns (resultados foram expressos em mediana \pm intervalo de confiança).

Resultados e Discussão

As análises morfológicas (figura 1 e 2) demonstraram que os grupos GCT, GS-HFD não sofreram alterações significativas quando comparadas com o grupo GCS. No entanto, o grupo GT-HFD apresentou redução nas áreas do glomérulo e dos corpúsculos quando comparados com todos os grupos (GCS $p > 0,0001$; GCT $p = 0,0120$; GS-HFD $p = 0,0003$ e GCS $p > 0,0001$; GCT $p = 0,0231$; GS-HFD $p = 0,0026$, respectivamente). O espaço de Bowman e a densidade glomerular, não tiveram diferenças significativas.

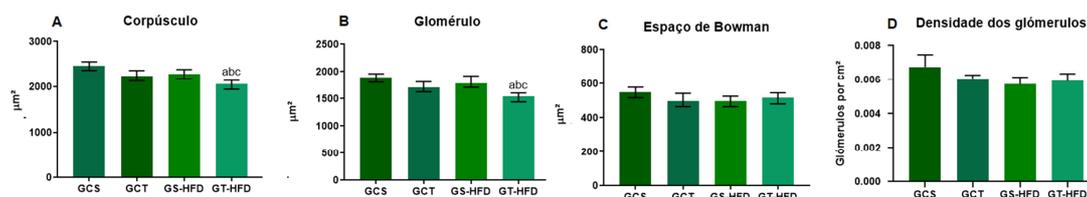


Figura 1. Análise de morfometria (A-C) e densidade renal (D). A: área do corpúsculo; B: área do glomérulo; C: área do espaço de Bowman; D: densidade dos glomérulos por área. Resultados A-C em mediana \pm intervalo de confiança; D expressos com média \pm erro padrão.

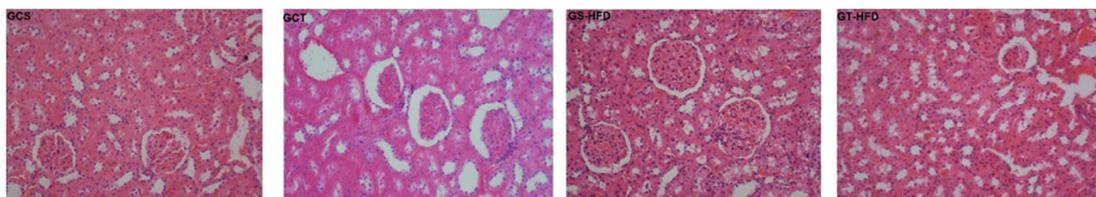


Figura 2. Fotomicrografia do tecido renal. Coloração HE e imagens capturadas em objetiva 20x, em microscópio óptico (NIKON® Eclipse80i).

Estudos demonstram que a dieta hiperlipídica promove acúmulo de lipídios e que estes podem afetar diretamente o rim, acarretando em hipertrofia glomerular, hiperfiltração glomerular e aumento da fração de filtração (CHERNGWELLING et al. 2021). No entanto, em nosso modelo estas alterações não aconteceram. Contudo, nos animais obesos treinados (GT-HFD) o HIIT reduziu as áreas dos corpúsculos e dos glomérulos demonstrando que o HIIT durante a obesidade é capaz de promover alterações morfofuncionais nos rins.

Por fim, nossas análises não apontaram diferença significativa entre nenhum dos parâmetros analisados de estresse oxidativo (atividade enzimática de CAT, SOD, GST e dosagem dos níveis de GSH e LOOH) ou inflamação (atividade enzimática de MPO e NAG) em nenhum dos grupos avaliados. Apesar da literatura demonstrar que a dieta hiperlipídica e a obesidade ocasionam peroxidação lipídica, aumento da inflamação e danos renais (DEJI et al., 2009; FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ et al. 2011), estas alterações não foram observadas em nosso estudo.

Conclusões

A obesidade induzida por HFD não altera os padrões inflamatórios ou de estresse oxidativo renal, assim como a prática do HIIT. Todavia o HIIT foi capaz de diminuir a área glomerular e do corpúsculo renal. Novos estudos deverão ser realizados objetivando avaliar melhor o motivo da redução das áreas dos corpúsculos e glomérulos após o HIIT em animais obesos.

Agradecimentos

Agradecimento a CNPq, UEM e DCM e a todos que de alguma forma colaboraram para a conclusão desse trabalho.

Referências

CHERNGWELLING, Rada et al. A agomelatina protege contra a lesão renal induzida pela obesidade, inibindo a via de estresse/apoptose do retículo endoplasmático em ratos. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 425, p. 115601, 2021.

DEJI, N.; KUME, S.; ARAKI, S.; SOUMURA, M.; SUGIMOTO, T.; ISSHIKI, K.; CHIN-KANASAKI, M.; SAKAGUCHI, M.; KOYA, D.; HANEDA, M.; KASHIWAGI, A.; UZU, T. Structural and functional changes in the kidneys of high-fat diet-induced obese mice. **Am J Physio Renal Physiology**. 296, F118-F126, 2009.

FERNÁNDEZ-SÁNCHEZ, Alba et al. Inflamação, estresse oxidativo e obesidade. **Revista Internacional de Ciências Moleculares**, v. 12, n. 5, pág. 3117-3132, 2011.

GROUSSARD, Carole et al. Modulação do estresse oxidativo específico do tecido pelo exercício: uma comparação entre MICT e HIIT em um modelo de rato obeso. **Medicina oxidativa e longevidade celular**, v. 2019, 2019.

NOEMAN, S. A.; HAMOODA, H. E.; BAALASH, A. A. Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats. **Diabetology & Metabolic Syndrome**. 3, 17, 2-8, 2011.