

**DANILO DE SOUZA FELIPE
EDILSON DONIZETTI FELÍCIO**

**ANÁLISE DO IMPACTO DE DIFERENTES
INTENSIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A
ATEROSCLEROSE EM CAMUNDONGOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Educação Física, do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais - Câmpus Muzambinho, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharelado em Educação Física.

Orientador: Prof. MsC. Dênis Bueno Da Silva
Co-Orientador: Prof. Dr. José Antonio Dias Garcia

**MUZAMBINHO
2016**

ANÁLISE DO IMPACTO DE DIFERENTES INTENSIDADES DE EXERCÍCIO FÍSICO SOBRE A ATEROSCLEROSE EM CAMUNDONGOS

Danilo de Souza Felipe¹
Edilson Donizete Felício²
Dênis Bueno Da Silva³
José Antonio Dias Garcia⁴

RESUMO:

Atualmente, as doenças cardiovasculares tem se tornado cada vez mais evidente entre a população brasileira. Vários fatores de risco contribuem para a ocorrência dessas doenças, e dentre eles a dislipidemia. A dislipidemia é dos precursores para o desenvolvimento da aterosclerose. O exercício físico em diferentes intensidades favorece para o equilíbrio do perfil lipídico, auxiliando no desenvolvimento de atividades relacionadas ao processo metabólico de gorduras. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi analisar qual o impacto dos diferentes intensidades de exercícios físicos sobre a aterosclerose na artéria aorta de camundongos submetidos a ração padrão comercial. O treinamento consistiu de nove semanas, onde as três primeiras semanas foram adaptativas, em esteira rolante. Foram utilizados 28 camundongos nesse estudo. Os resultados mostraram que os níveis de HDL foram altos e que um dos quatro grupos foram acometidos pela aterosclerose. E após discutir os dados, percebemos que o exercício físico possui um papel importante no processo anti-aterogênico.

Palavras-Chave: *Exercício Físico. Dislipidemia. Aterosclerose.*

¹ Graduando do Curso Superior de Bacharel em Educação Física

² Graduando do Curso Superior de Bacharel em Educação Física

³ Professor do Curso Superior de Licenciatura em Educação Física

⁴ Professor do IFSULDEMINAS – campus Machado

1 – INTRODUÇÃO

Atualmente, as doenças cardiovasculares tem se tornado cada vez mais evidente entre a população brasileira. Segundo o Ministério da Saúde, em 2011 aconteceram mais de 103 mil mortes por doenças do aparelho circulatório, gerando uma taxa de 58,8 mortes pra cada cem mil habitantes (BRASIL, 2011). Vários fatores de risco contribuem para a ocorrência dessas doenças, e dentre eles a dislipidemia.

Essa dislipidemia é definida como a disfunção do metabolismo das gorduras impactando nos níveis plasmáticos das lipoproteínas (SANTOS et. al 2015). Existem diferentes tipos de proteínas, separados de acordo com a densidade. São elas: quilomícrons, lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), lipoproteínas de densidade baixa (LDL) e lipoproteínas de densidade alta (HDL). Esse distúrbio é um fator de risco importante para o aparecimento de várias doenças relacionadas ao sistema cardiovascular, que são: Hipertensão, doenças coronarianas e a aterosclerose.

Segundo a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) a aterosclerose é caracterizada por um processo inflamatório crônico no qual ocorre uma formação de placa de ateroma na parede interna dos vasos sanguíneos. Isso ocorre pelo fato de que acontece uma alteração na atividade das células endoteliais favorecendo a passagem de LDL para o espaço subendotelial. E a partir disso, no subendotélio, as lipoproteínas de baixa densidade sofrerão oxidação e em seguida serão capturadas por macrófagos e iniciarão a origem da placa de ateroma (SBC, 2013).

Assim, existem alguns métodos que ajudam na prevenção e no tratamento dessas patologias. Esses métodos podem ser através da utilização de fármacos ou de exercícios físicos regulares.

Um importante combatente dessa moléstia é o HDL, que promove essencial função de transportar moléculas de colesterol, dos variados tecidos do organismo para o fígado, processo esse conhecido como *transporte reverso* (LIMA; COUTO, 2006).

A prática de exercícios físicos regulares é muito bem indicada por várias entidades como método benéfico para o ser humano, tanto na prevenção como no tratamento de doenças.

O treinamento físico promove uma diminuição nas concentrações plasmáticas de triglicerídeos, e aumento dos níveis de HDL no plasma (ACCIOLY, 2012).

Além disso, o exercício físico em diferentes intensidades favorece para o equilíbrio do perfil lipídico, auxiliando no desenvolvimento de atividades relacionadas ao processo metabólico de gorduras. Com isso, elevam-se as concentrações de HDL e altera quimicamente as moléculas de LDL, dificultando o surgimento de placas de ateroma (PRADO; DANTAS, 2002).

Diante disso, o objetivo desse trabalho foi analisar qual o impacto dos diferentes intensidades de exercícios físicos sobre a aterosclerose na artéria aorta de camundongos submetidos a ração padrão comercial.

2 – MATERIAS E MÉTODOS

Animas da Experimentação

Os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com as diretrizes dos princípios internacionais de manejo dos animais e foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa para cuidados com os animais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Sul de Minas Gerais (IFSULDEMINAS) com o parecer nº 5A/2015.

Neste estudo foram utilizados 28 camundongos homocigotos para a ausência do gene do receptor de LDL (LDLr^{-/-}), adultos (90 dias de idade) e sedentários. Os animais foram adquiridos do biotério da UNIFAL, Universidade federal de Alfenas (Alfenas – MG) e criados no Laboratório de Experimentação Animal do Instituto Federal do Sul de Minas “Campus Muzambinho” CeCAES, os mesmos foram distribuídos em gaiolas coletivas e mantidos sob condições de temperatura ambiente controlada a 23°C (±1) e foto período de 12 horas claro e 12 horas escuro, alimentados com ração padrão para roedores e água à vontade.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos: TBI – treinados em baixa intensidade (n=7); TMI – treinados em moderada intensidade (n=7); TAI – treinados em alta intensidade (n=7); eGS - grupo sedentário (n=7).

Programa do Treinamento Físico

Antes de dar início a adaptação e ao treinamento físico em esteira rolante, os animais foram submetidos a um Protocolo de exercício físico máximo para determinação da intensidade do treinamento, com velocidade inicial a 6m/min e incrementando 3 m/min a cada três minutos até a exaustão do animal, momento em que não mantém mais o padrão da corrida (FERREIRA et al., 2007).

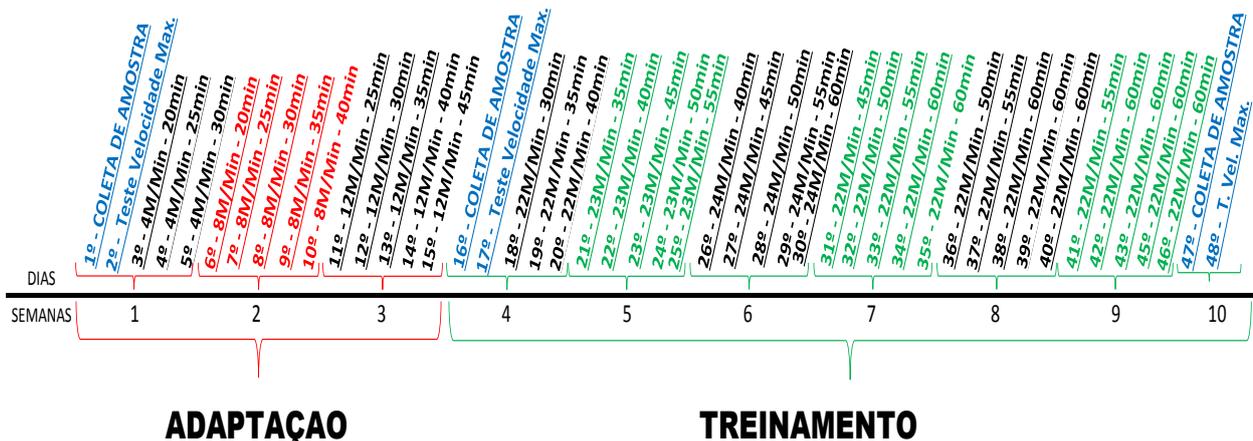
A intensidade do exercício foi estabelecida de acordo com a velocidade máxima alcançada no teste, onde o grupo TBI realizou um treinamento de 30% a 49% da velocidade máxima, o grupo TMI realizou o treinamento a 50% a 80% da velocidade máxima, o grupo TAI realizou o treinamento de 80% a 100% da velocidade máxima e o GS não realizou nenhum treinamento.

O treinamento consistiu de nove semanas onde as três primeiras semanas foram de adaptação sendo igual para os grupos TBI, TMI e TAI. Ao início da quarta semana foi realizado novamente o protocolo de exercício físico máximo para readequação da intensidade trabalhada. A partir da quarta semana, o animal realizou o treinamento dentro da intensidade proposta tendo aumentos crescentes tanto na velocidade quanto no tempo, chegando na nona semana na porcentagem máxima estabelecida por cada grupo.

Desenho do Treinamento Físico

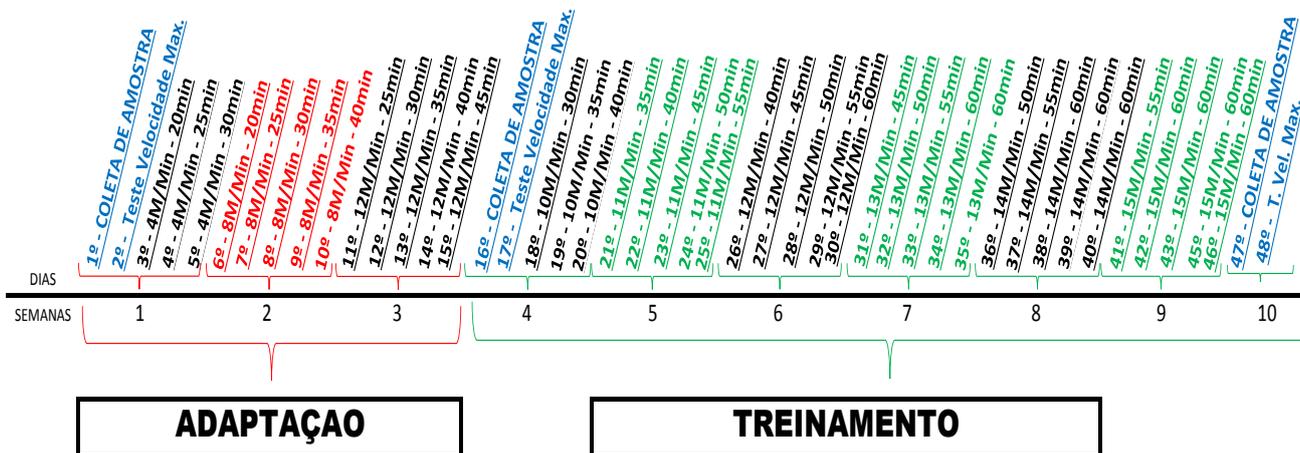
- Grupo Treinado 80% a 100% da Velocidade Máxima (Alta Intensidade)

Obs.: o grupo treinado em alta intensidade teve a velocidade aumentada até a

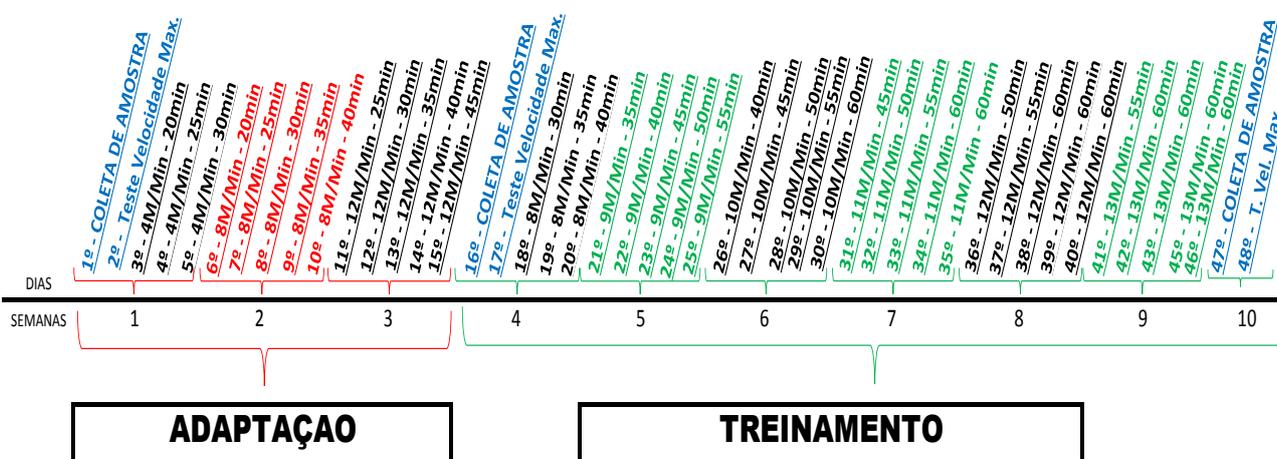


sexta semana, a partir da sétima semana a velocidade foi reduzida e o treinamento foi dividido em duas seções.

- Grupo Treinado 50% a 80% da Velocidade Máxima (Moderada Intensidade)



- Grupo treinado 30% a 50% da velocidade Máxima (baixa intensidade)



Determinação das Concentrações Séricas de HDL

Para verificar as variações lipídicas, os animais ficaram em repouso e após 48 horas do último treino e em jejum de 12 horas foram coletados os sangues dos animais pela cauda utilizando o método venopunção, foi coletado uma gota de sangue de 35ul para cada análise de HDL que serão analisadas pelo aparelho REFLOTORON por meio de tiras.

Amostras para análise

Ao final das nove semanas de treinamento, os camundongos ficaram sem alimentação por um período de 12 horas, e na sequência, foram pesados e anestesiados por via intraperitoneal (IP), usando-se Xilazina/Ketamina (Bayer AS* e Parke-Davis*) nas concentrações de 6 a 40 mg/Kg, respectivamente.

Para a remoção da artéria aorta, realizou-se a toractomia. Após isso, a aorta foi fixada em formalina a 10%. Em seguida foi incluída em parafina para os posteriores cortes histológicos de quatro micrômetros de espessura, de acordo com Junqueira et al. (1979).

Análise morfológica e morfométrica da artéria Aorta

Para análise da lesão aterosclerótica, foi utilizado o método de microscopia de luz, capturando as fotomicrografias através da câmera da marca *Motic* modelo *Moticam 5MP 0.5x*, acoplada ao microscópio óptico da marca *Motic* modelo *BA210E*. Foi utilizada a lente de 40x para captura das fotomicrografias.

Análise Estatística

Para a realização da análise estatística dos grupos envolvidos no estudo utilizou-se o método ANOVA OneWay para medidas repetidas adotando nível de significância de $p < 0,05$. Todos os valores foram mostrados em média e desvio padrão.

3 – RESULTADOS

A análise das concentrações plasmáticas da lipoproteína de alta densidade mostra que todos os grupos tiveram média alta nos valores encontrados (Tabela 1).

Tabela 1. Demonstração da média dos valores plasmáticos de HDL entre os grupos do estudo.

| Grupo | GS | TBI | TMI | TAI |
|--------------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|--------------------|
| N | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Níveis HDL plasmático (mg/dL) | 90,08±14,84 | 69,46±21,54 | 62,66±7,91 | 84,16±17,75 |

Os valores estão demonstrados em média e desvio padrão do respectivo grupo. Não houve diferença significativa.

E na análise morfológica e morfométrica da artéria aorta, os resultados encontrados foram interessantes.

O grupo TAI não apresentou lesão aterosclerótica. No entanto, identificou-se que o grupo sedentário apresentou um valor médio de área de lesão aterosclerótica de pequena expressividade. Da mesma forma, os grupos de baixa e moderada intensidade apresentaram área de lesão aterosclerótica com pouca gravidade (Tabela 2 e Anexo 1).

Tabela 2. Demonstração dos valores médios das áreas de lesão aterosclerótica dos grupos experimentais do nosso estudo.

| Grupo | GS | TBI | TMI | TAI |
|---|----------------|----------------|----------------|----------------|
| n | 7 | 7 | 7 | 7 |
| Área de lesão aterosclerótica (Sqµm) | 0,0000± | 0,0001± | 0,0000± | 0,0000± |
| | 0,00001 | 0,00015 | 0,00004 | 0,00000 |

Os valores estão demonstrados como média do respectivo grupo e desvio padrão. Não houve diferença significativa.

4 – DISCUSSÃO

Neste trabalho, ao analisar as concentrações plasmáticas de HDL percebemos que os animais do grupo GS tiveram os maiores valores do estudo. Na outra extremidade, no grupo TMI foi observado os menores valores encontrados nesta pesquisa. Ao compararmos os grupos TBI e TMI, identificamos que em baixa intensidade os níveis de lipoproteína de alta densidade foram maiores que em moderada intensidade. A média dos valores encontrados foi elevada ao comparar o GS do nosso estudo com o trabalho de Garcia et al. (2011) e inferior à Teodoro (2009) quando comparamos com os grupos TBI e TMI do nosso estudo.

Os animais estudados por nós, não foram acometidos radicalmente pelo processo inflamatório da aterosclerose na parede da artéria aorta. Uma possível explicação para isso pode ser o papel do HDL no transporte reverso, lembrando que identificamos nestes animais altos níveis plasmáticos de lipoproteína de alta densidade.

O grupo TBI apresentou leve lesão aterosclerótica. Ao comparar os grupos TBI e TMI, verificou-se que os camundongos TBI tiveram área de lesão aterosclerótica maior que o grupo TMI. No entanto, todos os grupos apresentaram a média da área de lesão aterosclerótica menor que no grupo TBI, pois nos outros grupos não se desenvolveu nenhum processo aterogênico.

O fato do grupo treinado em alta intensidade não apresentar indícios de aterogênese pode ser explicado por dois motivos: como primeiro motivo, poderemos considerar a ação antioxidante da lipoproteína de alta densidade, visto os elevados níveis de HDL notados neste grupo; e como segundo motivo, poderemos considerar a explicação no estudo de Teodoro (2009) que fala que o exercício de alta intensidade atua na ativação de importantes antioxidantes como as enzimas Superóxido dismutase (SOD), Catalase (CAT) e Glutathione Peroxidase (GPX), que podem ser responsáveis pela amenização de cargas de radicais livres, ajudando na precaução da formação de placas de ateroma. A SOD transforma o radical livre superóxido em peróxido de hidrogênio e as enzimas CAT e GPX convertem o peróxido de hidrogênio em água. Esse mecanismo ainda pode ser a causa do grupo TBI ter apresentado a maior área de lesão aterosclerótica dentre os grupos do estudo, tendo como hipótese que o exercício físico gerou uma quantidade

de EROs maior que a ativação das enzimas do sistema de defesa antioxidante, não permitindo a homeostase nesse processo metabólico.

No trabalho de Fernandes et al. (2009) os animais treinados a uma velocidade média de 15km/min e alimentados com dieta normolipídica foram acometidos pela lesão aterosclerótica. Isso não corrobora com nossa pesquisa, pois os animais TMI(velocidade média de 15 km/h) não demonstraram placa de ateroma na parede da aorta.

Ao analisarmos o grupo GS do nosso estudo, percebemos que não houve o surgimento de lesão aterosclerótica. Este fato, não se assemelha ao trabalho de Garcia et al. (2011), onde o grupo sedentário que recebia ração padrão para roedores apresentou placa de ateroma nos camundongos LDLr-/-.

5 – CONCLUSÃO

Ao fim desse trabalho, percebemos que o exercício físico possui um papel importante no processo anti-aterogênico. Porém, o impacto do treinamento físico nesta patologia pode variar de acordo com a intensidade do exercício. Tendo em vista que dentre os grupos treinados deste estudo, o grupo treinado em alta intensidade obteve resultados mais positivos quando comparados aos outros grupos. Vale ressaltar, que esse estudo não esclarece de forma precisa a ação anti-aterogênica do exercício físico. Isso porque outras variáveis merecem ser analisadas, entre elas os marcadores circulantes e teciduais relacionados à inflamação da aterosclerose.

Nesse sentido, faz-se necessário a realização de estudos mais aprofundados buscando encontrar respostas mais eficazes para tal problemática.

6 – REFERENCIAS

ACCIOLY, Marilita Falángola ET al. Effect of Physical exercise and statins on the muscle function in animals with dyslipidemia. **Sociedade Brasileira de Medicina do Exercício e do Esporte**, São Paulo, v. 18, n. 3, p.198-202, 30 jun. 2012. Bi Mestral.

BRASIL. Datasus. Ministério da Saúde. **Indicadores de Mortalidade**. 2011. Disponível em: <<http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?idb2012/c08.def>>. Acesso em: 17 jan. 2016.

BRASIL. SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. (Ed.). V Diretrizes Brasileira de Dislipidemias e prevenção da Aterosclerose. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 101, n. 4, p.1-36, 01 out. 2013. Anual. Disponível em: <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2013/V_Diretriz_Brasileira_de_Dislipidemias.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2016.

FERNANDES, Silvio Anderson Toledo et al., Efeito da dieta hiperlipídica e do treinamento aeróbio na aterosclerose em camundongos apoE^{-/-}. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**. [s.l.], v. 19, n. 6, p. 436-441 , nov/dez. 2013.

FERREIRA, Julio Cbet al. MAXIMAL LACTATE STEADY STATE IN RUNNING MICE: EFFECT OF EXERCISE TRAINING. **ClinExpPharmacolPhysiol**, [s.l.], v. 34, n. 8, p.760-765, ago. 2007. Wiley-Blackwell. DOI: 10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x. Disponível em: <<http://api.wiley.com/onlinelibrary/tdm/v1/articles/10.1111/j.1440-1681.2007.04635.x>>. Acesso em: 17 jan. 2016.

GARCIA, José Antonio Dias et al. Efeito anti-inflamatório da lipoproteína de alta densidade no sistema cardiovascular de camundongos hiperlipidêmicos. **Revista Portuguesa de Cardiologia**, [s.l.], v. 30, n. 10, p.763-769, out. 2011. Elsevier BV. DOI: 10.1016/s0870-2551(11)70024-5. Disponível em: <<http://api.elsevier.com/content/article/PII:S0870255111700245?httpAccept=text/xml>>. Acesso em: 17 jan. 2016.

JUNQUEIRA, L.C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R.R., 1979. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *The Histochemical Journal*, vol. 11, no. 4, p. 447-455.

LIMA, Emerson Silva; COUTO, Ricardo David. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio de Janeiro, p. 169-178. jun. 2006.

MITSUE ISOSAKI (São Paulo) (Ed.). **Mudança de estilo de vida pode salvar seu coração**. 2013. Disponível em: <<http://www.incor.usp.br/sites/incor2013/index.php/component/content/article/179-telemedicina/noticias/634-noticias06>>. Acesso em: 12 jan. 2016.

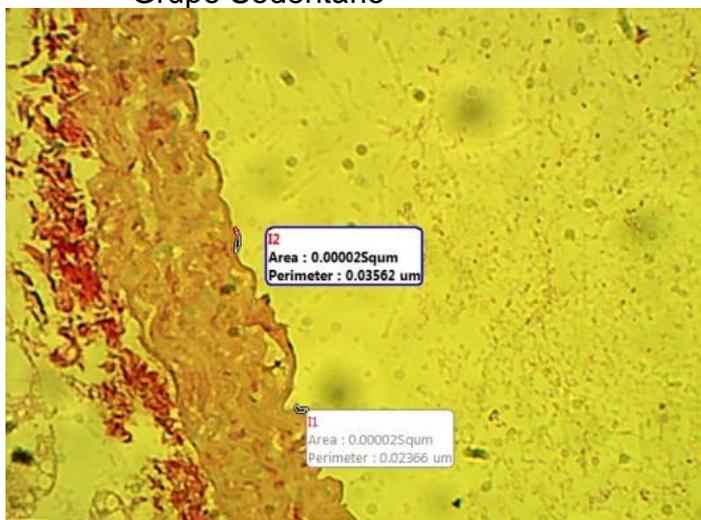
PRADO, Eduardo Seixas.; DANTAS, Estélio Henrique Martin. **Efeitos dos exercícios físicos aeróbio e de força nas lipoproteínas HDL, LDL e lipoproteína (a)**. *Arq. Bras. Cardiol.* [online]. 2002, vol.79, n.4, pp. 429-433. ISSN 1678-4170.

SANTOS, Hanna Veloso et al. Caracterização Laboratorial das Dislipidemias e o uso de fitoterápicos. **Revista Multtexto**, Montes Claros, v. 3, n. 1, p.21-28, jun. 2015. Anual.

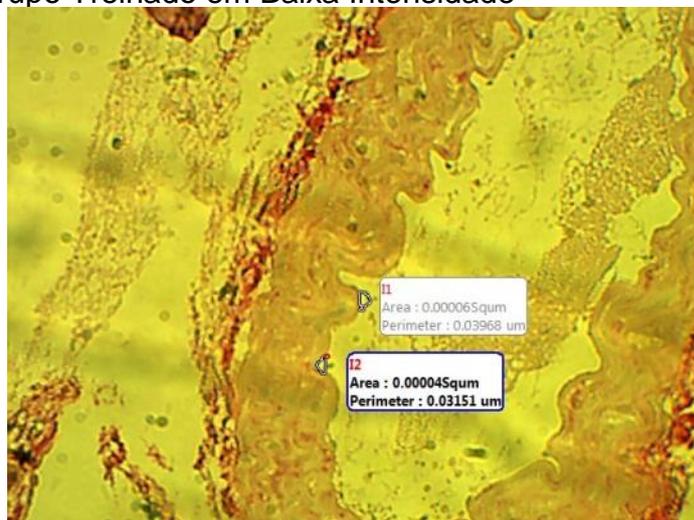
TEODORO, Bruno Gonzaga. **EFEITOS DA INTENSIDADE DO TREINAMENTO SOBRE PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO E DE PERFIL LIPÍDICO EM CAMUNDONGOS LDL^{-/-}**. 2009. 75 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Educação Física, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2009. Disponível em: <<http://www.ufjf.br/pgedufisica/files/2012/12/Disserta%C3%A7%C3%A3o-Bruno-Gonzaga.pdf>>. Acesso em: 15 jan. 2016

Anexo 1: Exposição da fotomicrografia da artéria aorta de um animal de cada grupo do estudo.

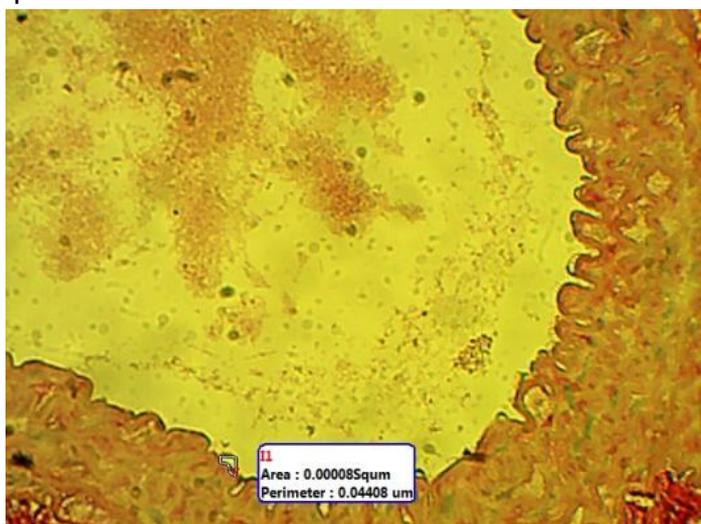
Grupo Sedentário



Grupo Treinado em Baixa Intensidade



Grupo Treinado em Moderada Intensidade



Grupo Treinado em Alta Intensidade

