

Caracterização da lesão muscular (apoptose ou necrose) no músculo de rato: frente ao exercício físico intenso e a resposta de defesa e reparo

Autores

Rozangela Verlengia

Apoio Financeiro

Fap

1. Introdução

O exercício físico pode induzir a lesão muscular. Entre os fatores propostos como responsáveis estão: o estresse mecânico, o estresse oxidativo, o distúrbio da homeostasia do cálcio intracelular e a resposta inflamatória (Clarkson & Sayers, 1999). Os fatores mecânicos e oxidativos iniciam a lesão e alguns mediadores inflamatórios e exacerbam a mesma nos dias que se seguem o exercício (Clarkson & Sayers, 1999).

O desencadeamento da lesão pode ainda estar relacionado com a presença de espécies reativas de oxigênio, elevação da temperatura e a diminuição do pH resultante do acúmulo do ácido láctico gerado durante o exercício (Smolka et al., 2000; Kregel, 2002)

A lesão muscular decorrente do estresse oxidativo tem sido relacionada com a presença de espécies reativas de oxigênio tais como: ânion superóxido ($O_2^{\cdot -}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidróxil ($\cdot OH$) produzidos em resposta ao consumo elevado de oxigênio pela mitocôndria durante os exercícios de alta resistência ou excêntricos (Sen, 2001, Tiidus 1998). Por outro lado, a ativação da xantina oxidase também tem sido proposta ser um importante sítio gerador de radicais livres (Viña et al., 2000).

Os oxidantes podem indiretamente induzir apoptose alterando o potencial redox celular, depletando a glutatona reduzida, reduzindo as concentrações de ATP, e diminuindo o equivalente reduzido tais como: NADH e NADPH (Costantin, et al., 1996; Zoratti & Szabo 1995; Bernardi & Petronilli, 1996). Essas alterações podem facilitar a formação de poros de permeabilidade de transição, conduzindo a subsequente liberação do citocromo c.

Várias pesquisas têm demonstrado a presença de mecanismos de defesa do músculo esquelético frente às alterações causadas pelo exercício. Alterações na atividade das enzimas anti-oxidantes (Ji, 1995; Powers & Lenon, 1999; Tiidus, 1998) em resposta a presença de espécies reativas de oxigênio.

2. Objetivos

Avaliar a resposta da atividade e da expressão gênica das enzimas antioxidante em diferentes períodos após sessão única de exercício exaustivo nos músculos sóleo de ratos.

3. Desenvolvimento

Protocolo de exaustão

Coleta das amostras

Um número total de 36 animais foram divididos em seis grupos de seis cada e após o exercício físico exaustivo foram sacrificado nos períodos: imediatamente; 1 hora; 2 horas; 4 horas; 8 horas após o término de realização do exercício físico e músculo sóleo foi removido para *posterior* análise.

Determinação da atividade enzimáticas no músculo sóleo

O protocolo de exaustão foi executado de forma gradativa conforme descrito por Pilis, 1993.

Determinação da expressão gênica

A expressão dos genes das enzimas Catalase, glutathione peroxidase (GPx) e as isoformas das Superóxide dismutase Cu-Zn e Mn foram avaliadas de acordo com Verlengia, 2004, 2003a, 2003b.

A atividade da Superóxide dismutase total (SOD-total) foi avaliada de acordo com (Beauchamp e Fridovich, 1971). A atividade da Catalase foi determinada de acordo com Beers & Sizer, 1952. A glutathione reductase foi avaliada de acordo com Carlberg & Mannervik, 1985.

4. Resultados

Os resultados indicam que para o músculo sóleo houve aumento ($p < 0,05$) na atividade da glutathione reductase nos períodos de 4 h (26%) e 8 h (16%) e diminuição na atividade da SOD total imediato (18,2%) e 8 h (9%). Em relação a expressão da SOD-CuZn aumentou 38,1% (1 h) e 39,2% (8 h).

5. Considerações Finais

Em conclusão, o exercício proposto promoveu alterações diferenciadas na atividade e na expressão gênica das enzimas antioxidante no músculo sóleo. Um provável aumento de peróxido nítrico ocorreu no músculo sóleo, com inibição da SOD. Já no músculo EDL uma via de inibição é observada com reflexo para glutatona.

Apoio Financeiro: FAPESP e Fundo de Apoio a Pesquisa-UNIMEP

Referências Bibliográficas

Beauchamp, C. & Fridovich, I. Superoxid dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. **Analyt. Biochem.**, 44: 276-287, 1971.

Beers Jr., R.F. & Sizer, J. W. A spectrophotometric method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **J. Biol. Chem.**, 195: 133-140, 1952.

Bernardi P, Petronilli V. The permeability transition pore as a mitochondrial calcium release channel: a critical appraisal. **J. Bioenerg. Biomembr.**, 28: 131-138, 1996.

Carlberg, I. & Mannervik, B. Glutathione reductase. **Methods in Enzymology**, 13: 484-490, 1985.

Clarkson, P.M. & Sayers, S.P. Etiology of exercise-induced muscle damage. **Can. J. Appl. Physiol.**, 24: 234-248, 1999.

Costantini, P., Chernyak, B.V., Petronilli, V., Bernardi, P. Modulation of the mitochondrial permeability transition pore by pyridine nucleotides and dithiol oxidation at two separate sites. **J. Biol. Chem.** 271: 6746-6751, 1996.

Ji, L.L. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. **Exercise and Sport Science Reviews**, 23: 135-166, 1995.

Kregel, K.C. Molecular Biology of thermoregulation invited review: heat shock proteins: modifying factors in physiological stress responses and acquired thermotolerance. **J. Appl. Physiol.**, 92, 2177-2186, 2002.

Pilis W, Zarzeczny R., Langfort J.,Wojtina J.,Anaerobic Threshold in Rats. **Biochem. Physiol.**, 106A p 285 – 289, 1993.

Powers, S.K. & Lennon, S.L. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc. Nutr. Soc.*, 58: 1025-1033, 1999.

Sen, C.K. Antioxidant and redox regulation of cellular signaling: introduction. **Med. Sci. Sports Exerc.**, 33: 368-370, 2001.

Smolka, M.B., Zoppi, C.C., Alves, A.A., Silveira, L.R., Marangoni, S., Pereira-da-Silva, L., Novello, J.C., Macedo, D.V. HSP72 as a complementary protection against oxidative stress induced by exercise in the soleus muscle of rats. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, 279: R1539-R1545, 2000.

Tiidus, P.M. Radical species in inflammation and overtraining. **Can. J. Physiol. Pharmacol.**, 76: 533-538, 1998.

Viña, J., Gomez-Cabrera, M-C, Lloret, A., Marquez, R., Miriiana, J.B., Pallardó, Sastre, J. Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. **IUBMB Life**, 50: 271-277, 2000.

Zoratti, M., Szabo, I.

The mitochondrial permeability transition. **Biochem. Biophys. Acta.**, 1241: 139-176, 1995.

Verlengia R, Gorjao R, Kanunfre CC, Bordin S, de Lima TM, Newsholme P, Curi R. Genes regulated by arachidonic and oleic acids in Raji cells. **Lipids**. 38(11):1157-1165, 2003a.

Verlengia R, Gorjao R, Kanunfre CC, Bordin S, de Lima TM, Curi R. Effect of arachidonic acid on proliferation, cytokines production and pleiotropic genes expression in Jurkat cells--a comparison with oleic acid. **Life Sci.**, 73(23):2939-2951,2003b.

Verlengia, R.; Gorjão, R.; Kanunfre, C.C.; Bordin, S.; Martins de Lima, T.; Martins, E.F.; Curi, R. Comparative effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on proliferation, cytokine production, and pleiotropic gene expression in Jurkat cells. **J. Nutr. Biochem.**, 15(11): 657-665, 2004.