AVALIAÇÃO DA TERAPÊUTICA COM GLP-1 ASSOCIADO AO EXERCÍCIO FÍSICO NO PERFIL DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE FATOR DE NECROSE TUMORAL ALFA (TNF-α) EM RATOS OBESOS.

Felipe de Oliveira Mendonça (PIBIC/Fundação Araucária), Dionizia Xavier Scomparin (Orientadora), e-mail: scomparindio@hotmail.com.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Geral.

Área: fisiologia e subárea: fisiologia de órgãos e sistemas.

Palavras-chave: Obesidade, citocinas, natação.

Resumo

A obesidade é uma doença inflamatória, a qual tem crescido rapidamente, afetando todos os grupos socioeconômicos. O fator de necrose tumoral alfa está intimamente relacionadas ao processo inflamatório. Foram utilizados ratos Wistar machos, com 21 dias. Divididos aleatoriamente em oito grupos experimentais. Concluímos que somente o exercício físico de intensidade moderada foi capaz de reduzir alguns estoque de tecido adiposo e o tratamento com o fármaco análogo de GLP-1 foi eficaz em reduzir o nível sérico de TNF-α.

Introdução

A prevalência da obesidade afeta praticamente todas as idades e todos os grupos socioeconômicos. A obesidade está relacionada ao processo inflamatório crônico, pois o aumento da secreção de citocinas como o fator de necrose tumoral – alfa (TNF-α) pelos adipócitos leva à resposta inflamatória com efeitos em todo o organismo. Incretinas são hormônios liberados pelo trato gastrointestinal, através da ingestão de nutrientes, que estimulam o aumento da secreção de insulina pelo pâncreas e tem como efeito colateral o emagrecimento. O exercício físico regular eleva o metabolismo energético, normalizando a dislipidemia, corrigindo a sensibilidade periférica à insulina. Sendo um instrumento terapêutico eficiente para atenuar o desenvolvimento da obesidade. O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do tratamento com GLP-1 associado ao exercício físico.

Materiais e Métodos

Foram utilizados ratos Wistar machos da espécie Rattus novergicus com 21 dias de vida, os animais foram obtidos e mantidos durante todo o período experimental no Núcleo de Assistência de Estudos da Vida (NAEV) da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEPG sob o número do processo 027/2014. Os animais foram divididos aleatoriamente em 8 grupos, de acordo com a tabela 1. Os animais dos grupos dieta receberam uma dieta especial chamada “dieta de cafeteria” (CAF) que consiste de pellets comuns da dieta com ração padrão e inclusão diária de alimentos industrializados com alto valor calórico e aplicados entre o 31° até ao 90º dia de vida dos animais, ou seja, iniciada 10 dias após o desmame. Os animais dos

grupos controle receberam ração padrão e água. Dos 80-90 dias de vida, todos os animais dos grupos "GLP-1" receberam injeções via subcutânea do análogo de GLP-1, na concentração de 0,6mg/kg diariamente. Ao 91º dia os animais foram sacrificados, sendo coletado o sangue em tubos, centrifugado, transferido para um novo tubo e retirados e pesados estoques de tecido adiposo retroperitoneal, mesentérico e perigonadal para estimativa da obesidade. A dosagem sérica do TNF-α foi realizada em microplacas de ELISA, seguindo-se pelo protocolo - ELISA: ABTS Sandwich, de acordo com PetroTech®. Os dados foram analisados pelo programa estatístico GraphPad Prism versão 5.0, através do Two-way Anova com pós-teste de Bonferroni, os valores estão expressos como média ± erro padrão da média (EPM), sendo o nível de significância adotado de 5% ($p<0,05$).

GRUPO:	DESCRIÇÃO:	ABREVITURA:
Controle Exercitado	Animais que receberam ração padrão e realizaram o exercício físico	(CONT EXE)
Controle GLP-1 Exercitado	Animais que receberam ração padrão, injeções subcutânea de GLP-1 e realizaram o exercício físico	(CONT EXE GLP-1)
Dieta Exercitado	Animais que receberam dieta de cafeteria + ração padrão e realizaram o exercício físico	(DIET EXE);
Dieta GLP-1 Exercitado	Animais que receberam dieta de cafeteria + ração padrão, injeções subcutânea de GLP-1 e realizaram o exercício físico	(DIET EXE GLP-1)
Controle Sedentário	Animais que receberam somente a ração padrão	(CONT SED)
Controle GLP-1 Sedentário	Animais que receberam ração padrão e injeções subcutânea de GLP-1	(CONT SED GLP-1)
Dieta Sedentário	Animais que receberam dieta de cafeteria + ração padrão	(DIET SED)
Dieta GLP-1 Sedentário	Animais que receberam dieta de cafeteria + ração comercial, injeções subcutânea de GLP-1	(DIET SED GLP-1)

Tabela 1: divisão aleatória dos grupos experimentais.

Protocolo de Exercício Físico: Aos 21 dias de vida após a divisão dos grupos experimentais o treinamento de exercício físico deu-se início para todos os grupos exercitados e persistiram até os 90 dias. O protocolo é a natação realizada em tanque de concreto, com água aquecida (32 ± 2ºC), com duração de 15 minutos / 3 vezes na semana. Na primeira semana os animais foram submetidos a um programa de adaptação ao meio líquido, que consistiu em natação livre de sobrecarga, durante 5 minutos, nas três primeiras sessões. A partir da segunda semana e adaptados, foi adicionada uma carga equivalente a 5% do peso corporal, o qual foi afixado no abdômen de cada animal. A carga equivalente de 5% do peso corporal corresponde a um treinamento de intensidade moderada, corroborando com estudos de SCOMPARIN, et al. 2006.

Resultados e Discussão

A dieta de cafeteria, foi capaz de promover aumento de tecido adiposo corporal, consequentemente elevando o peso corporal, corroborando com a literatura (LLADÓ et al., 1995). Verifica-se na figura 01, 02 e 03 que o treinamento físico de intensidade moderada diminuiu significativamente o peso absoluto do tecido adiposo dos grupos: controle EXE vs. controle SED e (figura 01 e 03) Dieta CAF EXE vs. Dieta CAF SED. Na figura 02 o exercício físico foi capaz de diminuir significativamente o peso

absoluto do tecido adiposo do grupo Dieta CAF EXE vs. Dieta CAF SED+GLP-1. A figura 03 mostra que o grupo Dieta CAF exercitado aliado ao GLP-1 houve diminuição da gordura em relação ao grupo Dieta CAF sedentário. É bem estabelecido na literatura que a obesidade causa um processo inflamatório, dessa forma humanos e animais obesos apresentam aumento do perfil das citocinas pró-inflamatórias na corrente sanguínea (KIRCHGESSNER, 1997). Nossos resultados mostraram (figura 04) diferenças significativas na redução do perfil sérico de TNF-α entre os grupo Dieta CAF sedentário tratado com GLP-1 em comparação ao grupo Dieta CAF sedentário, resultados confirmatórios, já que por ter um perfil anorexígeno, o GLP-1 tem efeito em diminuir os estoques de gordura, diminuindo assim o perfil inflamatório, por outro lado os grupos Controle SED+GLP-1 e Controle EXE+GLP-1 quando comparados com Controle SED houve um aumento desse perfil. O fato de existirem poucos trabalhos na literatura investigando o papel do GLP-1 no perfil sérico de TNF-α, nos fazem a levantar hipóteses que justifiquem tal resultado, como por exemplo, a administração fármaco e o exercício ter gerado um processo inflamatório somente nos animais controle.

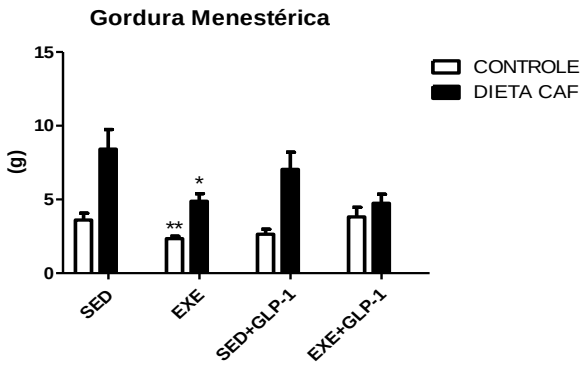


Figura 01- Efeito da associação do exercício físico com o tratamento com GLP-1 no peso absoluto da gordura mesentérica. Os dados são a média±EPM. O símbolo sobre a coluna indica diferença significativa de p≤0.05 entre os grupos: (*) DIETA CAF SED vs. DIETA CAF EXE; (**) CONTROLE EXE vs. CONTROLE SED.

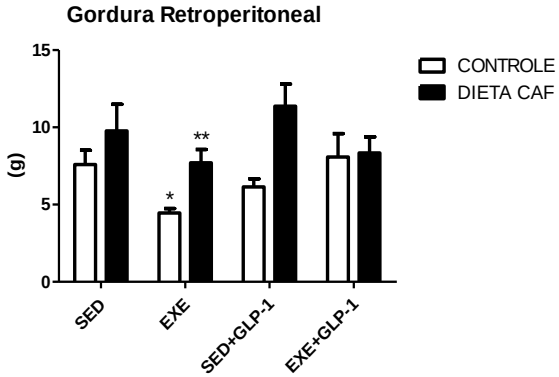


Figura 02 - Efeito da associação do exercício físico com o tratamento com GLP-1 no peso absoluto da gordura retroperitoneal. Os dados são a média±EPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças significativas de p≤0.05 entre os grupos: (*) CONTROLE EXE vs. CONTROLE SED; (**) DIETA CAF EXE vs. DIETA CAF SED+GLP-1.

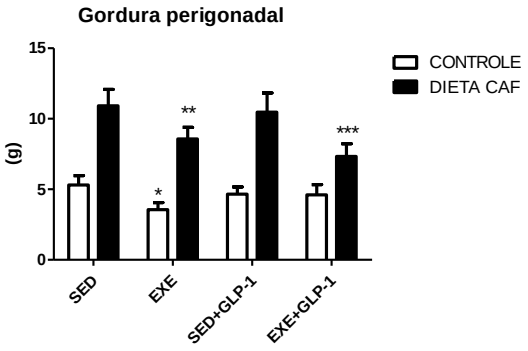


Figura 03- Efeito da associação do exercício físico com o tratamento com GLP-1 no peso absoluto da gordura perigonadal. Os dados são a média±EPM. Os símbolos sobre as colunas indicam diferenças significativas de p≤0.05 entre os grupos: (*) CONTROLE SED vs. CONTROLE EXE; (**) DIETA CAF SED vs. DIETA CAF EXE; (***) DIETA CAF SED vs. DIETA CAF EXE+GLP-1.

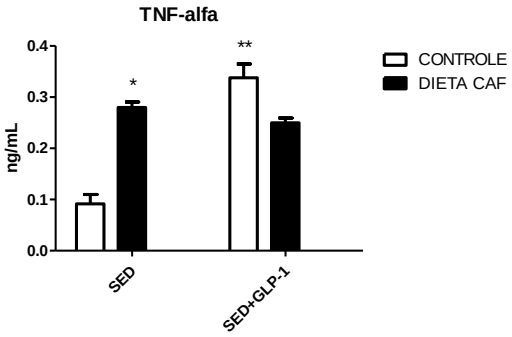


Figura 04- Efeito da associação do exercício físico com o tratamento com GLP-1 na concentracao de TNF-alfa sérico. Os dados são a média±EPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças significativas de p≤0.05 entre os grupos: (**) CONTROLE SED vs. CONTROLE EXE+GLP-1; (*) DIETA CAF SED vs. DIETA CAF SED+GLP-1.

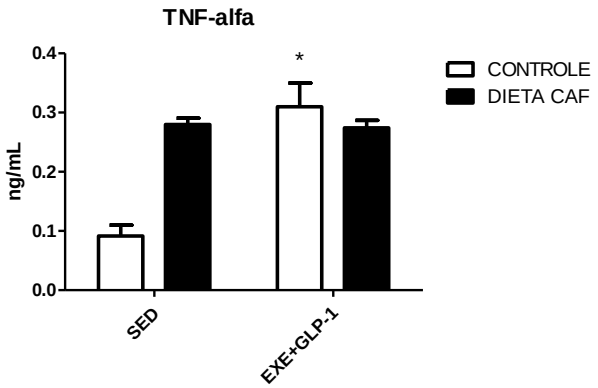


Figura 05- Efeito da associação do exercício físico com o tratamento com GLP-1 na concentracao de TNF-alfa sérico. Os dados são a média±EPM. Os símbolos sobre as barras indicam diferenças significativas de p≤0.05 entre os grupos: (*) CONTROLE SED vs. CONTROLE EXE+GLP-1.

Conclusões

Conclui-se que somente o exercício físico de intensidade moderada foi capaz de reduzir alguns estoque de tecido adiposo e o tratamento com o fármaco análogo de GLP-1 foi eficaz em reduzir o nível sérico de TNF-α.

Agradecimentos

Ao PIBIC (Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica) – Fundação Araucária, pela bolsa, à Profª Dra. Dionizia Xavier Scomparin, pela oportunidade e incentivo pela pesquisa; aos discentes envolvidos da iniciação científica.

Referências

KIRCHGESSNER, T.G.; UYSAL, K.T.; WIESBROCK, S.M.; MARINO, M.W.; HOTAMISLIGIL, G. S. Tumor necrosis factor-alpha contributes to obesity-related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes. Journal of Clinical Investigation, v. 100, n. 11, p. 2777-2782, 1997.

SCOMPARIN, D. X.; GRASSIOLLI, S.; MARÇAL, A. C.; GRAVENA, C. et al. Swim training applied at early age is critical to adrenal medulla catecholamine content and to attenuate monosodium L-glutamate-obesity onset in mice. Life Sciences. v.79, n. 22, p. 2151–2156, 2006.

LLADÓ, I.; PICO, C.; PALOU, A.; Protein anda mino acid intake in cafeteria fed obese rats. Physiol. Behav., 58:513-519, 1995.