

Influência do exercício agudo no metabolismo de ratos com hipertireoidismo

Influence of acute exercise on the metabolism of rats with hyperthyroidism

BECK WR, ANDRADE LP, CARITÁ RAC, YAMA AK, DALIA RA, LEME JACA *et al.* Influência do exercício agudo no metabolismo de ratos com hipertireoidismo. **R. bras. Ci. e Mov** 2011;19(2):19-25.

RESUMO: Diversas investigações são encontradas na literatura apresentando características de intolerância ao exercício em indivíduos com hipertireoidismo. Apesar do apontamento de alguns motivos que explicariam tal fenômeno, poucos analisam as influências do exercício físico agudo no metabolismo glicídico e protéico de animais com esta patologia. Diante deste contexto, o objetivo do presente estudo foi analisar a influência de uma sessão de exercício físico aeróbico no metabolismo glicídico e protéico de ratos hipertireoideanos. Para tal, foram utilizados 26 ratos que foram mantidos em biotério com alimentação, temperatura ambiente e ciclo claro/escuro controlados, distribuídos nos seguintes grupos: controle repouso (CR) e controle exercício agudo (CA); hipertireoidismo repouso (HR) e hipertireoidismo exercício agudo (HA). Os animais do grupo hipertireoidismo foram induzidos ao quadro patológico por meio da administração de levotiroxina sódica por um período de 10 dias. Foi registrado o peso corporal, ingestão hídrica e alimentar, além de analisadas algumas variáveis teciduais e séricas. Com auxílio da estatística paramétrica e não paramétrica foram encontradas alterações no peso corporal e em variáveis séricas e teciduais quando comparados os grupos. Foi encontrado maior peso corporal nos grupos controle em relação aos animais com hipertireoidismo. A albumina e as proteínas mostraram-se maiores nos animais controle. A glicose apresentou reduzida concentração no HR e elevada no CA. A concentração de glicogênio apresentou-se elevada no tecido muscular para HR e hepático para CR. A razão proteína/DNA não sofreu alterações no tecido muscular, enquanto apresentou algumas modulações significativas no tecido hepático. Diante das modulações séricas e teciduais encontradas, concluímos que o exercício físico agudo parece ser capaz de alterar a dinâmica metabólica glicídica e protéica, sérica e tecidual em ratos com hipertireoidismo.

Palavras-chave: Hipertireoidismo; Natação; Exercício; Ratos; Metabolismo.

ABSTRACT: Several investigations are found in the literature showing characteristics of exercise intolerance in patients with hyperthyroidism. Despite the appointment of some reasons that explain this phenomenon, few studies analyze the influences of acute physical exercise on glicidic and proteic metabolism in animals with this disease. In this context, the objective of this study was to analyze the influence of an acute bout of aerobic exercise on glicidic and proteic metabolism in rats with hyperthyroidism. For this purpose, were used 26 rats, kept in cages with food, temperature and light/dark cycle controlled, divided into the following groups: resting control (CR) and control acute exercise (CA); hyperthyroidism rest (HR) and hyperthyroidism acute exercise (HA). The animals of group hyperthyroidism were induced by the pathological status with the administration of levothyroxine for a 10 d period. It was recorded the body weight, food and water intake, and some tissues and serum variables were analyzed. Using parametric and non parametric statistical tools, changes were found in body weight, besides serum and tissue variables when comparing the groups. Was found higher body weight in the control groups when compared to hyperthyroidism groups. The albumin and protein were higher in control animals. Glucose concentration was reduced in HR and elevated in CA. The glycogen concentration was increased in muscle tissue and liver for HR in relation to CR. The protein content, DNA and ratio protein/DNA have not changed in muscle tissue, while some showed significant modulations in liver tissue. Given the modulations found in serum and tissue, we conclude that acute physical exercise seems to be able to change the dynamics of protein and carbohydrate metabolism, serum and tissue in rats with hyperthyroidism.

Key Words: Hyperthyroidism; Swimming; Exercise; Rats; Metabolism.

Wladimir R. Beck¹
Larissa P. de Andrade¹
Renato A. C. Caritá¹
André K. Yamada¹
Rodrigo A. Dalia¹
José A. C. A. Leme¹
Maria A. R. Mello¹
Eliete Luciano¹

¹UNESP

Enviado em: 24/02/2011
Aceito: 19/11/2011

Contato: Wladimir Rafael Beck - ten_beck@hotmail.com

Introdução

Diferenças na concentração plasmática dos hormônios tireoideanos são capazes de desencadear diversas alterações fisiológicas no organismo, afetando sistemas e por vezes trazendo consequências indesejáveis ao indivíduo. Por conta disso, grande é o esforço no meio científico no sentido de investigar essas alterações e propor tratamentos. O hipertireoidismo, também conhecido como tireotoxicose, é uma condição causada por elevações nas concentrações dos hormônios da tireóide livres na circulação sanguínea. Este termo é relativo àquelas situações em que a liberação ou a produção dos hormônios da tireóide está aumentada devido à hiperfunção da glândula¹. Como principais consequências e manifestações clínicas, destacam-se o estado hiper-metabólico, conduzindo à perda de peso, fraqueza muscular, exoftalmia, irritabilidade, ansiedade, taquicardia, tremores, distúrbios do sono, paranóia e depressão². Sabe-se que cerca de 1-2% dos pacientes com hipertireoidismo evoluem para um evento fisiologicamente estressante chamado de 'tempestade tireóide', cujos sintomas são falhas cardíacas e arritmias, intolerância ao calor, perda de apetite, perda de peso, tremores e febre³. Além disso, são conhecidas profundas consequências sobre o sistema cardiovascular como aumento do débito cardíaco⁴, sendo associado, neste contexto, à intolerância ao exercício físico¹.

Apesar dos diversos estudos relacionando o exercício com hipertireoidismo, poucos são os que investigaram alterações causadas pela realização de uma única sessão de exercício físico no metabolismo glicídico e protéico. Com isso, o objetivo deste trabalho foi analisar possíveis alterações glicídicas e protéicas no soro, no fígado e no músculo esquelético de ratos com hipertireoidismo, após uma sessão aguda de exercício físico.

Materiais e métodos

Foram utilizados 26 ratos adultos-jovens (100 dias) da linhagem Wistar, provenientes do Biotério Central da UNESP – Campus de Botucatu e mantidos no Biotério do Laboratório de Biodinâmica do Departamento

de Educação Física, Instituto de Biociências da UNESP – Universidade Estadual Paulista, Campus de Rio Claro. Os animais foram alojados em gaiolas de polietileno (quatro ratos por gaiola), mantidos à temperatura ambiente de 25° C ± 1, fotoperíodo de 12 horas claro/escuro e alimentados com ração balanceada padrão Purina® para roedores e água *ad libitum*. O experimento foi realizado de acordo com a legislação Brasileira corrente e as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal-COBEA foram rigorosamente seguidas.

Indução do hipertireoidismo

O hipertireoidismo experimental foi induzido com injeção diária de levotiroxina sódica via intraperitoneal (25 µg/100 g de peso corporal), durante o período de 10 dias⁵.

Delineamento experimental

Neste estudo transversal os animais foram distribuídos em quatro grupos: Controle repouso (CR) - ratos que não realizaram exercício físico (n=6); Controle agudo (CA) - ratos que realizaram a sessão de exercício físico agudo (n=6); Hipertireoidismo repouso (HR) - ratos induzidos ao hipertireoidismo que não realizaram exercício físico agudo (n=7) e Hipertireoidismo Agudo (HA) - ratos induzidos ao hipertireoidismo que realizaram a sessão de exercício físico agudo (n=7).

Adaptação ao meio líquido e protocolo de exercício agudo

Previamente ao exercício agudo foi realizada a adaptação dos animais ao meio líquido. Inicialmente, os animais permaneceram em água rasa por 10 minutos no primeiro dia e 20 minutos no segundo dia. No terceiro dia de adaptação os animais foram mantidos durante 10 minutos em água profunda e no quarto dia durante 10 minutos em água profunda portando uma mochila com velcro acoplada ao tórax. Por fim, no quinto dia os animais foram mantidos em água profunda por 10 minutos com mochila contendo pesos de chumbo equivalentes à de 5% do peso corporal. Os ratos que participaram dos grupos de exercício (CA e HA) foram

21 Exercício agudo e hipertireoidismo

submetidos, imediatamente antes do sacrifício, a sessão única de exercício de natação, por 20 minutos, suportando sobrecarga equivalente a 5 % do peso corporal. A sessão de natação foi realizada em recipiente de 100 cm de comprimento, 70 cm de largura e 60 cm de altura com a temperatura da água mantida em $31\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante a realização do exercício.

Avaliações prévias ao sacrifício dos animais

Durante o período experimental, o peso corporal, ingestão hídrica e ingestão alimentar (realizadas por pesagem do líquido ou da ração a cada 24 horas) foram registrados para fins de posterior análise.

Avaliações após o sacrifício dos animais

Ao final do período experimental todos os ratos foram anestesiados em câmara de CO_2 até sua sedação, sendo posteriormente eutanasiados por decapitação. Amostras de sangue foram coletadas e centrifugadas a 3000 rpm por 10 minutos e por meio das amostras de soro sobrenadante foram realizadas as análises de glicose, proteínas totais e albumina pelo método enzimático colorimétrico através de kits comerciais (Laborlab[®]). Foram coletadas amostras do músculo esquelético gastrocnêmio e do fígado para as análises de glicogênio pelo método colorimétrico do fenol em meio ácido⁶, proteínas pelo método colorimétrico proposto por Lowry *et al.*⁷ e DNA através do método da difenilalanina e lido em espectrofotômetro⁸.

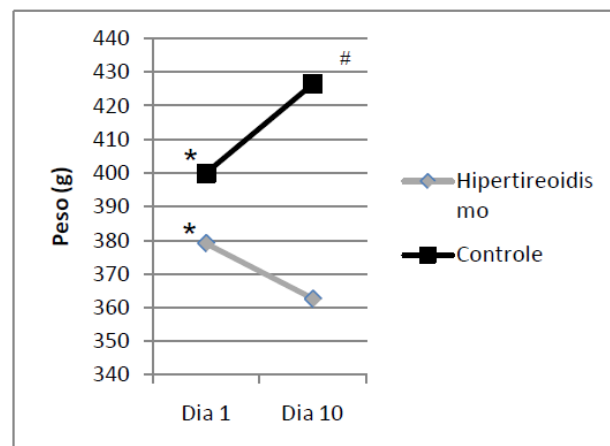
Análise estatística

Todas as amostras foram submetidas ao protocolo de *Shapiro-Wilk* para verificação dos padrões de normalidade. Para a análise das variáveis normais foi utilizada a estatística paramétrica. ANOVA two-way com *post Hoc de Newmann-Keuls* para os dados de soro e tecidos e teste t para análise dos resultados de peso, sendo pareado para análise entre mesmo grupo (dia 1 e dia 10) e não pareado para análises entre grupos. Para as variáveis não normais foi utilizada a transformação em logaritmos. As variáveis normais a partir deste procedimento seguiram o padrão de análise paramétrica e os casos de

permanência em condição não normal foi utilizada a estatística não paramétrica para a análise de variância de múltiplas variáveis independentes (*Kruskal-Wallis ANOVA and Median test*). Para todos os casos foi utilizado um nível de significância de 5%.

Resultados

Como os animais foram distribuídos nos grupos agudo e repouso apenas antes do sacrifício e os mesmos foram pesados e medidos antes do exercício agudo os resultados referentes ao peso são apresentados apenas nos grupos hipertireoidismo e controle. A figura 1 apresenta os resultados referentes ao peso dos animais do grupo controle ($399,95 \pm 34,22\text{g}$ e $426,45 \pm 39,56\text{g}$ nos dias 1 e 10 respectivamente) e grupo hipertireoidismo ($379,11 \pm 41,66\text{g}$ e $362,63 \pm 30,98\text{g}$ nos dias 1 e 10 respectivamente). Os animais iniciaram o período de indução com peso igual estatisticamente quando comparados os grupos hipertireoidismo e controle. Enquanto o grupo controle apresentou aumento de peso, o grupo hipertireoidismo apresentou queda quando comparado o dia 1 com o dia 10 da fase de indução à patologia, terminando o experimento com diferença significativa, conforme sinaliza a figura 1.



* $p < 0,05$ em relação ao dia 10 do mesmo grupo
$p < 0,05$ em relação ao grupo hipertireoidismo no mesmo período

Figura 1. Resultados de peso dos animais do grupo hipertireoidismo e grupo controle no momento inicial (dia 1) e final (dia 10) do experimento

Não foram encontradas diferenças significantes entre o período inicial e final nos dados de ingestão alimentar e hídrica quando analisados os grupos

hipertireoidismo em relação aos grupos controle, conforme apresentado na figura 2.

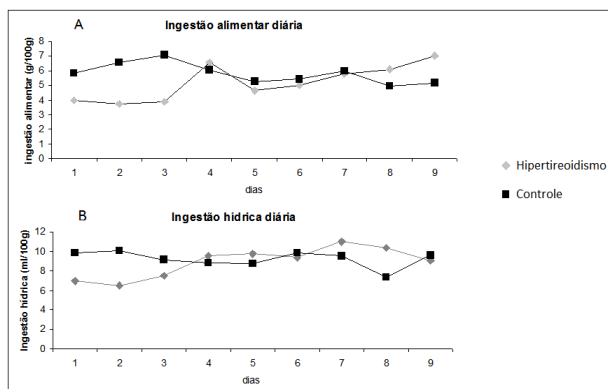


Figura 2. Resultados da monitoração de ingestão alimentar (A) e hídrica (B) durante o período de indução ao hipertireoidismo

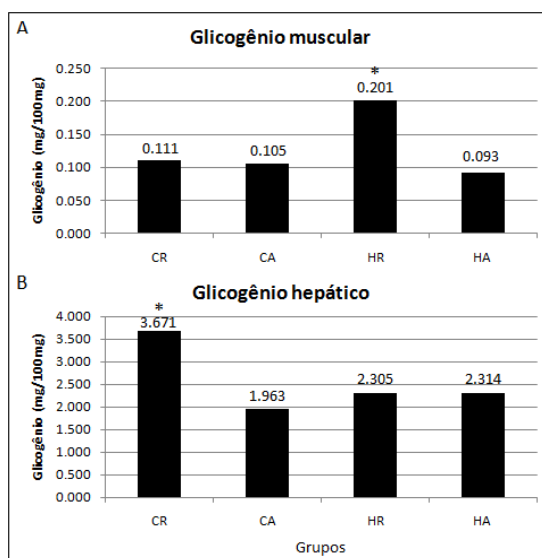
A partir do sangue coletado dos animais no momento do sacrifício foi possível realizar a determinação das concentrações séricas de proteínas totais, albumina e glicose. Esses dados estão apresentados na tabela 1.

As concentrações de glicogênio estão apresentadas na figura 3. O glicogênio muscular no exercício agudo reduziu no grupo hipertireoidismo exercitado quando comparado com o grupo repouso. Esta alteração não foi observada nos grupos controle. Já no tecido hepático a grande redução causada pelo esforço na concentração de glicogênio ocorreu no grupo controle, permanecendo o grupo hipertireoidismo praticamente sem alterações nesse tecido em resposta ao exercício.

Tabela 1. Resultados das concentrações de proteínas totais, albumina e glicose para os grupos controle repouso (CR), controle agudo (CA), hipertireoidismo repouso (HR) e hipertireoidismo agudo (HA) expressos em média \pm desvio padrão

	Proteínas totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Glicose (mg/dL)
CR	7,30 \pm 0,32	4,15 \pm 0,28	117,43 \pm 12,73
CA	8,21 \pm 0,34 ^a	4,56 \pm 0,26	209,38 \pm 29,08 _a
HR	6,20 \pm 0,33 ^{a,b}	3,70 \pm 0,35 ^b	109,64 \pm 12,16 ^b
HA	6,77 \pm 0,22 ^{a,b,c}	4,40 \pm 0,65 ^c	156,50 \pm 30,28 ^{a,b,c}

Legenda: ^a p<0,05 em relação à CR; ^b p<0,05 em relação à CA; ^c p<0,05 em relação à HR, todos considerando a mesma variável



Legenda: * p<0,05 em relação a todos os outros grupos na mesma variável

Figura 3. Resultados das concentrações de glicogênio hepático (A) e glicogênio do músculo esquelético (B, gastrocnêmio) para o grupo controle repouso (CR) e controle agudo (CA), hipertireoidismo repouso (HR) e hipertireoidismo agudo (HA), expresso em miligramas de glicogênio / 100gramas de tecido

O tecido muscular não apresentou alterações nas quantidades de proteínas totais, DNA e razão proteína/DNA em nenhum dos grupos. Já no tecido

hepático foram encontradas diferenças no grupo hipertireoidismo em relação ao controle (tabela 2).

Tabela 2. Resultados de proteínas totais (PROT), DNA e razão proteína/DNA (PROT/DNA) dos tecidos músculo-esquelético (gastrocnêmio) e hepático para os grupos hipertireoidismo repouso (HR), hipertireoidismo agudo (HA), controle repouso (CR) e controle agudo (CA), expressos em média \pm desvio padrão

	TECIDO MUSCULAR			TECIDO HEPÁTICO		
	PROT (mg/100mg)	DNA (mg/g)	PROT/ DNA	PROT (mg/100mg)	DNA (mg/g)	PROT/ DNA
CR	3,10 \pm 0,36	0,03 \pm 0,01	106,36 \pm 2,62	4,30 \pm 0,32	0,11 \pm 0,02	38,52 \pm 5,10
CA	3,10 \pm 0,48	0,03 \pm 0,01	99,12 \pm 12,58	4,53 \pm 0,45	0,13 \pm 0,02	35,51 \pm 3,67
HR	3,26 \pm 0,70	0,03 \pm 0,01	116,77 \pm 3,55	5,08 \pm 0,75 ^a	0,11 \pm 0,02	47,56 \pm 5,39 ^{ab}
HA	3,47 \pm 0,58	0,03 \pm 0,01	120,49 \pm 3,25	6,12 \pm 1,51 ^{ab}	0,14 \pm 0,01 ^{ac}	44,58 \pm 10,18 ^{ab}

Discussão

O estabelecimento do quadro de hipertireoidismo pode ser confirmado quando se analisam os resultados de peso e ingestão alimentar e hídrica dos animais estudados. Em nosso estudo foi observada uma queda no peso dos animais do grupo hipertireoidismo em relação ao controle mesmo quando mantidos os padrões de ingestão hídrica e alimentar comparando os grupos. Uma característica do hipertireoidismo é o aumento do metabolismo em geral conduzindo o paciente a um quadro de maior ingestão alimentar e hídrica, associados a uma diminuição do peso corporal. Tal situação referente ao peso corporal foi clara neste estudo, mostrando que a metodologia utilizada por Hu *et al.*⁵ foi capaz de induzir a patologia conforme o esperado, possibilitando assim a continuação das análises comparativas entre o grupo induzido e o grupo controle em apenas 10 dias de experimento.

O aumento da concentração de glicose sérica era esperado nos grupos exercitados se comparados aos animais avaliados em repouso, devido ao efeito do exercício agudo na homeostasia glicêmica. O exercício é capaz de promover modificações no perfil metabólico geral que varia conforme a duração, volume, intensidade do esforço, bem como em diferentes estados nutricionais de condicionamento físico e quadros patológicos dos exercitados. No presente estudo, o aumento glicêmico pode ter ocorrido pela mobilização de glicose das reservas

hepáticas na forma de glicogênio em consequência às respostas hormonais regulatórias e contra regulatórias ao exercício como alterações nas concentrações séricas de cortisona, hormônio do crescimento, adrenalina, glucagon e insulina^{9,10}.

Resultados interessantes puderam ser visualizados nas reservas de glicogênio muscular após exercício agudo, sofrendo grande mobilização no grupo hipertireoidismo. Isso pode ter ocorrido em razão dos fatores decorrentes da própria patologia, onde o hipertireoidismo acarreta um maior consumo basal, tendo como consequência um maior consumo de oxigênio pelos tecidos, garantido também pela vasodilatação e o aumento concomitante do débito cardíaco¹¹.

Já no tecido hepático a grande mobilização causada pelo esforço na concentração de glicogênio ocorreu exatamente no grupo controle, permanecendo o grupo com hipertireoidismo praticamente sem alterações nesse tecido. Uma provável explicação seriam mudanças metabólicas do fígado em função das diferenças de suprimento sanguíneo e na distribuição do glicogênio¹², e também fatores decorrentes da própria patologia.

Nosso estudo parece indicar que a mobilização do glicogênio na condição de exercício agudo depende do armazenamento prévio do substrato no tecido. Como o hipertireoidismo induziu uma concentração mais elevada no músculo, essa disponibilidade favoreceu a sua

mobilização, mantendo a homeostasia glicêmica.

O aumento da glicemia em ambos os casos no exercício agudo também pode ser decorrente do aumento da produção de glicose de substratos gliconeogênicos quando os estoques de glicogênio caem¹³. Esse efeito observado pode ter importância metabólica e evitar a possível hipoglicemia.

Nesse estudo, pôde-se observar aumento de proteínas séricas no grupo que realizou exercício agudo, tanto em ratos que tinham hipertireoidismo, quanto nos ratos que não apresentavam esta condição patológica, assim como ocorreu com os valores de albumina sérica, apenas não sendo significativa a diferença para esta variável no grupo controle. Ao estudar um treinamento exaustivo em ciclo ergômetro com homens atletas, Poortmans¹⁴ encontrou aumento de proteína total no sangue. O aumento da concentração de proteínas séricas também pode ser encontrado em situação de fase aguda, principalmente em situações de infecções, doenças necrosantes e collagenases¹⁵.

A aceleração do metabolismo observado quando presente o quadro de hipertireoidismo pode promover crescimento em alguns tecidos. Esse crescimento tecidual pode ser decorrente de um aumento do número de células (hiperplasia), aumento do tamanho da célula (hipertrofia), ou até mesmo por ambos simultaneamente. O número de células pode ser medido determinando-se o conteúdo total de DNA do órgão e dividindo o conteúdo de DNA por núcleo diplóide na espécie em estudo¹⁶. O resultado então pode ser expresso em razão peso/DNA ou proteína/DNA. Um maior conteúdo de DNA representa o aumento do número de células, enquanto as maiores razões representam o aumento da massa tecidual sem levar em conta o um crescimento na contagem do número de células. Não encontramos nenhuma diferença nas concentrações de proteína, DNA, Prot/DNA muscular, proteína do tecido hepático e prot/DNA tecido hepático. Houve alterações significativas apenas no DNA do tecido hepático, talvez mostrando um possível efeito protetor da hiperplasia já que não houve redução singular dos estoques de glicogênio. Portanto, isso indica que possivelmente o exercício agudo ou a indução ao quadro

de hipertireoidismo não foram capazes de promover alterações na estrutura da massa tecidual nos tecidos estudados. Talvez o treinamento físico crônico (semanas) pudesse produzir efeitos significantes no tamanho e no número dos tecidos analisados.

Conclusões

Podemos concluir que parece ter se efetivado a instalação de um quadro de hipertireoidismo nos animais do grupo induzido em um período relativamente curto de experimento (10 dias) e que o exercício agudo foi capaz de causar alterações no metabolismo glicídico e protéico em animais portadores de hipertireoidismo tanto no soro quanto nos tecidos analisados. Nosso estudo mostrou que a utilização de glicogênio parece ser dependente da concentração inicial deste metabólito, apontando maior utilização para o tecido com maior estoque prévio ao esforço. No entanto, mais estudos são necessários para o completo entendimento os mecanismos reguladores do metabolismo glicídico e protéico em animais com hipertireoidismo.

Referências

1. Farwell AP, Braverman LE. Thyroid and antithyroid drugs. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics** 2005;11(56):1383-1409.
2. Smith JW, Evans AT, Costall B, Smythe JW. Thyroid hormones, brain function and cognition: a brief review. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews** 2002;26:45-60.
3. Ngo SYA, Chew HC. When the storm passes unnoticed – a case series of thyroid storm. When the storm passes unnoticed—A case series of thyroid storm. **Resuscitation** 2007;73(3):485-490.
4. Freedberg SA, Hamolsky MW. Effects of thyroid hormones on certain nonendocrine organ systems. **Handbook of physiology, endocrinology, thyroid** 1974;3:435-468.
5. Hu LW, Benvenuti LA, Liberti EA, Carneiro-Ramos MS, Barreto-Chaves ML. Thyroxine-induced cardiac hypertrophy: influence of adrenergic nervous system versus renin-angiotensin system on myocyte remodeling. **American Journal of Physiology Regulatory Integrative and Comparative Physiology** 2003;285(6):R1473-1480.
6. Dubois B, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA. Colorimetric method for determination of sugar and related substances. **Analytical Chemistry** 1956;28:350-356.

7. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folinphenol reagent. **Journal of Biological Chemistry** 1951;193(1):265-275.
8. Giles KW, Myers A. An improved diphenylamine method for the estimate of desoxyribonucleic acid. **Nature** 1965;206(93):34-45.
9. Rogatto GP, Luciano E. . Efeitos do treinamento físico intenso sobre o metabolismo de carboidratos. **Revista Brasileira de Atividade Física e Saúde** 2001;6(2):39-46.
10. Forjaz, CLM, Cardoso CG, Rezk C, Santaella D, Tinucci T. Postexercise hypotension and hemodynamics: the role of exercise intensity. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness** 2004;44:54-62.
11. Gonçalves A, Resende ES, Fernandes MLMP, Da Costa AM. Influência dos hormônios tireoidianos sobre o sistema cardiovascular, sistema muscular e a tolerância ao esforço: uma breve revisão. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia** 2006;87(3):e45-e47.
12. Engelman MFB, Neto JG, Andrade CHV, Hernandez R, Goulart LBNT. Estudo morfométrico do fígado de ratos submetidos a doses supra-fisiológicas de tiroxina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabolismo** 2001;45(2):173-179.
13. Borba-Murad GR, de Souza HM, Lopes G, Ferreira EB, Dambrosio D, Bazotte RB. Changes in glycemia induced by exercise in rats: contribution of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis. **Research Communications in Molecular Pathology & Pharmacology** 1998;102(2):113-123.
14. Poortmans JR. Serum protein determination during short exhaustive physical activity. **Journal of Applied Physiology** 1971;30:190-192.
15. Heremans J. The donaggio reaction: its biochemical principles and uses in pathology. **Revue belge de pathologie et de médecine expérimentale** 1957;27:5-48.
16. Winnick M, Basel JA, Rosso P. Nutritional and cellular growth. In: WINNICK, M.; **Nutrition and Development** 1972:49-97.