

EFEITO AGUDO NOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE COLESTEROL, LACTATO E GLICOSE EM CAMUNDONGOS NA ATIVIDADE FÍSICA EM AMBIENTE ENRIQUECIDO

(Acute effect on cholesterol, lactate and blood glucose levels in mice on physical activity in enriched environment)

Ana Carolina Rodrigues da SILVA¹; Daiane Sayure NAKAMA¹; Frederico Sander Mansur MACHADO^{2,3}; Renato Sobral MONTEIRO-JUNIOR³; Alfredo Maurício Batista de PAULA⁴; Vinicius Dias RODRIGUES^{3*}

¹Curso de Educação Física da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Campus Universitário, Montes Claros/MG; ²Dpto de Educação Física e do Desporto (Unimontes); ³Laboratório de Endocrinologia e Metabolismo (ICB/UFGM); ⁴Dpto de Odontologia (Unimontes). *E-mail: viniciuslabex@hotmail.com

RESUMO

O objetivo desse estudo foi verificar o efeito agudo da atividade física em alojamento com ambiente enriquecido nos níveis de colesterol, lactato e glicose sanguíneos em camundongos C57BL/6. Esse ambiente era composto por gangorra, rodas, bolas e túneis. As variáveis bioquímicas foram analisadas em grupos de camundongos C57BL/6 antes e imediatamente após uma sessão de 30 minutos de atividade física em ambiente enriquecido. Em cada grupo foi coletada uma amostra de sangue para avaliação específica. No grupo 1 (n=5) foi avaliado o nível de lactato sanguíneo; no grupo 2 (n=5) foi avaliado o nível da glicose sanguínea; no grupo 3 (n=3) foi avaliado o nível do colesterol total. A atividade física em ambiente enriquecido provocou aumento agudo da lactatemia (p=0,043) imediatamente após a sessão experimental. Em relação aos níveis de glicose sanguínea (p=0,684) e colesterol total (p=0,102), não houve mudanças significativas. Os resultados desse estudo, mostram que a atividade física em alojamento com ambiente enriquecido promove adaptações agudas nos sistemas de fornecimento de energia dos animais, validando a viabilidade dessa proposta metodológica como formato experimental da atividade física com roedores.

Palavras-Chave: Roedores, exercício físico, ambiente.

ABSTRACT

The aim of this study was to verify the acute effect of physical activity in housing with an enriched environment on blood cholesterol, lactate and glucose levels in C57BL/6 mice. This environment consisted of seesaw, wheels, balls and tunnels. Biochemical variables were analyzed in groups of C57BL/6 mice before and immediately after a 30-minute session of physical activity in an enriched environment. In each group, a blood sample was collected for specific evaluation. In group 1 (n=5) the blood lactate level was evaluated; in group 2 (n=5) the blood glucose level was assessed; in group 3 (n=3) the level of total cholesterol was assessed. Physical activity in an enriched environment caused an acute increase in lactatemia (p=0.043) immediately after the experimental session. Regarding blood glucose levels (p=0.684) and total cholesterol (p=0.102), there were no significant changes. The results of this study show that physical activity in accommodation with an enriched environment promotes acute adaptations in the energy supply systems of animals, validating

the viability of this methodological proposal as an experimental format for physical activity with rodents.

Key words: Rodents, physical exercise, environment.

INTRODUÇÃO

O aumento pela procura de atividades físicas tem ganhado cada vez mais novos adeptos, que buscam saúde e melhor qualidade de vida. O exercício físico é uma condição que induz respostas homeostáticas conhecidas, aumentando a demanda energética como consequência do aumento da atividade metabólica imposta pelo exercício (GOMES *et al.*; 2008), além de favorecer melhorias nos sistemas circulatório, imunológico, respiratório entre outros, reduz os riscos relacionados ao sedentarismo.

O lactato sanguíneo tem sido utilizado como importante verificador das condições bioenergéticas do músculo esquelético (SOUZA *et al.*, 2006), essas condições podem ser utilizadas como referência para prescrição e controle de intensidades do treinamento físico, e diferentes protocolos de avaliação têm sido utilizados, especialmente em situações de corrida, ciclismo e natação (DE OLIVEIRA *et al.*, 2006).

Segundo Prado e Dantas (2002), o efeito agudo ou crônico do exercício aeróbico pode estimular o melhor funcionamento dos processos enzimáticos envolvidos no metabolismo lipídico, melhorando assim o perfil lipoproteico. Alguns estudos têm demonstrado alterações benéficas nos níveis de colesterol HDL e LDL após um programa de exercícios aeróbicos com diferentes intensidades, duração e frequências, realizadas por indivíduos de variadas faixas etárias e níveis de aptidão cardiorrespiratória (PRADO e DANTAS, 2002). Além disso, o exercício parece aumentar a capacidade dos músculos esqueléticos de utilizarem lipídios em oposição ao glicogênio, reduzindo assim os níveis lipídicos plasmáticos (MANN *et al.*, 2014).

O aumento da atividade contrátil do músculo, devido ao exercício físico, leva a uma série de adaptações fisiológicas e bioquímicas. Estas mudanças são a base para a melhoria do desempenho físico e benefícios gerais na saúde.

Analisar o impacto da atividade física em experimentos com modelo animal ainda é uma dificuldade metodológica, porém, uma forma de organizar um local para tal aplicação, é o ambiente enriquecido, esse formato é um princípio do manejo animal que procura ampliar a qualidade de vida dos animais em cativeiro através da identificação e fornecimento de estímulos ambientais necessários para alcançar o seu bem-estar psíquico e fisiológico, estimulando comportamentos típicos da espécie (CAMPOS *et al.*, 2010). Alguns exemplos de enriquecimento ambiental são: oferta de objetos como forma de brinquedos, para quebrar a monotonia do ambiente, pequenos objetos para manipulação e aumento da área utilizada pelo animal, para ele ter novos lugares a serem explorados (CAMPOS *et al.*, 2010).

O estudo de Rodrigues *et al.* (2019) apresenta o único experimento sobre o efeito agudo nos níveis de lactato da atividade física em alojamento no ambiente enriquecido, onde mostrou que após 30 minutos de permanência nesse ambiente, os níveis de lactato sanguíneo nos camundongos C57BL/6 aumentaram significativamente ($p=0,011$), porém, não foram verificados os níveis de glicose sanguínea e colesterol total.

Portanto, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito agudo da atividade física em alojamento com ambiente enriquecido nos níveis de colesterol, lactato e glicose sanguíneos em camundongos C57BL/6.

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização e amostra do estudo

O número de animais foi de 13 camundongos C57Bl/6 (fêmeas) saudáveis, pareados por peso e idade, conforme os procedimentos estatísticos propostos no trabalho dos autores Charan e Kantharia (2013). Os animais de aproximadamente 10 a 12 semanas de idade e cerca de 20 ± 5 gramas de peso corporal foram procedentes da mesma linhagem do Biotério da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes). Foram mantidos em gaiolas coletivas (ZOOTECH 405) de polipropileno autoclavável (414 x 344 x 168mm) forradas por maravalha, com tampa (grade) em aço galvanizado com separadores em aço inox contendo no máximo 5 animais por gaiola. Todos os animais foram mantidos no biotério em temperatura ambiente de 22 a 23 °C, umidade de 40-70% e fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, onde tiveram livre acesso à água e ração (Labina, Purina). Os animais foram distribuídos em 3 grupos experimentais divididos em experimento 1 ou EL (n=05), experimento 2 ou EG (n=5), experimento 3 ou EC (n=03). Esse trabalho foi aprovado (processo 131, 20 de fevereiro de 2017) na Comissão de Ética em Experimentação e Bem-estar animal da Unimontes - CEEBEA/Unimontes.

Organização do estudo

Os experimentos ocorreram no período vespertino. Ocorreu procedimento de coleta de sangue antes e imediatamente após a atividade física de 30 minutos (RODRIGUES *et al*, 2019). Em cada grupo foi coletada uma amostra de sangue para avaliação específica. No grupo 1 (n=05) foi avaliado os níveis de lactato sanguíneo, no grupo 2 (n=5) foi avaliado o nível da glicose sanguínea, no grupo 3 (n=03) foi avaliado o nível do colesterol total. Os animais foram pesados com utilização de uma balança analítica (Bonther®) (RODRIGUES *et al*, 2019). Todos os animais vivenciaram um único momento de 30 minutos no ambiente enriquecido para adaptação com o local proposto, essa sessão ocorreu 48 horas antes do início do estudo.

Instrumentos e procedimentos para atividade física

A atividade física foi organizada em um ambiente enriquecido de 60 cm de comprimento, 30cm de largura e 45cm de altura (RODRIGUES *et al*, 2019). Esse ambiente era composto (brinquedos específicos para roedores) com gangorra, rodas, bolas e túneis (VAN DE WEERD *et al.*, 2002; HUTCHINSON *et al.*, 2005; COLETTI *et al.*, 2016; RODRIGUES *et al*, 2019). Ocorreu uma única sessão da atividade física em um alojamento de ambiente enriquecido, onde as mensurações das variáveis dependentes foram coletadas nos animais antes e imediatamente após 30 minutos nesse ambiente. Na Fig. 01, é ilustrado o ambiente enriquecido que foi utilizado para o estudo em questão.



Figura 01: Atividade física em alojamento de ambiente enriquecido.

Instrumentos e procedimentos para avaliação do colesterol, lactato e glicose

As amostras sanguíneas foram obtidas através de punção da extremidade caudal de cada animal, o animal ficava em um contensor (marca: Bonther[®]) em acrílico crista, com ele em segurança eram colocadas em tiras-teste para a quantificação de glicose (*G-Tech Free Lite*[®]), lactato (*BMLactate*[®]) ou colesterol (*BMColesterol*[®]) (RODRIGUES *et al.*, 2019). Em seguida estas tiras-teste contendo as amostras foram introduzidas imediatamente nos analisadores portáteis Medidor de *Glicose G-TECH*[®] ou *Accutrend* para determinação das concentrações colesterol, lactato e glicose sanguíneos (SOUZA *et al.*, 2006). Os experimentos ocorreram no mesmo dia, pois os animais utilizados para cada experimento eram diferentes.

Tratamento de dados

Todos os dados coletados foram analisados estatisticamente no software SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) na versão 20.0. O nível de confiança adotado em todas as análises foi fixado em 95% ($p < 0,05$). Foi realizado os testes de *Shapiro-Wilk* para verificação da normalidade, e posteriormente, foi utilizado o teste *Wilcox* para análise inferencial das variáveis. Os resultados foram apresentados como média e desvio-padrão da média.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tab. 01 são apresentados os dados relacionados aos níveis de lactato, glicose e colesterol sanguíneos antes e após uma sessão de atividade física em alojamento com ambiente enriquecido. No grupo 1 ocorreu a elevação dos níveis de lactato sanguíneo ($p=0,043$). Com relação à glicose sanguínea, no grupo 2, não ocorreu mudança significativa ($p=0,684$); e no grupo 3 os valores de colesterol total não tiveram mudança significativa ($p=0,102$).

Tabela 01: Comparação da média e do desvio padrão dos valores de colesterol, lactato e glicose sanguíneos em camundongos C57BL/6 antes e após uma sessão de atividade física espontânea.

Lactato sanguíneo ($\mu\text{mol/L}$)	EL (n=5)		
	Antes	Depois	Significância
	7,36 \pm 0,45	8,36 \pm 0,66	p=0,043
Glicose sanguínea (mg/dL)	EG (n=5)		
	Antes	Depois	Significância
	133,20 \pm 19,55	138,10 \pm 7,91	p=0,684
Colesterol total (mg/dL)	EC (n=3)		
	Antes	Depois	Significância
	161,66 \pm 6,42	156,33 \pm 5,85	p=0,102

Obs.: Foi utilizado o teste *Wilcoxon* para análise inferencial das variáveis. EL = experimento 1 (efeitos agudos nos níveis de lactato sanguíneo); EG = experimento 2 (efeitos agudos nos níveis de glicose sanguínea); EC = experimento 3 (efeitos agudos nos níveis de colesterol total).

A atividade física em ambiente enriquecido proporcionou um aumento da concentração de lactato sanguíneo. Esse aumento permite assumir que a exposição ao ambiente enriquecido promove aumento de atividade física em camundongos C57BL/6 fêmeas desse estudo, conduzindo a maior atividade metabólica anaeróbica láctica. Corroborando com nossos achados, o estudo de Gentil *et al.* (2006), utilizou diversos métodos de treinamento de força, visando a hipertrofia muscular e o aumento de força para seres humanos, encontrou um aumento significativo do lactato sanguíneo.

Segundo o estudo de Scheffer *et al.* (2012), 12 semanas de treinamento de força e também o treinamento de resistência em ratos reduzem o nível de lactato sanguíneo. No estudo de Panveloski-Costa (2012) em ratos, foi realizado um treinamento composto por três séries de 12 repetições com intervalo de 60 segundos entre as séries, repetidos três vezes por semana durante 45 dias. Nesse estudo, o nível de lactato em resposta ao exercício foi menor após o período de treinamento.

Durante o repouso, as concentrações de lactato estão reduzidas. Porém, ao ser realizado atividade e/ou exercício físico a concentração de lactato e H⁺ aumenta em função da intensidade do esforço (SPRIET *et al.*, 2000). Quando há acúmulo de íons de hidrogênio nas células musculares o pH é reduzido, conseqüentemente há um declínio da capacidade de gerar força máxima pelo músculo esquelético, resultando em declínio da performance na atividade física (LAPIN *et al.*, 2007).

Quando realizado um exercício físico de alta intensidade em curtos períodos de tempo, aumenta a taxa de consumo de ATP e, conseqüentemente, a produção de lactato muscular pela via glicolítica (PANVELOSKI-COSTA *et al.*, 2012). Levando em consideração a relação entre a intensidade do exercício e o aumento do lactato muscular, chega-se à conclusão que, quanto maior a intensidade da atividade, maior será o nível de lactato (PINTO *et al.*, 2015).

O Posicionamento Oficial Conjunto da Revista Brasileira de Medicina do Esporte (LEITÃO *et al.*, 2000) relata que o exercício físico ajuda aumentar a sensibilidade à insulina

e auxiliar na redução dos níveis de glicemia sanguínea para a faixa normal. Além disso, promove a redução da insulina plasmática e o aumento do glucagon, que são essenciais para o aumento inicial da glicose, isso preserva a normoglicemia durante o exercício que, a longo prazo, provoca adaptações crônicas importantes no controle da glicose sanguínea durante o repouso.

A utilização da glicose plasmática aumenta com a intensidade e duração do exercício, compensando parcialmente a diminuição progressiva da concentração de glicogênio muscular (COGGAN, 1991). Nesse estudo foi observado que ocorreu imediatamente após a sessão de atividade física nesse ambiente o aumento da glicose sanguínea, porém não foi significativo ($p > 0,05$).

Os níveis de colesterol total não tiveram mudança significativa ($p = 0,102$), mas ocorreu diminuição. No estudo de Grandjean *et al.* (2000), com homens adultos hipercolesterolêmicos, os voluntários realizaram uma atividade na esteira a 70% do VO_2 máximo até atingirem 500 calorias. Foi observado que os valores de colesterol diminuíram imediatamente após a atividade, mas após 48hs da sessão de exercício, os valores foram significativamente maiores do que os níveis basais. Estudos revelam que o exercício pode influenciar no gasto calórico em repouso, devido às adaptações crônicas ou por afetar a relação entre balanço e fluxo de energia. O efeito pós-exercício pode estar associado com a intensidade do exercício, já que estudos comprovam que intensidades inferiores a 70% da capacidade aeróbia máxima só exerce efeito crônico quando a duração é longa. Ou seja, o perfil lipídico não pode ser alterado com apenas uma sessão de treinamento (DA SILVA *et al.*, 1999).

CONCLUSÕES

Esta pesquisa apresentou resultados importantes sobre o uso da atividade física em alojamento com ambiente enriquecido. Os níveis de lactato tiveram resultados importantes, onde mostra que o aumento significativo dessa variável reforça a ideia de que essa proposta metodológica pode ser utilizada como formato experimental da atividade física voluntária de baixa/moderada intensidade com roedores, pois efeitos imediatos similares do lactato no exercício físico são apontados na literatura científica. Assim, a metodologia aqui exposta oferece perspectivas promissoras em pesquisas científicas conexas ao entendimento desse formato, fato que contribui para futuras novas proposições relacionadas à aptidão física relacionada à saúde.

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio à realização deste estudo.

REFERÊNCIAS

- CAMPOS, J.A.; DE FF TINÔCO, I.; FABYANO, F.; PUPA, J.M.; DA SILVA, I.J. Enriquecimento ambiental para leitões na fase de creche advindos de desmame aos 21 e 28 dias. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*, v.5, n.2, p.272-278, 2010.
- CHARAN, J.; KANTHARIA, N.D. How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics*, v.4, n.4, p.303-312, 2013.
- COGGAN, A.R. Plasma glucose metabolism during exercise in humans. *Sports Medicine*, v.11, n.2, p.102-124, 1991.
- COLETTI, D.; AULINO, P.; PIGNA, E.; BARTERI, F.; MORESI, V.; ANNIBALI, D.; ADAMO, S.; BERARDI, E. Spontaneous physical activity downregulates Pax7 in cancer cachexia. *Stem cells international*, v.2016, n.1, p.01-09, 2016.
- DA SILVA, M.P.; MARCONDES, M.C.C.G.; DE MELLO, M.A.R. Exercícios aeróbio e anaeróbio: efeitos sobre a gordura sérica e tecidual de ratos alimentados com dieta hiperlipídica. *Revista Brasileira de Atividade Física & Saúde*, v.4, n.3, p.43-56, 1999.
- DE OLIVEIRA, J.C.D.; BALDISSERA, V.; SIMÕES, H.G.; AGUIAR, A.P.D.; AZEVEDO, P.H.S.M.D.; POIAN, P.A.F.D.O.; PEREZ, S.E.D.A. Identificação do limiar de lactato e limiar glicêmico em exercícios resistidos. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.12, n.6, p.333-338, 2006.
- GENTIL, P.; GENTIL, P.; OLIVEIRA, E.; FONTANA, K.; MOLINA, G.; OLIVEIRA, R.J.D.; BOTTARO, M. Efeitos agudos de vários métodos de treinamento de força no lactato sanguíneo e características de cargas em homens treinados recreacionalmente. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.12, n.6, p.303-307, 2006.
- GOMES, R.J.; CAETANO, F.H.; HERMINI, E.A.; ROGATTO, G.P.; LUCIANO, E. Efeitos do treinamento físico sobre o hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina (IGF-1) em ratos diabéticos. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*, v.11, n.3, p.57-62, 2008.
- GRANDJEAN, P.W.; CROUSE, S.F.; ROHACK, J.J. Influence of cholesterol status on blood lipid and lipoprotein enzyme responses to aerobic exercise. *Journal of Applied Physiology*, v.89, n.2, p.472-480, 2000.
- HUTCHINSON, E.; AVERY, A.; VANDEWOUDE, S. Environmental enrichment for laboratory rodents. *ILAR Journal*, v.46, n.2, p.148-161, 2005.
- LAPIN, L.P.; PRESTES, J.; PEREIRA, G.B.; PALANCH, A.C.; CAVAGLIERI, C.R.; VERLENGIA, R. Respostas metabólicas e hormonais ao treinamento físico. *Revista Brasileira de Educação Física Esporte Lazer Dança*, v.2, n.4, p.115-24, 2007.
- LEITÃO, M.B.; LAZZOLI, J.K.; BRAZÃO DE OLIVEIRA, M.A.; DA NÓBREGA, A.C.L.; DA SILVEIRA, G.G.; DE CARVALHO, T.; FERNANDES, E.O.; LEITE, N.; AYUB, A.V.; MICHELS, G.; DRUMMOND, F.A.; MAGNI, J.R.T.; MACEDO, C.M.; DE ROSE, E.H. Posicionamento oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte:

atividade física e saúde na mulher. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.6, n.6, p.215-220, 2000.

MANN, S.; BEEDIE, C.; JIMENEZ, A. Differential effects of aerobic exercise, resistance training and combined exercise modalities on cholesterol and the lipid profile: review, synthesis and recommendations. *Sports Medicine*, v.44, n.2, p.211-221, 2014.

PANVELOSKI-COSTA, A.C.; PAPOTI, M.; MOREIRA, R.J.; SERAPHIM, P.M. Respostas lactacidêmicas de ratos ao treinamento intermitente de alta intensidade. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.18, n.2, p.122-125, 2012.

PRADO, E.S.; DANTAS, E.H.M. Efeitos dos exercícios físicos aeróbio e de força nas lipoproteínas HDL, LDL e lipoproteína (a). *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v.79, n.4, p.429-433, 2002.

RODRIGUES, V.D.; PIMENTEL, D.D.M.; BRITO, A.D.S.; VIEIRA, M.M.; SANTOS, A. R.; MACHADO, A.S.; SOUZA, L.R.D. Methodological validation of a vertical ladder with low intensity shock stimulus for resistance training in C57BL/6 mice: Effects on muscle mass and strength, body composition, and lactate plasma levels. *Journal of Human Sport and Exercise*, v.14, n.3, p.608-631, 2019.

SCHEFFER, D.L.; SILVA, L.A.; TROMM, C.B.; DA ROSA, G.L.; SILVEIRA, P.C.L.; DE SOUZA, C.T.; LATINI, A.; PINHO, R.A. Impact of different resistance training protocols on muscular oxidative stress parameters. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, v.37, n.6, p.1239-1246, 2012.

SOUZA, R.A.; DOS SANTOS, R.M.; OSÓRIO, R.A.L.; COGO, J.C.; PRIANTI J., A.G.G.; MARTINS, R.Á.B.L.; BRITO, W. Influência da suplementação aguda e crônica de creatina sobre as concentrações sanguíneas de glicose e lactato de ratos *Wistar*. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.12, n.6, p.361-5, 2006.

SPRIET, L.L.; HOWLETT, R.A.; HEIGENHAUSER, G.J.F. An enzymatic approach to lactate production in human skeletal muscle during exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, v.32, n.4, p.756-763, 2000.

VAN DE WEERD, H.A.; AARSEN, E.L.; MULDER, A.; KRUITWAGEN, C.L.; HENDRIKSEN, C.F.; BAUMANS, V. Effects of environmental enrichment for mice: variation in experimental results. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, v.5, n.2, p.87-109, 2002.