

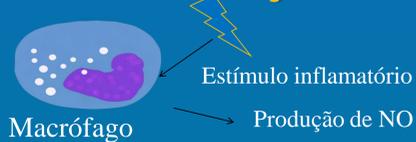
Schroeder, Helena¹; Homem de Bittencourt Jr., Paulo Ivo¹.

¹ Laboratório de Fisiologia Celular, Departamento de Fisiologia, ICBS, UFRGS. Porto Alegre/RS.

Contato do Laboratório de Fisiologia Celular, Departamento de Fisiologia, ICBS, UFRGS. Rua Sarmento Leite, 500 – 2º andar, lab. 02.

Telefone: 55-51 33083151; fax : 55- 51 33084555; email: fisiologia.celular@ufrgs.br; web: www.ufrgs.br/fisiologiacelular

INTRODUÇÃO



Macrófagos teciduais, quando desafiados por estímulos inflamatórios, são células com alto poder microbicida através da produção de espécies reativas do oxigênio e nitrogênio, incluindo o óxido nítrico (NO). Esta ativação pode ser mediada por receptores alfa e beta adrenérgicos, que são estimulados em diversas situações, dentre elas, o exercício físico. Uma sessão de exercício físico agudo pode, dependendo da intensidade, modular o perfil de resposta imunoinflamatória do organismo.

OBJETIVO

Investigar a participação de receptores adrenérgicos na produção de NO via NO sintase induzível (iNOS) por macrófagos peritoneais de ratos submetidos a diferentes intensidades de natação.

MÉTODOS

Administrado em cada grupo:

- PBS – veículo/controle
- PRASOZINA - 1 mg/kg, bloqueador $\alpha 1$
- IOIMBINA - 1 mg/kg, bloqueador $\alpha 2$
- PROPRANOLOL - 0,5 mg/kg, bloqueador $\beta 1/ \beta 2$



Ratos Wistar adultos, adaptados por 5 dias ao ambiente aquático.

Após 30 min.

Sessão por 20 min. ou até a exaustão em água a 30 °C

CONTROLE

Repouso no tanque de natação com 5 cm de água

INTENSIDADE MODERADA

Sobrecarga de 4 % do peso corporal adicionados à base da cauda.

INTENSIDADE EXAUSTIVA

Sobrecarga de 8 % do peso corporal adicionados à base da cauda.

FINAL DO EXERCÍCIO

PUNÇÃO CAUDAL
Medida de lactato

Após 6 h

MORTE DO ANIMAL

RETIRADA DO LAVADO PERITONEAL
Obtenção dos macrófagos

* PRODUÇÃO DE NITRITOS

Incubação em placa de 96 wells por 1 h e leitura pelo método de Griess a 540 nm.

CONCENTRAÇÃO DE iNOS

Preparação para eletroforese por SDS-PAGE, eletrotransferência e imunodeteção de iNOS e β -actina.

CONCENTRAÇÃO DO cDNA DA iNOS

Extração do mRNA e transcrição reversa em cDNA para quantificação com primers específicos para iNOS e GAPDH por PCR em tempo real.

* Inicialmente, para a determinação do tempo em que ocorreria a maior produção de nitritos utilizou-se uma curva tempo-resposta, na qual a morte do animal e a retirada do lavado peritoneal foram realizadas: imediatamente, 6, 12 ou 24 h após o final da sessão de exercício no grupo controle (sem bloqueador). A partir desta, foi escolhido o tempo 6 h para as demais análises.

RESULTADOS

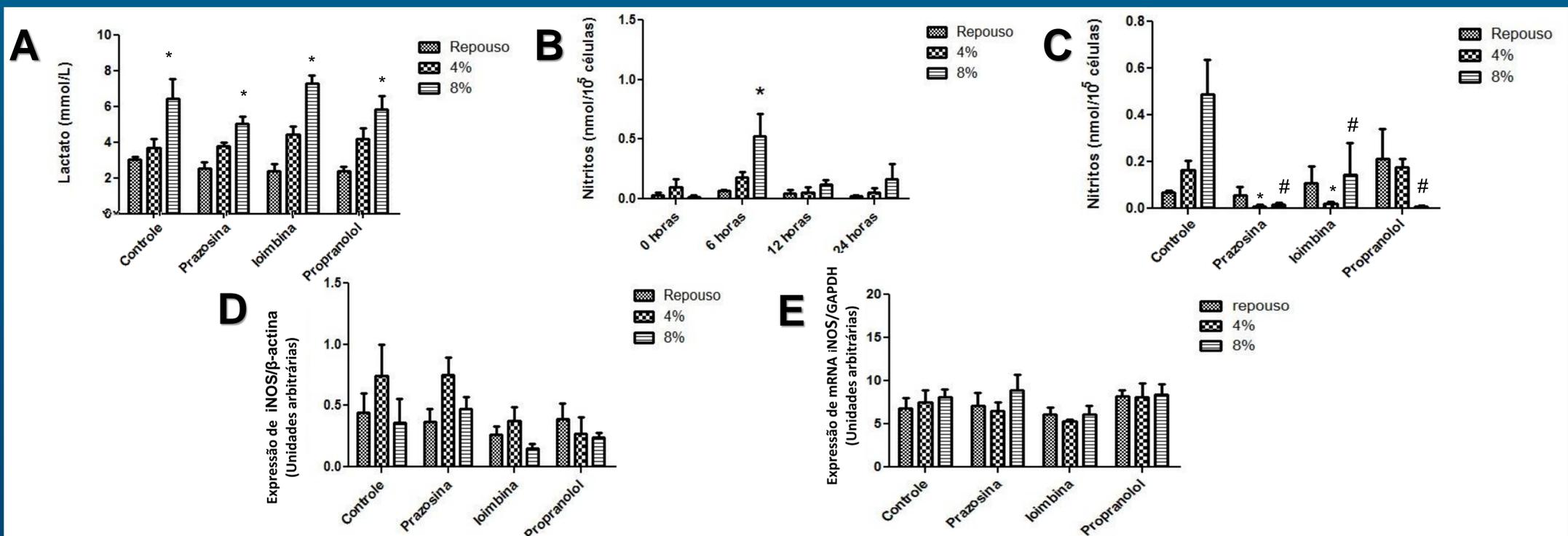


Figura A – Concentrações sanguíneas de lactato encontradas nos grupos repouso, intensidade moderada (4 %) e intensidade exaustiva (8 %) segundo o bloqueador farmacológico utilizado. Estes resultados mostram que o exercício foi efetivo em promover as exigências físicas, indicando que, possivelmente, a diminuição da oferta do oxigênio mitocondrial para a produção de ATP ocasionou a ativação da metabolismo anaeróbico, principalmente no grupo 8 % ($p < 0,05$). **Figura B** – Produção de nitritos nos grupos repouso, intensidade moderada (4 %) e intensidade exaustiva (8 %) nos tempos 0, 6, 12 e 24 h do grupo controle. No tempo 6 h, os macrófagos dos ratos do grupo 8 % demonstraram um aumento significativo de quase 8 X na produção de nitritos em relação ao repouso ($p < 0,02$). **Figura C** - Produção de nitritos encontradas nos grupos repouso, intensidade moderada (4 %) e intensidade exaustiva (8 %) segundo o bloqueador farmacológico utilizado. O bloqueio alfa 1 e 2 (prazosina e ioimbina) demonstraram produção significativamente menor dos grupos que realizaram atividade física em relação aos seus respectivos controles. **Figura D** – Expressão de iNOS, normalizada pela expressão de β -actina, encontrada nos grupos repouso, intensidade moderada (4 %) e intensidade exaustiva (8 %) segundo o bloqueador farmacológico utilizado. A análise de ANOVA de 2 vias demonstrou diferença entre os bloqueios ($p < 0,05$). **Figura E** - Expressão do mRNA da iNOS, normalizada pela expressão de GAPDH, encontrada nos grupos repouso, intensidade moderada (4 %) e intensidade exaustiva (8 %) segundo o bloqueador farmacológico utilizado. Não demonstraram diferença, assim demonstrando que as células dispunham do mesmo material gênico para a produção protéica, revelando uma ação alfa adrenérgica no bloqueio visto na produção de NO. Todos os dados expressos em média \pm EPM.

CONCLUSÃO

Aparentemente, a produção de NO pelo macrófago parece ser estimulada pela via α adrenérgica no exercício, independentemente de efeitos sobre as concentrações de iNOS e de seu mRNA, sendo sua maior produção vista nos animais que realizaram a sessão de nado com a intensidade exaustiva, confirmada pelo significativo aumento de lactato nestes.