

TBARS REDUZIDO POR DICLOFENACO E NANOPARTÍCULA DE QUERCETINA EM RATOS SEDENTÁRIOS, E SUBMETIDOS AO NADO

Kashley Kamilly Cerezer Klimeck¹; Darciéli Lima Ramos²; Gabriéli Farencena Fernandes¹; Ana Caroline Santos da Silva¹; Isadora Maciel de Lima¹; Virginia Cielo Rech³

RESUMO

Introdução: O exercício físico extenuante pode induzir inflamação sistêmica e danos musculares devido ao estresse oxidativo. O diclofenaco é usado para tratar lesões musculares, mas apresenta efeitos colaterais. A quercetina, como antioxidante natural, pode ser uma alternativa eficaz quando formulada como nanopartícula. **Objetivo:** Verificar o a concentração de TBARS no músculo gastrocnêmico de ratos que foram submetidos ao nado extenuante em comparação aos sedentários. **Metodologia:** A nanoestrutura de quercetina é produzida seguindo o protocolo de Mussoi (2019). Foram utilizados 48 ratos Wistar divididos em 6 grupos: 1) Sedentário (S); 2) Sedentário com diclofenaco (SD); 3) Sedentário com Nanopartícula de Quercetina (SNQ); 4) Nado Exaustivo (NE); 5) NE com Diclofenaco (NE-D) e 6) NE com Nanopartícula de Quercetina (NE-NQ). Os tratamentos foram por via gavagem intragástrica. **Resultados e Discussões:** Houve redução nos níveis de TBARS nos ratos sedentários tratados com diclofenaco e nanopartícula de quercetina. Todos os ratos do grupo do nado extenuante reduziram os níveis de TBARS. **Conclusão:** Os tratamentos reduziram as concentrações de TBARS no músculo de ratos sedentários, porém, o nado *per se* reduziu os níveis de TBARS.

Palavras-chave: Carreador Lipídico Nanoestruturado; Exercício Físico; Nanotecnologia.

ABSTRACT

Introduction: Strenuous physical exercise can induce systemic inflammation and muscle damage due to oxidative stress. Diclofenac is used to treat muscle injuries but has side effects. Quercetin, a natural antioxidant, can be an effective alternative when formulated as a nanoparticle. **Objective:** To verify the concentration of TBARS in the gastrocnemius muscle of rats that underwent strenuous swimming compared to sedentary ones. **Methodology:** The quercetin nanostructure is produced following the protocol by Mussoi (2019). 48 Wistar rats were used, divided into 6 groups: 1) Sedentary (S); 2) Sedentary with diclofenac (SD); 3) Sedentary with Quercetin

Nanoparticle (SNQ); 4) Exhaustive Swimming (NE); 5) NE with Diclofenac (NE-D) and 6) NE with Quercetin Nanoparticle (NE-NQ). Treatments were via intragastric gavage. **Results and Discussions:** There was a reduction in TBARS levels in sedentary rats treated with diclofenac and quercetin nanoparticles. All rats in the strenuous swimming group had reduced TBARS levels. **Conclusion:** The treatments reduced TBARS concentrations in the muscles of sedentary rats. However, swimming per se reduced TBARS levels.

Keywords: Nanostructure Lipid Carrier; Physical Exercise; Nanotechnology.

Eixo Temático: Atenção Integral e Promoção à Saúde (AIPS)

1. INTRODUÇÃO

O exercício físico é benéfico para a maioria das pessoas, entretanto, quando ocorre um exercício físico exaustivo pode vir a desencadear um aumento na inflamação sistêmica do indivíduo e causar danos musculares devido ao estresse oxidativo (COSTA, 2019).

Atualmente, uma forma de tratar os músculos que foram lesionados é com a utilização de medicamentos anti-inflamatórios, tais como o diclofenaco que age sobre a dor e os processos inflamatórios, porém, os anti-inflamatórios apresentam efeitos colaterais severos, principalmente a quem os utiliza por um tempo demasiado (STECKLING *et al.*, 2020).

Tendo isso em vista, uma alternativa para tratar os músculos lesionados seria utilizar compostos com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como a quercetina. A quercetina é um composto encontrado em diversos produtos de origem natural, como a maçã, alho e cebola, e que possui essas propriedades, ou seja, tem capacidade de combater o estresse oxidativo gerado, sem praticamente causar efeitos colaterais (HÄDRICH, 2014).

Entretanto, a quercetina apresenta desafios em sua utilização por ser fotossensível, praticamente insolúvel em água e baixa biodisponibilidade oral. Por isso, é utilizada em forma de nanopartículas, como forma de melhorar a eficácia da quercetina e resolvendo os desafios que o composto apresenta (DORA, 2012).

2. METODOLOGIA

2.1 REPRODUÇÃO DO CARREADOR LIPÍDICO NANOESTRUTURADO DE QUERCETINA

A Metodologia adotada na produção do carreador lipídico nanoestruturado de quercetina (CLNQ) seguiu o protocolo proposto por Mussoi (2019). A formulação foi dividida em duas fases: Fase orgânica ou oleosa - composta por Imwitor[®] 900 K, TCM, Span[®] 60 e quercetina, sendo esta última acrescentada após a completa diluição dos outros compostos; e a fase aquosa – consistiu em Tween[®] 80 e água ultrapura (Milli-Q[®]).

Ambas as fases foram aquecidas separadamente em vidraria adequada, simultaneamente, a uma temperatura controlada entre 65 e 68 °C, com agitação magnética constante a uma velocidade de 600 rpm. Após essa etapa, a fase aquosa foi cuidadosamente transferida sobre a fase orgânica. As suspensões resultantes foram submetidas a agitação em um misturador de alta taxa de cisalhamento (Ultra-Turrax[®]) a uma velocidade de 17.000 rpm, por um período de 20 minutos. A execução precisa desse procedimento foi essencial para a replicação bem-sucedida do CLNQ.

2.2 TESTES *in vivo*

Para a realização prática do teste *in vivo*, foram utilizados um total de 48 ratos machos da raça Wistar. Este procedimento seguiu o protocolo geral nº 08828/2022 e CEUA nº 02/2022, ambos aprovados. Os ratos foram distribuídos em 6 grupos, contendo 8 ratos cada, sendo divididos com base na atividade física e no tipo de tratamento. Os grupos foram os seguintes: Sedentário (S); Nado Extenuante (NE), Sedentário tratado com Diclofenaco (S-D); Nado Extenuante tratado com Diclofenaco (NE-D); Sedentário tratado com NQ (S-NQ); Nado Extenuante tratado com NQ (NE-NQ).

A administração dos tratamentos foi realizada por meio de gavagem intragástrica.

Antes do início dos tratamentos, os ratos passaram por um período de adaptação de 8 dias, principalmente no ambiente aquático, seguindo um protocolo adaptado com base em Steckling e colaboradores (2020). Durante esse período, os ratos foram submetidos a ciclos de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão, com acesso irrestrito a água e alimento. A adaptação ao novo ambiente aquático ocorreu no 4º, 6º e 8º dia da semana de adaptação. O objetivo dessa ambientação foi reduzir o estresse causado pelo ambiente desconhecido. Durante a adaptação, os ratos foram colocados em um tanque com as dimensões 80 x 50 x 90 cm, contendo água aquecida a $31\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, por um período de 5 minutos.

Após a semana de adaptação, o procedimento do nado exaustivo e os tratamentos começaram seguindo as condições de adaptação previamente estabelecidas e com base no mesmo estudo. Os ratos nadaram em 3 séries com intervalo de 72 horas entre elas. A primeira série começou 72 horas após o início do primeiro dia, ou seja, a 1ª série ocorreu no terceiro dia, a 2ª série no sexto dia e a 3ª série no nono e último dia do tratamento.

Os animais pertencentes aos grupos NE, NE-D e NE-NQ foram submetidos ao nado exaustivo com uma sobrecarga equivalente a 13% do seu peso corporal total até a exaustão, momento em que não conseguiram mais permanecer na superfície da água e ficaram submersos em no máximo 10 segundos, com o tempo de submersão cronometrado.

O tratamento durou 9 dias, com cada animal recebendo a solução correspondente ao seu grupo. No nono dia, após o nado exaustivo e o tratamento, os ratos foram eutanasiados por meio de guilhotina, e foi coletado o músculo gastrocnêmico para avaliação dos níveis de TBARS.

2.3 MEDIDAS DE TBARS

TBARS foi determinado pelo método proposto por Ohkawa, Ohishi e Yagi (1979), que se baseia na reação do ácido tiobarbitúrico (TBA) com o malondialdeído (MDA) durante aquecimento, resultando em uma coloração rosada. O MDA é o produto resultante da lipoperoxidação causada pelas EROs.

A leitura do sobrenadante foi realizada por meio de um espectrofotômetro com comprimento de onda de 532 nm.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Através dos resultados obtidos, verificou-se que os ratos que foram submetidos ao nado exaustivo, de uma maneira geral, apresentaram redução nos níveis de TBARS. Enquanto nos grupos sedentários, o grupo tratado com diclofenaco demonstrou uma redução em comparação ao grupo controle sem tratamento.

Ademais, o grupo sedentário tratado com nanopartícula de quercetina também mostrou uma redução em comparação aos outros grupos sedentários, conforme ilustrado na Figura 1. Não foram observadas diferenças significativas entre as concentrações dos grupos NE, NE-D e NE-NQ.

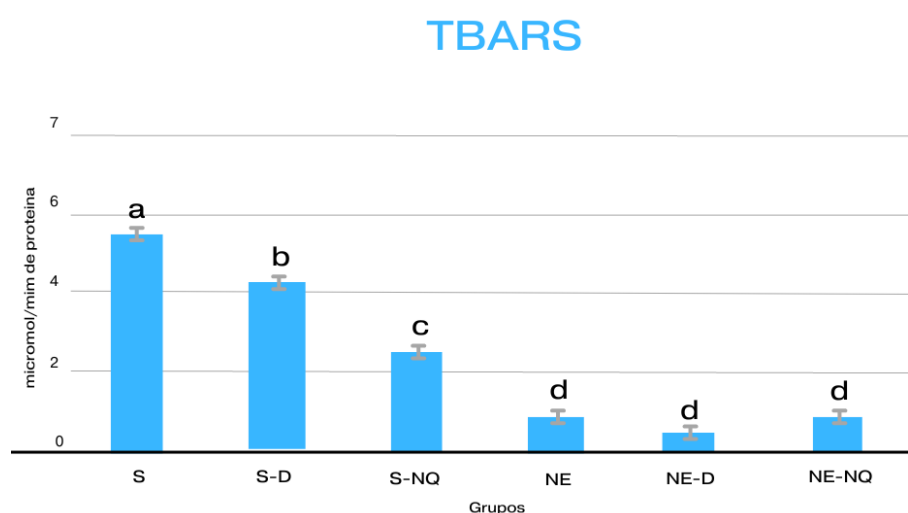


Figura 1 – Gráfico de colunas dos grupos no teste de TBARS. Letras iguais representam resultados não significativos entre si. A análise estatística foi realizada por ANOVA *post hoc* teste de Tukey ($p < 0,05$). Legenda: S – Sedentário; S-D – Sedentário Diclofenaco; S-NQ – Sedentário Nanopartícula de Quercetina; NE – Nado Extenuante; NE-D – Nado Extenuante Diclofenaco; NE-NQ – Nado Extenuante Nanopartícula de Quercetina.

Em estudo realizado por Junior *et al.* (2013), com 18 ratos divididos em dois grupos: Sedentário e Treinado, o objetivo era avaliar o efeito do treinamento aeróbio de natação sobre biomarcadores de estresse oxidativo em músculos de ratos, no caso, as TBARS foram determinadas no músculo gastrocnêmico. Por meio dos resultados, observou-se que houve uma redução na concentração de TBARS no grupo Treinado em comparação com o Sedentário, assim como neste trabalho.

Em outro estudo realizado por Santos *et al.* (2014), com ratos Wistar divididos em 4 grupos: Treinado fumante, Treinado não fumante, Sedentário fumante e Sedentário não fumante, o objetivo era avaliar a resposta ao exercício físico aeróbico de natação sobre o estado cardíaco, induzido pela inalação de fumaça de cigarro no coração de ratos. No contexto dos grupos não fumantes, observou-se uma diminuição na concentração de TBARS quando comparada entre os grupos Sedentários e Treinados.

Além disso, de acordo com a pesquisa realizada por Borges (2019), o objetivo era verificar os efeitos antioxidantes e antimicrobiano da quercetina isolada e bioconjugada aos pontos quânticos de tamanhos mágicos (PQTM) de CdSe. Foi observado que os grupos tratados com quercetina apresentaram as melhores respostas para inibir a peroxidação lipídica, ou seja, apresentou uma atividade antioxidante satisfatória.

Esses achados corroboram com os resultados encontrados na presente pesquisa.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que a prática de exercícios físicos permite a redução na concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico nos músculos. Ademais, também é possível verificar que dentre os grupos sedentários, os que foram tratados com nanopartícula de quercetina, foram os que apresentaram maior diminuição da concentração de espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico no músculo gastrocnêmico. Esses resultados também indicam que a prática regular de exercícios físicos e o uso de nanopartículas de quercetina podem ser estratégias valiosas na redução do

estresse oxidativo e na promoção da saúde muscular.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PROBIC) da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS).

REFERÊNCIAS

BORGES, A. L. S. **Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana da quercetina bioconjugada com pontos quânticos de CdSe de tamanhos mágicos.** 2019. Monografia (Instituto de Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

COSTA, M. DA S. **Efeito da Suplementação do suco de uva no desempenho físico de ratos perante cargas de treino extenuantes.** 2019. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2019.

DORA, C. L. **Nanocarreadores lipídicos contendo quercetina:** desenvolvimento, caracterização físico-química e avaliação biológica in vivo. 2012. Tese (Programa de Pós-Graduação em Farmácia) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

HÄDRICH, G. **Nanoemulsão contendo quercetina:** avaliação da atividade anti-inflamatória, antioxidante e de parâmetros toxicológicos. 2014. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde) - Universidade Federal Do Rio Grande, Rio Grande, 2014.

JUNIOR, R. C. V. *et al.* Treinamento aeróbio de natação aumenta a atividade de enzimas antioxidantes e o conteúdo de glicogênio no musculoesquelético de ratos. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 19, n. 3, 2013.

MUSSOI, T. D. **Desenvolvimento, Estabilidade E Atividade Antioxidante De Carreadores Lipídicos Nanoestruturados Contendo Quercetina E Avaliação do Efeito Cito-Genotóxico In Vitro.** 2019. 115f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Nanociências) – Universidade Franciscana, Santa Maria, 2019.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Analytical Biochemistry**, v. 95, n. 2, p. 351-358, 1979.

SANTOS, W. A. *et al.* Resposta ao exercício físico aeróbico tipo natação sobre o estado oxidativo cardíaco induzido por inalação de fumaça de cigarro em ratos Wistar. **REVISTA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E BIOLÓGICAS**, v. 13, n. 3, p. 355-362, 2014.



STECKLING, F. M. *et al.* Diclofenac attenuates inflammation through TLR4 pathway and improves exercise performance after exhaustive swimming. **Scand J Med Sci Sports**. 2020.