


Implicações da dieta hiperlipídica e do exercício de natação sobre os parâmetros imunológicos em ratas

Patrícia Clara Pereira dos Santos^{a,*}, Glívia Maria Barros Delmondes^a, Maria Patrícia Pereira Melo^a, Luiza Vieira Santos e Santosa, Juliana Netto Maia^b, Sílvia Regina Arruda de Moraes^c, Célia Maria Machado Barbosa de Castro^d, Maria do Amparo Andrade^b 

Palavras Chave:

Dieta hiperlipídica;
Exercício físico;
Imunidade;
Macrófagos.

RESUMO

Objetivou-se avaliar alterações imunes, entre obesidade e exercício (natação). Ratas *Wistar* foram alocadas, conforme regime dietético: Grupo Labina (GL) e Grupo Hiperlipídico (GH); e, aos 60 dias, segundo o exercício. Após protocolo de exercício, avaliaram-se parâmetros murinométricos, gordura visceral, série branca do sangue e cultura de macrófagos. Observamos aumento nos parâmetros murinométricos, na gordura visceral do GH sedentário e nos linfócitos, neutrófilos e basófilos do GH exercitado. A taxa de fagocitose e a produção de óxido nítrico estimulado com lipopolissacarídeos aumentaram nos ratos exercitados. A natação parece reverter o fenótipo de sobrepeso, promovido pela dieta hiperlipídica, atenuou os efeitos dessa no sistema imune e melhorou sua resposta.

Keywords:

Fat diet;
Exercise;
Immunity;
Alveolar macrophages.

ABSTRACT

The aim was to evaluate immune changes between obesity and swimming. *Wistar* rats were allocated according to dietary regimen: Labina Group (LG) and Hyperlipid Group (HG); and at 60 days, according to the exercise. After exercise protocol, murinometric parameters, visceral fat, white blood series and macrophage culture were evaluated. We observed an increase in the murinometric parameters and visceral fat of the sedentary HG, and in the lymphocytes, neutrophils and basophils of the exercised HG. The rate of phagocytosis and the production of nitric oxide stimulated with lipopolysaccharides increased in the exercised rats. Swimming seems to reverse the overweight phenotype promoted by the hyperlipid diet and attenuated the effects it on the immune system, improving its response.

Palabras Clave:

Dieta hiperlipídica;
Ejercicio;
Inmunidad;
Macrófagos alveolares.

RESUMEN

El objetivo de este artículo fue evaluar cambios inmunológicos entre obesidad y ejercicio (natación). Se distribuyó a ratas *Wistar* según el régimen dietético: grupo labina (GL) y grupo hiperlipídico (GH). Y a los 60 días, según el ejercicio. Después del protocolo de ejercicio, se evaluaron los parámetros murinométricos, grasa visceral, serie blanca de la sangre y cultivo de macrófagos. Se observó un aumento de los parámetros murinométricos y de la grasa visceral del GH sedentario, así como en los linfocitos, neutrófilos y basófilos del GH ejercitado. La tasa de fagocitosis y la producción de óxido nítrico estimulado con lipopolisacárido aumentaron en las ratas ejercitadas. Parece que la natación revierte el fenotipo de sobrepeso promovido por la dieta hiperlipídica y atenúa los efectos de esta en el sistema inmunitario, por lo que mejora su respuesta.

^a Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

^b Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Fisioterapia, Recife, PE, Brasil.

^c Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Anatomia, Recife, PE, Brasil.

^d Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Medicina Tropical, Recife, PE, Brasil.

Correspondence author:

Patrícia Clara Pereira dos Santos

E-mail: patriciacps@yahoo.com.br

Recebido em 13 de maio de 2018; aceito em 22 de agosto de 2018.

DOI:10.1016/j.rbce.2018.08.003

INTRODUÇÃO

A obesidade é o acúmulo excessivo de gordura no organismo, em que, além do aspecto sistêmico, fatores metabólicos, nutricionais e endócrinos estariam envolvidos na resposta imune (Lamas et al., 2002). Esse estado de inflamação crônica pode acarretar uma maior produção de espécies reativas de oxigênio e citocinas que induzem alterações e danos ao DNA (Wang et al., 2016). Pesquisas apontam o impacto negativo sobre a imunidade na obesidade (Spielmann et al., 2017; Fernandes et al., 2017). No estudo experimental, manipulação com dieta rica em gordura acarretou prejuízos à função linfocitária (Verwaerde et al., 2006, redução da função das células *natural killers* (NK) contra células tumorais (Spielmann et al., 2017) e linfopenia, com menor resposta mitógena dos esplenócitos (Lamas et al., 2002); além de comprometer a resposta antioxidativa, quando associada ao treino físico (Fernandes et al., 2017). Estudo com animais submetidos à dieta relata aumento na adiposidade, intolerância à glicose, além de inflamação (Sampey et al., 2011).

Ademais, são bem definidos na literatura os benefícios do exercício físico sobre a imunidade (Schöler et al., 2016; Oliveira et al., 2013), os quais são dependentes da intensidade, duração e frequência da atividade (Leandro et al., 2007). Estudos apontam o exercício moderado como promotor de adaptações fisiológicas e imunológicas benéficas para o organismo (Zhao et al., 2016; Oliveira et al., 2013), tais como, prevenção ou retardo na progressão de alguns tumores (Spielmann et al., 2017; Ferreira et al., 2010). Em humanos hospitalizados, o uso do cicloergômetro passivo promoveu redução no estresse oxidativo, sem outras alterações relacionadas à imunidade (França et al., 2017). Pesquisas em animais têm-se voltado para a resposta imune a diversos agentes indutores de estresse, como a nutrição e o exercício físico (Zhao et al., 2016; Oliveira et al., 2013; Nascimento et al., 2004). E, nesse contexto, os achados que relacionam nutrição, natação e produção de óxido nítrico (ON) são distintos na literatura (Zhao et al., 2016; Oliveira et al., 2013; Delmondes et al., 2012). Não há consenso em relação aos mecanismos envolvidos para promover a melhor resposta imune (Leandro et al., 2007). Como exemplo, temos o ON como responsável pela defesa local dos pulmões (Delves e Roitt., 2000).

O aumento na produção de ON e na taxa de fagocitose de macrófagos alveolares em animais submetidos à natação foi visto em atividades de curta duração (20 minutos) (Schöler et al., 2016) e longa duração (seis

semanas, cinco dias/semana) (Delmondes et al., 2012), além de maior atividade fagocítica e linfocitária em ratos treinados inoculados com tumor (Spielmann et al., 2017; Ferreira et al., 2010). Acredita-se que o aumento da intensidade do exercício pode interferir negativamente na fagocitose (Delmondes et al., 2012). Assim, questionam-se evidências acerca das alterações decorrentes da obesidade na imunidade e quanto o exercício de natação é capaz de repercutir sobre esse sistema. Diante do exposto, torna-se necessário esclarecer o impacto nos parâmetros murinométricos e imunes de ratas submetidas ou não à dieta hiperlipídica associada ao exercício de natação.

MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEEA-UFPE), sob o protocolo n° 23076.020153/2010-75, seguiu as normas do Comitê Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea). Animais: usaram-se de ratas albinas da linhagem *Wistar* (n=32), provenientes da colônia do Departamento de Nutrição (DN-UFPE). Aos 21 dias, pós-natal, os filhotes foram separados das mães (desmame) e manipulados segundo o regime dietético: Grupo Labina® (Purina, Paulínia, SP, Brasil) (n=16), ração padrão do biotério, e Grupo Hiperlipídico (n=16), que teve como ingredientes ração Labina®, amendoim torrado, chocolate ao leite e biscoito maisena, na proporção 3:2:2:1, respectivamente (Estadella et al., 2004). Dieta oferecida em forma de péletes. Em todo o experimento, os animais receberam ração e água, *ad libitum*, e foram mantidos num biotério de ciclo claro-escuro invertido, com temperatura ambiente de 22±2°C, constante. Aos 60 dias, pós-natal, foram subdivididos em Sedentários (S) e Exercitados (E), originaram quatro grupos: LS e HS (labina e hiperlipídico sedentários [n=8], respectivamente) e LE e HE (labina e hiperlipídico exercitados [n=8], respectivamente). Os animais foram submetidos a um exercício físico moderado de natação, adaptado de Nascimento et al. (2004). O protocolo experimental de seis semanas, cinco dias/semana e 45min/dia. Os grupos LS e HS foram submetidos a um estresse aquático, numa gaiola com água em torno de 05cm de profundidade, no mesmo período e tempo (sem esforço físico) do exercitado. Temperatura da água entre 30±2°C.

Delineamento experimental

No fim do protocolo de exercício, o peso corporal e o índice de massa corporal (IMC) dos animais foram aferidos, usou-se uma balança eletrônica Marte

(ASF11). Para obter o IMC, partimos da relação entre peso corporal (g)/comprimento nasoanal (cm²) (Nery et al., 2011), em que os animais foram anestesiados para a medição do comprimento nasoanal (CNA), obtida em papel milimetrado. Após traqueostomia, fez-se uma incisão no abdome, no qual os órgãos foram retirados e a gordura visceral separada e pesada em balança, Marte (ASF11). No início, e imediatamente após o exercício, o lactato foi coletado em semanas intervaladas, as amostras de sangue venoso foram obtidas por uma pequena incisão superficial na extremidade final da cauda do animal e depositadas em fitas de leituras, em aparelho da Accutrend Lactato® Roche (Nery et al., 2011).

Análise do sistema imune

As células sanguíneas foram coletadas antes do início do exercício e 24h após a última sessão; uma pequena alíquota de sangue (1mL) da cauda dos animais, devidamente anestesiados, para contagem total e diferencial de leucócitos do sangue periférico ($10^3/mm^3$). O sangue extraído foi depositado em tubo de 5ml previamente acrescido de uma gota (20µl) do anticoagulante ácido etileno diamino tetra acético a 3% (EDTA). Os dados foram automatizados pelo laboratório do Hospital das Clínicas (ULAB-HC-UFPE). Os macrófagos alveolares foram obtidos 24h após a última sessão de exercício. Os animais foram anestesiados (solução dos anestésicos cloralose e urethane, em concentrações respectivas de 0,5 e 12,5%, via intraperitoneal, na proporção de 1mL/100g de peso do animal) (Leandro et al., 2007). O lavado broncoalveolar (LBA) foi adquirido por injeção de soro fisiológico através de cânula plástica inserida na traqueia (De Castro et al., 1997). O LBA recolhido foi centrifugado a 1.500rpm durante 10 minutos. Após essa etapa, o precipitado, que corresponde às células, foi ressuspenso com RPMI 1.640 para lavagem e, em seguida, foram contadas. A contagem dos macrófagos colhidos foi feita em Câmara de Neubauer, colocaram-se a suspensão de células e o corante azul tripan a 0,05% na diluição de 1:10. Após a contagem, as células foram ressuspenso em meio de cultura RPMI 1.640 que continha soro fetal bovino a 3% e antibióticos (penicilina 100U/mL e estreptomicina 100µg/mL, anfotericina B 0,25µg/mL) (Sigma) em uma densidade de 1×10^6 células/mL; foram usados fungos (*Saccharomyces cerevisiae*), segundo a técnica de Malagueno et al., 1998. Tais fungos foram lavados duas vezes com solução tampão de fosfato (PBS) a 0,01M; contados 10^7 células em 200µL de PBS e em seguida foram adicionados à suspensão de macrófagos (800µL de RPMI 1640, com 1×10^6 células). As células

foram distribuídas em lâminas de microscopia óptica e incubadas a 37°C, em atmosfera úmida por uma hora. A taxa foi obtida como percentual de macrófagos que englobaram o fungo em uma contagem total de 100 células.

Índice de adesividade (IA): alíquotas do sobrenadante que continham células não aderentes, após a primeira hora da cultura, foram adicionadas ao corante azul Tripán e levadas para contagem das células em hemocítmetro. O IA foi calculado pela fórmula descrita por De La Fuente et al., 1991. Óxido nítrico (ON): a produção de ON foi mensurada de forma indireta a partir da concentração de nitritos presentes no sobrenadante de cultura de células pelo método colorimétrico quantitativo de Griess (Ding et al., 1988). Amostras do sobrenadante foram colhidas em triplicata. A absorbância foi obtida num comprimento de onda de 550nm; assim, foi determinada a concentração de nitrito por meio de uma curva-padrão construída com nitrato de sódio nas concentrações de 0-100µM. Todas as amostras foram avaliadas em relação a um branco correspondente a RPMI 1640. Os resultados foram expressos em µM de nitrito/ milhão de células. Viabilidade celular (MTT-test): a viabilidade foi avaliada pela redução mitocondrial do MTT a cristais de formazan de acordo com Akao et al., 1995.

Análise estatística

Os dados foram analisados com o *software* Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 15,0. Conforme a normalidade dos dados (Kolmogorov-Smirnov), foi empregada a análise de variância (Anova *oneway*). Quando a Anova revelou a existência de diferença significativa, foi usado o teste de Tukey, a fim de identificar que grupos diferiram entre si. A significância estatística considerada foi de $p < 0,05$ em todos os casos.

RESULTADOS

Após 105 dias pós-natal das ratas submetidas à dieta e/ou à natação, observou-se que nas medidas murinométricas não houve diferença significativa no peso corpóreo e CNA. A dieta nesse período foi eficaz em aumentar o IMC e gordura visceral no grupo HS em relação ao grupo-padrão. Verificou-se que a natação foi capaz de reduzir o estoque de tecido adiposo e o IMC no grupo HE em relação ao sedentário (Tabela 1). Durante o protocolo de natação, os valores de lactato intragrupos antes (LE±3,38 e HE±2,71) e imediatamente após o exercício (LE±3,94 e HE±3,47) confirmaram que o exercício foi moderado, valores de referência (2-4 mmmol) (Nery et al., 2011).

Tabela 1. Parâmetros murinométricos e gordura visceral em ratas *Wistar* sobre o efeito da dieta hiperlipídica e da natação aos 105 dias pós-natal. Os valores correspondem à média \pm EPM (Anova *oneway*) com *post-hoc* de Tukey ($p < 0,05$). Efeito dieta intergrupos (^a) e efeito treino intragrupos (^b).

	n	Peso (g)	IMC g/cm ²	CNA (cm)	Gordura visceral (g)
LS	7	233,4 \pm 2,68	0,51 \pm 0,01	21,42 \pm 0,17	9,59 \pm 0,55
LE	8	237,3 \pm 5,25	0,53 \pm 0,01	21 \pm 0,13	9,15 \pm 0,59
HS	8	250,3 \pm 2,84	0,56 ^a \pm 0,00	21,21 \pm 0,09	15,14 ^a \pm 0,54
HE	8	240,6 \pm 9,9	0,53 ^b \pm 0,01	21,21 \pm 0,25	11,85 ^b \pm 1,05

CNA, comprimento naso-anal; HE, hiperlipídico exercitado; HS, hiperlipídico sedentário; IMC, índice de massa corporal; LE, labina exercitado; LS, labina sedentário. Fonte: autor.

Com relação à série branca do sangue, foram comparados os grupos, segundo o efeito da dieta (*), efeito exercício (#), entre o início e o fim do protocolo de natação. Os valores totais de leucócitos do sangue periférico ($10^3/\text{mm}^3$) foram expressos em média \pm erro-padrão (EPM), aos 60 dias: LS (7.360 \pm 423,8), LE (7.200 \pm 502), HS (13.183 \pm 1.634,9) e HE (13.240 \pm 792,8); diferença significativa entre os grupos submetidos à dieta HS e LS, $p=0,004$. Para os demais não houve significância. Após o exercício, aos 105 dias, houve efeito da natação: HS (8.100 \pm 351,2) em comparação com o HE (11.780 \pm 480,0), $p=0,001$. Efeito da dieta entre os exercitados, HE e LE $p=0,001$. Para os demais grupos: LS (8.083 \pm 339) em relação ao LE (8.220 \pm 222,3) não houve significância estatística (Figura 1).

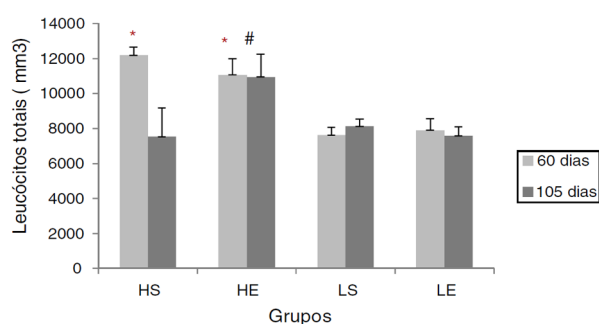


Figura 1. Leucócitos totais do sangue periférico, antes e após protocolo de natação. Dados como média \pm EPM (Anova *oneway*) com *post-hoc* de Turkey ($p < 0,05$). Efeito dieta, intergrupos (*) e efeito treino intragrupos (#). Fonte: autor.

Após o término do protocolo de natação, verificou-se alteração significativa nos linfócitos apenas entre os exercitados, LE e HE ($p=0,014$). Com relação aos neutrófilos, houve efeito da natação entre o HS e HE ($p=0,024$) e efeito da dieta entre o LS e HS ($p=0,021$). Entretanto, os eosinófilos não obtiveram alteração significativa. Os basófilos obtiveram valores significantes entre HS e HE ($p=0,042$), LS e HS ($p=0,002$) e LS e LE ($p=0,015$). Para os monócitos apenas o efeito do exercício obteve significância entre o HS e HE ($p=0,024$). Não houve alteração significativa

para os demais grupos (Tabela 2). A taxa de fagocitose verificou nos exercitados significância em relação aos sedentários, HE (52,29 \pm 0,94) em relação ao HS (46 \pm 0,58) ($p=0,002$) e LE (54,14 \pm 0,59) em comparação com LS (46,7 \pm 1,54), $p=0,001$ (Figura 2). Houve aumento não significativo no índice de adesividade nos exercitados. Dados em (%): HS (91,9 \pm 2,7) em relação ao HE (93,0 \pm 2,4) e LS (93,4 \pm 3,0) em comparação com LE (94,4 \pm 1,2).

A produção ON em meio de cultura não estimulado (\emptyset) foi maior para os exercitados em relação aos sedentários. Entre os animais exercitados, houve efeito da dieta no grupo hiperlipídico. Em meio estimulado por lipopolissacarídeos (LPS), a produção de ON também foi maior os grupos exercitados; não observado efeito da dieta. Para as demais comparações não houve significância (Tabela 3). A viabilidade celular dos macrófagos alveolares foi em torno de 89% e não houve significância entre os grupos (dados não mostrados).

DISCUSSÃO

Neste estudo observamos aumento nos parâmetros murinométricos e gordura visceral do grupo HS, como também nos linfócitos, neutrófilos e basófilos do HE. A taxa de fagocitose e a produção de ON estimulado com LPS aumentaram nos exercitados. O peso corporal foi equivalente para os grupos, submetidos ou não à dieta. Achados similares foram obtidos em outros estudos (Fernandes et al., 2017; Nery et al., 2011; Bernardes et al., 2004). Houve aumento do IMC em animais submetidos à dieta induzida; entretanto, outro estudo não observou diferença (Novelli et al., 2007). A dieta manipulada foi capaz de aumentar a gordura visceral, o mesmo visto por diferentes autores (Eguchi et al., 2008; Estadella et al., 2004). Segundo a literatura, a dieta hiperlipídica pode ser eficiente em gerar obesidade exógena em ratos (Fernandes et al., 2017; Estadella et al., 2004). Sabe-se que a gordura visceral está associada a alterações metabólicas e aumento do risco de doenças crônicas

Tabela 2. Efeito da dieta hiperlipídica e da natação após protocolo de natação, sobre valores absolutos e relativos da série branca do sangue periférico em ratos *Wistar*. Dados em média ± EPM (Anova *oneway*) com *post-hoc* de Tukey ($p < 0,05$). Efeito dieta intergrupos (^a) e efeito treino intragrupos (^b).

Grupos	Linfócitos		Neutrófilos		Eosinófilos		Basófilos		Monócitos	
	Relativo (%)	Absoluto ($10^3 / \text{mm}^3$)	Relativo (%)	Absoluto ($10^3 / \text{mm}^3$)	Relativo (%)	Absoluto ($10^3 / \text{mm}^3$)	Relativo (%)	Absoluto ($10^3 / \text{mm}^3$)	Relativo (%)	Absoluto ($10^3 / \text{mm}^3$)
HS	93	8,64 ± 0,88	5,6	0,44 ^a ± 0,06	0,5	0,05 ± 0,01	0,6	0,06* ± 0,01	0,7	0,09 ± 0,02
HE	90	10,47 ^a ± 0,77	7	0,86 ^b ± 0,16	0,5	0,07 ± 0,01	0,5	0,09 [#] ± 0,01	0,8	0,21 [#] ± 0,05
LS	86	6,73 ± 0,33	11	0,87 ± 0,07	1	0,04 ± 0,01	1	0,11 ± 0,01	1	0,07 ± 0,01
LE	88	7,23 ± 0,27	8	0,65 ± 0,05	0,9	0,07 ± 0,01	0,7	0,06 [#] ± 0,01	1,2	0,12 ± 0,01

HE, hiperlipídico exercitado; HS, hiperlipídico sedentário; LE, labina exercitado; LS, labina sedentário. Fonte: autor. *efeito dieta, intergrupos. # efeito treino intragrupos.

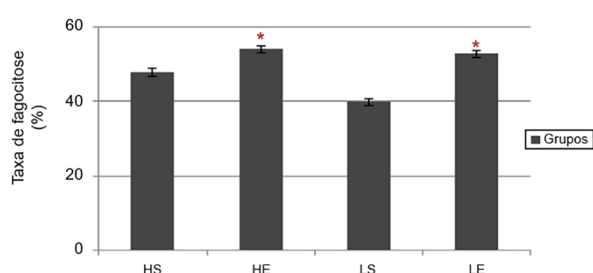


Figura 2. Taxa de fagocitose em macrófagos alveolares após o programa de exercício físico. Dados como média ± EPM (Anova *oneway*) com *post-hoc* de Turkey ($p < 0,05$). Efeito do exercício (*). Fonte: autor.

Tabela 3. Produção de ON pelos macrófagos alveolares estimulados por LPS ou não (∅), após protocolo de natação. Valores (mM/mL) expressos em média ± EPM (Anova *oneway*) com *post-hoc* de Tukey ($p < 0,05$). Efeito dieta intergrupos (^a) e efeito treino intragrupos (^b).

Grupos	∅	LPS
LS	2,3 ± 0,1	3,5 ± 0,4
LE	3,6 ^a ± 0,5	6,5 ^b ± 1,0
HS	2,4 ± 0,2	3,1 ± 0,3
HE	6,8 ^b ± 0,9	8,7 ^b ± 0,5

HE, hiperlipídico exercitado; HS, hiperlipídico sedentário; LE, labina exercitado; LPS, lipopolissacarídeos; LS, labina sedentário. Fonte: autor.

(Zhao et al., 2016; Oliveira et al., 2013). A inclusão do exercício, após 60 dias, diminuiu a gordura visceral nos ratos exercitados no fim do protocolo; o mesmo foi visto por Bernardes et al. (2004). Entretanto, a natação não reduziu a gordura epididimal, mas foi eficaz em reverter a resistência à insulina, induzida pela dieta gordurosa (Oliveira et al., 2013). Em ninhadas reduzidas, não foi eficaz em reduzir o peso corpóreo (Nery et al., 2011). É bem estabelecido que o exercício

aeróbico promova maior mobilização dos estoques de lipídios (Fernandes et al., 2017; Oliveira et al., 2013).

Segundo Dâmaso e Oller Do Nascimento (1998), há maior atividade da enzima lipase de lipoproteínas, que reduz o volume dos adipócitos. Animais submetidos à dieta gordurosa tiveram maiores valores de leucócitos em relação à padrão. Contudo, Lamas et al. (2002) observaram linfopenia em ratos por dieta induzida. Aumento de gordura corporal promoveu maior contagem de leucócitos, monócitos e neutrófilos circulantes (Nieman e Pedersen, 1999). Segundo Wang et al. (2016), essa inflamação não seria apenas resultado da indução dietética, mas também um fator adipogênico relacionado ao metabolismo de RNA e à imunidade inata. No fim do protocolo de natação, contagem de leucócitos, linfócitos, neutrófilos, basófilos e monócitos foi maior para o grupo HE; contudo, não houve alteração quanto aos eosinófilos. Achados similares foram obtidos por Delmondes et al. (2012). No entanto, Nascimento et al. (2004) não verificaram alteração nesses parâmetros. O potencial antioxidante promovido pelo exercício parece estar reduzido, quando se promove indução dietética de obesidade nos animais (Fernandes et al., 2017; Oliveira et al., 2013). Essas diferenças podem ser atribuídas a distintos desenhos experimentais que propiciam resultados diversos no exercício (sobrecarga, duração, frequência) e/ou manipulação dietética (Zhao et al., 2016; Leandro et al., 2007).

Exercício a 60% $\text{VO}_{2\text{máx}}$ aumenta a atividade oxidativa e a fagocitose de neutrófilos e macrófagos (Delmondes et al., 2012; Ferreira et al., 2010) e melhora os recursos de defesa, auxilia também na atividade oxidativa dos neutrófilos (Leandro et al., 2007). A associação das catecolaminas ou glicocorticoides e a migração das células endoteliais para o sangue (fenômeno de redistribuição) sugerem ser um dos promotores da leucocitose dos neutrófilos e linfocitose

(Ferreira et al., 2010; Pedersen e Hoffman-goetz, 2000). Outro meio dessa ativação de moléculas de adesão endotelial seria resultante de maior atividade nervosa simpática que regularia os movimentos transendoteliais de monócitos e macrófagos (Abboud e Singh, 2017). Estudo de Nielsen e Pedersen (1997) indicou que maior parte da linfocitose induzida pelo exercício é decorrente da liberação de células oriundas do baço e órgãos linfoides. Essa ativação imune seria gerada pela liberação de norepinefrina, nos terminais nervosos pela atividade simpática que inerva baço e órgãos linfoides (Ganta et al., 2005). Sugere, assim, um elo entre os nervos simpáticos e o sistema imune (Abboud e Singh, 2017). Evidências referem que a resposta inflamatória e o sistema nervoso autônomo (SNA) estão ligados aos nervos simpáticos e vagais (Zila et al., 2017; Martelli et al., 2014).

Também observamos maior taxa de fagocitose de macrófagos alveolares nas ratas exercitadas. Achados similares, com maior atividade dos macrófagos alveolares ou peritoneais, foram relatados (Zhao et al., 2016; Delmondes et al., 2012). Durante natação, o estímulo da fagocitose foi correlacionado com a carga corporal (Schöler et al., 2016) e ao limiar de exaustão (Ferreira et al., 2010); entretanto, exercício agudo também promoveu efeitos similares (Oliveira et al., 2013). O exercício pode aumentar a citotoxicidade antitumoral de macrófagos, mesmo após uma única sessão de exercício (Schöler et al., 2016). Essas controvérsias ocorrem devido a diferentes protocolos que induzem respostas distintas no aumento de hormônios de estresse e citocinas (Leandro et al., 2002). Outro elo sugerido entre o exercício e a imunidade se dá por duas vias: metabólica (glutamina) e a neuroendócrina (imunomodulação) (Zila et al., 2017; Leandro et al., 2002).

Segundo Moriguchi et al. (1998), elevada concentração de ácidos graxos pode inibir a proliferação dos linfócitos T, devido a sua diminuição na captação de glicose. Os linfócitos regulam a resposta imune através da produção de citocinas que ativam os macrófagos e sintetizam acetilcolina (Martelli et al., 2014). Esses macrófagos têm receptores colinérgicos, como o acetilcolinérgico 7-nicotínico, que é ativado durante a estimulação do nervo vago e pode ser protetor contra o choque séptico (Abboud e Singh, 2017). Essa neuroimunomodulação foi denominada de via anti-inflamatória colinérgica; propõe, assim, um circuito funcional entre o nervo vago e a resposta inflamatória (Zila et al., 2017). No entanto, sugere-se também que os fatores neuroendócrinos seriam responsáveis pelo estresse induzido pelo

exercício (Pedersen e Hoffman-goetz, 2000), tais como a adrenalina, a noradrenalina e o cortisol (Ferreira et al., 2010). As células imunes parecem ter receptores para diversos hormônios do estresse que atuam como quimioatrativos para macrófagos e neutrófilos e auxiliam a mobilização no sítio de inflamação (Ortega, 2003; Leandro et al., 2002). A expressão de β -receptores fornece a base molecular para sua ação. Contudo, a densidade e a eficiência de receptores adrenérgicos diferem nas células imunes (Leandro et al., 2002).

Neste trabalho, a produção de ON por macrófagos alveolares foi maior nos exercitados. Estudos revelam que o exercício estimula o ON (Schöler et al., 2016; Zhao et al., 2016). Animais submetidos ao exercício de esteira (oito semanas, três vezes/semana) aumentaram a produção de ON por macrófagos (Sugiurah et al., 2002). Exercício moderado gerou maior aderência, taxa de metabolismo do nitrogênio e capacidade fagocítica dos macrófagos (Delmondes et al., 2012). Contudo, exercício intenso também elevou a produção de ON (Schöler et al., 2016; Delmondes et al., 2012). Esse aumento pode estar ligado a uma elevação do metabolismo e do consumo de oxigênio, produzida por exercícios de alta intensidade (Elikov, 2016). Segundo Jungersten et al. (1997), uma única sessão de exercício induz elevação transitória de nitrato do plasma, possivelmente por aumento temporário endógeno do ON. O exercício tem potente efeito estimulador sobre o metabolismo de nitrogênio e reatividade de oxigênio (França et al., 2017; Woods et al., 2009). Em humanos, o uso de cicloergômetro propiciou uma mudança positiva no estado redox das células e tecidos dos níveis basais, reduziu o dano oxidativo (França et al., 2017). O exercício combinado (aeróbio e resistido) também verificou maior biodisponibilidade de ON (Conti et al., 2015).

Um possível mecanismo seria a redução da modulação simpática, que influenciaria a redução dos parâmetros pró-inflamatórios e de estresse oxidativo e biodisponibilidade de ON (Conti et al., 2015). É válido salientar que, apesar dos benefícios do ON como molécula reguladora imune, em situações de estresse oxidativo e inflamação, o ON pode reagir diretamente ou associado a outros compostos e se tornar citotóxico (Dusse et al., 2003). Aumento não significativo foi obtido em ratas exercitadas no IA. Contudo, o estudo de Woods et al. (2009) verificou aumento da aderência, atividade citotóxica e a capacidade fagocítica de macrófagos exercitados. O primeiro passo de um processo fagocítico é a aderência, essencial para a resposta inflamatória (Segura, 1998).

CONCLUSÃO

Os dados deste estudo permitem concluir que a dieta hiperlipídica aumentou os estoques de gordura visceral nos animais e influenciou o sistema imune. Entretanto, o exercício físico atenuou esses efeitos. A natação reduziu a quantidade de adiposidade e proporcionou melhoria no mecanismo de defesa, com o estímulo na fagocitose dos macrófagos alveolares, aderência celular e produção de ON. No entanto, estudos futuros são necessários para evidenciar quais os principais mecanismos de alterações imunes relacionados a esse tipo de exercício na obesidade.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (Facepe), nº IBPG 0437-4.08/09, em parceria com o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro a Patrícia dos Santos.

REFERÊNCIAS

- Abboud FM, Singh MV. Autonomic regulation of the immune system in cardiovascular diseases. *Adv Physiol Educ* 2017;41:578-93.
- Akao N, Sugimoto N, Thu AM, Kondo K, Tsuda Y, Fujita K. A tetrazolium dye (MTT) assay for testing larval viability using second-stage Larvae of *Toxocaracanis*. *JPar* 1995;44:1-5.
- Bernardes D, Manzoni MSJ, Souza CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *RevBr Ed Fís e Esp* 2004;18(2):191-200.
- Conti FF, Brito JO, Bernardes N, Dias DS, et al. Positive effect of combined exercise training in a model of metabolic syndrome and menopause: autonomic, inflammatory, and oxidative stress evaluations. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2015;309:1532-9.
- Dâmaso AR, Oller Do Nascimento CM. Efeitos do exercício realizado durante o ciclo reprodutivo sobre o metabolismo lipídico: análise de estudos utilizando animais experimentais. *Rev Paul Ed Fís* 1998;12:54-70.
- De Castro CMMB, De Castro RM, Andrade AD, Brandt CT. LPS bacteriano: um mediador de inflamação. *An Fac Med Un Fed Pern* 1997;42(2):78-83.
- De La Fuente M, Del Rio M, Ferrandez MD, Hernanz A. Modulation of phagocytic function in murine peritoneal macrophages by bombesin, gastrin-releasing peptide and neuromedin C. *Imm* 1991;73(2):205-11, 1991.
- Delmondes GMB, De Oliveira DC, Dos Santos PCP, Viana MT, Santos MSB, De Castro CMMB, et al. , Andrade MA. Efeito do treinamento físico moderado e intenso sobre os mecanismos de defesa de ratos adultos. *Mot* 2012;18(4):699-707.
- Delves PJ, Roitt EIM. The immune system First of two parts. *The N Eng J of Med* 2000;343(1):37-49.
- Ding AH, Nathan CF, Stuehr J. Release of nitrogen intermediates and reactive oxygen intermediates from mouse peritoneal macrophages. *J of Imm* 1988;141:2407-12.
- Dusse LSA, Vieira LM, Carvalho M, Das G. Revisão sobre óxido nítrico. *J Br de Patol e MedLab* 2003;39(4):343-50.
- Eguchi R, Cheik NC, Oyama LM, do Nascimento CMO, Mello MT, De Tufik S, et al. Efeitos do exercício crônico sobre a concentração circulante da leptina e grelina em ratos com obesidade induzida por dieta. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte* 2008;14(3):182-7.
- Elikov AV. Oxidative Balance in Rats during Adaptation to Swimming Load. *Bull Exp Biol Med* 2016;162(2):180-3.
- Estadella D, Oyama IM, Damaso AR, Ribeiro EB, do Nascimento CMO. Effect of Palatable Hyperlipidic Diet on Lipid Metabolism of Sedentary and Exercised Rats. *Bas Nut Inv* 2004;20: 218-24.
- França EE, Ribeiro LC, Lamenha GG, Magalhães IK, Figueiredo TG, Costa MJ, et al. Oxidative stress and immune system analysis after cycle ergometer use in critical patients. *Clin* 2017;72(3):143-9.
- Fernandes CR, Kannen V, Mata KM, Frajacomo FT, Jordão Junior AA. High-Fat and Fat-Enriched Diets Impair the Benefits of Moderate Physical Training in the Aorta and the Heart in Rats. *Front Nutr* 2017;4:21.
- Ferreira KO, Prestes J, Donatto F, Verlengia R, Navalta JW, Cavaglieri CR. Phagocytic responses of peritoneal macrophages and neutrophils are different in rats following prolonged exercise. *Clin* 2010;65(11):1167-73.
- Ganta CK, Lu N, Helwig BG, Blecha F, Ganta RR, Zheng L, et al. Central angiotensin II-enhanced splenic cytokine gene expression is mediated by the sympathetic nervous system. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289:1683-91.
- Jungersten L, Ambring A, Wall B, Wennmalm A. Both physical fitness and acute exercise regulate nitric oxide formation in healthy humans. *J of Appl Phys* 1997(3):760-4.
- Lamas O, Martinez JA, Marti A. T helper lymphopenia and decreased mitogenic response in cafeteria diet-induced obese rats. *Nut Res* 2002;22:496-507.
- Leandro CG, Levada AC, Hirabara SM, et al. A program of moderate physical training for Wistar rats based on maximal oxygen consumption. *J of Strand Cond Res* 2007;21(3):751-6.
- Leandro CG, Nascimento E, Manhães-de-castro R, Duarte Já, De Castro CMMB. Exercício físico e sistema imunológico: mecanismos e integrações. *RevPort Cdo Des* 2002;2(5):80-90.
- Malagueno E, Albuquerque C, De Castro CMMB, Gadelha M, Inácio-irmão J, Santana JV. Effect of biomphalariaglabrata hemolymph cells. *Mem Inst Osw C* 1998;93(1):301-2.
- Martelli D, Mckinley MJ, Mcallen RM. The cholinergic anti-inflammatory pathway: a critical review. *Auton Neurosci* 2014;182:65-9.
- Moriguchi S, Kato M, Sakai K, Yamamoto S, Shimizu E. Decreased mitogen response of splenic lymphocytes in obese Zucker rats is associated with the decreased expression of glucose transporter 1 (GLUT-1). *Am J of Clin Nut* 1998;67(6):1124-9.
- Nascimento E, Cavalcante T, Pereira S, Palmeira A, Rocha MC, Viana MT. O exercício físico crônico altera o perfil leucocitário e a taxa de fagocitose de ratos estressados. *RevPort C do Desp* 2004;4(3):26-33.

- Nery CS, Pinheiro IL, Muniz GS, Vasconcelos DGA, França SP, Nascimento E. Medidas murinométricas e eficiência alimentar em ratos provenientes de ninhadas reduzidas na lactação e submetidos ou não ao exercício de natação. *Rev Br Med Esp* 2011;17(1):49-55.
- Nielsen HB, Pedersen BK. Lymphocyte proliferation in response to exercise. *Eur J Appl Physiol* 1997;75:375-9.
- Nieman DC, Pedersen BK. Exercise and Immune Function: Recent Dev Sports Med 1999;27(2):73-80.
- Novelli ELB, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid Rodrigues GMX, Mani F. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab An* 2007;41:111-9.
- Oliveira AG, Araujo TG, Carvalho BM, Guadagnini D, Rocha GZ, Bagarolli RA, et al. Acute exercise induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization in diet-induced obese rats. *Obes (SilSpr)* 2013;21(12):2545-56.
- Ortega E. Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. *Exerc Immunol Rev* 2003;9:70-93.
- Pedersen KBE, Hoffman-goetz L. Exercise and the immune system: regulation, integration and adaptation. *Phys Rev* 2000;80(3):1055-81.
- Sampey BP, Vanhose AM, Winfield HM, Freerman AJ, Muehlbauer MJ, et al. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obes* 2011;19:1109-17.
- Schöler CM, Marques CV, da Silva GS, Heck TG, de Oliveira Junior LP, et al. Modulation of rat monocyte/macrophage innate functions by increasing intensities of swimming exercise is associated with heat shock protein status. *Mol Cell Biochem* 2016;421(1-2):111-25.
- Segura JJ, Jiménez-Rubio A, Guerreiro JM, Calvo JR, Feito JJ. Efeito in vitro do Tifell (formocresol-eugenol) na adesão de macrófagos. *IntEndod J* 1998;31(2):112-6.
- Sugiurah H, Nishida H, Sugiura H, Mirbod SM. Immunomodulatory action of chronic exercise on macrophage and lymphocyte cytokine production in mice. *Ac PhysScand* 2002;174:247-56.
- Spielmann J, Hanke J, Knauf D, Ben-Ellyahu S, Jacobs R, Stangl GI, et al. Significantly enhanced lung metastasis and reduced organ NK cell functions in diet-induced obese rats. *BMC Obes* 2017;3(4):24.
- Verwaerde C, Delanoye A, Macia L, Tailleux A, Wolowczuk I. Influence of high-fat feeding on both naive and antigen-experienced T-cell immune response in DO10.11 mice. *Scand J Immunol* 2006;64(5):457-66.
- Zhao F, Pang W, Zhang Z, Zhao J, Wang X, Liu Y, et al. Pomegranate extract and exercise provide additive benefits on improvement of immune function by inhibiting inflammation and oxidative stress in high-fat-diet-induced obesity in rats. *J Nutr Biochem* 2016;32:20-8.
- Zila D, Mokra J, Kopincova M, Kolomaznik M, Javorka M, Calokovska A. Vagal-Immune Interactions Involved in Cholinergic Anti-Inflammatory Pathway. *Physiol* 2017;66(Suppl. 2):S139-45, Res.
- Wang YT, Chiang HH, Huang YS, Hsu CL, Yang PJ, Juan HF, et al. A link between adipogenesis and innate immunity: RNase-L promotes 3T3-L1 adipogenesis by destabilizing Pref-1 mRNA. *Cell Death Dis* 2016;7(11):e2458, 10.
- Woods JA, Vieira VJ, Keylock KT. Exercise Inflammation, and Innate Immunity. *Immun and All Clin of N Am* 2009;29:381-93.