



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E NUTRIÇÃO

RAÍSA DE OLIVEIRA SANTOS

EXERCÍCIO FÍSICO E SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA MELHORAM A
DISMOTILIDADE GÁSTRICA E INFLAMAÇÃO INTESTINAL DE RATOS COM
COLITE ULCERATIVA: ENVOLVIMENTO DE IL-1 β , IL-6, TNF- α E MARCADORES
DE ESTRESSE OXIDATIVO.

TERESINA - PI

2019

RAÍSA DE OLIVEIRA SANTOS

EXERCÍCIO FÍSICO E SUPLEMENTAÇÃO DE GLUTAMINA MELHORAM A
DISMOTILIDADE GÁSTRICA E INFLAMAÇÃO INTESTINAL DE RATOS COM
COLITE ULCERATIVA: ENVOLVIMENTO DE IL-1 β , IL-6, TNF- α E MARCADORES
DE ESTRESSE OXIDATIVO.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em
Alimentos e Nutrição do Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal do Piauí, como requisito para a obtenção do
título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva

TERESINA - PI
2019

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Setorial do CCS
Serviço de Processamento Técnico

S237e Santos, Raísa de Oliveira.
Exercício físico e suplementação de glutamina melhoram a dismotilidade gástrica e inflamação intestinal de ratos com colite ulcerativa : envolvimento de il-1 β , il-6, tnf- α e marcadores de estresse oxidativo / Raísa de Oliveira Santos. – Teresina, 2019.
97 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição, 2019.
Orientação: Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento da Silva.
Bibliografia

1. Exercício Físico. 2. Glutamina. 3. Colite Ulcerativa. I. Título.

CDD 613.7

Elaborada por Fabíola Nunes Brasilino CRB 3/ 1014

RAÍSA DE OLIVEIRA SANTOS

EXERCÍCIO FÍSICO E SUPLEMENTAÇÃO COM GLUTAMINA MELHORAM A
DISMOTILIDADE GÁSTRICA E INFLAMAÇÃO INTESTINAL DE RATOS COM
COLITE ULCERATIVA: ENVOLVIMENTO DE IL-1 β , IL-6, TNF- α E MARCADORES
DE ESTRESSE OXIDATIVO.

Aprovada em: 07/05/19

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. MOISÉS TOLENTINO BENTO DA SILVA
(Orientador) – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ



Profª Dra. KELLY PALOMBIT
(Examinadora interna) – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ



Prof. Dr. JOÃO HENRIQUE DA COSTA SILVA
(Examinador externo) – UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

*A todos os que contribuíram direta ou indiretamente
para o desenvolvimento deste trabalho.*

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Moisés Tolentino Bento
da Silva que promoveu a minha entrada nesse novo
mundo, além de abrir muitas portas para que
chegasse até aqui e a todos os meus companheiros
do laboratório de Exercício Físico e
Gastrintestinal, meu carinhoso LABTRIPAS,
amizade e a colaboração em todos os experimentos
realizados.*

Agradecimentos

Agradeço a Deus por todas as portas e caminhos que Ele me proporcionou e por caminhar sempre comigo ao longo desta jornada.

À Universidade Federal do Piauí por toda a estrutura ofertada, em especial de laboratórios, bibliotecas, salas de aulas e demais instalações, e por possibilitar um ensino de qualidade.

Ao Departamento de Nutrição e ao programa de Pós-graduação de Alimentos e Nutrição (PPGAN), juntamente com os professores do programa. Sou imensamente grata por todos os ensinamentos compartilhados durante as aulas e pela disponibilidade que tiveram sempre comigo. Não poderia deixar de mencionar o agradecimento ao Núcleo de Pesquisas em Plantas Medicinais (NPPM), juntamente com os professores sempre estiveram à disposição de auxiliar em todos os questionamentos e percalços vivenciados no trabalho aqui exposto. Sou grata por todo o convívio e ensinamentos compartilhados, obrigada por tornar todos os dias um novo aprendizado.

Ao meu Orientador, professor Doutor Moisés Tolentino Bento da Silva, que foi fundamental para a realização deste trabalho e além disso, promover o alcance de novos olhares, novos pensamentos e novas vivências. Obrigada, professor, por brotar a “sementinha” do pesquisador em mim. Também obrigada por ser como um pai e ao mesmo tempo um grande amigo. Jamais me esquecerei dos seus ensinamentos.

Agradeço imensamente aos professores Armênio Aguiar dos Santos, Jand Venes Rolim Medeiros, Daniel Fernando Pereira Vasconcelos, Luciano da Silva Lopes, Emídio Matos e Kelly Palombit pela disposição e dedicação árdua em colaboração com esta pesquisa.

Aos meus queridos amigos do laboratório (LABTRIPAS – Laboratório de Exercício Físico e Trato Gastrointestinal): Erick Bryan (Byan), Lúcia Santos, Jéssica

Fernanda, Pedro Nogueira, Geovane Cardoso, Dyerson Tavares, Rainnério Araújo, Alda Cássica Brenda Lois, Yasmym Andrade, Igor Sabino e principalmente Lara Lima (Larinha), que sempre estiveram disponíveis e prestativas em todos os protocolos experimentais. Obrigada, amigos!

Não poderia deixar de citar em especial os meus parceiros Mickael e Mariana. Amigos vocês me deram forças onde eu já não via em mim, Mariana um exemplo de parcimônia e minha inspiração de mulher guerreira e Mickael com seu senso de ética e profissionalismo que também me inspira. Muito, muito obrigada!!

A minha amiga querida Maísa Guimarães dos tempos da graduação em Nutrição que até hoje está muito presente na minha vida. Agradeço ainda, aos meus amigos Gleyson Moura, Letícia Andrade, Vanessa Germana dos tempos de graduação obrigada pelas brincadeiras e pela cordialidade.

Aos meus companheiros e amigos de turma de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Nutrição: Mara Cristina, Loanne Rocha, Sterfany Rogrigues, Thamara Martins, Elynne Kryslen e Islanne Leal por todos os momentos que passamos juntos, pela cordialidade, respeito e ajuda nas horas mais difíceis.

Aos funcionários do PPGAN e NPPM – Luana Silva, Ianca, Patrícia Portela e Josi, por toda disponibilidade e atenção prestada.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior) pelo apoio financeiro e suporte técnico através do Portal de Periódicos e ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico).

Aos meus pais Noêmia e Cassiano por ter me concedido a vida e me ensinado o que sou hoje, além disso, de não negarem esforços nas conquistas dos meus sonhos. Aos meus irmãos Vicente e Raimundo Jr pelo o apoio nas minhas escolhas. Agradeço também aos meus familiares, e dedico essa conquista aos avós, em especial Cassiano (*in memoriam*) que sempre foi e será modelo dos passos.

Finalmente, agradeço a todos que direta e/ou indiretamente tiveram participação para que este trabalho pudesse ser bem-sucedido.

Raísa Santos

“A menos que modifiquemos à nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

RESUMO

A colite ulcerativa é caracterizada pela inflamação intestinal difusa e recorrente do cólon e reto, acredita-se que as produções excessivas de espécies reativas de oxigênio e citocinas pró-inflamatórias estejam relacionadas com a patologia. Ressalta-se o papel da suplementação de glutamina que juntamente ao exercício físico promova a redução do dano intestinal. O objetivo foi avaliar os efeitos dos exercícios físicos e da suplementação de glutamina sobre parâmetros gastrintestinais de ratos com colite ulcerativa. Os ratos machos Wistar (n=5 a 12/grupo), 250-300g, foram suplementados com 1g de glutamina/kg p.c por 8 semanas, via oral. Outros grupos foram submetidos aos treinamentos, anaeróbio: 5 sessões por semana de saltos individuais, 4 séries de 10 saltos, com sobrecarga progressiva (50-85% do p.c); aeróbio: sessões de natação, 5 x/semana, 60 min/ sessão, durante 8 semanas. Após o treinamento físico e/ou a suplementação ocorreu a indução da colite ulcerativa por sonda intra-colônica posicionada a 8 cm do ânus com 1 ml de ácido acético a 4% em solução salina (pH 2.3), posteriormente avaliou-se: lesão macroscópica; ganho de peso corporal, órgãos e tecidos; esvaziamento gástrico; análise histológica; determinação dos níveis de nitrato/nitritos, malondialdeído, mieloperoxidase e atividade de superóxido dismutase em tecidos colônicos; determinação das concentrações de citocinas IL-1 β , IL-6, TNF- α em tecidos colônicos. Observamos que a colite ulcerativa aumentou significativamente a perda do ganho de p.c (Δ) ($24,50 \pm 4,30$ vs. $74,57 \pm 4,20$ g/dia); lesão macroscópica colônica ($6,66 \pm 0,47$ vs. $0,30 \pm 0,15$); peso do cólon ($0,32 \pm 0,02$ vs. $0,19 \pm 0,11$ g), concentração de nitrato/nitritos ($0,10 \pm 0,004$ vs. $0,07 \pm 0,003$ μ M), malondialdeído ($130,4 \pm 14,75$ vs. $36,62 \pm 5,37$ nmol/g), mieloperoxidase ($6,32 \pm 0,83$ vs. $1,90 \pm 0,36$ UI/mg) e diminuição da atividade de superóxido dismutase ($0,90 \pm 0,21$ vs. $3,74 \pm 0,38$ UI/mgHb). Houve aumento significativo no grupo com colite ulcerativa de IL-1 β : $16,99 \pm 2,90$ vs. ND pg/mg, IL-6: $7,52 \pm 0,59$ vs. $3,21 \pm 0,90$ pg/mg e TNF- α : $24,57 \pm 4,71$ vs. $0,57 \pm 0,16$ pg/mg, também ocasiona extensas lesões microscópicas, caracterizadas por danos hemorrágicos, edema, perda de células epiteliais e processo inflamatório ($p < 0,05$). Em relação ao esvaziamento gástrico, a colite aumentou ($p < 0,05$) a taxa de esvaziamento ($76,58 \pm 4,91$ vs. $47,61 \pm 4,48$ ug/ml). Ambos os exercícios físicos foram capazes de reverter ($p < 0,05$) os efeitos da patologia de acordo com: lesão macroscópica (CU+ Ex anaeróbio: $4,77 \pm 0,46$; CU+ Ex aeróbio: $4,28 \pm 0,56$ vs. CU: $6,66 \pm 0,47$), taxa de esvaziamento gástrico (CU+ Ex anaeróbio: $70,58 \pm 10,27$; CU+ Ex aeróbio: $63,77 \pm 3,5$ vs. CU: $76,58 \pm 4,91$ ug/ml), níveis teciduais de malondialdeído (CU+ Ex anaeróbio: $70,79 \pm 4,01$; CU+ Ex aeróbio: $70,84 \pm 10,62$ vs. CU: $181,0 \pm 39,39$ nmol/g), mieloperoxidase (CU+ Ex anaeróbio: $3,17 \pm 0,65$; CU+ Ex aeróbio: $3,25 \pm 0,84$ vs. CU: $6,32 \pm 0,83$ UI/mg), atividade de superóxido (CU+ Ex anaeróbio: $6,09 \pm 0,31$; CU+ Ex aeróbio: $3,06 \pm 0,39$ vs. CU: $0,90 \pm 0,21$ UI/mgHb), IL-1 β (CU+ Ex anaeróbio: $5,82 \pm 1,13$; CU+ Ex aeróbio: $4,05 \pm 2,27$ vs. CU: $16,99 \pm 2,90$ pg/mg), TNF- α (CU+ Ex anaeróbio: $5,67 \pm 0,79$; CU+ Ex aeróbio: $6,02 \pm 0,45$ vs. CU: $20,12 \pm 3,69$ pg/mg) e danos microscópicos colônicos. A suplementação previniu ($p < 0,05$) em relação: ganho de p.c ($60 \pm 4,80$ vs. $24,50 \pm 4,30$ g/dia), lesão macroscópica ($4,0 \pm 0,65$ vs. $6,66 \pm 0,47$), níveis teciduais de nitrato/nitritos ($0,08 \pm 0,001$ vs. $0,10 \pm 0,004$ μ M), malondialdeído ($72,93 \pm 3,92$ vs. $130,4 \pm 14,75$ nmol/g), mieloperoxidase ($2,40 \pm 0,16$ vs. $6,32 \pm 0,83$ UI/mg) e atividade de superóxido ($3,96 \pm 0,40$ vs. $0,90 \pm 0,21$ UI/mgHb), IL-1 β ($4,10 \pm 1,54$ vs. $16,99 \pm 2,90$ pg/mg), IL-6 ($3,11 \pm 0,24$ vs. $6,54 \pm 1,08$) e TNF- α ($3,82 \pm 0,57$ vs. $24,57 \pm 4,71$ pg/mg). Quanto ao efeito do exercício físico aliado a suplementação foi protetor em relação: ganho de p.c ($67,17 \pm 5,08$ vs. $24,50 \pm 4,30$ g/dia), IL-1 β ($9,14 \pm 1,50$ vs. $16,99 \pm 2,90$ pg/mg), TNF- α ($3,82 \pm 0,57$ vs. $24,57 \pm 4,71$ pg/mg). Concluímos que ambos os exercícios físicos melhoram a dismotilidade gástrica e a inflamação intestinal induzida pela colite ulcerativa em ratos.

Palavras-Chave: Exercício Físico; Glutamina; Colite Ulcerativa.

ABSTRACT

Ulcerative colitis is characterized by diffuse and recurrent intestinal inflammation of the colon and rectum, it is believed that excessive production of oxygen reactive species and proinflammatory cytokines are related to the pathology. The role of glutamine supplementation that together with physical exercise promotes the reduction of intestinal damage is highlighted. The objective was to evaluate the effects of physical exercise and glutamine supplementation on gastrointestinal parameters of rats with ulcerative colitis. Male Wistar rats (n = 5 to 12 / group), 250-300g, were supplemented with 1g of glutamine / kg p.c for 8 weeks orally. Other groups were submitted to training, anaerobic: 5 sessions per week of individual jumps, 4 series of 10 jumps, with progressive overload (50-85% of p.c); Aerobic: swimming sessions, 5 x / week, 60 min / session, for 8 weeks. After physical training and / or supplementation, ulcerative colitis was induced by intra-colonic catheter positioned at 8 cm from the anus with 1 mL of 4% acetic acid in saline solution (pH 2.3), and the following were evaluated: macroscopic lesion ; gain of body weight, organs and tissues; gastric emptying; histological analysis; determination of nitrate / nitrite levels, malondialdehyde, myeloperoxidase and superoxide dismutase activity; determination of cytokine concentrations IL-1 β , IL-6, TNF- α . We observed that ulcerative colitis significantly increased the loss of p.c. (Δ) gain (24.50 ± 4.30 vs. 74.57 ± 4.20 g / day); colonic macroscopic lesion (6.66 ± 0.47 vs. 0.30 ± 0.15); weight of the colon (0.32 ± 0.02 vs. 0.19 ± 0.11 g), nitrate / nitrite concentration (0.10 ± 0.004 vs. 0.07 ± 0.003 μ M), malondialdehyde (130.4 ± 14.75 vs. 36.62 ± 5.37 nmol / g), myeloperoxidase (6.32 ± 0.83 vs. 1.90 ± 0.36 IU / mg) and decreased superoxide dismutase activity (0.90 ± 0.21 vs. 3.74 ± 0.38 IU / mgHb). There was a significant increase in the group with IL-1 β ulcerative colitis: 16.99 ± 2.90 vs. ND pg / mg, IL-6: 7.52 ± 0.59 vs. 3.21 ± 0.90 pg / mg and TNF- α : 24.57 ± 4.71 vs. 0.57 ± 0.16 pg / mg, also causes extensive microscopic lesions, characterized by hemorrhagic damage, edema, loss of epithelial cells and inflammatory process (p <0.05). In relation to gastric emptying, colitis increased (p <0.05) the emptying rate (76.58 ± 4.91 vs. 47.61 ± 4.48 ug / ml). Both physical exercises were able to reverse (p <0.05) the effects of the pathology according to: macroscopic lesion (4.77 ± 0.46 , 4.28 ± 0.56 vs. 6.66 ± 0.47), gastric emptying rate (70.58 ± 10.27 , 63.77 ± 3.5 vs. 76.58 ± 4.91 ug / ml), tissue levels of malondialdehyde (70.79 ± 4.01 ; 70 , 84 ± 10.62 vs. 181.0 ± 39.39 nmol / g), myeloperoxidase (3.17 ± 0.65 , 3.25 ± 0.84 vs. 6.32 ± 0.83 IU / mg), superoxide activity (6.09 ± 0.31 , 3.06 ± 0.39 vs. 0.90 ± 0.21 IU / mgHb), IL-1 β (5.82 ± 1.13 , $4.05 \pm (5.67 \pm 0.79)$, 6.02 ± 0.45 vs. 20.12 ± 3.69 pg / mg) and TNF- α (5.67 ± 0.79 , 6.02 ± 0.45 , colonic microscopic damage. Supplementation prevented (p <0.05): CP gain (60 ± 4.80 vs. 24.50 ± 4.30 g / day), macroscopic lesion (4.0 ± 0.65 vs. 6.66 ± 0.47), tissue nitrate / nitrite levels (0.08 ± 0.001 vs. 0.10 ± 0.004 μ M), malondialdehyde (72.93 ± 3.92 vs. 130.4 ± 14.75 nmol / g), myeloperoxidase (2.40 ± 0.16 vs. 6.32 ± 0.83 IU / mg) and superoxide activity (3.96 ± 0.40 vs. 0.90 ± 0.21 IU / mgHb), IL-6 (3.11 ± 0.24 vs. 6.54 ± 1.08) and TNF- α (4.10 ± 1.54 vs. 16.99 ± 2.90 pg / mg) (3.82 ± 0.57 vs. 24.57 ± 4.71 pg / mg). As for the effect of allied exercise, supplementation was protective in relation to: gain of CP (67.17 ± 5.08 vs. 24.50 ± 4.30 g / day), IL-1 β (9.14 ± 1.50 vs. 16.99 ± 2.90 pg / mg), TNF- α (3.82 ± 0.57 vs. 24.57 ± 4.71 pg / mg). We conclude that both physical exercises such as glutamine supplementation improve gastric dysmotility and intestinal inflammation induced by ulcerative colitis in rats.

Key words: Physical Exercise; Glutamine; Ulcerative Colitis.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Efeito da Glutamina na barreira intestinal.....	28
Figura 02. Representação do delineamento experimental realizado.....	32
Figura 03. Esboço do aparelho de formação de resistência de alta intensidade.....	33
Figura 04. Ilustração do treinamento aeróbio, natação sem carga.....	34
Figura 05. Representação da indução da Colite Ulcerativa com ácido acético.....	36
Figura 06. Efeito das diferentes concentrações de ácido acético sobre os tecidos colônicos nos protocolos cirúrgicos em ratos.....	43
Figura 07. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio na variação do peso corporal (Δ) nos grupos salina e colite ulcerativa.....	44
Figura 08. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no peso dos órgãos: coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins por 100 gramas de p.c, em ratos salina ou colite ulcerativa.....	46
Figura 09. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no perfil do escore de lesão macroscópico e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal em ratos salina ou colite ulcerativa.....	48
Figura 10. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no esvaziamento gástrico em ratos salina ou colite ulcerativa.....	49
Figura 11. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio na produção de NOx, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou colite ulcerativa.....	51
Figura 12. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio na produção de IL-1 β , IL-	

6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa.....53

Figura 13. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio nas fotomicrografias do colón dos ratos salina ou colite ulcerativa.....55

Figura 14. Efeito da suplementação de glutamina na variação do peso corporal (Δ) nos grupos salina e colite ulcerativa.....56

Figura 15. Efeito da suplementação de glutamina no peso dos órgãos: coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins por 100 gramas de p.c, em ratos salina ou colite ulcerativa.....57

Figura 16. Efeito da suplementação de glutamina no perfil do escore de lesão macroscópico e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal em ratos salina ou colite ulcerativa.....59

Figura 17. Efeito da suplementação de glutamina no esvaziamento gástrico em ratos salina ou colite ulcerativa.....60

Figura 18. Efeito da suplementação de glutamina na produção de NOxs, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou colite ulcerativa.....62

Figura 19. Efeito da suplementação de glutamina na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa.....63

Figura 20. Efeito da suplementação de glutamina nas fotomicrografias do colón dos ratos salina ou colite ulcerativa.....65

Figura 21. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina na variação do peso corporal (Δ) nos grupos salina e colite ulcerativa.....66

Figura 22. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina no peso dos órgãos: coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins por 100 gramas de p.c, em ratos salina ou colite ulcerativa.....68

Figura 23. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina no perfil do escore de lesão macroscópico e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal em ratos salina ou colite ulcerativa.....	70
Figura 24. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina no esvaziamento gástrico em ratos salina ou colite ulcerativa.....	71
Figura 25. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina na produção de NOxs, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou colite ulcerativa.....	73
Figura 26. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa.....	75
Figura 27. Efeito Exercício Físico e da suplementação de glutamina nas fotomicrografias do colón dos ratos salina ou colite ulcerativa.....	77

LISTA DE TABELAS

- Tabela 01.** Distribuição esquemática da progressão semanal da carga, em porcentagem, acoplada ao animal de acordo com o peso corporal.....33
- Tabela 02.** Grau de lesão no cólon distal com colite ulcerativa.....37
- Tabela 03.** Avaliação do efeito dos diferentes tipos de exercício físico no dano microscópico colônicos induzido pela colite ulcerativa em ratos.....54
- Tabela 04.** Avaliação do efeito da suplementação de glutamina no dano microscópico colônicos induzido pela colite ulcerativa em ratos.....64
- Tabela 05.** Efeito do exercício físico aeróbio e suplementação de glutamina no dano microscópico colônicos induzido pela colite ulcerativa em ratos.....76

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AMP	monofosfato de adenosina
AMPK	proteína quinase ativada por AMP
ATP	trifosfato de adenosina
BSA	albumina de soro bovino
CU	colite ulcerativa
DIIs	doenças inflamatórias intestinais
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
EF	exercício físico
ELISA	ensaio de imunabsorbância ligado a enzima
EG	esvaziamento gástrico
EROs	espécies reativas de oxigênio
DSS	dextrano Sulfato de Sódio
GLP-1	peptídeo semelhante ao glucagon-1
GLU	Glutamina
HCl	ácido clorídrico
HE	hematoxilia e eosina
HTAB	brometo de hexa-decil-trimetil-amônio
H₂O₂	peróxido de hidrogênio
H₂SO₄	ácido sulfúrico
H₃PO₄	ácido fosfórico
i. p	Intraperitoneal
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10
KCl	cloreto de potássio
KOH	hidróxido de potássio
MDA	malondialdeído
MPO	mieloperoxidase
NaOH	hidróxido de sódio

NaCl	cloreto de sódio
NFκB	fator nuclear kappa B
NO	óxido nítrico
NO₃	Nitrato
NO₂	Nitritos
NOxs	nitratos/Nitritos
OH	hidroxila
OMS	Organização Mundial da Saúde
PBS	Tampão fosfato-salino
p.c	peso corporal
PCR	proteína C reativa
PE	Polietileno
pH	potencial hidrogeniônico
PPAR γ	peroxissomo-Receptor γ ativado
PVC	polyvinyl chloride
TBARS	substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TNBS	ácido 2,4,6-Trinitrobenzenesulfônico
TGI	trato Gastrintestinal
TNF-α	fator de Necrose Tumoral alfa
TWEAK	indutor fraco de apoptose tipo Tumoral alfa

UNIDADES

cm	Centímetros
g	grama
h	hora
M	molar
mg/dL	miligrama por decilitro
mg/g	miligrama por grama
mg/kg	miligrama por quilograma
ml	Mililitro
ml/kg	mililitro por quilograma
mM	milimolar
Mmol/g	milimole por grama
mm²	milímetro quadrado

nm	nanômetro
µL	microlitro
µg	Micrograma
µg/poço	micrograma por poço
µg/ml	micrograma por mililitro
µM	micromoles
µmol/g	micromol por grama
µmol/L	micromol por litro
N	Normal
pg	pictogramas por mililitro
rpm	rotações por minuto
UI	unidade Internacional
UI/mgHb	unidade internacional por miligrama de hemoglobina
UMPO/mg	unidade de MPO por miligrama
v/v	volume/volume

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1	Colite Ulcerativa: Epidemiologia, fisiopatologia e alterações histológicas	21
2.2	Efeitos do Exercício Físico na Colite Ulcerativa	24
2.3	Efeitos da Suplementação de Glutamina na Colite Ulcerativa	26
3	OBJETIVOS	30
3.1	Objetivo Geral	30
3.2	Objetivos Específicos	30
4	METODOLOGIA	31
4.1	Animais	31
4.2	Amostra	31
4.3	Protocolo de Suplementação	32
4.4	Protocolo de Treinamento Anaeróbio	32
4.5	Protocolo de Treinamento Aeróbio	34
4.6	Protocolo de Indução da Colite Ulcerativa	35
4.7	Protocolo de Pesagem dos Animais, Órgãos e Tecidos	36
4.8	Parâmetros Histopatológicos	36
4.8.1	Análise da Lesão macroscópica da Colite Ulcerativa	36
4.8.2	Preparação do material para Histoquímica	37
4.8.3	Análise Histopatológica	38
4.9	Determinação dos Níveis de Citocinas (IL-1B, IL-6, TNF- α)	38
4.10	Determinação dos níveis de Nitrato/nitrito (NOx)	39
4.11	Determinação dos níveis de Malondialdeído (MDA)	39
4.12	Determinação da Atividade da Mieloperoxidase (MPO)	40
4.13	Determinação da Atividade de Superóxido Dismutase (SOD)	40
4.14	Esvaziamento Gástrico	40
4.15	Análise Estatística	41
5	RESULTADOS	42
5.1	Definição Experimental para Indução da Colite Ulcerativa	42
5.2	Efeito dos Diferentes Tipos de Exercício Físico em ratos com Colite Ulcerativa	44
5.3	Efeitos da Suplementação de Glutamina em ratos com Colite Ulcerativa	56

5.4	Efeitos do Exercício Físico aliado a Suplementação de Glutamina em ratos com Colite Ulcerativa.....	65
6	DISCUSSÃO.....	78
7	CONCLUSÃO.....	86
	REFERÊNCIAS.....	87

1 INTRODUÇÃO

Estudos têm demonstrado que o exercício físico (EF) promove benefícios fisiológicos relacionados com a redução do risco de doenças cardiovasculares e endócrinas, e possui ação sobre o sistema gastrointestinal, onde de intensidade leve pode promover uma aceleração do esvaziamento gástrico ou uma diminuição do mesmo em virtude de exercícios extenuantes. Além disso, o Exercício Físico atua como tratamento não farmacológico para desordens gastrointestinais como câncer do cólon, colelitíase e doenças inflamatórias intestinais (KASIMAY et al., 2006; SUKHOTNIK et al., 2007; LIU et al., 2015).

Dentre as doenças inflamatórias intestinais destaca-se a colite ulcerativa, caracterizada por ser uma inflamação intestinal difusa e recorrente do cólon e reto, provocando alterações na arquitetura tecidual da mucosa do cólon, aumento na percepção sensorial e na motilidade intestinal de modo a comprometer a funcionalidade do órgão. Sua etiologia não está totalmente elucidada, entretanto, acredita-se que as produções excessivas de espécies reativas ao oxigênio e citocinas pró-inflamatórias estejam significativamente relacionadas ao desenvolvimento da patologia (VICTORIA et al., 2009; ARAÚJO et al., 2009; CIESIELCZYK et al., 2017).

Dessa forma, ressalta-se o papel da suplementação de nutrientes que promovam juntamente com o exercício físico a redução do dano intestinal na colite ulcerativa. Os aminoácidos são os principais reguladores das vias metabólicas, e evidências indicam papéis adicionais para estes na manutenção da saúde intestinal (HASHASH; BINION, 2017; JEONG et al., 2018;).

A glutamina é um aminoácido não essencial que possui papel na redução das concentrações de interleucina 8 (IL-8) e do Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α) na mucosa colônica inflamada, além disso, estudos recentes indicam que esse aminoácido livre reduz a translocação bacteriana provocando diminuição de possíveis infecções oportunistas e também promove a síntese de glutatona no intestino abrandando os danos causados pelo estresse oxidativo (ROGGENBUCK et al., 2008; BENJAMIN et al., 2012; CHEN et al., 2014).

Em estudo realizado por Jeong et al. (2018) observou que a suplementação de glutamina dissolvido em água destilada a 4%, em camundongos por 5 dias

diminuiu os níveis colônicos de TNF- α , além disso, provocou atenuação dos parâmetros histopatológicos, como a anormalidade histológica e o processo inflamatório, indicando que a suplementação de glutamina melhora a colite ulcerativa.

Enquanto que experimento realizado por Quin et al. (2017) observou que ratos com colite ulcerativa tratados com exercício de natação, em programa de 7 semanas (1 ou 1,5 horas por dia, 5 dias por semana) provocou melhora no encurtamento do cólon e a redução do ganho de peso corporal. Também houve inibição na produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias e diminuiu a expressão proteica do fator nuclear fosforilado- β B65 e ciclooxigenase 2, enquanto elevou os níveis de interleucina-10 (IL-10).

Contudo, embora existam estudos que tenham demonstrado a eficiência do exercício físico e da suplementação de glutamina, ainda permanecem escassos trabalhos que observem os efeitos dos mesmos sobre a arquitetura tecidual, processo inflamatório e da motilidade gástrica. Dessa forma, a investigação de uma possível relação entre os marcadores inflamatórios, a motilidade gástrica, e o Exercício Físico associado ou não a suplementação de glutamina foi conduzida visando contribuir para um esclarecimento acerca do papel desses nos mecanismos envolvidos nos distúrbios gastrintestinais associados à colite ulcerativa.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Colite Ulcerativa: Epidemiologia, fisiopatologia e alterações histológicas

As doenças inflamatórias intestinais (DIIs) são doenças crônicas que afetam o trato digestório, dentre essas doenças temos, a colite ulcerativa (CU) caracterizada por uma inflamação redicivante da mucosa colônica com extensão variável do reto em direção ao ceco, sendo limitada à camada mucosa e submucosa. Os segmentos intestinais envolvidos mostram um padrão descontínuo frequentemente afetando o íleo terminal e também o cólon (FIOCCHI, 1997; POLI et al., 2001; KAWADA; AIHIRO; MIZOGUCHI, 2007; NATALIE, et al., 2012; ADAMS; BORNEMANN, 2013).

Dessa maneira, os indivíduos podem ser classificados como tendo a doença limitada ao reto (proctite), proctossigmoidite (quando afeta até a porção média do sigmóide), com envolvimento do cólon descendente até o reto (colite esquerda) e envolvimento de porções proximais à flexura esplênica (pancolite) (GHOSH, SHAND, FERGURSON, 2000).

A patologia pode permanecer em remissão por longos períodos, enquanto que a probabilidade de ausência de recidiva por 2 anos é de 20% dos indivíduos com Colite Ulcerativa. As recidivas geralmente ocorrem na mesma região do cólon das outras agudizações (QUILICI; MISZPUTEN, 2010).

A Colite Ulcerativa pode manifestar-se em qualquer idade, sendo homens e mulheres igualmente afetados. O pico de incidência parece ocorrer dos 20 aos 40 anos e muitos estudos mostram um segundo pico de incidência nos idosos, dentre as manifestações clínicas mais comuns são diarreia, sangramento retal, eliminação de muco nas fezes e dor abdominal. A América Latina é considerada uma região de baixa prevalência dessa patologia quando comparada com países como os Estados Unidos, Reino Unido e Austrália (BRASIL, 2010; TALLEY et al., 2011).

Entretanto na última década, os países da América Latina apresentaram crescimento de 3 a 4 vezes no número de novos casos em relação à década anterior, com incidência maior de 75% em relação à colite. Estudos epidemiológico realizado no México em um período de 20 anos, mostrou que a média de novos casos aumentou anualmente de 28,8 para 76,1, evidenciando relação estreita entre o aumento das DIIs e o processo de industrialização e urbanização. Estudos

realizados em São Paulo, Piauí, Chile e Buenos Aires mostram que a incidência de DII está aumentando em toda a América Latina, da mesma forma que em países asiáticos (SANTOS et al., 2017; ABCD, 2017).

O Brasil é considerado um país de baixa incidência e prevalência de DIIs, embora note-se um claro crescimento no volume de atendimentos e internamentos de pacientes com estas doenças, como demonstrado nos estudos de Victoria, Sasaki, Nunes (2009), com elevação progressiva das taxas de incidência de DII entre os anos de 1986 e 2005, e de Silva et al. (2015), com aumento progressivo do número de diagnósticos de retocolite ulcerativa a partir da década de 1990.

Existem poucos estudos epidemiológicos nacionais, possivelmente devido à não existência até o momento de sistemas integrados de notificação de diagnóstico das DII, mas um número cada vez maior de estudos regionais vem sendo realizados, o que pode, ainda que de maneira não linear, fornecer melhores dados sobre a prevalência e incidência das DII no Brasil (DAMIÃO; VASCONCELOS, 2001; KLEINUBING-JÚNIOR et al., 2011).

Quanto aos sinais clínicos a Colite Ulcerativa geralmente apresenta hematoquezia, diarreia e dor abdominal, sendo o início dos sintomas de forma súbita ou gradual, além disso, a presença de anemia, trombocitose ou hipoalbuminemia pode sugerir DIIs, entretanto a maioria dos pacientes com Colite Ulcerativa não terá essas anormalidades. Quanto ao nível de proteína C reativa (PCR) e a taxa de sedimentação de eritrócitos são testes insensíveis à detecção de Colite Ulcerativa e não devem ser invocados para excluir a doença inflamatória intestinal. No momento do diagnóstico, menos da metade dos pacientes apresentam achados anormais nesses testes (HOU; ABRAHAM; EL-SERAG, 2011; TURKAY; KASAPOGLU, 2010).

O diagnóstico é estabelecido pela avaliação da história clínica, exame das fezes, exames endoscópicos e achados histopatológicos. Como o tratamento é realizado de acordo com a extensão da doença, a retossigmoidoscopia flexível é útil para definir as porções acometidas, devendo ser realizada de preferência sem preparo do intestino e evitando-se a insuflação excessiva de ar se inflamação acentuada estiver presente. A colonoscopia não é normalmente necessária na fase aguda e deve ser evitada, se possível, pois pode desencadear um quadro de megacolon tóxico (VICTORIA et al., 2009; ROSA; SILVA JR; ROSA, 2014).

A Colite Ulcerativa apresenta perda funcional como a má absorção, comprometimento da retenção de proteínas e minerais das estruturas supracitadas,

além disso, pode manifestar complicações extra-intestinais que incluem a poliartrite migratória, sacroileíte, uveíte, dentre outras. Considera-se que essas manifestações podem surgir antes mesmo dos sintomas intestinais, concomitante ou após a atividade da doença (VON BOYEN; STEINKAMP, 2011; CHAPARRO; GISBERT, 2011).

Entre as alterações morfológicas, destaca-se a distorção da arquitetura da mucosa, a infiltração leucocitária da lâmina própria e a depleção de células caliciformes. Estudos afirmam quanto às alterações histológicas, a formação de edema, a redução de células produtoras de muco, a hiperplasia das criptas intestinais, as erosões, as ulcerações profundas, granulomas, proeminentes agregados linfóides e vasos linfáticos dilatados na túnica submucosa (ZANESCO; SOUSA, 2011; CONRAD; ROGGENBUCK; LAASS, 2014).

Araújo et al., (2009) afirma que a Colite Ulcerativa provoca alterações no epitélio intestinal. Esse é composto por uma camada simples polarizada recoberto por muco, nesse permanecem a microbiota intestinal, dessa forma, anormalidades no epitélio provocam alterações na produção de muco.

Por sua vez, as células dentríticas servem como interface entre a camada epitelial e o tecido linfoide, além disso, essas células são a chave no controle da imunidade contra patógenos e tolerância a microbiota intestinal, além de expressarem uma série de moléculas receptoras capazes de fazer a distinção entre a microbiota e possíveis patógenos, com isso, ativando ou silenciando respostas mediadas por células T (IWASAKI; MEDZHITOV, 2004).

Atualmente, acredita-se que a Colite Ulcerativa resulte da resposta inapropriada de um sistema imune de mucosa defeituoso incapaz de distinguir a microbiota de outros antígenos luminiais, de modo que as células dentríticas pode ser responsáveis por tal desarranjo (BAUMGART; CARDING, 2007).

Todas essas alterações levam a resposta do sistema imune intestinal, desencadeando liberação excessiva de citocinas pro-inflamatórias como TNF- α , interferon-gama, IL-1, IL-4 e IL-6 mediadas pelos linfócitos T e macrófagos. Além disso, na Colite Ulcerativa é possível observar que a ulceração é limitada à mucosa e à lâmina própria (SZALAI et al., 2014).

Pelos modelos experimentais de inflamação intestinal tem sido possível constatar alterações no número de neurônios dos gânglios entéricos, anormalidades nas funções contráteis e secretoras do colón distal associados com diarreia. A

literatura tem demonstrado que o sistema nervoso entérico é muito afetado na Colite Ulcerativa, com necrose, apoptose e degeneração dos gânglios entéricos, bem como, alterações nos neurotransmissores e neuropeptídeos (BOYER et al., 2005; SHARKEY; KROESE, 2001).

2.2. Efeitos do Exercício Físico na Colite Ulcerativa

De acordo com a literatura o Exercício Físico é caracterizado como um movimento corporal planejado, organizado e repetido que possui como finalidade promover ou manter a aptidão física, além disso, leva ao aumento do gasto energético e da frequência cardíaca. O exercício regular fornece benefícios importantes para a saúde, pois reduz o risco de doenças cardiovasculares e endócrinas, estimula o desenvolvimento saudável de ossos e músculos e diminui a ansiedade e a depressão. No entanto, o benefício do exercício sobre o trato gastrointestinal não é totalmente esclarecido (GOMES et al., 2012; WANG et al., 2014).

Tem-se demonstrado que a prática regular de exercício físico tem como função promover a melhora do organismo, auxiliando na prevenção e tratamento de doenças crônicas não transmissíveis e patologias crônico-degenerativas. A grande maioria dos estudos com exercício físico analisa as respostas e adaptações dos sistemas respiratório, cardiovascular e neuromuscular, entretanto o exercício também possui influência sobre outros sistemas, tais como, o sistema imune e o trato gastrointestinal (HUANG et al., 2006; LIRA et al., 2013; TEIXEIRA-LEMOS et al., 2011).

Estudos evidenciam que a participação do exercício físico regular e moderado melhora a função imunológica e reduz a incidência de doenças inflamatórias. O exercício físico possui capacidade de controlar ativação de neutrófilos, macrófagos e linfócitos, além disso, aumenta os níveis de IL-10 em resposta ao aumento sérico de IL-1, TNF- α e IL-6 (FERREIRA, 2010; BELOTTO, 2011).

Entretanto, a prática de exercício intenso e crônico pode proporcionar sintomas gastrointestinais transitórios, como náuseas, diarreia e hemorragias gastrointestinais relacionadas à isquemia intestinal e fatores mecânicos ou neuroendócrinos associados à alta intensidade de exercício e longa duração (BORN; ZINNER; SPERLICH, 2017; BRIZA et al., 2010; HYDREN; COHEN, 2015).

O impacto do exercício sobre o trato gastrointestinal (TGI), apesar de ainda pouco estudado, é uma área de grande importância, pois o exercício apresenta impacto relevante nesse sistema, podendo ocasionar efeitos desagradáveis, ou potenciais benefícios, tais como a diminuição da prevalência de câncer de cólon. Além disso, a eficácia sobre o TGI irá depender de fatores, como intensidade, tempo, volume e natureza do exercício (PETERS et al., 2001; LIRA et al., 2008).

O exercício físico de baixa intensidade possui efeito protetor sobre o TGI, já que estudos apontam que a prática habitual de exercício físico moderada protege o íleo de camundongos contra a ação do envelhecimento, esse por sua vez, está associado à desorganização parcial das mitocôndrias. Além disso, o exercício físico de baixa intensidade possui repercussão protetora ao câncer de cólon, apresentando redução de cerca de 50%, em ambos os sexos. Tal ação é independente de fatores como a dieta e a composição corporal, esse fato pode ser explicado pela redução do tempo de trânsito intestinal o que reduz o período de contato entre a mucosa do cólon e os possíveis compostos carcinogênicos presentes no conteúdo intestinal (OETTLÉ, 1991; BARRETT et al., 2008).

Outros estudos indicam que os prováveis mecanismos para alterações do exercício físico sobre o TGI incluem a alteração da motilidade do cólon, a diminuição do fluxo sanguíneo intestinal, o estresse mecânico produzido por atividade de corrida sobre o intestino, a compressão do cólon pela musculatura abdominal (MATSUMOTO et al., 2008). É importante ressaltar que grande parte dos fatores responsáveis pelos benefícios do exercício sobre o TGI são também os responsáveis pelos efeitos negativos, portanto, existe uma relação dose-resposta e um limiar de intensidade que separa os dois efeitos sobre o TGI (BORGES; MOREIRA, 2009).

O exercício físico tem sido considerado protetor contra as DIIs, como a doença de Crohn e a Colite Ulcerativa. Entretanto, os mecanismos envolvidos ainda são desconhecidos, mas acredita-se que envolvem ações anti-inflamatórias do exercício no intestino e sua capacidade de modular a microbiota intestinal (PEDERSEN; HOFFMAN-GOETZ, 2000; SOUZA et al., 2011; CHEN et al., 2014).

Na literatura é consenso de que os pacientes com DIIs em fase de remissão devem realizar exercícios físicos, sendo esta situação reforçada pelas diferentes respostas que cada paciente apresenta ao exercício físico, este é também um dos tratamentos complementares adotados por pacientes com doenças inflamatórias

intestinais, para melhorar sua qualidade de vida (BARBOSA et al., 2010).

Tem-se observado que em diferentes populações o maior risco de adultos saudáveis desenvolverem as DIIs está relacionado aos empregos que apresentam baixa demanda física e ainda que sejam realizadas em ambientes artificiais, enquanto que os empregos que desenvolvem suas atividades ao ar livre e tem uma maior demanda física possuem menor risco de desenvolvimento dessas patologias (CUCINO, SONNENBERG, 2001).

A qualidade de vida de pacientes com Colite Ulcerativa levemente ativa apresentou melhora significativa depois de participarem de um programa de Terapia corporal, entretanto não encontraram alterações significantes nos parâmetros fisiológicos. Enquanto que um programa de caminhada de baixa a moderada intensidade, com duração de três meses, foi eficaz para melhorar na qualidade de vida e diminuição dos sintomas relacionados com a Doença de Crohn e Colite Ulcerativa (ELSENBRUCH et al., 2005; NG et al., 2007).

2.3. Efeitos da Suplementação de Glutamina na Colite Ulcerativa

A glutamina ($C_5H_{10}N_2O_3$) é um L- α -aminoácido, que pode ser sintetizada por todos os tecidos do organismo, esse é composto por: carbono (41,09%), oxigênio (32,84%), nitrogênio (19,17%) e hidrogênio (6,90%). E pode ser classificado de acordo com seu grupamento R como não carregada, sendo essa uma molécula polar, o que significa uma característica mais hidrofílica, sendo facilmente hidrolisada por ácidos ou bases. Estudos cinéticos estimam que cerca de 80 g de glutamina circula na corrente sanguínea por dia, mas somente 5-8 g são provenientes da alimentação (CRUZAT, PETRY, TIRAPGUI, 2009; AGOSTINI; BILOLO, 2010).

A glutamina é o aminoácido mais abundante no sangue humano, no músculo esquelético e no pool de aminoácidos livres. Desempenha papéis fisiologicamente importantes em vários processos metabólicos: como intermediário no metabolismo energético e como substrato para a síntese de peptídeos e não peptídeos, como bases nucleotídicas, glutatona e neurotransmissores. Essa tem sido apontada como alternativa eficaz, pois possui ação imunológica e atua na barreira da mucosa intestinal, age sobre macrófagos, interferindo na fagocitose, e sobre os radicais livres (ACHAMRAH; DECHELOTTE; COFFIER, 2017; KIM; KIM, 2017).

Entre os vários tecidos que utilizam a glutamina em altas taxas, o intestino utiliza cerca de 30% do total de glutamina evidenciando que é nutriente essencial para o intestino. Um quarto da glutamina plasmática é absorvida pelo intestino delgado quando passa pelo órgão, dentre suas funções incluem a manutenção do metabolismo dos nucleotídeos e da função da barreira intestinal, a modulação da inflamação e a regulação das respostas ao estresse e da apoptose (KIM, 2011; ZHANG et al., 2015).

A proliferação e desenvolvimento de células, em especial do sistema imune, o balanço ácido-básico, o transporte da amônia entre os tecidos, a doação de esqueletos de carbono para a gliconeogênese, entre outros, são algumas das funções em que esse importante nutriente está envolvido (ROGERO et al., 2014; CRESPO et al., 2012).

Quantitativamente, o principal tecido de síntese, estoque e liberação de glutamina é o tecido muscular esquelético. A taxa de síntese desse aminoácido no músculo esquelético humano é de aproximadamente 50mmol/h, sendo maior do que qualquer outro aminoácido (NEWSHOLME et al., 2003a; VAN DE POLL et al., 2004; SANTOS; CAPERUTO; COSTA ROSA, 2017).

A síntese da glutamina no músculo esquelético, durante o estado pós-absortivo, ocorre por meio da captação de glutamato, a partir da circulação sanguínea, esse é responsável por 40% da síntese de glutamina. O catabolismo proteico leva à produção de glutamina de forma direta e também à síntese de aminoácidos de cadeia ramificada (ACR), glutamato, aspartato e asparagina. Os esqueletos de carbono desses aminoácidos são reutilizados para a síntese de glutamina (HALL, WAGENMAKERS, 1998; ROGERO et al., 2006; RENNIE et al., 2001).

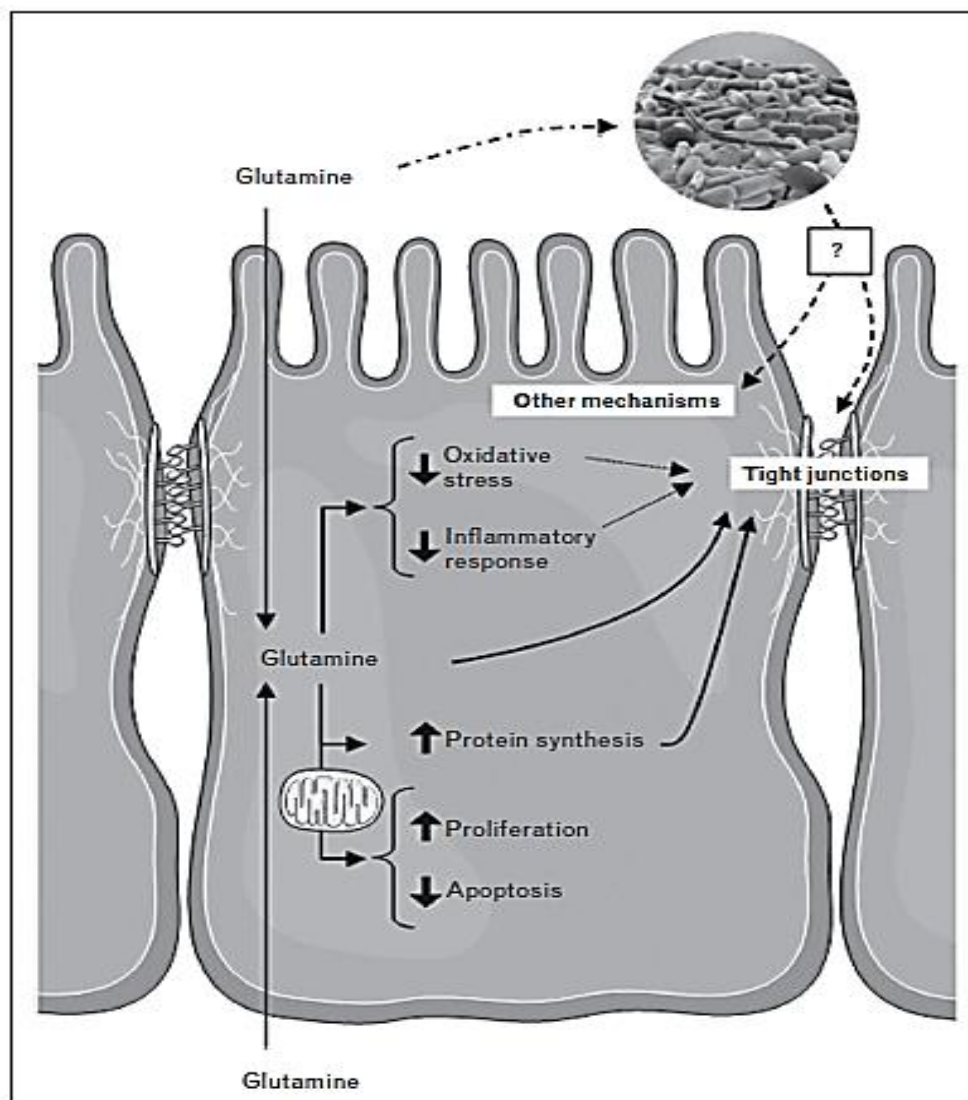


Figura 01. Efeito da Glutamina na barreira intestinal. Adaptados de Achamrah; Dechelotte; Coeffier, 2017.

Na figura 01 observa-se a glutamina possui papel regulatório, onde atua na resposta inflamatória, no estresse oxidativo ou na resposta imune inata que poderia contribuir para a regulação da permeabilidade intestinal. Enquanto que a mesma também pode afetar as alterações da microbiota intestinal (ACHAMRAH; DECHELOTTE; COEFFIER, 2017; ROGGENBUCK et al., 2014).

Em estudos realizados em ratos foi possível observar que a glutamina protege a mucosa intestinal em diferentes modelos de lesão intestinal. Na Colite Ulcerativa induzida por ácido 2,4,6-trinitrobenzenossulfônico (TNBS), administração da glutamina levou a uma diminuição da resposta inflamatória no colón, em especial, TNF- α e IL-1 β , o que indica que a glutamina é eficiente para limitar a inflamação

intestinal (BERTRAND et al., 2016; BEUTHEU et al., 2014; LABOW; SOUBA; ABCOUWER, 2001).

Dados experimentais evidenciam que a glutamina influencia na produção de citocinas por meio de linfócitos, além disso, estudos com a suplementação in vitro desse aminoácido evidenciou que a privação do mesmo exacerba citocinas pró-inflamatórias, enquanto a suplementação de glutamina limita a resposta inflamatória. Isso pode ser explicado pelo fato de que a glutamina inibe a via de sinalização do fator nuclear $\kappa\beta$ (NF- $\kappa\beta$). Enquanto que esse nutriente pode atuar através do proliferador de peroxissomo-Receptor γ ativado (PPAR γ). Essas ações da glutamina levam a uma diminuição da geração de citocinas pró-inflamatórias resultando em uma inibição de inflamação intestinal (WANG et al., 2014; BEUTHEU et al., 2014; COEFIER et al., 2010).

Contudo, embora a literatura atual evidencie a Eficiência do exercício físico e da suplementação de glutamina, ainda permanecem escassos trabalhos que evidencie os mecanismos de ação envolvidos, além dos efeitos dos mesmos sobre a arquitetura tecidual, processo inflamatório e da motilidade gástrica. É válido ressaltar que estudos com o uso concomitante do exercício físico e suplementação de glutamina não foram realizados afim de observar seus efeitos na Colite Ulcerativa. Dessa forma, a investigação de uma possível relação entre os marcadores inflamatórios, a motilidade gástrica, e o exercício físico associado ou não a suplementação de glutamina são necessários, afim de esclarecer o papel desses nos mecanismos envolvidos nos distúrbios gastrintestinais associados à colite ulcerativa.

3. OBJETIVOS

Objetivos:

- Geral

Avaliar os efeitos dos exercícios físicos e da suplementação de glutamina sobre parâmetros gastrintestinais de ratos com colite ulcerativa.

- Específicos

- Avaliar o peso corporal e peso do cólon em ratos com colite ulcerativa suplementados e/ou submetidos a exercício físico;
- Investigar a influência do exercício físico e/ou suplementação sobre o grau de lesão colônica de ratos com colite ulcerativa;
- Quantificar o esvaziamento gástrico em ratos suplementados e/ou associados ao exercício físico com colite ulcerativa;
- Quantificar os marcadores de estresse oxidativo como Níveis de Nitrato/Nitritos (NOx), Malondialdeído (MDA), Mieloperoxidase (MPO) e atividade de Superóxido Dismutase (SOD) em ratos suplementados e/ou submetidos exercício físico com colite ulcerativa;
- Quantificar as concentrações teciduais de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6) de ratos com colite ulcerativa, suplementados ou submetidos a exercício físico;
- Analisar as alterações histopatológicas no tecido do cólon de ratos com colite ulcerativa suplementados ou submetidos a exercício físico.

4. METODOLOGIA

4.1. Animais

No referido estudo foram utilizados ratos machos Wistar (n= 5 a 12/grupo), com peso entre 250-300g, alojados em gaiolas coletivas (quatro ratos por caixa) com livre acesso a água e ração, mantidos em ciclos de claro/escuro de 12 horas e umidade controlada. Os ratos foram advindos do Biotério Central da Universidade Federal do Piauí junto ao Departamento de Medicina Veterinária do Centro de Ciências Agrárias. Os ratos foram alocados no Biotério do Departamento de Biofísica e Fisiologia da Universidade Federal do Piauí. Todos os experimentos realizaram-se no Laboratório de Exercício e Trato Gastrointestinal da Universidade Federal do Piauí. Todos os procedimentos foram realizados em conformidade com as normas éticas do Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA). O projeto encontra-se aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal do Piauí – UFPI com registro nº 403/17.

4.2. Amostra

Os protocolos de treinamento, parâmetros gastrintestinais, e dosagem de parâmetros bioquímicos foram realizados em todos os 10 grupos de protocolos experimentais.

Protocolo Cirúrgico:

- ✓ Salina
- ✓ Colite Ulcerativa – 4% de Ácido Acético
- ✓ Colite Ulcerativa – 6% de Ácido Acético

Protocolo Experimental:

- ✓ Salina (SAL)
- ✓ Colite Ulcerativa (CU)
- ✓ Salina + Exercício Físico Anaeróbio (SAL+ Ex anaeróbio)
- ✓ Salina + Exercício de Aeróbio (SAL+ Ex aeróbio)
- ✓ Colite Ulcerativa + Exercício Anaeróbio (CU+ Ex anaeróbio)
- ✓ Colite Ulcerativa + Exercício de Aeróbio (CU+ Ex aeróbio)

- ✓ Salina+ Glutamina (SAL+ GLU)
- ✓ Colite Ulcerativa+ Glutamina (CU+ GLU)
- ✓ Salina+ Exercício Aeróbio + Glutamina (SAL+ Ex aeróbio+ GLU)
- ✓ Colite Ulcerativa+ Exercício Aeróbio + Glutamina (CU+ Ex aeróbio+ GLU)

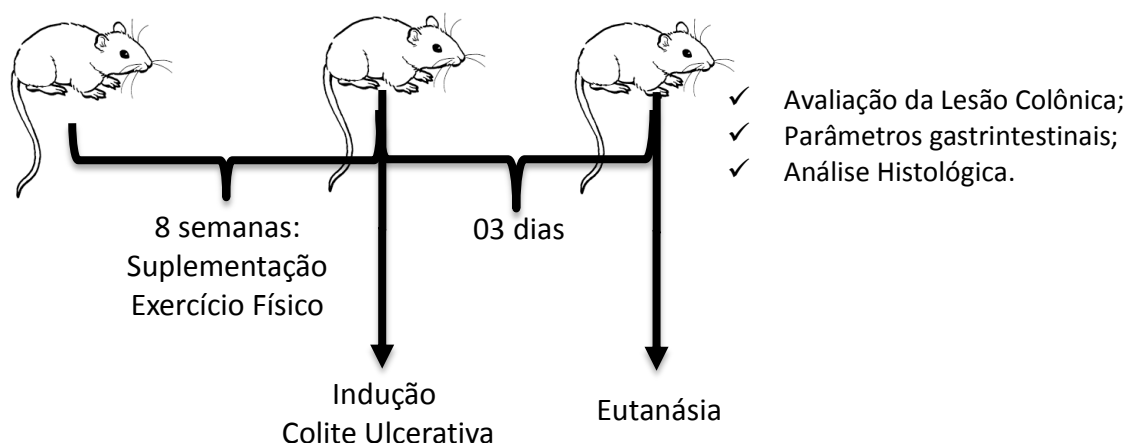


Figura 02. Representação esquemática do delineamento experimental realizado.
Fonte: própria.

4.3. Protocolo de Suplementação

Os animais foram suplementados com glutamina, via oral por gavagem durante o protocolo de treinamento e anteriormente a indução da colite ulcerativa. A suplementação foi realizada ao total de 8 semanas, além disso, a diluição foi realizada em água destilada, a fim de evitar possíveis interferências com o solvente. A quantidade total de glutamina foi de 1 g de glutamina/ kg de peso corporal (p.c) (PETRY et al., 2014; ROGERO et al., 2006; CRUZAT; ROGERO; TIRAPEGUI, 2010).

4.4. Protocolo de Treinamento Anaeróbio

Os animais foram submetidos, individualmente, às sessões de saltos em um cilindro de PVC, contendo água a 32°C a uma profundidade de 38 cm. Após um período inicial de adaptação ao meio líquido (1º ao 5º dia, com sobrecarga equivalente a 50% do p.c e número crescente de saltos e séries), os animais foram

submetidos a um programa de treinamento físico resistido. Em cada sessão, realizaram 4 séries de 10 saltos. Entre as séries houve um intervalo de 30 segundos, durante o qual o animal foi retirado da água e mantido em repouso sobre um suporte. O treinamento foi realizado com sobrecarga progressiva de peso, até atingir a carga máxima de 85% do peso corporal do animal, totalizando 8 semanas de treinamento. A sobrecarga foi acoplada ao tórax dos mesmos através de um colete, em um período de oito semanas (AGUIAR et al., 2010).

Após cada sessão de treinamento, os animais foram secos com toalha absorvente e mantidos por cerca de 30 minutos no laboratório. Após estarem completamente secos, os animais foram transportados ao biotério.

Tabela 01 – Distribuição esquemática da progressão semanal da carga, em porcentagem, acoplada ao animal de acordo com o peso corporal.

Semana	Séries X Saltos	% da carga proporcional ao p.c do animal
1°	Adaptação	50%
2°	4 X 10	55%
3°	4 X 10	60%
4°	4 X 10	65%
5°	4 X 10	70%
6°	4 X 10	75%
7°	4 X 10	80%
8°	4 X 10	85%

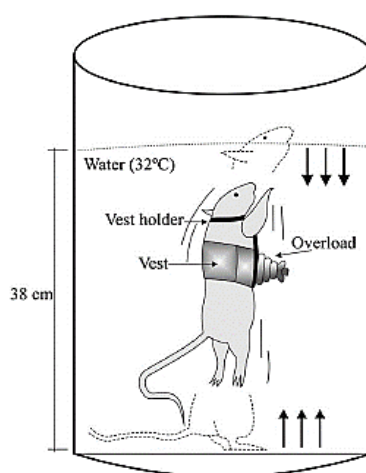


Figura 03. Esboço do aparelho de formação de resistência de alta intensidade. Adaptado por: Souza et al., 2011.

4.5. Protocolo de Treinamento Aeróbio

Os grupos desse treinamento foram submetidos a sessões de natação em um tanque (100 cm de comprimento x 80 cm de largura x 80 cm de altura), que permitiu o treinamento simultâneo de 4 a 5 animais. O tanque foi preenchido com 50 cm de água com temperatura de 30 ± 2 °C, a qual foi trocada após cada sessão de treinamento em grupo.

O programa de treinamento aeróbio foi realizado 5 vezes por semana com os grupos experimentais, com livre acesso a água e comida durante 8 semanas. A adaptação foi realizada no primeiro dia com duração da sessão de 20 minutos, no segundo dia 40 minutos, e posteriormente os animais nadaram 60 minutos até completarem todas as sessões de exercícios, até o final de oito semanas (CUNHA, et al., 2008).



Figura 04. Ilustração dos animais em treinamento aeróbio, natação sem carga.
Fonte: própria.

4.6. Protocolo de Indução da Colite Ulcerativa

Para a indução da Colite Ulcerativa os ratos foram submetidos previamente a um jejum de sólidos de 18 horas com livre acesso a soro de reidratação oral (cloreto de potássio 50,84 mg/g, citrato de sódio 66,82 mg/g, cloreto de sódio 59,77 mg/g, glicose 822,64 mg/g). Após esse período, os ratos foram anestesiados por via intramuscular com uma mistura de quetamina – 80mg/Kg e xilazina – 20mg/Kg, de acordo com Ritsch et al., (2015); Erdem; Yurdakan; Yilmaz-Sipahi (2014).

Para a escolha do melhor protocolo de colite ulcerativa foi realizado previamente um estudo piloto para a diluição de Ácido Acético em duas concentrações a fim de obter o mais eficaz método para provocar os efeitos da patologia no animal. Posteriormente, em ambos os protocolos, os animais foram sacrificados ao final de 3 dias, igualmente realizado de acordo com a literatura.

Protocolo - I: Após a anestesia, a colite ulcerativa foi induzida pela administração intra-colônica de 1 ml de ácido acético a 4% (v/v) diluído em solução salina (pH 2,3) através de uma sonda uretral de polietileno (PE-60), cuja ponta foi posicionada no cólon 8 cm após o ânus. A administração foi realizada durante um período de 1 minuto, sendo logo em seguida retirada a sonda e inserida outra contendo salina estéril no volume de 1,5 ml em pH 7,4. Os animais do grupo controle foram sujeitos ao mesmo procedimento com a exceção de que a solução será salina isotônica (MACPHERSON, PFEIFFER, 1978; ELSON et al., 1995; ÇAKIR et al., 2004; KASIMAY et al., 2006).

Protocolo - II: Após a anestesia, a colite ulcerativa foi induzida pela administração intra-colônica de 1 ml de ácido acético a 6% (v/v) diluído em solução salina (pH 2,3) através de uma sonda uretral de polietileno (PE-60), cuja ponta foi posicionada no cólon, 8 cm após o ânus. A administração foi realizada durante um período de 1 minuto, sendo logo em seguida retirada a sonda e inserida outra contendo salina estéril no volume de 1,5 ml em pH 7,4. Os animais do grupo controle foram sujeitos ao mesmo procedimento com a exceção de que a solução será salina isotônica (MACPHERSON, PFEIFFER, 1978; GUAZELLI et al., 2013; EL-GOWELLI et al., 2015; NIU et al., 2016).



Figura 05. Representação da indução da Colite Ulcerativa com ácido acético. Fonte: própria.

4.7. Protocolo de Pesagem dos Animais, Órgãos e Tecidos

No decorrer dos protocolos de treinamento e indução à Colite Ulcerativa, todos os animais foram pesados durante todos os dias de treinamento no mesmo horário, no dia da indução e no dia do sacrifício dos mesmos. A pesagem foi realizada em uma balança digital Sf-400 de alta precisão eletrônica 1g a 10 kg, onde os animais eram colocados em uma caixa de plástico, sendo ignorado o peso da caixa e considerado apenas o peso do animal (RAFACHO et al., 2008).

A mensuração do peso dos órgãos e tecidos foi feita de acordo com Rafacho et al., (2008), onde, após a eutanásia dos animais, foram retirados os seguintes órgãos e tecidos: coração, baço, rins, fígado, colón, tecido adiposo epididimal. Após esse procedimento, os pesos, em gramas, dos diferentes tipos de órgãos foram registrados em uma balança analítica Bel Mark M214ai.

4.8. Parâmetros Histopatológicos

4.8.1. Análise da Lesão macroscópica da Colite Ulcerativa

A classificação do grau da lesão da colite ulcerativa foi feita após três dias da indução seguindo os parâmetros utilizados por Bell, Gall e Wallace, (1995) (Tabela 02).

Tabela 02. Grau de lesão no cólon distal com colite ulcerativa.

Tipo de Lesão	Pontuação
Ausência de lesão.	Sem pontos
Hiperemia, não úlceras.	1 ponto
Úlcera linear, sem inflamação significativa.	2 pontos
Úlcera linear com uma inflamação em um local.	3 pontos
Dois ou mais locais de ulceração/inflamação.	4 pontos
Dois ou mais locais maiores de ulceração e inflamação ou um local de ulceração/inflamação a se estender 1 cm do comprimento no cólon distal.	5 pontos
Se o dano abranger 2 cm ao longo do comprimento do cólon distal, a pontuação é aumentada 1 ponto por cada com adicional de lesão.	6-10 pontos

4.8.2 Preparação do Material para Histoquímica

O tecido foi previamente fixado em formol a 10% por 36 horas e desidratado com imersões consecutivas em soluções crescente de álcool por uma hora cada (30%, 50%, 75%, 90%), 45 min em álcool absoluto 1 e 45 min em álcool absoluto 2. Seguiu-se com o clareamento, inicialmente 45 min em xilol I e mais 45 min em xilol II (com menor concentração de impurezas), logo após os cassetes contendo as amostras foram mergulhadas em banho de parafina para inclusão, onde permaneceram por 20 min a 60 °C. Todo procedimento foi executado no histotécnico (Leica®). Decorrido esse tempo as amostras foram montadas em blocos de parafina para realização da microtomia.

Logo que as amostras estavam adequadas, foram levadas para microtomia, onde foram feitos cortes de tecido longitudinais com espessura de 5 µm seccionados expondo as camadas histológicas (mucosa, submucosa, musculares e serosa) e posteriormente coloração.

As lâminas foram desparafinadas por imersão em xilol II durante 7 min e em xilol I por 3 min. Seguiu-se a hidratação em imersões consecutivas de banhos de álcool de concentração decrescente em álcool absoluto por 7 minutos e por 2 min na

demais soluções (90%, 75%, 50%, 30%) e passando-as durante 2 min em água destilada I e mais 2 min em água destilada II. Após essa fase, as lâminas seguiram para coloração com Hematoxilina e Eosina (HE), e posteriormente levadas a estufa para secagem durante 4 h e então finalizadas com a colocação da lamínula e selagem com Bálsamo do Canadá.

4.8.3 Análise Histopatológica

As lâminas (05 por grupo) foram analisadas sob um microscópio de luz por um patologista experiente, sem conhecimento dos tratamentos previamente descritos. As amostras foram avaliadas de acordo com os critérios descritos por LAINE; WEINSTEIN, 1988. Os parâmetros foram utilizados: perda de células epiteliais (escore 0-3), edema na mucosa superior (escore 0-4), danos hemorrágicos (escores 0-4) e presença de células inflamatórias (escore 0-3), resultando em um score total máximo de 14.

4.9. Determinação dos níveis de Citocinas

Os níveis de IL-1 β , IL-6, TNF- α foram determinados utilizando ensaio de imunoadsorção ligado a enzima (ELISA), como previamente descrito por CUNHA et al., (1993). Uma placa de microtitulação foi incubada a 4°C durante toda a noite com anticorpo policlonal para TNF- α ou IL-1 β ou IL-6 (4 μ g/ml) Duo Set ELISA Development kit R&D Systems. Os locais de ligação adicionais na superfície da placa foram bloqueados por incubação dos poços com PBS contendo albumina de soro bovino (BSA) a 2% durante 90 min a 37 °C. Em seguida, as amostras de teste e cada amostra padrão foram adicionadas em várias diluições, postas em duplicata e incubadas a 4 °C durante 24 h. Em seguida, as placas foram lavadas três vezes com tampão (0,01 M de fosfato, 0,05 M de NaCl, 0,1% de Tween 20, pH 7,2). Após a lavagem das placas, adicionado 50 μ L de biotiladopolícional de ovelha anti TNF- α , ou anti IL-1 β ou anti IL-6 (diluição de 1:1000 em tampão de ensaio contendo 1% de BSA). Outra incubação foi realizada à temperatura ambiente durante 1h. Posteriormente, as placas foram lavadas e 50 μ l de peroxidase adivinda de conjugado de rábano silvestre na proporção de 1: 5000 foram adicionados a todos os poços, após 15 min as placas foram lavadas e o reagente de cor o-fenileno-

diamina (40 µg/poço) adicionado. Depois de 15 min em um ambiente escuro com temperatura de 37 °C, a reação da enzima foi interrompida com H₂SO₄ (1 M) e a absorbância lida a 490 nm. Os resultados de ELISA foram expressos como pictogramas de cada citocina por miligrama (pg/mg).

4.10. Determinação dos níveis de Nitrato/Nitrito (NOx)

A produção de óxido nítrico no tecido colônico dos animais foi avaliada indiretamente por meio da quantificação dos níveis de nitrato (NO₃⁻) e nitrito (NO₂⁻) (coletivamente denominados como NOxs), utilizando a reação de Griess. As amostras foram maceradas em solução de cloreto de potássio (KCl, 0,15 M) e o homogeneizado foi centrifugado sob refrigeração. Em seguida, o sobrenadante (100 µL) foi misturado com o reagente de Griess (100 µ) (ácido fosfórico, sulfanilamida e di-hidrocloreto de N- (1-naftil) etilenodiamina). Após 10 min, a absorbância das amostras foi medida a 540 nm. Os resultados foram expressos como micromoles NOxs (GREEN et al., 1982).

4.11. Determinação dos níveis de Malondialdeído (MDA)

Os níveis de MDA foram determinados pelo método de Mihara, Uchiyama (1978), baseado na reação com o ácido tiobarbitúrico. Amostras do colón foram homogeneizadas com KCl 1,15% para preparar 10% de homogenato, 0.5 ml desse preparado foi pipetado em tubo de centrifuga de 10 ml com 3 ml de ácido fosfórico (H₃PO₄) (1%) e 1 ml de solução aquosa de ácido tiobarbitúrico (0.6%). Os tubos foram aquecidos por 45 min em banho maria e a mistura reacional então resfriada em banho de água gelada, seguida da adição de 4ml de n-butanol. Os conteúdos foram misturados por 40 segundos com "vortex", centrifugados a 1200 x g por 10 minutos e a absorbância da camada orgânica foi mensurada em 520 e 535nm no espectrofotômetro. Os resultados foram expressos em mmol/g de tecido.

4.12. Determinação da atividade de Mieloperoxidase (MPO)

A atividade da MPO foi medida de acordo com o método previamente descrito por Bradley et al., (1982). Amostras de tecido colônico foram homogeneizadas em tampão fosfato de potássio (50 mM, pH 6,0), com brometo de hexa-decil-trimetilamônio (HTAB) 0,5%, na proporção de 1 ml/100 mg de tecido. O homogenato centrifugado a 4500 rpm durante 20 min a 4°C. Posteriormente o sobrenadante foi misturado com dihidrocloridrato de o-dionisidina e 1% de peróxido de hidrogênio para que houvesse reação. Analisou-se a atividade de MPO através da medição da absorbância a 450 nm em espectrofotômetro. Os resultados foram expressos como unidade de MPO por mg de tecido (UMPO/mg de tecido). A unidade da atividade de MPO foi definida pela conversão de 1 μmol de H_2O_2 em água em 1 min a 22 °C.

4.13. Determinação da atividade de Superóxido Dismutase (SOD)

A atividade total da SOD foi determinada pela sua capacidade de inibir a autooxidação do pirogalol® pelo ânion superóxido. A mistura consiste na adição de 100 μL de tampão Tris/HCl (EDTA 1M; pH 8,0; 5mM), 20 μL de pirogalol® 10mM e 860 μL de água deionizada a 20 μl de hemolisado. A absorbância foi determinada em espectrofotômetro com comprimento de onda de 420 nm (25°C) por 5 minutos. A quantidade de SOD capaz de produzir 50% de inibição da oxidação do pirogalol®, por miligrama de hemoglobina, é definida como uma unidade de atividade enzimática expressa em UI/mgHb.

4.14. Esvaziamento Gástrico

Para determinação da taxa de esvaziamento gástrico, os animais receberam uma única administração oral de acetaminofeno a 100 mg/kg, 30 minutos antes da eutanásia por uma sobredosagem de anestésicos (quetamina + xilazina). As amostras de sangue foram retiradas do plexo retro-orbital e após coagulação, centrifugadas a 1000 g durante 10 min. A partir do soro obtido e colocado em microtubos, misturou-se 200 μl da amostra com 500 μl de acetato de etila e 100 mg de Cloreto de Sódio (NaCl) e agitou-se a mistura durante 30 segundos em um

vórtex. Após repouso durante cinco minutos, recolheram-se 200 µl de sobrenadante e misturaram-se com 100 µl de Ácido Clorídico (HCl) (6 N), posteriormente incubou-se em água a ferver durante 10 minutos. Após arrefecimento, para se obter um complexo corado, foram adicionados 3 ml de reagente de cor preparado (uma combinação de 2,5-dimetilfenol [82 mg/L], metaperiodato de sódio [32 mg/L] e KOH [0,4 M]) à amostra e foram misturados. Após 30 minutos, homogeneizou-se os tubos e pipetou 300 µl da solução final, preenchendo em duplicata, cada casela de uma placa multi-poços. Ao final realizou-se a leitura das absorbâncias em um comprimento de onda na faixa de 635 nm (MARD et al., 2016).

4.15. Análise Estatística

Os dados foram apresentados como a média \pm EPM de animais em cada grupo. Os testes estatísticos foram realizados no software *Graphpad Prism* (versão 6.0). A comparação estatística dos dados foi realizada utilizando-se a análise de variância para amostras repetidas One-way (ANOVA) seguidas pelo teste de Tukey. Já a comparação inter-grupos dos resultados foi feita mediante o teste “t” de Student não pareados. Foram considerados significativos valores de $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1. Definição do protocolo experimental para a indução da Colite Ulcerativa.

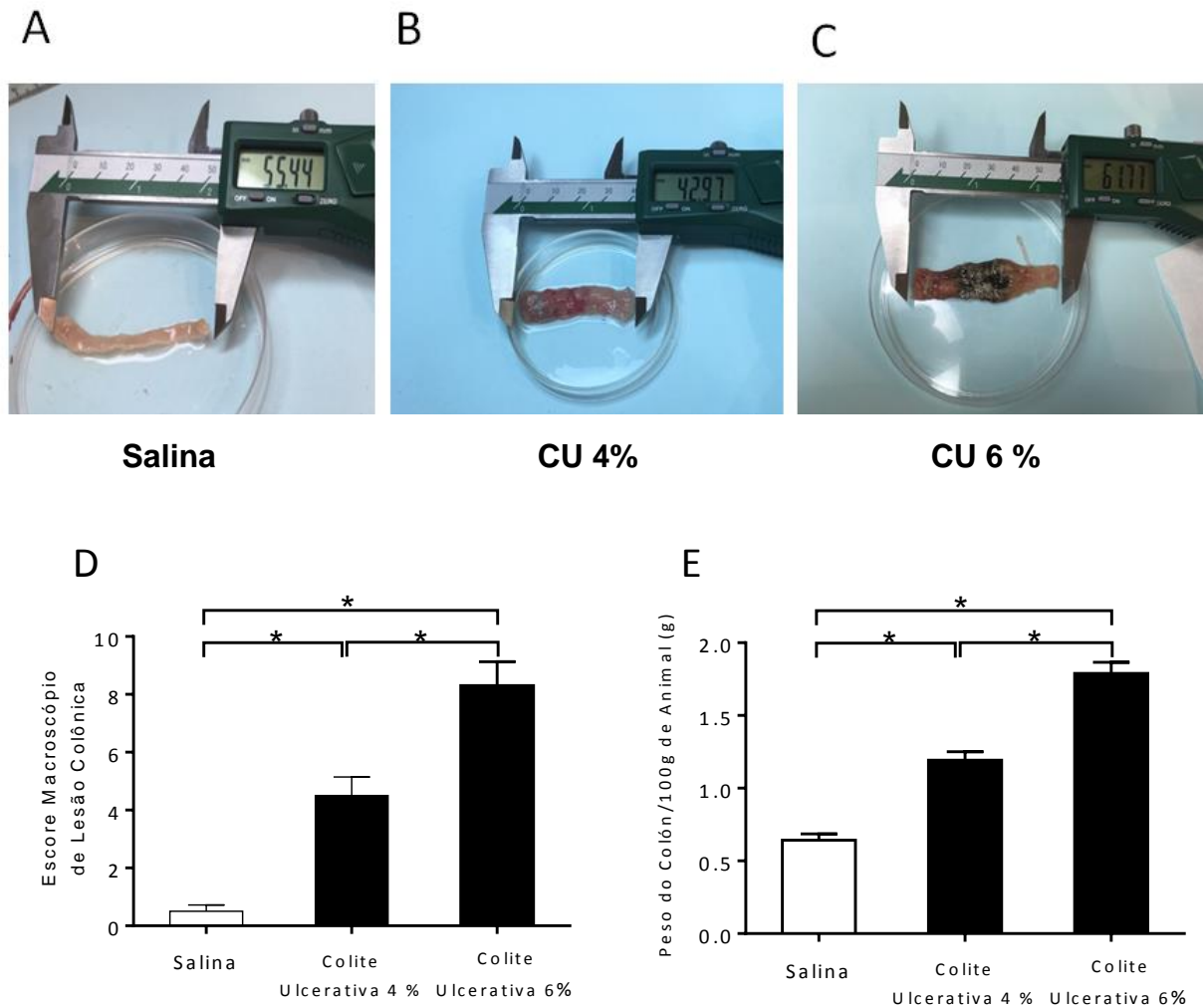
No referido estudo, foi utilizado o ácido acético em concentrações de 4% e 6% para análise do melhor escore de lesão tecidual. Ambas as concentrações causaram lesão relevante como é possível observar nas figuras 06 B e 06 C, porém decidiu-se optar por utilizar uma concentração a 4%, modelo esse que reflete em pacientes a colite ulcerativa no estado quiescente.

A figura 06 D demonstra que o protocolo experimental a 4 % de ácido acético promoveu a formação de extensas lesões macroscópicas na mucosa colônica de ratos quando comparado com o grupo salina ($4,50 \pm 0,64$ vs. $0,50 \pm 0,22$). Observou-se também que o protocolo experimental com 6% de ácido acético provocou extensa lesão colônica macroscópica, sendo significativamente diferente tanto do grupo com indução a 4% quanto do grupo salina ($p < 0,05$) ($8,30 \pm 0,83$ vs. $4,50 \pm 0,64$, respectivamente).

Quanto ao peso do colón por 100 g de peso corporal animal (Figura 06 E) observou-se resultados semelhantes aos encontrados na figura anterior. Observou-se que a indução da Colite Ulcerativa a 4% de ácido acético é significativamente diferente do grupo salina ($1,19 \pm 0,05$ vs. $0,64 \pm 0,04$ g) e do grupo Colite Ulcerativa a 6% de ácido acético ($1,19 \pm 0,05$ vs. $1,79 \pm 0,07$), evidenciando que o uso do ácido acético provoca aumento do peso do órgão lesionado, ação característica de um processo inflamatório.

Dessa forma, como em ambas as concentrações provocaram efeito satisfatórios na indução da colite ulcerativa, optou-se pelo o uso da concentração a 4% de ácido acético.

Figura 06. Efeito das diferentes concentrações de ácido acético sobre os tecidos colônicos nos protocolos cirúrgicos em ratos.



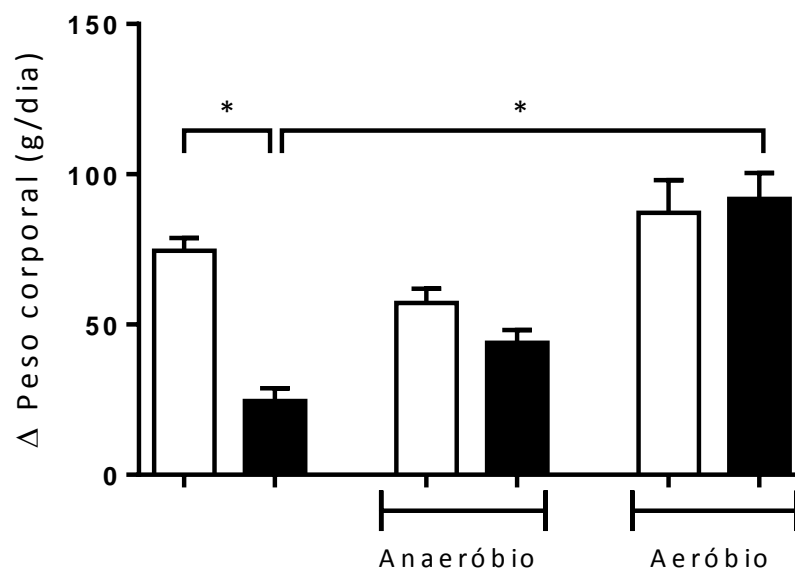
Legenda: Os animais foram induzidos a colite ulcerativa com salina ou ácido acético (4% e 6%), sendo na figura A - cólon normal; B – indução com 4% de ácido acético; C - indução com 6% de ácido acético. Gráficos D e E, sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média ± EPM de 5-8 animais por grupo. * $p < 0,05$, one-way ANOVA, seguido de teste de Tukey. As figuras de A-C representam as alterações macroscópicas dos cólons de ratos submetidos aos tratamentos citados anteriormente.

5.2. Efeitos dos diferentes tipos de Exercício Físico em ratos com Colite Ulcerativa.

A figura 07 demonstra que a Colite Ulcerativa provoca menor ganho de peso em ratos quando comparado ao grupo salina ($24,50 \pm 4,30$ vs. $74,57 \pm 4,20$ g/dia, respectivamente) ($p < 0,05$). Quanto ao tratamento com exercício físico é possível observar que este foi capaz de reverter a perda de peso ocasionada pela indução da Colite Ulcerativa.

O tratamento com Ex aeróbio protegeu significativamente o ganho de peso de ratos com Colite Ulcerativa ($91,75 \pm 8,73$ vs. $24,50 \pm 4,30$ g/dia, respectivamente) ($p < 0,05$). Entretanto, o tratamento com Ex anaeróbio não foi capaz de inibir o efeito da colite ulcerativa em relação ao ganho de peso corporal ($43,90 \pm 4,24$ vs. $24,50 \pm 4,30$ g/dia, respectivamente), mas quando comparado ao grupo salina com tratamento Ex anaeróbio não apresentou diferença significativa ($43,90 \pm 4,24$ vs. $57,13 \pm 4,77$ g/dia).

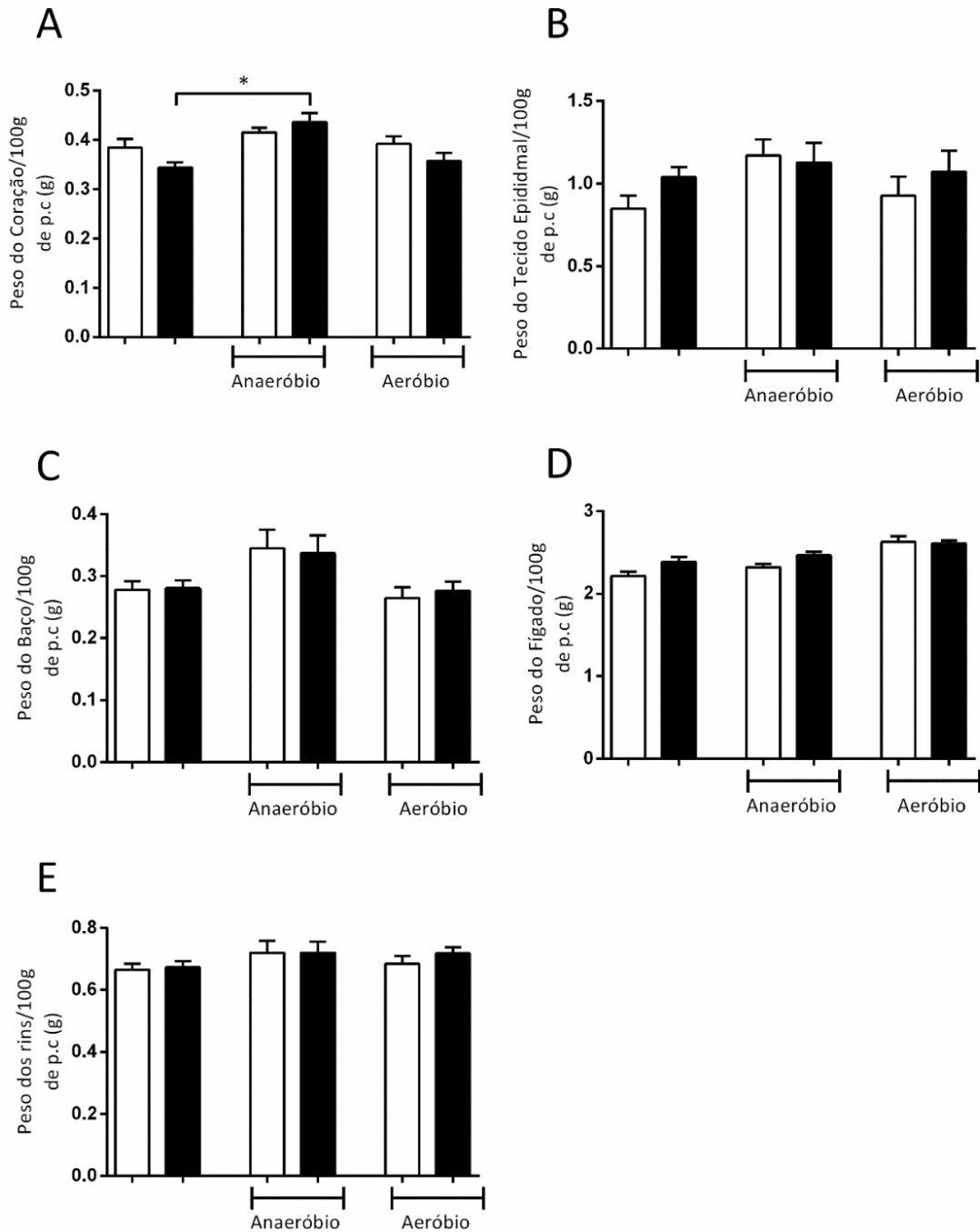
Figura 07. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio na variação do peso corporal (Δ) nos grupos salina e colite ulcerativa.



Legenda: Avaliação da variação do peso corporal dos grupos sedentários, com exercício físico anaeróbio e aeróbio com a indução da colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 7-10 animais por grupo. * $p < 0,05$, one-way ANOVA, seguido de seguida de teste de Tukey.

A figura 08 demonstra o efeito de ambos os exercícios físicos (anaeróbio e aeróbio) na Colite Ulcerativa em relação ao peso de órgãos por 100 gramas de peso corporal, sendo esses: coração (A), tecido epididimal (B), baço (C), fígado (D) e rins (E). Observa-se que no gráfico 02 A os ratos com CU tratados com Exercício Físico anaeróbio obtiveram um aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao peso do coração em relação ao grupo Colite Ulcerativa sedentário ($0,43 \pm 0,02$ g vs. $0,34 \pm 0,01$ g). Enquanto que na avaliação dos outros órgãos não foi observada diferença significativa entre os grupos estudados.

Figura 08. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no peso dos órgãos: coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins por 100 gramas de p.c, em ratos salina ou colite ulcerativa.

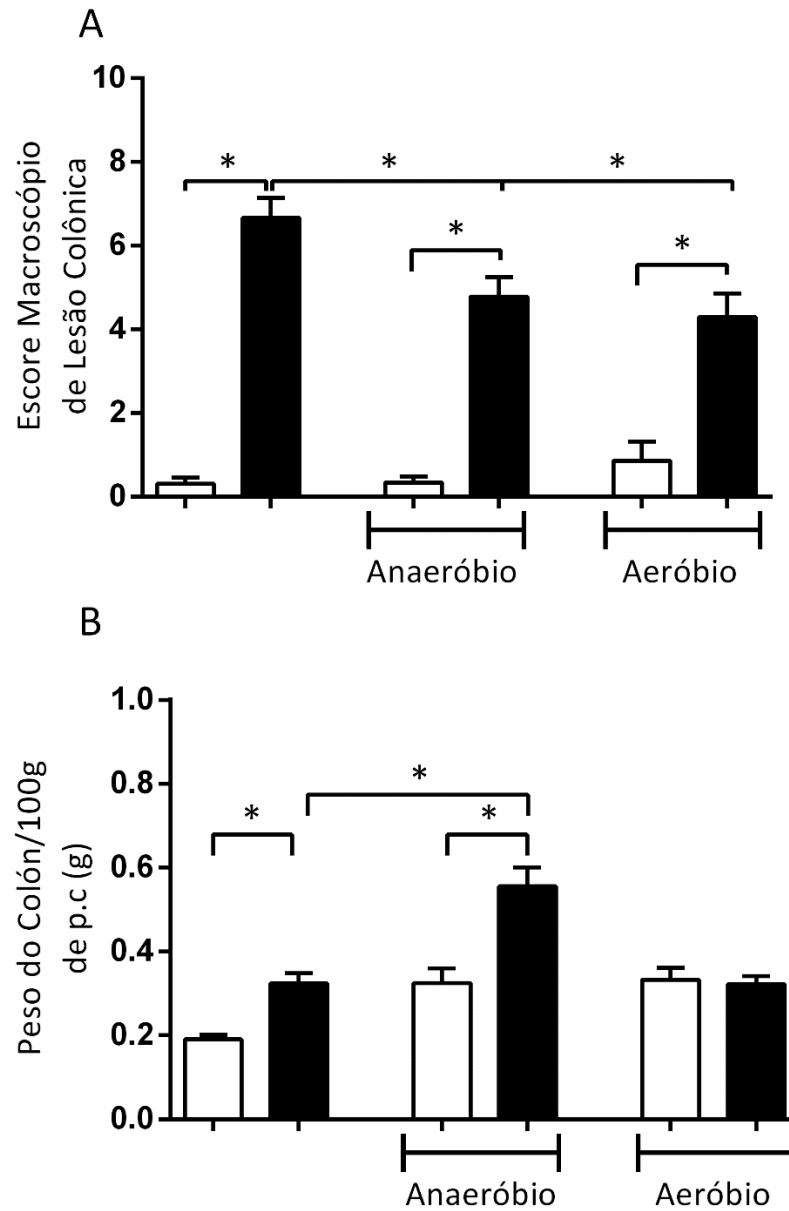


Legenda: Efeito dos diferentes tipos de exercício físico no perfil dos pesos dos órgãos: coração (A), tecido epididimal (B), baço (C), fígado (D) e rins (E) por 100 gramas de p. c, em ratos salina colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média ± EPM de 8-12 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de *p < 0,05 como significativos.

De acordo com o escore macroscópico da lesão tecidual colônica o grupo colite obteve escore significativamente ($p < 0,05$) mais elevado que o grupo salina ($6,66 \pm 0,47$ vs. $0,30 \pm 0,15$, respectivamente), evidenciando que a indução da colite utilizando ácido acético a 4% provoca a patologia. Além disso, evidenciou-se que ambos os grupos Colite Ulcerativa tratados com exercício físico, anaeróbio e aeróbio tiveram diferença significativa em relação aos grupos salinas com exercício físico ($4,77 \pm 0,46$; $4,28 \pm 0,56$ vs. $0,33 \pm 0,14$; $0,85 \pm 0,45$, respectivamente). Também vale ressaltar que ambos os exercícios físicos tiveram diferença significativa do grupo Colite Ulcerativa sedentário ($4,77 \pm 0,46$; $4,28 \pm 0,56$ vs. $6,66 \pm 0,47$, respectivamente), dessa forma, ambos os exercícios tiveram efeito preventivo na patologia (Gráfico 09 A).

Quanto ao gráfico 09 B revela que de forma semelhante ao observado no gráfico 03 9, o grupo CU possui diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao peso do cólon por 100 g de p.c quando comparado ao grupo salina ($0,32 \pm 0,02$ vs. $0,19 \pm 0,11$ g), evidenciando que a colite ulcerativa provocou extensas lesões colônicas. Observou-se também, o grupo Colite Ulcerativa tratado com exercício anaeróbio possui peso significativamente ($p < 0,05$) mais elevado que o respectivo grupo salina ($0,55 \pm 0,04$ vs. $0,32 \pm 0,03$ g, respectivamente) e grupo Colite Ulcerativa sedentário ($0,55 \pm 0,04$ vs. $0,32 \pm 0,02$ g). Entretanto os animais com colite ulcerativa tratados com exercício aeróbio não tiveram diferença significativa dos animais salinas com exercício aeróbio ($0,32 \pm 0,02$ vs. $0,33 \pm 0,03$ g, respectivamente).

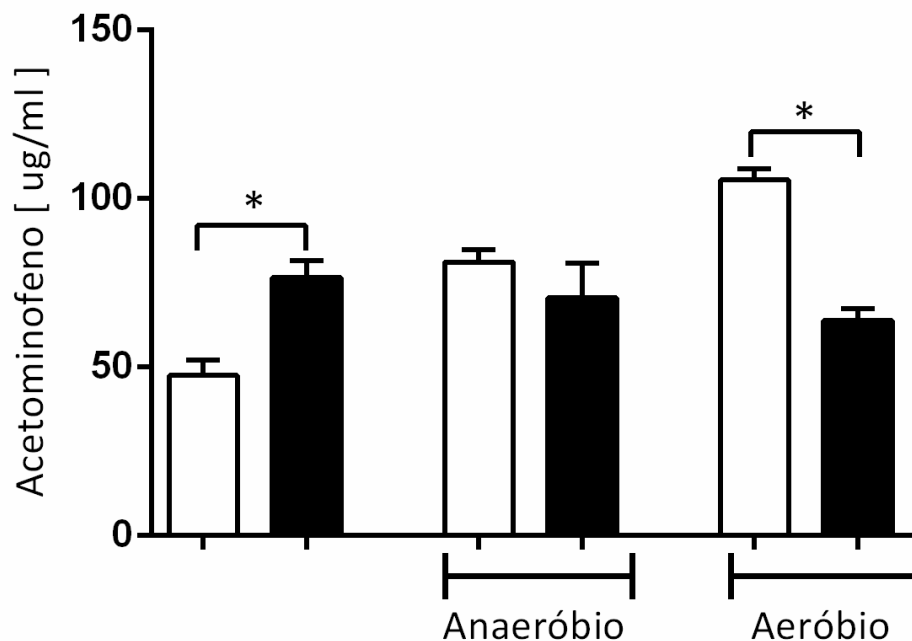
Figura 09. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no perfil do escore de lesão macroscópico e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal em ratos salina ou colite ulcerativa.



Legenda: Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no perfil do escore de lesão macroscópico (A) e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal (B) em ratos salina ou colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média ± EPM de 8-12 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $*p < 0,05$ como significativos.

Na figura 10 foi avaliado o efeito de ambos os exercícios físicos na alteração da concentração de acetaminofeno, aferindo dessa forma a taxa de esvaziamento gástrico dos animais. A figura demonstra que os animais com Colite Ulcerativa têm maior taxa de esvaziamento gástrico que o grupo salina ($76,58 \pm 4,91$ vs. $47,61 \pm 4,48$ $\mu\text{g/ml}$, respectivamente), sendo estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Em relação ao efeito do exercício físico, o grupo Colite Ulcerativa tratado com exercício físico aeróbio teve menor taxa de esvaziamento que o grupo salina tratado com exercício aeróbio ($63,77 \pm 3,59$ vs. $105,60 \pm 3,15$ $\mu\text{g/ml}$, respectivamente) ($p < 0,05$). Quanto ao efeito do exercício anaeróbio na colite ulcerativa, observou-se que os grupos Colite Ulcerativa e Salina ($70,58 \pm 10,27$ vs. $81,17 \pm 3,61$ $\mu\text{g/ml}$) não possuem diferença significativa quanto a taxa de esvaziamento gástrico.

Figura 10. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio no esvaziamento gástrico em ratos salina ou colite ulcerativa.



Legenda: Exercício Físico efeito dos diferentes tipos de exercício físico na alteração dos níveis de acetaminofeno em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 6-11 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $*p < 0,05$ como significativos.

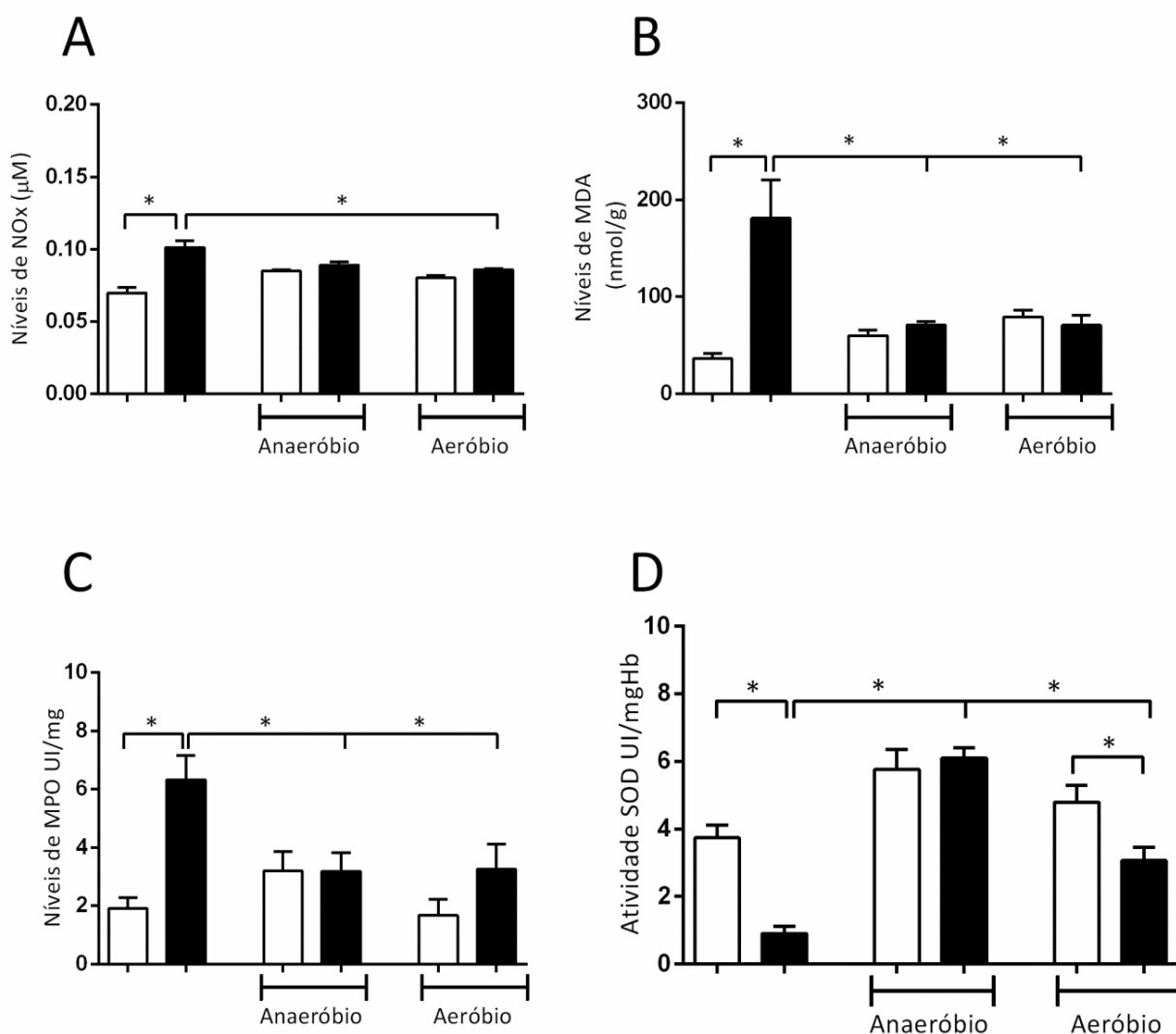
A indução da Colite Ulcerativa provocou o aumento ($p < 0,05$) dos níveis de nitrato/nitrito nos tecidos colônicos de ratos quando comparado ao grupo salina ($0,10 \pm 0,004$ vs. $0,07 \pm 0,003 \mu\text{M}$), entretanto o exercício físico aeróbio provocou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) dos níveis desse marcador quando comparado ao grupo sedentário ($0,08 \pm 0,001$ vs. $0,10 \pm 0,004 \mu\text{M}$). Quanto ao efeito do exercício anaeróbio na colite ulcerativa observa-se que houve diminuição dos níveis de nitrato/nitrito no tecido comparado ao grupo sedentário, entretanto essa não foi significativa. Vale ressaltar que os grupos colite e salina com ação do exercício anaeróbio não possuem diferença significativa entre si (Figura 11 A).

A análise dos níveis de MDA no tecido dos ratos, Figura 11 B, mostrou que a colite ulcerativa aumenta significativamente ($p < 0,05$) os níveis de MDA em comparação com o grupo salina ($130,4 \pm 14,75$ vs. $36,62 \pm 5,37 \text{ nmol/g}$, respectivamente). Além disso, ambos os exercícios físicos inibiram a produção de MDA produzida na colite ulcerativa, pois os grupos tratados com exercício físico (anaeróbio e aeróbio) obtiveram níveis significativamente menores em relação ao grupo Colite Ulcerativa sedentário ($70,79 \pm 4,01$; $70,84 \pm 10,62$ vs. $181,0 \pm 39,39 \text{ nmol/g}$).

Semelhantemente, a análise dos níveis de MPO observou que a colite ulcerativa aumenta significativamente ($p < 0,05$) a concentração de MPO quando comparado ao grupo salina ($6,32 \pm 0,83$ vs. $1,90 \pm 0,36 \text{ UI/mg}$, respectivamente). De acordo com os resultados da figura 11 C, ambos os exercícios físicos (anaeróbio e aeróbio) inibem significativamente os efeitos oxidantes ocasionados pela colite ulcerativa ($3,17 \pm 0,65$; $3,25 \pm 0,84$ vs. $6,32 \pm 0,83 \text{ UI/mg}$, respectivamente).

Quanto a atividade de SOD nos tecidos colônicos, nota-se que a Colite Ulcerativa provoca diminuição ($p < 0,05$) da atividade da enzima quando comparado com o grupo salina ($0,90 \pm 0,21$ vs. $3,74 \pm 0,38 \text{ UI/mgHb}$, respectivamente). Entretanto o tratamento com exercício físico provocou aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade de SOD, tanto no exercício anaeróbio quanto o exercício aeróbio ($6,09 \pm 0,31$; $3,06 \pm 0,39$ vs. $0,90 \pm 0,21 \text{ UI/mgHb}$). Vale ressaltar, que os grupos de exercício aeróbio possui diferença significativa entre si (SAL+ Ex aeróbio: $4,78 \pm 0,50 \text{ UI/mgHb}$ vs. CU+ Ex aeróbio: $3,06 \pm 0,39 \text{ UI/mgHb}$), enquanto que os grupos de exercício anaeróbio não apresentaram diferença significativa entre si (SAL+ Ex anaeróbio: $5,76 \pm 0,59 \text{ UI/mgHb}$ vs. CU+ Ex anaeróbio: $6,09 \pm 0,31 \text{ UI/mgHb}$) (Gráfico 11 D).

Figura 11. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio na produção de NOx, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou colite ulcerativa.

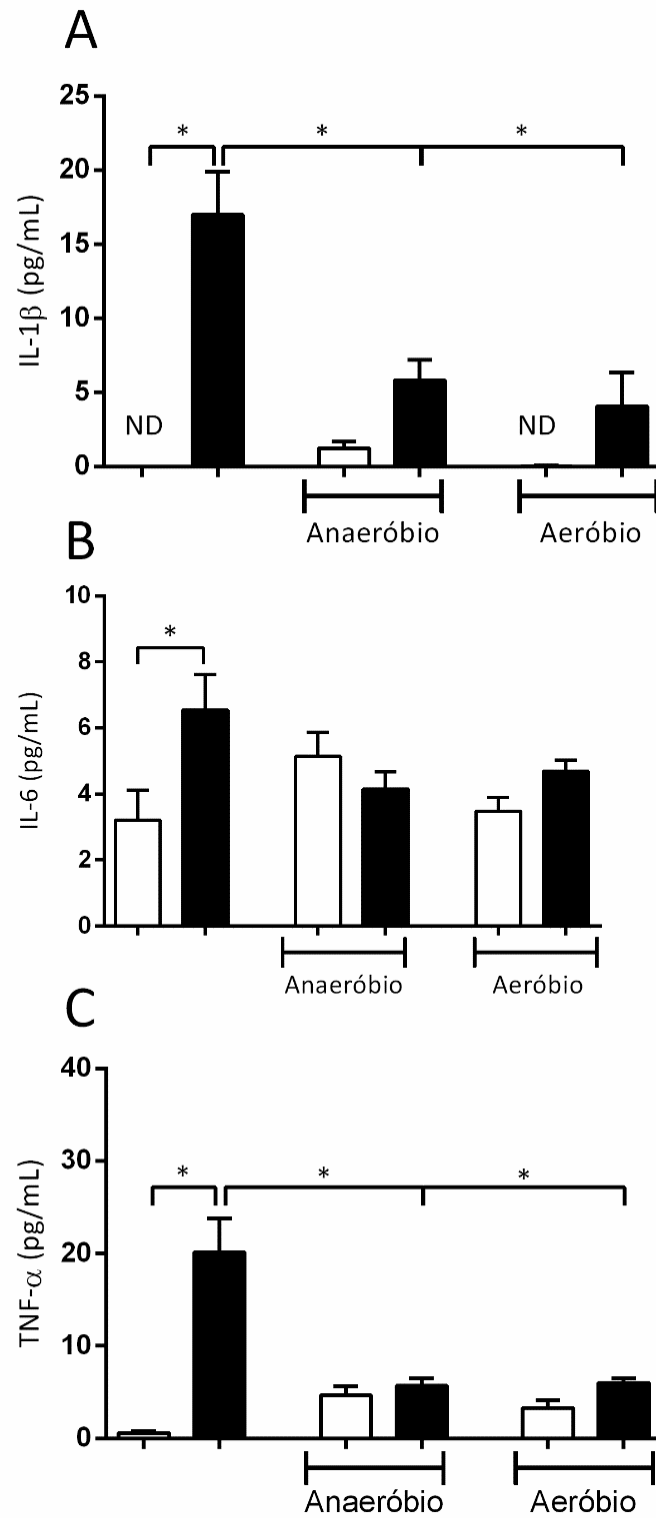


Legenda: Efeitos dos diferentes tipos de exercício físico na produção de NOx, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média ± EPM de 6-10 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de *p < 0,05 como significativos.

Na figura 12 avaliou-se os níveis das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α nos tecidos colônicos de ratos. Observou-se que a Colite Ulcerativa provocou aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo salina ($16,99 \pm 2,90$; $6,54 \pm 1,08$ e $20,12 \pm 3,69$ vs. ND; $3,21 \pm 0,90$ e $0,57 \pm 0,16$ pg/mg, respectivamente) em todas as citocinas avaliadas, caracterizando processo inflamatório no tecido lesionado.

Na figura A e C também demonstram que ambos os exercícios físicos (anaeróbio e aeróbio) foram capazes de diminuir significativamente ($p < 0,05$) os níveis de citocinas, IL-1 β e TNF- α quando comparado com o grupo CU (IL-1 β : $5,82 \pm 1,13$; $4,05 \pm 2,27$ vs. $16,99 \pm 2,90$ pg/mg) (TNF- α : $5,67 \pm 0,79$; $6,02 \pm 0,45$ vs. $20,12 \pm 3,69$ pg/mg). Estes resultados demonstram que o exercício físico reduz os níveis de citocinas do tipo IL-1 β e TNF- α em danos colônicos ocasionados por ácido acético.

Figura 12. Efeito do Exercício Físico anaeróbio e aeróbio na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa.



Legenda: Efeitos dos diferentes tipos de exercício físico na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, \square Salina e \blacksquare Colite, os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 5-7 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de * $p < 0,05$ como significativos e ND como dados não detectáveis.

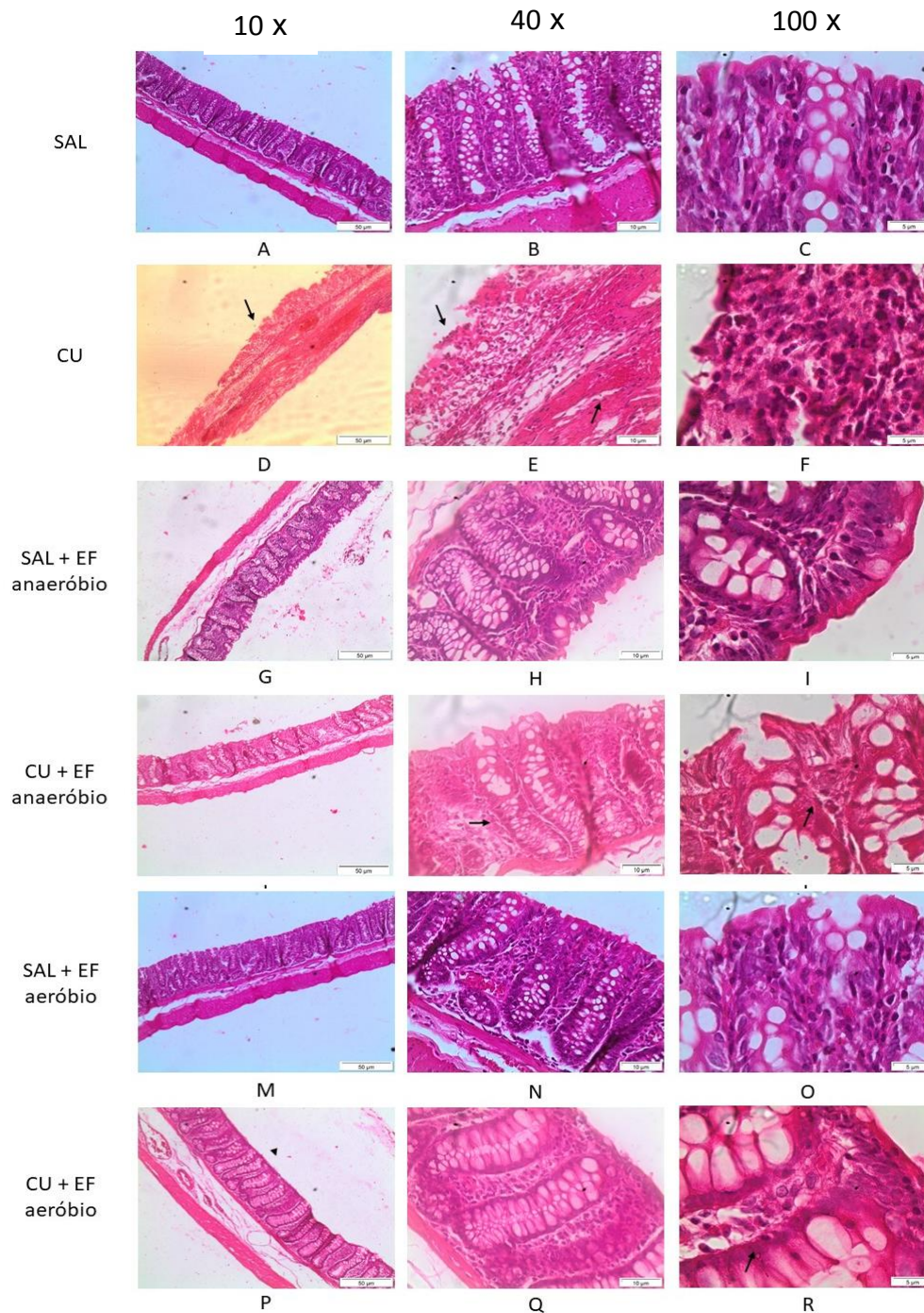
A tabela 03 demonstra os parâmetros histopatológicos de tecidos colônicos de ratos com colite ulcerativa e tratados com diferentes tipos de exercícios físicos. Observa-se que a colite ulcerativa ocasiona extensas lesões microscópicas, caracterizadas por danos hemorrágicos, edema, perda de células epiteliais e processo inflamatório (figura 13 D, E, F).

Entretanto, o tratamento com Exercício Físico anaeróbio diminuiu de forma significativa ($p < 0,05$) os danos hemorrágicos observados na Colite Ulcerativa, enquanto que o exercício físico aeróbio provocou melhora ($p < 0,05$) significativa no processo de perda epitelial. Dessa forma, ambos os tipos de Exercício Físico diminuíram de forma significativa ($p < 0,05$) esses danos histopatológicos provocados pela colite ulcerativa.

Tabela 03. Avaliação do efeito dos diferentes tipos de exercício físico no dano microscópico colônicos induzido pela colite ulcerativa em ratos.

Grupos (n: 5-7)	Danos Hemorrágicos (0-4)	Edema (0-4)	Células Epiteliais (0-3)	Células Inflamatórias (0-3)	Total (0-14)
SAL	0 (0-1)	0 (0-1)	0	0 (0-1)	0 (0-3)
CU	4 ^a	4 (3-4) ^a	2 (2-3) ^a	3 (2-3) ^a	13 (11-14) ^a
SAL+ Ex anaeróbio	1	3 (2-4)	0 (0-1)	0 (0-1)	5 (3-6)
CU+ Ex anaeróbio	2 (1-2) ^b	3 (3-4)	2 (2-3)	3 (2-3)	10 (8-12) ^b
SAL+ Ex aeróbio	1 (1-2)	2 (2-3)	1 (0-1)	1 (0-2)	6 (5-6)
CU+ Ex aeróbio	2 (2-4)	3 (2-4)	1 (1-2) ^b	2 (2-3)	9 (7-12) ^b

Os dados apresentados são medianas com escores mínimo e máximo exibidos entre parênteses. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $p < 0,05$ como significativos. ^asignifica $p < 0,05$ quando comparado ao grupo salina, ^b ao grupo CU.

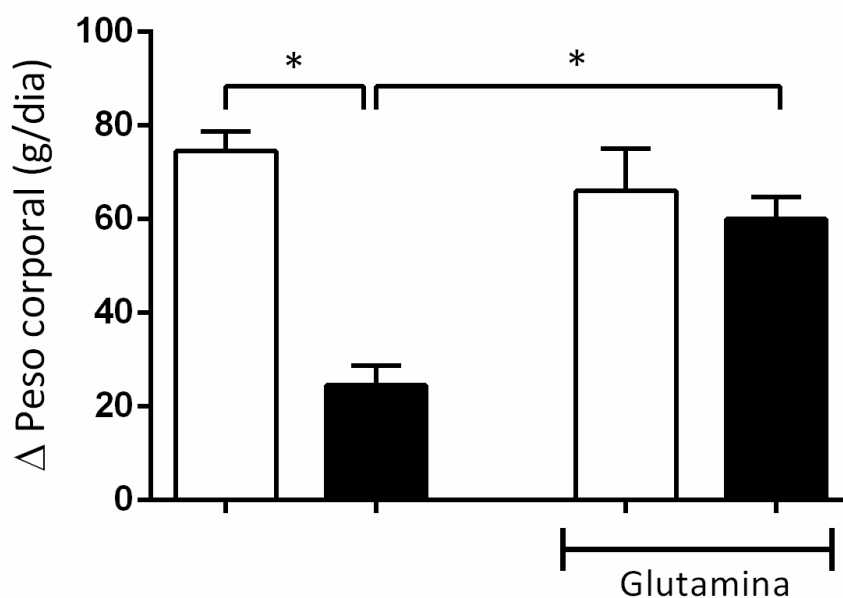


Legenda: A-C e D-F são fotomicrografia do colón dos grupos sedentários (salina e colite ulcerativa, respectivamente), enquanto que G-I e J-L são imagens histológicas do exercício físico anaeróbio e M-O e P-R refere-se ao exercício físico aeróbio. As imagens D ao F evidenciam que o tecido colônico dos animais sofreram grande desarranjo estrutural, além de processo inflamatório evidente. Entretanto, as imagens J-L e P-R demonstraram que o exercício físico protegeu a integridade do tecido colônico. Ampliação: 10x, 40x e 100X (esquerda para a direita).

5.3. Efeitos da Suplementação de Glutamina em ratos com Colite Ulcerativa.

A figura 14 demonstra que a Colite Ulcerativa provoca menor ganho de peso em ratos quando comparado ao grupo salina ($24,50 \pm 4,30$ vs. $74,57 \pm 4,20$ g/dia) ($p < 0,05$). Quanto ao tratamento com a suplementação de glutamina a 1 g/kg p.c observou-se que o aminoácido provocou um maior ganho peso dos animais ($60 \pm 4,80$ vs. $24,50 \pm 4,30$ g/dia), sendo essa diferença estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Pode-se afirmar que a suplementação de glutamina foi capaz de reverter o efeito da Colite Ulcerativa em relação a diminuição do ganho de peso corporal.

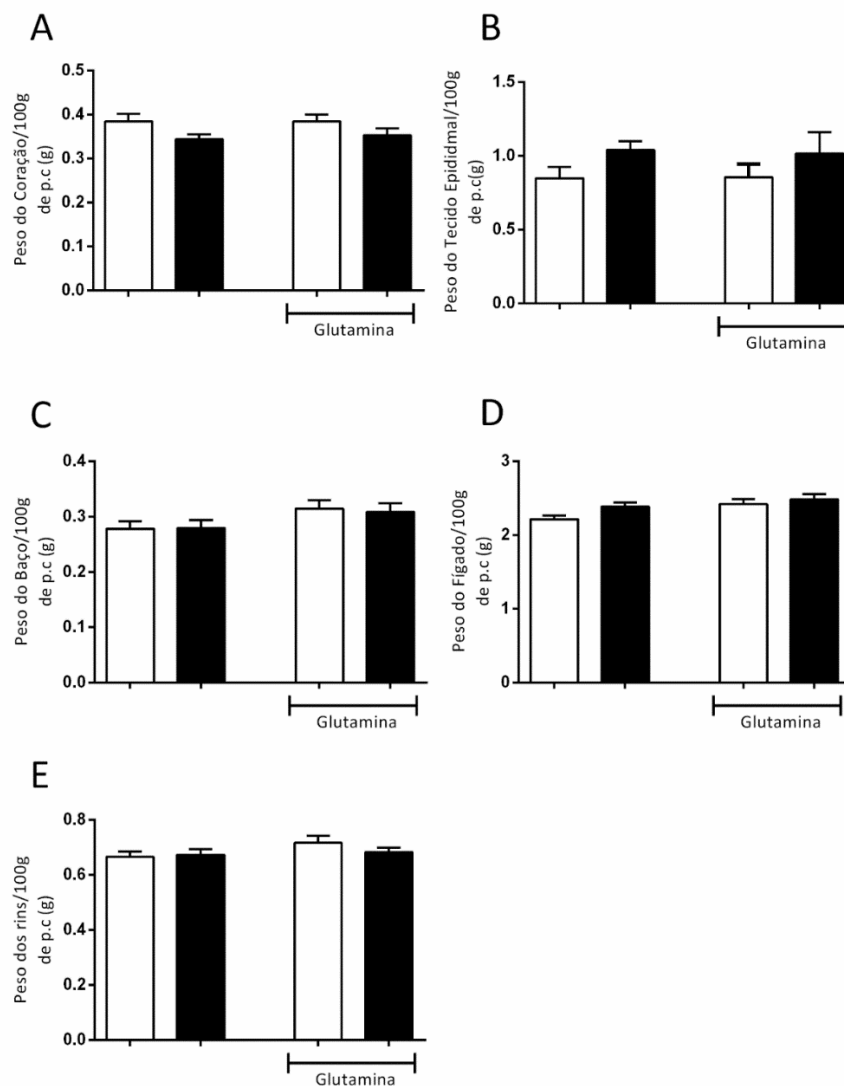
Figura 14. Efeito da suplementação de glutamina na variação do peso corporal (Δ) nos grupos salina e colite ulcerativa.



Legenda: Efeito da suplementação de glutamina na variação do peso corporal dos grupos salina e colite ulcerativa e grupos suplementados com glutamina. Sendo, □ Salina e ■ Colite, os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 7-9 animais por grupo. * $p < 0,05$, one-way ANOVA, seguido de seguida de teste de Tukey.

A figura 15 demonstra o efeito da suplementação de glutamina em ratos com a indução de colite ulcerativa com ácido acético em relação ao peso de órgãos por 100 gramas de peso corporal, sendo esses: coração (A), tecido epididimal (B), baço (C), fígado (D) e rins (E). Observa-se que não houve diferença significativa entre o peso dos órgãos dos animais que foram suplementados com glutamina a 1 g/kg de peso corporal em relação aos grupos salina e Colite Ulcerativa.

Figura 15. Efeito da suplementação de glutamina no peso dos órgãos: coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins por 100 gramas de p.c, em ratos salina ou colite ulcerativa.

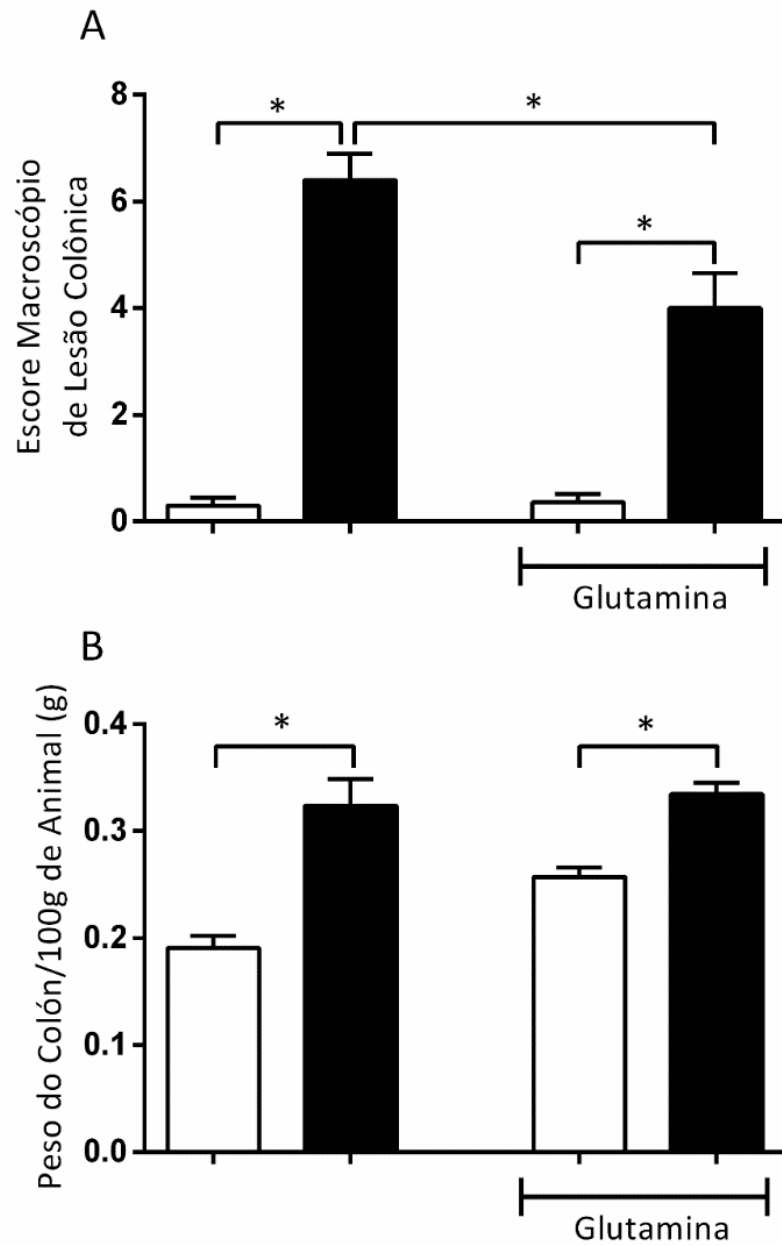


Legenda: efeito da suplementação de glutamina no perfil dos pesos dos órgãos: coração (A), tecido epididimal (B), baço (C), fígado (D) e rins (E) por 100 gramas de p. c, em ratos salina colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 7-12 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de.

De acordo com o escore macroscópico da lesão tecidual colônica (Figura 16 A) o grupo CU obteve escore significativamente ($p < 0,05$) mais elevado que o grupo salina ($6,66 \pm 0,47$ vs. $0,30 \pm 0,15$), comprovando as lesões colônicas ocasionadas pelo ácido acético. Ressalta-se que o grupo CU+ GLU possui maior lesão tecidual macroscópica ($p < 0,05$) do respectivo grupo salina, SAL+ GLU ($4,0 \pm 0,65$ vs. $0,36 \pm 0,15$, respectivamente). Entretanto a suplementação de glutamina foi significativamente ($p < 0,05$) eficaz para provocar a inibição das lesões colônicas provocadas pelo ácido acético ($4,0 \pm 0,65$ vs. $6,66 \pm 0,47$).

Em relação ao Figura 16 B, os ratos com colite ulcerativa possuem maior peso do cólon por 100 g de p.c ($p < 0,05$) em relação ao grupo salina ($0,32 \pm 0,02$ vs. $0,19 \pm 0,11$ g, respectivamente). Também demonstra que o grupo Colite Ulcerativa suplementado apresenta peso significativamente maior ($p < 0,05$) que o grupo salina suplementado ($0,33 \pm 0,10$ vs. $0,25 \pm 0,01$, respectivamente).

Figura 16. Efeito da suplementação de glutamina no perfil do escore de lesão macroscópico e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal em ratos salina ou colite ulcerativa.

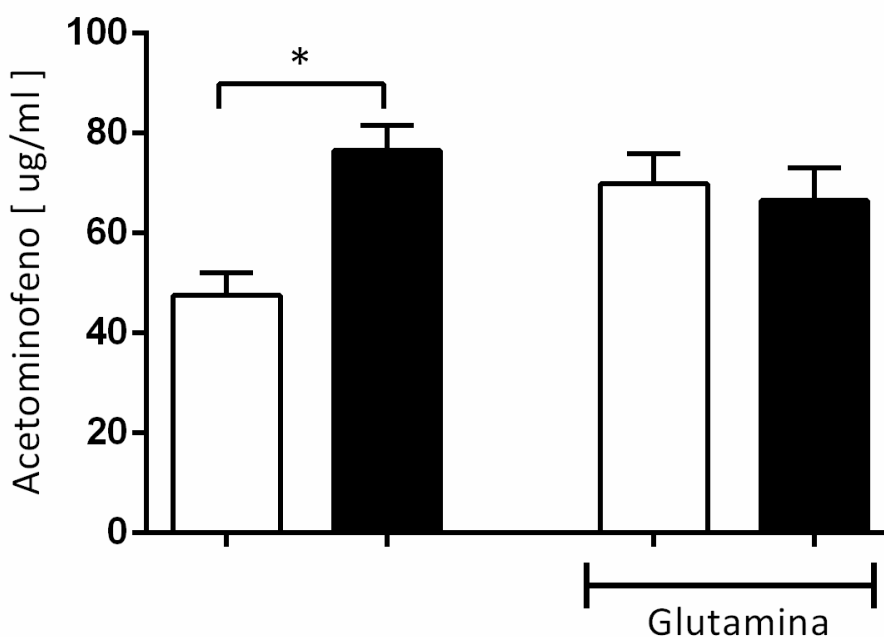


Legenda: Efeito da suplementação de glutamina 1g/kg de peso corporal no perfil do peso do cólon e escore macroscópico de lesão colônica em ratos salina ou colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média ± EPM de 7-12 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de *p < 0,05 como significativos.

Na Figura 17 demonstra que os animais com Colite Ulcerativa têm maior taxa de esvaziamento gástrico que o grupo salina ($76,58 \pm 4,91$ vs. $47,61 \pm 4,48$ ug/ml), sendo estatisticamente significativo ($p < 0,05$). Também foi possível verificar que a suplementação de glutamina atenuou o efeito deletério da colite ulcerativa na taxa de esvaziamento gástrico (EG), entretanto não houve diferença significativa ($66,52 \pm 6,48$ vs. $76,58 \pm 4,91$ ug/ml, respectivamente).

Os resultados expostos, em relação a taxa de esvaziamento gástrico, indicam que a suplementação com glutamina foi protetora aos animais com colite ulcerativa, pois esse provocou a correção da taxa de EG, em relação aos animais suplementados salina. Os grupos CU+ GLU e SAL+ GLU não possuem diferença estatística entre si ($66,52 \pm 6,48$ vs. $69,91 \pm 6,04$ ug/ml, respectivamente).

Figura 17. Efeito da suplementação de glutamina no esvaziamento gástrico em ratos salina ou colite ulcerativa.



Legenda: Efeito da suplementação de glutamina 1 g/kg p.c na alteração dos níveis de acetaminofeno em ratos salina ou colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média ± EPM de 7-11 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de * $p < 0,05$ como significativos.

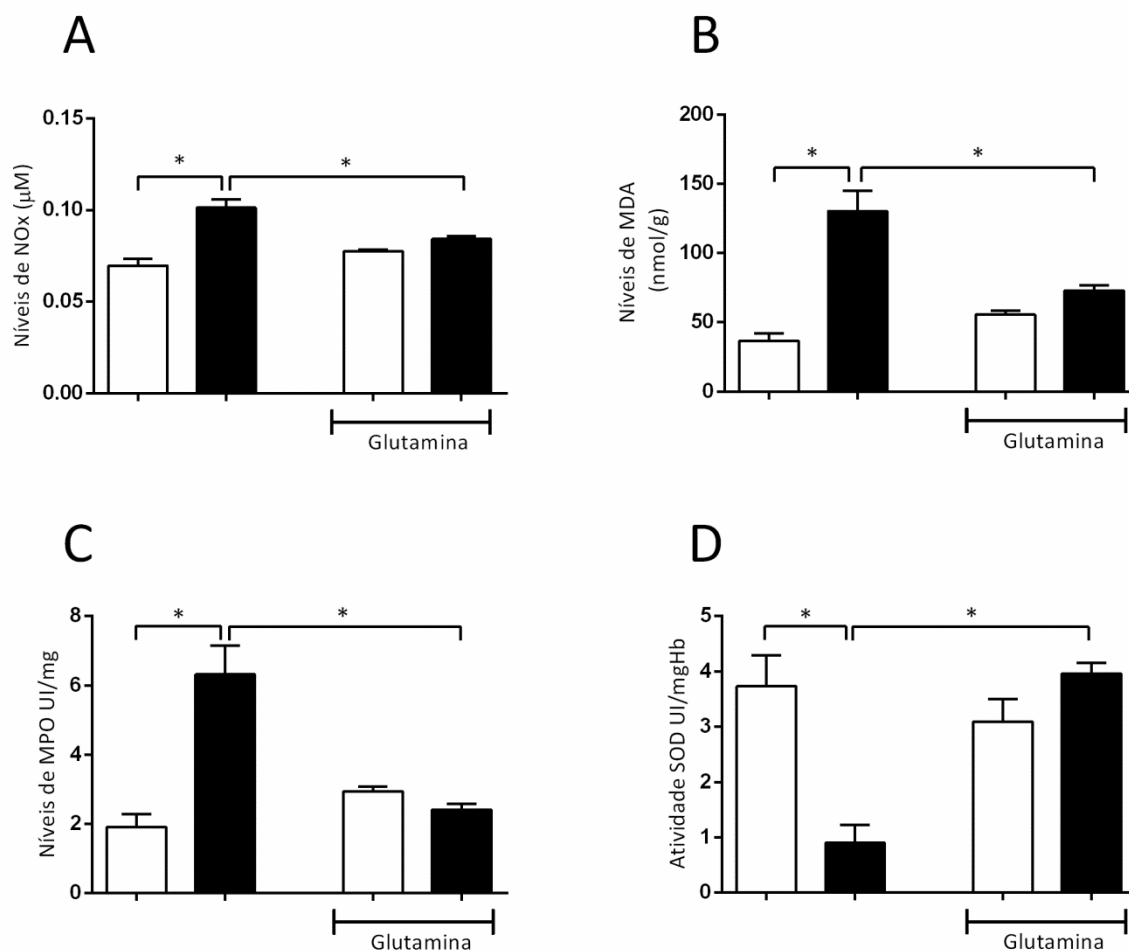
A indução da Colite Ulcerativa provocou o aumento ($p < 0,05$) dos níveis de nitrato/nitrito nos tecidos colônicos de ratos quando comparado ao grupo salina ($0,10 \pm 0,004$ vs. $0,07 \pm 0,003$ μM , respectivamente), todavia a suplementação de glutamina 1 g/kg de p.c provocou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) dos níveis desse NOx comparado ao grupo CU ($0,08 \pm 0,001$ vs. $0,10 \pm 0,004$ μM , respectivamente). Vale ressaltar que os grupos suplementados não possuem diferença significativa entre si, evidenciando que a suplementação inibiu a ação da Colite Ulcerativa ($0,07 \pm 0,001$ vs. $0,08 \pm 0,001$ μM) (Figura 18 A).

Em relação aos níveis de MDA no tecido colônicos de ratos, Figura 18 B, demonstrou que a colite ulcerativa aumentou significativamente ($p < 0,05$) os níveis de MDA em comparação com o grupo salina ($130,4 \pm 14,75$ vs. $36,62 \pm 5,37$ nmol/g, respectivamente). Além disso, a suplementação de glutamina teve ação protetora, pois o grupo suplementado foi significativamente ($p < 0,05$) menor em relação ao grupo CU ($72,93 \pm 3,92$ vs. $130,4 \pm 14,75$ nmol/g, respectivamente).

Semelhantemente, a análise dos níveis de MPO observou que a Colite Ulcerativa aumenta significativamente ($p < 0,05$) a concentração de MPO quando comparado ao grupo salina ($6,32 \pm 0,83$ vs. $1,90 \pm 0,36$ UI/mg, respectivamente). Novamente foi evidenciado que a suplementação com glutamina provocou efeito preventivo aos danos colônicos característicos da patologia base, pois o grupo com colite ulcerativa suplementado tem menor concentração de MPO ($p < 0,05$) que o grupo colite ulcerativa ($2,40 \pm 0,16$ vs. $6,32 \pm 0,83$ UI/mg, respectivamente) (Figura 18 C).

Na Figura 18 D demonstra que a Colite Ulcerativa provocou diminuição ($p < 0,05$) da atividade de SOD quando comparado com o grupo salina ($0,90 \pm 0,21$ vs. $3,74 \pm 0,38$ UI/mgHb, respectivamente). Contudo a suplementação de glutamina proporcionou aumento significativo ($p < 0,05$) da atividade de SOD ($3,96 \pm 0,40$ vs. $0,90 \pm 0,21$ UI/mgHb), ressaltando novamente o efeito preventivo da suplementação em relação aos danos colônicos provocados pela Colite Ulcerativa.

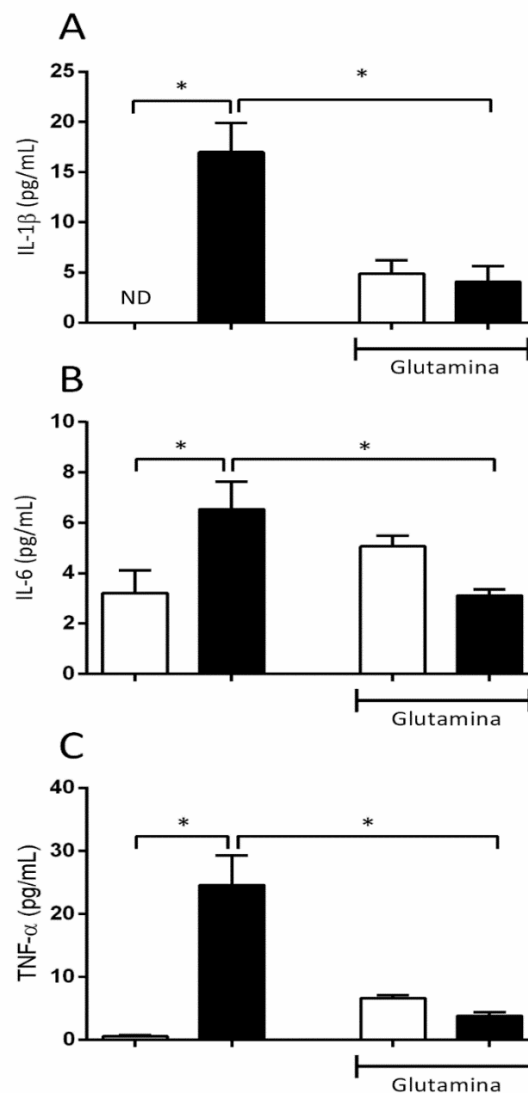
Figura 18. Efeito da suplementação de glutamina na produção de NOxs, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou colite ulcerativa.



Legenda: Efeito da suplementação de glutamina na produção de NOx, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, \square Salina e \blacksquare Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 5-09 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $*p < 0,05$ como significativos.

Na Figura 19 avaliou-se os níveis das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α nos tecidos colônicos de ratos. Observou-se que a Colite Ulcerativa provocou aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo salina ($16,99 \pm 2,90$; $6,54 \pm 1,08$ e $24,57 \pm 4,71$ vs. ND; $3,21 \pm 0,90$ e $0,57 \pm 0,16$ pg/mg) em todas as citocinas avaliadas, caracterizando processo inflamatório no tecido lesionado. Todavia, a suplementação de glutamina reverteu o efeito da Colite Ulcerativa na análise de todas as citocinas ($4,10 \pm 1,54$; $3,11 \pm 0,24$ e $3,82 \pm 0,57$ pg/mg, respectivamente).

Figura 19. Efeito da suplementação de glutamina na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa.



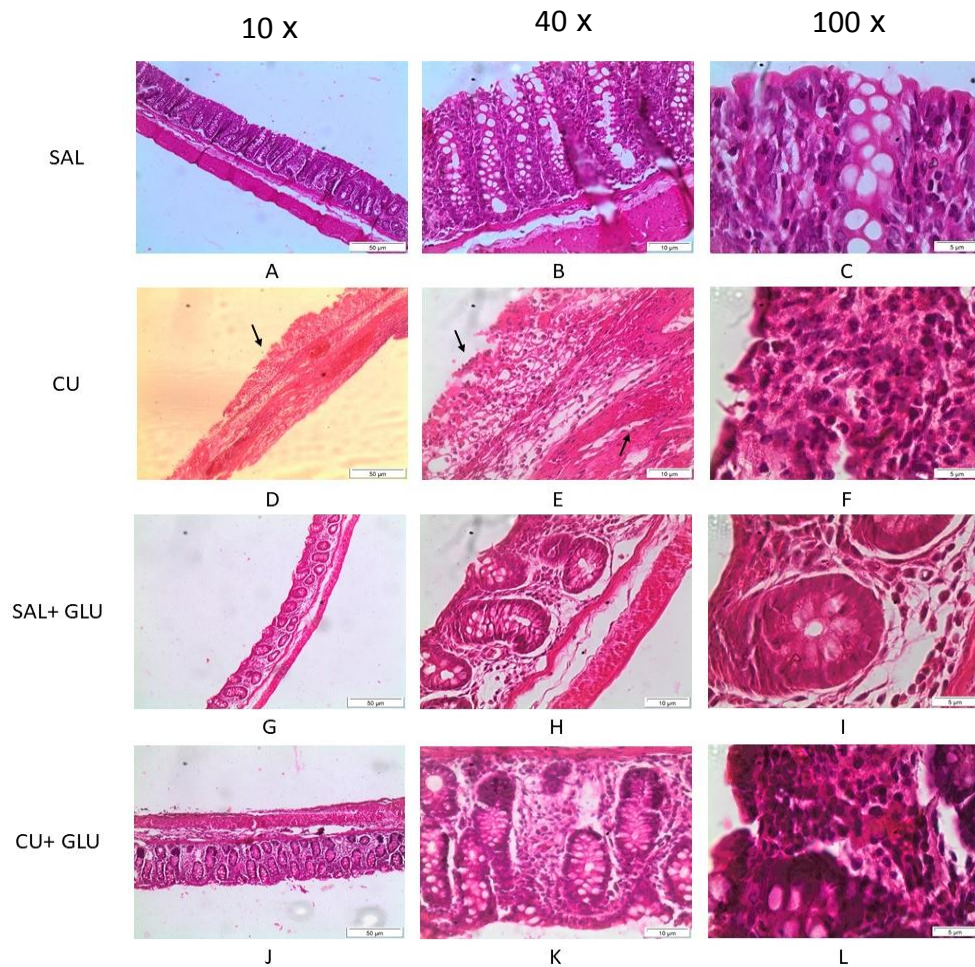
Legenda: Efeito da suplementação de glutamina na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, \square Salina e \blacksquare Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 5-7 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de * $p < 0,05$ como significativos e ND como dados não detectáveis.

A tabela 05 demonstra os parâmetros histopatológicos de tecidos colônicos de ratos com colite ulcerativa e/ou suplementados com glutamina a 1 g/kg de peso corporal. Observa-se que a colite ulcerativa ocasiona extensas lesões microscópicas, caracterizadas por danos hemorrágicos, edema, perda de células epiteliais e processo inflamatório (figura 20 D, E, F). Entretanto, o uso da suplementação em animais com colite ulcerativa provocou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) em relação aos danos hemorrágicos, mas não obteve diferença significativa em relação ao total do escore.

Tabela 05. Efeito da suplementação no dano microscópico colônicos induzido pela colite ulcerativa em ratos.

Grupos (n: 5-7)	Danos Hemorrágicos (0-4)	Edema (0-4)	Células Epiteliais (0-3)	Células Inflamatórias (0-3)	Total (0-14)
SAL	0 (0-1)	0 (0-1)	0	0 (0-1)	0 (0-3)
CU	4 ^a	4 (3-4) ^a	2 (2-3) ^a	3 (2-3) ^a	13 (11-14) ^a
SAL+ GLU	2 (2-3)	4 (3-4)	2	2 (1-2)	10 (8-10)
CU+ GLU	3 ^{b,c}	3 (3-4)	2 (2-3)	3	11 (11-13)

Os dados apresentados são medianas com escores mínimo e máximo exibidos entre parênteses. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $p < 0,05$ como significativos. ^a significa $p < 0,05$ quando comparado ao grupo salina, ^b ao grupo CU e ^c ao grupo SAL+ GLU.

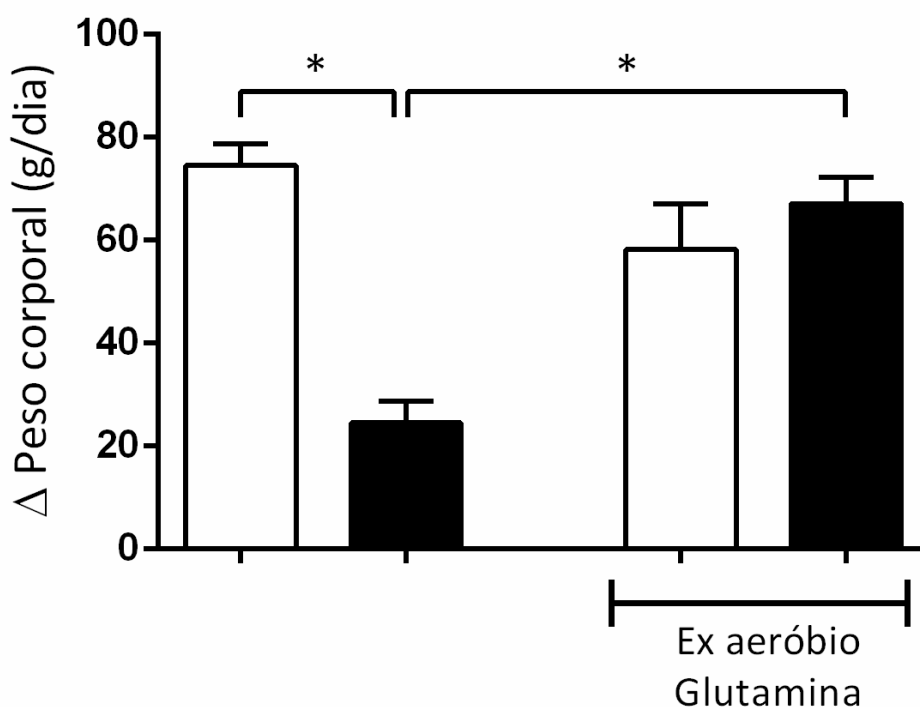


Legenda: A-C e D-F são fotomicrografias dos grupos controle (salina e colite ulcerativa, respectivamente), enquanto que G-I e J-L são imagens histológicas dos grupos suplementados com 1 g/kg de p.c de glutamina (salina e colite ulcerativa). As imagens D ao F evidenciam que o tecido colônico dos animais sofreram grande desarranjo estrutural, além de processo inflamatório evidente. Entretanto, as imagens J-L demonstraram que a suplementação protege o tecido colônico, mas ainda se percebe grande processo inflamatório e diminuição da lâmina própria. Ampliação: 10x, 40x e 100X (esquerda para a direita).

5.4. Efeito do Exercício Físico aliado a Suplementação de Glutamina em ratos com Colite Ulcerativa.

Na Figura 21 demonstrou que a Colite Ulcerativa provoca menor ganho de peso em ratos quando comparado ao grupo salina ($24,50 \pm 4,30$ g/dia vs. $74,57 \pm 4,20$ g/dia) ($p < 0,05$). Quanto ao efeito combinado o exercício físico e a suplementação de glutamina foi capaz de reverter ($p < 0,05$) a perda de peso ocasionada pela indução da Colite Ulcerativa ($67,17 \pm 5,08$ vs. $24,50 \pm 4,30$ g/dia, respectivamente). Dessa forma, o exercício físico aliado a suplementação foi capaz de inibir o efeito da colite ulcerativa em relação ao ganho de peso corporal.

Figura 21. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina na variação do peso corporal (Δ) nos grupos salina e colite ulcerativa.



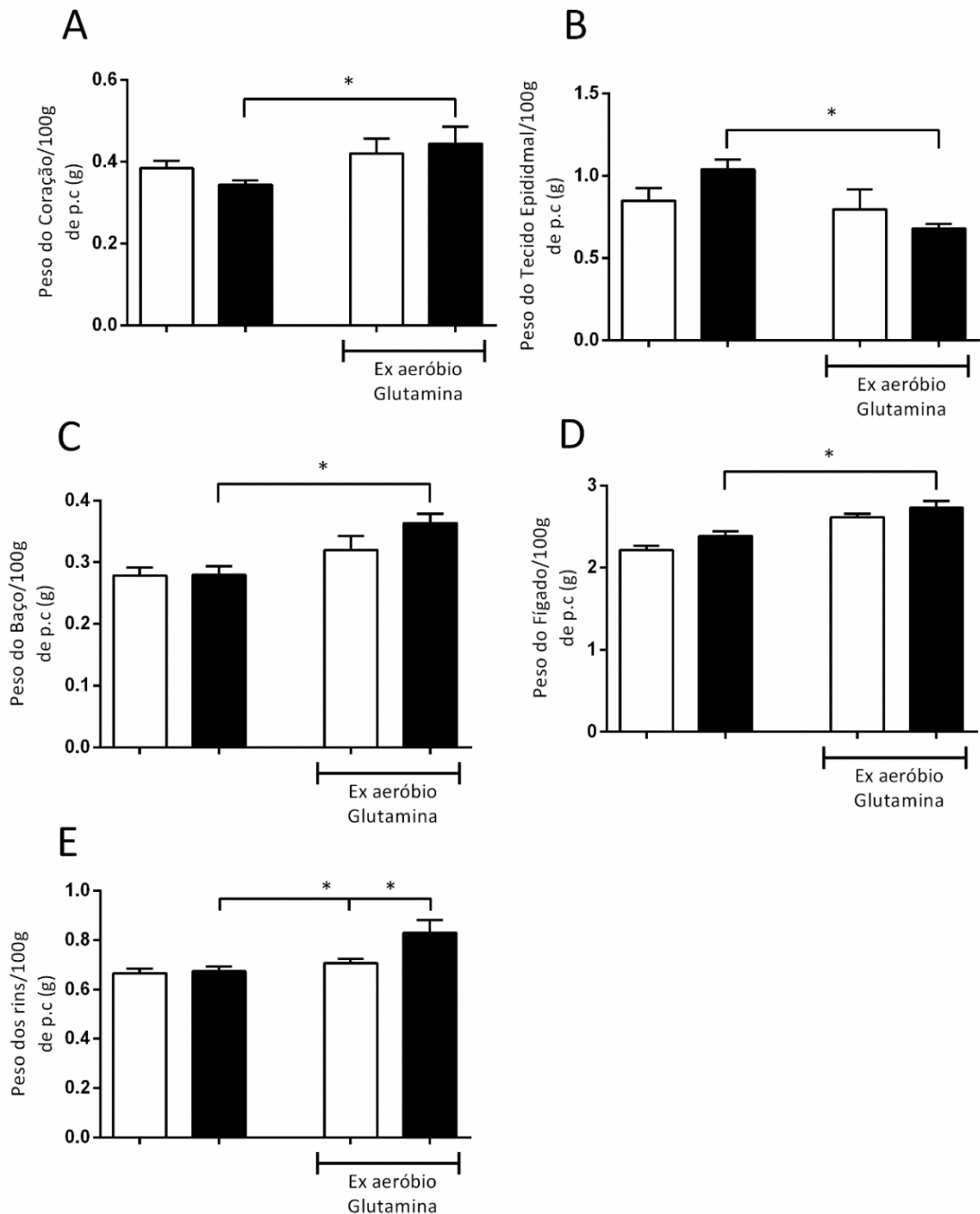
Legenda: Efeito do exercício físico aeróbio aliado a suplementação de glutamina na variação do peso corporal dos grupos salina e colite ulcerativa e grupos suplementados com glutamina. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 7-8 animais por grupo. * $p < 0,05$, one-way ANOVA, seguido de seguida de teste de Tukey.

A Figura 22 A demonstra que o exercício físico aliado a suplementação em animais com Colite Ulcerativa provocou aumento significativo ($p < 0,05$) do peso do coração por 100 g/p.c dos animais em relação ao grupo CU ($0,44 \pm 0,04$ vs. $0,34 \pm 0,01$ g, respectivamente). Quanto ao peso o tecido epididimal (Figura 22 B) observou-se que o grupo CU+ Ex aeróbio+ GLU têm menor peso ($p < 0,05$) por 100 gramas de peso corporal que o grupo CU ($0,67 \pm 0,02$ vs. $1,04 \pm 0,06$ g, respectivamente).

Na Figura 22 C demonstra que o exercício físico aliado a suplementação em animais com Colite Ulcerativa provocou aumento significativo ($p < 0,05$) do peso do baço em relação ao grupo CU ($0,36 \pm 0,01$ vs. $0,27 \pm 0,01$ g, respectivamente). Resultado semelhante foi encontrado no gráfico 14 D, onde o grupo CU+ Ex aeróbio + GLU possui maior peso ($p < 0,05$) de fígado que o grupo CU ($2,78 \pm 0,08$ vs. $2,38 \pm 0,05$ g, respectivamente).

Na Figura 22 E o efeito combinado o exercício físico e suplementação de glutamina foi capaz de aumentar o peso dos rins significativamente em relação ao grupo colite ulcerativa ($0,82 \pm 0,05$ vs. $0,66 \pm 0,01$ g, respectivamente). Além disso o grupo CU+ Ex aeróbio + GLU têm maior peso ($p < 0,05$) renal por 100 gramas de peso corporal que seu respectivo salina, SAL+ Ex aeróbio+ GLU ($0,82 \pm 0,05$ vs. $0,70 \pm 0,01$ g, respectivamente).

Figura 22. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina no peso dos órgãos: coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins por 100 gramas de p.c, em ratos salina ou colite ulcerativa.

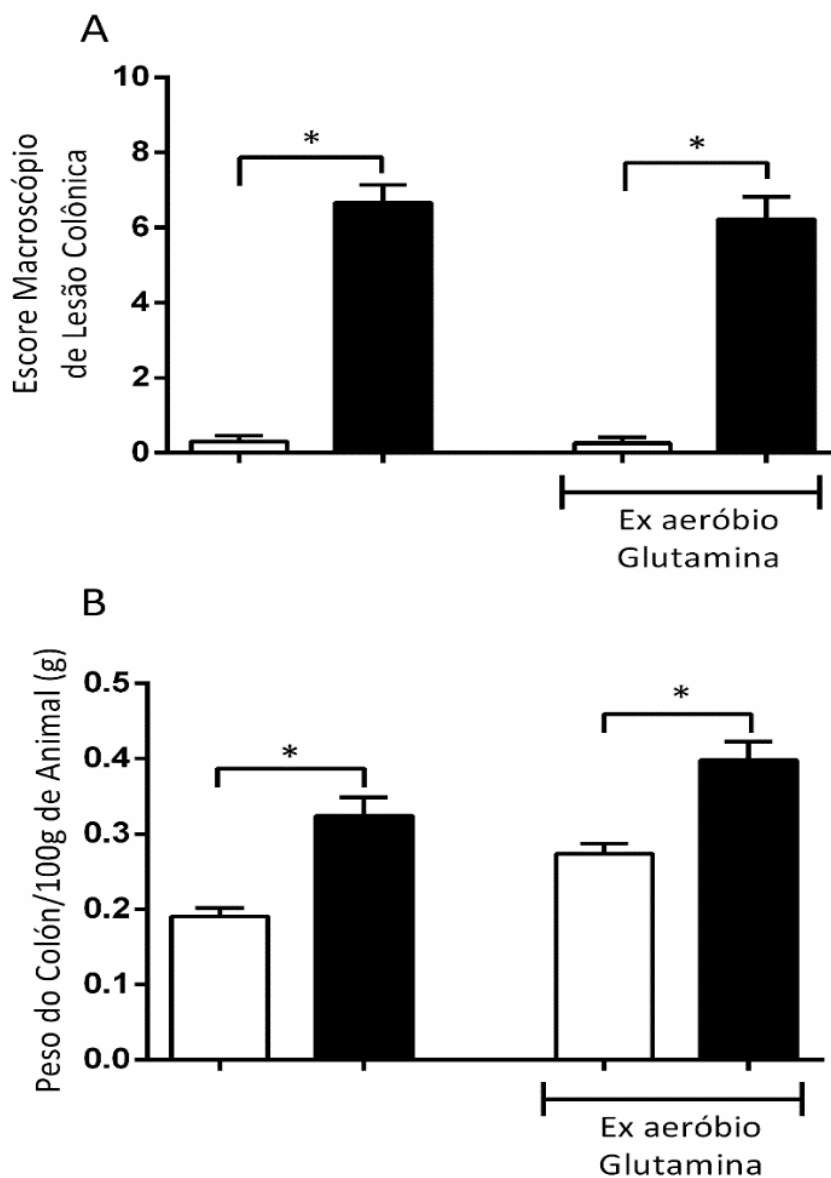


Legenda: Efeito do exercício físico aliado a suplementação de glutamina no perfil dos pesos dos órgãos: coração, baço, rins, tecido epididimal e fígado por 100 gramas de p. c, em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 8-12 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $*p < 0,05$ como significativos.

De acordo com o escore macroscópico da lesão tecidual colônica (Figura 23) o grupo CU obteve escore significativamente ($p < 0,05$) mais elevado que o grupo salina ($6,66 \pm 0,47$ vs. $0,30 \pm 0,15$), comprovando os extensos danos nos tecidos colônicos ocasionadas pelo ácido acético. O grupo CU+ Ex aeróbio+ GLU apresenta, maior lesão tecidual ($p < 0,05$) que o seu respectivo salina, SAL+ Ex aeróbio+ GLU ($6,22 \pm 0,59$ vs. $0,25 \pm 0,16$, respectivamente), resultado já esperado. Ressalta-se que o efeito do exercício físico aliado a suplementação não foram capazes de diminuir significativamente os danos provocados pela colite ulcerativa, de acordo com essa análise ($6,22 \pm 0,59$ vs. $6,66 \pm 0,47$, respectivamente).

Em relação ao gráfico 15 B, os ratos com colite ulcerativa ($0,32 \pm 0,02$ g) possuem maior peso do cólon por 100 g de p.c animal ($p < 0,05$) que o grupo salina ($0,19 \pm 0,11$ g). O grupo CU+ Ex aeróbio+ GLU ($0,39 \pm 0,02$) possui maior peso do cólon ($p < 0,05$) que o grupo SAL+ Ex aeróbio+ GLU ($0,27 \pm 0,01$). Dessa forma, demonstra que o exercício físico aliado a suplementação de glutamina não foram eficazes em promover melhora da inflamação do cólon.

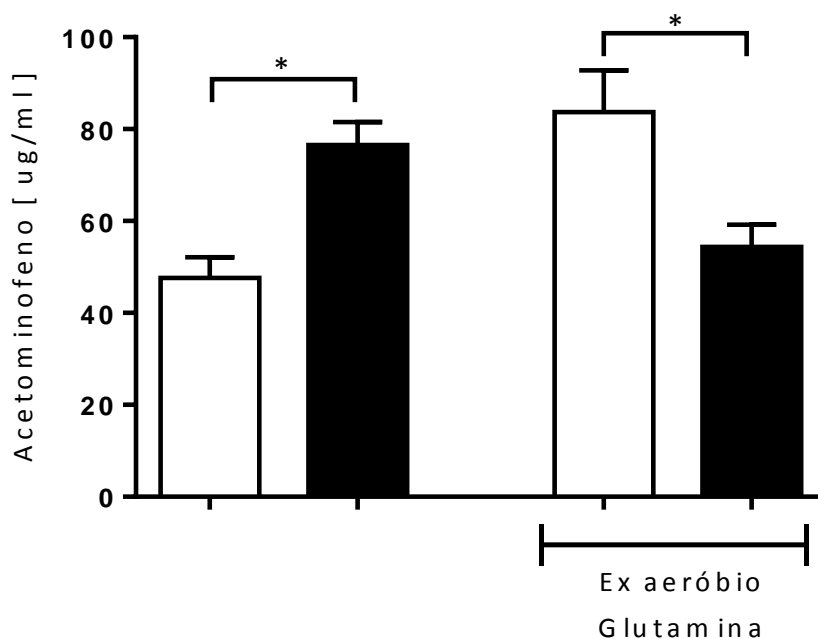
Figura 23. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina no perfil do escore de lesão macroscópico e peso do colón por 100 gramas de p.c do animal em ratos salina ou colite ulcerativa.



Legenda: Efeito do exercício físico aliado a suplementação de glutamina no perfil do peso do cólon e escore macroscópico de lesão colônica em ratos salina ou colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média ± EPM de 8-12 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de *p < 0,05 como significativos.

A indução da colite ulcerativa induz ao aumento da taxa de esvaziamento gástrico em relação ao grupo salina ($76,58 \pm 4,91$ vs. $47,61 \pm 4,48$ ug/ml, respectivamente), sendo essa diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$). Verificou-se que o exercício físico aliado a suplementação de glutamina na colite ulcerativa provocou diminuição significativa ($p < 0,05$) na taxa de EG quando comparado ao respectivo grupo salina ($54,39 \pm 4,83$ vs. $83,70 \pm 9,09$ ug/ml). O exercício físico aliado a suplementação provocou atenuação no aumento da taxa de EG provocada pela colite ulcerativa, entretanto não foi observada diferença significativa entre os grupos CU e CU+ Ex aeróbio+ GLU ($76,58 \pm 4,91$ vs. $54,39 \pm 4,83$ ug/ml) (gráfico 24).

Figura 24. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina no esvaziamento gástrico em ratos salina ou colite ulcerativa.



Legenda: Efeito do exercício físico aliado a suplementação de glutamina na alteração dos níveis de acetaminofeno em ratos salina ou colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 7-11 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $*p < 0,05$ como significativos.

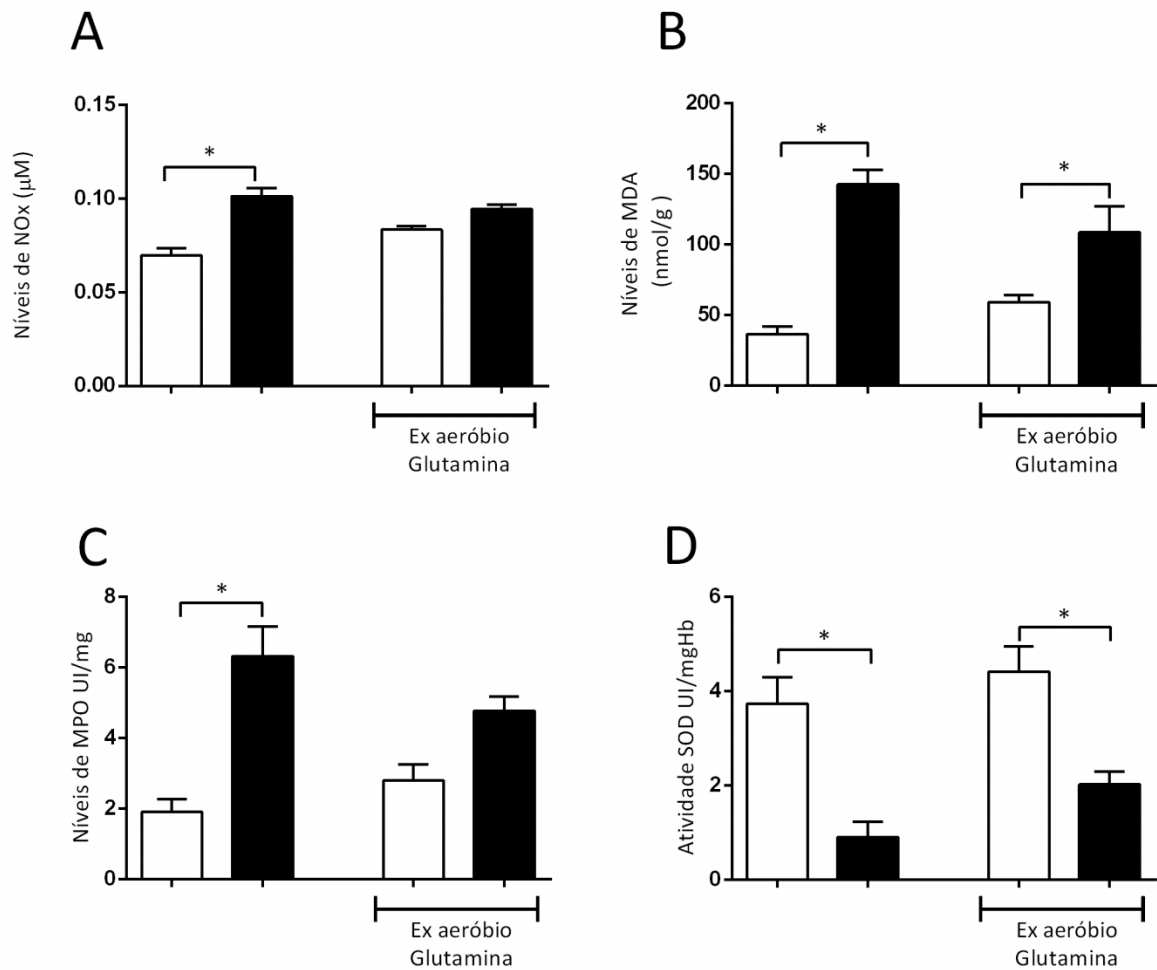
A indução da Colite Ulcerativa provocou um aumento significativo ($p < 0,05$) dos níveis de nitrato/nitrito nos tecidos colônicos de ratos quando comparado ao grupo salina ($0,10 \pm 0,004$ vs. $0,07 \pm 0,003$ μM , respectivamente), todavia a suplementação de glutamina 1 g/kg de p.c provocou uma diminuição significativa ($p < 0,05$) dos níveis desse NOx comparado ao grupo CU ($0,08 \pm 0,001$ vs. $0,10 \pm 0,004$ μM). Vale ressaltar que entre os grupos com exercício físico aliado a glutamina não houve diferença significativa ($0,08 \pm 0,001$ vs. $0,09 \pm 0,002$ μM), também não foi observado efeitos do exercício físico aliado a suplementação em relação ao grupo CU (Figura 25 A).

Em relação aos níveis de MDA no tecido colônicos de ratos, a figura 25 B, mostra que a Colite Ulcerativa aumentou significativamente ($p < 0,05$) os níveis de MDA em comparação com o grupo salina ($142,5 \pm 10,01$ vs. $36,62 \pm 5,37$ nmol/g, respectivamente). Além disso, observou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos com ação do exercício físico aliado a suplementação ($59,22 \pm 5,03$ vs. $108,60 \pm 18,40$ nmol/g). O Exercício associado a suplementação não foi capaz de diminuir significativamente os níveis de MDA nos tecidos colônicos ocasionado pelas lesões da Colite Ulcerativa ($108,60 \pm 18,40$ vs. $142,5 \pm 10,01$ nmol/g, respectivamente).

A análise dos níveis de MPO demonstrou que a Colite Ulcerativa aumentou significativamente ($p < 0,05$) a concentração de MPO quando comparado ao grupo salina ($6,32 \pm 0,83$ vs. $1,90 \pm 0,36$ UI/mg, respectivamente), além disso, o Exercício associado a suplementação não foram capazes de diminuir significativamente os níveis de MPO nos tecidos colônicos de ratos com Colite Ulcerativa ($4,77 \pm 0,41$ vs. $6,32 \pm 0,83$ UI/mg, respectivamente) (Figura 25 C).

Na Figura 25 D demonstra que a Colite Ulcerativa provocou diminuição ($p < 0,05$) da atividade de SOD quando comparado com o grupo salina ($0,90 \pm 0,21$ vs. $3,74 \pm 0,38$ UI/mgHb, respectivamente). Além disso, observou diferença significativa ($p < 0,05$) entre os grupos com ação do exercício físico aliado a suplementação (SAL+ Ex aeróbio + GLU: $4,41 \pm 0,52$ vs. CU+ Ex aeróbio+ GLU: $2,02 \pm 0,27$).

Figura 25. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina na produção de NOxs, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou colite ulcerativa.

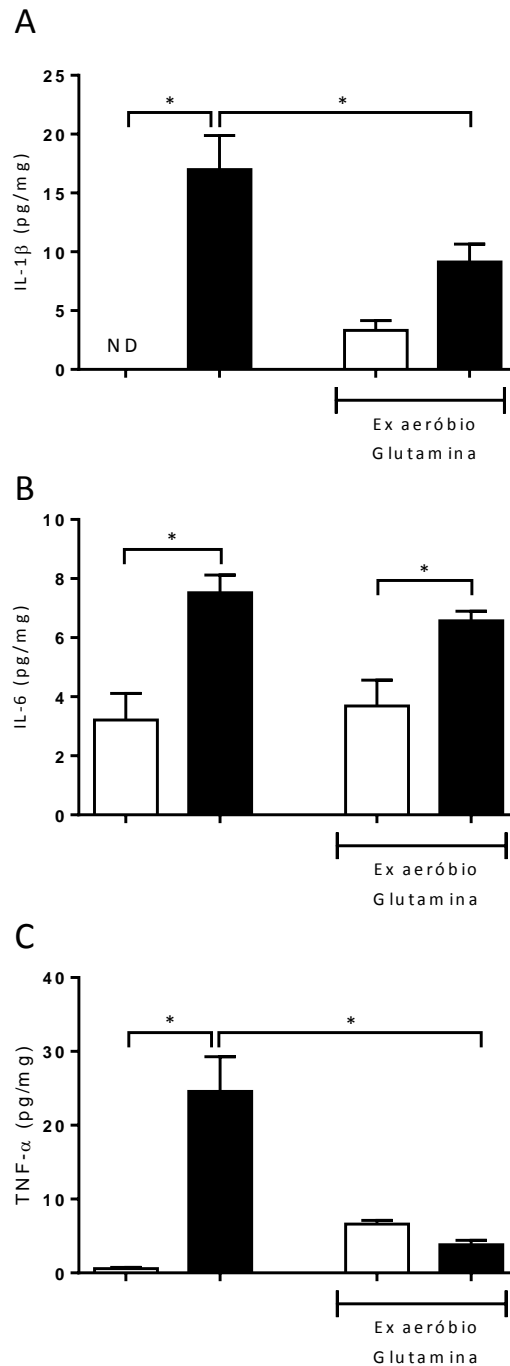


Legenda: Efeito do exercício físico aliado a suplementação de glutamina na produção de NOx, MDA, MPO e SOD em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, □ Salina e ■ Colite os resultados estão expressos como a média ± EPM de 5-09 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de *p < 0,05 como significativos.

A figura 26 demonstra os níveis das citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α nos tecidos colônicos de ratos. Observou-se que a Colite Ulcerativa provocou aumento significativo ($p < 0,05$) em relação ao grupo salina ($16,99 \pm 2,90$; $7,52 \pm 0,59$ e $24,57 \pm 4,71$ vs. ND; $3,21 \pm 0,90$ e $0,57 \pm 0,16$ pg/mg) em todas as citocinas avaliadas, caracterizando processo inflamatório no tecido lesionado. Além disso, a figura 26 B observa-se que o grupo SAL+ Ex aeróbio + GLU dispõe de menor concentração ($p < 0,05$) de citocina IL-6 que o grupo CU+ Ex aeróbio + GLU ($3,68 \pm 0,87$ vs. $6,57 \pm 0,31$ pg/mg).

As figuras 26 A e C também demonstram que o exercício físico associado a suplementação foi capaz de diminuir significativamente ($p < 0,05$) os níveis de citocinas, IL-1 β e TNF- α quando comparado com o grupo CU (IL-1 β : $9,14 \pm 1,50$ vs. $16,99 \pm 2,90$ pg/mg) (TNF- α : $3,82 \pm 0,57$ vs. $24,57 \pm 4,71$ pg/mg, respectivamente). Estes resultados demonstram que o exercício físico associado a suplementação de glutamina reduz os níveis de citocinas do tipo IL-1 β e TNF- α em danos colônicos ocasionados por ácido acético.

Figura 26. Efeito do Exercício Físico aliado a suplementação de glutamina na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa.



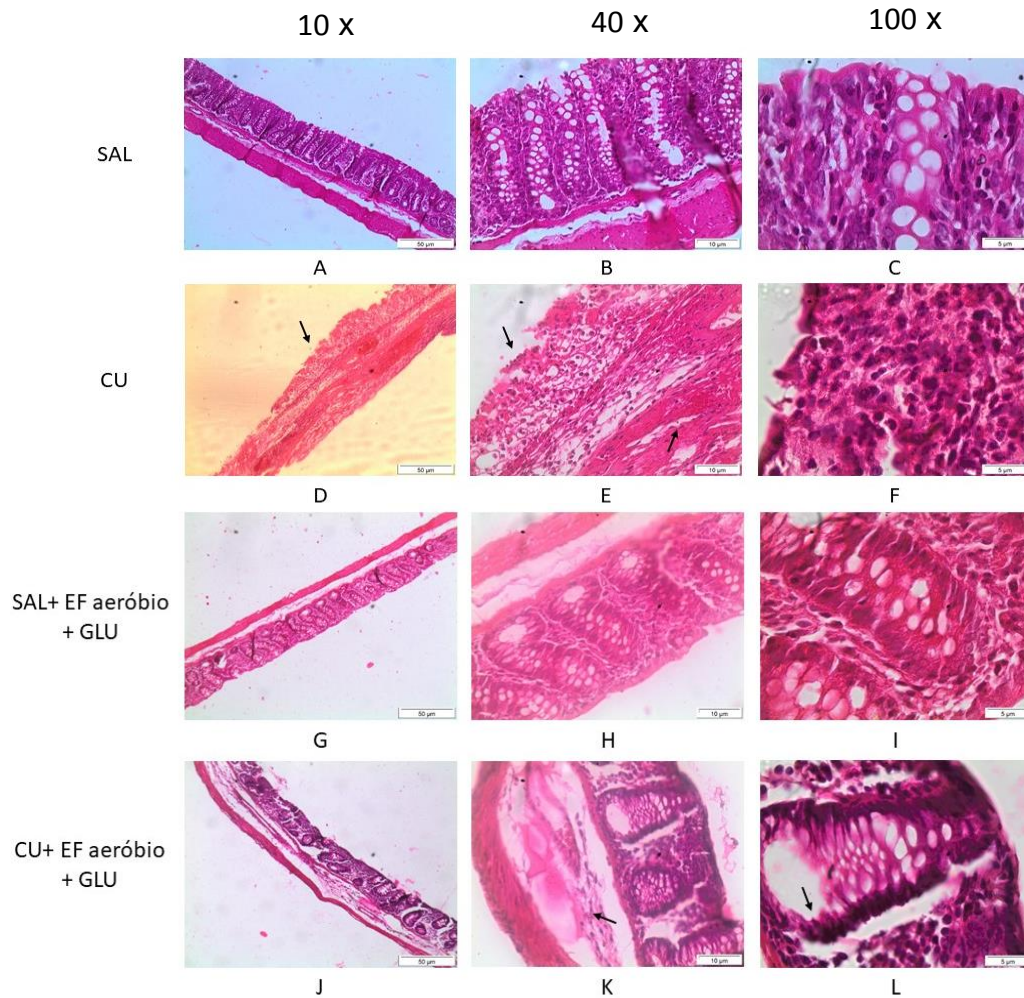
Legenda: Efeito do exercício físico aliado a suplementação de glutamina na produção de IL-1 β , IL-6, TNF- α em ratos salina ou com colite ulcerativa. Sendo, \square Salina e \blacksquare Colite os resultados estão expressos como a média \pm EPM de 5-7 animais por grupo. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de * $p < 0,05$ como significativos e ND como dados não detectáveis.

A tabela 06 demonstra os parâmetros histopatológicos de tecidos colônicos de ratos tratados com exercício aeróbio e suplementação de glutamina com colite ulcerativa. Observa-se que a colite ulcerativa ocasiona extensas lesões microscópicas, caracterizadas por danos hemorrágicos, edema, perda de células epiteliais e processo inflamatório (figura 27 D, E, F). Entretanto, o uso do exercício físico aliado a suplementação em animais com colite ulcerativa não teve efeito significativo nos parâmetros utilizados.

Tabela 06. Efeito do Exercício Físico aeróbio aliado a suplementação no dano microscópico colônicos induzido pela colite ulcerativa em ratos.

Grupos (n: 5-7)	Danos Hemorrágicos (0-4)	Edema (0-4)	Células Epiteliais (0-3)	Células Inflamatórias (0-3)	Total (0-14)
SAL	0 (0-1)	0 (0-1)	0	0 (0-1)	0 (0-3)
CU	4 ^a	4 (3-4) ^a	2 (2-3) ^a	3 (2-3) ^a	13 (11-14) ^a
SAL+ exercício físico aeróbio+ GLU	2 (2-4)	3 (2-4)	1 (1-2)	2 (2-3)	9 (7-12)
CU+ exercício físico aeróbio + GLU	4 ^b	4 (3-4)	2 (2-3) ^b	3	13 (12-14) ^b

Os dados apresentados são medianas com escores mínimo e máximo exibidos entre parênteses. Para análise utilizou-se one-way ANOVA, seguida de teste de Tukey, com valores de $p < 0,05$ como significativos. ^a significa $p < 0,05$ quando comparado ao grupo salina, ^b ao grupo SAL+ EXERCÍCIO FÍSICO aeróbio + GLU.



Legenda: A-C e D-F são fotomicrografias do colón dos grupos sedentários (salina e colite ulcerativa, respectivamente), enquanto que G-I e J-L são imagens histológicas dos grupos exercício aeróbio com suplementação de glutamina a 1 g/kg de p.c (salina e colite ulcerativa). As imagens D ao F evidenciam que o tecido colônico dos animais sofreram grande desarranjo estrutural, além de processo inflamatório evidente. Entretanto, as imagens J-L demonstraram que a suplementação protege o tecido colônico, mas ainda se percebe grande processo inflamatório e diminuição da lâmina própria. Ampliação: 10x, 40x e 100X (esquerda para a direita).

6. DISCUSSÃO

A colite ulcerativa é caracterizada por uma resposta inflamatória desregulada, acompanhada de destruição tecidual. Atualmente os tratamentos para essa patologia promovem frequentemente efeitos colaterais e induzem resistência à terapia. Portanto, estratégias alternativas de tratamento são necessárias (HANAUER, 2006; AXELRAD; LICHTIGER; YAJNIK, 2016).

No presente estudo, demonstramos que a patologia da Colite Ulcerativa induzida por ácido acético a 4%, provoca lesões colônicas extensas por todo o órgão. A colite foi induzida em ratos pela instilação intra-colônica no cólon, um modelo que se assemelha a colite ulcerativa humana e que vem sendo usado de forma extensa pela literatura em diferentes concentrações (NAJAFI et al., 2016; KASIMAY et al., 2006; ÇAKIR et al., 2004; ELSON et al., 1995).

O ácido acético induz danos na mucosa e submucosa com formação de úlcera, alterações inflamatórias no cólon, hiperemia e aumento do peso do cólon (PANDEY; VERMA; KUMAR, 2017; KUMAR et al., 2019). No presente estudo, essas alterações foram observadas acompanhadas de modificações no ganho de peso corporal animal, na taxa de esvaziamento gástrico e no peso de outros órgãos dos animais.

Além disso, outros estudos com a indução de colite ulcerativa através do ácido acético observaram alterações na diminuição do conteúdo de muco, alteração na atividade motora intestinal, mesmo em segmentos além do local da inflamação (AHMAD; VERMA; KUMAR, 2018; MANOUSOS, 1965).

O modelo de inflamação do cólon foi desenvolvido primeiramente por MacPherson e Pfeiffer em 1978, utilizando instilação intra-luminal de ácido acético. A lesão inicial neste modelo foi caracterizada por necrose e edema epitelial significativo que se estendeu de forma variável para a lâmina própria, submucosa ou camadas musculares externas, dependendo das concentrações e do tempo de exposição ao ácido acético.

A colite induzida por ácido acético é um modelo facilmente induzível, e destaca-se por sua similaridade dos sinais clínicos e histopatológicos observados em pacientes com a retocolite ulcerativa, evidenciando que esse protocolo

experimental possui semelhança com a inflamação intestinal humana aguda (MACPHERSON; PFEIFFER, 1978; JURJUS; KHOURY; REIMUND; 2004).

No presente estudo, utilizou-se 1 ml de ácido acético a 4%, os resultados mostraram que a Colite Ulcerativa provoca diminuição significativa no ganho de peso corporal (Δ) em ratos, sendo esse resultado compatível com os estudos em humanos (SILK, 1989). Em estudos clínicos, a grave perda de ganho de peso é justificada por processos fisiopatológicos complexos: dor pós-prandial, diarreia ou anorexia, má absorção e má digestão devido à doença ativa, perda de proteína através do intestino (BASTAKI et al., 2018).

Entretanto o exercício físico preveniu significativamente o efeito da patologia, possivelmente isso esteja relacionado com a modificação da liberação de grelina e leptina (SILK, 1989, TUZUN et al., 2004; BILSKI et al., 2013). Quin et al. (2017) optaram por utilizar treinamento de natação durante 7 semanas (1 h / d ou 1,5 h / d em 5 dias / semana) e observou que o exercício físico alivia a colite induzida por Dextrano Sulfato de Sódio (DSS) em ratos, devido a atenuação do ganho de peso reduzida, encurtamento do cólon, diminuição da profundidade das criptas e diminuição do estresse oxidativo e aumento da defesa antioxidante.

Semelhantemente, o uso da glutamina provocou aumento significativo no ganho de peso animal, dessa forma, a suplementação desse aminoácido reverteu o efeito da colite ulcerativa. Tal efeito, justifica-se pela ação da glutamina em ter fundamental papel na defesa imunológica da barreira da mucosa intestinal, participando da formação de imunoglobulinas, especialmente a IgA (CURI et al, 2005).

Além disso, a ação em conjunta do Ex Aeróbio e Glutamina provocou efeito positivo em relação a perda do ganho de peso provocado pela Colite Ulcerativa, entretanto foi notório que em relação ao peso dos órgãos por 100 g/ de animal, os resultados evidenciaram inflamação generalizada (aumento do peso do coração, tecido epididimal, baço, fígado e rins). Esse resultado pode ser explicado, pelo exercício físico, onde esse provoca alterações no funcionamento de todos os órgãos, aumentando o fluxo sanguíneo, função hepática e renal, por exemplo (TIRAPEGUI, 2008).

É importante ressaltar que a desregulação local da inflamação do cólon proveniente da Colite Ulcerativa também provoca impactos importantes e de longo alcance sobre a tolerância imunológica e hipersensibilidade em tecidos distais,

incluindo articulações, músculos, pulmão e sistema nervoso central (SNC) (BORRELLO et al., 2011; D'JNCA et al., 2011; ROBERTS-THOMSON et al., 2011).

Evidências sugerem que a redução da capacidade anti-oxidante e aumento da inflamação são as principais causas para Colite Ulcerativa (PRAVDA, 2005; SEIDELIN, NIELSEN, 2009). As alterações iniciais resultam em modificação das células da mucosa do cólon, o que torna incapaz de excluir os antígenos bacterianos fecais da submucosa invasora, levando à geração de mediadores inflamatórios pelas células lesadas. Subseqüentemente, isso leva ao recrutamento de leucócitos para o local lesionado, agravando o dano ao cólon. Os leucócitos são estimulados a produzir Espécies Reativas de Oxigênio e citocinas inflamatórias exacerbando a ulceração da mucosa e causando diarreia sanguinolenta (ZHU; LI, 2012; GYIRES et al., 2014).

Os ratos com colite induzida por ácido acético apresentaram destruição maciça epitelial e glandular, infiltração polimorfonuclear, ulceração, inflamação submucosa e espaçamento elevado entre as criptas de Lieberkühn, caracterizando processo inflamatório extenso. Também houve extensa renovação epitelial, provocando aumento de células-imaturas. Yao et al. (2017) afirmam que essas alterações levam ao ressecamento da mucosa colônica, provocando diarreia repetida, muco, sangue e pus nas fezes e dor abdominal, dados esses observados nos animais com a patologia, mas não registrados no trabalho.

Em experimento realizado em humanos observou que pacientes com Colite Ulcerativa em remissão e os pacientes com Colite Ulcerativa aguda possuem quantidades significativamente reduzidas de bactérias benéficas, além de proliferação generalizada de bactérias oportunistas e prejudiciais no intestino, dessa forma, com a alteração da estrutura histológica, o organismo se torna susceptível ao contato com bactérias oportunista (BULLOCK; ESTANDE; GIBSON, 2004; MARDINI; GRIGORIAN, 2014).

A barreira intestinal é composta por uma camada de muco, microorganismos e uma única camada de células epiteliais apoiadas por proteínas de junção comunicantes. Outra barreira intestinal é o sistema imunológico contendo uma variedade de células, como células B, células T, células dendríticas e neutrófilos. A disfunção destas barreiras intestinais resulta na translocação da microbiota intestinal, metabolitos e outros produtos microbianos do lúmen intestinal para a

corrente sanguínea, contribuindo para a progressão da doença (DUPONT et al., 2014; MU et al., 2017; RAINER et al., 2018).

Dessa forma, o rompimento do equilíbrio entre o rearranjo histológico e a flora intestinal, precipita a inflamação intestinal crônica característica das doenças inflamatórias intestinais, como a Colite Ulcerativa (UCHIYAMA; NAITO; TAKAGI, 2019).

Para além da perda de peso, tanto os dados microscópicos como os macroscópicos observados na Colite Ulcerativa induzida pelo ácido acético foram significativamente reduzidas nos grupos com exercício físico, seja anaeróbico ou aeróbico. Da mesma forma, o uso da suplementação de glutamina reverteu os efeitos da CU, provocando diminuição significativa no escore macroscópico, peso do cólon. Entretanto o grupo com uso concomitante do exercício físico e suplementação não obteve efeito na Colite Ulcerativa.

Sabe-se que o exercício físico moderado provoca melhora na função imunológica e anti-inflamatórias e protege contra doenças inflamatórias. Em animais, evidências demonstraram que a corrida em esteira de intensidade moderada era protetora contra a infecção por influenza e alterou o equilíbrio de Linfócitos Th1/Th2 direção à resposta Th2 anti-inflamatória, levando a uma redução pró-inflamação e elevação das citocinas anti-inflamatórias, como a IL -10 e IL-4 (WOODS et al., 2009; VIEIRA et al., 2009).

Nossos achados em relação a suplementação de glutamina, corroboram com Filmann et al. (2007) e Kretzmann et al. (2008) que demonstraram que o tratamento com 25 mg/kg de glutamina diminuiu acentuadamente a gravidade do dano macroscópico e os escores histopatológicos em vários modelos experimentais de Colite ulcerativa.

Tais resultados podem ser justificados pela redução da atividade da mieloperoxidase e da expressão da sintase induzida do óxido nítrico, ciclooxigenase-2 e moléculas de adesão, essa diminuição proporciona mudanças na cascata de ativação do fator nuclear kappa B (FILMAN et al., 2007; CRESPO et al., 20017).

Em relação aos resultados observados no grupo com uso de exercício físico e suplementação. Acredita-se que tanto as células do intestino delgado como do grosso, utilizam a glutamina como fonte de energia, constituindo-se o aminoácido, o maior substrato metabólico para ambos, enterócitos e colonócitos, dessa forma, a

glutamina pode ter sido desviado para uso catabólico (KIGHT; FLEMING, 2003; PLATELL; CAULEY; CULLOCH, HALL, 2009).

Nosso estudo observou que a Colite Ulcerativa provocou um aumento do esvaziamento gástrico comparado a indivíduos saudáveis. Os distúrbios do esvaziamento gástrico em ratos com Colite Ulcerativa experimental foram previamente sugeridos por Hugh et al., (1993) que pesavam o conteúdo gástrico após a administração de dieta hiperlipídica, esses relataram que ratos com colite induzida por ácido 2,4,6-Trinitrobenzenesulfônico (TNBS) sofrem redução da capacidade de esvaziamento gástrico, levando à redução da ingestão de alimentos.

Em experimento realizado por refeição semilíquida contendo o corante azul de evans para medir a motilidade gastrintestinal, observou que ratos com Colite Ulcerativa por indução de TNBS sofriam de esvaziamento gástrico diminuído e um centro geométrico reduzido de trânsito gastrointestinal (SCHEPPER et al., 2007).

Estudos realizados em humanos observaram alterações no EG, nos tempos de trânsito esofágico e do intestino delgado, além disso, a maior atividade da Colite Ulcerativa está relacionada com o retardo do esvaziamento gástrico e elevação da liberação de peptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1), mas o uso de terapia farmacológica eficaz, o EG é acelerado e a liberação de GLP-1 diminui significativamente (AUBE et al., 2002; KELLER et al., 2015; SALES et al., 2019).

Entretanto, foi observado que ambos os tipos de exercício físico provocaram melhora na taxa de esvaziamento gástrico, pois os grupos com Colite Ulcerativa e exercício físico não apresentaram diferença significativa do grupo salina sedentário, dessa forma, o exercício físico melhorou a taxa de esvaziamento gástrico alterada pela colite ulcerativa.

Kasimay et al. (2006) demonstraram que seis semanas de exercício voluntário têm efeitos protetores em um modelo de colite induzida por ácido acético. Cook et al. (2015), aplicou 30 sessões de treinamento de exercício forçado em esteira exacerbaram a inflamação na colite induzida por sulfato de sódio (DSS) de dextrano, manifestada por episódios de diarreias excessivas e aumento da mortalidade animal.

Em experimento realizado durante trinta dias de corrida voluntária em roda de atividade, atenuou a expressão gênica inflamatória no cólon, reduziu a incidência de diarreia e protegeu os camundongos da morbidade induzida pela colite (WLIU et al., 2015). Nossos resultados, evidenciam que tanto o exercício físico aeróbio como anaeróbio foi capaz de provocar modificações nas taxas de esvaziamento gástrico.

Entretanto, Costa et al. (2017) e Cavalcante et al. (2018) afirmam que a intensidade do exercício físico parece ser um critério fundamental na avaliação da taxa de esvaziamento gástrico, onde a maior intensidade causa maior distúrbio na mobilidade gástrica. Onde observa-se que o esvaziamento gástrico é diminuído com exercício em intensidades mais altas e geralmente mais aumentado quando o exercício físico possui duração mais longa (COSTA et al., 2017; CAVALCANTE et al., 2018).

Em estudo realizado por Uchida, Kobayashi, Salito (2017) avaliando o efeito de diferentes aminoácidos no esvaziamento gástrico em ratos observou que histidina, cisteína, metionina, asparagina, arginina, lisina e glutamina significativamente provocaram retardo e inibição do esvaziamento gástrico, onde a glutamina inibiu significativamente o relaxamento adaptativo gástrico.

Em relação ao efeito da glutamina em ratos com colite ulcerativa, esse é o primeiro estudo a propor a observação dos efeitos da suplementação de glutamina no esvaziamento gástrico de ratos com colite ulcerativa induzida por ácido acético.

Comparado a glutamina, o extrato aquoso de *Ficus Carica*, aumentou significativamente os níveis de esvaziamento gástrico, além de reduzir a gravidade da constipação induzida por colite ulcerativa, demonstrado por parâmetros fecais, conteúdo de água, indicadores de estresse oxidativo, metabolismo lipídico e mediadores intracelulares (RTIBI et al., 2018).

Observou-se que a concentração MPO e de malondialdeído, um produto final da peroxidação lipídica, foi significativamente reduzido em grupos tratados com exercício físico. Similarmente, os níveis de SOD foram significativamente aumentados em grupos tratados exercício físico. Sabe-se que a infiltração de neutrófilos, a formação de radicais livres e o aumento do estresse oxidativo estão entre os fatores causais estabelecidos na colite ulcerativa (FARD et al., 2016; BASTAKI et al., 2018).

Dessa forma infere-se que alguns dos efeitos benéficos do exercício físico decorrem da diminuição do estresse oxidativo no tecido colônico inflamado. Alguns ensaios clínicos e experimentais implicaram estresse oxidativo na colite ulcerativa, em que o agravamento da produção EROs e NOs gerado por neutrófilos ativados, causam lesão intestinal (ZHUN, 2012, QUIN et al., 2017).

Acredita-se que o exercício físico provoque a redução de espécies reativas ao oxigênio e nitrogênio, reestabelecendo o nível adequado através de estímulo leve a

expressão de enzimas antioxidantes, que então mantêm a homeostase oxidante / antioxidante (ACHAMRAH; DECHELOTTE; COEXERCÍCIO FÍSICO FIER, 2017).

Colite induzida por TNBS em ratos induzidos ao EXERCÍCIO FÍSICO de corrida em esteira (5 dias / semana) por 6 semanas, provocou o aumento significativo da cicatrização da colite e regulou negativamente a expressão de IL-1 β , TNF- α e o fator 1- α induzido por hipóxia na mucosa do cólon e diminuiu significativamente os níveis plasmáticos de IL-1 β , TNF α , indutor fraco de apoptose tipo TNF (TWEAK) e os níveis de leptina (BILSKI et al., 2015).

A glutamina é precursora essencial do glutatona, o qual em condições de estresse atua como antioxidante, protegendo os tecidos da ação dos radicais livres (ROGGENBUCK et al., 2014). A diminuição da permeabilidade vascular, estaria perfeitamente explicada pela proteção das células endoteliais à injúria causada pelos radicais livres, mantendo a integridade das junções celulares (ZHUN, 2012). Outros estudos, afirma que a ação protetora da glutamina, sobre as células endoteliais, por se constituir em fonte de energia através da geração de ATP (SCHELTINGA et al., 1991).

Nossos estudos evidenciam diminuição do estresse oxidativo, observado pela diminuição significativa da produção NOxs, MDA, MPO e aumento da atividade de enzima antioxidante, SOD. Segundo Crespo et. al., (2012) a suplementação de glutamina, através da sua ação antioxidante, evita as lesões das células endoteliais pelos radicais livres, e também aumenta a resistência das junções intercelulares, o qual por sua vez, evitaria a migração de neutrófilos resultando em menor produção de citocinas e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio.

Tem sido demonstrado que a administração oral da glutamina estimula a sua captação através do incremento da atividade da enzima glutaminase (SAN MIGUEL et al., 2010). O metabolismo acelerado da glutamina na mucosa intestinal no momento da injúria poderia ser benéfico, melhorando a função intestinal durante seu reparo (CRESPO et al., 2012).

No modelo TNBS de doença inflamatória intestinal em ratos, foi demonstrado que a administração profilática de glutamina está associada à diminuição das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e ao aumento dos níveis de glutatona na mucosa do cólon. Um mecanismo pelo qual a glutamina parece exercer seus efeitos benéficos parece estar correlacionado com a biossíntese da glutatona, uma vez que é o precursor do glutamato usado para a síntese da

glutathione. O presente achado de que a glutamina previne aumentos na concentração de TBARS após 2 e 7 dias de indução, sustenta que a inibição do estresse oxidativo contribui para a atenuação do dano colônico pela glutamina (SAN MIGUEL et al., 2010).

Contudo, observa-se que o exercício físico previne os efeitos da colite ulcerativa em ratos, melhorando o estresse oxidativo, ou seja, promovendo diminuição da formação de radicais livres e aumentando a atividade de enzimas antioxidantes como a SOD, além disso, promove a diminuição do processo inflamatório e proporciona proteção a arquitetura histológica. Enquanto que a suplementação de glutamina 1 g/kg de p.c não foi capaz de proteger a arquitetura tecidual, mas promoveu melhora no processo inflamatório e estresse oxidativo.

O uso concomitante do exercício físico e suplementação de glutamina não proporcionou proteção em ratos com colite ulcerativa. Entretanto são necessários novos estudos afim de avaliar novas alternativas para a prevenção e tratamento nos distúrbios gastrintestinais associados à colite ulcerativa.

7. CONCLUSÃO

- O exercício físico e a suplementação de glutamina foram capazes de diminuir o peso corporal, peso do cólon e escore de lesão colônica macroscópica em ratos com Colite Ulcerativa, entretanto o uso concomitante de ambos não obteve efeito satisfatório.
- A Colite Ulcerativa provocou aumento do esvaziamento gástrico, enquanto que o exercício físico e a suplementação e seu uso concomitante tiveram efeito inibitório em relação as alterações provocadas pela patologia.
- A Colite Ulcerativa provocou aumento dos níveis dos marcadores do estresse oxidativo: NOxs, MDA, MPO e a diminuição da atividade de SOD, além disso, ambos os exercícios físicos preveniram a ação da Colite Ulcerativa nos tecidos colônicos. A suplementação também foi preventiva nas alterações dos níveis dos marcadores do estresse oxidativo.
- A indução da Colite Ulcerativa com ácido acético provocou processo inflamatório tecidual com aumento dos níveis de IL-1 β e IL-6 e TNF- α . Ambos os exercícios físicos, suplementação de glutamina e o uso concomitante dos mesmos provocaram diminuição significativa nos níveis de citocinas teciduais.
- A Colite Ulcerativa provocou alterações fisiopatológicas avaliadas pelos danos hemorrágicos, edema, descamação epitelial e processo inflamatório: aumento de neutrófilos e células mononucleares. Entretanto ambos os exercícios físicos protegeram a estrutura histológica do tecido, enquanto que o uso da suplementação de glutamina e uso concomitante da glutamina e exercício físico não foram capazes de reverter o processo inflamatório da Colite Ulcerativa.
- Conclui-se desta forma, que ambos os exercícios físicos foram capazes de prevenir os efeitos da colite ulcerativa, enquanto que a suplementação de glutamina e o uso aliado da glutamina e exercício físico não obtiveram resultados satisfatórios, entretanto são necessários mais estudos acerca da temática.

REFERÊNCIAS

- ABCD – ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE COLITE ULCERATIVA E DOENÇA DE CROHN. JORNADA DO PACIENTE COM DOENÇA INFLAMATÓRIA INTÉSTINAL: Estudo quantitativo e qualitativo sobre a vida do paciente com DII no Brasil. **Diário Oficial da República do Brasil**. Portaria SAS/MS n. 861 de 04 de novembro de 2017.
- ACHAMRAH, N; DÉCHELOTTE, P; COËFFIER, M. Glutamine and the regulation of intestinal permeability: from bench to bedside. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. v. 20, n. 1, p 86-91, 2017.
- ADAMS, S. M; BORNEMANN, P. H. Ulcerative Colitis. **Am Fam Physician**, v. 15, n. 10, p. 699-705, 2013.
- AGOSTINI, F; BIOLO, G. Effect of physical activity on glutamine metabolism. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic care**.v.13, p.58-64, 2010.
- AGUIAR, A. F; AGATI, L. B.; MULLEER, S. S.; PEREIRA, O. C; DAL-PAI-SILVA, M. Effects of physical training on the mechanical resistance of rat femur proximal thirds. **Acta Ortop Bras**. v. 18, n. 5, p. 245-9, 2010.
- AHMAD, H; VERMA, S; KUMAR, V. L. Effect of roxithromycin on mucosal damage, oxidative stress and pro-inflammatory markers in experimental model of colitis. **Inflamm Res**. V.67, n. 2, p. 147-155, 2018.
- ARDAWI, M.S.M. Glutamine-synthesizing activity in lungs of fed, starved, acidotic, diabetic, injured and septic rats. **Biochemistry Journal**. v.270, p.829-32, 1990.
- ARAÚJO, G. L. S; TELLES, A. M. S; LIMA, F. E. A; FILHO, N. T. P; MACHADO, M. C. F. P. Histological and histochemical analysis of prognostic factors in patients with ulcerative colitis. **Rev bras. colo-proctol**. v. 29, n.1, p. 1-8, 2009.
- AXELRAD, J. E; LICHTIGER, S; YAJNIK, V. Inflammatory bowel disease and cancer: The role of inflammation, immunosuppression, and cancer treatment. **World J Gastroenterol**. v.22, n. 20, p. 4794- 4801. doi: 10.3748/wjg.v22.i20.4794, 2016.
- BARBOSA, D. A; ESPINOSA, M. M; BELASCO, A. G. S; SOUZA, M. M. Qualidade de vida de pacientes portadores de doença inflamatória intestinal. **Acta Paul Enferm**. v. 24, n. 4, p.479-84. 2010.
- BARRETT, M. S; CHUA, W.-J; CRITS-CHRISTOPH, P; GIBBONS, M. B; THOMPSON, D. Early withdrawal from mental health treatment: Implications for psychotherapy practice. **Psychotherapy: Theory, Research, Practice, Training**. v. 45, n. 2, p. 247-267, 2008.

BASTAKI, S. M. A; ERNEST, A; NAHEED, A; SHREESH, O; MURAT, O. Menthol inhibits oxidative stress and inflammation in acetic acid-induced colitis in rat colonic mucosa. **Am J Transl Res**. V. 10, n. 12, p. 4210–4222, 2018.

BATTEZZATI, A ;*et al.* Splanchnic utilization of enteral alanine in humans. **Metabolism: Clinical and Experimental**. v. 48, p. 915-21, 1999.

BAUMGART, D. C; CARDING, S. R. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. **Lancet**. v. 369, p. 1627-1640, 2007.

BEALES, I. L; CALAM, J. Regulation of amylin release from cultured rabbit gastric fundic mucosal cells. **BMC Physiol**. v. 3, p.13, 2003.

BELL, C. J.; GALL, D.G.; WALLACE, J. L. Disruption of colonic electrolyte transport in experimental colitis. **Am J Physiol**, v. 268, p. 622–630, 1995.

BELOTTO, M. F. Efeito do exercício físico sobre o estado inflamatório de diabéticos. **Revista digital EFDeportes**. v. 16, n. 159, 2011.

BENJAMIN J, MAKHARIA G, AHUJA V, ANAND RAJAN KD, KALAIVANI M, GUPTA SD, et al. Glutamine and whey protein improve intestinal permeability and morphology in patients with Crohn's disease: a randomized controlled trial. **DigDisSci**. N. 57, v. 4, p. 1000-12, 2012.

BERTRAND, J; GHOUZALI, I; GUÉRIN, C; BÔLE-FEYSOT, C; GOUTEUX, M; DÉCHELOTTE, P; DUCROTTÉ, P; COEFFIER, M. Glutamine Restores Tight Junction Protein Claudin-1 Expression in Colonic Mucosa of Patients With Diarrhea-Predominant Irritable Bowel Syndrome. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**. v. 40, n. 8, p. 1170-1176, 2016.

BEUTHEU, S; OUELAA, W; GUÉRIN, C; BELMONTE, L; AZIZ, M; TENNOUNE, N; BÔLE-FEYSOT, C; GALAS, L; DÉCHELOTTE, P; COEFFIER, M. Glutamine supplementation, but not combined glutamine and arginine supplementation, improves gut barrier function during chemotherapy-induced intestinal mucositis in rats. **Clin Nutr**. v. 33, n. 4, p. 694-701. doi: 10.1016/j.clnu.2013.09.003. 2014.

BILSKI, J; MANKO, G; BRZOSOWSKI, T; POKORSKI, J; NITECKI, J; NITECKA, E. Effects of exercise of different intensity on gut peptides, energy intake and appetite in young males. **Ann Agric Environ Med** . v. 20, n. 4, p. 787-793, 2013.

BORGES, M. R. D; MOREIRA, A. K. Influência da prática de atividades Físicas na terceira idade: estudo comparativo dos níveis de autonomia para o desempenho nas AVDs e AIVDs entre idosos ativos fisicamente e idosos sedentários. **Motriz**, Rio Claro, v.15 n.3 p.562-573, 2009.

BORN, D; ZINNER, C; SPERLICH, B. The Mucosal Immune Function Is Not Compromised during a Period of High-Intensity Interval Training. Is It Time to Reconsider an Old Assumption?. **Front Physiol**. V. 8, n. 485. Doi: 10.3389/fphys.2017.00485, 2017.

BOYER, K; WUERTH, A; AL-SOUD, W. A; RABAH, R. Detection of helicobacter ganmani-like 16S rDNA in pediatric liver tissue. **Helicobacter**. v. 9, p 460- 468, 2005.

BRADLEY, P. P; CHRISTENSEN, R. D; ROTHSTEIN, G. Cellular and extracelular myeloperoxidase in pyogenic inflammation. **Blood** v. 60, n.3, p. 618-622, 1982.
BRASIL. Protocolos Clínicose Diretrizes Terapêuticas – Medicamentos Excepcionais.

Retocolite Ulcerativa. **Diário Oficial da República do Brasil**. Portaria SAS/MS n. 861 de 04 de novembro de 2010.

BRENNAN, L *et al.* A nuclear magnetic resonance-based demonstration of substantial oxidative L-alanine metabolism and L-alanine-enhanced glucose metabolism in a clonal pancreatic beta-cell line: metabolism of L-alanine is important to the regulation of insulin secretion. **Diabetes**. v.51, p.1714-21, 2002.

Briza, W. S. *et al.* "The benefits of physical exercise in patients with inflammatory bowel diseases/Os benefícios do exercício físico em pacientes com doenças intestinais inflamatórias." **Revista Brasileira de Nutrição Esportiva**, v. 4, n. 20, 2010.

BRUM, PatriciaChakur *et al.* Adaptações agudas e crônicas do exercício físico no sistema cardiovascular. **Revista Paulista de Educação Física**, Sao Paulo, v. 18, p.21-31, ago. 2004.

BURKS, T.F. *et al.* Regulation of gastric emptying. **Fed Proc**. v.44, nº.14, p.2897-901, 1985.

CALABRESI, Marcos Felipe de Freitas. **Avaliação da atividade de contração e esvaziamento gástrico em ratos gastrectomizados por biosusceptometria** **AC**.2013. 46 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Programa de Pós - Graduação em Biologia Geral e Aplicada, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

CARACCILO, M. Queima Calorias. **Revista Saúde & Lar**. Nº773 – Março de 2012. Publicadora Servir. Sabugo.

CHAPARRO, M.; GISBERT, J.; P. Retos en el tratamiento de la colitis ulcerosa: innovación y futuro - Papel de los fármacos tiopurínicos en la colitis ulcerosa. **Gastroenterología y Hepatología**. v. 34 (Supl 3), p.30-35, 2011.

CHEN, Q. H; YANG, Y; HE, H.L; XIE, J. F; CAI, S.X; LIU, A. R;*et al.* The effect of glutamine therapy on outcomes in critically ill patients: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Crit Care**. n. 18, p. 2-13, 2014.

CHIASSON, J.L *et al.* Gluconeogenesis from alanine in normal postabsorptiveman.Intrahepatic stimulatory effect of glucagon.**Diabetes**.v.24, p.574-84, 1975.

COLLARES-BUZATO, C.B.; COLLARES, E.F.; FERNANDES, G.A. Effect of paraventricular nucleus lesion and cold restraint stress on gastric emptying of a liquid meal in rats. **Braz J Med Biol Res.** v.26.nº9, p.1009-14, 1993.

CONRAD, K.; ROGGENBUCK, D.; LAASS, M. W. Diagnosis and classification of ulcerative colitis. **Autoimmunity Reviews**, v. 13, n. 4-5, p. 463–466, 2014.

CRESPO, I; SAN-MIGUEL, B; PRAUSE, C; MARRONI, N; CUEVAS, M. J; GONZÁLES-GALLEGO, J; TUÑÓN, M. J. Glutamine Treatment Attenuates Endoplasmic Reticulum Stress and Apoptosis in TNBS-Induced Colitis. **PLoS One.** v. 7, n. 11, p 312-322, 2012.

CRUZAT, V.; ROGERO, M.; TIRAPEGUI, J. Effects of supplementation with free glutamine and the dipeptide alanyl-glutamine on parameters of muscle damage and inflammation in rats submitted to prolonged exercise. São Paulo, **Cell Biochem Funct.** n. 28, p. 24-30, 2010.

CRUZAT, V. **Efeito da suplementação com L-glutamina e L-alanil-L-glutamina sobre parâmetros de lesão muscular e de inflamação em ratos treinados e submetidos a exercício intenso de natação.**2008. 151 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Nutrição, Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

CRUZAT, V.; PETRY, E.; TIRAPEGUI, J. Glutamina: Aspectos Bioquímicos, Metabólicos, Moleculares e Suplementação. **Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte**, Sao Paulo, v. 15, n. 5, p.392-397, set 2009.

CUCINO, C.; SONNENBERG A. Occupational Mortality From Inflammatory Bowel Disease in the United States 1991–1996. **The American Journal of Gastroenterology.** v. 96. N. 4. p. 1101-1105, 2001.

CUNHA, F. Q; BOUKILI, M. A; MOTTA, J.I; VARGAFTIG, B. B; FERREIRA, S. H. Blockade by fenspiride of endotoxin-induced neutrophil migration in the rat. **Eur. J. Pharmacol.** V 238, n. 1, p. 47-52, 1993.

CUNHA, V. N. C; CUNHA, R. R.; SEGUNDO, P. R; MOREIRA, S. R.; SIMÕES, H. G. Swimming training at anaerobic threshold intensity improves the functional fitness of older rats. **Ver Bras Med Esporte.** V. 14, n. 6, 2008.

CURI, R. Glutamina: metabolismo e aplicações clínicas e no esporte. **Sprint**, Rio de Janeiro, 261 f, 2005.

ÇAKIR, B; BOZKURT, A; ERKAN, F; YEGEN, B. C. The anti-inflammatory effect of leptin on experimental colitis: involvement of endogenous glucocorticoids. **Peptides.** V. 25, n. 1, p. 95-104. doi: 10.1016 / j.peptides.2003.11.005, 2004.

DAMIÃO, A.O.M.C.; VASCONCELOS, M.I.L. Doença Inflamatória Intestinal. **Nutrição em Pauta.** v.9, n.51, p.25-28, 2001.

ELSENBRUCH, S.; LANGHORST J.; POPKIROWA K.; MÜLLER T.; LUEDTKE R.; FRANKEN U.; PAUL A.; SPAHN G.; MICHALSEN A.; JANSSEN O.E.; SCHEDLOWSKI M.; DOBOS G.J. Effects of mindbody therapy on quality of life and neuroendocrine and cellular immune functions in patients with ulcerative colitis. **Psychotherapy and psychosomatics**. V. 74, n 5, p. 277-287, 2005.

ELSON, C. O; SARTOR, R. B; TENNYSON, G. S; *et al.* Experimental models of inflammatory bowel disease. **Gastroenterology**, v. 109, p. 1344–67, 1995.

ERIKSSON, L. S.; *et al.* Ammonia metabolism during exercise in man. **Clinical Physiology**.v.5, p.325-36, 1985.

EL-GOWELLI, H. M; SAAD, E. I; ABDEL-GALIL, A. G; IBRAHIM, E. R. Co-administration of α -lipoic acid and cyclosporine aggravates colon ulceration of acetic acid-induced ulcerative colitis via facilitation of NO/COX-2/miR-210 cascade. **Toxicol Appl Pharmacol**. V. 288, n. 3, p. 300-12. doi: 10.1016/j.taap.2015.08.002, 2015.

FERREIRA, S. R; CESARINI, P. R; VIVOLO, M. A; ZANELLA, M. T. Abnormal nocturnal blood pressure fall in normotensive adolescents with insulin-dependent diabetes is ameliorated following glycemic improvement. **Braz J Med Biol Res**. V. 31, p. 523-528, 2010.

FIOCCHI, C. Intestinal Inflammation: a complex interplay of immune-non-immune cell interactions. **Am J Physiol**. V. 273, p. 769-75, 1997.

FUJINO, K.; *et al.* Ghrelin induces fasted motor activity of the gastrointestinal tract in conscious fed rats. **J Physiol**. v.550, p.227-40, 2003.

GHOSH, S; SHAND, A; FERGUSON, A. Ulcerative colitis. **BMJ**. V. 320, p.1119-23, 2000.

GOLDSTEIN, L; NEWSHOLME, E.A.The formation of alanine from amino acids in diaphragm muscle of the rat.**Biochemical Journal**.v.154, p. 555-8, 1976.

GOMES, E. C.; SILVA, A. N.; OLIVEIRA, M. R. Oxidants, Antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 12, 2012.

GRANGER, D. N.; HOLM, L.; KVIETYS, P. The gastrointestinal circulation: physiology and pathophysiology. **Comprehensive Physiology**, Arabia Saudi, v. 5, p.1541-1583, jul. 2015.

GREEN, L. C; WAGNER, D. A; GLOGOWSKI, J. Analysis of nitrate, nitrite and (15N) nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**. V. 126, p. 131-138, 1982.

HALL, G.V.; WAGENMAKERS, A. J. M. Effect of carbohydrate supplementation on plasma glutamine during prolonged exercise and recovery. **Int J Sports Med**. v.19, p.82-6, 1998.

HANAUER, S. B. Inflammatory bowel disease: epidemiology, pathogenesis, and therapeutic opportunities. **Inflammatory Bowel Diseases**. 12 Suppl, p. 1:S3-9, 2006.

HISCOCK, N.; PEDERSEN, B.K. Exercise-induced immunodepression - plasma glutamine is not the link. **Journal Appl Physiology**.v.93, p.813-22, 2002.

HOU, J. K; ABRAHAM, B; EL-SERAG, H. Dietary intake and risk of developing inflammatory bowel disease: a systematic review of the literature. **Am J Gastroenterol**. v. 106, n. 4, p 563-73, 2011.

HUANG, A. M; JEN, C. J; CHEN, H. F; YU, L.; KUO, Y. M; CHEN, H. I. Compulsive exercise acutely upregulates rat hippocampal brain-derived neurotrophic factor. **J Neural Transm**. V. 113, p. 803-811, 2006.

HYDREN J. R., COHEN B. S. Current scientific evidence for a polarized cardiovascular endurance training model. **J. Strength Cond. Res**. V. 29, p. 3523–3530, 2015.

IWASAKI, A; MEDZHITOV, R. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. **Nat Immunol**. v. 5, p. 987-95, 2004.

KAWADA, M.; ARIHIRO, A.; MIZOGUCHI, E. Insights from advances in research of chemically induced experimental models of human inflammatory bowel disease.**World J Gastroenterol**.V.13, nº 42, p. 5581-5593, 2007.

KAZIMAY, O. et al. Colitis-induced oxidative damage of the colon and skeletal muscle is ameliorated by regular exercise in rats: the anxiolytic role of exercise. **Experimental Physiology**, Turquia, v. 91, n. 5, p.897-906, 2006.

KLEINUBING-JÚNIOR, H; PINHO, M. S. L; FERREIRA, L. C; BACHTOLD, G. A; MERKI, A. Perfil dos pacientes ambulatoriais com doenças inflamatórias intestinais. **Arq Bras Cir Dig**. V. 24, n. 3, p. 200-203, 2011..

KIELY, A *et al*. Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage.**Exercise Immunology Review**. v.20, p.39-54, 2007.

KIM, H. Glutamine as an Immunonutrient. **Yonsei Med J**. v. 52, p. 892–897. Doi: 10.3349/ymj.2011.52.6.892. 2011.

KIM. M. H; KIM, H. Y. The roles of glutamine in the intestine and its implication in intestinal diseases. **International Journal of Molecular Sciences**. v. 18, n. 5, p 1051. <https://doi.org/10.3390/ijms18051051>, 2017.

KORACH-ANDRE, M *et al*. Differential metabolic fate of the carbon skeleton and amino-N of [13C] alanine and [15C]alanine ingested during prolonged exercise. **Journal Applied Physiology**. v.93, p.499-504, 2002.

- KUMAR , K. P. M; NACHIAMMAI, N; MADHUSHANKARI, G. S. Association of oral manifestations in ulcerative colitis: A pilot study. **J Oral Maxillofac Pathol.** V. 22, n. 2, p. 199-203. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_223_16, 2019.
- JURJUS A.R., KHOURY N.N., REIMUND J.M., Animal models of inflammatory bowel disease, *J. Pharmacol. Toxicol. Method.* v. 50, p.81–92, 2004.
- LABOW, B.I.; SOUBA, W.W.; ABCOUWER, S.F. Mechanisms governing the expression of the enzymes of glutamine metabolism – glutaminase and glutamine synthetase. **Journal Nutrition.**v.131, p.2467S-74S, 2001.
- LAINE, L; WEINSTEIN, W. M. Histology of alcoholic hemorrhagic —gastritisII: A prospective evaluation. **Gastroenterology.** V. 96, n. 6, p. 1254-1262, 1988.
- LIMA, A. P.; CARDOSO, F. B. A importância do exercício físico voltado para indivíduos que apresentam distúrbios de sono. **Revista Brasileira de Prescrição e Fisiologia do Exercício**, Sao Paulo, v. 6, n. 35, p.478-485, Set/Out., 2012.
- LIRA, C; JÚNIOR, C. C; GOMES, P; TENÓRIO, T; PRADO, M; FERREIRA, M. et al. Efeitos de diferentes intensidades de treinamento aeróbio sobre a lipemia de adolescentes obesos. **Rev Bras Ativ Fis Saúde.** V. 18,n. 6, p. 761-70, 2013.
- MACPHERSON, B. R; PFEIFFER, C. J. Experimental Production of Diffuse Colitis in Rats. *Digestion* 1978. V. 17, n. 2, p. 35–150. doi: 10.1159 / 000198104, 1978.
- MANOUSOS, O. N, et al. Abnormal motility of the small intestine in ulcerative colitis. **Gastroenterologia.** 1965.
- MARD, S. A; AHMADI, I; AHANGARPOUR, A; GHARIB-NASERI, M. K; BADAVIDI, M. Delayedgastricemptying in diabetic rats caused by decreased expression. Of CY stathioninegamm alyase and H2 S synthesis: in vitro and in vivo studies. **Neurogastroenterolmotil.**V.28, n.11, p.1677-1689. 2016.
- MATSUMOTO, M; INOUE, R; TSUKAHARA, T; USHIDA, K; CHIJI, H; MATSUBARA, N; HARA, H. Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-butyrate concentration in the rat cecum. **Biosci Biotechnol Biochem.** V. 72, n. 2, p 572-6, 2008.
- MIHARA, M; UCHIYAMA, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. **Anal. Biochem.** V.86, n. 1, p. 271–278, 1978.
- NAJAFI, A; SEQUEIRA, V.; KUSTER, D. W; VAN DER VELDEN, J. β -adrenergic receptor signalling and its functional consequences in the diseased heart. **Eur J Clin Invest.** V. 46, n. 4, p. 362-74, 2016.
- NATALIE, A. M; ING, S. S; DOREEN, M. R; et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. **Gastroenterol.** v. 142, p. 46-54, 2012.

NEWSHOLME, P *et al* (a). Glutamine and glutamate – their central role in cell metabolism and function. **Cell Biochemistry and Function**.v.21, p.1-9, 2003.

NEWSHOLME, P *et al* (b). Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**.v.36, p.153-63, 2003.

NG SC, AREBI N, KAMM MA. Medium-term results of oral tacrolimus treatment in refractory inflammatory bowel disease. **Inflamm Bowel Dis**. V. 13, p. 129–34, 2007.

NIU, J; MIAO, J; TANG, Y; NAN, Q, LIU, Y; YANG; G; DONG, X; HUANG, Q; XIA, S; WANG, K; MIAO, Y. Identification of Environmental Factors Associated with Inflammatory Bowel Disease in a Southwestern Highland Region of China: A Nested Case-Control. **Plos One**, v. 11, n. 4, p. 27-39, 2016.

NUNEZ, Wilson Ranu Ramirez *et al*. Mecanismos Neurais e Retardo do Esvaziamento Gástrico de Líquido Induzido no Infarto Agudo do Miocárdio em Ratos. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, Campinas, Sao Paulo, p.0-0, 2014.

OETTLÉ, G. J. Effect of moderate exercise on bowel habit. **Gut**. V. 32, n. 8, p 941-4, 1991.

OLIVEIRA, R.J. Saúde e atividade física. Rio de Janeiro: **Shape**, 2005.

PANDEY, A; VERMA, S; KUMAR, V. L. Metformin maintains mucosal integrity in experimental model of colitis by inhibiting oxidative stress and pro-inflammatory signaling. **Biomed Pharmacother**. V. 94, p. 1121-1128, doi: 10.1016/j.biopha.2017.08.020, 2017.

PARRY-BILLINGS M *et al*. Skeletal muscle glutamine metabolism during sepsis in the rat.**Int J Biochem**.v.21, p.419-23, 1989.

PEDERSEN, B. K; HOFFMAN-GOETZ, L. Exercise and the immune system: regulation, integration, and adaptation. **Physiol Rev**. v. 80, n. 3, 1055-81, 2000.

PETERS, H.P; DE VRIES, W. R; VANBERGE-HENEGOUWEN, G. P; AKKERMANS, L. M. Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. **Gut**. V. 48, n. 3, 435-9, 2001.

PETRY, E. R; CRUZAT, V. F; HECK, T. G; LEITE, J. S. M; BITTENCOURT JR, P. I. H; TIRAPGUI, J. Alanyl-glutamine and glutamine plus alanine supplements improve skeletal redox status in trained rats: involvement of heat shock protein pathways. **Life Sci**, v. 94, n. 2, p. 130-36, 2014.

PINEL C *et al*. Alterations in glutamine synthetase activity in rat skeletal muscle are associated with advanced age.**Nutrition**.v.22, p.778-85, 2006.

POLI, E.; LAZZARETTI, M.; GRANDI D.; CORUZZI, G. Morphological and functional alterations of the myenteric plexus in rats with TNBS - Induced Colitis. **Neurochemical Research**. v.26, nº 8-9.P.1085-1093, 2001.

PONTELL, L. et al. Structural changes in the epithelium of the small intestine and immune cell infiltration of enteric ganglia following acute mucosal damage and local inflammation. **Virchows Arch**.v. 454.P. 1-11, 2009.

QUILICI, F.A.; MISZPUTEN, S. J; et al. Guia Prático Doença Inflamatória Intestinal. 1ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2010.

RAFACHO, A; GIOZZET, V. A; BOSCHERO, A. C; BOSQUEIRO, J. R. Functional alterations in endocrine pancreas of rats with different degrees of dexamethasone-induced insulin resistance. **Pancreas**. V. 36, n. 3, p. 284-93. doi: 10.1097/MPA.0b013e31815ba826, 2008.

RENNIE, M. J et al. Interaction between glutamine availability and metabolism of glycogen, tricarboxylic acid cycle intermediates and glutathione. **Journal Nutrition**.v.131, p.2488-90, 2001.

ROGERO, M.M; TIRAPEGUI, J. O; PEDROSA, R. G; PIRES, I. S. O; CASTRO, I. A. Plasma and tissue glutamine response to acute and chronic supplementation with L-glutamine and L-alanyl-L-glutamine in rats. **Nutr Res**. N. 24, p. 261–270., 2014.

ROGERO, M. M; TIRAPEGUI, J. O; PEDROSA, R. G; CASTRO, I. A; PIRES, I. S. O. Effect of L-alanyl-L-glutamine supplementation on the plasma and tissue concentrations of glutamine in rats submitted to exhaustive exercise. **Nutrition** 2006; 22: 564–567.

ROGGENBUCK C, LAMMERT F, BERTHOLD H, GIESE T, STALLMACH A, STEHLE P, et al. High-dose oral supplementation of antioxidants and glutamine improves the antioxidant status in patients with Crohn's disease: A pilot study. **e-SPEN Eur J Clin. NutrMetab**.N.3, v.1, p. 246-53, 2014.

ROSA, J. R; SILVA JÚNIOR, J. F; ROSA, M. I. Perfil epidemiológico de portadores de doença inflamatória intestinal. **Arquivos Catarinenses de Medicina**. V 43, n.2, p 53-58, 2014.

QUIN L, YAO Z, CHANG Q, ZHAO Y, LIU N, ZHU X, LIU Q, WANG L, YANG A, GAO C, LI J. Swimming attenuates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced chronic colitis. **Oncotarget**, v 8, n. 5, p. 7391-7404. doi: 10.18632 / oncotarget.14080, 2017.

SANTOS, Armênio Aguiar, et al. Evaluation of gastrointestinal motility in awake rats: a learning exercise for undergraduate biomedical students. **Adv Physiol Educ**. V. 33, p 343–348, 2009.

SALVUCCI, M.; NEUFELD, Z.; NEWSHOLME, P. Mathematical model of metabolism and electrophysiology of amino acid and glucose stimulated insulin secretion: in vitro validation using a beta-cell line. **Plos One**.v.8, 2013.

SANTOS, R.V. T.; CAPERUTO, E.C.; COSTA ROSA, L.F.B.P. Effects of acute exhaustive physical exercise upon glutamine metabolism of lymphocytes from trained rats. **Life Science**.v.80, p.573-8, 2017.

SCHIRRA, J. *et al.* Endogenous glucagon-like peptide 1 controls endocrine pancreatic secretion and antro-pyloro-duodenal motility in humans. **Gut**. v.55, n. 2, p.243-51, 2006.

SHARKEY, K. A; KROESE, A.B.A. Consequences of Intestinal Inflammation on the Enteric Nervous System: Neuronal Activation Induced by Inflammatory Mediators. **Anat Rec**. V. 262, p. 79-90, 2001.

SILK, D. B; PAYNE-JAMES, J. Inflammatory bowel disease: nutritional implications and treatment. **Proc Nutr Soc**. V.48, n. 3, p. 355–361, 1989.

SILVA, BC; LYRA, A. C; MENDES, C. M. C; RIBEIRO, C. P. O; LISBOA, S. R. O; SOUZA, M. T. L; PORTELA, R. C; SANTAN, G. O. The Demographic and Clinical Characteristics of Ulcerative Colitis in a Northeast Brazilian Population. **Biomed Res Int**. v. 2015, 2015.

SOUZA, A. C; MAGALHÃES, L. C; TEIXEIRA-SALMELA, L. F. Adaptação transcultural e análise das propriedades psicométricas da versão brasileira do perfil de atividade humana. **Cad Saúde Pública**. V. 22, n.12, p. 2623-36, 2011.

SUKHOTNIK, I. *et al.* Glutamine attenuates the inhibitory effect of methotrexate on TLR signalin during intestinal chemotherapy-induced mucositis in a rat. **Nutrition and Metabolism**, v.11,p. 17, 2014.

SZALAI, M.; LÉVAY, B.; SZIRMAI, A. L; PAPP, I. A clinical study to assess the efficacy of belly dancing as a tool for rehabilitation in female patients with malignancies. **European Journal of Oncology Nursing**. V. 19, N. 1, 2014.

TALLEY, N. J; ABREU, M. T; ACHKAR, J. P; BERNSTEIN, C. N; DUBINSKY, M. C; HANAUER, S. B; KANE, S. V; SANDBORN W. J; ULLMAN, T. A; MOAYYEDI, P. An evidence-based systematic review on medical therapies for inflammatory bowel disease. **Am J Gastroenterol**. V. 106, doi: 10.1038/ajg.2011.58, 2011.

TAMBASCIA, Marcos Antonio; MALERBI, Domingos Augusto Cherino; ELIASCHEWITZ, Freddy Goldberg. Influência do esvaziamento gástrico sobre o controle da glicemia pós-prandial: fisiologia e implicações terapêuticas. **Einstein**, Campinas, Sao Paulo, v. 12, n. 2, p.251-253, 2014.

TEIXEIRA-LEMOS, E; NUNES, S; TEIXEIRA, F; REIS, F. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. **Cardiovasc Diabetol**. V.28, n. 10. doi: 10.1186/1475-2840-10-12. 2011.

TIRAPEGUI, J. Effect of alanyl-glutamine supplementation on plasma and tissue glutamine concentrations in rats submitted to exhaustive exercise. **Nutrition**, v.22, n.5, p.564-571, 2008.

TURKAY, C.; KASAPOGLU, B. Noninvasive methods in evaluation of inflammatory bowel disease: where do we stand now? An update. **Clinics**, v. 65, n. 2, p 221-31, 2010.

TUZUN, A; UYGUN, A; YESILOVA, Z; OZEL, A. M; ERDIL, A; YAMAN, H; BAGCI, S; GULSEN, M; KARAEREN, N; DAGALP, K. Leptin levels in the acute stage of ulcerative colitis. **J Gastroenterol Hepatol**. v. 19 ,n.4, p. 429-432, 2004.

VAN DE POLL, M.C.G *et al*. Renal metabolism of amino acids: its role in interorgan amino acid exchange. **Am J ClinNutr**.v.79, p.185-97, 2004.

VINIK A.; NAKAVE A.; CHUECOS Mdel P. A break in the brake mechanism in diabetes: a cause of postprandial hyperglycemia. **Diabetes Care**.v. 31, n. 12, p.2410-3, 2008.

VICTORIA, C. R; SASSAKI, L. Y; NUNES, H.R. C. Incidência e prevalência das doenças inflamatórias intestinais na região centro-oeste do Estado de São Paulo. **Arq Gastroenterol**. V. 46, n. 1, p. 20-25, 2009.

VON BOYEN, G.; STEINKAMP, M.T. The role of enteric glia in gut inflammation. **Neuron Glia Biol**. V.21, n. 3, p.1-6, 2011.

WAGENMARKERS, A. J; BECKERS, E. J; BROUNS, F; KIUPERS, H; SOETERS, P. B; VAN DER VUSSE, G. J; SARIS, W. H. Carbohydrate supplementation, glycogen depletion, and amino acid metabolism during exercise. **American Journal Physiology**. v.260, p. 83-90, 1991.

WANG, Y; ANTONOPOULOS, D. A; ZHU, X; HARRELL, L; HANAN, I; ALVERDY, J. C.; MEYER, F; MUSCH, M. W; YOUNG, V. N; CHANG, E. B. Laser capture microdissection and metagenomic analysis of intact mucosa-associated microbial communities of human colon. **Appl Microbiol Biotechnol**. V. 88, n. 6, p. 1333-42, 2014.

WILLIAMS, B.D; CHINKENS, D.L; WOLFE, R.R. Alanine and glutamine kinetics at rest and during exercise in humans.**Medicine Science Sports Exercise**. v.30, p.1053-8, 1998.

WOOD J.D., ALPERS D.H., ANDREWS P.L. Fundamentals of neurogastroenterology .**Gut**.v.45Suppl 2, p. II6-II16, 1999.

YOUNG, A. Inhibition of gastric emptying.**AdvPharmacol**.v.52, p.99-121, 2005.

YAO Z, CHANG Q, ZHAO Y, LIU N, ZHU X, LIU Q, WANG L, YANG A, GAO C, LI J. Swimming attenuates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in a rat model of dextran sulfate sodium-induced chronic colitis. **Oncotarget** 2017; 8(5): 7391-7404. doi: 10.18632 / oncotarget.14080.

ZANESCO, M.C.; SOUZA, R.R. Morphoquantitative study of the submucous plexus (of Meissner) of the jejunum-ileum of young and old guinea pigs.**ArquNeuropsiquiatr**. V. 69, nº1, p. 85-90, 2011.

ZHANG, X; LU, H; WANG, Y; LIU, C; ZHU, W; ZHENG, S; WAN, F. Taurine Induces the Apoptosis of Breast Cancer Cells by Regulating Apoptosis-Related Proteins of Mitochondria. **Int J Mol Med**. v. 35, p. 218-226. Doi: 10.3892/IJMM.2014.2002, 2015.