

## Introdução e Objetivos

A Doxorubicina (DOX) é um agente quimioterápico de uso limitado devido a sua cardiotoxicidade concentração-dependente, sendo principalmente relacionada à produção de espécies reativas de oxigênio (ERO). Recentemente, foi demonstrado que o tratamento de roedores com o agente polifenólico resveratrol possui efeitos semelhantes aos do exercício físico na atenuação da cardiotoxicidade induzida pela DOX. Este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos do exercício durante o período gestacional sobre a cardiotoxicidade induzida pela DOX no coração de ratos neonatos. Estes efeitos foram comparados aos obtidos através do tratamento das ratas com resveratrol, devido as suas propriedades como cardioprotetor.

## Metodologia e Resultados



Exercício em esteira 16 m/min; 5 dias/semana; 21 dias gestacionais.  
Resveratrol: 2,5 mg/Kg por gavagem; 5 dias /semana; 21 dias gestacionais.

A partir da cultura primária foram realizados os seguintes ensaios: viabilidade celular por azul de Trypan; avaliação da indução de apoptose e necrose por citometria de fluxo, a partir da marcação com ANEXINA V e 7-AAD; experimento com DCHF-DA verificando a produção de ERO; ensaio cometa para verificar o dano ao DNA, atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT) e expressão das proteínas Sirtuina 6 (Sirt6) e CAT.

### Proteção pelo exercício nas concentrações de 0,5 e 1µM em 48 horas de tratamento com DOX

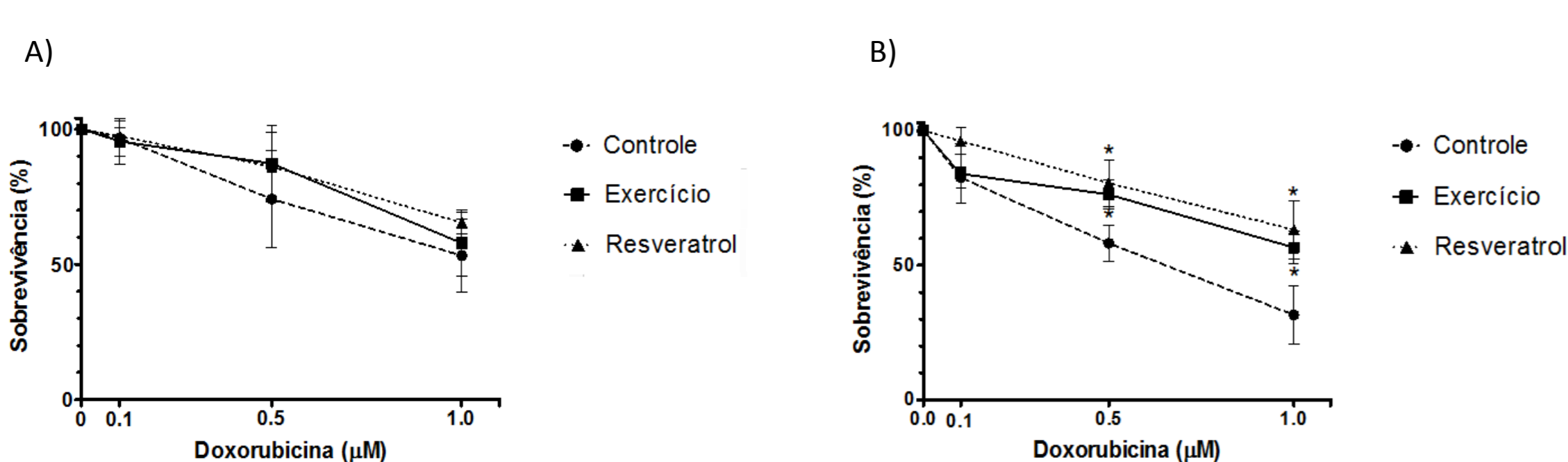


Figura 1. Avaliação da viabilidade celular 24 (A) e 48 (B) horas de exposição à DOX (Azul de Trypan). Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

### O exercício protege os cardiomiócitos de neonatos nas concentrações de 0,5 e 1µM em 48h

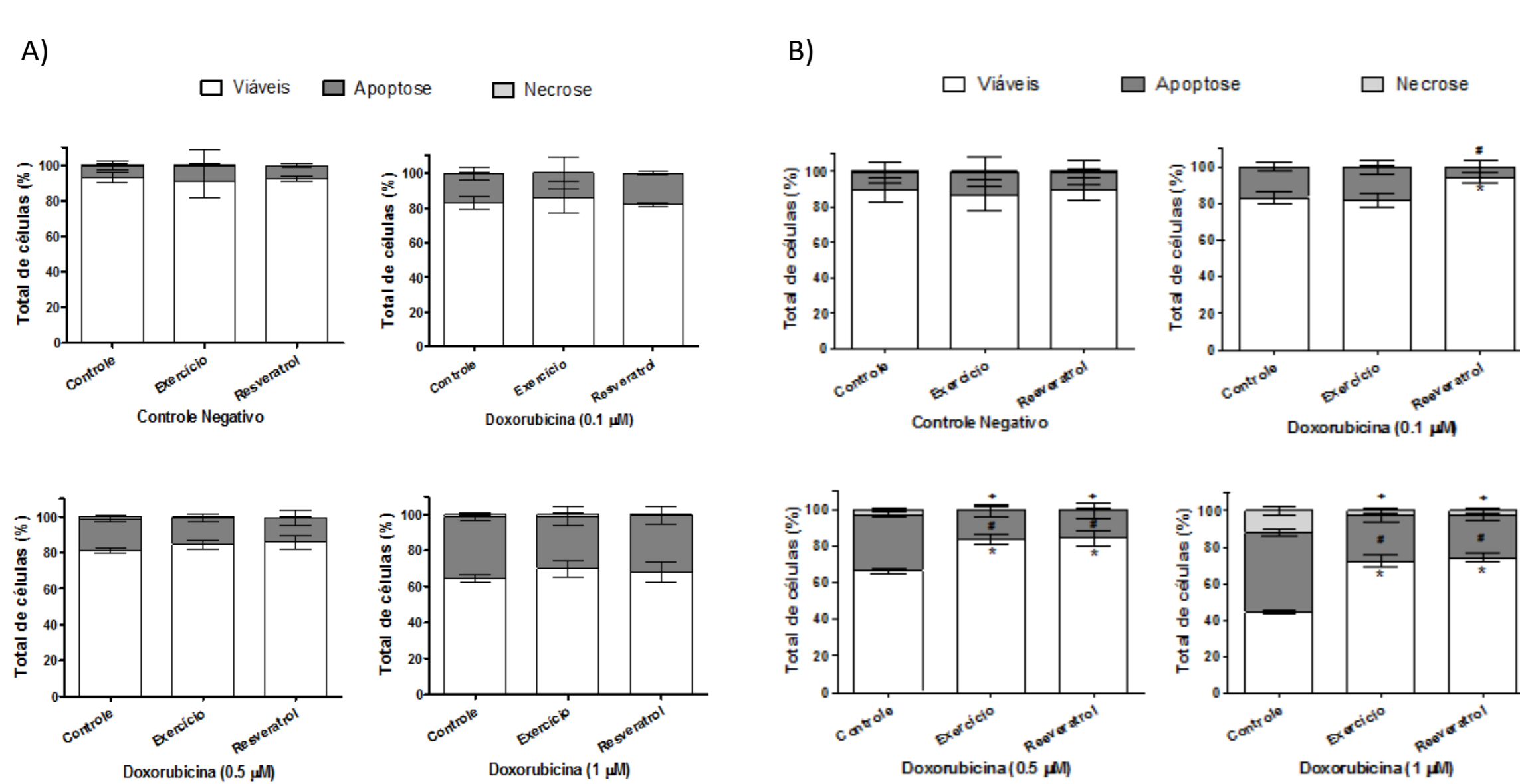


Figura 2. Avaliação da viabilidade da cultura primária em 24 (A) e 48 (B) horas de exposição à DOX, por citometria de fluxo. Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

### O exercício protege contra o aumento nos níveis de ERO em 0,5 e 1 µM DOX - 48h

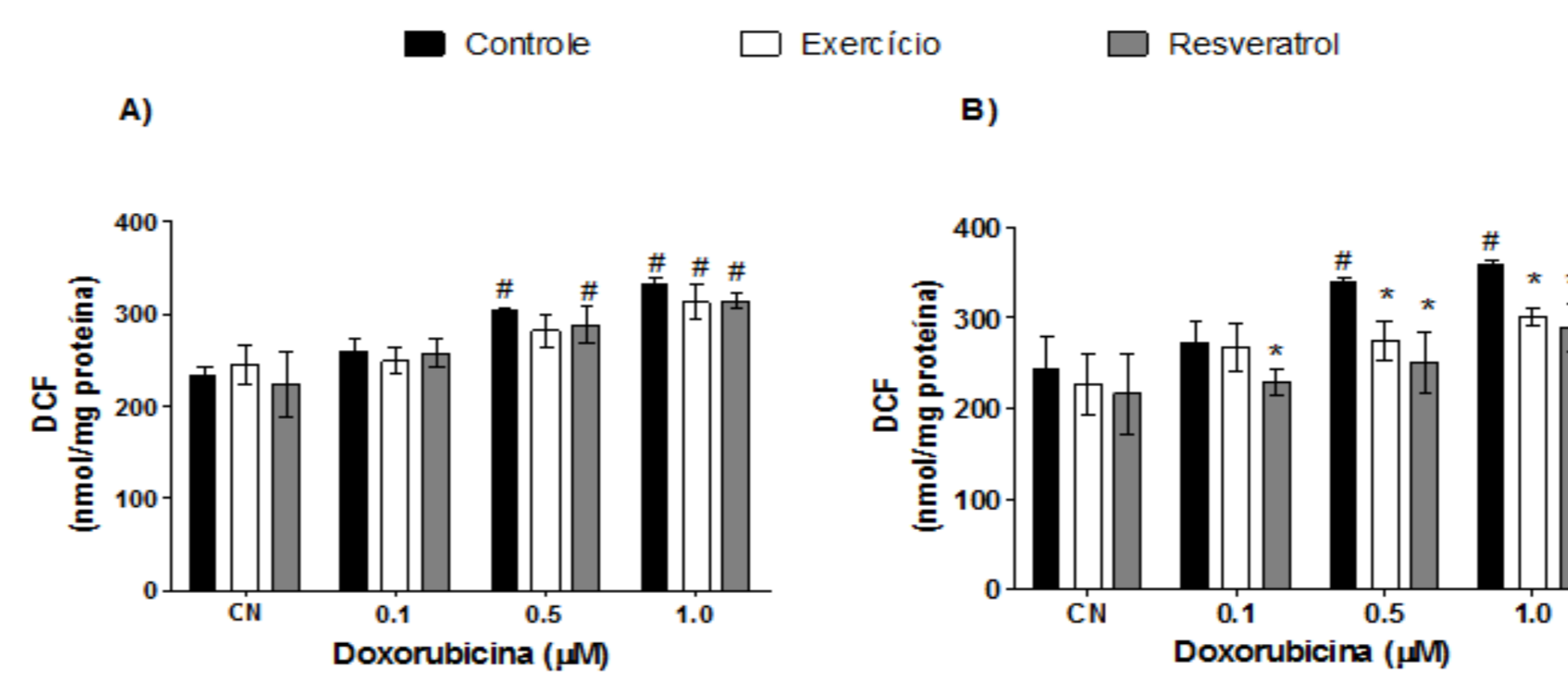


Figura 3. Avaliação dos níveis de ERO, na exposição de 24 horas (A) e 48 horas (B) à DOX (DCFH-DA). Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

### Os cardiomiócitos do grupo exercício apresentam redução do dano ao DNA

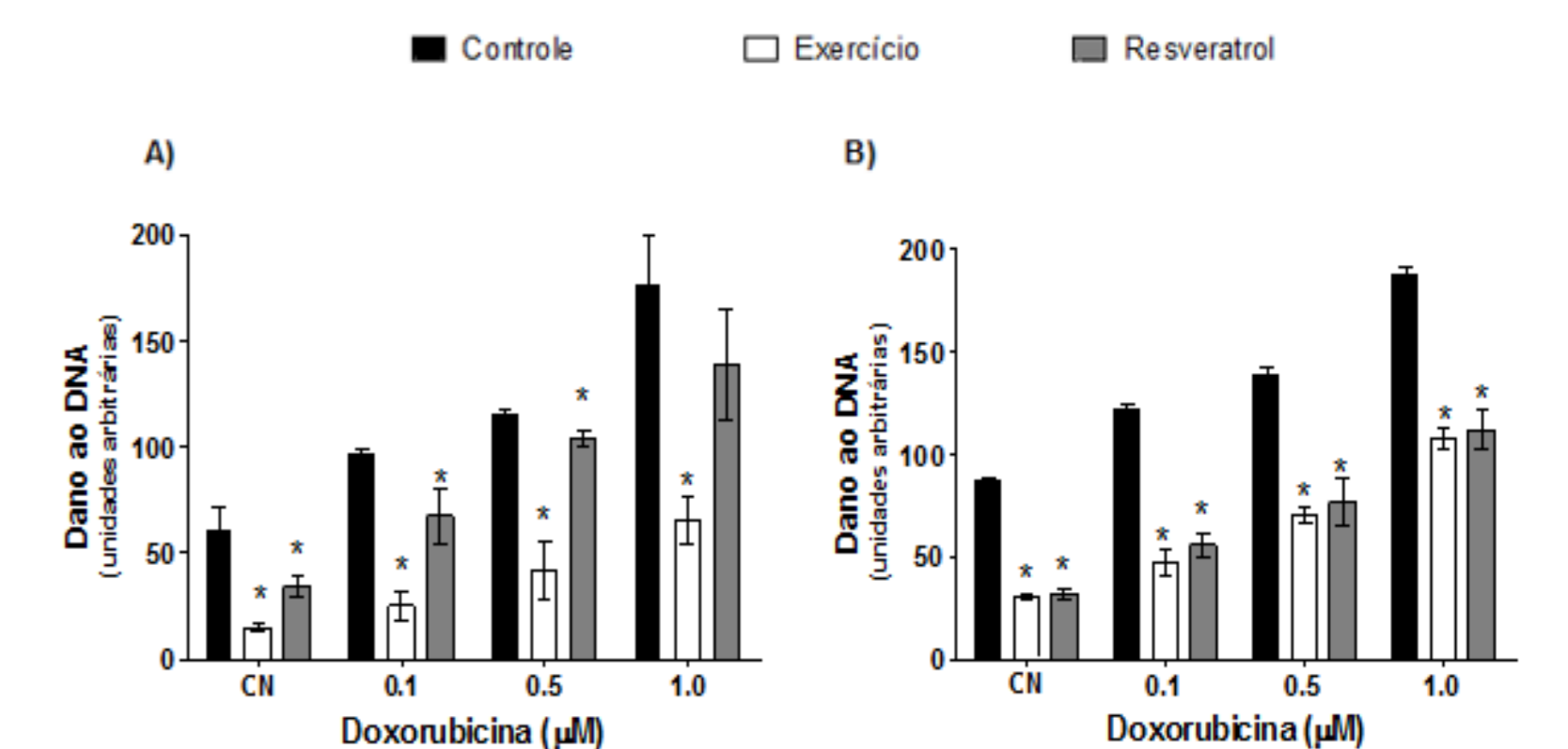


Figura 4. Avaliação do dano ao DNA na exposição de 24 horas (A) e 48 horas (B) à DOX (Cometa alcalino). Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

### FPG - Danos no DNA diminuídos nos cardiomiócitos do grupo exercício

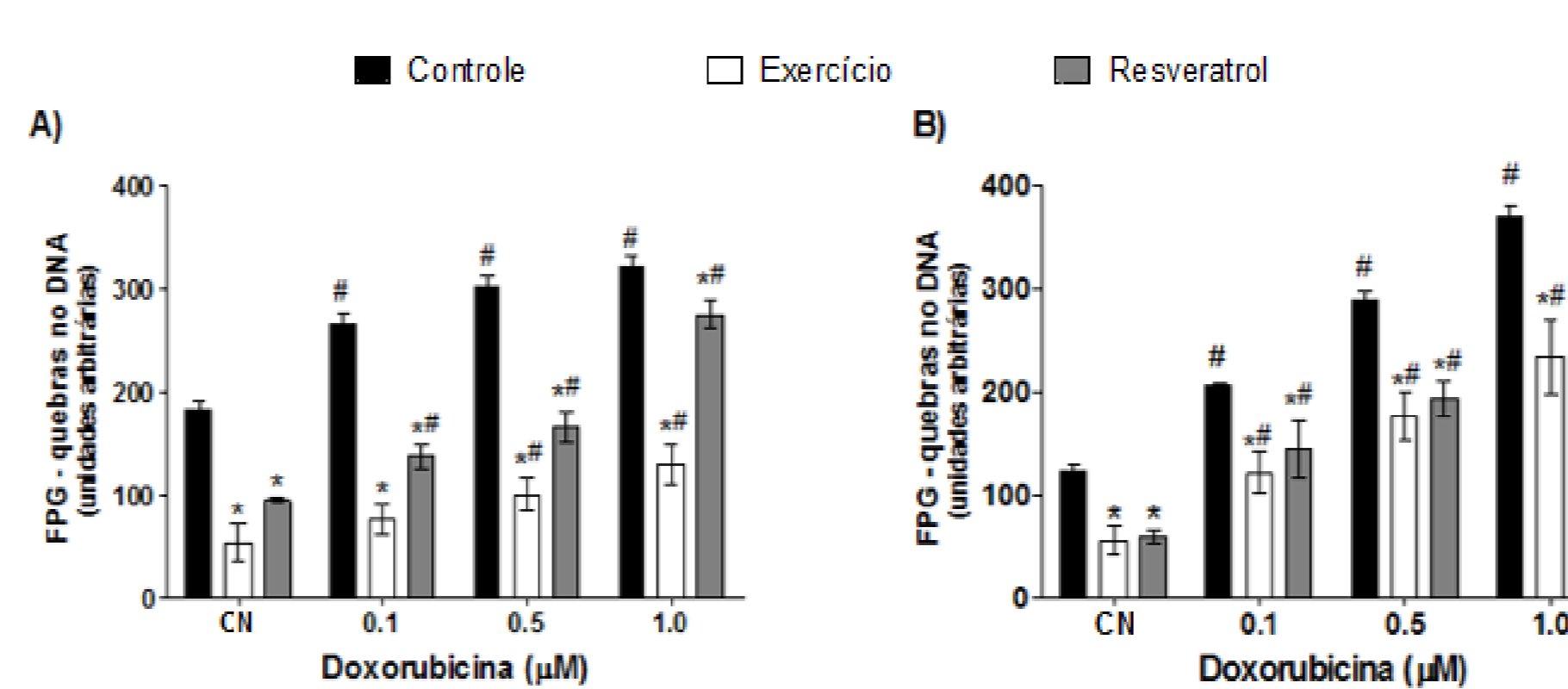


Figura 5. Avaliação da presença de pirimidinas oxidadas na exposição de 24 horas (A) e 48 horas (B) à DOX. Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

### Endo III - Danos no DNA reduzidos nos cardiomiócitos do grupo exercício

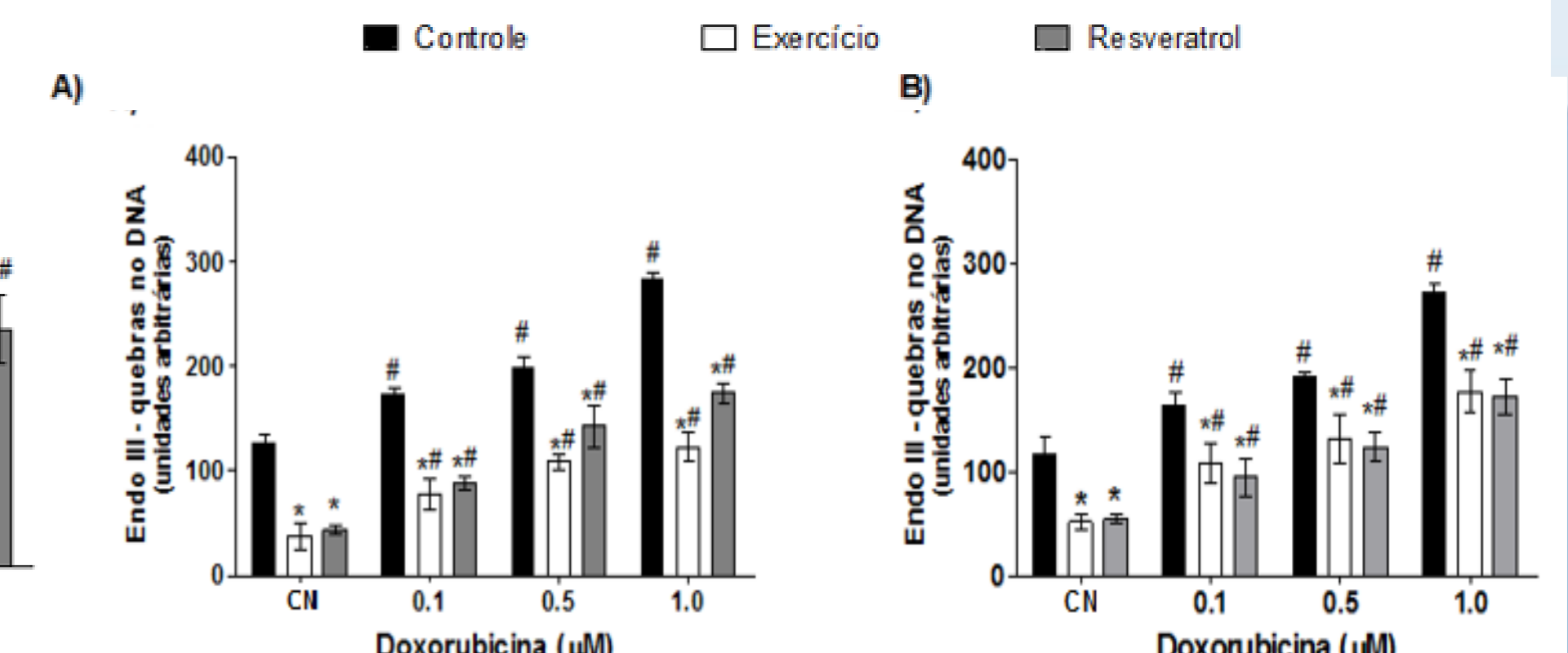


Figura 6. Avaliação da presença de purinas oxidadas na exposição de 24 horas (A) e 48 horas (B) à DOX. Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

	Grupos Experimentais							
	Controle		Exercício		Resveratrol			
SOD (U/mg proteína)								
	24 horas		24 horas		48 horas			
DOX (µM) tratamento	CN	0.1	0.5	1.0	CN	0.1	0.5	1.0
	4.61 ± 0.54	5.43 ± 1.03	6.26 ± 1.36*	4.46 ± 0.30	5.28 ± 1.22	6.00 ± 1.63		
	3.90 ± 0.68	5.58 ± 1.11*	5.31 ± 0.38*	3.98 ± 0.08*	5.00 ± 0.31*	6.06 ± 1.13*		
	3.22 ± 0.72	5.32 ± 0.58*	5.22 ± 0.84*	3.03 ± 0.74*	5.21 ± 0.92*	5.12 ± 0.95*		
	2.83 ± 0.40	5.62 ± 1.60*	5.56 ± 0.72*	2.53 ± 0.93*	5.52 ± 1.61*	5.19 ± 1.39*		
CAT (U/mg proteína)								
	24 horas		24 horas		48 horas			
DOX (µM) tratamento	CN	0.1	0.5	1.0	CN	0.1	0.5	1.0
	12.15 ± 2.16	31.36 ± 4.52*	24.07 ± 2.93*	12.30 ± 0.93	32.40 ± 8.37*	27.11 ± 2.55*		
	6.16 ± 0.81*	17.35 ± 3.64**	13.00 ± 4.29**	7.85 ± 1.03*	14.32 ± 2.03**	13.56 ± 2.62**		
	4.04 ± 0.57*	10.19 ± 3.98**	9.47 ± 2.53**	5.35 ± 0.62*	10.53 ± 4.17**	12.24 ± 3.87**		
	2.62 ± 0.20*	7.72 ± 3.03**	8.78 ± 4.15**	2.68 ± 1.51*	8.25 ± 2.45**	8.36 ± 1.79**		

Tabela 1. Perfil antioxidante celular pela análise da atividade das enzimas SOD e CAT, na exposição de 24 e 48 horas à DOX. Dados são média ± SEM. N = 8. \* p < 0,05. One Way ANOVA, post Hoc Tukey (SPSS 19).

A atividade da SOD é mantida constante e a CAT possui maior atividade no grupo exercício

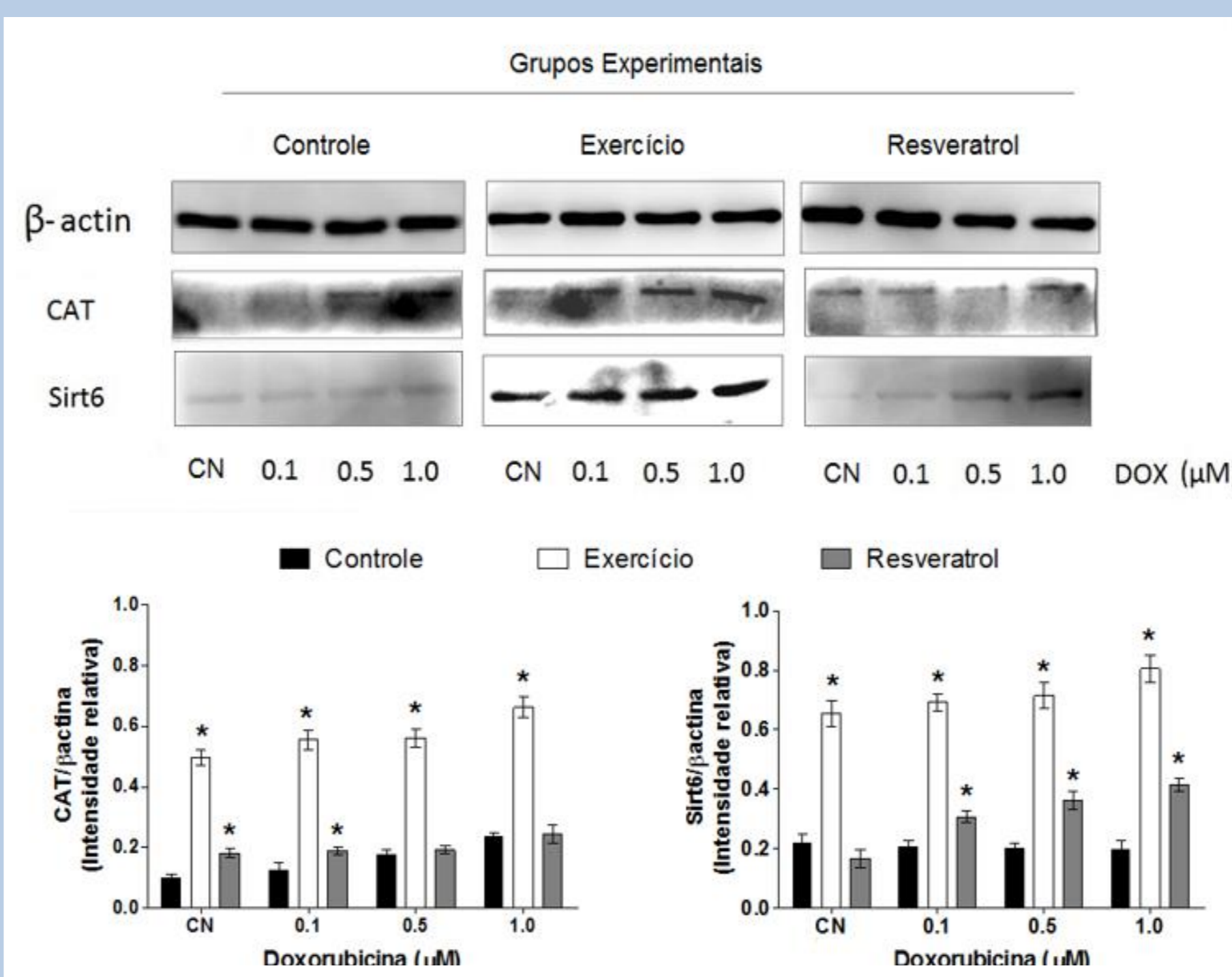


Figura 7. Avaliação da expressão de proteínas Sirt6 e CAT por Western Blotting.

Os cardiomiócitos do grupo exercício possuem maior expressão de Sirt6 e CAT quando comparados ao controle.

## Conclusão

O exercício físico, bem como o tratamento com resveratrol durante o período gestacional em ratas, protegem os cardiomiócitos de neonatos contra os efeitos tóxicos provocados pela DOX. Os nossos dados sustentam a hipótese de que a modulação do estresse oxidativo por enzimas antioxidantes e da integridade do DNA via Sirt6, uma enzima ligada à cromatina, pode ser induzida em cardiomiócitos neonatais provenientes de ratas exercitadas ou tratadas com o cardioprotetor resveratrol durante a gestação, elevando assim a resistência do coração neonatal contra a toxicidade da DOX.