

AVALIAÇÃO DA SINALIZAÇÃO PURINÉRGICA E PARÂMETROS DE ESTRESSE OXIDATIVO EM RINS DE RATOS SUBMETIDOS À INFLAMAÇÃO: EFEITO DO EXERCÍCIO FÍSICO E DA SUPLEMENTAÇÃO COM ÁCIDO URSÓLICO

RENATA CRISTINA DANIEL COELHO^{1,2*}, ISABELA BERTON WISSMANN³,
LILIAN BASEGGIO⁴
ANDRÉIA MACHADO CARDOSO^{2,5}

1 Introdução

A inflamação renal está associada a alterações metabólicas que contribuem para lesões teciduais e disfunção orgânica. Nesse cenário, a lesão renal aguda (LRA) se destaca como importante condição clínica, sendo uma das principais causas de morbimortalidade em pacientes hospitalizados (Mehta et al., 2015). Entre os modelos experimentais utilizados para investigar esse processo, a indução com lipopolissacarídeo (LPS) é amplamente validada, por ativar vias pró-inflamatórias e promover dano tecidual e disfunção microvascular (Salama; Elgohary; Fahmy, 2023). Nesse contexto, a sinalização purinérgica, mediada pela adenosina e por nucleotídeos extracelulares, exerce papel central na regulação da resposta inflamatória (Haskó et al., 2008; Basso et al., 2022). Estudos recentes apontam que moduladores do sistema purinérgico podem representar alvos terapêuticos relevantes em doenças renais associadas a processos inflamatórios (Antonioli et al., 2021).

Paralelamente, intervenções não farmacológicas e compostos bioativos vêm sendo estudados como alternativas de proteção renal. O exercício físico regular apresenta efeito anti-inflamatório, além de melhorar a hemodinâmica renal e a função tubular (Sabet; Soltani; Khaksari, 2022). Já o ácido ursólico, um triterpenoide pentacíclico encontrado em plantas e

1 Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó-SC, (renata.coelho@estudante.uffs.edu.br)

2 Grupo de Pesquisa: Estudos biológicos e clínicos em patologias humanas;

3 Acadêmica do curso de Medicina, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó-SC, (isabela.wissmann@estudante.uffs.edu.br),

4 Mestranda do programa de Pós graduação em Ciências Biomédicas, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó-SC, (lilian.baseggio@estudante.uffs.edu.br),

5 Doutora em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó-SC (andreia.cardoso@uffs.edu.br).

frutas, tem demonstrado capacidade de modular vias inflamatórias e pode exercer efeitos protetores sobre os rins em modelos experimentais (Liu et al., 2020; Nguyen et al., 2021). A associação entre exercício e ácido ursólico, entretanto, ainda é pouco explorada, podendo representar uma estratégia sinérgica promissora para atenuar os efeitos da inflamação sobre a função renal.

2 Objetivos

Avaliar a participação da sinalização purinérgica e parâmetros de estresse oxidativo em rins de ratos submetidos à inflamação, bem como investigar o efeito do exercício físico e da suplementação com ácido ursólico.

3

Metodologia

Trata-se de um estudo experimental aplicado em ratos wistar machos (n=65) que pesavam de 200 g a 230 g. Os animais receberam ração comercial e água livremente, mantidos em temperatura constante (22° a 24°) e submetidos a ciclo de 12h de claro-escuro. Todos os animais foram submetidos a um período de uma semana de adaptação antes de iniciar o protocolo de hipertrofia, onde os animais subiam uma escada com 34 degraus e inclinação de 80°, com repetições de 4 a 6 séries com 8 a 10 repetições e intervalos de 2min a cada série; 3 vezes por semana, e com acréscimos de 25% da carga a cada 2 semanas. Os animais foram pesados uma vez por semana durante todo o período do protocolo experimental. O momento da pesagem ocorreu antes do início da aplicação do protocolo de atividade física, utilizando uma balança digital SF-400 (Partyreal). Também foi realizada administração de ácido ursólico na dose de 5mg/kg por gavagem uma vez ao dia, 7 vezes por semana; ou administração de solução salina pela mesma via. Na última semana do protocolo os animais receberam LPS na dose de 250µg/kg por via intraperitoneal uma vez ao dia durante sete dias, ou então NaCl 0,9% pela mesma via.

Os animais foram divididos em oito grupos: Salina, Exercício físico, Ácido Ursólico, Exercício físico + ácido ursólico, LPS, Exercício físico + LPS, Ácido Ursólico + LPS, Exercício físico + ácido ursólico + LPS.

Este protocolo experimental possui aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Santa Maria (CEUA-UFSM), sob nº 6805060821, em conformidade com a legislação vigente e com os princípios éticos da Sociedade Brasileira de

Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

4 Resultados e Discussão

A indução inflamatória com LPS promoveu prejuízo no ganho de peso, além de redução de hemoglobina e hematócrito. O exercício físico preveniu a perda de peso induzida pelo LPS e contribuiu para atenuar alterações hematológicas. O ácido ursólico apresentou efeitos distintos a depender do contexto: isoladamente, não promoveu alterações significativas sobre os receptores P2X1, P2X2, P2X3, P2X5, P2Y4, P2Y6, P2Y12, P2X7 e P2Y13; entretanto, comparado ao grupo LPS, mostrou efeito significativo na modulação dos receptores P2Y1, P2Y2, P2X6 e P2X4. Quando associado ao exercício físico, o ácido ursólico potencializou os efeitos protetores, sendo capaz de impedir a elevação do receptor P2Y13, enquanto o exercício isoladamente preveniu o aumento do P2Y12. Assim, observa-se que o ácido ursólico exerce efeito seletivo sobre receptores purinérgicos, com maior impacto quando combinado ao exercício físico

Tabela - Resultados resumidos do estudo

Grupo	Peso final (g) - variação	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	P2Y12 (n° de cópias)	P2Y13 (n° de cópias)
SAL	↑ +154 g	13,3	47,7	2.244	3.919
LPS	↓ -13 g	11,5	42,6	4910 ↑	6.697 ↑
LPS + EF	↓ -2 g	11,7	42,9	2.087 (normalizado)	3.765
LPS + AU	↓ -14g	11,3	39,6	2.989	5.359
LPS + EF +AU	↓ -9g	11,6	41,6	2.196	3.473 (normalizado)

Legenda: SAL = salina; EF = exercício físico; AU = ácido ursólico; LPS = lipopolissacarídeo. ↑ indica aumento significativo.

Os resultados confirmam o efeito deletério do LPS sobre metabolismo, hematopoiese e receptores purinérgicos. O exercício físico se destacou como intervenção protetora, prevenindo

a perda de peso e normalizando a expressão do P2Y12. O ácido ursólico isolado apresentou efeito seletivo, modulando P2Y1, P2Y2, P2X6 e P2X4 em comparação ao LPS, mas não foi suficiente para normalizar P2Y12 ou P2Y13. Em associação ao exercício, contudo, potencializou a proteção, impedindo a elevação do P2Y13. Esses achados reforçam o papel do exercício físico e apontam para o efeito complementar do ácido ursólico.

5 Conclusão

O estudo demonstrou que a indução inflamatória com LPS prejudica o ganho de peso e altera parâmetros hematológicos, confirmando seus efeitos deletérios sobre o metabolismo e a função renal. O exercício físico apresentou ação protetora, prevenindo a perda de peso e atenuando alterações associadas à inflamação, enquanto o ácido ursólico, apesar de suas conhecidas propriedades anti-inflamatórias, não mostrou efeito significativo quando administrado isoladamente. No entanto, a associação de exercício físico e ácido ursólico mostrou-se promissora, especialmente pela modulação da sinalização purinérgica, prevenindo o aumento da expressão dos receptores P2Y12 e P2Y13. Esses resultados reforçam o papel do exercício como estratégia nefroprotetora e sugerem que sua combinação com o ácido ursólico pode potencializar benefícios, devendo ser melhor explorada em futuros estudos para avaliação da aplicabilidade clínica.

Referências Bibliográficas

ANTONIOLI, Luca; FORNAI, Massimo; COLUCCI, Raffaele; BLANDIZZI, Corrado. Purinergic modulation of intestinal inflammation: Perspectives for future therapy. *Current Opinion in Pharmacology*, v. 61, p. 60-66, 2021.

BASSO, Patrícia J.; CAMPOS, Mario M.; SENA, Cláudia M. Purinergic signaling in renal diseases: pathophysiological mechanisms and therapeutic opportunities. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 9, p. 4897, 2022.

HASKÓ, György; LINDEN, Joel; CRONSTEIN, Bruce; PACHER, Pál. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nature Reviews Drug Discovery*, v. 7, n. 9, p. 759-770, 2008.

LIU, Jian; SUN, Yuanyuan; LI, Minghua; et al. Ursolic acid alleviates renal injury by inhibiting inflammation in experimental models. *Phytomedicine*, v. 79, p. 153341, 2020.

MEHTA, Ravindra L.; CERDA, Jaime; BURDMANN, Emmanuel A.; et al. International

Society of Nephrology's 0by25 initiative for acute kidney injury (zero preventable deaths by 2025): a human rights case for nephrology. *The Lancet*, v. 385, n. 9987, p. 2616-2643, 2015.

NGUYEN, Huynh Nga; NGUYEN, Hoang Bao; VUONG, Quan-Hoang; et al. Ursolic Acid and Related Analogues: Triterpenoids with Broad Health Benefits. *Antioxidants*, v. 10, n. 8, p. 1161, 2021.

SABET, Nazanin; SOLTANI, Zahra; KHAKSARI, Mohammad. The effects of exercise on kidney injury: the role of SIRT1. *Molecular Biology Reports*, v. 49, p. 4025-4038, 2022.

SALAMA, Abeer A. A.; ELGOHARY, Rania; FAHMY, Mohamed Ibrahim. Protocatechuic acid ameliorates lipopolysaccharide-induced kidney damage in mice via downregulation of TLR-4-mediated IKBKB/NF- κ B and MAPK/Erk signaling pathways. *Journal of Applied Toxicology*, v. 43, n. 8, p. 1119-1129, 2023.

Palavras-chave: Lesão renal aguda; exercício físico; ácido ursólico

Nº de Registro no sistema Prisma: PES 2024 - 0497

Financiamento

