

## ÓXIDO NÍTRICO COMO AUXILIAR RESPIRATÓRIO NA FADIGA DE TAMBAQUI (*Colossoma macropomum*) E MATRINCHÁ (*Brycon amazonicus*)

Pedro Mateus Cavalcante PEREIRA<sup>1</sup>

Marcio Soares Ferreira<sup>2</sup>

Adalberto Luis VAL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bolsista IC INPA - PIBIC/CNPq, <sup>2</sup>Bolsista Doutorado FAPEAM,

<sup>3</sup>Orientador CBIO/INPA

### INTRODUÇÃO

Peixes como o tambaqui (*Colossoma macropomum*), entre outros, revelam estratégias de adaptação e sobrevivência em ambientes hipóxicos e/ou anóxicos (Almeida-Val *et al.* 1995, 2011; Val 1995). Trabalhos mostram o efeito do óxido nítrico como vasodilatador em peixes, especialmente durante a hipóxia (Hansen e Jensen 2010). Até o momento, foram isoladas e clonadas três isoenzimas, sendo duas constitutivas em determinadas células e uma induzível, recebendo as siglas respectivas de cNOS e iNOS (Jobgen *et al.* 2006). O óxido nítrico liberado na circulação sanguínea é rapidamente oxidado, se transformando em nitrito e depois em nitrato. Essas duas substâncias, juntas, são denominadas de NO<sub>x</sub>, pois podem ser revertidas à óxido nítrico na ausência de oxigênio, facilitando, desta forma, a respiração celular (Hansen e Jensen 2010). Um estudo mais aprofundado na atuação das sínteses do óxido nítrico, em peixes, é essencial para o desenvolvimento de novas técnicas de cultivo, visando à saúde e o aumento de produtividade.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os exemplares de tambaqui e matrinhá foram adquiridos de piscicultores da região e passaram por um processo de aclimação de 30 dias em tanques, antes do início dos experimentos. O experimento foi baseado no teste de fadiga elaborado por Brett (1964), no qual os peixes são transferidos para o túnel de natação vedado, dotado de sensores de oxigênio e bombas controladas por computadores, que é capaz de aumentar a velocidade da água em 10 cm/s a cada 30 minutos, até a fadiga dos peixes. Em mais detalhes, cada grupo de 6 peixes foi levado à um estágio, iniciando-se o grupo controle com 0,1 comprimento de corpo por segundo, o segundo grupo passou pelo primeiro estágio e foi levado até 1 CC/S, depois outro grupo passou pelos estágios anteriores até atingir 2 CC/S, e assim por diante até que houve um grupo de tambaqui atingindo 4 CC/S e um de matrinhá 5 CC/S. Houve também um grupo de recuperação, no qual os peixes nadaram até o último estágio, e depois foram mantidos na velocidade inicial de 0,1 CC/S para se recuperarem, antes de terem tecidos retirados para análise. Ao longo de todo o processo, sensores de oxigênio mediram o consumo de cada peixe, de acordo com seu peso inserido previamente no *software* de análise, nos dando como resultado o consumo de oxigênio por grama por minuto. Após o exercício, os animais foram sacrificados conforme autorizado pelo CONCEA – INPA, para terem o músculo vermelho coletado para análise da concentração de nitritos e nitratos (NO<sub>x</sub>), que nada mais é do que o óxido nítrico oxidado, e tem sido utilizado por inúmeros autores como indicador indireto da concentração desse gás. A análise estatística foi realizada por meio do programa Sigma Stat, usando-se ANOVA de um fator, com teste a *posteriori* de SNK.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 1A mostra que houve aumento do consumo de oxigênio de tambaqui a partir de 2 CC/S, sendo que em 1 CC/S houve um consumo intermediário. A figura 1B mostra que em matrinhá o aumento ocorre de forma

gradual, passando a ser maior que o controle a partir de 3 CC/S e atingindo um pico em 4 CC/S, velocidade máxima em que os animais foram submetidos. Os peixes se mostraram mais propensos a utilizarem a natação explosiva, com intervalo de um segundo ou menos de descanso, até a explosão seguinte, o que certamente se baseia na utilização de energia anaeróbica, com acúmulo de lactato, não necessitando retirar mais oxigênio da água de imediato. A estratégia comportamental provavelmente economiza energia, e a natação explosiva permite continuar a contração muscular mesmo com déficit de oxigênio, que deverá ser compensado em um momento posterior ao exercício com a ajuda da enzima lactato desidrogenase para reverter o lactato à piruvato (Sullivan e Somero 1980; Almeida-Val *et al.* 1995). Vários trabalhos mostram que próximo à velocidade de fadiga ocorre os maiores acúmulos de lactato no músculo branco, que extravasa para o plasma (Hammer 1995; Richards *et al.* 2002; Peake e Farrell, 2004; Burgetz *et al.* 1998). Embora o tambaqui exercitado até a fadiga ou próximo dela acumule, segundo a literatura, grandes quantidades de lactato nos músculos, o que exigiria uma respiração pós-exercício aumentada para reconvertê-lo a piruvato, isso provavelmente ocorreu nos primeiros 15 minutos, já que o consumo de oxigênio se iguala aos do controle.

A figura 2A mostra que o exercício incremental até velocidades submáximas não aumentam significativamente o NOx do músculo vermelho do tambaqui, no entanto em matrinhá (2B) o NOx aumenta a partir de 2 CC/S, atingindo o ápice em 3 CC/S e mantendo o mesmo valor em 4 CC/S. Após 1 hora de recuperação na velocidade de água de 0,1 CC/S, os valores de NOx voltam aos níveis iniciais de repouso em ambas as espécies. Em matrinhá o consumo de oxigênio ocorre de forma mais gradual ao longo dos incrementos de velocidade e atinge o ápice em 4 CC/S. Observamos que o matrinhá não se vale de nenhuma estratégia natatória mesmo na última velocidade testada, ou seja, sua natação permanece contínua, com quase ou nenhum comportamento de explosão muscular, e sem encostar nas laterais ou fundo do túnel, indicando que ele manteve seu desempenho natatório predominantemente pela contração muscular aeróbica dos músculos vermelhos (Webb 1998).

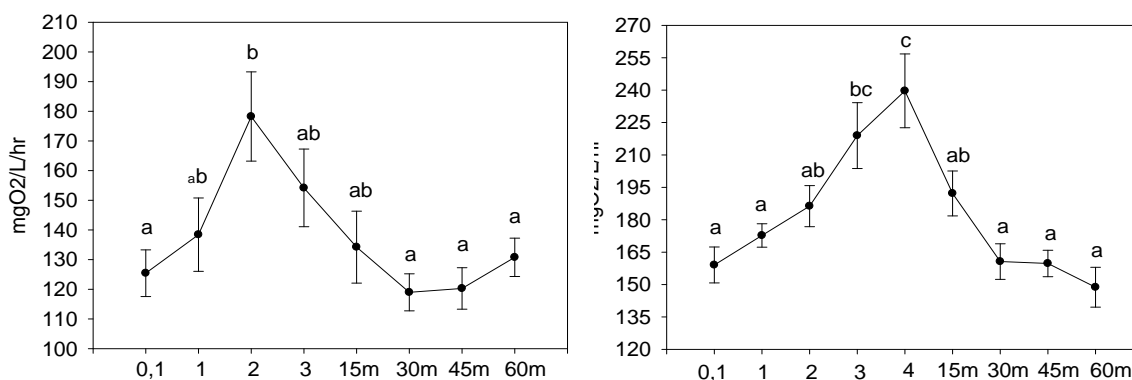


Figura 1. Consumo de oxigênio de tambaqui (A) e matrinhá (B) submetidos por 30 minutos em cada intervalo de 1 comprimento de corpo por segundo, até a velocidade submáxima para a fadiga da espécie, baseado em teste preliminar de Ucrit (Velocidade Crítica de Natação). Para cada um dos intervalos foram usados peixes diferentes, que passaram pelos estágios inferiores até atingir o estágio alvo. A recuperação (RECUP.) se refere ao tempo de 1 hora em 0,1 CC/S, após os peixes passarem por todas as velocidades. Dados expressos como média e erro padrão da média, com nível de significância de 5% com uso de teste ANOVA e *post hoc* SNK.

O matrinhã mostrou uma capacidade respiratória maior que o tambaqui, visto que os valores médios máximos foram de 242 mgO<sub>2</sub>/L/h para o matrinhã, contra 173 mgO<sub>2</sub>/L/h do tambaqui, o que sugere que, em parte, o melhor desempenho natatório do matrinhã possa ser devido à uma melhor capacidade respiratória. Assim como o tambaqui, o matrinhã parece precisar de apenas cerca de 15 minutos para retornar o seu consumo de oxigênio aos níveis iguais aos do controle.

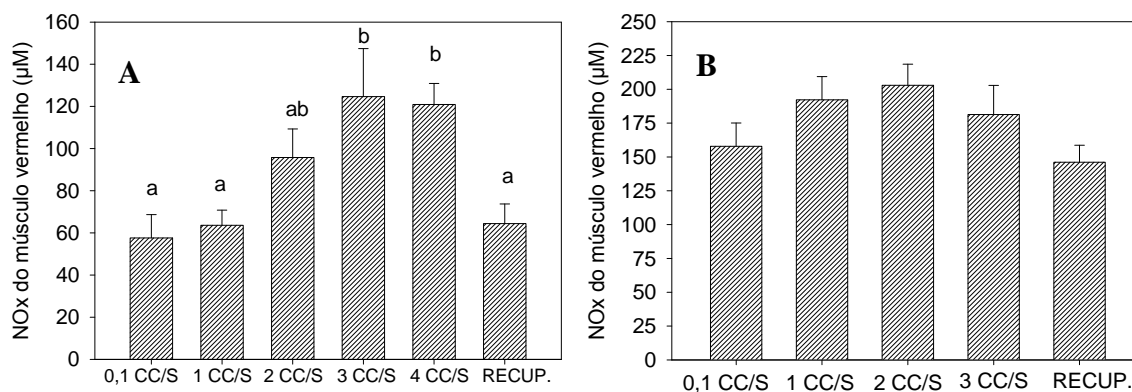


Figura 2. Nitritos e nitratos (NOx) do músculo vermelho de tambaqui (A) e matrinhã (B) submetidos por 30 minutos em cada intervalo de 1 comprimento de corpo por segundo, até a velocidade submáxima para a fadiga da espécie, baseado em teste preliminar de Ucrit (Velocidade Crítica de Natação). Para cada um dos intervalos foram usados peixes diferentes, que passaram pelos estágios inferiores até atingir o estágio alvo. A recuperação (RECUP.) se refere ao tempo de 1 hora em 0,1 CC/S, após os peixes passarem por todas as velocidades. Dados expressos como média e erro padrão da média, com nível de significância de 5% com uso de teste ANOVA e post hoc SNK.

A elevação do óxido nítrico no músculo vermelho não pode ser vista nas etapas intermediárias do teste em tambaqui, diferentemente do matrinhã, que já ocorre a partir de 2 CC/S, permanecendo elevada até a fadiga. Tudo indica que em tambaqui a função deste gás seria relacionada ao processo de recuperação muscular, já que se eleva apenas nas etapas finais do teste. Já no matrinhã, uma vez que o óxido nítrico se antecipa e se eleva já nas fases iniciais do exercício, sugere-se que este gás pode ajudar no desempenho e retardar a fadiga por facilitar a taxa de entrega de oxigênio aos músculos, por meio de seu efeito vasodilatador.

## CONCLUSÃO

O matrinhã pode aumentar o consumo de oxigênio de forma gradativa, conforme a velocidade natatória aumenta o que pode ajudá-lo a ter um desempenho adequado a cada velocidade, sem causar a fadiga.

## REFERÊNCIAS

- Almeida-Val, V.M.; Farias, I.P.; Silva, M.N.; Duncan, W.P.; Val, A.L. 1995. Biochemical adjustments to hypoxia by Amazon cichlids. *Brazilian Journal Of Medical and Biological Research*, 28: 1257-63.
- Almeida-Val, V.M.F.; Oliveira, A.R.; Silva, M.N.P; M.; Ferreira-Nozawa, M.S.; Araújo, R.M.; Val, A.L.; Nozawa, S.R. 2011. Anoxia- and hypoxia-induced expression of LDH-A\* in the Amazon Oscar, *Astronotus crassipinis*. *Genetics and Molecular Biology*, 34:315–22.
- Brett, J.R. 1964. The Respiratory Metabolism and Swimming Performance of Young Sockeye Salmon. *Journal of the Fisheries. Research Board of Canada*, 21: 1183-1226.

- Burgetz, I.; Rojas-Vargas, A.; Hinch, S.; Randall, D. 1998. Initial recruitment of anaerobic metabolism during sub-maximal swimming in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Experimental Biology*, 201: 2711–21.
- Cerqueira, N.F.; Yoshida, W.B. 2002. Óxido nítrico: revisão. *Acta cirúrgica Brasileira*, 17: 417-423.
- Hammer, C. 1995. Fatigue and exercise tests with fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 112(1):1-20.
- Hansen, M. N.; Jensen, F. B. 2010. Nitric oxide metabolites in goldfish under normoxic and hypoxic conditions. *The Journal of Experimental Biology*, 213: 3593-3602.
- He, W.; Xia, W.; Cao, Z.-D.; Fu, S.-J. 2013. The effect of prolonged exercise training on swimming performance and the underlying biochemical mechanisms in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*). *Comparative Biochemistry and Physiology*, 166: 308–15.
- Jobgen, W.S.; Fried, S.K.; Fu, W.J.; Meininger, C.J.; Wu, G. 2006. Regulatory role for the arginine–nitric oxide pathway in metabolism of energy substrates. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 17: 571–588.
- Peake, S.J.; Farrell, A.P. 2004. Locomotory behaviour and post-exercise physiology in relation to swimming speed, gait transition and metabolism in free-swimming smallmouth bass (*Micropterus dolomieu*). *The Journal of Experimental Biology*, 207: 1563–1575.
- Richards, J.G.; Mercado, A.J.; Clayton, C.A.; Heigenhauser, G.J.F.; Wood, C.M. 2002. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout. *The Journal of Experimental Biology*, 205: 2067–2077.
- Sullivan, K.M.; Somero, G.N. 1980. Enzyme activities of fish skeletal muscle and brain as influenced by depth of occurrence and habits of feeding and locomotion. *Marine Biology*, 60: 91–99.
- Val, A.L.; Almeida-Val, V.M. 1995. *Fishes of the Amazon and their Environment. Physiological and Biochemical Spects*. Springer, Berlin, 224p.
- Vitorino, D.C.; Buzzachera, C.F.; Hallage, T.; Elsangedy, H.M.; Krinski, K.; Cieslak, F.; Da Silva, S.G. 2007. O óxido nítrico (NO) e o seu papel vasodilatador durante o exercício físico. *EFDE Esports*, 12(113).
- Webb, P.W. 1998. Swimming. In: Evans, D. H.; Claiborne, J. B. (Ed). *The Physiology Of Fishes*. CRC, Taylor & Francis, Flórida, 519p.
- Wright, C.E.; Rees, D.D.; Moncada, S. 1991. Protective and phatological roles of nitric oxide in endotoxin shock. *Cardiovascular Research*, 26: 48-57