

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA**

FELIPE ROMANO DAMAS NOGUEIRA

**A RESISTÊNCIA À INSULINA E SUA
RELAÇÃO COM A ATIVIDADE
ANAPLERÓTICA MITOCONDRIAL EM
MÚSCULO ESQUELÉTICO, O CONSUMO
DE SUBSTRATOS E O EXERCÍCIO
FÍSICO.**

Campinas
2010

Felipe Romano Damas Nogueira

**A RESISTÊNCIA À INSULINA E SUA
RELAÇÃO COM A ATIVIDADE
ANAPLERÓTICA MITOCONDRIAL EM
MÚSCULO ESQUELÉTICO, O CONSUMO
DE SUBSTRATOS E O EXERCÍCIO
FÍSICO.**

Trabalho de Conclusão de Curso
(Graduação) apresentado à Faculdade
de Educação Física da Universidade
Estadual de Campinas para obtenção do
título de Bacharel em Educação Física.

Orientador: Dr. Leonardo dos Reis Silveira

Campinas
2010

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA
BIBLIOTECA FEF - UNICAMP**

N689r Nogueira, Felipe Romano Damas.
A resistência à insulina e sua relação com a atividade anaplerótica mitocondrial em músculo esquelético, o consumo de substratos e o exercício físico / Felipe Romano Damas Nogueira. -- Campinas, SP: [s.n], 2010.

Orientador: Leonardo dos Reis Silveira
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Faculdade de Educação Física, Universidade Estadual de Campinas.

1. Músculo esquelético. 2. Mitocôndria. 3. Ácidos graxos. 4. Resistência a insulina. I. Silveira, Leonardo dos Reis. II. Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Educação Física. III. Título.

dilsa/fef

Título em inglês: The relation between the insulin resistance and the mitochondrial anaplerotic activity in skeletal muscle, substrate consumption and exercise.

Palavras-chave em inglês (Keywords): Skeletal muscle; Mitochondria; Fat-acid; Insulin resistance.

Banca Examinadora: Leonardo dos Reis Silveira, Mara Patrícia Traina Chacon-Mikahil.

Data da defesa: 27/05/2010.

Felipe Romano Damas Nogueira

**A RESISTÊNCIA À INSULINA E SUA RELAÇÃO COM
A ATIVIDADE ANAPLERÓTICA MITOCONDRIAL EM
MÚSCULO ESQUELÉTICO, O CONSUMO DE
SUBSTRATOS E O EXERCÍCIO FÍSICO.**

Este exemplar corresponde à redação final do Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) defendido por Felipe Romano Damas Nogueira e aprovado pela Comissão julgadora em:
27/05/2010.

**Campinas
2010**

Dedicatória

Dedico este trabalho à minha família, professores e amigos que sempre estiveram ao meu lado nos momentos fáceis e, principalmente, nos momentos mais difíceis de minha vida.

Agradecimentos

*Agradeço a Deus por toda força que me dá todos os dias de minha vida;
Agradeço a toda minha família, amigos e namorada que sabem tanto quanto eu o quanto é difícil me agüentar;*

Agradeço à minha família em Campinas, meus companheiros de república, desde o primeiro ano, Tiozão, Paulão, Bixo, Pit, Rauber, Berê, Mito, Peru, Baiano, entre outros...

Muito obrigado, todos vocês são muito importantes em minha vida. Devo o que sou a vocês.

NOGUEIRA, Felipe Romano Damas. **A resistência à insulina e sua relação com a atividade anaplerótica mitocondrial em músculo esquelético, o consumo de substratos e o exercício físico.** 2010. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-Faculdade de Educação Física. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

RESUMO

A elevada disponibilidade de energia na forma de triacilglicerol intramuscular (IMTG) está associada à produção de espécies reativas de oxigênio (EROS), estresse oxidativo, baixa atividade do ciclo do ácido tricarboxílico (CAT) e β -oxidação. Estes fatores, *per se* e em conjunto tem ação inibitória na cascata de sinalização da insulina no tecido muscular para a absorção da glicose. A este fenômeno, deu-se o nome de resistência à insulina, relacionada diretamente com o desenvolvimento da doença Diabetes Mellitus tipo II. Este trabalho, portanto, foi relacionar os fatores envolvidos com o desenvolvimento da resistência à insulina, e suas possíveis prevenções e tratamentos. Neste sentido, um restabelecimento na atividade normal mitocondrial através da expansão da atividade do CAT a custa de reações anapleróticas (entrada de substratos intermediários no CAT) poderia favorecer o consumo de substratos, incluindo os IMTG. Deste modo não haveria uma exposição crônica aos efeitos nocivos destas substâncias, melhorando a resposta da cascata de sinalização da insulina no tecido muscular. As contrações musculares contribuem neste processo, pois ativam a β -oxidação dos ácidos graxos, além de possivelmente elevar o conteúdo de um poderoso antioxidante, a glutathione. Esta age contra o estresse oxidativo causado pelas EROS no tecido muscular, prevenindo o desenvolvimento da resistência à insulina. Assim como o exercício físico, o desacoplamento mitocondrial realiza papel importante na melhora do consumo de substratos. Desta forma, a proteína desacopladora mitocondrial (UCP-3) age na regulação da produção de EROs, protegendo as células musculares do estresse oxidativo, além de aumentarem o consumo de substratos. Todos estes processos contribuem na manutenção de uma resposta positiva na sinalização da insulina no músculo esquelético.

Palavras-Chaves: Músculo esquelético, mitocôndria, ácido graxo, resistência à insulina.

NOGUEIRA, Felipe Romano Damas. **The relation between the insulin resistance and the mitochondrial anaplerotic activity in skeletal muscle, substrate consumption and exercise.** 2010. 48f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação)-Faculdade de Educação Física. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

ABSTRACT

The high energy availability in form of intramuscular triglyceride (IMTG) is associated with the production of reactive oxygen species (EROS), oxidative stress, low activity of the tricarboxylic acid cycle (CAT) and β -oxidation. These factors, *per se* and in conjunction have an inhibitory action in the insulin pathway signalization in the muscle tissue for the absorption of glucose. This phenomenon is called insulin resistance, and it is directly related to the developing of the Diabetes Mellitus type II disease. This work, therefore, was to link the factors concerned with the developing of the insulin resistance, and the possible preventions and treatment. Whereas, a recovery in the normal mitochondrial activity through the increase in the CAT flux, with anaplerotic reactions (entrance of intermediate substrates in the CAT) could enhance the consumption of substrates, including the IMTG. Thus there wouldn't be a chronic exposure to the harmful effects of these substances, improving the answer of the insulin pathway in muscle tissue. The muscle contractions contribute in this process, because they activate the β -oxidation of the fat acids, besides it could possibly elevate the content of a powerful antioxidant, the glutathione. It acts against the oxidative stress caused by EROS in the muscle tissue, preventing the development of the insulin resistance. Similar to the exercise the mitochondrial uncoupling acts importantly in the improvement of the substrate consumption. Indeed the mitochondrial uncoupling protein (UCP-3) acts in the regulation of the EROS production, protecting the muscle cells of the oxidative stress, as well enhancing the substrate consumption. All these processes contribute for the maintenance of a positive response in the skeletal muscle's insulin pathway.

Keywords: Skeletal muscle, mitochondria, fat-acid, insulin resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Incidência mundial do diabetes.	13
Figura 2 -	Via de sinalização de insulina em músculo esquelético: mobilização de GLUT-4 para a membrana celular e transporte de glicose.	18
Figura 3 -	Mecanismo de resistência à insulina induzida por ácidos graxos em músculo esquelético.	23
Figura 4 -	Velocidade de oxidação de carboidratos em diferentes condições (jejum e estimulados por insulina) e em diferentes indivíduos (normais, obesos e diabéticos).	25
Figura 5 -	Ciclo Glicose – Ácido-Graxo.	27
Figura 6 -	A intensidade de exercício físico influenciando o predomínio da oxidação dos substratos energéticos (ácidos-graxos e glicose).	28
Figura 7 -	Produção de espécies reativas de oxigênio (EROs).	32

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS e TRADUÇÕES

α-KGD	α -cetogluturato desidrogenase
AAT	Alanina Aminotraseferase
ACC	Acetil-CoA carboxilase
Aceti(y)l-CoA	Acetil coenzima A
Acyl-CoA	Acil coenzima A
Akt	Proteína quinase B (PKB)
AMPK	AMP quinase
Antioxidant system	Sistema antioxidante
aPKC ζ, ι, λ	Atípica proteína quinase C
ASPAT	Aspartato aminotraseferase
Biogenesis	Biogênese
β-oxidation	β -oxidação
CAT	Ciclo do ácido tricarboxílico (Ciclo de Krebs)
Ceramide	Ceramidas
Citrate	Citrato
CoA-SH	Coenzima A - SH
CPT-I/II	Sistema carnitina palmitoiltrasferase
DAG	Diacilglicerol
ERNs	Espécies reativas de nitrogênio
EROS	Espécies reativas de oxigênio
ETC	Cadeia de transporte de elétrons
FA	Ácido Graxo
G-6P	Glicose 6 fosfato
GDH	Glutamato desidrogenase
Glucose	Glicose
Glycogen	Glicogênio
GLUT-4/1	Transportadores de glicose
GPX	Glutathiona peroxidase
GS	Glicogênio sintase
GSH	Glutathiona
GSK-3	Glicogênio sintase quinase 3
H2O2	Peróxido de hidrogênio
IκB	Inibidor da NF κ B
IKK	I κ B quinase
IMM	Membrana interna mitocondrial
IMS	Espaço intermembrana mitocondrial
IMTG	Triacilglicerol intramuscular

iNOS	Síntese de óxido nítrico
IR	Receptor de insulina
IRS1/2	Substratos do receptor de insulina
JNK	Proteína relacionada a resistência a insulina
Lactate	Lactato
LCACoA	Acil-CoAs de cadeia longa
Malonyl-CoA	Malonil Coenzima A
Matrix	Matriz
Mitochondrial	Mitochondrial
mRNA	RNA mensageiro
NADPH oxidase	Nicotinamida adenina dinucleotideo fosfato oxidase
NAC	N-acetil-cisteína
NFkB	Fator nuclear kappaB
NH4+	Íon amônio
NO	Oxido nítrico
O2	Oxigênio
O2-	Superóxido
OMM	Membrana externa mitocondrial
ONOO	Peróxinitrito
P	Fosfato
P-Tyr	Tirosina fosfato
PC	Piruvato Carboxilase
PDC	Complexo piruvato desidrogenase
PDH	Piruvato desidrogenase
PDK1	3-fosfatidilinositol-dependente de proteína quinase 1
PFK	Fosfofrutoquinase
PGC-1α	Peroxisomo proliferador ativado receptor gamma coativador 1 alpha
Pi	Fosfato inorgânico
PI3-K	Fosfatidilinositol 3-quinase
PIP2	Fosfoinositol 2-fosfato
PIP3	Fosfoinositol 3-fosfato
PKB	Proteína quinase B
PKC-θ	Proteína quinase C
Pyruvate	Piruvato
QR	Coeficiente respiratório
ROS	Espécies reativas de oxigênio
Ser-P	Serina fosfato
TCA Cycle	Clico do Ácido Tricarboxílico
TNF-α	Fator pró-inflamatório de necrose tumoral alfa
UCP-1/2/3	Proteínas desacopladoras mitocondriais

SUMÁRIO

1 Introdução	13
2 Metodologia.....	15
3 Captação de glicose pelas células musculares.....	17
4 Mecanismo de resistência à insulina na musculatura esquelética.....	21
5 Relações entre exercício físico e resistência à insulina.....	33
6 O papel da proteína desacopladora mitocondrial (UCP-3) na modulação do metabolismo de glicose e ácido graxo.....	37
Considerações Finais	39
Referências	41

1 Introdução

Este trabalho se configura numa revisão bibliográfica que compreende os mecanismos envolvidos na resistência à insulina no tecido muscular esquelético. Este problema é encontrado em grande parte da população mundial, além de estar diretamente relacionada com a diabetes mellitus tipo II, doença que é considerada uma epidemia no cenário mundial (Figura 1). Este fato ocorre, principalmente, graças aos hábitos de vida, aumento da obesidade mundial e inatividade física, observados pelo mundo todo. Desta forma, esta revisão relaciona o exercício físico e a atividade anaplerótica mitocondrial, isto é, a entrada de substratos intermediários no ciclo do ácido tricarboxílico (CAT), - mantendo a velocidade de produção de NADH e FADH₂ graças ao consumo destes substratos - com a resistência à insulina.

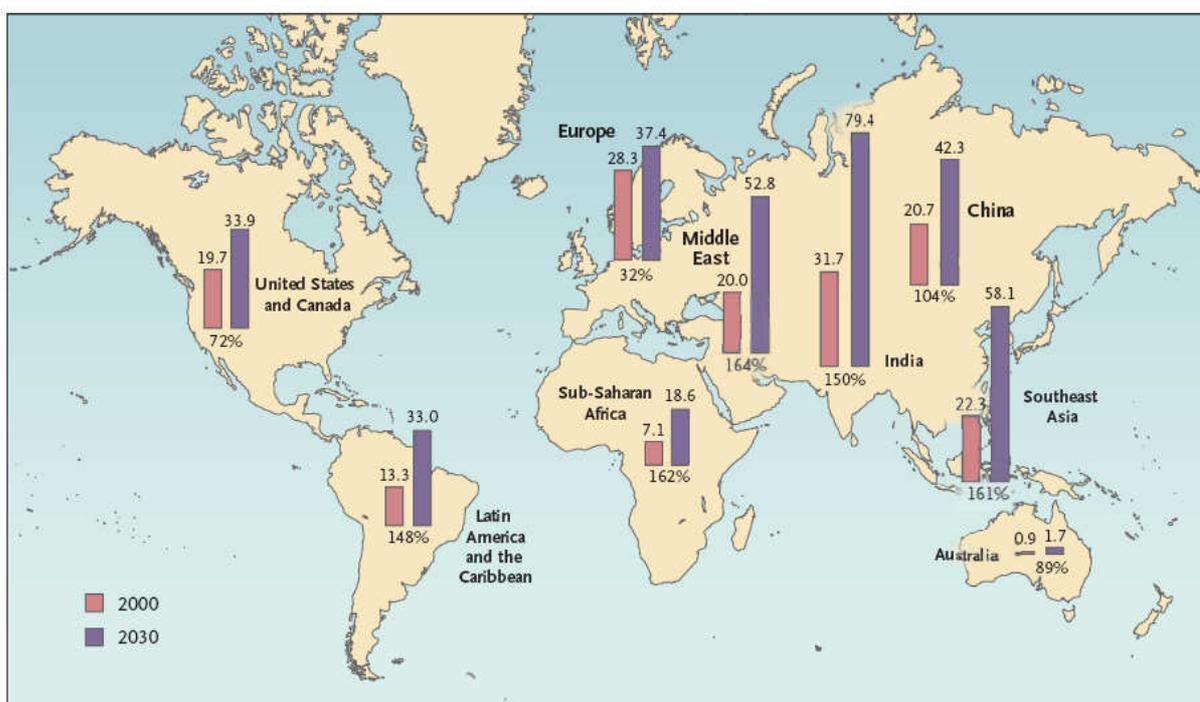


Figura 1 – Incidência mundial do diabetes Mellitus tipo II (milhões de pessoas). (HOSSAIN et al., 2007).

Uma das principais causas da resistência à insulina no músculo esquelético está na elevada disponibilidade de energia na forma de triacilglicerol intramuscular (IMTG). Esta alta disponibilidade de IMTG está associada à alteração do estado redox (estresse oxidativo), baixa atividade do ciclo do ácido tricarboxílico e β -oxidação, causando resistência à insulina (SILVEIRA et al., 2008; KELLEY et al., 2008).

Nessas condições, uma produção elevada de EROs poderia inibir a aconitase, aumentando as concentrações intracelulares de citrato. Uma vez em concentração elevada, o citrato poderia reduzir o fluxo glicolítico, conforme descrito anteriormente, pelo ciclo glicose-ácido graxo. As EROs podem ainda inibir a α -cetoglutarato desidrogenase, seguido de um menor potencial de membrana ($\Delta\psi$) como resultado de menor disponibilidade de NADH gerado pela baixa atividade do CAT (TANIGUCHI et al., 1996; SILVEIRA et al., 2007). Um desequilíbrio do estado redox intracelular imposto pela elevada disponibilidade de ácidos graxos e baixa concentração de antioxidantes poderia favorecer o acúmulo de EROs, inibindo a atividade mitocondrial.

Uma elevada capacidade antioxidante, induzida pela contração muscular, poderia elevar a quantidade intracelular de glutathiona (GSH), favorecendo a capacidade mitocondrial, aumentando a atividade anaplerótica via aumento das enzimas piruvato carboxilase (PC) e alanina aminotransferase (AAT). Essas alterações em conjunto podem favorecer a expansão do CAT, o consumo de substratos, a atividade da β -oxidação dos ácidos graxos e melhora na resposta a insulina.

2 Metodologia

Os conhecimentos na área da saúde são atualizados a cada minuto, visto a quantidade de trabalhos, artigos e teses que são produzidos ao redor do mundo. Fato este potencializado pelo aumento exponencial de cursos de pós-graduação e incentivo a produção científica. Neste sentido, vê-se a necessidade de trabalhos que analisem grande parte de todo este material, comparando e sintetizando-os, contribuindo assim com os conhecimentos da área.

Desta forma, este trabalho se baseia numa vasta revisão literária dos conhecimentos apresentados na comunidade acadêmica, principalmente nos últimos anos, sobre a resistência à insulina e sua relação com os processos anapleróticos, metabolismo mitocondrial, consumo de substratos e o exercício físico.

De acordo com Mancine e Sampaio (2006):

“Revisões da literatura são caracterizadas pela análise e pela síntese da informação disponibilizada por todos os estudos relevantes publicados sobre um determinado tema, de forma a resumir o corpo de conhecimento existente e levar a concluir sobre o assunto de interesse [...]. Revisão crítica da literatura, também conhecida como estudos de revisão passiva (sintetizam estudos sobre um tema) ou revisões opinativas (analisam a evidência existente sobre um assunto), são estudos nos quais os autores resumem, analisam e sintetizam as informações disponibilizadas na literatura [...].(MANCINE E SAMPAIO, 2006, p.361).”

Diante do proposto, desenvolveu-se este trabalho por meio de apreciações de diversos artigos produzidos e publicados em revistas academicamente reconhecidas. Assim, objetivamos um trabalho com melhor qualidade, realizando uma análise criteriosa, comparando as informações obtidas nos artigos originais, para gerar, se não dados completamente irrefutáveis sobre o tema, ao menos novas evidências e conclusões parciais importantes no entendimento global e específico destes processos.

3 Captação de glicose pelas células musculares

A glicose não pode ser difundida pela membrana da célula muscular em razão do seu elevado peso molecular. Sua captação, portanto, é mediada por dois mecanismos distintos: um dependente e outro independente de insulina (IHLEMANN et al., 1999). O caminho dependente de insulina ocorre através da ligação da insulina ao seu receptor na membrana celular. Este receptor é uma proteína heterotetramérica que apresenta atividade quinase, composta por duas subunidades α e duas subunidades β . A subunidade α é extracelular e contém o sítio de ligação para insulina. Ao passo que a subunidade β é uma proteína transmembrana que irá transmitir o sinal, para que ocorra a mobilização do GLUT-4 (transportador de glicose) até a membrana celular. Esta subunidade (β) do receptor insulínico possui atividade tirosina quinase.

Quando a insulina se liga ao seu receptor, inicia-se a ativação, com conseqüente processo de autofosforilação em tirosina (PETERSEN et al., 2004). Nesse processo, ocorre a fosforilação de uma família de substratos do receptor de insulina (IRS 1/2) também em tirosina (CORCORAN et al., 2007; PETERSEN et al., 2004). O IRS-1/2 quando fosforilados em tirosina apresentam sítios de ligação para as fosfatidilinositol 3-quinases (PI3-K) ativando-as através da ativação da subunidade p85 e da catalítica p110. A via da PI3-K, portanto, ativa proteínas como a fosfoinositol 3-fosfato (PIP3) que por sua vez ativa a 3-fosfatodilinositol-dependente de proteína quinase 1 (PDK1) (CORCORAN et al., 2007; FROSIG et al., 2007; TANIGUCHI et al., 1996). Esta proteína ativa outras na cascata como a p70S6K, Akt (proteína quinase B/PKB) e atípica proteína quinase C (α , β , γ , δ , ϵ , ζ , η , θ , ι , λ) (TANIGUCHI et al., 1996).

Quando ativadas elas mobilizam vesículas contendo GLUT-4 do “pool” intracelular até a membrana da célula muscular (Figura 2). A Akt possui um substrato muito importante na translocação do GLUT-4, o AS160 (proteína RabGAP). A Akt fosforila e inibe o AS160 GAP, permitindo que a Rab fique numa forma ativa, configurando uma etapa importante na mobilização de GLUT-4.

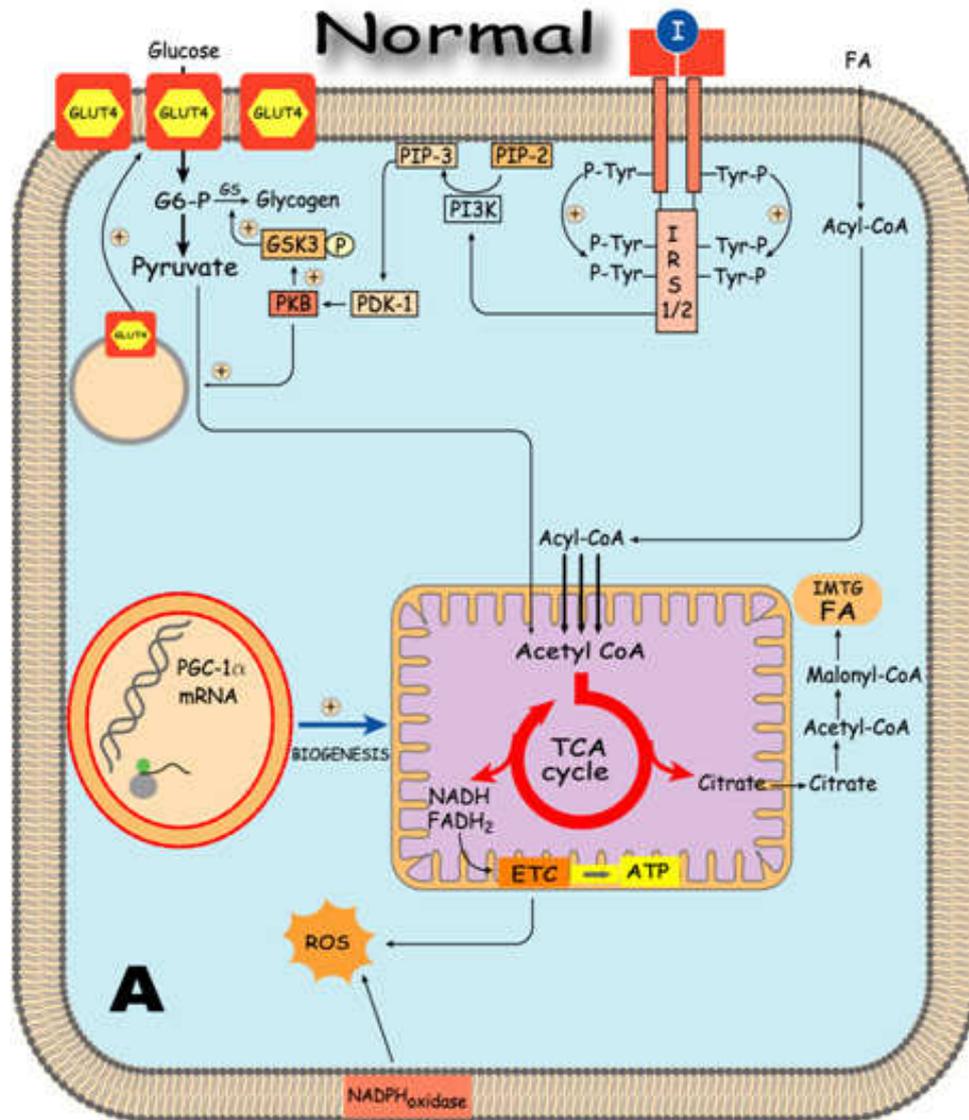


Figura 2 – Via de sinalização de insulina em músculo esquelético: mobilização de GLUT-4 para a membrana celular e transporte de glicose. (Adaptado de SILVEIRA et al., 2008).

Com o GLUT-4 na membrana, a glicose presente na corrente sanguínea é transportada para o meio intracelular para ser utilizada como fonte de energia pela glicólise ou para a formação de glicogênio através da glicogênese.

O mecanismo independente de insulina para captação de glicose está relacionado com a ativação de GLUT-1 no estado basal, ou seja, na ausência de insulina. Ou

ainda pela ativação do GLUT-4 durante a contração muscular. Deste modo a captação pode ocorrer por dois mecanismos: a) despolarização da membrana e túbulos T, estimulando a migração do GLUT-4 para a membrana através de segundos mensageiros, como o Ca^{2+} , e espécie reativa de oxigênio. Este é considerado um mecanismo de “feedforward”, por ocorrer antes mesmo da necessidade extra de glicose intracelular; e b) a outra via está relacionada com o requerimento de energia para a contração muscular. Este é considerado um mecanismo de “feedback” positivo, em razão da necessidade de glicose para o fornecimento de energia.

Durante a contração muscular, os níveis de ATP intracelular diminuem, aumentando o conteúdo de ADP (WOJTASZEWSKI et al., 1996). A degradação de PCr (fosfocreatina) também contribui para este processo, aumentando a razão ADP/ATP. Nessas condições, a enzima adenilato quinase aumenta a formação de AMP e o pH intracelular reduz pelo processo de hipóxia causado pelas contrações. Todos estes fatores, portanto, contribuem para a ativação da AMPK (AMP quinase). Esta é uma enzima que funciona como um sensor de energia, uma vez ativada desempenha papel importante na translocação do GLUT-4, para que mais glicose seja captada pelas células quando a demanda de energia é elevada.

Além deste processo, a AMPK estimula também a oxidação de ácidos graxos, processo que ocorre via inativação da enzima acetil-CoA carboxilase (ACC) e, conseqüente redução de síntese de malonil-CoA. Este é um conhecido inibidor do processo de β -oxidação (FROSIG et al., 2007; IHLEMANN et al., 1999; SILVEIRA et al., 2006; TANIGUCHI et al., 1996). Desta forma a AMPK estimula o transporte de ácidos graxos pelo sistema carnitina favorecendo a β -oxidação. Uma vez ativado, este mecanismo aumenta o consumo de substratos (Acetil-CoA e piruvato) e produção de energia oxidativa, sugerindo que a atividade anaplerótica (entrada de carbonos no ciclo do (CAT)) esteja elevada, favorecendo assim a expansão de intermediários do ciclo do ácido tricarboxílico.

4 Mecanismo de resistência à insulina na musculatura esquelética

Os mecanismos que levam a resistência à insulina induzem aumento da fosforilação do IRS em serina ou a sua desfosforilação, ocasionando um prejuízo na transmissão do sinal (ROPELLE et al., 2006; SILVEIRA et al., 2006; SILVEIRA et al., 2008). Isso reduz a mobilização de GLUT-4 para a membrana, e conseqüentemente, diminui a captação de glicose pelas células musculares (ITANI et al., 2002; THYFAULT et al., 2007).

Embora o mecanismo ainda não tenha sido totalmente esclarecido, uma das principais causas da resistência à insulina no músculo esquelético, está na elevada disponibilidade plasmática de ácidos graxos livres (HIRABARA et al., 2006). Estes, associados a uma baixa capacidade de oxidação, levam a um acúmulo de triacilglicerol intracelular (IMTG). Esta alta disponibilidade de IMTG está associada à alteração do estado redox (estresse oxidativo) intracelular, baixa atividade do CAT e β -oxidação, causando resistência à insulina.

Estes processos levam as células a uma exposição crônica aos ácidos graxos causando inúmeros problemas e complicações, entre eles, alteração na via de sinalização da insulina e a elevada produção de EROS e ERNs (espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, respectivamente). Essas espécies são responsáveis por ativar o fator nuclear kappaB (NFkB) que promove aumento da transcrição do fator pró-inflamatório de necrose tumoral alfa (TNF- α) reduzindo a sensibilidade à insulina, a capacidade oxidativa mitocondrial e, portanto, reduzindo a oxidação da glicose (SILVEIRA et al., 2008).

Em adição, o elevado conteúdo de ácidos graxos intramusculares (IMTG) leva a um aumento do conteúdo de acil-coenzima A, diacilglicerol (DAG) e ceramidas. O aumento destas substâncias promove alterações na fosforilação de proteínas na via de sinalização da insulina incluindo o IRS-1/2, PI3-quinase e PKC. Além de alterar o estado redox intracelular e reduzir a capacidade oxidativa mitocondrial.

O DAG ativa em serina a proteína quinase C (PKC- θ) (ROLO et al., 2006), que fosforila o IRS-1 no sítio serina/treonina, levando a inibição da fosforilação em tirosina. Este

fato prejudica a associação do IRS-1 com a PI3-K, que por sua vez, diminui a mobilização do transportador de glicose estimulado por insulina (GLUT-4) para a membrana da célula muscular. Interessantemente, a ativação da PKC- θ contribui também para a ativação da via do NF κ B, através da fosforilação do inibidor da NF κ B (I κ B). Uma vez fosforilado, I κ B libera NF κ B que vai do citosol para o núcleo, onde promove a transcrição de TNF- α pró-inflamatório (ITANI et al., 2002).

O aumento da expressão de TNF- α reduz a sensibilidade a insulina, diminuindo a atividade da IRS-1 e PI3-K, além de aumentar a produção de EROs e de estar relacionado com a redução de fosforilação em serina induzida pela insulina da Akt e p70S6K. A elevada produção de EROs estimula a fosforilação em treonina da JNK, uma proteína quinase associada à resistência à insulina, via ativação da PKC- θ (CORCORAN et al., 2007; HELLSTEN et al., 2007) (Figura 3).

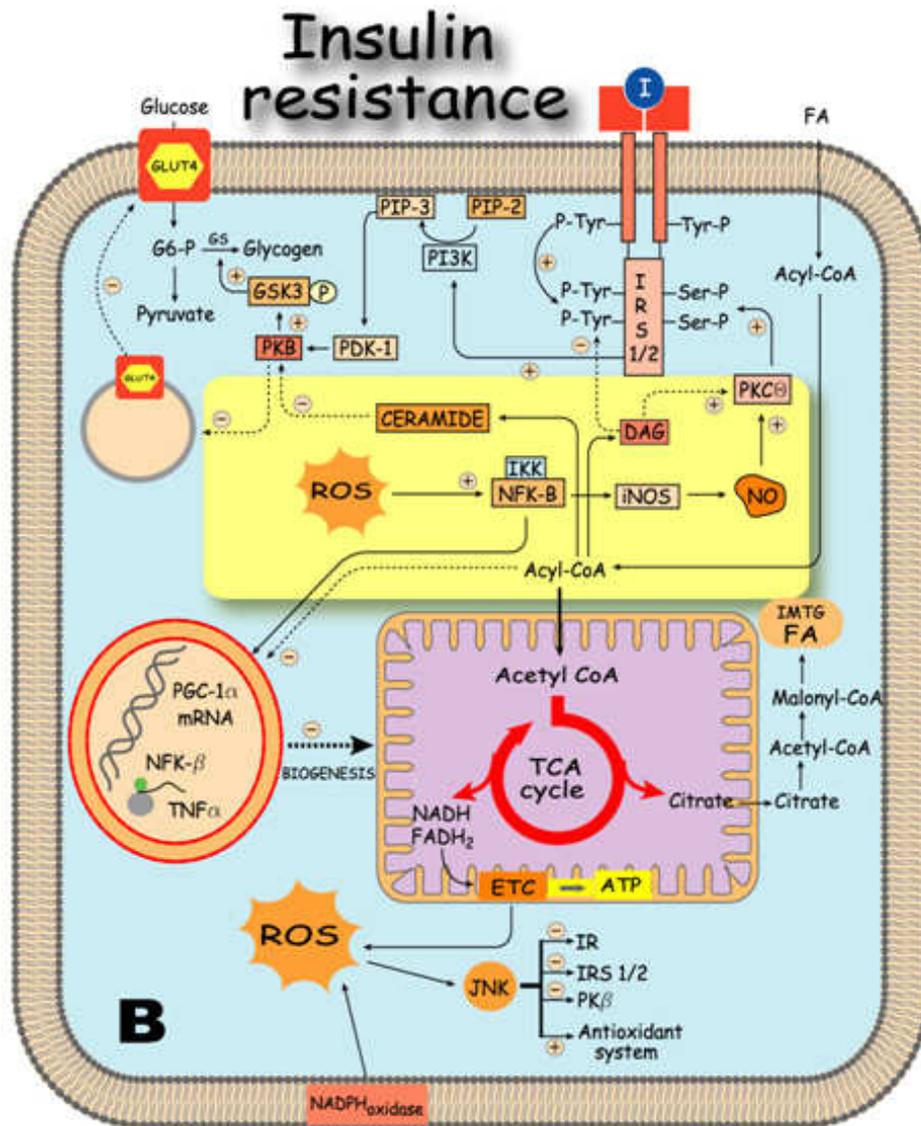


Figura 3 – Mecanismo de resistência à insulina induzida por ácidos graxos em músculo esquelético. (Adaptado de SILVEIRA et al., 2008).

Recentemente, foi demonstrado em ilhotas pancreáticas que a proteína SOCS protege as células secretoras de insulina da ação pró-inflamatória das citocinas (como o TNF- α). Como resultado, foi observado uma melhora na captação de glicose e redução do processo de morte celular (apoptose) (RONN et al., 2008), sugerindo que este mecanismo também possa estar ocorrendo no tecido muscular esquelético e comprovando a relação entre a TNF- α e a deficiência na captação de glicose.

Powell et al. (2004) e Rachek et al. (2007) mostraram que o exercício físico de intensidade moderada aumenta a captação de glicose diminuindo o conteúdo de ceramidas (derivados de fosfolípidios) em músculo esquelético. Este efeito pode estar associado à redução da atividade da enzima esfingomielinase (responsável pela produção de ceramidas), indicando um efeito negativo das ceramidas na sinalização intramuscular durante a captação/oxidação da glicose. Nesse processo, ocorre uma inibição da ativação da PKB (Akt), que é uma proteína importante na transmissão do sinal da insulina e conseqüentemente captação de glicose. A inibição da PKB ocorre pela via da PKC que fosforila a PKB em detrimento da sua fosforilação via PDK, que faria com que a PKB transmitisse o sinal de translocação de GLUT-4 para a membrana plasmática.

O acúmulo de ceramidas intracelulares também é associado a apoptose e elevada atividade de síntese de óxido nítrico (iNOS), aumentando a produção intracelular de óxido nítrico (NO). O NO é uma espécie reativa de nitrogênio (ERN), portanto, uma substância adicional causadora dos efeitos acima descritos, como alteração do estado redox intracelular, estresse oxidativo, peroxidação lipídica e promovendo a resistência à insulina (RACHEK et al., 2007; TURPIN et al., 2006).

Como demonstrado em miotubos L6 (uma linhagem de células musculares esqueléticas), o ácido palmítico induz redução da captação de glicose e elevação de ceramidas, NO e DAG intracelulares (CURI et al., 2008; POWELL et al., 2004; RACHEK et al., 2007), mostrando que o elevado conteúdo intramuscular de ácidos graxos favorece os mecanismos relacionados à resistência a insulina. Portanto, atualmente há um consenso formado mostrando a associação entre o conteúdo de ácidos graxos intracelulares, alteração do estado redox e redução da capacidade mitocondrial em células do músculo esquelético (FROSIG et al., 2007; PETERSEN et al., 2004; POWELL et al., 2004; SILVEIRA et al., 2008; THYFAULT et al., 2007;).

Curiosamente, indivíduos fisicamente treinados exibem um elevado conteúdo intramuscular de ácidos graxos. Porém, ao contrário de indivíduos sedentários, apresentam elevada capacidade mitocondrial (VO_2 max – determinante na manutenção da elevada taxa de oxidação de carboidratos) e antioxidante (sendo altamente sensíveis a insulina), sugerindo que a baixa capacidade mitocondrial associada ao aumento de espécies reativas de oxigênio são, de fato, dois importantes fatores indutores de resistência a insulina (SILVEIRA et al., 2008).

Além deste fato, também observa-se que atletas de elite são capazes de alcançar altos níveis na razão carboidratos/lipídios, indicando que utilizam predominantemente carboidratos (glicose) durante exercícios de longa duração. Isto deve estar ocorrendo graças à anaplerose elevada à custa de carboidratos (oxaloacetato, α -cetoglutarato e malato). (SILVEIRA et al., 2008).

Kelley et al. (2008) em um interessante estudo demonstraram que indivíduos normais quando submetidos a jejum de 8 horas, oxidam predominantemente ácidos graxos. Ao passo que, após receberem uma dieta rica em glicose (situação de elevada concentração plasmática de insulina), esses indivíduos oxidam predominantemente glicose. Apresentando, portanto, uma grande flexibilidade metabólica entre a oxidação de lipídios e glicose. Em contraste, indivíduos obesos e resistentes a insulina após 8 horas de jejum oxidam predominantemente glicose como demonstrado pelo elevado valor do coeficiente respiratório (QR) – CO_2 produzido/ O_2 consumido. Ao passo que, após receberem uma dieta rica em glicose, estes indivíduos não alteraram a predominância entre a oxidação de glicose e lipídios. Exibindo, portanto, uma forte inflexibilidade metabólica (figura 4).

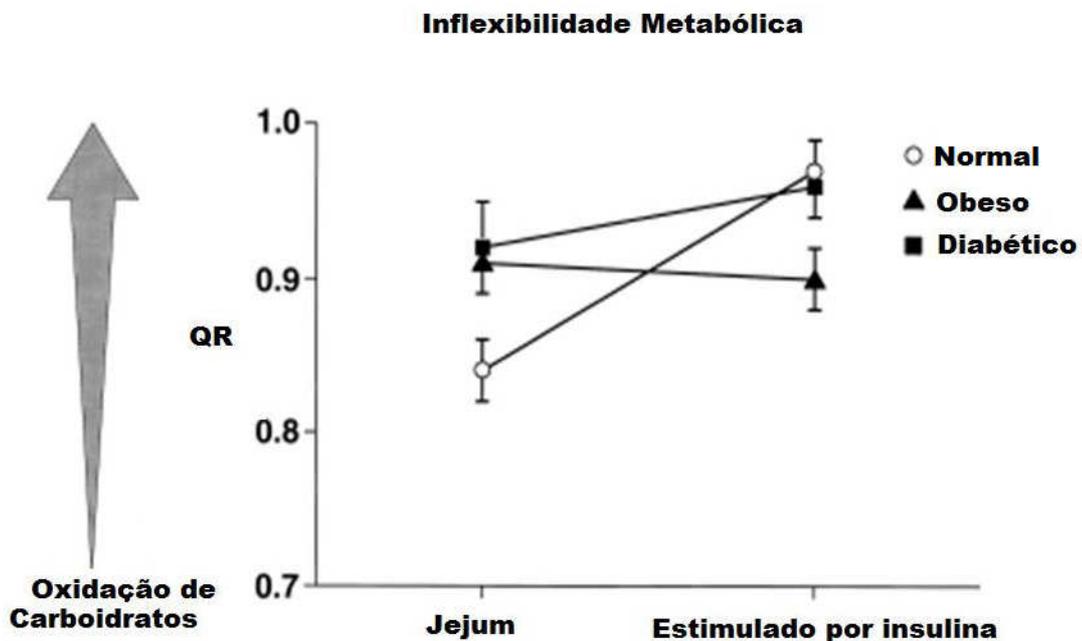


Figura 4 – Velocidade de oxidação de carboidratos em diferentes condições (jejum e estimulados por insulina) e em diferentes indivíduos (normais, obesos e diabéticos). (Adaptado de KELLEY et al., 2008).

A baixa capacidade em oxidar lipídios nos indivíduos resistentes à insulina sugere um comprometimento da β -oxidação e, conseqüentemente, favorecimento da síntese de ácido graxo. Embora as causas desse processo sejam desconhecidas, é provável que esteja ocorrendo um comprometimento da atividade do ciclo do ácido tricarboxílico (CAT), reduzida anaplerose e, portanto, baixa capacidade de produção de energia oxidativa (SILVEIRA et al., 2007). Considerando a associação entre o potencial oxidativo e atividade antioxidante, é provável que uma reduzida atividade mitocondrial diminua a capacidade do sistema antioxidante.

Em situações nas quais a produção de EROs é aumentada, o superóxido exerce um potente efeito inibidor sobre a enzima aconitase (que transforma citrato em isocitrato no CAT), por um mecanismo envolvendo a oxidação do ferro, um importante co-fator dessa enzima (HIRABARA et al., 2007; SILVEIRA et al., 2008). Embora a aconitase não seja uma enzima reguladora do ciclo do ácido tricarboxílico (ΔG^+), com uma diminuição na atividade dessa enzima o fluxo de substratos poderia ser menor. Segundo foi descrito anteriormente, a diminuição da atividade do CAT poderia reduzir a disponibilidade de agentes redutores, NADH e $FADH_2$, para a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, comprometendo a síntese de ATP, a β -oxidação e, conseqüentemente, o consumo de substratos. Embora ainda existam poucas informações a esse respeito, uma redução significativa na atividade da aconitase foi verificada em músculo esquelético de pacientes com alta intolerância ao exercício físico, aumentando as suspeitas de que uma redução na performance durante a atividade muscular pode ser mediada por aumento de EROs (SILVEIRA et al., 2008).

Este mecanismo, conforme proposto por Gardner e Fridovitch (1991), poderia servir como retroalimentação negativa para as células musculares em situação de estresse oxidativo elevado. Em contraste, a aconitase pode ser reativada pela regeneração do ferro, às custas de grupos tióis, incluindo principalmente a glutathiona (GSH) (GARDNER et al., 1991).

Porém, em situações de elevada disponibilidade de ácidos graxos e baixa capacidade antioxidante, como ocorre em músculos resistentes à insulina, esse mecanismo de inibição do fluxo no CAT pode ser fortemente favorecido. Nessas condições, uma produção elevada de EROs poderia inibir a aconitase, aumentando as concentrações intracelulares de citrato. Uma vez em concentração elevada, o citrato poderia reduzir o fluxo glicolítico, conforme descrito anteriormente, pelo ciclo glicose-ácido graxo (RANDLE et al., 1963; SILVEIRA et al., 2008) (figura 5).

90 minutos (visto que em atletas de resistência este tempo aumentaria). Isto nos mostra a tamanha diferença entre os estoques lipídicos e de carboidratos, sendo os primeiros muito mais abundantes no corpo humano. Até porque os lipídios são hidrofóbicos, enquanto os carboidratos hidrofílicos, ocupando estes últimos, um maior espaço para seu armazenamento.

Assim, em repouso ou em atividade física leve e moderada, parece lógico que o corpo utilizará os ácidos-graxos para a produção energética, não precisando utilizar as reservas de glicogênio, que serão utilizadas quando realmente forem necessárias, como no caso de exercícios de alta intensidade, com grande necessidade energética em pouco tempo (figura 6).

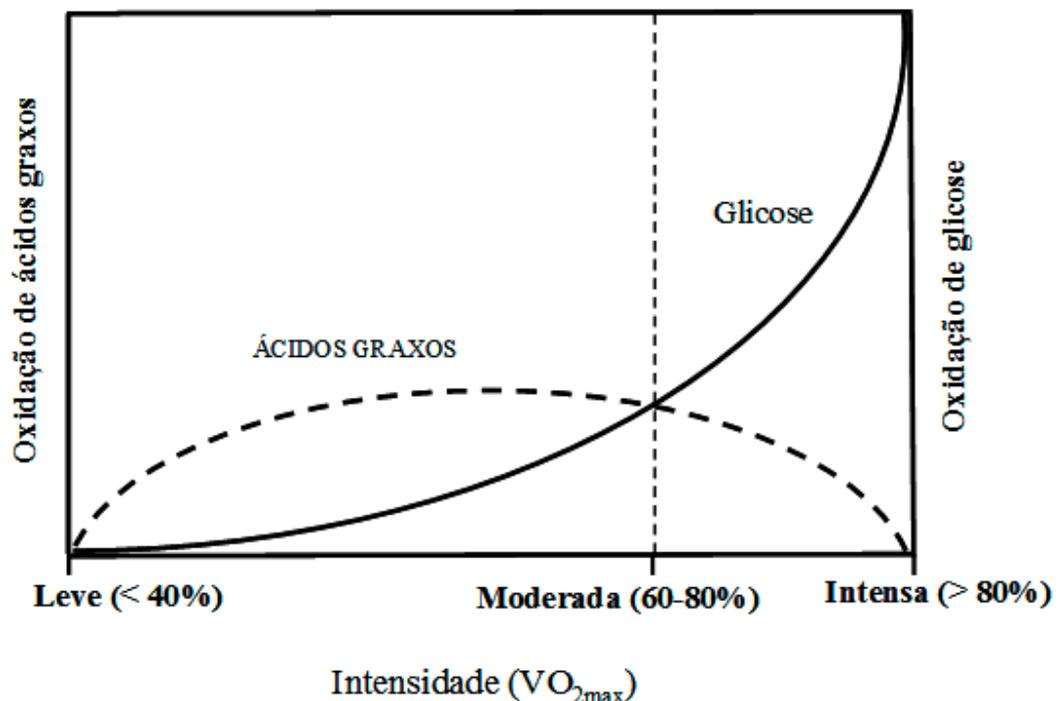


Figura 6 – A intensidade de exercício físico influenciando o predomínio da oxidação dos substratos energéticos (ácidos-graxos e glicose). (Adaptado de SPRIET, 2002).

Desta forma, a produção energética é condizente com a demanda metabólica imposta pela regulação do nível de contração muscular. Entretanto, outros fatores estão envolvidos com a maior oxidação de carboidratos ou de lipídios em dada ocasião. Uma vez que haja uma dieta hiperlipídica, em um indivíduo normal no repouso, por exemplo, a oxidação de lipídios é aumentada em relação aos carboidratos (RANDLE et al., 1963).

O mesmo acontece no caso contrário do elucidado. Ou seja, é um processo complexo, que depende de muitos fatores como: nível de treinamento, dieta, intensidade e duração do exercício físico (ARKINSTALL et al., 2004). Fato este que pode ser descrito através da seguinte comparação entre sedentários e atletas de elite. Os primeiros, durante uma atividade moderada, utilizam predominantemente carboidratos como fonte energética, apresentando baixa capacidade de manter-se em atividade por longos períodos.

Em contraste, os atletas oxidam predominantemente lipídios quando em atividade moderada, apresentando maior capacidade mitocondrial e reservando os carboidratos para quando forem realmente necessários. Neste caso o ciclo glicose-ácido graxo explica o aumento da capacidade muscular de manter-se em atividades de longa duração, uma vez que há um predomínio da oxidação lipídica em detrimento da oxidação da glicose.

A figura 5 demonstra o mecanismo envolvido no ciclo glicose-ácido graxo. Observa-se que numa situação de elevada oxidação lipídica há um aumento de concentrações de acetil-CoA/CoA-SH seguido por um aumento no conteúdo intracelular de citrato e glicose-6-P. Em quantidade elevada o acetil-CoA tem uma ação inibitória sobre a enzima piruvato desidrogenase (PDH) fazendo com que a oferta de piruvato, proveniente da glicólise, reduza como substrato energético. Concomitantemente, um aumento no conteúdo de citrato, como já elucidado acima, inibe, também, o fluxo glicolítico através da inibição alostérica da enzima fosfofrutoquinase (PFK), que é reguladora da via glicolítica.

O acúmulo de ATP age somando-se ao efeito inibidor da PFK pelo citrato. Desta forma, a razão Glicose-6-fosfato/Frutose-1,6-2P aumenta, inibindo a hexoquinase, que é a enzima responsável pela captação da glicose e sua seguinte transformação em Glicose-6-fosfato, portanto reduzindo a quantidade de glicose intracelular para a produção energética.

Uma vez que a oxidação de carboidratos esteja elevada, numa situação de alta intensidade de exercício, ou após uma dieta rica em carboidratos, por exemplo, há um aumento nas concentrações de AMP, ADP, NH_4^+ (íon amônio) e Pi (fosfato inorgânico) (NEWSHOLME, 1999; RANDLE et al., 1963), que são potentes ativadores da PFK, apresentando, portanto, efeito inverso do ATP, o que beneficia o fluxo glicolítico. Além disso, em alta intensidade de contrações, há uma maior utilização de fibras tipo II (glicolíticas) havendo um acúmulo de lactato e H^+ , com conseqüente inibição da oxidação de lipídios (HAWLEY, 2002; SPRIET, 2002),

através da inibição do sistema carnitina palmitoiltransferase (CPT-I), sistema transportador de acil-CoA para a matriz mitocondrial (figura 5).

Em adição, em exercícios muito intensos, há a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais também possuem efeito inibitório sobre o sistema CPT-I, reduzindo sua expressão de mRNA (SILVEIRA et al., 2008). Com tratamento antioxidante, este efeito pode ser revertido, confirmando a afirmação anterior. Deste modo, há uma diminuição da disponibilidade de acil-CoA como substrato para oxidação mitocondrial, favorecendo a via glicolítica.

Além disso, o citrato exerce efeito direto negativo na atividade da citrato sintase. Esta enzima apresenta atividade longe do equilíbrio (ΔG^-) e, portanto, exerce função reguladora no ciclo do ácido tricarboxílico (CAT) (PETERSEN et al., 2003). Em outros estudos, tem sido verificado ainda que um desequilíbrio do estado redox intracelular possa favorecer a inibição de outras enzimas importantes do metabolismo durante o processo de contração muscular, como a creatina quinase (PETERSEN et al., 2003), gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (PETERSEN et al., 2003) e cadeia de transporte de elétrons (CURI et al., 2008; PETERSEN et al., 2003; RANDLE et al., 1963).

Esse mecanismo pode explicar, pelo menos em parte, a redução na capacidade mitocondrial observada nessas condições. Interessantemente, a disponibilidade de NADH foi reduzida por inibidores da aconitase, somente quando a enzima α -cetoglutarato desidrogenase foi paralelamente bloqueada. Essas observações nos permitem concluir que, mesmo com a inibição da aconitase, o suprimento de NADH para a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial é mantido, provavelmente às custas de reações anapleróticas, capazes de aumentar o conteúdo de α -cetoglutarato desidrogenase na primeira metade do CAT (lado direito), incluindo as enzimas alanina aminotransferase (AAT), aspartato aminotransferase (ASPAT) e glutamato desidrogenase (GDH).

Igualmente importante ao efeito do superóxido, outras espécies incluindo o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), óxido nítrico (NO) e peróxinitrito (ONOO) podem também inibir a atividade da aconitase (PETERSEN et al., 2003; SILVEIRA et al., 2003; SILVEIRA et al., 2008). Um aumento nas concentrações de H_2O_2 poderia reduzir ainda a atividade de uma das principais enzimas reguladoras do CAT, a α -cetoglutarato desidrogenase (ΔG^-) (SILVEIRA et al., 2003; SILVEIRA et al., 2007), seguido de um menor potencial de membrana ($\Delta\psi$) como

resultado de menor disponibilidade de NADH gerado pela baixa atividade do CAT (CURY-BOAVENTURA et al., 2008).

Um desequilíbrio do estado redox intracelular imposto pela elevada disponibilidade de ácidos graxos e baixa concentração de antioxidantes poderia favorecer o acúmulo de EROs, conseqüentemente inibindo a atividade mitocondrial (figura 7). Nessas condições, um aumento na capacidade antioxidante intracelular poderia promover a manutenção do equilíbrio redox, favorecendo a atividade oxidativa mitocondrial.

Uma elevada capacidade antioxidante, induzida pela contração muscular ou tratamento com o doador de cisteína (N-acetil-cisteína, NAC), um potente indutor do aumento no conteúdo intracelular de glutathiona (GSH), pode favorecer a capacidade mitocondrial. Recentemente Silveira et al. (2003), demonstraram em cultura de células musculares que o sistema glutathiona tem uma capacidade antioxidante maior comparado à enzima catalase, sugerindo que pelo menos em células do músculo esquelético, o sistema GPX/GSH (glutathiona peroxidase/glutathiona reduzida) seja a primeira linha de defesa contra os efeitos negativos do H₂O₂, favorecendo o equilíbrio redox (OTTON et al., 2007).

Nessas condições, a atividade mitocondrial pode ser elevada, aumentando a atividade anaplerótica via aumento da atividade das enzimas piruvato carboxilase (PC), AAT, ASPAT e GDH (PICARDI et al., 2008). Essas alterações em conjunto podem favorecer a expansão do CAT, o consumo de substratos, a atividade da β-oxidação dos ácidos graxos e melhora na resposta a insulina (REID, 2008).

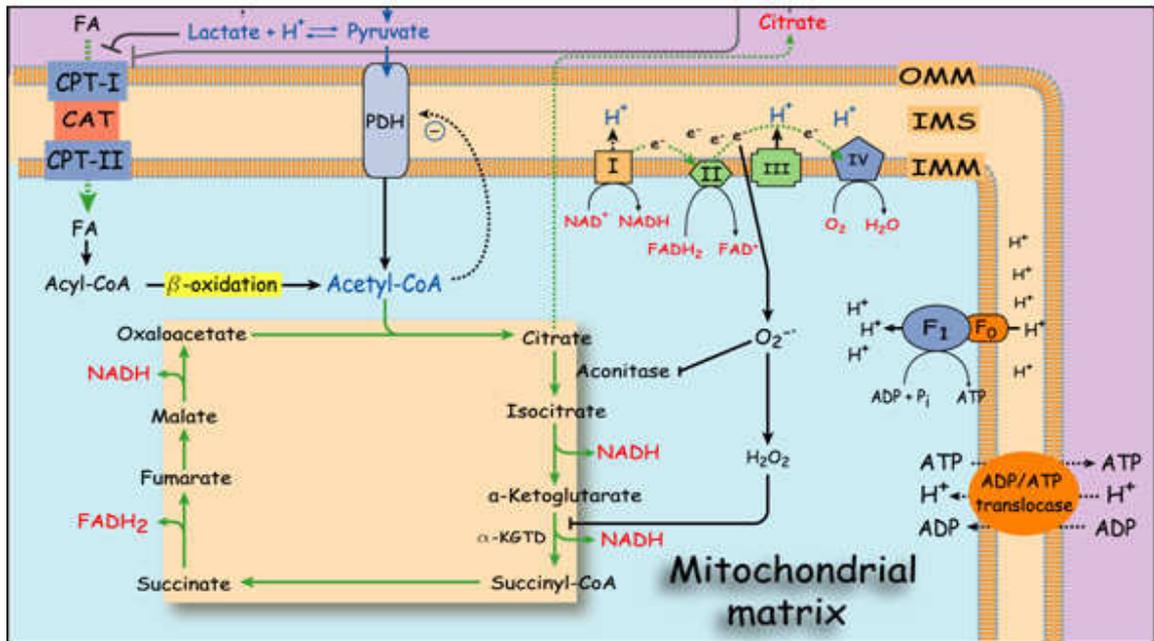


Figura 7 - Produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) – O_2^- (superóxido) e H_2O_2 (peróxido de hidrogênio), e sua ação inibitória sobre a aconitase e α -cetoglutarato desidrogenase, reduzindo o fluxo de substratos no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA). (Adaptado de Silveira et al., 2007).

5 Relações entre exercício físico e resistência à insulina

Como já colocado acima, o exercício físico, por si só já induz uma maior captação de glicose através das contrações musculares (e conseqüente hipóxia) por mecanismos independentes de insulina, envolvendo feedforward e Ca^{2+} , feedback e moléculas como a AMPK (que sinaliza a falta de energia nas células), promovendo a captação de glicose independente de insulina (Jessen et al., 2005).

Podemos explorar melhor os efeitos (agudos e crônicos) dos exercícios físicos (tanto em treinamento de força – resistidos – quanto em treinamentos aeróbios) na captação de glicose dependente de insulina. Já é bem descrita na literatura a ação benéfica do exercício físico sobre a sensibilidade à insulina, fazendo com que a ação insulínica na captação de glicose em músculo esquelético possa ser potencializada (CORCORAN et al., 2007; FROSIG et al., 2007; HOLTEN et al., 2004; IHLEMANN et al., 1999; JESSEN et al., 2005; SILVEIRA et al., 2006; THYFAULT et al., 2007). Isto pode ser observado tanto em indivíduos sensíveis à insulina quanto nos resistentes à insulina e com diabetes tipo 2 ou obesidade. Ainda assim, os mecanismos ainda não são completamente claros.

Frosig et al. (2007) nos mostram num interessante estudo, que após 3 semanas de treinamento aeróbico em uma perna, a captação de glicose estimulada por insulina foi significativamente aumentada com relação à músculos não treinados. Aumentando, desta forma, a expressão de proteínas como GLUT-4, Akt, AS160 (as duas últimas aumentando, também, a atividade/fosforilação). Além do que, o treinamento promoveu melhora nos efeitos hemodinâmicos, possibilitando uma melhora na distribuição da insulina e glicose. Essas adaptações vêm ao encontro do aumento da captação de glicose estimulada por insulina, pois são proteínas diretamente ligadas à cascata de sinalização insulínica em músculo esquelético.

Num outro estudo, pode-se observar que foi maior o conteúdo de IRS-1 associado à atividade da PI3-K em resposta à estimulação de insulina em indivíduos treinados comparados a não-treinados (KIRWAN et al., 2000). Esse aumento da associação de IRS-1 à

atividade da PI3-K nos mostra, pelo menos neste caso, que a via de captação de glicose insulino-estimulada está potencializada.

Em vários estudos pode-se observar que tanto exercícios de força quanto exercícios aeróbicos promovem uma melhora na resposta insulínica (CORCORAN et al., 2007; FROSIG et al., 2007; HARDIN et al., 1995; HJELTNES et al., 1998; HOLTEN et al., 2004), o que nos leva a propor que esta melhora se deve mais à contração muscular regular em si do que à intensidade do treinamento aplicado. Num interessante estudo de Holloszy (2005) é possível observar que na medida em que a resposta aguda do exercício – melhorando a captação da glicose através da via independente de insulina – começa a parar de fazer seu efeito, ela é substituída por um aumento da sensibilidade à insulina. E este aumento de sensibilidade não depende de uma maior síntese de insulina.

Thyfault et al. (2007) demonstraram que efeitos agudos das contrações na sensibilidade à insulina também podem ser encontrados em músculos de ratos Zucker obesos resistentes à insulina. Neste estudo, o autor observou que os ratos obesos após sessões de exercícios apresentavam sensibilidade à insulina em níveis parecidos com os controles magros. Como demonstrado acima, a exposição crônica aos lipídios faz com que seu efeito tóxico prejudique a sinalização da insulina nas células. Com as contrações foi possível observar um aumento na oxidação destes lipídios acumulados graças a uma maior oxidação mitocondrial de ácidos graxos, diminuindo assim o conteúdo intramuscular de triacilglicerol. Mesmo com o conteúdo de diacilglicerol (DAG) e acil-CoAs de cadeia longa (LCACoA) se mantendo nos mesmos níveis (ou até aumentando no referido estudo) a cascata de sinalização da proteína AS160 foi parcialmente restaurada após as contrações.

Isto nos mostra que a melhora na cascata de sinalização da insulina (melhorando a sensibilidade insulínica) está mais relacionada com uma melhora na oxidação mitocondrial (BRUCE et al., 2003; GOODPASTER et al., 2003; PERDOMO et al., 2004; PRUCHNIC et al., 2004; THYFAULT et al., 2007) do que com os níveis de DAG e LCACoA. Já foi demonstrado que o exercício crônico é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina em humanos com diabetes tipo 2 e obesos mesmo com níveis de LCACoA estáveis (BRUCE et al., 2004). Ou seja, a sensibilidade à insulina parece estar mais relacionada com a capacidade de oxidação sistêmica de ácidos graxos, capacidade aeróbica corporal e a capacidade de oxidação

muscular (maior atividade da β -hidroxiacil-CoA-desidrogenase e citrato sintase) do que aos níveis de lipídios intramusculares (LYNGE et al., 2001).

Com isso podemos observar a tamanha importância dos exercícios físicos, uma vez que mantém elevada a atividade mitocondrial (gerando um maior “turnover” de substratos energéticos, o que diminui o efeito tóxico de lipídios) para melhorar a sensibilidade à insulina.

Além disso, os exercícios físicos aeróbicos promovem maior biogênese mitocondrial, maior atividade da cadeia de transporte de elétrons (MENSHIKOVA et al., 2006), aumentam a densidade capilar e o fluxo sanguíneo, reduzem as concentrações de TNF- α (que é um dos fatores envolvidos na resistência à insulina) aumentando a expressão de GLUT-4. Por outro lado, os exercícios resistidos são capazes de aumentar a capacidade de estocar glicose no corpo todo, graças a um aumento da massa muscular. Já foi demonstrado que uma simples sessão de exercícios resistidos é capaz de melhorar a sensibilidade à insulina por até um dia depois de terminado o exercício (KOOPMAN et al., 2005). Os exercícios, principalmente os de média-longa duração e intensidade alta devem ser mantidos à custa de reações anapleróticas, mantendo, desta forma, o fluxo de substratos para o ciclo de ácido tricarboxílico (CAT).

Com isso a produção de energia através da oxidação de carboidratos não cessa, podendo manter alta a razão de ATP por tempo, necessária nestas condições. A anaplerose, portanto, se mostra como fator muito importante na manutenção do exercício físico, aumentando o consumo de substratos e reduzindo a resistência à insulina (BEFROY et al., 2008). Em um interessante estudo de Sorokina et al. (2007), as reações anapleróticas (juntamente com o aumento do mRNA da enzima málica) foram consideradas respostas adaptativas ao déficit de oxidação da glicose via complexo piruvato desidrogenase (PDC) e limitada oxidação de ácidos graxos em corações hipertrofiados.

Desta forma, ou seja, através da entrada de substratos intermediários no CAT, o fluxo deste ciclo se manteria relativamente normal. Isto nos mostra que as reações de anaplerose neste caso estariam sendo utilizadas como uma forma de suprir uma falta de eficiência do uso do carbono para síntese de energia no miocárdio, mantendo, de forma não otimizada a produção de ATP e a função contrátil do coração. Assim, estas adaptações podem estar indicando uma possível falha do miocárdio futuramente (SOROKINA et al., 2007).

Relacionando este caso com a musculatura esquelética, é possível que a anaplerose esteja ativa de forma a suprir um déficit na produção energética, tanto em atletas, nas

provas de alta intensidade e duração média-longa, por exemplo, quanto em sedentários em exercícios intensos, moderados ou até leves, dependendo de cada pessoa e sua condição física (BEFROY, et al., 2008). Necessita-se de estudos futuros que meçam a atividade de enzimas anapleróticas, em sedentários, pessoas ativas e atletas, em diferentes intensidades de exercícios, para que estas suposições possam ser melhores elucidadas.

É de primordial importância que as pessoas (acima de tudo as obesas, com diabetes tipo II e/ou resistentes à insulina) se conscientizem da importância da execução de exercícios físicos regulares, tanto aeróbios quanto resistidos, e diminuam a ingestão de ácidos graxos saturados, para desta forma, poderem prevenir a resistência à insulina e melhorar sua sensibilidade a insulina (CORCORAN et al., 2007; CURI et al., 2007), somados a todos os outros fatores benéficos que os exercícios físicos e dieta adequados podem promover para a saúde e qualidade de vida.

6 O papel da proteína desacopladora mitocondrial (UCP-3) na modulação do metabolismo de glicose e ácido graxo

Muitos estudos (HELLSTEN et al., 2007; HIRABARA et al., 2006; HJELTNES et al., 1998; PERDOMO et al., 2004; SCHRAUWEN et al., 2003; SILVEIRA et al., 2006; SILVEIRA et al., 2007; SILVEIRA et al., 2008) discorrem sobre os efeitos do desacoplamento mitocondrial, através de UCP's ou através de mecanismos independentes delas. Embora os mecanismos ainda estejam um tanto quanto nebulosos, parece correto que o desacoplamento mitocondrial aumenta o requerimento de substratos energéticos. Enquanto a UCP-1 exerce seu efeito sobre o tecido adiposo marrom, a UCP-2 e 3 aumentam a termogênese no tecido muscular esquelético, exercendo função importante na regulação do metabolismo (SCHRAUWEN et al., 2003).

A UCP-2 é expressa na maioria dos tecidos, enquanto a UCP-3 parece estar restrita ao músculo esquelético. O mecanismo envolvido com as UCP's ainda não foi completamente esclarecido, mas acredita-se que elas transportam H^+ diretamente do espaço intermembrana para a matriz mitocondrial, reduzindo o gradiente de prótons ($\Delta\mu H^+$) e, desta forma, dissipa-se o gradiente redox de formação de ATP. Outra forma de ação da UCP-3 é o lançamento de ânions de ácidos graxos da matriz para o espaço intermembrana, protegendo a mitocôndria contra o acúmulo de ácidos graxos na matriz.

Essas observações acima estão de acordo com o aumento da expressão da UCP-3 em situações em que a disponibilidade de ácidos graxos excede a sua capacidade de oxidação, como é o caso de dietas hiperlipídicas, exercício físico agudo ou até jejum. Em contraste, depois de treinamento aeróbio ou quando há redução de massa corporal, a UCP-3 tem sua expressão diminuída. Nestas condições há um aumento da capacidade de oxidar ácidos-graxos (SILVEIRA et al., 2006). A baixa capacidade de oxidar lipídios encontrada em fibras musculares tipo II, vêm ao encontro do explicitado acima, uma vez que nestas fibras a expressão de UCP-3 é elevada.

Como indicado acima, a UCP-3 faz com que haja uma diminuição da produção de ATP, uma vez que a produção de energia oxidativa é gerada através do gradiente de prótons ($\Delta\mu\text{H}^+$), e o desacoplamento mitocondrial reduz este gradiente. Conseqüentemente há um aumento no consumo de substratos para que a produção de ATP possa ser normalizada, assim como a performance. Evidências atuais revelam que o desacoplamento mitocondrial pode levar a um aumento da oxidação da glicose com conseqüente inibição da oxidação de lipídios. Silveira et al. (2007) demonstraram que o tratamento de culturas de células musculares com o desacoplador mitocondrial DNP (2,4-dinitrofenol) fez com que a produção de lactato aumentasse, o que nos mostra que houve um aumento da contribuição da glicólise para a produção de ATP e procedente diminuição da oxidação de ácidos graxos.

A UCP-3 parece possuir um papel importante na regulação da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) no tecido muscular. Em elevadas concentrações, as EROs no tecido muscular, se mostram como importantes sinalizadoras do desacoplamento mitocondrial. Desta forma, a mitocôndria fica oxidada, consumindo mais oxigênio (O_2), numa tentativa de suprir o déficit de ATP, além de ativar a glicólise anaeróbia (SILVEIRA et al., 2007). Com o consumo aumentado de O_2 , há a diminuição de EROs. Aí podemos observar a importância ímpar que a UCP-3 possui na regulação do metabolismo de carboidratos. Numa dada atividade muscular intensa, com recrutamento de fibras tipo II (com grande quantidade de UCP-3) e elevada produção de EROS, a ativação da UCP-3 desacopla as mitocôndrias, ativando a glicólise anaeróbia em detrimento da oxidação de lipídios.

Embora os efeitos da UCP-3 ainda não possam ser totalmente compreendidos, observa-se a importância que estas proteínas possuem na regulação da produção de EROs, protegendo as células do músculo esquelético do estresse oxidativo e peroxidação lipídica (SILVEIRA et al., 2008), além de desempenharem importante papel na regulação do consumo de substratos energéticos em nosso organismo.

Considerações Finais

A diabetes é uma doença crescente no cenário mundial. E a resistência à insulina está diretamente ligada a essa doença. Vários aspectos devem ser considerados como responsáveis pela resistência à insulina, sendo o principal deles, a elevada disponibilidade de ácidos graxos livres, quando associada a uma baixa taxa de oxidação, levando ao acúmulo de IMTG, ceramidas, acil-Coenzima A e DAG.

Estes processos direta ou indiretamente, elevam a produção de EROS e ERNs, levando ao aumento da produção de citocinas, tais como o TNF- α , alterando o estado redox intracelular, diminuição da atividade do CAT e β -oxidação. Nessas condições, há uma redução do fluxo glicolítico conforme descrito pelo ciclo glicose-ácido graxo, revelando uma redução na capacidade mitocondrial.

Por fim, as reações levam ao aumento da fosforilação do IRS em serina ou a sua desfosforilação, prejudicando na transmissão do sinal e, conseqüentemente, reduzem a mobilização de GLUT-4 para a membrana. Desta forma, caracteriza-se a diminuição de captação de glicose e, portanto, a resistência à insulina.

Assim, uma elevada capacidade antioxidante, conseguida pela ação de substâncias antioxidantes, como, por exemplo, a glutatona, ou através contrações musculares, poderia ter um efeito benéfico, favorecendo a capacidade mitocondrial. Isto, graças à ampliação da atividade anaplerótica (através do aumento da atividade de enzimas como: PC, AAT, ASPAT e GDH). Em consonância, estes processos favoreceriam a oxidação mitocondrial, combatendo, enfim, a resistência à insulina.

Os exercícios físicos são potentes criadores de um ambiente propício à oxidação das reservas energéticas, por meio de maior biogênese e atividade mitocondrial, aumento da atividade anaplerótica, redução das concentrações de TNF- α , maior capacidade de estoque glicolítico, aumento da expressão de GLUT-4. Observamos que, assim como nos exercícios físicos, o aumento do requerimento de substratos energéticos, conseguido através do desacoplamento mitocondrial (com a ação das UCP's), poderia aumentar a oxidação de

substratos, elevando seu “*turn-over*” em nosso organismo, situação requerida para aumentar a sensibilidade à insulina.

Desta forma, a oxidação de reservas energéticas é fator primordial para aumentar a sensibilidade à insulina, mediante a expansão do CAT, o consumo de substratos, atividade da β -oxidação, podendo prevenir ou até mesmo reverter uma situação de resistência à insulina.

Referências

Arkininstall, MJ, Tunstall, RJ, Cameron-Smith, D, Hawley, JA. Regulation of metabolic genes in human skeletal muscle by short-term exercise and diet manipulation. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 287, p.E25-31, 2004.

Befroy DE, Petersen KF, Dufour S, Mason GF, Rothman DL, Shulman GI. Increased substrate oxidation and mitochondrial uncoupling in skeletal muscle of endurance-trained individuals. **PNAS**, v.105, n.43, p. 16701–16706, 2008.

Bruce CR, Anderson MJ, Carey AL, Newman DG, Bonen A, Kriketos AD, Cooney GJ, Hawley JA. Muscle oxidative capacity is a better predictor of insulin sensitivity than lipid status. **J Clin Endocrinol Metab**, v.88, p.5444–5451, 2003.

Bruce CR, Kriketos AD, Cooney GJ, Hawley JA. Disassociation of muscle triglyceride content and insulin sensitivity after exercise training in patients with Type 2 diabetes. **Diabetologia**, v.47,p.23–30, 2004.

Corcoran MP et al. Skeletal muscle lipid deposition and insulin resistance: effect of dietary fatty acids and exercise. **Am J Clin Nutr**, v.85, p.662-677, 2007.

Cury-Boaventura MF, Gorjão R, de Lima TM, Fiamoncini J, Torres RP, Mancini-Filho J, Soriano FG, Curi R. Effect of olive oil-based emulsion on human lymphocyte and neutrophil death. **JPEN J Parenter Enteral Nutr**, v.32, n.1, p.81-7, 2008.

Curi R et al. Effect of a single session of electrical stimulation on activity and expression of citrate synthase and antioxidant enzymes in rat soleus muscle. **European J Appl Physiol**, v.102, n.1, p.119-26, 2007.

Curi R, Silveira LR, et al. Palmitate increases superoxide production through mitochondrial electron transport chain and nadph oxidase activity in skeletal muscle cells. **Journal Cell Physiology**, v.216, p.796-804, 2008.

Frosig C et al. Effects of endurance exercise training on insulin signaling in human skeletal muscle – Interaction at the level of phosphatidylinositol 3- Kinase, Akt, and AS160. **Diabetes**, v.56, p.2093-2102, 2007.

Gardner PR, Fridovich I. Superoxide sensitivity of the Escherichia coli aconitase. **J Biol Chem**, v.266, n.29, p.19328-33, 1991.

Goodpaster BH, Katsiaras A, Kelley DE. Enhanced fat oxidation through physical activity is associated with improvements in insulin sensitivity in obesity. **Diabetes**, v.52, p.2191–2197, 2003.

Hardin DS, Azzarelli B, Edwards J, Wigglesworth J, Maianu L, Brechtel G, Johnson A, Baron A, Garvey WT: Mechanisms of enhanced insulin sensitivity in endurance-trained athletes: effects on blood flow and differential expression of GLUT 4 in skeletal muscles. **J Clin Endocrinol Metab**, v.80, p.2437–2446, 1995.

Hawley, JA. Effect of increase fat availability on metabolism and exercise capacity. **Med Sci Sports Exer**, v.34, n.9, p.1485-1491, 2002.

Hellsten Y, Silveira LR, Nielsen JJ, et al. Antioxidant supplementation enhances the exercise induced increase in mitochondrial uncoupling protein 3 (ucp3) and endothelial nitric oxide synthase (enos) mrna content in human skeletal muscle. **Free Radical in Biology and Medicine**, v.43, n.3, p.353-61, 2007.

Hirabara SM, Silveira LR, Abdulkader F, Carvalho CR, Procopio J, Curi R. Time dependent effects of fatty acids on skeletal muscle metabolism. **J Cell Physiol**, v.210, p.7–15, 2007.

Hirabara SM ; Silveira LR; Alberici LC; Leandro CVG; Lambertucci RH; Polimeno GC; Cury-Boaventura MF; Procópio J; Vercesi AE; Curi R. Acute effect of fatty acids on metabolism and mitochondrial coupling in skeletal muscle. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1757, p.57-66, 2006.

Hjeltnes N, Galuska D, Bjornholm M, Aksnes AK, Lannem A, Zierath JR, Wallberg-Henriksson H: Exercise-induced overexpression of key regulatory proteins involved in glucose uptake and metabolism in tetraplegic persons: molecular mechanism for improved glucose homeostasis. **FASEBJ**, v.12, p.1701–1712, 1998.

Holloszy, JO. Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. **J Appl Physiol**, v.99, p.338–343, 2005.

Holten MK, Zacho M, Gaster M, Juel C, Wojtaszewski JF, Dela F. Strength training increases insulin-mediated glucose uptake, GLUT4 content, and insulin signaling in skeletal muscle in patients with type 2 diabetes. **Diabetes**, v.53, p.294 –305, 2004.

Hossain P, Kowar B, El Nahas M. Obesity and Diabetes in the Developing World - A Growing Challenge. **New England Journal of Medicine**, v.356, p.213-215, 2007.

Ihleman J. et al. Effect of tension on contraction-induced glucose transport in rat skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.277, p.208-214, 1999.

Itani SI, Ruderman NB, Schmieder F, Boden G. Lipid-induced insulin resistance in human muscle is associated with changes in diacylglycerol, protein kinase C, and I κ B- α . **Diabetes**, v.51, p.2005–2011, 2002.

Jessen N, Goodyear LJ: Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v.99, p.330-337, 2005.

Kelley DE et al. Metabolic flexibility in response to glucose is not impaired in people with type 2 diabetes after controlling for glucose disposal rate. **Diabetes**, v.57, n.4, p.841-5, 2008.

Kirwan JP, Del Aguila LF, Hernandez JM, Williamson DL, O’Gorman DJ, Lewis R, Krishnan RK: Regular exercise enhances insulin activation of IRS-1-associated PI3-kinase in human skeletal muscle. **J Appl Physiol**, v.88, p.797– 803, 2000.

Koopman R, Manders RJ, Zorenc AH, et al. A single session of resistance exercise enhances insulin sensitivity for at least 24 h in healthy men. **Eur J Appl Physiol**, v.94, p.180 –7, 2005.

Lynge J. et al. Extracellular formation and uptake of adenosine during skeletal muscle contraction in the rat: role of adenosine transporters. **J Physiol**, v.537, p.597–605, 2001.

Mancine MC, Sampaio RF. Editorial - Quando o objeto de estudo é a literatura: estudos de revisão. **Rev Bras Fisoter**, v.10, n.4, p.361, 2006.

Menshikova EV, Ritov VB, Fairfull L, Ferrell RE, Kelley DE, Goodpaster BH. Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. **J Gerontol A Biol Sci Med Sci**, v.61, p.534–40, 2006.

Newsholme EA. An introduction to the roles of the glucose-fatty acid cycle in sustained exercise. In: **Biochemistry of Exercise IX**. Ed. M. Hargreaves and M. Thompson, p.185 – 200. Champaign, IL: **Human Kinetics**; p.119-125, 1999.

Oton R, da Silva DO, Campoio TR, Silveira LR, de Souza MO, Hatanaka E, Curi R. Non-esterified fatty acids (nefa) and human lymphocyte death: a mechanism that involves calcium release and oxidative stress. **J Endocrinol**, v.195, p.133-143, 2007.

Perdomo G, Commerford SR, Richard AM, Adams SH, Corkey BE, O'Doherty RM, Brown NF. Increased β -oxidation in muscle cells enhances insulin-stimulated glucose metabolism and protects against fatty acid-induced insulin resistance despite intramyocellular lipid accumulation. **J Biol Chem**, v.279, p.27177–27186, 2004.

Petersen KF, Befroy D, Dufour S, Dziura J, Ariyan C, Rothman DL, DiPietro L, Cline GW, Shulman GI. Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. **Science**, v.300, n.5622, p.1140-2, 2003.

Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Garcia R, Shulman GI. Impaired mitochondrial activity in the insulin-resistant offspring of patients with type 2 diabetes. **N Engl J Med**, v.350, p.664–671, 2004.

Picardi PK, Calegari VC, Prada Pde O, Moraes JC, Araújo E, Marcondes MC, Ueno M, Carvalheira JB, Velloso LA, Saad MJ. Reduction of hypothalamic protein tyrosine phosphatase improves insulin and leptin resistance in diet-induced obese rats. **Endocrinology**, v.149, n.8, p.3870-80, 2008.

Powell DJ, Turban S, Gray A, Hajduch E, Hundal HS. Intracellular ceramide synthesis and protein kinase C ζ activation play an essential role in palmitate-induced insulin resistance in rat L6 skeletal muscle cells. **Biochem J**, v.382, p.619–629, 2004.

Pruchnic R, Katsiaras A, He J, Kelley DE, Winters C, Goodpaster BH. Exercise training increases intramyocellular lipid and oxidative capacity in older adults. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.287, p.E857–E862, 2004.

Rachek LI, Musiyenko SI, LeDoux SP, Wilson GL. Palmitate induced mitochondrial deoxyribonucleic acid damage and apoptosis in L6 rat skeletal muscle cells. **Endocrinology** v.148, p.293–299, 2007.

Randle, PJ, Garland, PB, Hales, CN, e Newsholme, EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet I**, v.13, p.785-789, 1963.

Reid, MB. Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. **Free Radic Biol Med**, v.44, n.2, p.169-79, 2008.

Rolo AP, Palmeira CM. Diabetes and mitochondrial function: Role of hyperglycemia and oxidative stress. **Toxicol Appl Pharmacol**, v.212, p.167–178, 2006.

Ronn SG, et al. Suppressor of cytokine signalling-3 expression inhibits cytokine-mediated destruction of primary mouse and rat pancreatic islets and delays allograft rejection. **Diabetologia**, v.51, n.10, p.1873-1882, 2008.

Ropelle ER et al. Reversal of diet-induced insulin resistance with exercise: The role of PTP1B and IRS-1 serine phosphorylation. **J Physiol**, v.577, p.997-1007, 2006.

Schrauwen, P, Hoeks, J, Schaart, G, Kornips, E, Binas, B, Van De Vusse, GJ, Van Bilsen, M, Luiken, JJ, Coort, SL, Glatz, JF, Saris, WH, e Hesselink, MK. Uncoupling protein 3 as a mitochondrial fatty acid anion exporter. **FASEB J**. v.17, p.2272-2274, 2003.

Silveira, LR, et al. Formation of hydrogen peroxide and nitric oxide in rat skeletal muscle cells during contractions. **Free Radical in Biology and Medicine**, v.35, n.5, p.455-464, 2003.

Silveira LR, Fiamoncini J, Hirabara SM, Procópio J, Cambiaghi TD, da Justa Pinheiro CH, Lopes LR, Curi R. Updating the effects of fatty acids on skeletal muscle cell. **J Cell Physiol**, v.217, p.1-12, 2008.

Silveira LR, Hirabara SM; Alberici LC, Lambertucci RH, Peres CM, Takahashi HK, Pettri A, Alba-Loureiro T, Luchessi AD, Cury-Boaventura MF, Vercesi AE, Curi R. Effect of lipid infusion on metabolism and force of rat skeletal muscles during intense contractions. **Cell Physiol Biochem**, v.20, p.213-26, 2007.

Silveira LR; Pilegaard H; Kusuhara K; Curi R; Hellsten Y. The contraction induced increase in gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor (ppar)-gamma coactivator

1alpha (pgc-1alpha), mitochondrial uncoupling protein 3 (ucp3) and hexokinase ii (hkii) in primary rat skeletal muscle cells is dependent on reactive oxygen species. **Biochimica et Biophysica Acta. Molecular Cell Research**, v.1763, p.969-976, 2006.

Sorokina, N, O'Donnell, M, Mckinney, RD, Pound, KM, Woldegiorgis, G, LaNoue, KF, Ballal, K, Taegtmeier, H, Buttrick, PM, Lewandowski, ED. Recruitment of compensatory pathways to sustain oxidative flux with reduced carnitine palmitoyltransferase I activity characterizes inefficiency in energy metabolism in hypertrophied hearts. **Circulation**, v.115, p.2033-2041, 2007.

Spriet, LL. Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans. **Med Sci Sports Exer**, v.34, p.1477-1484, 2002.

Taniguchi CM et al. Critical nodes in signalling pathways: insights into insulin action. **Nature Reviews – Molecular Cell Biology**, v.7, p.85-96, 1996.

Thyfaut JP et al. Contraction of insulin-resistant muscle normalizes insulin action in association with increased mitochondrial activity and fatty acid catabolism. **Am J Physiol Cell Physiol**, v.292, p.C729-C739, 2007.

Turpin SM, Lancaster GI, et al. Apoptosis in skeletal muscle myotubes is induced by ceramides and is positively related to insulin resistance. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v.291, p.E1341–E1350, 2006.

Wojtaszewski JF, Hansen BF, Ursø B, Richter EA. Wortmannin inhibits both insulin- and contraction-stimulated glucose uptake and transport in rat skeletal muscle. **J Appl Physiol**. v.81, n.4, p.1501-9, 1996.