

O Exercício Físico Melhora a Sensibilidade à Insulina de Ratos Expostos à Fumaça de Cigarro



Physical Exercise Improves Insulin Sensitivity of Rats Exposed to Cigarette Smoke

Patrícia Ebersbach Silva¹
Thâmara Alves¹
Ágatha Tomoko Sakata Fonseca¹
Márcia Aparecida do Nascimento Oliveira²
Ubiratan Fabres Machado²
Patrícia Monteiro Seraphim¹

1. Departamento de Fisioterapia
FCT/ UNESP - Presidente Prudente
SP - Brasil.

2. Departamento de Fisiologia e
Biofísica - ICB-1 / USP - São Paulo
SP - Brasil.

Correspondência:

Patrícia Monteiro Seraphim
Departamento de Fisioterapia Bloco III
FCT / UNESP
Rua Roberto Simonsen, 305
Centro Educacional - 19060-900
Presidente Prudente - SP
E-mail: patricia@fct.unesp.br

RESUMO

Introdução e objetivo: Sabe-se que o tabagismo pode provocar alterações cardiovasculares e redução na sensibilidade à insulina, e que o exercício físico melhora este quadro. O objetivo do estudo foi avaliar o efeito do tabagismo e da prática de atividade física sobre a sensibilidade à insulina em músculo cardíaco de ratos, através da avaliação de expressão do transportador de glicose GLUT4. **Métodos:** Ratos machos Wistar foram divididos em quatro grupos: (CS) controle, (CE) controle exercitado, (FS) fumante sedentário e (FE) fumante submetido ao exercício físico. Os grupos FS e FE foram submetidos à combustão de quatro cigarros/30 min/60 dias, 2x/dia. Os grupos CE e FE executaram corrida em esteira rolante durante 60 min/60 dias. Foi realizado teste de tolerância à insulina, e a expressão de GLUT4 no coração foi feita através de Western Blotting – ECL e RT-PCR. Foi utilizado método estatístico descritivo e o teste ANOVA, e as diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando $P < 0,05$. **Resultados:** Nem o tabagismo nem a atividade física alteraram o peso corpóreo (CS: $364,7 \pm 9,7$; CE: $372,4 \pm 7,2$, FS: $368,9 \pm 6,7$; FE: $376,4 \pm 7,8$ g) e o peso do coração (CS: $1,12 \pm 0,05$; CE: $1,16 \pm 0,04$; FS: $1,14 \pm 0,05$; FE: $1,19 \pm 0,05$ g). A sensibilidade à insulina foi reduzida no grupo fumante, porém, a prática de exercício físico melhorou este quadro (CS: $3,7 \pm 0,3$; CE: $5,28 \pm 0,5^*$; FS: $2,1 \pm 0,7^*$; FE: $4,8 \pm 0,09^{**}$ %/min; $*P < 0,05$ vs. CS, $**P < 0,05$ vs. FS). Os conteúdos de RNAm e de proteína não se alteraram entre os grupos. Porém, quando se calculou o conteúdo total de proteína GLUT4 por grama de tecido, observou-se que o tabagismo causou redução e que o exercício induziu aumento neste parâmetro (CS: $119,72 \pm 9,98$; CE: $143,09 \pm 9,09$; FS: $84,36 \pm 10,99^*$; FE: $132,18 \pm 11,40^{\#}$ UA/g tecido, $*P < 0,05$ vs. CS, $\#P < 0,01$ vs. FS). **Conclusão:** Conclui-se que o tabagismo reduz a sensibilidade à insulina e a capacidade do coração captar glicose. Já a prática de exercício físico moderado reverte este quadro por completo.

Palavras-chave: transportador de glicose, tabagismo, resistência à insulina, GLUT4.

ABSTRACT

Goal: Smoking can cause cardiovascular diseases and reduction on insulin sensitivity. This study evaluated the effect of smoking and associated moderate physical activity on the insulin sensitivity in the heart by GLUT4 gene expression. **Methods:** Male Wistar rats were divided into 4 groups: (C) control, (Ex) exercised, (SS) sedentary smoker and (ES) exercised smoker. SS and ES groups were submitted to cigarette smoke exposition, 30 min/2x a day/60 days. Ex and EF groups performed running on a treadmill, during 60min/60 days. GLUT4 protein and mRNA contents analysis was performed by Western Blotting and RT-PCR, respectively. **Results:** The results showed that neither smoking nor physical activity changed body weight (C: 364.7 ± 9.7 , Ex: 372.4 ± 7.2 , SS: 368.9 ± 6.7 , ES: 376.4 ± 7.8 g) and heart weight (C: 1.12 ± 0.05 ; Ex: 1.16 ± 0.04 ; SS: 1.14 ± 0.05 ; ES: 1.19 ± 0.05 g). Insulin sensitivity was reduced in sedentary smoker group, and exercise improved this condition (C: 3.7 ± 0.3 ; Ex: $5.28 \pm 0.5^*$; SS: $2.1 \pm 0.7^*$; ES: $4.8 \pm 0.09^{**}$; $*P < 0.05$ vs C, $**P < 0.05$ vs. SS). mRNA and protein contents did not change among the groups. On the other hand, smoking caused reduction, and exercise provoked increase in GLUT4 total content per gram of heart (C: 119.72 ± 9.98 ; Ex: 143.09 ± 9.09 ; SS: $84.36 \pm 10.99^*$; ES: $132.18 \pm 11.40^{\#}$ AU/ g tissue, $*P < 0.05$ vs C, $\#P < 0.01$ vs SS). **Conclusion:** We concluded that smoking reduces insulin sensitivity and the cardiac ability in uptaking glucose, which can be reversed by moderate physical exercise.

Keywords: glucose transporter, smoking, insulin resistance, type 2 diabetes.

INTRODUÇÃO

O tabagismo é hoje um dos principais problemas de saúde pública. É notória a participação do tabaco no aumento e/ou agravamento de doenças cardiovasculares, pulmonares, circulatórias e numerosos tipos de câncer, contribuindo para o incremento da morbidade e mortalidade populacional⁽¹⁾.

Sabe-se que o tabagismo altera o metabolismo celular em vários aspectos, entre os quais se pode observar alteração na sensibilidade à insulina com desenvolvimento de estado de resistência ao hormônio, o qual, se não cuidado em tempo hábil, poderia culminar no desenvolvimento de um quadro de diabetes tipo 2⁽²⁻⁴⁾. O fumo é, claramente, associado com aumento da gordura abdominal (maior relação cintura-

-quadril)^(5,6), aumento de ácidos graxos livres e mobilização de glicérol, quadro de dislipidemias (aumento de LDL e diminuição de HDL), disfunção endotelial, aumento na viscosidade sanguínea e estado de hipercoagulabilidade^(7,8). O tabagismo está associado também a um quadro de inflamação sistêmica de baixo grau⁽⁹⁾ e estresse oxidativo⁽¹⁰⁾, caracterizado pelo aumento de citocinas pró-inflamatórias⁽¹¹⁾. A literatura aponta que o aumento de citocinas pró-inflamatórias participa na gênese da resistência à insulina, uma vez que podem interferir na sinalização insulínica⁽¹²⁻¹⁴⁾.

Sabe-se que, no nível celular, a resistência insulínica está associada à alteração na via de sinalização insulínica, à redução da expressão do transportador de glicose GLUT4 ou à alteração na translocação do GLUT4 para a membrana plasmática de células adiposas e musculares, o que, em última instância, provoca menor ação biológica do hormônio, atrapalhando a homeostasia da glicose^(15,16).

A atividade contrátil também estimula a captação de glicose, promovendo maior quantidade de transportadores de glicose GLUT4 no sarcolema pelo aumento de translocação, independentemente da presença de insulina⁽¹⁷⁾. Estudos sugerem que existem diferentes compartimentos intracelulares de GLUT4, um estimulado por insulina e outro estimulado pelo exercício, e que a combinação dos dois resulta em efeitos aditivos em relação ao transporte de glicose^(18,19). Há evidências de que, devido ao aumento na proporção entre [AMP]:[ATP] e [creatina]:[fosfocreatina] pelas necessidades teciduais durante a contração muscular, ocorre a ativação de uma quinase denominada proteína cinase dependente de 5'-AMP (AMPK) a qual participaria da translocação do GLUT4 estimulada pela atividade^(18,20).

O coração sendo um tecido muscular muito ativo é um ótimo captador de glicose. Sabe-se que o tabagismo é uma das principais causas de doenças cardiovasculares e circulatórias. Um aumento na expressão de transportador de glicose GLUT4 em músculo cardíaco aumenta a oxidação de glicose no miocárdio, favorecendo a performance cardíaca⁽²¹⁾. Assim, a prática de atividade física aparece como um método importante para combater os malefícios causados pelo fumo, modificando o risco dos indivíduos tabagistas para o desenvolvimento de resistência à insulina e provável quadro de diabetes, bem como melhorando a capacidade cardíaca.

Dentro deste contexto, este trabalho teve por objetivo quantificar a proteína e o RNAm do GLUT4 no músculo cardíaco de ratos tabagistas e submetidos à atividade física moderada em esteira rolante para caracterização da sensibilidade à insulina periférica e possível papel do tecido cardíaco.

MÉTODOS

Animais e programa de treinamento: Ratos machos Wistar foram mantidos em biotério à temperatura média de $22 \pm 2^\circ\text{C}$, com ciclos de 12 horas de luminosidade, sendo das 7:00 às 19:00 horas (período claro) e 19:00 às 7:00 horas (período escuro), e alimentados com ração padrão e água fornecida ad libitum. Os animais foram divididos em quatro grupos: (CS) controle sedentário, (CE) controle exercitado, (FS) fumante sedentário e (FE) fumante exercitado. Os grupos FS e FE foram submetidos à combustão de quatro cigarros/vez, por 30 minutos, duas vezes/dia, durante 60 dias. Como câmara de inalação para o fumo passivo foi utilizada uma caixa fechada dividida em dois compartimentos. Um dos compartimentos da caixa foi utilizado para a colocação de quatro cigarros acesos em um suporte, e o outro compartimento foi destinado à alocação dos animais. Do lado que ficaram os cigarros, foi conectada uma fonte de ar comprimido com fluxo de 10L/min permitindo a combustão dos cigarros e propiciando a condução da fumaça para o outro lado da caixa, onde estavam os animais. No compartimento dos

animais havia também um orifício de drenagem de ar, por onde era feita a exaustão da mistura.

Os grupos CE e FE executaram protocolo de corrida em esteira rolante para animais de pequeno porte. A esteira foi acionada por um motor de 12V que proporcionou uma velocidade de 10 metros por minuto para o deslizamento da lona e conseqüentemente movimento induzido do animal em estudo. A sessão de treinamento teve duração de 60 minutos, realizado durante 60 dias, cinco dias por semana, sendo caracterizado como exercício físico moderado, já que não houve aumento de intensidade.

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCT-UNESP, Campus de Presidente Prudente, processo 262/2008.

Avaliação da sensibilidade à insulina: Para a avaliação da sensibilidade à insulina in vivo, foi realizado um teste de tolerância à insulina (ITT). Uma semana antes do sacrifício, seis animais de cada grupo foram anestesiados intraperitonealmente (i.p.) com cloridrato de quetamina e Cloridrato de xilazina (60mg/kg PC). Foi realizada pequena secção na extremidade distal da cauda dos animais para coleta das amostras de sangue. A primeira coleta foi realizada antes da administração de insulina (basal). Posteriormente, 0,5UI/kg PC de insulina regular (Novolin 100U/ml, Novo Nordisk, Dinamarca) foi administrada. A dosagem de glicemia foi realizada a cada cinco minutos, nos tempos 0 (basal) a 20 min após a administração de insulina. A glicemia foi verificada por meio de tiras reagentes e glicosímetro (Biocheck TD-4225 / Bioeasy Diagnóstica Ltda. / MG – Brasil). Posteriormente, foi calculada a constante de decaimento (kITT, %/min.) a partir da regressão linear das concentrações de glicemia obtidas durante o teste⁽²²⁾.

Obtenção de amostras: Após 24 horas da última sessão de treinamento, os animais foram anestesiados com cloridrato de quetamina e cloridrato de xilazina (60mg/kg PC) i.p. para a obtenção das amostras de sangue e tecido. Após a anestesia, foi feita a remoção do músculo cardíaco, e separados 0,1g para RT-PCR, e o restante para Western Blotting.

Quantificação de proteína GLUT4 – Western Blotting: A amostra foi pesada, homogeneizada e centrifugada em tampão TRIS HCl 10mM; EDTA 1mM, sacarose 250mM, pH 7,4 obtendo-se fração total de membranas celulares⁽²²⁾. A concentração de proteína total foi detectada pelo método de Lowry⁽²³⁾. Quantidades iguais de proteínas foram solubilizadas em tampão Laemmli, sujeitas a SDS-PAGE (10%) e então transferidas para membrana de nitrocelulose Hybond-C Super (GE healthcare, AMERSHAM Biosciences, UK). Após bloqueio durante uma hora com 3% de leite desnatado, as membranas foram incubadas com anticorpo anti-GLUT4 (Chemicon International, Temecula California, EUA), diluição 1:3000 em PBS (NaCl 0,8%, Na₂HPO₄[12H₂O] 0,115%, KCl 0,02%, KH₂PO₄ 0,02%), adicionado de albumina bovina sérica (BSA 8%), durante três horas a 37°C. Foi feita incubação com o anticorpo secundário (anti-IgG de coelho), marcado com enzima peroxidase (HRP) (GE Healthcare, Amersham, UK), diluído 1:6000 em solução bloqueadora durante uma hora. Após lavagem em tampão, a membrana foi exposta à reação de ECL (Luminol 1,1%, Ácido P-Cumárico 0,48%, Tris 1M pH 8,5 11,1%, H₂O destilada) por dois minutos e posteriormente exposta ao Hyperfilm® (IGF – Corporation, New Jersey, EUA) para detecção das bandas resultantes. O filme foi fotografado por uma câmera (Gel Logic 100, Kodak Molecular Imaging, EUA) e as imagens foram analisadas por densitometria utilizando-se o software Scion Image for Windows (Scion Corporation, EUA).

RT-PCR: Semi-Quantificação do RNAm do GLUT4: As amostras de tecidos musculares foram processadas em homogeneizador modelo OMNI TH – EUA (Lodan) com TRIZOL Reagent® (Invitrogen, EUA) para extração de RNA total. Em seguida foi realizado o ensaio de RT-PCR. A

transcrição reversa foi feita de acordo com as instruções do fabricante (Invitrogen, EUA), utilizando-se cinco microgramas de RNA total extraído do coração, enzima RT M-MLV Reverse Transcriptase (200 U/ mL; Invitrogen®, EUA), e mistura de dNTPs (10mM cada). Aliquotas de um microlitro do produto final de RT (cDNA), foi adicionado à mistura de 10pmol/μL de primers específicos do GLUT4 (Sense: 5'- CCCCTC-CAGGGCAAAGGAT - 3'; Antisense: 5'-TCCTGGAGGGGAACAAGAA - 3' - fragmento de 203pb), tampão específico, mistura de dNTPs (10 mM), enzima GoTaq DNA Polymerase 5U/μL (Promega, EUA), e água destilada, em um volume final de 50μL. As reações de PCR foram realizadas em termociclador marca Techne, modelo Endurance TC-312 (Techne Inc. New Jersey, EUA) em diferentes temperaturas, com 28 ciclos, e 54 °C de temperatura de anelamento. Os produtos amplificados foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2,0% e brometo de etídio 0,02%. As amostras no gel foram visualizadas com luz UV, e as imagens adquiridas em equipamento de fotovideodocumentação (Mod. Gel Logic 100 c/ epi-iluminescência, Kodak Molecular Imaging, EUA). A expressão do RNA do gene do GLUT4 foi normalizada pela expressão do gene da proteína constitutiva β-actina (Sense: 5' - ATGAAGATCCT-GACCGAGCGTG - 3'; Antisense: 5' - CTTGCTGATCCACATCTGCTGG - 3'; fragmento de 512pb; temperatura de anelamento: 54°C, e 24 ciclos), calculada pela razão entre os valores da densitometria do gene de interesse e do gene constitutivo.

Análise estatística: Para análise dos dados foi utilizado o método estatístico descritivo, com os resultados apresentados como média ± EPM. A avaliação estatística dos resultados foi feita através da comparação das médias, utilizando o teste ANOVA, paramétrico, com pós-teste quando necessário (Bonferroni). As diferenças entre os grupos foram consideradas significantes quando o valor de P foi menor que 0,05.

RESULTADOS

Como verificado na tabela 1, o peso corpóreo médio e o peso do tecido cardíaco no dia do sacrifício não diferiram entre os grupos estudados, evidenciando que nem o tabagismo imposto nem o exercício físico tiveram efeitos sobre parâmetros morfométricos dos animais estudados. A glicemia de jejum também foi semelhante para todos os grupos.

Tabela 1. Glicemia de jejum, peso corporal e peso do tecido cardíaco.

Grupo	Glicemia de jejum (mg/dL)	Peso corporal (g)	Peso coração (g)
CS	148,0 ± 10,0 (n = 15)	364,77 ± 9,7 (n = 18)	1,12 ± 0,05 (n = 17)
CE	131,5 ± 7,0 (n = 19)	372,42 ± 7,2 (n = 21)	1,16 ± 0,04 (n = 19)
FS	139,5 ± 9,6 (n = 18)	368,95 ± 6,7 (n = 22)	1,14 ± 0,05 (n = 22)
FE	130,6 ± 10,2 (n = 18)	376,42 ± 7,8 (n = 21)	1,19 ± 0,05 (n = 18)

A constante de decaimento da glicemia (kITT) (figura 1) evidenciou menor sensibilidade periférica à insulina no grupo FS comparado aos demais grupos (CS: 3,7 ± 0,3; CE: 5,3 ± 0,5*; FS: 2,1 ± 0,7* #; FE: 4,8 ± 0,098* &; n = 6, *P < 0,05 vs. CS, #P < 0,03 vs. CE; &P < 0,05 vs. FS). Já o exercício físico reverteu este quadro.

O tabagismo imposto não foi suficiente para causar alteração no conteúdo de RNAm do transportador de glicose GLUT4 quando comparado ao grupo não-fumante (CS). Também não foi observada alte-

ração no conteúdo de RNAm de GLUT4 nos grupos exercitados CE e FE quando comparados aos seus respectivos pares CS e FS (CS: 75,7 ± 9,7; CE: 82,12 ± 8,5; FS: 75,9 ± 7,08; FE: 76,73 ± 7,8 UA, n = 10) (figura 2).

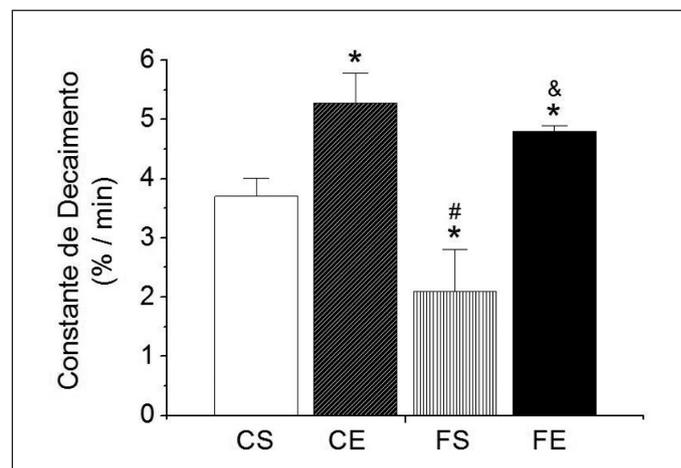


Figura 1. Teste de tolerância à insulina in vivo (ITT). Média +/- EPM da constante de decaimento da glicemia (kITT, expressa em %/min.), calculada a partir da regressão linear das concentrações de glicemia obtidas nos tempos de 0-20 minutos do teste. Foram utilizados de três a seis animais por grupo. Grupo controle (CS), controle exercitado (CE), fumante sedentário (FS) e fumante exercitado (FE). Valores significantes quando *P < 0,05 vs. CS, #P < 0,03 vs. CE; &P < 0,05 vs. FS. (ANOVA e Bonferroni como pós-teste).

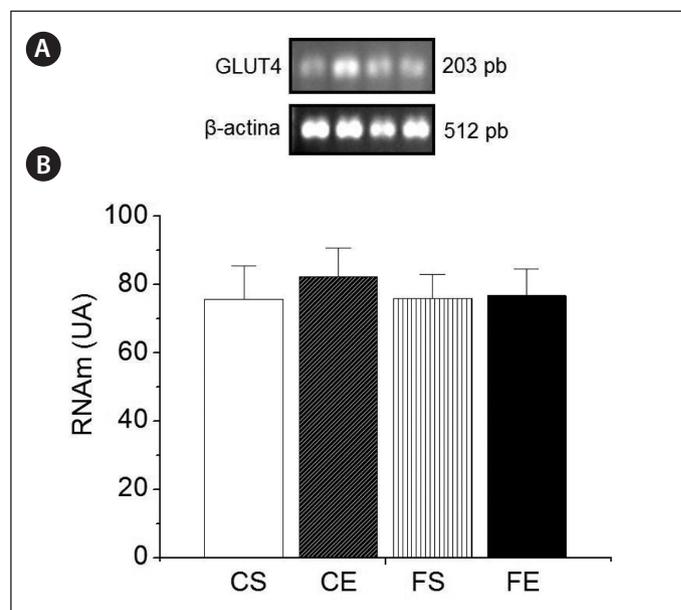


Figura 2. Conteúdo de RNAm do GLUT4 corrigido pelo conteúdo de RNAm de β-actina no tecido cardíaco do grupo controle (CS), controle exercitado (CE), fumante sedentário (FS) e fumante exercitado (FE). Em A) imagens típicas obtidas em ensaio RT-PCR evidenciando RNAm de GLUT4 e de β-actina em mesma sequência de apresentação dos grupos; em B) gráfico representativo de valores obtidos em 10 diferentes experimentos, resultados expressos em UA (unidades arbitrárias), como média ± EPM.

Avaliando a quantidade de proteína GLUT4 expressa em unidades arbitrárias por μg de proteína (UA/μg de proteína), não foram observadas diferenças significantes entre os grupos (CS: 100,9 ± 6,2; CE: 109,2 ± 4,7; FS: 95,9 ± 7,3; FE: 107,9 ± 6,4 UA, n = 10), evidenciando uma clara correlação entre conteúdo de proteína e conteúdo de RNAm para o gene do GLUT4 no tecido cardíaco (Figura 3).

A partir destes resultados expressos em UA/μg de proteína e de valores de recuperação proteica, calculou-se o conteúdo total de GLUT4

por grama de tecido cardíaco⁽²²⁾. Observou-se que o fumo causou uma redução, e que o exercício provocou um aumento significativo do conteúdo total de GLUT4 por grama de tecido cardíaco (CS: 119,72 ± 9,98; CE: 143,09 ± 9,09; FS: 84,36 ± 10,99*; FE: 132,18 ± 11,40[#] UA/g tecido, *P < 0,05 vs. CS, #P < 0,01 vs. FS, n = 10 animais) (Figura 4).

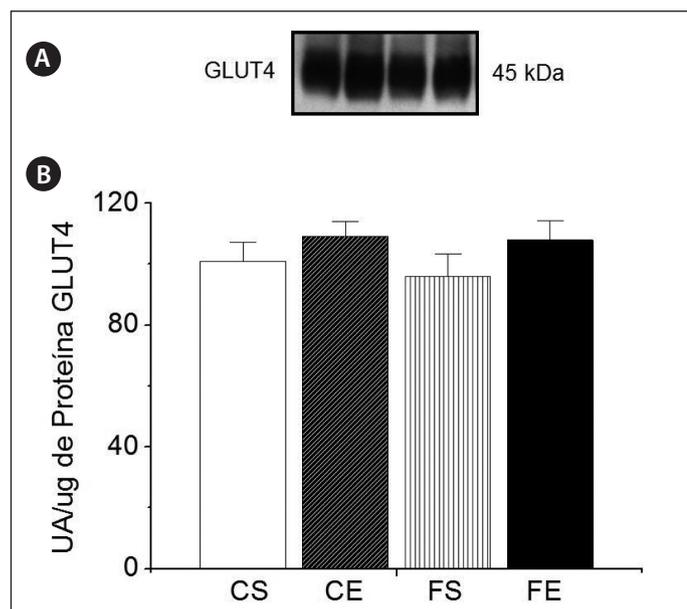


Figura 3. Conteúdo de proteína GLUT4 em fração de membranas totais de tecido cardíaco do grupo controle (CS), grupo controle exercitado (CE), fumante sedentário (FS) e fumante exercitado (FE). 30 µg de proteína foram submetidas à eletroforese e imunodeteção, como descrito nos materiais e métodos. Em A) típica autorradiografia obtida pelo ensaio de Western Blotting em mesma sequência de apresentação dos grupos. Em B) gráfico representativo com valores obtidos em 10 diferentes experimentos, expressos em unidades arbitrárias por micrograma de proteína (UA/g proteína) como média e erro padrão da média.

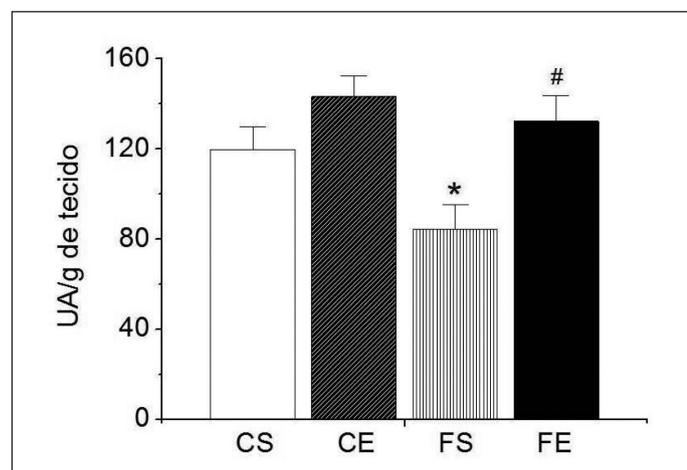


Figura 4. Conteúdo total de proteína GLUT4 por grama de tecido, fração de membrana total de tecido cardíaco do grupo controle (CS), grupo controle exercitado (CE), fumante sedentário (FS) e fumante exercitado (FE). 30 µg de proteína foram submetidas à eletroforese e imunodeteção, como descrito nos materiais e métodos. Valores expressos em unidades arbitrárias por grama de tecido (UA/g tecido) como média e erro padrão da média. Valores significantes quando *P < 0,05 vs. CS e #P < 0,01 vs. FS (ANOVA e Bonferroni como pós-teste).

DISCUSSÃO

Um crescente corpo de evidências indica que o tabagismo, tanto ativo quanto passivo, está associado com um quadro de resistência à insulina e diminuição da tolerância à glicose^(3,4,8). A resistência à insulina (RI) é uma característica da síndrome metabólica (SM) e diabetes tipo 2 (DM2) e envolve tecidos-alvos, tais como tecido adiposo, fígado, músculos esquelético e cardíaco⁽²⁴⁾.

O fumo provoca inflamação das vias aéreas e inflamação sistêmica de baixo grau⁽⁹⁾ pela ativação de macrófagos, neutrófilos e linfócitos T, que liberam proteases e espécies reativas de oxigênio (ROS). O aumento do estresse oxidativo leva a ativação de fatores de transcrição redox-sensíveis, que são críticos para a transcrição de citocinas pró-inflamatórias⁽¹¹⁾. Há relatos de que a secreção destas citocinas pró-inflamatórias participa na gênese da RI⁽¹⁴⁾ e estudos mostraram que a reação inflamatória subclínica com presença de IL-1, IL-6 e TNF-α tem um papel importante da patogênese do DM2⁽²⁵⁾.

A literatura atual apresenta que o exercício físico tem sido recomendado para a prevenção e tratamento da RI e DM2, uma vez que pode aumentar a capacidade de transporte de glicose pelo músculo independente da ação insulina⁽²⁶⁾, através de aumento de expressão e translocação de transportadores de glicose GLUT4 para a membrana plasmática dos cardiomiócitos⁽¹⁶⁾.

No presente estudo, o peso dos animais estudados não variou entre os grupos. Uma provável hipótese para isso ter ocorrido seria o tempo (60 dias) de tabagismo ao que os animais foram expostos no estudo. Talvez este tempo de exposição não tenha sido o suficiente para afetar a ingestão alimentar e, portanto, causar redução na incorporação de massa nos animais estudados, não ocorrendo, portanto, variação no peso corpóreo. Porém, na literatura⁽²⁷⁾, foi verificado que o peso e o consumo alimentar de ratos machos expostos à fumaça por apenas 30 dias foram inferiores aos dos não-expostos.

Embora a glicemia de jejum não esteja alterada com o tabagismo, foi verificada uma importante redução na sensibilidade à insulina dos animais fumantes. Já o exercício físico moderado melhorou este quadro na presença e na ausência de tabagismo, demonstrando que a prática de exercício físico é fundamental para melhorar a homeostasia glicêmica e aumentar a sensibilidade periférica à insulina. Estudos apontam que o exercício físico determina melhora na ação insulínica⁽²⁸⁾ e que, no coração, os estímulos contrátil e hipóxico provocados pelo exercício levam à translocação de GLUT4 à membrana plasmática pela via sinalizadora da AMPK (proteína quinase AMP-ativada)⁽¹⁶⁾. O fator desencadeador da queda na sensibilidade à insulina frente à exposição à fumaça de cigarro ainda precisa ser determinado.

Pela análise dos resultados de conteúdo de proteína GLUT4 em UA/µg de proteína, verificou-se que o fumo não alterou a expressão de transportador na musculatura cardíaca. Estes resultados se correlacionam com conteúdo de RNAm encontrado no grupo fumante. Estudos na literatura apontam que a nicotina pode interferir na translocação do GLUT4, mas não diretamente em sua expressão⁽²⁹⁾. Assim, os resultados aqui encontrados, a priori, condizem com os relatos da literatura.

Contudo, quando se analisou o conteúdo total de GLUT4 por grama de tecido cardíaco, o que representa a capacidade do tecido em captar glicose, verificou-se que o fumo causou redução de 24% comparado ao controle, e que a prática de exercício físico associado ao tabagismo causou aumento de 56%. Ao se correlacionar estes valores com a sensibilidade à insulina encontrada nos animais estudados, pode-se sugerir que o coração está interferindo na homeostasia glicídica do organismo, mesmo representando uma massa tecidual pequena comparado, por exemplo, à musculatura esquelética, tecido que também sofre influência da insulina.

Verificou-se também que o exercício per se aumentou a capacidade do coração captar glicose, pois se detectou aumento na quantidade de proteína GLUT4 por grama de tecido nos animais controles exercitados. Este aumento pode contribuir para uma melhor oxidação da glicose no miocárdio e melhorar o desempenho cardíaco no exercício. Este me-

canismo de aumento da captação de glicose pelo aumento de GLUT4 é importante para a proteção miocárdica durante uma isquemia⁽³⁰⁾.

Diante desses resultados, conclui-se que fumar, além de todas as alterações já descritas em literatura envolvendo doenças cardiopulmonares e vasculares, pode também ser prejudicial à homeostasia glicídica, com prejuízo na capacidade do tecido cardíaco captar glicose. A prática de exercício físico moderado recorrente parece ser um método importante para combater os efeitos deletérios causados pelo

fumo, melhorando, sobretudo, a captação de glicose pelo miocárdio e a sensibilidade periférica à insulina.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho teve o apoio financeiro da FAPESP, processos 2004/10130-0 e 2008/01955-6.

Todos os autores declararam não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Confronting the tobacco epidemic in an era of trade liberalization. Geneva: WHO, 2003.
2. Foy CP, Bell RA, Farmer DF, Goff DC, Wagenknecht LE. Smoking and Incidence of Diabetes Among U.S. Adults. Findings from the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 2005;28:2501-7.
3. Sairenchi T, Iso H, Nishimura A, Hosoda T, Irie F, Saito Y, et al. Cigarette Smoking and Risk of Type 2 Diabetes Mellitus among Middle-aged and Elderly Japanese Men and Women. *Am J Epidemiol* 2004;160:158-62.
4. Nakanishi N, Nakamura K, Matsuo Y, Suzuki K, Tataru K. Cigarette Smoking and Risk for Impaired Fasting Glucose and Type 2 Diabetes in Middle-Aged Japanese Men. *Ann Intern Med* 2000;133:183-91.
5. Eliasson B, Attvall S, Taskiran MR, Smith U. The insulin resistance syndrome in smokers is related to smoking habits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1994;14:1946-50.
6. Chiolerio A, Faeh D, Paccaud F, Cornuz J. Consequences of smoking for body weight, body fat distribution, and insulin resistance. *Am J Clin Nutr* 2008;87:801-9.
7. Pinto ERC. Associação Entre Dislipidemia, Fumo e Perda Óssea Alveolar Radiográfica Em Uma População Brasileira. [Dissertação de mestrado] Duque de Caxias (RJ): Universidade do Grande Rio; 2007.
8. Weitzman M, Cook S, Auinger P, Florin TA, Daniels S, Nguyen M, et al. Tobacco Smoke Exposure Is Associated With the Metabolic Syndrome in Adolescents. *Circulation* 2005;112:862-9.
9. Weis L, Schwann GB, Silva JS, Lenzi LGS, Machado MB, Balotin R, et al. O papel da Proteína C Reativa (PCR) na detecção precoce de inflamação sistêmica em fumantes. *Revista da AMRIGS* 2007;51:128-31.
10. Zhang J, Liu Y, Shi J, Larson DF, Rosswatson R. Side-Stream Cigarette Smoke Induces Dose-Response in Systemic Inflammatory Cytokine Production and Oxidative Stress. *Exp Biol Med* 2002;227:823-9.
11. Yang SR, Chida AS, Bouter MR, Shafiq N, Seweryniak K, Maggiorini SB, et al. Cigarette smoke induces proinflammatory cytokine release by activation of NF- κ B and posttranslational modifications of histone deacetylase in macrophages. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006;291:L46-57.
12. Marreiro DN, Geloneze B, Tambascia MA, Lerário AC, Halpern A, Cozzolino SMF. Participação do zinco na resistência à insulina. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2004;48:234-9.
13. Stienstra R, Duval C, Muller M, Kersten S. PPARs, obesity, and inflammation. *Hindawi Publishing Corporation* 2007:1-10.
14. Fernández-Real JM, Ricart W. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocr Rev* 2003;24:278-301.
15. Shulman GI. Cellular mechanisms of insulin resistance. *J Clin Invest* 2000;106:171-6.
16. Machado UF, Schaan BD, Seraphim PM. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006;50:177-89.
17. Teran-Garcia M, Rankinen T, Koza RA, Rao DC, Bouchard C. Endurance training-induced changes in insulin sensitivity and gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005;288:1168-78.
18. Ropelle ER, Pauli JR, Carvalheira JBC. Efeitos moleculares do exercício físico sobre as vias de sinalização insulínica. *Motriz* 2005;11:49-55.
19. Gomes MR, Rogero MM, Tirapegui J. Considerações sobre cromo, insulina e exercício físico. *Rev Bras Med Esporte* 2005;11:262-6.
20. Jessen N, Goodyear L. Contraction signaling to glucose transport in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2005;99:330-337.
21. Tian R, Abel ED. Responses of GLUT4-Deficient Hearts to Ischemia Underscore the Importance of Glycolysis. *Circulation* 2001;103:2961-6.
22. Seraphim PM, Nunes MT, Machado UF. GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. *Braz J Med Biol Res* 2001;34:1353-62.
23. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 1951;193:265-75.
24. Fu Y, Luo L, Luo N, Garvey WT. Proinflammatory cytokine production and insulin sensitivity regulated by overexpression of resistin in 3T3-L1 adipocytes. *Nutr Metab* 2006;3:28.
25. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, et al. Inflammatory Cytokines and the Risk to Develop Type 2 Diabetes Results of the Prospective Population-Based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam Study. *Diabetes* 2003;52:812-7.
26. Ciolac EG, Guimaraes GV. Exercício físico e síndrome metabólica. *Rev Bras Med Esporte* 2004;10:319-24.
27. Gonçalves-Silva RMV, Lemos-Santos MG, Botelho C. Influência do tabagismo no ganho ponderal, crescimento corporal, consumo alimentar e hídrico de ratos. *J Pneumol* 1997;23:124-30.
28. Angelis K, Puraça DY, Flores LJF, Rodrigues B, Melo KFS, Schaan BD, et al. Efeitos Fisiológicos do Treinamento Físico em Pacientes Portadores de Diabetes Tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab*. 2006;50:1005-13.
29. Morita T, Terada E, Tatebe J, Yoshino G, Saji T, Yamazaki J. Nicotine impairs GLUT4 translocation in skeletal muscle cells through mechanisms involving oxidative stress/PKC Theta/Nuclear Factor-KB/AKT pathway. *J Clinical Lipidology* 2008;2:519.
30. Tian R, Abel ED. Responses of GLUT4-Deficient Hearts to Ischemia Underscore the Importance of Glycolysis. *Circulation* 2001;103:2961-6.