

Efeito da periodicidade da imobilização muscular sobre o perfil metabólico de músculos esqueléticos

Autores

Luciano Julio Chingui
Maria Theresa Munhoz Severi
Rommel Padovan Branquinho
Karina Maria Cancelliero
Carlos Alberto da Silva

Orientador

Carlos Alberto da Silva

1. Introdução

As fibras musculares podem ser divididas, de acordo com as propriedades estruturais e fisiológicas, em fibras tipo I e II. A tipo I, vermelha, de contração lenta ou oxidativa lenta, possui baixa força de contração sendo extremamente resistente à fadiga, possui mais mitocôndrias e mais capilares por fibra e sua principal fonte energética é o sistema aeróbio (ARRINGTON et al., 1995).

Por outro lado a fibra muscular tipo II, branca ou de contração rápida pode ser subdividida em vários subgrupos, especialmente em tipo II-A e tipo II-B. A fibra tipo II-B ou glicolítica rápida possui o tempo de contração mais rápido, maior força de contração e menor resistência à fadiga. Seu sistema glicolítico é bem desenvolvido, ao contrário do oxidativo, portanto utiliza basicamente o sistema anaeróbio. A fibra tipo II-A ou oxidativa glicolítica rápida é intermediária entre os tipos I e II-B (CAHILL et al., 1997).

O músculo esquelético utiliza preferencialmente a glicose como substrato energético e sua captação ocorre de maneira multifatorial, dependendo da presença da insulina, da atividade metabólica tecidual ou ainda da atividade contrátil das fibras (BELL et al., 1990; KLIP; MARETTE, 1992; GOODYEAR et al., 1991).

A contração muscular esquelética é desencadeada por eventos deflagrados após a propagação dos potenciais elétricos gerados na interface da junção neuromuscular. Tais sinais elétricos ativam sistemas transmembrânicos responsáveis tanto pelas variações nas concentrações iônicas citosólicas quanto pela modulação na atividade metabólica. No tecido muscular, o perfil metabólico das fibras é determinado pela sensibilidade à insulina, população de receptores, atividade de sistemas específicos de captação e pelo metabolismo de substratos (RICHARSON et al., 1991).

Com relação ao metabolismo dos carboidratos, a homeostasia energética das fibras musculares se mantém pela insulina cuja ação facilita a captação e o metabolismo da glicose e regula a cadeia de processos metabólicos. Em especial no tecido muscular, a sensibilidade tecidual à insulina depende da integridade e responsividade dos receptores nicotínicos de placa motora (GARCIA; KANAAN, 1997).

A musculatura esquelética é o tecido mais importante envolvido na homeostasia glicêmica, pela capacidade de captar grandes quantidades de glicose após infusão ou ingestão. Em condições basais, as fibras musculares esqueléticas apresentam pequenas concentrações citosólicas de glicose, porém, frente a hiperinsulinemia, hiperglicemia ou atividade física, ocorre uma maior captação da hexose, que pode ser oxidada e liberada na forma de lactato, alanina ou piruvato ou direcionada para formação de glicogênio (EXTON, 1987).

O transporte de glicose pelas membranas das fibras musculares é feito por transportadores chamados GLUT (KLIP; PAQUET, 1990). O GLUT-1 é responsável pela captação basal de glicose, e o GLUT-4, mais importante, participa efetivamente do controle glicêmico captando grandes quantidades de glicose, podendo ainda ser translocado de reservatórios vesiculares citosólicos em direção à membrana (BURANT et al., 1991).

A homeostasia metabólica das fibras musculares pode ser comprometida por diferentes fatores, como por exemplo, na imobilização, que é uma condição frequente na prática clínica da fisioterapia, período prolongado no leito, situações de microgravidade tratamento de fraturas, de rupturas ligamentares, lesão medular, e por razões cirúrgicas (KANNUS, et al., 1998a; REARDON, et al., 2001; JAGOE; GOLDBERG, 2001; JACKMAN, 2004).

A imobilização gera efeitos como hipotrofia muscular, fibrose intramuscular, perda de extensibilidade muscular e limitação de movimento articular (WILLIAMS, 1988; KANNUS et al., 1998a). Diversos estudos demonstraram que concomitante à hipotrofia muscular, ocorrem grandes modificações na homeostasia do músculo esquelético, comprometendo a síntese de proteínas miofibrilares ou não fibrilares, afetando a dinâmica contrátil bem como a efetividade das vias metabólicas.

Observa-se em pacientes inativos fisicamente ou imobilizados a presença da resistência à insulina, porém ainda não está claro como o desuso muscular crônico ou a imobilização alteram a sinalização de insulina, embora sejam situações conhecidas em diminuir a captação de glicose estimulada pela insulina (HIROSE et al., 2000). Há uma diminuição dos transportadores GLUT-4 pelo desenvolvimento da resistência ao transporte de glicose estimulado pela insulina (HENRIKSEN et al., 1991).

Vários modelos experimentais são propostos no intuito de identificar os eventos desencadeados pelo desuso muscular e deflagração dos processos precursores da hipotrofia, merecendo destaque, a desnervação neuromuscular, a suspensão dos membros posteriores do animal ou ainda a imobilização unilateral de membros por órteses (REARDON et al., 2001).

Há concordância entre os estudos de que a perda de massa muscular causada pela ausência de descarga de peso e outros modelos de desuso é um produto de atrofia das fibras musculares esqueléticas e aumento da degradação protéica (BOOTH & CRISWELL, 1997). Porém, os mecanismos desencadeadores celulares e moleculares que levam a essa perda ainda não são bem entendidos (LAWLER et al., 2003).

Hilder et al. (2003), em estudo realizado com suspensão de membros posteriores de ratos, demonstraram que a resistência à insulina acompanha o processo de atrofia muscular induzida pelo desuso em músculos esqueléticos de contração lenta, como o músculo sóleo. Simultaneamente, esses autores observaram um aumento na expressão de proteínas nos músculos hipotrofiados e correlacionaram esse aumento à degradação da proteína IRS-1, o que implica em uma redução na efetividade da sinalização insulínica, além

disso, observaram também uma redução na atividade da Akt.

Outros trabalhos, como os realizados por Turinsky (1987), Handberg et al., (1996) e Hirose (2000), também evidenciaram a resistência à insulina em situações crônicas de desuso muscular.

Com objetivo de encontrar alternativas terapêuticas capazes de minimizar a hipotrofia decorrente do desuso, pesquisadores vem tentando compreender as alterações metabólicas que ocorrem nas fases iniciais do desuso. O'keefe et al. (2004), observaram que no primeiro dia de desuso, o transporte de glicose no músculo sóleo está significativamente reduzido, porém, não encontraram alterações na expressão da sub-unidade beta do receptor de insulina, nas proteínas IRS-1 e IRS-2, ou na sub-unidade p85 da via PI3-K/Akt, sem qualquer evidência de comprometimento da expressão de GLUT-4, sugerindo que a ativação da via p38 MAPK pode ter uma participação nesse processo.

Appel, (1990) descreveu que as principais e maiores alterações metabólicas, histológicas e bioquímicas ocorrem nos primeiros dias de imobilização.

Um estudo recente realizado por Fluckey et al. (2006), mostrou que a hipotrofia induzida pelo desuso em músculos de ratos submetidos a 4 dias de suspensão pela cauda, foi significativamente minimizada quando da associação com exercício de resistência.

2. Objetivos

Diante do exposto, o objetivo desse trabalho foi avaliar as alterações metabólicas induzidas pela imobilização na fase aguda, do primeiro ao terceiro dia, no 7º dia e no 15º dia de desuso.

3. Desenvolvimento

Animais

Foram utilizados 36 ratos albinos Wistar com idade variando entre 2 e 3 meses, fornecidos pelo Biotério da UNIMEP. Os animais foram alimentados com ração (Purina para roedores) e água "ad libitum", submetidos a ciclos fotoperiódicos de 12h claro/escuro e distribuídos em 6 grupos experimentais (n=6): controle (C), imobilizado 1 dia (I1), 2 dias (I2), 3 dias (I3), 7 dias (I7) e 15 dias (I15).

Imobilização

Os ratos foram anestesiados e a pata posterior esquerda imobilizada com a órtese de resina acrílica, a qual manteve em posição neutra (90º) a articulação do tornozelo, deixando as articulações do joelho e quadril livres.

O modelo de resina foi adaptado no membro posterior dos ratos, associado a uma cinta de PVC por dois rotadores laterais, os quais permitiram a sua movimentação. O conjunto, com aproximadamente 22 gramas de peso, não interferiu na deambulação do animal, havendo descarga de peso no membro imobilizado, sendo uma movimentação do membro em bloco, com movimentação ântero-posterior e lateral quadril.

Amostragem

As amostras de músculo foram coletadas dos ratos após o sacrifício. Os músculos sóleo (S), gastrocnêmio branco (GB) e vermelho (GV) foram retirados e encaminhados para a determinação do conteúdo de glicogênio.

Determinação do Glicogênio Muscular

As amostras dos músculos foram digeridas em KOH 30% a quente e o glicogênio precipitado a partir da passagem por etanol a quente. Entre uma fase e outra da precipitação, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm durante 10 minutos. O glicogênio precipitado, foi submetido a hidrólise ácida na presença de fenol, segundo a proposta de SIU LO et al., (1970). Os valores estão expressos em mg/100mg de peso úmido.

Análise estatística

A avaliação estatística foi feita através da análise de variância seguida do teste de Tukey sendo fixado o nível crítico de 5% ($p < 0,05$).

4. Resultados

Os resultados revelam que os grupos I1, I2 e I3 apresentaram redução ($p < 0,05$) de 11,5%, 53,8% e 65,4% respectivamente, no conteúdo de glicogênio do S, sem alterações significativas no GB e GV. Porém, houve redução ($p < 0,05$) em todos os músculos analisados nos grupos I7 (S: 31,6%, GB: 56,5%; GV: 39%), e I15 (S: 44,73%, GB: 47,82%, GV: 46,34%). Assim, foi observado que houve uma redução nas reservas energéticas somente no sóleo no período agudo da imobilização, porém nos períodos de 7 e 15 dias, os gastrocnêmios também são comprometidos pelo desuso muscular.

Tem-se caracterizado a hipotrofia como um processo específico para cada tipo de músculo, tanto em humanos, como em mamíferos, (CASTRO, 1999). Dessa maneira, as fibras do tipo I têm melhor adaptação em relação às fibras do tipo II, (TALMADGE, 2002). Segundo Tanaka et al. (2004), o músculo sóleo detém maior número de fibras do tipo I ao passo que no estensor longo há um predomínio de fibras do tipo II, sendo assim, em casos de imobilização o músculo sóleo é o mais afetado.

Os resultados desse estudo estão de acordo com os encontrados por O'keefe et al. (2004), que ao estudar os comprometimentos metabólicos deflagrados no primeiro dia de imobilização encontraram significativa redução da sensibilidade a insulina, redução no transporte de glicose nos músculos sóleo e no músculo extensor longo dos dedos, comprometimento da fosforilação basal da proteína Akt. Porém não encontraram diferenças na via de sinalização IRS-1, IRS-2/ PI3-kinase/Akt, sugerindo que existam outros mecanismos envolvidos no comprometimento agudo.

Os resultados desse trabalho também estão de acordo com o estudo realizado por Hirose et al. (2000), que ao estudar as alterações metabólicas induzidas por longos períodos de imobilização e encontraram redução da atividade da via PI3-K e da IRS-1-associada a PI 3-K.

5. Considerações Finais

Diante das observações pode-se inferir que o processo de imobilização gera um considerável comprometimento metabólico na musculatura esquelética induzindo:

- Resistência a insulina e conseqüentemente redução no conteúdo do glicogênio;
- Esse comprometimento inicia no primeiro dia de desuso e tem um caráter progressivo, comprometendo apenas o músculo sóleo na fase aguda, ao passo que com a cronicidade o comprometimento aumenta e se estende ao músculo gastrocnêmio.

Referências Bibliográficas

TALMADGE, R.J. Mechanical properties of rat soleus after long-term spinal cord transection. **J Appl Physiol** . v.93, n.4, p. 1487-97, 2002. JACKMAN, R.W., KANDARIAN, S.C. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. **Am J Physiol Cell Physiol**. v. 287, p. 834–43, 2004. JAGOE, R.T. GOLDBERG, A.L. What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care** . v.4, 183–90, 2001. HILDER, T.L. et al. Phosphorylation of insulin receptor substrate-1 serine 307 correlates with JNK activity in atrophic skeletal muscle. **FEBS Lett**. v.553, p. 63–67, 2003. HANDBERG, A. et al. Han XX, and Bonen A. Reciprocal GLUT-1 and GLUT-4 expression and glucose transport in denervated muscles . **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v. 271, p. 50–57, 1996. O'KEEFE, M.P. et al. Development of whole-body and skeletal muscle insulin resistance after one day of hindlimb suspension. **Metabolism**. v. 53, n. 9, p. 1215-22, 2004. HIROSE, M. et al. Immobilization depresses insulin signaling in skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v.279, p. 1235–41, 2000. TURINSKY, J. Dynamics of insulin resistance in denervated slow and fast muscles in vivo. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**. v. 252, p. 531–37, 1987. FLUCKEY, J.D. et al. Insulin-facilitated increase of muscle protein synthesis after resistance exercise involves a MAP kinase pathway. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. v. 290, n.6, p.1205-11, 2006. APPELL, H.J. Muscular atrophy following immobilisation. **A review. Sports Med**. v.10, n. 1, p. 42-58, 1990. EXTON, J.H. Mechanism of hormonal regulation of hepatic glucose metabolism. **Diabetes Metab**. v. 3, p. 163-83, 1987. SIU, L.O.; RUSSEAU, J.C.; TAYLOR, A.W. Determination of glycogen in small tissue samples . **J. Appl. Physiol** . v. 28, n. 2, p. 234-236, 1970. GARCIA, M.T.; KANAAN, S. Bases moleculares da resistência à insulina. **J. Bras. Pathol**. v. 33, n. 3, p. 154-59, 1997. GOODYEAR, L.J. et al. Glucose transporter number, activity, and isoform content in plasma membrane of red and white skeletal muscle. **Am. J. Physiol** . 261: 556-61, 1991. KLIP, A.; PAQUET, M.R. Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. **Diabetes Care** . v. 13, p. 228-43, 1990. RICHARDSON, J.M. et al. Differential regulation of glucose transport activity and expression in red and white skeletal muscle. **J. Biol. Chem** . v. 266, p.12690-94, 1991.