

Uma etapa limitante para a oxidação de ácidos graxos durante o exercício aeróbio: o ciclo de Krebs

A limiting step for fatty acids oxidation during aerobic exercise: the krebs cycle

Rui Curi¹
 Cláudia J. Lagranha¹
 Sandro Massao Hirabara¹
 Alessandra Folador¹
 Osvaldo Tchaikovski Jr.²
 Luiz Claudio Fernandes²
 Ídico L. Pellegrinotti³
 Tania Cristina Pithon-Curi^{3,4}
 Joaquim Procópio¹.

Resumo

Os ácidos graxos (AG) representam uma fonte importante de energia durante exercícios de intensidade leve, moderada e, principalmente, naqueles de duração prolongada. A utilização dos AG pelos músculos esqueléticos depende de passos importantes como a mobilização, transporte via corrente sanguínea, passagem pelas membranas plasmática e mitocondrial, β -oxidação e, finalmente, a oxidação no ciclo de *Krebs* (CK) e atividade da cadeia respiratória. O treinamento ao exercício aeróbio induz a adaptações que possibilitam maior aproveitamento dos AG como fonte de energia, ao mesmo tempo que o glicogênio muscular é preservado. Propomos a idéia de que o CK é uma etapa limitante para a utilização de AG pelo músculo esquelético. No tecido muscular, este ciclo apresenta perda contínua de carbonos com a formação de glutamina e citrato. Desta maneira, um passo chave para a manutenção do fluxo de metabólitos pelo CK é a formação de oxalacetato a partir do piruvato pela piruvato carboxilase. Quando o glicogênio muscular está depletado, o que ocorre após período prolongado de esforço físico, forma-se pouco piruvato. Assim, o aumento no suplemento de AG para o músculo esquelético pelo uso de drogas lipolíticas ou dietas não resulta necessariamente em aumento na oxidação de AG e produção de ATP.

PALAVRAS-CHAVE: exercício, oxidação de ácidos graxos, agentes lipolíticos, ciclo de Krebs, glicogênio.

Abstract

Fatty acids (FA) represent an important source of energy during exercises of light and moderate intensity, and mainly in those of a prolonged duration. The utilization of FA by skeletal muscles depends on important steps such as mobilization, transport through bloodstream, passage through plasma and mitochondrial membranes, β -oxidation, and finally oxidation in the Krebs' cycle (KC) and respiratory chain activity. Aerobic exercise training induces adaptations which make possible a higher improvement of FA as a source of energy, while muscle glycogen is preserved. The authors postulate that the KC is a limiting step for the utilization of FA by the skeletal muscle. In the muscular tissue, this cycle presents continuous loss of carbons by generation of glutamine and citrate. Thus, oxalacetate formation from pyruvate through pyruvate carboxylase is a key step to keep the flux of metabolites through the KC. Pyruvate formation is low when muscle glycogen is depleted, which occurs after a prolonged period of physical strain. Therefore, the increased supply of FA for skeletal muscles by the use of lipolytic drugs and diets does not necessarily result in the increase of fatty oxidation and ATP production.

KEYWORDS: exercise, fatty acids oxidation, lipolytic agents, Krebs cycle, and glycogen.

¹ Laboratório de Fisiologia Celular, Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo.

² Laboratório de Metabolismo Celular, Departamento de Fisiologia, Setor de Ciências Biológicas, UFPR.

³ Universidade Metodista de Piracicaba, Facef, Piracicaba, São Paulo, SP.

⁴ Unicastelo, São Paulo, SP.

Introdução

O exercício físico demanda intenso consumo de trifosfato de adenosina (ATP) que pode aumentar em dezenas de vezes dependendo da intensidade e duração do esforço. Nos músculos esqueléticos, há sistemas muito eficientes que possibilitam a ressíntese constante do ATP que está sendo utilizado para a contração muscular. Estes sistemas são os da fosfocreatina, glicólise e o da fosforilação oxidativa. Este último é o mais complexo e depende da utilização do oxigênio. Tem como característica baixa produção, porém, capacidade praticamente ilimitada, sendo apto a fornecer energia para a ressíntese de ATP, principalmente em esforços de longa duração com intensidades leve ou moderada. Nesta condição, o glicogênio é preservado havendo maior utilização de ácidos graxos (AG) como substratos energéticos (44).

Essa preferência dos músculos esqueléticos pelos AG é muito importante em exercícios físicos de longa duração, já que os lipídios armazenados no organismo na forma de triacilglicerol (TG) representam o principal estoque de energia disponível (28). Por outro lado, o glicogênio, imprescindível durante o exercício físico, possui um estoque relativamente limitado, que necessita ser preservado para continuar sendo utilizado concomitantemente aos AG, porém, em menor proporção, até o final do esforço.

As reservas de TG estão estocadas principalmente no tecido adiposo (~ 17 500 mmol em um homem adulto, magro), músculo esquelético (~ 300 mmol) e plasma (~ 0,5 mmol). O total de energia estocado na forma de TG é cerca de 60 vezes maior que aquele como glicogênio. Desta forma, a oxidação dos AG durante o exercício possibilita manter a atividade física por períodos mais prolongados e retarda a depleção do glicogênio e a hipoglicemia.

Nos exercícios físicos de longa duração, é imprescindível que a utilização do estoque abundante de TG/AG seja a maior possível para que a quebra do glicogênio muscular e a oxidação de glicose circulante sejam mínimas. A hipótese que parece melhor explicar esse “desvio” do metabolismo dos carboidratos para os lipídios é o ciclo de *Randle* (29). Com o aumento da disponibilidade de AG, há maior oxidação deste, diminuindo paralelamente à degradação de glicogênio e à utilização de glicose. Os AG desempenham, assim, papel crítico na manutenção da atividade física e, por isso, uma etapa limitante desta atividade é a lipólise.

O estoque de glicogênio muscular é suficiente para pouco mais de uma hora de esforço de intensidade moderada, fazendo com que os músculos dependam também da captação de glicose circulante para manter a contração. Por sua vez, a manutenção da glicemia é fundamental, principalmente para preservar a função cerebral, durante exercícios prolongados no qual se observa diminuição da glicemia para até 40-50 mg.dL⁻¹, levando o indivíduo à exaustão (21). Por isso, ajustes ocorrem com o treinamento para aumentar a eficiência na mobilização dos AG a partir do tecido adiposo, que é um estoque abundante.

Os depósitos energéticos do organismo

Os lipídios armazenados representam a fonte corpórea mais abundante de energia potencial. Em relação

aos outros nutrientes, a quantidade de lipídios disponível para a produção de energia é quase ilimitada. Por exemplo, no homem, uma massa aproximada de 9.000 g de lipídios é suficiente para fornecer 81.000 Kcal. Este estoque permitiria a um homem adulto andar 259 horas ou correr durante 67 horas. Por outro lado, o estoque de glicogênio muscular (350 g) fornece 1.400 Kcal, o que permitiria caminhar por apenas 4,8 horas ou correr durante 1,2 horas (28).

Portanto, os AG, estocados na forma de TG, representam a principal reserva energética disponível no homem. O armazenamento de TG é praticamente ilimitado, já que a esterificação dos AG com o glicerol não depende de água, diferentemente do glicogênio que é estocado com 3 g de água para cada grama do polímero. Outra vantagem dos AG é sua eficiência energética (9 Kcal.g⁻¹), mais que 2 vezes a do glicogênio/glicose (4 Kcal.g⁻¹) (4). Pelos motivos acima e de acordo com a lei da conservação de energia, todo excesso de energia proveniente da alimentação, incluindo gorduras, carboidratos e proteínas, é armazenado na forma de TG.

Mobilização e captação dos ácidos graxos nos músculos esqueléticos

As fontes de AG para utilização nos músculos esqueléticos são o TG do tecido adiposo, quilomicrons, lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) circulantes e do próprio tecido muscular que pode atingir uma quantidade de cerca de 400 g em indivíduos treinados (4). Em estudo recente foi demonstrado que os leucócitos circulantes constituem fonte adicional de AG para o músculo esquelético (8).

A atividade lipolítica do tecido adiposo aumenta com o exercício (49), em particular no treinamento aeróbio, que resulta em um aumento significativo no número e na atividade das mitocôndrias, além de um aumento na oxidação de AG livres (AGL). Contudo, alguns estudos sugerem que nem sempre é válida a noção vigente de que o treinamento aumenta a eficiência de utilização dos AG durante o exercício (22).

Turcotte *et al.* (42) mostraram que a captação de AGL do plasma, após 3 horas de exercício, é significativamente maior em homens treinados do que em não treinados. Esses dados são sugestivos de que a captação de AGL pelo músculo esquelético é mediada por um transportador saturável e que o treinamento aumenta a capacidade máxima para o transporte de AGL no músculo esquelético, possivelmente por elevar o conteúdo de carreadores de AG na membrana da célula muscular.

Ainda não está bem estabelecida qual é a principal fonte de AG para oxidação nos músculos esqueléticos. Alguns autores sugerem que o treinamento aumenta a atividade de degradação do TG intramuscular (TGIM) em relação ao estocado no tecido adiposo (4). Foi observado que o conteúdo de TGIM aumenta com o treinamento (4) e pode diminuir de 25% a 50% durante o exercício prolongado de intensidade de 55% a 75% do VO₂ máx. (32). Uma vantagem significativa da utilização do TGIM é que as etapas de transporte dos AG no plasma e sua passagem pela membrana da célula muscular não são necessárias e, portanto, a sua oxidação é mais rapidamente disparada.

Em relação aos AG provenientes do tecido adiposo, o primeiro passo para sua utilização é a mobilização, ou seja, a hidrólise do TG. O metabolismo do adipócito é controlado por hormônios e pelo sistema nervoso. De um lado, a insulina inibe a lipólise e estimula o processo de lipogênese e esterificação (6). Por outro, a mobilização dos AG é estimulada pela ação da adrenalina, noradrenalina, cortisol e hormônio do crescimento (GH). Em adipócitos de ratos, as catecolaminas, glucagon, GH e os hormônios adrenocorticotrópicos aumentam a lipólise (4). Já em adipócitos isolados de humanos, apenas as catecolaminas, hormônio estimulador da tireóide e paratormônio têm mostrado efeito lipolítico consistente (5). Entretanto, em condições fisiológicas, somente as catecolaminas podem estimular a lipólise no homem. Estas apresentam efeitos inibitórios por meio de receptores α_2 -adrenérgicos e estimulatórios via receptores β_1 -adrenérgicos, por alterações correspondentes na atividade da adenilato ciclase e na produção intracelular de AMPc (10).

O exercício agudo promove liberação intensa dos hormônios lipolíticos e aumenta a responsividade dos receptores β -adrenérgicos dos adipócitos às catecolaminas (43). Como consequência, há aumento na mobilização e concentração plasmática de AG, que é o passo determinante para sua oxidação nos músculos esqueléticos (29). Stich *et al.* (41) demonstraram que trabalhos aeróbios intermitentes (como por exemplo, 50% do $VO_{2\text{máx}}$ durante 60 min., com período de repouso semelhante entre uma sessão e outra) são mais eficientes na mobilização dos AG do que apenas uma sessão de esforço físico. No caso do treinamento é observado um aumento na concentração plasmática de AG, porém, a oxidação desses nos músculos esqueléticos depende da intensidade relativa do esforço (11).

Romijn *et al.* (33) estudaram a mobilização e utilização de carboidratos e lipídios durante exercícios de diferentes intensidades (25%, 65% e 85% do $VO_{2\text{máx}}$) em homens treinados. Como esperado, a captação de glicose pelos músculos e a glicogenólise intramuscular aumentaram proporcionalmente com a intensidade do esforço. A lipólise e a consequente liberação de AG para a circulação foram mais elevadas durante o exercício de menor intensidade. Por outro lado, a lipólise do TGIM foi elevada com o aumento da intensidade do exercício. Resultados semelhantes foram encontrados, mais recentemente, no estudo dos mesmos parâmetros em mulheres treinadas (34).

Metabolismo dos triacilgliceróis intramusculares

Durante os primeiros 90 min. de exercício, a taxa lipolítica é aproximadamente duas vezes maior que a oxidação dos AG. No entanto, a entrada de AG no plasma é similar à taxa de oxidação no mesmo período. Alguns pesquisadores sugerem que outra fonte de lipídios, além dos AG provenientes do tecido adiposo, provavelmente plasmático ou TGIM é também oxidada pelo músculo (26,31).

Postula-se que a reserva mais importante de AGL não plasmáticos disponível para a oxidação durante exercício moderado e prolongado é o TGIM (1). Esses são encontrados em concentrações diferentes conforme o tipo de fibra muscular, sendo armazenados em maior quantidade nas fibras musculares de contração lenta do que em fibras musculares

de contração rápida (1). Além disso, o treinamento, por si só, faz com que a deposição de TG seja diferente entre os tipos de fibra muscular (1).

Conforme Cleroux *et al.* (7), a utilização de β -bloqueador não seletivo resulta em inibição total da utilização de TG no músculo vasto lateral de humanos submetidos a trabalho no ciclo ergômetro. Conforme Stankiewicz-Choroszyca e Gorski (40), a utilização de β -bloqueador seletivo previne a diminuição na concentração de TG no músculo esquelético de ratos durante o exercício, enfatizando a importância da estimulação adrenérgica na regulação da hidrólise do TGIM. O efeito da adrenalina ocorre sobre as enzimas que atuam na hidrólise dos TG. Oscai *et al.* (30) propuseram que uma isoforma intracelular da lipoproteína lipase (LPL) atua como lipase de TG em músculo esquelético e coração. Evidências desta hipótese estão no fato de que a atividade da LPL intracelular está aumentada em músculo esquelético de ratos em exercício e que este incremento depende da intensidade do esforço (30).

Outros investigadores propõem que uma lipase sensível a hormônios, semelhante à lipase sensível a hormônios (LHS) do tecido adiposo, pode regular a hidrólise intramuscular de TG (39). Esta proposição foi confirmada com a produção de anticorpos contra LHS purificada de tecido adiposo de ratos. Holm *et al.* (20) constataram através de *immunoblotting* a presença de uma proteína com peso molecular similar a LHS do tecido adiposo em extrato de músculo esquelético de ratos.

Recentemente, Guo *et al.* (17) avaliaram, no músculo vasto lateral de 12 adultos, a cinética de TGIM e de AGL durante o exercício moderado (45% do $VO_{2\text{máx}}$). Nesse estudo, não foi observada diminuição significativa no conteúdo de TGIM em resposta ao exercício. Os autores sugerem que durante o exercício de duração e intensidade moderada, o TGIM é simultaneamente hidrolisado e reesterificado. Assim, a concentração deste é mantida praticamente constante.

A razão para as divergências quanto à importância dos TGIM durante o exercício ainda não está clara. Tais divergências talvez reflitam variações decorrentes de protocolos e variabilidade nas técnicas para determinar a concentração do TGIM (45).

Transferência de ácidos graxos de leucócitos para o músculo esquelético

Evidências vêm sendo acumuladas pelo nosso grupo em relação ao processo de transferência de AG entre leucócitos. Por esta razão, investigamos se estes também transferem AG para a musculatura esquelética (8). Para tal utilizamos ratos machos *Wistar* dos quais os linfócitos dos linfonodos mesentéricos foram retirados *post-mortem*. Estes foram cultivados em meio *Eagle* durante 6 h. na presença do ácido [^{14}C]-palmitico. De um outro grupo de ratos, o músculo sóleo foi retirado e incubado por 3 h. em tampão bicarbonato de *Krebs-Ringer* contendo 5,6 mM de glicose e BSA a 1%, na presença dos linfócitos pré-tratados com o ácido [^{14}C]-palmitico.

Após a incubação, avaliamos a quantidade de AG exportada dos linfócitos e incorporada no músculo esquelético e a sua distribuição nas diferentes frações

lipídicas, conforme avaliado por cromatografia de camada delgada. A transferência de [¹⁴C]-palmítico do linfócito para o músculo esquelético foi de 18%. A maior parte deste foi incorporada em fosfolipídios (70%) e TG (9%). Esses resultados são sugestivos de que os leucócitos constituem uma fonte adicional de AG para a musculatura esquelética e que esta transferência pode ser mais relevante em situações de exercício físico, quando a demanda de AG para este tecido aumenta significativamente e o fluxo sanguíneo é substancialmente elevado. Assim, de acordo com o estudo citado (Figura 1), há uma fonte adicional de AG para o músculo esquelético: os leucócitos (8).

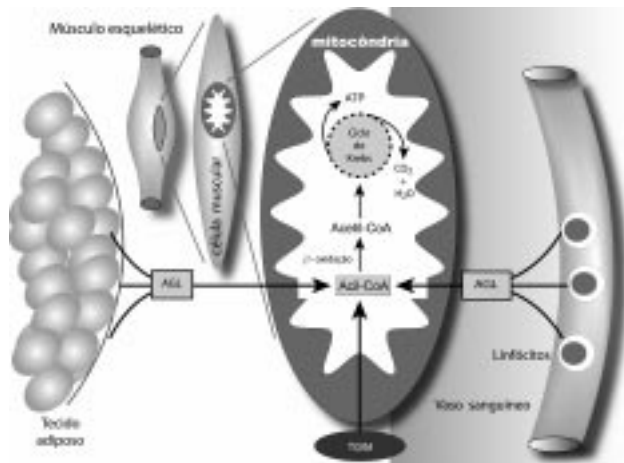


Figura 1 - Dendrograma de tipologia de agrupamentos entre variáveis.

As fontes de ácidos graxos para o músculo esquelético

Conforme apresentado anteriormente, os AG oxidados pelo músculo esquelético podem ser provenientes do tecido adiposo, das lipoproteínas plasmáticas ou da própria reserva muscular. Contudo, em estudo recente de nosso grupo (8), ficou evidenciado que ocorre transferência significativa de AG de leucócitos para o músculo esquelético. Assim, estas células podem constituir uma fonte adicional de AG para este tecido, principalmente em situações de exercício físico, quando a demanda por este substrato energético aumenta e há maior disponibilidade de leucócitos devido ao aumento do fluxo sanguíneo no músculo esquelético (Figura 1).

Oxidação dos ácidos graxos nos músculos esqueléticos

No sarcoplasma, os AG precisam atravessar mais uma barreira, representada pelas membranas externa e interna da mitocôndria, a fim de serem oxidados. Ainda no citossol, os AG são ativados (Figura 2), recebendo uma coenzima A (CoA) e tornando-se acil-CoA em uma reação catalisada pela acil-CoA sintetase (16). O acil-CoA atravessa as membranas mitocondriais por meio de um processo dependente de carnitina e das enzimas carnitina acil transferase-I (CAT-I), localizada na membrana externa, carnitina acil transferase-II (CAT-II), localizada na membrana interna e carnitina-acilcarnitina translocase (50), que atua entre as duas. As duas primeiras enzimas são também denominadas carnitina palmitoil transferase-I e II (CPT-I e

II), devido ao fato do ácido palmítico ser o principal ácido graxo metabolizado nos músculos esqueléticos (47).

Os passos para a entrada do acil-CoA na mitocôndria são os seguintes: a CAT-I promove a ligação do acil com a carnitina, formando acil-carnitina, ao mesmo tempo que a CoA é liberada (Figura 2). Por meio da ação da carnitina-acilcarnitina translocase o complexo acil-carnitina atravessa a membrana externa, o espaço intermembranas e a membrana interna, em que a CAT-II rompe o complexo acil-carnitina, liberando a carnitina e restabelecendo a ligação acil-CoA (48).

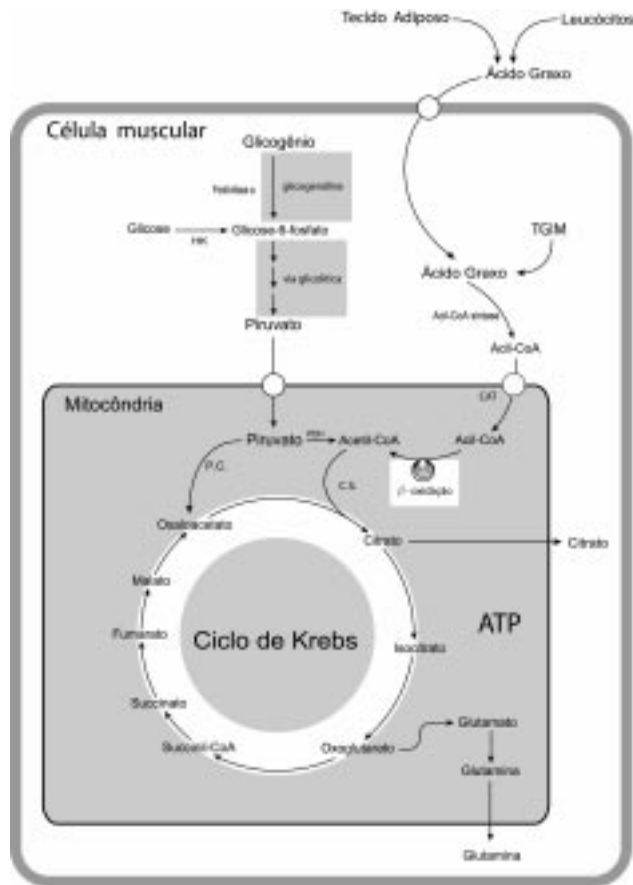


Figura 2 - Ciclo de Krebs. O piruvato gerado a partir de glicose e glicogênio é transportado para o interior da mitocôndria. Nesta, o piruvato é convertido em oxalacetato via piruvato carboxilase e em acetil-CoA via piruvato desidrogenase. O acetil-CoA é também proveniente da β -oxidação de ácidos graxos. O acetil-CoA e o oxalacetato geram citrato pela citrato sintetase. O citrato proveniente do ciclo de Krebs é parcialmente transportado para o citossol. O oxoglutarato é convertido em glutamato e este em glutamina. Assim, nesses dois mecanismos, há perda contínua de esqueletos de carbono do ciclo de Krebs. Em consequência, a geração de oxalacetato é uma etapa importante para manter a atividade deste ciclo. CAT = acil-carnitina transferase; CS = citrato sintetase; HK = hexoquinase; PC = piruvato carboxilase; PDH = piruvato desidrogenase; TGIM = triacilglicerol intramuscular.

O passo seguinte é a entrada da molécula de acil-CoA no processo de β -oxidação que consiste na remoção sucessiva de pares de carbonos e formação de um certo número de moléculas de acetil-CoA proporcional ao de carbonos do ácido graxo original. Durante a β -oxidação são liberados íons H^+ e elétrons, reduzindo as flavoproteínas NAD^+ e FAD em $NADH + H^+$ e $FADH_2$, para sua posterior

utilização na cadeia respiratória. Além disso, o acetil-CoA resultante é metabolizado no ciclo de *Krebs*, no qual há a redução de outras flavoproteínas. Como já mencionado, o exercício é uma situação na qual há aumento significativo da liberação de hormônios que estimulam a lipólise e aumenta a concentração plasmática de AG. A maior disponibilidade de AG circulantes aumenta proporcionalmente sua captação e utilização pelos músculos esqueléticos (19,29). Entretanto, essa relação ocorre apenas quando o esforço é leve ou moderado. Sabe-se que, acima de 70% (23) e 85% (35) do $VO_{2\text{máx}}$, a mobilização de AG é diminuída, provavelmente devido ao aumento da concentração plasmática de lactato, um metabólito anti-lipolítico (4).

O exercício físico com intensidade moderada (25% a 65% do $VO_{2\text{máx}}$), quando comparado ao repouso, aumenta em cerca de 5 a 10 vezes a oxidação de AG, devido à alta demanda energética dos músculos ativos e disponibilidade dos AG provenientes da lipólise do tecido adiposo. Nesta condição, há aumento de 2 a 3 vezes da lipólise (49), mediada pela estimulação α -adrenérgica (2). Além disso, a porcentagem de liberação dos AG que são reesterificados diminui pela metade (49), provavelmente devido às alterações do fluxo sanguíneo que facilitam a remoção dos AG do tecido adiposo para os músculos ativos. O exercício de intensidade moderada dobra o fluxo sanguíneo no tecido adiposo e causa aumento maior que 10 vezes deste no músculo esquelético (26).

Durante o exercício prolongado com intensidade de 40% do $VO_{2\text{máx}}$, a oxidação de AG aumenta e permanece elevada durante pelo menos uma hora no período de recuperação. Em exercícios prolongados com intensidade de 70% do $VO_{2\text{máx}}$, cerca de 50-60% da necessidade de ATP é suprida pelos carboidratos, com utilização predominante nos primeiros 30-40 minutos do esforço. O restante do ATP (40-50%) é suprido pelos AG que têm sua concentração plasmática e oxidação muscular aumentadas progressivamente, tornando-se o substrato mais utilizado pelos músculos a partir de 40-50 minutos de esforço até várias horas enquanto este se prolonga (19). A contribuição dos AG para o metabolismo muscular em exercícios prolongados de intensidade moderada (75% do $VO_{2\text{máx}}$) pode ser confirmada pelo fato de que a concentração de acil-carnitina aumenta em cerca de três vezes durante o esforço e se mantém elevada até a exaustão (37).

Os tipos de exercícios físicos que se beneficiam de forma significativa do metabolismo dos AG são aqueles com duração superior a 30 minutos e que se prolongam por algumas horas. Como já mencionado, a intensidade é um fator determinante na mobilização e utilização do glicogênio/glicose e TG/AG, visto que há uma relação direta entre a intensidade do esforço e a utilização de glicose como substrato (33). De modo geral, indivíduos bem treinados podem manter uma intensidade de 80-85% do $VO_{2\text{máx}}$ durante pouco mais de 2 horas, como em uma corrida de maratona por exemplo, devido ao aumento do estoque de glicogênio nos dias precedentes à prova e à capacidade elevada de utilização dos AG pelos músculos (19). Nestes indivíduos, as reservas de TG dos próprios músculos esqueléticos representam uma fonte importante de AG para a oxidação. Alguns pesquisadores sugerem que o treinamento não aumenta a oxidação dos AG provenientes do plasma, mas provavelmente, aumenta do estoque de TGIM.

Suplementação com ácidos graxos e facilitadores de sua utilização

A manipulação da dieta e suplementação com certos tipos de lipídios ou outros agentes que estimulam a lipólise e oxidação dos AG vem sendo estudadas como estratégia para melhorar o desempenho no exercício.

Hagerman (19) sugeriu que uma manipulação dietética no sentido de aumentar o fornecimento de lipídios, pode ser benéfica para indivíduos treinados, pois aumenta os estoques intramusculares de TG. Dietas ricas em gorduras apresentam resultados controversos; em alguns casos apontando aumento e em outros, diminuição do desempenho físico, em comparação com dietas balanceadas ou ricas em carboidratos (4). Dietas ricas em lipídios aumentam a atividade da LPL, que catalisa a degradação do TG circulante, aumentando a disponibilidade de AG para os músculos ativos. No entanto, o exercício agudo por si só estimula a LPL (38). Também se menciona que há elevada metabolização de TG durante o exercício de intensidade de 60-80% $VO_{2\text{máx}}$ após o consumo de dietas ricas em gordura por apenas alguns dias (24). Entretanto, este pode simplesmente resultar de um efeito da diminuição na disponibilidade de carboidratos.

Há consenso, contudo, de que o desempenho no exercício aumenta após consumo de uma dieta rica em lipídios seguida pelo consumo de uma dieta rica em carboidratos três dias antes do esforço físico. Esta é a dieta de supercompensação, proposta por Bergström *et al.* (3) há mais de 30 anos e está mais diretamente relacionada ao aumento da disponibilidade de glicogênio muscular do que da utilização dos AG. Portanto, a falta de carbonos devido à depleção de glicogênio é mais importante como indicador de exaustão que a oferta de AG ao tecido muscular.

No início da década de 1980, Ivy *et al.* (21) compararam o efeito de 30 g de TG de cadeia média (TCM) com a mesma quantidade de TG de cadeia longa (TCL), em humanos, administrados juntamente com carboidratos durante exercício de uma hora a 70% do $VO_{2\text{máx}}$. Verificou-se uma contribuição para o metabolismo energético de 37% dos TCM e 39% dos TCL. Esses valores estão abaixo daqueles da contribuição dos lipídios durante a realização do exercício em jejum que é de 49%. Nesse caso, a suplementação com TCM e TCL provavelmente não aumentou a proporção de lipídios metabolizados, pois os carboidratos inibem o metabolismo lipídico (29,12). O mecanismo para explicar este efeito está apresentado a seguir.

A carnitina, como visto anteriormente, é um agente importante na oxidação dos AG, atuando no seu transporte para o interior da mitocôndria. Decombaz *et al.* (9) estudaram o efeito da suplementação de L-carnitina (3g.d⁻¹ durante 7 dias) sobre o metabolismo de lipídios durante exercício a 57% do $VO_{2\text{máx}}$ após a depleção prévia do glicogênio. Em relação ao grupo que recebeu placebo, não foram observadas diferenças nos parâmetros sanguíneos, quociente respiratório (indicativo do substrato utilizado), frequência cardíaca e detecção de fadiga, levando os autores a concluir que a suplementação de carnitina não altera o metabolismo energético, mesmo durante um exercício de intensidade moderada realizado após a depleção do glicogênio.

Em um estudo de Yan *et al.* (50), foi demonstrado que o aumento da atividade contrátil dos músculos esqueléticos, seja causado pelo exercício ou estimulação elétrica crônica, aumenta a expressão do RNAm da CAT-II. Esses autores postulam que a carnitina é obtida em quantidades suficientes mesmo em uma dieta não vegetariana (46), tendo também sua síntese e aproveitamento aumentados, portanto, não sendo necessária sua suplementação na dieta.

Agentes lipolíticos utilizados por atletas

A lipólise é principalmente regulada por catecolaminas, por meio de β -adrenoreceptores, que promovem elevação da concentração intracelular do AMPc ativando a proteína quinase A (PKA) (39). Desta forma, os principais agentes lipolíticos são aqueles que atuam na resposta dos β -adrenoreceptores como a cafeína. Essa metil-xantina, além do seu efeito estimulante no sistema nervoso central de aumentar a concentração plasmática de noradrenalina, estimula diretamente o processo lipolítico (5). A cafeína também inibe a fosfodiesterase, aumentando a meia-vida do AMPc e, como consequência, a atividade da PKA e da LHS. A dose que provoca esses efeitos é de 3-6 mg.Kg⁻¹, enquanto a dose de 8 mg.Kg⁻¹ é considerada *dopping*. Doses de 10-15 mg.Kg⁻¹, por sua vez, são tóxicas, podendo provocar distúrbios gastrointestinais, arritmia, ansiedade e alucinações (15).

Outras drogas que podem atuar como lipolíticas são Clenbuterol, Fenoterol, Salbutamol, Salmeterol, Isoprenaline, Dobutamina e outras substâncias que atuam via receptor β -adrenérgico (14).

Regulação da oxidação de ácidos graxos pelo músculo esquelético quando há oferta abundante de glicose

A metabolização elevada da glicose pelo músculo esquelético reduz a oxidação de AG. O efeito da glicose sobre a oxidação de AG ocorre da seguinte maneira: a glicose, ao ser metabolizada pela via glicolítica, gera piruvato, o qual forma acetil-CoA através da piruvato desidrogenase. Acetil-CoA condensa-se ao oxalacetato pela citrato sintase, formando citrato (28). Este é exportado da mitocôndria para o citoplasma e, pela ação da ATP-citrato liase, gera novamente acetil-CoA, o qual é convertido em malonil-CoA pela acetil-CoA carboxilase. O citrato também é um ativador importante da acetil-CoA carboxilase (27). Portanto, este metabólito, além de precursor, também ativa a produção de malonil-CoA.

O malonil-CoA é um potente inibidor da CAT-I (36), induzindo a uma inibição da oxidação de AG na mitocôndria (27). Os AG que permanecem no citoplasma na forma de acil-CoA são, desta forma, esterificados em TG, fosfolípidios ou ésteres de colesterol (27,18). Este mecanismo da interação glicose-AG leva à redução da oxidação de AG e o seu acúmulo como macromoléculas lipídicas.

Fatores que limitam a atividade do ciclo de Krebs

O ciclo de *Krebs* apresenta como característica peculiar, a geração de precursores e produtos com a liberação de CO₂. Além disso, o ciclo libera metabólitos como citrato e glutamina. Há, portanto, uma perda contínua de esqueleto de carbono que precisa ser reposta. A síntese de

oxalacetato é a etapa de inserção de novas moléculas no ciclo.

Durante o exercício, os principais substratos utilizados na reposição dos intermediários do ciclo de *Krebs* são o piruvato e aminoácidos como aspartato, asparagina e glutamato (13). Lancha Jr. *et al.* (25) verificaram que, durante o exercício físico em ratos, ocorre ativação da piruvato carboxilase, enzima que converte piruvato em oxalacetato. Este último metabólito condensa-se ao acetil-CoA e forma citrato, pela ação da citrato sintase, iniciando o ciclo de *Krebs*. Desse modo, são duas as principais limitações para maior utilização de AG no exercício de intensidade moderada e de longa duração: a disponibilidade de glicogênio para o fornecimento de intermediários do ciclo de *Krebs* (13) e a mobilização de AG do tecido adiposo e do músculo esquelético (4).

Considerações finais

Conforme Bergstrom *et al.* (3), o aumento do conteúdo de glicogênio muscular é um fator determinante para o desempenho no exercício aeróbio moderado e prolongado. Os AG atuam como fonte energética principal e o glicogênio para a manutenção da atividade do ciclo de *Krebs* na geração de oxalacetato (Figura 3).

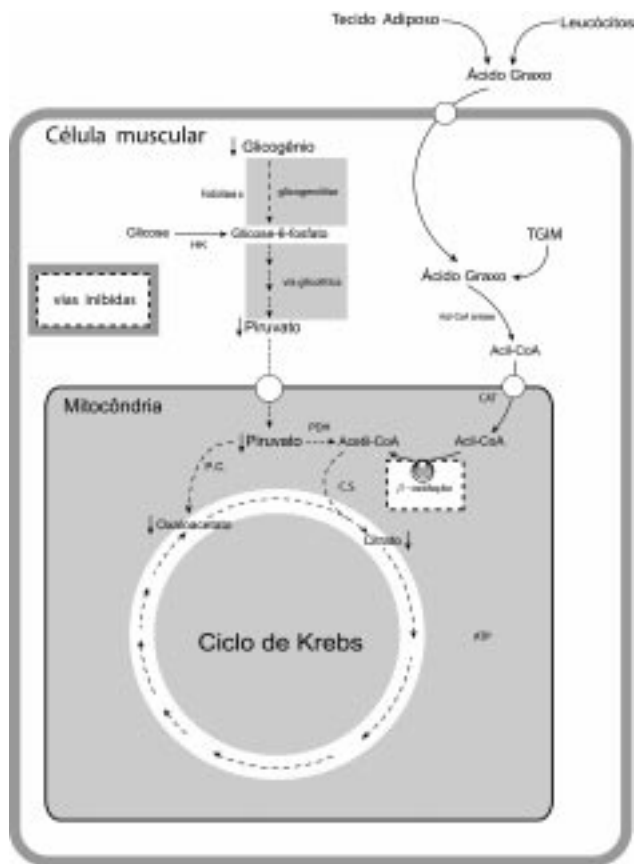


Figura 3 - Hipótese do presente trabalho. Havendo redução do conteúdo de glicogênio e, conseqüentemente, na produção de piruvato ocorre a queda de oxalacetato. A reação deste com acetil-CoA para formar citrato fica reduzida independente da oferta de acetil-CoA derivada da mobilização aumentada de ácidos graxos no tecido adiposo. Assim, mesmo havendo oferta de ácidos graxos, o músculo esquelético não consegue oxidar o acetil-CoA gerado na β -oxidação. Como consequência ocorre a redução na produção de ATP. Portanto, a exaustão do ciclo de *Krebs* seria o fator determinante da exaustão no exercício físico. CAT = acil-carnitina transferase; CS = citrato sintetase; HK = hexoquinase; PC = piruvato carboxilase; PDH = piruvato

O fornecimento do oxalacetato seria portanto um fator limitante, já que o acetil-CoA, proveniente de AG, reage com aquele, para a formação de citrato pela citrato sintase, com posterior fornecimento de ATP. Assim, ocorrendo redução de oxalacetato, a reação deste com acetil-CoA para formar citrato é diminuída independentemente da oferta de acetil-CoA derivada da mobilização aumentada de AG do tecido adiposo (Figura 3). Haveria então, lipólise, aumento de AG no plasma ou do próprio tecido com aumento da oferta desses ao músculo. A atividade reduzida do ciclo de Krebs, no entanto, limita a oxidação de AG por este tecido. A exaustão do ciclo de Krebs se deve à perda de esqueleto de carbonos. Como consequência, há queda do conteúdo de ATP e ocorre exaustão do indivíduo no esforço físico prolongado.

Os autores deste trabalho acreditam que a capacidade do músculo esquelético para oxidar AG apresenta relação íntima com a oferta e metabolização de glicose quer seja esta proveniente do plasma ou da degradação do glicogênio muscular. Assim, a oxidação de AG para ser máxima requer metabolização de glicose em taxas apropriadas. Situações de oferta muito elevada ou muito diminuída de glicose levam à redução da oxidação de AG por mecanismos distintos. Quando a oferta de glicose é elevada, o malonil-CoA gerado inibe a CPT-I. Por sua vez, na depleção de glicogênio, falta esqueletos de carbono para manter o fluxo de metabólitos no ciclo de *Krebs*.

Referências Bibliográficas

1. ABERNETHY, P.J.; THAYER, R. e TAYLOR, A.W. Acute and chronic responses of skeletal muscle to endurance and sprint exercise. **Sports Medicine**. 1990; 10:365-389.
2. ARNER, P. *et al.* Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. **J Clin Invest**. 1990; 85:893-898.
3. BERGSTRÖM, J. *et al.* Diet, muscle glycogen and physical performance. **Acta Physiol Scand**. 1967; 71:140-150.
4. BROUNS, F. e VANDER VUSSE, G.J. Utilization of lipids during exercise in human subjects: metabolic and dietary constraints. **Br J Nutr**. 1998; 79:117-128.
5. BÜLOW, J. **Principles of Exercise Biochemistry** 2nd; 1993.
6. CAMPBELL, P.J. *et al.* Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: role of lipolysis and reesterification. **Am J Physiol**. 1992; 263:E1063-E1069.
7. CLEROUX, J. *et al.* Effects of beta 1- vs. beta 1 + beta 2-blockade on exercise endurance and muscle metabolism in humans. **J Appl Physiol**. 1989; 66:548-554.
8. CURI, R *et al.* Uma fonte adicional de ácidos graxos para o músculo esquelético: os leucócitos. **Rev. Bras. Ciên. e Mov**. 2002; 10:91-98.
9. DECOMBAZ, J. *et al.* Effect of L-carnitine on submaximal exercise metabolism after depletion of muscle glycogen. **Med Sci Sports Exerc**. 1993; 25:733-740.
10. FRANZ, I.W. *et al.* Aspects of hormonal regulation of lipolysis during exercise: effects of chronic beta-receptor blockade. **Int J Sports Med**. 1983; 4:14-20.
11. FRIEDLANDER, A.L. *et al.* Endurance training increases fatty acid turnover, but not fat oxidation, in young men. **J Appl Physiol**. 1999; 86: 2097-2105.
12. GALBO, H. e STALLKNECHT, B. **Regulation of fat metabolism in exercise**. In: Maughan RJ, Shirreffs SM. Editors Biochemistry of exercise IX, Human Kinetics Publishers: Champaign, 1996.
13. GIBALA, M.J.; YOUNG, M.E. e TAEGTMEYER, H. Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. **Acta Physiol Scand**. 2000; 168:657-665.
14. GLISEZINSKI, I. *et al.* Endurance training changes in lipolytic responsiveness of obese adipose tissue. **Am J Physiol (Endocrinol Metab)**. 1998; 275:E951-6.
15. GRAHAM, T.E. Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. **Sports Med** 2001; 31(11):785-807.
16. GROFF, J.L.; GROPPER, S.S. e HUNT, S.M. **Advanced nutrition and human metabolism**. West Publishing Company: New York. 1995.
17. GUO, Z.; BURGUERA, B. e JENSEN, M.D. Kinetics of intramuscular triglyceride fatty acids in exercising humans. **J Appl Physiol**. 2000; 89:2057-2064.
18. HABER, E.P. *et al.* Pleiotropic effect of fatty acids on pancreatic β -cells. **J Cell Physiol**. 2002; 194: 1-12.
19. HAGERMAN, F.C. Energy metabolism and fuel utilization. **Med Sci Sports Exerc**. 1992; 24:S309-S314.
20. HOLM, C. Immunological evidence for the presence of hormone-sensitive lipase in rat tissues other than adipose tissue. **Biochem Biophys Res Commun**. 1987; 148:99-105.
21. IVY, J.L. *et al.* Contribution of medium and long chain triglyceride intake to energy metabolism during prolonged exercise. **Int J Sports Med**. 1980; 1:15-20.
22. JANSSON, E. e KAIJSER, L. Substrate utilization and enzymes in skeletal muscle of extremely endurance-trained men. **J Appl Physiol**. 1987; 62:999-1000.
23. JONES, N.L. *et al.* Fat metabolism in heavy exercise. **Clin Sci**. 1980; 59:469-478.
24. LAMBERT, E.V. *et al.* Nutritional strategies for promoting fat utilization and delaying the onset of fatigue during prolonged exercise. **J Sports Sci**. 1997; 15:315-324.
25. LANCHAJR., A.H.; RECCO, M.B. e CURI, R. Pyruvate carboxylase activity in the heart and skeletal muscles of the rat. **Biochem and Mol Biol Int**. 1994; 32:483-489.
26. MARTIN, W.H.; DALSKY, G.P. e HURLEY, B.F. Effect of endurance training on plasma free fatty acid turnover and oxidation during exercise. **Am J Physiol**. 1993; 265:E708-E714.
27. MCGARRY, J.D. Glucose-Fatty acid interactions in health and disease. **Am. J. Clinical Nutrition**. 1998; 67: 500S-504S

28. NEWSHOLME, E.A. e LEECH, A.R. **Biochemistry for the Medical Sciences**. New York: John Wiley & Sons, 1983.
29. NEWSHOLME, E.A. **An introduction to the roles of the glucose-fatty acid cycle in sustained exercise**. In: Maughan RJ, Shirreffs SM, editors. *Biochemistry of exercise IX*, Human Kinetics Publishers: Champaign, 1996.
30. OSCAI, L.B. Type L hormone-sensitive lipase hydrolyzes endogenous triacylglycerols in muscle in exercised rats. **Med Sci Sports Exerc**. 1983; 15:336-339.
31. PHILLIPS, S.M. *et al.* Progressive effect of endurance training on metabolic adaptations in working skeletal muscle. **Am J Physiol**. 1996; 270:E265-E672.
32. RICHTER, E.A.; KIENS, B. e TURCOTTE, L.P. **Transport and metabolism of fatty acid in muscle**. In: Maughan RJ, Shirreffs SM, editors. *Biochemistry of exercise IX*, Human Kinetics Publishers: Champaign, 1996.
33. ROMIJN, J.A.; COYLE, E.F. e SIDOSSIS, L. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. **Am J Physiol**. 1993; 265:E380-E391.
34. ROMIJN, J.A. *et al.* Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. **J Appl Physiol**. 2000; 88:1707-1714.
35. ROMIJN, J.A.; *et al.* Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. **J Appl Physiol**. 1995; 79:1939-1945.
36. RUDERMAN, N. *et al.* Malonyl-CoA, fuel sensing and insulin resistance. **Am J Physiol Endoc Metab**. 1999; 276:E1-E18.
37. SAHLIN, K.; KATZ, A. e BROBERG, S. Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise. **Am J Physiol**. 1990; 259:C834-C841.
38. SAVARD, R. *et al.* Acute effects of endurance exercise on human adipose tissue metabolism. **Metabolism**. 1987; 36:480-485.
39. SEVERSON, D.L. Regulation of lipid metabolism in adipose tissue and heart. **Can J Physiol Pharm**. 1979; 57:923-937.
40. STANKIEWICZ-CHOROSZUCHA, B. e GÓRSKI, J. Effect of decreased availability of substrates on intramuscular triglyceride utilization during exercise. **Eur J Appl Physiol**. 1978; 40:27-35.
41. STICH, V. *et al.* Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic exercise. **J Appl Physiol**. 2000; 88:1277-1283.
42. TURCOTTE, L.P.; RICHTER, E.A. e KIENS, B. Increased plasma FFA uptake and oxidation during prolonged exercise in trained vs. untrained humans. **Am J Physiol**. 1992; 262: E791-E799.
43. WAHRENBERG, H. *et al.* Acute adaptation in adrenergic control of lipolysis during physical exercise in humans. **Am J Physiol**. 1987; 253:E383-E390.
44. WEGENER, G.; KRAUSE, U. e NEWSHOLME, E.A. Metabolic regulation – physiological and medical aspects. **Experientia**. 1996; 52:391-395.
45. WENDLING, P.S. *et al.* Variability of triacylglycerol content in human skeletal muscle biopsy samples. **J Appl Physiol**. 1996; 81:1150-1155.
46. WILLIAMS, M.H. Nutritional ergogenics in athletics. **J Sports Sci**. 1995; 13:S63-S74.
47. WILLIAN JR. W.N. e PADOVESE, R. Oxidação dos Ácidos Graxos. In: Curi, R; Pompéia, C.; Miyasaka, C.K.; Procopio, J. editors **Entendendo a Gordura. Os ácidos graxos**. Manole. 2002.
48. WINDER, W.W. **Malonyl Coa as a metabolic regulator**. In: Maughan RJ, Shirreffs SM editors, *Biochemistry of exercise IX*, Human Kinetics Publishers: Champaign, 1996.
49. WOLFE, R.R. *et al.* Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. **Am J Physiol**. 1990; 258:E382-E389.
50. YAN, Z. *et al.* Increased muscle carnitine palmitoyltransferase II mRNA after increased contractile activity. **Am J Physiol**. 1995; 268:E277-E281.

Nosso grupo recebe suporte financeiro da FAPESP, CNPq, CAPES e Pronex.