

Ciclo de Krebs Como Fator Limitante na Utilização de Ácidos Graxos Durante o Exercício Aeróbico

revisão

RESUMO

Os ácidos graxos (AG) representam uma fonte importante de energia durante exercícios de intensidade leve ou 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 e atividade da cadeia respiratória. O exercício agudo e o treinamento induzem adaptações que possibilitam maior aproveitamento dos AG como fonte de energia, ao mesmo tempo em que o glicogênio muscular é preservado. Contudo, as tentativas de manipulação da dieta e suplementação com agentes ativos para aumentar a mobilização e utilização dos AG durante o exercício não apresentam resultados conclusivos. Nesse trabalho, a hipótese de que o ciclo de Krebs é o fator limitante da utilização de ácidos graxos pelo tecido muscular no exercício prolongado é apresentada. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/2:135-143)

Descritores: Exercício; Oxidação de ácidos graxos; Agentes lipolíticos; Ciclo de Krebs; Glicogênio

ABSTRACT

The Krebs Cycle as Limiting Factor for Fatty Acids Utilization During Aerobic Exercise.

Fatty acids are important fuels for muscle during moderate and prolonged exercise. The utilization of fatty acids by skeletal muscle depends on important key steps such as lipolysis in the adipose tissue, plasma fatty acids transport, and passage through plasma and mitochondrial membranes, β -oxidation, and finally oxidation through the Krebs cycle and respiratory chain activity. Acute exercise and exercise training induce adaptations that lead to an increase in fatty acid oxidation. As a result muscle glycogen is preserved. Nevertheless, diet manipulation and supplementation with lipolytic agents that raise fatty acids mobilization and oxidation during exercise failed to show beneficial results on exercise performance. The hypothesis that Krebs cycle is a limiting factor for fatty acid oxidation by the skeletal muscle during prolonged exercise is presented herein. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/2:135-143)

Keywords: Exercise; Fatty acid oxidation; Lipolytic agents; Krebs cycle; Glycogen

Rui Curi
Cláudia J. Lagranha
Jair Rodrigues G. Jr
Tania Cristina Pithon-Curi
Antonio Herbert Lancha Jr
Ídico L. Pellegrinotti
Joaquim Procopio

Laboratório de Fisiologia Celular (RC, CJL, JP), Departamento de Fisiologia e Biofísica, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo; Departamento de Educação Física (JRGJ), Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Bauru; Universidade Metodista de Piracicaba (TCPC, ILP), FACEF, Piracicaba; Unicastelo (TCPC), São Paulo e; Escola de Educação Física (AHL Jr.), Departamento de Biodinâmica do Movimento do Corpo Humano, Universidade de São Paulo, SP.

Recebido em 17/07/02
Revisado em 18/12/02
Aceito em 21/02/03

O EXERCÍCIO FÍSICO DEMANDA intenso consumo de trifosfato de adenosina (ATP), que pode aumentar em até 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 o da fosfocreatina, glicólise e a fosforilação oxidativa. Este último é o mais complexo dos três 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 dos ácidos graxos (AG) como substrato energéticos (1).

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 (2). 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.

Os TGs estão estocados principalmente no tecido adiposo (~ 17.500mmol em um homem adulto, magro), músculo esquelético (~ 300mmol) e plasma (~ 0,5mmol). O total de energia estocada como TG é cerca de 60 vezes maior que aquela 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 justamente para que a quebra do glicogênio muscular e a oxidação de glicose circulante sejam as menores possíveis. A hipótese que parece melhor explicar esse "desvio" do metabolismo dos carboidratos para os lipídios é o ciclo de Randle (3). Com o aumento da disponibilidade de AG há maior oxidação deste diminuindo paralelamente a degradação de glicogênio e a 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, nos quais se observa diminuição da glicemia para até cerca de 40-50mg.dL⁻¹, levando o indivíduo à exaustão (4). Por isso, ajustes ocorrem 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. No homem, uma massa aproximada de 9000g de lipídios é suficiente para fornecer 81000Kcal. Este estoque permitiria a um homem adulto andar 259 horas ou correr durante 67 horas. Por outro lado, o estoque de glicogênio muscular (350g) fornece 1400Kcal, permitindo caminhar apenas 4,8 horas ou até mesmo correr durante 1,2 horas (2).

Os AG, estocados na forma de TG, representam a principal reserva energética disponível no homem. O armazenamento de TG é ilimitado, já que a esterificação dos AG com o glicerol não depende de água, diferentemente do glicogênio que é estocado com 3g de água para cada grama do polímero. Outra vantagem dos AG é sua eficiência energética (9Kcal.g⁻¹), mais que 2 vezes a do glicogênio/glicose (4Kcal.g⁻¹) (5). Por esses motivos, e de acordo com a primeira lei da termodinâmica (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, o TG dos quilomicrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) circulantes, e o TG do próprio tecido muscular que pode atingir uma quantidade de cerca de 400g em indivíduos treinados (5).

A mobilização dos AGL a partir do tecido adiposo é dependente da taxa de lipólise, da capacidade de transporte dos AGL pelo plasma e da reesterificação desses pelos adipócitos.

A atividade lipolítica do tecido adiposo aumenta com o exercício (6), 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 AGL. Contudo, em alguns

estudos foi sugerido que a noção de que o treinamento sempre aumenta a eficiência da utilização dos AGL durante o exercício (7) pode não ser correta. Turcotte e cols. (8) mostraram que a captação de AGL do plasma é significativamente maior em homens treinados do que em não treinados, durante 3 horas de exercício. 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.

Ainda não está muito bem estabelecida qual é a principal fonte de AG disponíveis para oxidação nos músculos esqueléticos. Alguns autores sugerem que o treinamento aumenta a atividade de degradação do triacilglicerol intramuscular (TGIM) em relação ao estocado no tecido adiposo (5). Foi observado que o conteúdo intramuscular de TG aumenta com o treinamento (5) e pode diminuir de 25% a 50% durante o exercício prolongado de intensidade de 55% a 75% do $VO_{2máx}$. (9). Uma vantagem significativa da utilização do TGIM é que as etapas de transporte dos AG no plasma e sua passagem através da 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 (10). Por outro lado, a mobilização dos AG é estimulada pela ação da adrenalina, noradrenalina, cortisol e hormônio do crescimento (GH). Em adipócitos de ratos, as catecolaminas, glucagon, hormônio do crescimento e os hormônios adrenocorticotrópicos aumentam a lipólise (5), mas em adipócitos isolados de humanos apenas as catecolaminas, hormônio estimulador da tireóide e paratormônio têm mostrado efeito lipolítico consistente (11).

Apenas as catecolaminas podem estimular a lipólise no homem, em condições fisiológicas. As catecolaminas têm ação inibitória através de receptores α_2 -adrenérgicos e estimulatória via receptores β_1 -adrenérgicos, por alterações correspondentes na atividade da adenilato ciclase e na produção intracelular de AMPc (12).

O exercício agudo promove liberação intensa dos hormônios lipolíticos e aumenta a responsividade dos receptores β -adrenérgicos dos adipócitos às catecolaminas (13). Em consequência, aumenta a mobi-

lização e da concentração plasmática de AG, que é o passo determinante para sua maior oxidação nos músculos esqueléticos (3). Stich e cols. (14) demonstraram que trabalho aeróbio intermitente (como por exemplo, 50% do $VO_{2máx}$. durante 60 minutos 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 (15).

Romijn e cols. (16) estudaram a mobilização e utilização de carboidratos e lipídios durante exercícios de diferentes intensidades (25%, 65% e 85% do $VO_{2máx}$.) em homens treinados. Como esperado, a captação de glicose pelos músculos e a glicogenólise intramuscular aumentaram proporcionalmente à intensidade do esforço. A lipólise e a conseqüente liberação dos AG na circulação foram mais elevadas durante o exercício de menor intensidade. Por outro lado, a lipólise do TG intramuscular (TGIM) foi elevada com o aumento da intensidade do exercício. Resultados semelhantes foram encontrados, mais recentemente, no estudo dos mesmos parâmetros em mulheres treinadas (17).

Metabolismo dos triacilgliceróis intramusculares (TGIM)

Durante os primeiros 90min de exercício, a taxa lipolítica é aproximadamente 2 vezes maior do que a taxa de 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 (18,19).

Postula-se que a reserva mais importante de AGL não plasmáticos, disponível para a oxidação durante exercício moderado e prolongado, é o TGIM (20). 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 (20). Além disso, o próprio treinamento faz com que a deposição de TG seja diferente entre os tipos de fibra muscular (20).

A regulação da hidrólise dos TGIM parece estar, em grande parte, sujeita à estimulação β -adrenérgica, em contraste com a lipólise do tecido adiposo, que é parcialmente inibida por bloqueadores β -adrenérgicos.

Conforme Cleroux e cols. (21), 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 (22), 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 e cols. (23) propuseram que uma isoforma intracelular da lipase lipoproteica (LLP) atua como lipase de TG em músculo esquelético e coração. Evidências desta hipótese estão no fato de que a atividade da LLP intracelular está aumentada em músculo esquelético de ratos em exercício e que este incremento depende da intensidade do esforço (23).

Outros investigadores propõem que uma lipase sensível a hormônio, similar à lipase hormônio sensível (LHS) do tecido adiposo, pode regular a hidrólise intramuscular de TG (24). Esta proposição foi confirmada com a produção de anticorpos contra LHS purificada de tecido adiposo de ratos. Holm e cols. (25) constataram através de "imunoblotting" a presença de uma proteína com peso molecular similar a LHS do tecido adiposo em extrato de músculo esquelético de ratos.

Recentemente, Guo e cols. (26) 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 e 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 muscular (27).

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 1), recebendo uma coenzima A (CoA) e tornando-se acil-CoA numa reação catalisada pela enzima acil-CoA sin-

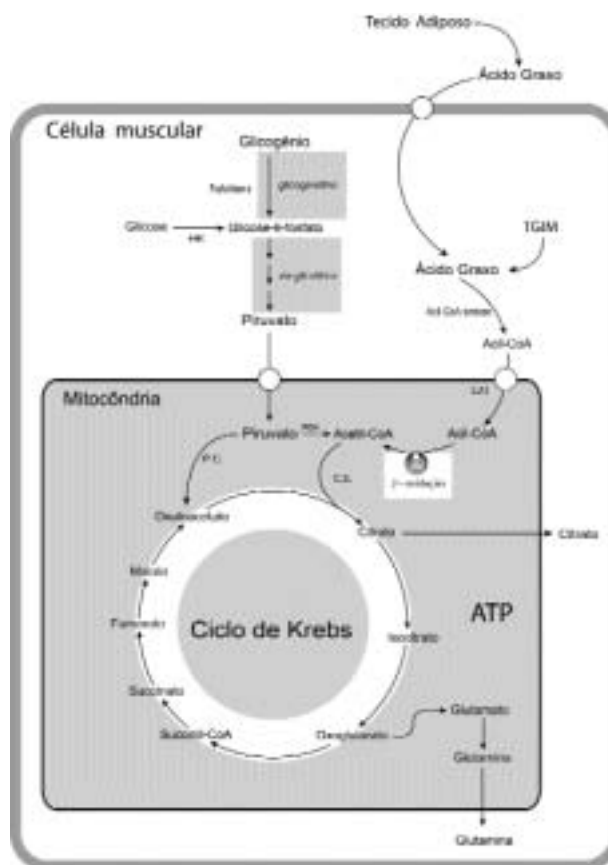


Figura 1. Ciclo de Krebs: O piruvato gerado a partir de glicose e glicogênio é transportado para o interior da mitocôndria. Nesta, o piruvato é convertido em oxalacetato via piruvato carboxilase e em acetil CoA via piruvato desidrogenase. O acetil CoA é também proveniente da β -oxidação de ácidos graxos. 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 oxaloacetato é uma etapa importante para manter a atividade deste ciclo. CS = citrato sintetase; HK = hexoquinase; PC = piruvato carboxilase; PDH = piruvato descarboxilase; CAT = acilcarnitina transferase; TGIM = triglicérides intramusculares.

tetase (28). 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 (29), 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 (30).

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 1). Por meio da ação da carnitina-acilcarnitina translocase, o complexo acil-carnitina atravessa a membrana externa, o espaço intermembranas e a membrana interna, onde a CAT II rompe o complexo acil-carnitina, liberando a carnitina e restabelecendo a ligação acil-CoA (31).

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, onde 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 (3,32). Entretanto, essa relação ocorre apenas quando o esforço é leve ou moderado. Sabe-se que, acima de 70% (33) e 85% (34) do $VO_{2m\acute{a}x.}$, a mobilização de AG é diminuída, provavelmente devido ao aumento da concentração plasmática de lactato, um metabólito anti lipolítico (5).

Exercício físico com intensidade moderada (25% a 65% do $VO_{2m\acute{a}x.}$), quando comparado ao repouso, aumenta em cerca de 5 a 10 vezes a oxidação de ácidos graxos, 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 (6), mediada pela estimulação β -adrenérgica (35). Além disso, a porcentagem de liberação dos AG que são reesterificados diminui pela metade (6), 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 (18).

Durante exercício prolongado com intensidade de 40% do $VO_{2m\acute{a}x.}$, a oxidação de ácidos graxos aumenta e permanece elevada durante pelo menos uma hora no período de recuperação. Em exercícios prolongados com intensidade de 70% do $VO_{2m\acute{a}x.}$, cerca de 50-60% da energia é suprida pelos car-

boidratos, com utilização predominante nos primeiros 30-40 minutos do esforço. O restante da energia (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 e até várias horas enquanto este se prolonga (32). A contribuição dos AG para o metabolismo muscular em exercícios prolongados de intensidade moderada (75% do $VO_{2m\acute{a}x.}$) pode ser confirmada pelo fato de que a concentração de acilcarnitina aumenta em cerca de três vezes durante o esforço e se mantém elevada até a exaustão (36).

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 (16). De modo geral, indivíduos bem treinados podem manter uma intensidade de 80-85% do $VO_{2m\acute{a}x.}$ durante pouco mais de 2 horas, como numa 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 (32). Nestes indivíduos, os triacilgliceróis 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, do estoque de TGIM.

Além da utilização dos AG durante o exercício, no período de recuperação, quando o estoque de glicogênio está acentuadamente diminuído e a atividade metabólica continua aumentada, os AG constituem o principal substrato energético utilizado.

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 estudados como estratégias para melhorar o desempenho no exercício.

Hagerman (32) 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 lipídios apresentam resultados controversos; em alguns casos apontando aumento e, em

outros, diminuição do desempenho físico, em comparação com dietas balanceadas ou ricas em carboidratos (5). Dietas ricas em lipídios aumentam a atividade da LLP, 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 LLP (37). Também se menciona que há um aumento do metabolismo lipídico durante o exercício de intensidade de 60-80% $VO_{2máx.}$ após o consumo de dietas ricas em lipídios por apenas alguns dias (38); entretanto, esse pode ser simplesmente um efeito da diminuição da disponibilidade de carboidratos.

Há consenso contudo de que o desempenho no exercício aumenta após alguns dias consumindo 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 e cols. (39) há mais de 30 anos, e está mais diretamente relacionada ao aumento da disponibilidade de glicogênio muscular do que da utilização dos AG.

No início da década de 80, Ivy e cols. (4) compararam o efeito de 30g de triacilglicerol de cadeia média (TCM) com a mesma quantidade de triacilgliceróis de cadeia longa (TCL), a humanos, quando administrados juntamente com carboidratos durante exercício de uma hora a 70% do $VO_{2máx.}$. 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 (3,40).

A carnitina, como visto anteriormente, é um agente importante na oxidação dos AG, atuando no seu transporte para o interior da mitocôndria. Neste sentido, Decombaz e cols. (41) estudaram o efeito da suplementação de L-carnitina ($3g.d^{-1}$ durante 7 dias) sobre o metabolismo de lipídios durante exercício a 57% do $VO_{2máx.}$ 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 e cols. (29), foi demonstrado que o aumento da atividade contrátil dos mús-

culos 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 numa dieta não vegetariana (42), tendo também sua síntese e aproveitamento aumentados.

Agentes lipolíticos utilizados por atletas

A lipólise é principalmente regulada pelas catecolaminas, através de β -adrenorreceptores, que promovem elevação da concentração intracelular do AMPc ativando a proteína quinase A (PKA) (24). 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 aumentando a concentração plasmática de noradrenalina, estimula diretamente o processo lipolítico (5). A cafeína inibe a fosfodiesterase, aumentando a meia-vida do AMPc e como consequência a atividade da proteína quinase A (PKA) e da lipase sensível a hormônios (LSH). A dose que provoca esses efeitos é de $3-6mgKg^{-1}$, enquanto que a dose de $8mgKg^{-1}$ é considerada "doping" e doses de $10-15mgKg^{-1}$ são tóxicas, podendo provocar distúrbios gastrointestinais, arritmia, ansiedade e alucinações (43).

Outras drogas que podem atuar como lipolíticas são Clenbuterol, Fenoterol, Salbutanol, Salmeterol, Isoprenaline, Dobutamina e demais substâncias que atuam via receptor beta adrenérgico (44).

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 ácidos graxos. O efeito da glicose sobre a oxidação de ácidos graxos ocorre da seguinte maneira: a glicose ao ser metabolizada pela via glicolítica gera piruvato e este através da piruvato desidrogenase forma acetil CoA. Este condensa-se ao oxaloacetato pela citrato sintase levando à produção de citrato (2). Este sai da mitocôndria para o citoplasma e pela ação da ATP-citrato liase gera acetil CoA. O acetil CoA é convertido em malonil CoA pela acetil CoA carboxilase. O citrato é um ativador importante da acetil CoA carboxilase (48). Portanto, este metabólito além de precursor ativa a produção de malonil CoA.

O malonil CoA é um potente inibidor da CAT-I (47). Assim, ocorre inibição da oxidação de ácidos graxos na mitocôndria (48). Os ácidos graxos que permanecem no citoplasma na forma de acil CoA são

então esterificados em triglicerídeos, fosfolípidos ou ésteres de colesterol (48,49). Este mecanismo da interação glicose-ácidos graxos leva à redução da oxidação de ácidos graxos 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 (45). Lancha Jr. e cols. (46) verificaram que, durante o exercício físico em ratos, ocorre ativação da piruvato carboxilase, enzima que converte piruvato em oxaloacetato. 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 (45) e a mobilização de AG do tecido adiposo e do músculo esquelético (5).

Proposição do presente trabalho

Conforme Bergstrom e cols. (39), o aumento do conteúdo de glicogênio muscular é um fator determinante para o desempenho no exercício aeróbio moderado e prolongado. Os ácidos graxos atuam como fonte energética principal e o glicogênio para a manutenção da atividade do ciclo de Krebs na geração de oxalacetato (figura 1).

O fornecimento do oxalacetato seria, portanto, um fator limitante, já que o acetil CoA, proveniente do ácido graxo, reage com este 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 ácidos graxos do tecido adiposo (figura 2). Haveria então, lipólise, aumento de ácidos graxos 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 ácidos graxos por este tecido. A

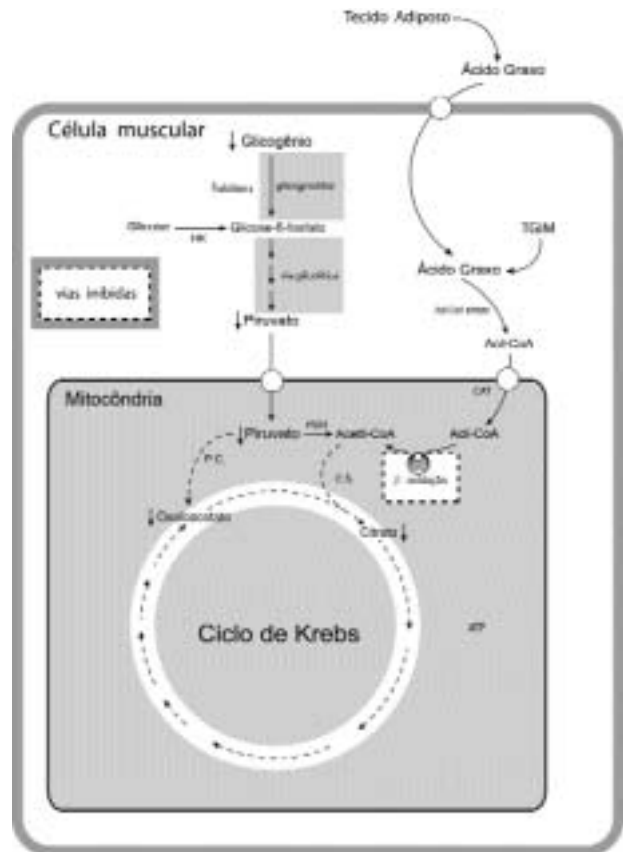


Figura 2. Hipótese do presente trabalho. Havendo redução do conteúdo de glicogênio e, conseqüentemente, na produção de piruvato ocorre a queda de oxalacetato. A reação deste com acetil-CoA para formar citrato fica reduzida independente da oferta de acetil-CoA derivada da mobilização aumentada de ácidos 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 conseqüência ocorre a redução na produção de ATP. Portanto, a exaustão do ciclo de Krebs seria o fator determinante da exaustão no exercício físico.

HK = hexoquinase; CS = citrato sintetase; PC = piruvato carboxilase; PDH = piruvato descarboxilase; CAT = acilcarnitina transferase; TGIM = triglicerídeos intramusculares.

exaustão do ciclo de Krebs se deve à perda de esqueleto de carbonos. Como conseqüência, há queda do ATP e ocorre a exaustão do indivíduo no esforço físico prolongado.

Os autores deste trabalho acreditam que a capacidade do músculo esquelético para oxidar ácidos graxos 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 ácidos graxos, para ser máxima, requer metabolização de glicose em taxas apropriadas. Situações de oferta muito elevada ou diminuída de gli-

cose levam à redução da oxidação de ácidos graxos 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 pelo ciclo de Krebs funcionando.

AGRADECIMENTO

Os autores dedicam este estudo à memória da Professora Dra. Lor Cury, querida colega do Departamento de Fisiologia e Biofísica, ICB-USP.

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

REFERÊNCIAS

1. Wegener G, Krause U, Newsholme EA. Metabolic regulation – physiological and medical aspects. *Experientia* 1996;52:391-5.
2. Newsholme EA, Leech AR. **Biochemistry for the medical sciences**. New York: John Wiley & Sons, 1983.
3. Newsholme EA. 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.
4. Ivy JL, Costill DL, van Handel PJ, Essig DA, Lower RW. Contribution of medium and long chain triglyceride intake to energy metabolism during prolonged exercise. *Int J Sports Med* 1980;1:15-20.
5. Brouns F, van der Vusse GJ. Utilization of lipids during exercise in human subjects: metabolic and dietary constraints. *Br J Nutr* 1998;79:117-28.
6. Wolfe RR, Klein S, Carraro F, Weber JM. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am J Physiol* 1990;258:E382-9.
7. Jansson E, Kaijser L. Substrate utilization and enzymes in skeletal muscle of extremely endurance-trained men. *J Appl Physiol* 1987;62:999-1000.
8. Turcotte LP, Richter EA, Kiens B. Increased plasma FFA uptake and oxidation during prolonged exercise in trained vs. untrained humans. *Am J Physiol* 1992;262:E791-9.
9. Richter EA, Kiens B, Turcotte LP. Transport and metabolism of fatty acid in muscle. In: Maughan RJ, Shirreffs SM, editors. **Biochemistry of exercise IX**, Human kinetics Publishers: Champaign, 1996.
10. Campbell PJ, Carlson MG, Hill JO, Nurjhan N. Regulation of free fatty acid metabolism by insulin in humans: role of lipolysis and reesterification. *Am J Physiol* 1992;263:E1063-9.
11. Bülow, J. **Principles of exercise biochemistry** 2nd; 1993.
12. Franz IW, Lohmann FW, Koch G, Quabbe HJ. Aspects of hormonal regulation of lipolysis during exercise: effects of chronic beta-receptor blockade. *Int J Sports Med* 1983;4:14-20.
13. Wahrenberg H, Engfeldt P, Bolinder J, Arner P. Acute adaptation in adrenergic control of lipolysis during physical exercise in humans. *Am J Physiol* 1987;253:E383-90.
14. Stich V, et al. Adipose tissue lipolysis is increased during a repeated bout of aerobic exercise. *J Appl Physiol* 2000;88:1277-83.
15. Friedlander AL, Casazza GA, Horning MA, Usaj A, Brooks GA. Endurance training increases fatty acid turnover, but not fat oxidation, in young men. *J Appl Physiol* 1999;86:2097-105.
16. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis L. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *Am J Physiol* 1993;265:E380-91.
17. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Rosenblatt J, Wolfe RR. Substrate metabolism during different exercise intensities in endurance-trained women. *J Appl Physiol* 2000;88:1707-14.
18. Martin WH, Dalsky GP, Hurley BF. Effect of endurance training on plasma free fatty acid turnover and oxidation during exercise. *Am J Physiol* 1993;265:E708-14.
19. Phillips SM, Green HJ, Tarnopolsky MA, Heigenhauser GJ, Grant SM. Progressive effect of endurance training on metabolic adaptations in working skeletal muscle. *Am J Physiol* 1996;270:E265-72.
20. Abernethy PJ, Thayer R, Taylor AW. Acute and chronic responses of skeletal muscle to endurance and sprint exercise. *Sports Medicine* 1990;10:365-89.
21. Cleroux J, van Nguyen P, Taylor AW, Leenen FH. Effects of beta 1- vs. beta 1 + beta 2-blockade on exercise endurance and muscle metabolism in humans. *J Appl Physiol* 1989;66:548-54.
22. Stankiewicz-Choroszuca B, Górski J. Effect of decreased availability of substrates on intramuscular triglyceride utilization during exercise. *Eur J Appl Physiol* 1978;40:27-35.
23. Oscai LB. Type L hormone-sensitive lipase hydrolyzes endogenous triacylglycerols in muscle in exercised rats. *Med Sci Sports Exerc* 1983;15:336-9.
24. Severson DL. Regulation of lipid metabolism in adipose tissue and heart. *Can J Physiol Pharm* 1979;57:923-37.
25. Holm C. Immunological evidences for the presence of hormone-sensitive lipase in rat tissues other than adipose tissue. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;148:99-105.
26. Guo Z, Burguera B, Jensen MD. Kinetics of intramuscular triglyceride fatty acids in exercising humans. *J Appl Physiol* 2000;89:2057-64.
27. Wendling PS, Peters SJ, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Variability of triacylglycerol content in human skeletal muscle biopsy samples. *J Appl Physiol* 1996;81:1150-5.
28. Groff JL, Gropper SS, Hunt SM. **Advanced nutrition and human metabolism**. West Publishing Company: New York. 1995.
29. Yan Z, Salmons S, Jarvis J, Booth FW. Increased muscle carnitine palmitoyltransferase II mRNA after increased contractile activity. *Am J Physiol* 1995;268:E277-81.

30. Willian Jr Wn, Padovese r. Oxidação dos ácidos graxos. In: Curi R, Pompéia C, Miyasaka CK, Procopio J. editors. **Entendendo a gordura. Os ácidos graxos**. Manole. 2002.
31. Winder WW. **Malonyl CoA as a metabolic regulator**. In: Maughan RJ, Shirreffs SM editors, *Biochemistry of exercise IX*, Human kinetics Publishers: Champaign, 1996.
32. Hagerman FC. Energy metabolism and fuel utilization. **Med Sci Sports Exerc** 1992;24:S309-14.
33. Jones NL, Heigenhauser GJ, Kuksis A, Matsos CG, Sutton JR, Toews CJ. Fat metabolism in heavy exercise. **Clin Sci** 1980;59:469-78.
34. Romijn JA, Coyle EF, Sidossis LS, Zhang XJ, Wolfe RR. Relationship between fatty acid delivery and fatty acid oxidation during strenuous exercise. **J Appl Physiol** 1995;79:1939-45.
35. Arner P, Kriegholm E, Engfeldt P, Bolinder J. Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. **J Clin Invest** 1990;85:893-8.
36. Sahlin K, Katz A, Broberg S. Tricarboxylic acid cycle intermediates in human muscle during prolonged exercise. **Am J Physiol** 1990;259:C834-41.
37. Savard R, Despres JP, Marcotte M, Theriault G, Tremblay A, Bouchard C. Acute effects of endurance exercise on human adipose tissue metabolism. **Metabolismo** 1987;36:480-5.
38. Lambert EV, Hawley JA, Goedecke J, Noakes TD, Dennis SC. Nutritional strategies for promoting fat utilization and delaying the onset of fatigue during prolonged exercise. **J Sports Sci** 1997;15:315-24.
39. Bergstrom J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B. Diet, muscle glycogen and physical performance. **Acta Physiol Scand** 1967;71:140-50.
40. Galbo H, Stallknecht B. **Regulation of fat metabolism in exercise**. In: Maughan RJ, Shirreffs SM. editors. *Biochemistry of exercise IX*, Human kinetics Publishers: Champaign, 1996.
41. Decombaz J, Deriaz O, Acheson K, Gmuender B, Jequier E. Effect of L-carnitine on submaximal exercise metabolism after depletion of muscle glycogen. **Med Sci Sports Exerc** 1993;25:733-40.
42. Williams MH. Nutritional ergogenics in athletics. **J Sports Sci** 1995;13:S63-74.
43. Graham TE. Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. **Sports Med** 2001;31(11):785-807.
44. Gliszinski I, et al. Endurance training changes in lipolytic responsiveness of obese adipose tissue. **Am J Physiol (Endocrinol Metab)** 1998;275:E951-6.
45. Gibala MJ, Young ME, Taegtmeyer H. Anaplerosis of the citric acid cycle: role in energy metabolism of heart and skeletal muscle. **Acta Physiol Scand** 2000;168:657-65.
46. Lancha Jr AH, Recco MB, Curi R. Pyruvate carboxylase activity in the heart and skeletal muscles of the rat. **Biochem Mol Biol Int** 1994;32:483-9.
47. McGarry JD. Glucose-Fatty acid interactions in health and disease. **Am J Clin Nut** 1998;67:500S-504S.
48. Ruderman N, Saha AK, Vavvas D, Witters LA. Malonyl-CoA, fuel sensing and insulin resistance. **Am J Physiol Endoc Metab** 1999;276:E1-E18.
49. Haber EP, Ximenes HMA, Procópio J, Carvalho CRO, Curi R, Carpinelli AR. Pleiotropic effect of fatty acids on pancreatic β -cells. **J Cell Physiol** 2002;194:1-12.

Endereço para correspondência:

Rui Curi
Instituto de Ciências Biomédicas-USP, ICB1
Av. Prof. Lineu Prestes 1524
05509-900, São Paulo, SP
Fax: (11) 3091-7285
e.mail: ruicuri@fisio.icb.usp.br