

INFLUÊNCIA DA SUPLEMENTAÇÃO LIPÍDICA SOBRE A INDUÇÃO DO EFEITO POUPADOR DE GLICOGÊNIO EM RATOS SUBMETIDOS AO EXERCÍCIO DE “ENDURANCE”

Marcelo Saldanha AOKI^{*/**}
 Mônica Aparecida BELMONTE*
 Marília Cerqueira Leite SEELAENDER*

RESUMO

Diversos estudos relacionam a adoção de dietas hiperlipídicas ao aumento na capacidade de utilização de lipídios e, por conseguinte, à ocorrência do efeito poupador de glicogênio. Além da maior oferta, a qualidade do lipídio oferecido é capaz de alterar sua taxa de oxidação. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da suplementação lipídica com diferentes tipos de óleos sobre a ocorrência do efeito poupador de glicogênio em ratos submetidos ao exercício de “endurance” (60% $\dot{V}O_{2\text{ pico}}$ por 60 minutos). Os animais foram divididos em três grupos: grupo controle treinado (CT), grupo treinado suplementado com óleo de fígado de bacalhau (OFBT) e grupo treinado suplementado com óleo de palmiste (OPT). Após o exercício, o conteúdo de glicogênio muscular não diferiu significativamente entre todos os grupos (Gastrocnêmio - CT $0,31 \pm 0,02$, OFBT $0,25 \pm 0,02$, OPT $0,26 \pm 0,02$; Sóleo - CT $0,44 \pm 0,04$, OFBT $0,39 \pm 0,03$, OPT $0,38 \pm 0,04$ mg.100 mg⁻¹ de tecido úmido). O contrário foi observado no estoque hepático de glicogênio. Os grupos suplementados (OFBT $1,21 \pm 0,05$, OPT $1,02 \pm 0,03$ mg.100 mg⁻¹ de tecido úmido) apresentaram uma redução drástica em relação ao CT ($2,12 \pm 0,14$ mg.100 mg⁻¹ de tecido úmido). Em ratos, conforme demonstrado anteriormente, a redução do conteúdo hepático de glicogênio e a subsequente hipoglicemia constituem os fatores limitantes para o desempenho; portanto, independentemente do tipo de lipídio oferecido, os animais suplementados apresentaram menor estoque hepático de glicogênio e, conseqüentemente, essa adaptação será deletéria para o desempenho.

UNITERMOS: Lipídios; Exercício; Metabolismo; Glicogênio; Ratos.

INTRODUÇÃO

A hipótese de que a suplementação lipídica auxiliaria no desempenho surgiu após o estudo elaborado por Randle, Hales, Garland e Newsholme (1963), no qual foi proposto que o aumento da taxa de oxidação de ácidos graxos reduzia a taxa de oxidação de carboidratos. Baseados na existência do ciclo glicose-ácidos graxos, estudos subsequentes adotaram diversas estratégias a fim de aumentar a disponibilidade de ácidos graxos livres ou otimizar a capacidade de oxidação de lipídios, visando, dessa forma, a

promover o efeito poupador de glicogênio (Aoki & Seelaender, 1999).

A desaceleração da taxa de utilização do glicogênio é extremamente importante para a realização do exercício de “endurance”. Essa relação entre o conteúdo de glicogênio muscular e a fadiga periférica durante o exercício físico foi estabelecida no final da década de 1960 (Ahlborg, Bergstrom, Ekelund & Hultman, 1967; Bergstrom, Hermansen, Hultman & Saltin, 1967; Hermansen, Hultman & Saltin, 1967). Segundo esses estudos, o

* Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo.

** Faculdade de Educação Física do Centro Universitário UniFMU.

conteúdo de glicogênio muscular é o fator limitante para a manutenção do exercício de “endurance”

A suplementação lipídica obteve resultados positivos, tanto em ratos (Hickson, Rennie, Conlee, Winder & Holloszy, 1977; Rennie, Winder & Holloszy, 1976) como em seres humanos (Costill, Coyle, Dalsky, Evans, Fink & Hoopes, 1977; Pitsladis, Smith & Maughan, 1999). Esses estudos demonstraram que a maior oferta de ácido graxo induzido por uma infusão de triacilglicerol (TAG) e/ou uma refeição rica em lipídios foi capaz de promover o efeito poupador de glicogênio e o aumento do tempo para exaustão. É importante mencionar que nesses estudos iniciais não houve privação de carboidratos nos dias que antecederam os experimentos.

Posteriormente, no início da década de 1980, surgiram outros estudos utilizando dietas com alto teor de lipídios com o propósito de melhorar o desempenho físico. Fisher, Evans, Phinney, Blackburn, Bistran e Young (1983), Phinney, Bistran, Evans, Gervino e Blackburn (1983) e Miller, Bryce e Conlee (1984) relataram um melhor desempenho físico após o tratamento com dietas hiperlipídicas, tanto em animais como em seres humanos. Diversos outros estudos subseqüentes também relacionaram a adoção de dieta hiperlipídicas com o aumento na atividade das principais enzimas envolvidas nos processos oxidativos (Carnitina Palmitoil Transferase - CPT, 3-Hidroxi-acil-CoA Desidrogenase e Citrato Sintase) (Boyadjiev, 1996; Cheng, Karamizrak, Noakes, Dennis & Lambert, 1997; Miller, Bryce e Conlee, 1984; Simi, Sempore, Mayet & Favier, 1991). Segundo esses autores, essa adaptação enzimática favoreceria a maior utilização de lipídios em detrimento do estoque de glicogênio, conseqüentemente melhorando o desempenho.

Phinney et alli (1983), após oferecer uma dieta cetogênica, observaram uma redução na ordem de 47% dos estoques de carboidrato endógeno em comparação com uma dieta regular (66% de carboidratos). Entretanto, o tempo de realização do esforço e o conteúdo de glicogênio muscular não apresentaram diferenças significativas entre os dois grupos. Isso sugere que a contribuição energética proveniente da oxidação dos lipídios, no grupo submetido à dieta com baixa quantidade de carboidratos, compensou o menor conteúdo de glicogênio muscular inicial.

Além da maior quantidade de lipídios na dieta, a qualidade de gordura também pode interferir nos processos metabólicos (Ayre & Hulbert, 1996a, 1996b, 1997). Leyton, Drury e

Crawford (1987) observaram que, para a classe dos ácidos graxos saturados, quanto maior a cadeia carbônica, mais lenta é a oxidação. Em contrapartida, os ácidos graxos de cadeia média (Láurico 12:0) são mais rapidamente absorvidos e oxidados que os de cadeia longa (Gomes & Aoki, 2003). Já entre os insaturados, o ácido oleico (18:1) e o gama-linolênico demonstraram maiores taxas de oxidação (Leyton, Drury e Crawford, 1987). Em outro estudo, Schimidt e Herpin (1998) evidenciaram que ácidos graxos do tipo 16:0, 18:1(n-9) e 18:2(n-6) apresentam maior taxa de oxidação em relação aos do tipo 18:0.

A qualidade da gordura também pode exercer modulação em nível enzimático. Power e Newsholme (1997) observaram que a atividade da CPT I no músculo de ratos tratados com óleo de peixe foi maior quando comparada aos outros tipos de lipídios.

O objetivo do trabalho, portanto, foi verificar se a suplementação lipídica com óleo de fígado de bacalhau ou com óleo de palmiste poderia promover a redução da utilização dos estoques de carboidrato endógeno em roedores durante o exercício de “endurance” ($60\% \dot{V}O_{2\max}$ por 60 minutos). Considerando-se que a qualidade da gordura é fator modulador da sua taxa de utilização-oxidação, foram utilizados o óleo de fígado de bacalhau (rico em ácidos graxos insaturados, que reconhecidamente alteram a atividade das enzimas oxidativas) e o óleo de palmiste (rico em ácidos graxos de cadeia média, que são rapidamente absorvidos e oxidados).

MATERIAIS E MÉTODOS

Animais

O protocolo para uso de animais em experimentação foi realizado segundo os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (protocolo n. 079/99).

Foram utilizados ratos Wistar machos, provenientes do biotério central do Instituto de Ciências Biomédicas (USP), adultos (75 dias), de peso entre 200 e 230 g. Os animais foram mantidos no biotério do Departamento de Histologia e Embriologia em regime de fotoperíodo 12 h claro:12 h escuro (período claro

iniciando às 8 h) e temperatura controlada (~24 °C). Todos os animais receberam ração comercial (NUVILAB[®] CR1 Nutrivital Nutrientes Ltda). A distribuição dos macronutrientes na ração, segundo o fabricante, é de 63,4% de carboidratos, 25,6% de proteínas e 11% de lipídios. O grupo controle recebeu água, enquanto os grupos suplementados receberam emulsão lipídica em substituição à água. O sacrifício, após as oito semanas de tratamento, foi realizado sempre no mesmo horário (12 h), por decapitação.

Descrição dos grupos experimentais

Os animais foram divididos nos seguintes grupos experimentais:

➤ (CT) *Controle treinado*

➤ (OFBT) *Treinado e suplementado com óleo de fígado de bacalhau*

➤ (OPT) *Treinado e suplementado com óleo de palmiste*

Com o objetivo de verificar a ocorrência do efeito poupador de glicogênio no fígado e no músculo esquelético (sóleo e gastrocnêmio), os animais foram sacrificados em repouso e outros imediatamente após (até 60 segundos) o término da última sessão de exercício (CT, OFBT e OPT). Os tecidos foram coletados para a determinação do glicogênio, tanto na situação de repouso como imediatamente (até 60 segundos) após o término do exercício. O plasma dos animais também foi coletado nas mesmas condições.

Dieta

Padronização das dietas hiperlipídicas

A suplementação foi feita por meio do oferecimento de emulsão lipídica a 25%, descrita por Warwick e Weingarten (1994), utilizando óleo de fígado de bacalhau (Henrifarma Ltda.) ou óleo de palmiste (gentilmente cedido por Maeda[®]). A emulsão oferecida foi trocada a cada 48 horas após a verificação da quantidade consumida durante esse período. O consumo de ração também foi aferido a cada 48 horas. O tratamento com ácidos graxos teve duração de oito semanas. O percentual médio das calorias provenientes dos lipídios em relação ao valor calórico total foi de 70% para os grupos suplementados e 11% para o grupo controle.

Perfil lipídico da suplementação oferecida

A determinação da composição dos diferentes tipos de emulsão foi realizada no espectrômetro de massa (Shimadzu[®] GCMS QP5050). As amostras (200 µl) passaram inicialmente pela *interface* que estava a 250 °C, sendo empurradas pelo gás hélio, sob a pressão de 134 kPa, pela coluna de polietilenoglicol (DBWAX[®]) e pelo detector do espectrômetro de massa. Posteriormente, foi realizada a análise do tempo de retenção e do espectro de massa, comparando-se ao padrão dos ácidos graxos.

Protocolo de treinamento

Os ratos foram submetidos a um protocolo de treinamento de “endurance” por oito semanas (sendo a primeira destinada à adaptação), cinco vezes por semana, em esteira, conforme padronizado por Bacurau, Belmonte, Seelaender e Costa-Rosa (2000). Na semana que precedeu o início do treinamento, foi realizada uma triagem dos animais, havendo seleção dos mais aptos. A velocidade e a duração de cada sessão foram gradativamente aumentadas.

Os animais sedentários foram adaptados à esteira numa velocidade mínima e sem inclinação. Os grupos experimentais realizaram o treinamento sempre no mesmo horário, por oito semanas.

Avaliação do consumo máximo de oxigênio ($\dot{V}O_2$ pico)

O consumo de oxigênio foi aferido segundo o método descrito por Brooks e White (1978) e, posteriormente, adaptado por Bacurau et alii (2000), uma semana antes do começo do protocolo.

Após dois minutos de adaptação à esteira (FUNBEC ESB-01) em baixa velocidade (1 m.min⁻¹), foi iniciado o protocolo de determinação do consumo máximo de oxigênio, no qual a velocidade foi aumentada progressivamente, na taxa de 5 m.min⁻¹ a cada três minutos, até a exaustão. Os animais foram, então, colocados em uma caixa metabólica (9,5 x 32,5 x 11 cm) sobre a esteira e, com a bomba de aspiração ligada (fluxo de 3 l.min⁻¹), foram coletadas amostras de ar. Ao final de cada estágio, 20 ml de ar eram coletados e posteriormente analisados pela microtécnica estabelecida por Brooks e White (1978). O

analisador de Scholander forneceu a medida das frações inspiradas de O₂ às frações expiradas de CO₂ pelos animais nos diferentes estágios de velocidade. Os dados obtidos permitiram o cálculo do consumo máximo de oxigênio.

Determinação da velocidade de treinamento

A velocidade da corrida em esteira foi determinada por meio de uma relação direta com o consumo máximo de oxigênio. Uma vez que a velocidade máxima suportada pelo animal corresponde a 100% do consumo máximo de oxigênio e a intensidade de treino desejada é de 60% do consumo máximo de oxigênio, a velocidade de treino será proporcional a 60% da velocidade máxima.

$$V_{\text{treino}} (\text{m.min}^{-1}) = \left[\frac{V_{\text{max}} (\text{m.min}^{-1})}{100\% \text{VO}_{2\text{pico}} (\text{l.min}^{-1})} \right] \cdot 60\% \text{VO}_{2\text{pico}} (\text{l.min}^{-1})$$

Esse parâmetro foi reavaliado a cada 15 dias para re-adequação do protocolo à medida que os animais se adaptaram ao treinamento. Dessa forma, embora o $\dot{\text{V}}\text{O}_{2\text{pico}}$ dos ratos se modifique em razão do protocolo, garantiu-se que a atividade fosse realizada sempre dentro de um valor próximo a 60% do mesmo.

Determinação da concentração de glicose no sangue

Foi utilizado o monitor *Advantage*[®] com suas respectivas tiras, seguindo as instruções de uso. A concentração de glicose plasmática (mg.dl⁻¹) foi determinada a partir do princípio de bioamperometria, no qual a glicose é transformada pela glicose desidrogenase em glicolactona.

Determinação da concentração plasmática de triacilglicerol

A concentração plasmática de triacilglicerol (mg.dl⁻¹) foi determinada por meio da utilização do Kit Triglycerides (Full-enzymatic colour Test - GPO-PAP Method) MERCKOTEST[®]. A leitura da absorbância foi feita em espectrofotômetro, a 500 nm.

Determinação do conteúdo de glicogênio hepático e muscular

O conteúdo de glicogênio (mg.100 mg de tecido úmido⁻¹) muscular e hepático foi

determinado pelo método de Hassid e Abrahams (1957). Os tecidos foram, inicialmente, digeridos por 30 minutos para a extração do glicogênio em solução KOH 5,5 M, em banho fervente. A extração final foi feita em duas etapas por meio da precipitação com etanol a 70%, ainda em banho fervente. Utilizando, então, a solução de antrona 1 M em ácido sulfúrico (responsável pela hidrólise do glicogênio transformando-o em glicose), foi determinada a quantidade de glicogênio nos tecidos. A antrona reage com a glicose produzida, tornando a amostra esverdeada (método colorimétrico). O produto da reação foi determinado pela absorbância em espectrofotômetro (Hitachi[®] U-2001) no comprimento de onda de 540.

Análise estatística

Foram utilizados o teste t de Student e ANOVA (“one-way”), seguido do “post hoc” de Tukey. A análise de variância foi realizada para comparação múltipla entre os grupos (CT x OFBT x OPT). Em um primeiro momento, os dados obtidos foram submetidos aos testes de homogeneidade e normalidade. Feito isso, foi aplicada a análise de variância seguida pelo Teste de Tukey (paramétrico). Para comparação simples entre a situação de repouso e a de pós-exercício, foi utilizado o teste t de Student (não-pareado). O nível de significância mínimo estabelecido equivaleu a $p < 0,05$.

RESULTADOS

Conforme esperado, o óleo de fígado de bacalhau apresentou uma grande quantidade de ácidos graxos do tipo n-3. Já o óleo de palmiste apresentou uma predominância de ácidos graxos de cadeia média (TABELA 1).

O valor calórico total da dieta (kcal.dia^{-1}) dos animais suplementados foi maior em relação ao dos animais do grupo CT (TABELA 2). Além disso, as calorias provenientes dos carboidratos na dieta dos animais suplementados foram reduzidas pela metade em relação à dieta do grupo CT (TABELA 2).

Os resultados obtidos demonstram que os grupos OFBT e OPT antes do exercício apresentavam uma concentração de TAG superior em relação ao grupo CT. Entretanto, logo após o exercício agudo, a concentração de plasmática de TAG não diferiu entre os grupos CT, OFBT e OPT

(TABELA 3), sugerindo que nos grupos suplementados tenha havido uma maior contribuição de TAG circulante como substrato energético. A glicemia dos animais sacrificados após o exercício (CT, OFBT e OPT) não variou entre esses grupos (TABELA 4).

Os grupos suplementados na condição de repouso apresentaram uma redução drástica na quantidade de glicogênio muscular e hepática (TABELA 5); portanto, esses grupos iniciavam o exercício com uma menor reserva de carboidrato endógeno.

Ao término da sessão de exercício, o conteúdo de glicogênio muscular era similar entre os grupos, indicando a redução na taxa de glicogenólise no músculo (TABELA 3). Apesar de não significativa, tanto o gastrocnêmio como o sóleo dos grupos OPT e OFBT apresentaram redução (~12%) em relação ao CT.

No fígado, ao contrário do músculo esquelético, o estoque de glicogênio imediatamente após uma sessão de exercício dos grupos suplementados apresentou redução (OFBT- 43% e OPT- 51%) em relação ao CT.

TABELA 1 - Perfil lipídico da suplementação oferecida.

Ácido graxo	OFB%	OPT%
12:0		31,75
14:0	8,15	21,14
16:0	11,93	15,00
16:1	9,88	
16:2	4,64	
18:0	4,24	3,57
18:1	16,82	25,32
18:2n-6	7,72	3,02
18:3n-3	3,75	
18:4	3,20	
20:5n-3	14,75	
22:6n-3	4,02	

TABELA 2 Distribuição das calorias entre os macronutrientes e consumo calórico total (kcal.dia⁻¹) dos ratos treinados (CT) e dos ratos submetidos ao treinamento associado à suplementação lipídica (OFBT e OPT).

	Carboidrato	Proteína	Lipídios	Emulsão	Total
CT (n = 12)	42,6 ± 3,7	17,2 ± 3,4	7,4 ± 0,9		67,1 ± 5,2
OFBT (n=12)	22,1 ± 2,0 ^a	8,9 ± 1,1 ^a	3,8 ± 0,6 ^a	58,1 ± 6,8	93,0 ± 6,8 ^a
OPT (n = 12)	19,8 ± 2,8 ^a	7,9 ± 1,8 ^a	3,4 ± 0,4 ^a	60,9 ± 4,7	92,2 ± 4,9 ^a

resultados expressos como média (±) de erro padrão da média; n = número de ratos;
a = diferença estatística em relação ao CT (p < 0,05).

TABELA 3 Concentração plasmática de triacilglicerol (mg.dl⁻¹) dos ratos treinados (CT) e dos ratos submetidos ao treinamento associado à suplementação lipídica (OFBT e OPT) sacrificados no repouso e imediatamente após uma sessão de exercício.

Grupos	Repouso	Pós-exercício
CT (n = 5)	89,66 ± 9,45	80,10 ± 4,40
OFBT (n = 5)	114,02 ± 9,02	76,83 ± 3,94 ^b
OPT (n = 5)	129,92 ± 6,08	83,85 ± 3,94 ^c

resultados expressos como média (±) de erro padrão da média ; n = número de ratos;
b = diferença estatística em relação ao OFBT-repouso;
c = diferença estatística em relação ao OPT-repouso.

TABELA 4 Glicemia (mg.dl^{-1}) dos ratos treinados (CT) e dos ratos submetidos ao treinamento associado à suplementação lipídica (OFBT e OPT) sacrificados no repouso e imediatamente após uma sessão de exercício.

Grupos	Repouso	Pós-exercício
CT (n = 5)	106,5 ± 4,50	104,8 ± 6,0
OFBT (n = 5)	103,5 ± 4,80	99,5 ± 5,4
OPT (n = 5)	105,1 ± 2,47	98,3 ± 5,8

resultados expressos como média (\pm) de erro padrão da média ;n = número de ratos.

TABELA 5 Conteúdo de glicogênio hepático e muscular ($\text{mg.100 mg de tecido úmido}^{-1}$) dos ratos treinados (CT) e dos ratos submetidos ao treinamento associado à suplementação lipídica (OFBT e OPT) sacrificados no repouso e imediatamente após uma sessão de exercício.

Grupos	Repouso	Pós-exercício
<i>Fígado</i>		
CT (n = 5)	3,81 ± 0,31	2,12 ± 0,14 ^a
OFBT (n = 5)	1,88 ± 0,19 ^a	1,21 ± 0,05 ^{bd}
OPT (n = 5)	1,75 ± 0,32 ^a	1,02 ± 0,03 ^{cd}
<i>Gastrocnêmio</i>		
CT (n = 5)	0,61 ± 0,03	0,31 ± 0,02
OFBT (n = 5)	0,42 ± 0,03 ^a	0,25 ± 0,02
OPT (n = 5)	0,36 ± 0,02 ^a	0,26 ± 0,02
<i>Sóleo</i>		
CT (n = 5)	0,73 ± 0,03	0,44 ± 0,04
OFBT (n = 5)	0,57 ± 0,04 ^a	0,39 ± 0,03
OPT (n = 5)	0,52 ± 0,06 ^a	0,38 ± 0,04

resultados expressos como média (\pm) de erro padrão da média.

n = número de ratos; a = diferença estatística em relação ao CT-repouso ($p < 0,05$);

b = diferença estatística em relação ao OFBT-repouso ($p < 0,05$);

c = diferença estatística em relação ao OPT-repouso ($p < 0,05$);

d = diferença estatística em relação ao CT-pós exercício ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos demonstram que, logo após o exercício agudo, a concentração de plasmática de triacilglicerol (TAG) não diferiu entre os grupos CT, OFBT e OPT. Contudo, após o exercício, os grupos OFBT e OPT apresentaram concentração plasmática de TAG inferior (30%) em relação à condição de repouso, sugerindo uma maior utilização desse substrato durante o exercício nos grupos OFBT e OPT em relação ao CT.

Os estudos realizados na década de 70 (Hickson et alli, 1977; Rennie, Winder &

Holloszy, 1976;) que utilizaram a suplementação lipídica mostraram resultados positivos em relação ao desempenho atlético somente quando a Lipase Lipoproteica (LPL), enzima responsável pela hidrólise do TAG presente nas lipoproteínas, era ativada por meio da heparina. Nagel, Seiler, Franz, Leitzmann e Jung (1989) observaram que corredores de longa distância apresentam discreta redução na concentração de TAG plasmático após o exercício, indicando o uso desse substrato. Indivíduos treinados possuem vasta rede de capilarização do músculo, oferecendo maiores sítios de ligação para LPL, além do maior

recrutamento de fibras vermelhas, que expressam maior quantidade de LPL. Hardaman (1998) acredita que essas adaptações associadas à maior disponibilidade de TAG plasmático observada nos grupos suplementados proporcionam maior capacidade de utilização do TAG circulante.

Apesar da maior contribuição proveniente das lipoproteínas nos grupos suplementados, não foi constatada diferença no conteúdo de glicogênio muscular entre os grupos CT, OFBT e OPT ao final da sessão de exercício. Todavia, os grupos suplementados OFBT e OPT demonstraram menor taxa de glicogenólise no músculo esquelético em relação ao CT, uma vez que o estoque de glicogênio dos grupos suplementados treinados OFBT e OPT era menor (aproximadamente 30%) que o do grupo CT antes do exercício, na condição de repouso.

A taxa de glicogenólise no músculo sóleo (expressa em $[\text{mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}] \cdot \text{min}^{-1}$) foi menor nos grupos suplementados (OFBT $0,003 \pm 0,0005$ e OPT $0,002 \pm 0,0006$ – $p < 0,001$) em relação ao grupo CT ($0,004 \pm 0,001$). Essa redução na glicogenólise está de acordo com os resultados de Phinney et alli (1983), que observaram, em seres humanos, redução na taxa de degradação do glicogênio muscular durante o exercício, realizado a $60\% \dot{V}O_{2 \text{ max.}}$, após 28 dias de consumo de dieta rica em lipídios. Phinney et alli (1983) atribuíram essa menor taxa de degradação do glicogênio à maior capacidade de utilização de lipídios.

O fenômeno de redução da taxa de glicogenólise também foi observado no fígado dos animais dos grupos suplementados-treinados (OFBT $0,012 \pm 0,002$ e Coco $0,011 \pm 0,001$ $[\text{mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}] \cdot \text{min}^{-1}$ – $p < 0,001$) em relação aos animais do grupo CT ($0,028 \pm 0,001$ $[\text{mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}] \cdot \text{min}^{-1}$). Entretanto, nesse tecido, ao contrário do músculo esquelético, o estoque de glicogênio imediatamente após uma sessão de exercício dos grupos suplementados apresentou redução (OFBT 33% e OPT 44%) em relação ao CT. Algumas evidências obtidas em modelos experimentais em ratos (Baldwin, Terjung, Baldwin, Winder & Holloszy, 1973; Reitman, Baldwin & Holloszy, 1973; Terjung, Baldwin, Winder & Holloszy, 1973) demonstraram que a hipoglicemia, resultante da depleção do glicogênio hepático, surgia antes da redução dos estoques musculares. Portanto, em ratos, ao contrário de seres humanos, o glicogênio hepático e a glicose plasmática parecem ser mais importantes que o glicogênio muscular como fonte de energia para a atividade moderada de longa

duração. Isso se deve ao fato de que a concentração de glicogênio no fígado do homem é muito maior do que no do rato (Terjung et alli, 1973).

O estímulo de contração muscular, sabidamente, aumenta a captação de glicose pelo músculo (Helmreich & Cori, 1957; Holloszy & MacNamara, 1965). A atividade da enzima hexoquinase está aumentada em até 20 vezes nas fibras glicolíticas e em até três vezes em fibras oxidativas em resposta ao exercício (Baldwin et alli, 1973). O aumento do transporte de glicose para dentro do músculo é seguido pela sua conversão à glicose-6-fosfato, que, por sua vez, inibe a glicogenólise.

A maior captação-utilização da glicose plasmática (proveniente do fígado) pode ter contribuído para a redução da taxa de utilização do glicogênio muscular nesses grupos. O aumento na concentração de glicose 6-fosfato no músculo por meio do mecanismo de inibição alostérica da enzima fosfoglicomutase pode ter reduzido o fluxo pela via glicogenolítica. Apesar de não ter sido detectada redução na glicemia, o menor conteúdo de glicogênio hepático reforça essa hipótese.

A glicemia dos animais sacrificados após o exercício (CT, OFBT e OPT) não sofreu variação, tanto entre eles como também em relação ao momento antes do exercício. Vale ressaltar que animais treinados, quando submetidos a uma sessão de exercício, apresentam maior capacidade de produzir glicose pelo processo da gliconeogênese. Essa adaptação é responsável pelo retardamento da hipoglicemia nesses animais (Donovan & Sumida, 1997). Terjung et alli (1973) verificaram que somente duas horas após o início do exercício a glicemia dos animais sofria redução. Entretanto, no presente estudo, o protocolo de exercício tinha duração de 60 minutos, não sendo, portanto, suficiente para desencadear a hipoglicemia.

A administração da suplementação lipídica, independentemente da qualidade do lipídio, reduziu dramaticamente o conteúdo de glicogênio hepático dos animais antes da sessão de exercício, o que implica numa menor capacidade de realização-sustentação do exercício provocada pelo surgimento da hipoglicemia. Apesar da redução da taxa de glicogenólise muscular após suplementação lipídica, independentemente da qualidade da gordura, não é possível afirmar que esse fenômeno deve-se somente ao fato da maior utilização de ácidos graxos. A captação de glicose pelo músculo também pode ter contribuído para a ocorrência dessa redução.

Por meio de experimentos realizados previamente (Aoki, Belmonte & Seelaender, 2001), porém não demonstrados neste estudo, foi possível verificar que a atividade máxima do complexo enzimático Carnitina Palmitoil Transferase, considerada passo limitante para a oxidação de gordura, não apresentou diferença no músculo sóleo dos grupos OFBT, OPT e CT (Aoki, Belmonte & Seelaender, 2001). Esses dados reforçam a hipótese de que a maior utilização de lipídios por parte dos grupos suplementados (OFBT e OPT) não poderia ter sido responsável pela economia na utilização do glicogênio muscular. Em conformidade com nossos resultados, em recente estudo, Roltsch, Flohr e Brevard (2002) demonstraram que uma dieta rica em gordura não afetou a utilização dos substratos durante o exercício de "endurance" Helge, Ayre, Chaunchaiyakul, Hulbert, Kiens e Storlien (1998) também não observaram diferenças no conteúdo final de glicogênio muscular em ratos após o tratamento com dietas hiperlipídicas com diferentes ácidos graxos (saturados e mono-insaturados) em relação à dieta rica em carboidratos. Vale ressaltar que os mesmos também não verificaram aumento do tempo de exaustão.

Miller e Wolfe (1999) atestam que as dietas hiperlipídicas podem oferecer algumas vantagens para atletas; no entanto, se esse maior consumo de gordura afetar a ingestão de carboidrato, muitos dos benefícios relacionados ao consumo adequado desse macronutriente, como a síntese e manutenção dos estoques de glicogênio, serão sacrificados. Brown (2002) sugere que, em situações nas quais a demanda energética é elevada e o tempo de recuperação é curto, a adoção de dieta com um percentual de lipídios mais levado pode constituir uma estratégia alternativa. Entretanto, atualmente, não há suporte na literatura para a

afirmação de que a utilização de uma dieta rica em lipídios seja capaz de aumentar o desempenho no exercício de "endurance" (Burke & Hawley, 2002; Peters, 2003; Stepto, Carey, Staudacher, Cummings, Burke & Hawley, 2002).

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que a suplementação lipídica promoveu redução da utilização de carboidratos no músculo e no fígado; todavia, ao final da sessão de exercício realizado em esteira (60% $\dot{V}O_{2\text{ pico}}$ por 60 minutos), o conteúdo de glicogênio no fígado era menor nos grupos suplementados em relação ao controle. Essa resposta será extremamente prejudicial para o desempenho, uma vez que abreviará a capacidade de execução do exercício pelo surgimento da hipoglicemia. Apesar da menor glicogenólise hepática, o balanço negativo sobre a ingestão de carboidratos, da ordem de 50%, imposta pela suplementação lipídica, promoveu uma drástica redução no estoque inicial de glicogênio no fígado. A qualidade dos lipídios oferecidos parece não ter sido relevante, uma vez que as respostas observadas nos grupos OFBT e OPT foram semelhantes.

Ainda é cedo para afirmar a eficiência da adoção de dietas com maior e diferentes qualidades de lipídios, porém, com base nos resultados do presente estudo, pode-se afirmar que, se o maior consumo de lipídios interferir na ingestão de carboidratos e conseqüentemente na manutenção do conteúdo de glicogênio, a performance será comprometida.

ABSTRACT

GLYCOGEN SPARING EFFECT INDUCED BY LIPID SUPPLEMENTATION IN RATS SUBMITTED TO ENDURANCE EXERCISE

Lipid supplementation is one of the most controversial dietary manipulation. Many studies have demonstrated that the adoption of high fat diets is related to an increase in fat oxidation, thus promoting the glycogen sparing effect. However, not only the amount, but also the quality of fat found in the diet is able to regulate fat oxidation. Therefore the aim of the study was to verify the effect of lipid supplementation with different fatty acid profile upon glycogen content of rats submitted to endurance exercise bout. After exercise, muscle glycogen content were similar between supplemented and control groups. On the other hand, hepatic

glycogen content suffered a markedly decrease in supplemented groups (OFBT $1.21 \pm 0.05 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}$; OPT $1.02 \pm 0.03 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}$) in relation to CT ($2.12 \pm 0.14 \text{ mg} \cdot 100 \text{ mg}^{-1}$). In rats, it is well known that endurance exercise is limiting by hypoglycaemia instead of muscle glycogen depletion. Regardless fatty acid profile, lipid supplementation promoted decrease in liver glycogen content and this adaptation will be deleterious to performance.

UNITERMS: Lipids; Exercise; Metabolism; Glycogen; Rats.

REFERÊNCIAS

- AHLBORG, B.; BERGSTROM, J.; EKELUND, L.G.; HULTMAN, E. Muscle glycogen and muscle electrolytes during prolonged physical exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, Stockholm, v.70, p.129-42, 1967.
- AOKI, M.S.; BELMONTE, M.A.; SEELAENDER, M.C.L. Effect of high fat diets and training upon muscle carnitine palmitoyl transferase activity and glycogen content. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.33, n.5, p.S213, 2001. Supplement.
- AOKI, M.S.; SEELAENDER, M.C.L. Suplementação lipídica para atividade de "endurance" *Revista Paulista de Educação Física*, São Paulo, v.13, n.2, p.230-8, 1999.
- AYRE, K.J.; HULBERT, A.J. Dietary fatty acid profile influences the composition of skeletal muscle phospholipids in rats. *Journal of Nutrition*, Philadelphia, v.126, p.653-62, 1996a.
- _____. Effects of changes in dietary fatty acids on isolated skeletal muscle function in rats. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.80, n.2, p. 464-71, 1996b.
- _____. Dietary fatty acid profile affects endurance in rats. *Lipids*, Chicago, v.32, p.1265-70, 1997.
- BACURAU, R.F.P.; BELMONTE, M.A.; SEELAENDER, M.C.L.; COSTA-ROSA, L.F.P.B. The effect of moderate intensity exercise training protocol upon the metabolism of macrophage and lymphocytes of tumor-bearing rats. *Cell Biochemistry and Function*, Guildford, v.18, n.4, p.249-58, 2000.
- BALDWIN, K.M. TERJUNG, R.L.; BALDWIN, K.M.; WINDER, W.W.; HOLLOSZY J.O. Substrate depletion in different types of muscle and in liver during prolonged running. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.225, n.5, p.1045-50, 1973.
- BERGSTROM, J.; HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiologica Scandinavica*, Stockholm, v.71, p. 140-50, 1967.
- BOYADJIEV, N. Increase of aerobic capacity by submaximal training and high fat diets. *Folia Medica*, v.38, n.1, p.49-59, 1996.
- BROOKS, G.A.; WHITE, T.P. Determination of metabolic and rate response of rats to treadmill exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.45, n.6, p.1009-15, 1978.
- BROWN, R.C. Nutrition for optimal performance during exercise: carbohydrate and fat. *Current Sports Medicine Reports*, Philadelphia, v.1, n.4, p.222-9, 2002.
- BURKE, L.M.; HAWLEY, J.A. Effects of short-term fat adaptation on metabolism and performance of prolonged exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.34, n.9, p.1492-8, 2002.
- CHENG, B.; KARAMIZRAK, O.; NOAKES, T.D.; DENNIS, S.C.; LAMBERT, V. Time course of the effects of high fat diet and voluntary exercise on muscle activity in long-evans rats. *Physiology and Behavior*, Oxford, v.61, n.5, p. 701-5, 1997.
- COSTILL, D.L.; COYLE, E.; DALSKY G.; EVANS, W.; FINK, W.; HOOPES, D. Effects of elevated plasma ffa and insulin on muscle glycogen usage during exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.43, p.695-99, 1977.
- DONAVAN, C.M.; SUMIDA, K.D. Training enhanced hepatic gluconeogenesis: the importance for glucose homeostasis during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.29, n.5, p.628-34, 1997.
- FISHER, E.C.; EVANS, W.J.; PHINNEY, S.D.; BLACKBURN, G.L.; BISTRAN, B.B.; YOUNG, V.R. Changes in skeletal muscle metabolism induced by a eucaloric ketogenic diet. In: KNUTTGEN, H.G.; VOGEL, J.A.; POORTMANS, J. (Eds.). *Biochemistry of exercise*. Champaign: Human Kinetics, 1983. p.497-501.
- GOMES, R.V.; AOKI, M.S. A suplementação de triglicerídeos de cadeia média promove efeito ergogênico sobre o desempenho no exercício de endurance? *Revista Brasileira de Medicina do Esporte*, v.9, n.3, p.1-8, 2003.

- HARDAMAN, A.E. The influence of exercise on postprandial triacylglycerol metabolism. *Atherosclerosis*, Amsterdam, v.141, p.S93-100, 1998.
- HASSID, W.Z.; ABRAHAM, S. Chemical procedures for analysis of polysaccharides. *Methods in Enzymology*, New York, v.3, p.34-50, 1957.
- HELGE, J.W.; AYRE, K.; CHAUNCHAIYAKUL, S. HULBERT, A.J.; KIENS, B.; STORLIEN, L.H. Endurance in high fat fed rats: effect of carbohydrate content and fatty acid profile. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.85, n.4, p.1342-8, 1998.
- HELMERICH, E.; CORI, C.F. Studies of tissue permeability. The distribution of pentoses between plasma and muscle. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v.224, p.663-79, 1957.
- HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiologica Scandinavica*, Stockholm, v.71, p.129-139, 1967.
- HICKSON, R.D.; RENNIE, M.J.; CONLEE, R.K.; WINDER, W.W.; HOLLOSZY, J.O. Effects of increased plasma fatty acids on glycogen utilization and endurance. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.43, p.829-33, 1977.
- HOLLOSZY, J.O.; MacNAMARA, H.T. Enhanced permeability of sugar X. Changes in permeability to 3-methyl-glucose associated with contraction of isolated frog muscle. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v.240, p.3493-500, 1965.
- LEYTON, J.; DRURY, P.J.; CRAWFORD, M.A. Differential oxidation of saturated and unsaturated fatty acids in vivo in the rat. *British Journal of Nutrition*, Cambridge, v.57, n.3, p.383-93, 1987.
- MILLER, S.L.; WOLFE, R.R. Physical exercise as a modulator of adaptation to low and high carbohydrate and low and high fat intakes. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v.53, p. S112-9, 1999.
- MILLER, W.C.; BRYCE, G.R.; CONLEE, R.K. Adaptations to a high fat diet that increase endurance in male rats. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.56, p.78-83, 1984.
- NAGEL, D.; SEILER, D.; FRANZ, H.; LEITZMANN, C.; JUNG, K. Effects of an ultra-long distance (1000km) race on lipid metabolism. *European Journal of Applied Physiology*, Berlin, v.59, p.16-21, 1989.
- PETERS, E.M. Nutritional aspects in ultra-endurance exercise. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolism Care*, London, v.6, n.4, p.427-34, 2003.
- PHINNEY, S.D.; BISTRAN, B.R.; EVANS, W.J.; GERVINO, E.; BLACKBURN, G.L. The human metabolic response to chronic ketosis without caloric restriction: preservation of submaximal exercise capability with reduced carbohydrate oxidation. *Metabolism*, New York, v.32, p.769-76, 1983.
- PITSLADIS, Y.P.; SMITH, I.; MAUGHAN, R.J. Increased fat availability enhances the capacity of trained individuals to perform prolonged exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.31, n.11, p.1570-79, 1999.
- POWER, G.W.; NEWSHOLME, E.A. Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. *Journal of Nutrition*, Berlin, v.127, p.2142-50, 1997.
- RANDLE, P.J.; HALES, C.N.; GARLAND, P.B.; NEWSHOLME, E.A. The glucose fatty-acid cycle. *Lancet*, London, v.1, p.785-9, 1963.
- REITMAN, J.; BALDWIN, K.M.; HOLLOSZY, J.O. Intramuscular triglyceride utilization by red, white and intermediate skeletal muscle and heart during exhausting exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, Malden, v.142, p.628-31, 1973.
- RENNIE, M.J.; WINDER, W.W.; HOLLOSZY, J.O. A sparing effect of increased plasma fatty acids on muscle and liver glycogen content in the exercising rat. *Biochemistry Journal*, London, v.156, p.647-55, 1976.
- ROLTSCH, M.H.; FLOHR, J.A.; BREVARD, P.B. The effect of diet manipulations on aerobic performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, Champaign, v.12, n.4, p.480-9, 2002.
- SCHMIDT, I.; HERPIN, P. Carnitine palmitoyltransferase I (CPT I) activity and its regulation by malonyl-CoA are modulated by age and cold exposure in skeletal muscle mitochondria from newborn pigs. *Journal of Nutrition*, Berlin, v.128, p.886-93, 1998.
- SIMI, B.; SEMPORE, B.; MAYET, M.H.; FAVIER, R.J. Additive effects of training and high-fat diet on energy metabolism during exercise. *Journal of Applied Physiology*, Bethesda, v.71, n.1, p.197-203, 1991.
- STEPTO, N.K.; CAREY, A.L.; STAUDACHER, H.M.; CUMMINGS, N.K.; BURKE, L.M.; HAWLEY, J.A. Effect of short-term fat adaptation on high-intensity training. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Madison, v.34, n.3, p.449-55, 2002.

TERJUNG, R.L.; BALDWIN, K.M.; WINDER, W.W.; HOLLOSZY, J.O. Glycogen repletion in different types of muscle and in liver after exhausting exercise. **American Journal of Physiology**, Washington, v.226, n.6, p.1387-91, 1973.

WARWICK, Z.S.; WEINGARTEN, H.P Dynamics of intake suppression after a preload: role of calories, volume and macronutrients. **American Journal of Physiology**, Washington, v.266, n.35, p.R1314-18, 1994.

Recebido para publicação em: 06 ago. 2002

Revisado em: 01 ago. 2003

Aceito em: 09 set. 2003

ENDEREÇO: Marcelo Saldanha Aoki
Instituto de Ciências Biomédicas - USP
Av. Lineu Prestes, 1524 - ICB 1 - sala 410
05508-900 - São Paulo SP - BRASIL
e-mail: msaoki@usp.br