

Universidade Estadual Paulista

“Julio de Mesquita Filho”

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

**Avaliação dos níveis de oxidação lipídica
em indivíduos treinados e não treinados após
suplementação de taurina associada ao
exercício aeróbio em jejum**

Milena Barbon de Carvalho

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
do título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de concentração: Ciências
Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Ellen Cristini
de Freitas

Araraquara

2017

**Avaliação dos níveis de oxidação lipídica
em indivíduos treinados e não treinados após
suplementação de taurina associada ao
exercício aeróbio em jejum**

Milena Barbon de Carvalho

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Alimentos e Nutrição para obtenção
do título de Mestre em Alimentos e
Nutrição.

Área de concentração: Ciências
Nutricionais

Orientadora: Profa. Dra. Ellen Cristini
de Freitas

Araraquara

2017

Ficha Catalográfica

Elaborada por Diretoria Técnica de Biblioteca e
Documentação Faculdade de Ciências Farmacêuticas

UNESP – Campus de Araraquara

Carvalho, Milena Barbon de

C331a Avaliação dos níveis de oxidação lipídica em indivíduos treinados e não treinados após suplementação de taurina associada ao exercício aeróbio em jejum / Milena Barbon de Carvalho. – Araraquara, 2017.

51 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e

CAPES: 50700006

MILENA BARBON DE CARVALHO

Avaliação dos níveis de oxidação lipídica em indivíduos treinados e não treinados após suplementação de taurina associada ao exercício aeróbio em jejum

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Araraquara como requisito para a obtenção do título de Mestre(a) em Alimentos e Nutrição

Araraquara, 03 de julho de 2017.

BANCA EXAMINADORA



ELLEN CRISTINI DE FREITAS



ENRICO FUINI PUGGINA



HUGO TOURINHO FILHO

Dedicatória

À todos os meus familiares e principalmente ao meu pai e minha mãe. Muito obrigada por todas as oportunidades que me deram e pelo apoio no decorrer da minha caminhada. Este título também é de vocês!!

Agradecimentos

À minha orientadora Profa. Dra Ellen Cristini de Freitas, oportunidade do mestrado, por todo o ensinamento transmitido ao longo da minha jornada e por toda paciência sempre.

À Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP, Campus Araraquara/SP.

Aos meus pais maravilhosos, que durante toda a minha vida me incentivaram aos estudos e deram-me as melhores oportunidades para meu crescimento pessoal e profissional. Desde o início me estimularam à prestar a prova do mestrado e acreditaram em meu potencial para concluí-lo da melhor forma possível. Agradeço também pela compreensão ao serem privados em muitos momentos da minha companhia e atenção quando precisei me dedicar mais intensamente aos estudos. Sou muito grata por todo o apoio durante minha caminhada, vocês sempre foram a minha inspiração.

À minha irmã Letícia e ao meu irmão Murilo, que mesmo morando longe sempre me incentivaram e apoiaram meus estudos. Muito obrigada por serem pessoas tão esforçadas das quais eu posso me espelhar sempre. Agradeço também à minha cunhada Letícia e o meu cunhado Nelsinho por todo incentivo em relação à minha carreira.

Às minhas companheiras de mestrado desde o início, Pri e Gabi, duas irmãs mais do que especiais que a Unesp me concedeu e com certeza irei levar para o resto da vida. Foram várias noites mal dormidas e batalhas juntas para concluir esta etapa tão importante em nossas vidas. Com vocês aprendi muito a ser mais minuciosa e perfeccionista, ao mesmo tempo que aprendi a ser mais desesperada com as coisas (estatística, qualificação, prazos). Muito obrigada por todo o crescimento que vocês me proporcionaram.

Aos voluntários, que doaram seu tempo e material biológico, e pela dedicação em cumprir os protocolos da pesquisa.

Ao Professor Enrico e ao Professor Hugo pelo aceite do convite em compor a minha banca da qualificação e da defesa final. Obrigada por todas as sugestões e críticas que contribuíram para a melhora do meu trabalho.

À técnica Simone Sakagute por todo o auxílio e ensinamento transmitido no decorrer do meu mestrado.

Ao Gilberto Padovan por toda paciência transmitindo seus conhecimentos sobre as análises na HPLC e por todo suporte na época de análise.

À técnica Paula Payão pela análise do glicérol sanguíneo no Laboratório Multiusuário da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

À todos os alunos do grupo da professora Ellen: Gabriela, Priscila, Flávia, Sara, Bryan, Maicon e Tales pelo companheirismo

À professora Juliana Campos por toda dedicação em sua disciplina de Bioestatística, ministrada de maneira excelente, buscando sempre repassar seus conhecimentos da melhor forma possível.

Ao meu amigo Thiago M. Bianco, pela sua disposição em participar como voluntário do meu estudo e ao mesmo tempo realizar as coletas de sangue dos outros participantes. A sua ajuda foi essencial em meu trabalho.

Ao Professor Dr. Eduardo Ferrioli pela disponibilidade do calorímetro para que eu realizasse as coletas de gases respiratórios. Agradeço também imensamente à sua aluna Priscila Giacomofassini pelo manuseio do aparelho e companheirismo nas coletas.

À Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto (EEFERP) pela autorização em realizar minhas coletas e minhas análises em suas dependências.

Ao Cnpq, pelo auxílio financeiro concedido.

Epígrafe

“Construí amigos, enfrentei derrotas, venci obstáculos, bati na porta da vida e disse-lhe: Não tenho medo de vivê-la”

Augusto Cury

Resumo

Objetivo: Comparar o efeito da suplementação de taurina nos níveis de oxidação lipídica em indivíduos treinados e não treinados após sessão aguda de exercício aeróbio em jejum. **Métodos:** Participaram do estudo 17 indivíduos adultos, do sexo masculino, com idade entre 18 a 30 anos. Os indivíduos foram divididos em dois grupos, grupo treinado (GTr) (n=8) e grupo não treinado (GNTr) (n=9). Todos os participantes foram suplementados com diferentes doses de taurina (3 gramas e 6 gramas) bem como placebo (amido) em momentos diferentes do estudo. A suplementação ocorreu com todos os voluntários estando em jejum e antecedendo 90 minutos da realização do protocolo de treino que consistia em 60 minutos de caminhada na esteira a 60% do VO_2 máximo. A avaliação antropométrica foi realizada no início da intervenção assim como a coleta de sangue basal. Foram coletadas amostras de sangue em diferentes momentos da pesquisa após a coleta basal (pré 1, pré 2, pré 3, pós 1, pós 2, pós 3) para análise dos níveis séricos de glicerol, taurina, e foi determinado o substrato energético oxidado durante o protocolo de exercício utilizando-se o método de calorimetria indireta. **Resultados:** Os níveis de glicerol aumentaram significativamente em ambos os grupos no momento pós esforço ($p < 0,01$), independente da dose. Porém comparando-se entre os grupos e entre as diferentes doses de suplementação não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$). Com relação aos índices de oxidação lipídica e glicídica bem como os valores de Quociente Respiratório (QR) não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos e entre as doses de suplementação de taurina e placebo ($p > 0,05$). **Conclusão:** A suplementação de taurina 90 minutos antes da realização de exercício aeróbio em jejum não demonstrou um efeito aditivo nos níveis de oxidação lipídica intra grupos e entre os grupos.

Palavras-chaves: Oxidação lipídica; jejum; exercício aeróbio; taurina.

Abstract

Objective: To compare the acute taurine supplementation effect on lipid oxidation levels in trained and untrained subjects after a single bout of fasting exercise. **Methods:** 17 male subjects, age between 18 and 30 years were included. The subjects were divided in two groups, Trained group (GTr) (n=8) and untrained group (GNTr) and all of them were supplemented with different dosages of taurine (3 grams and 6 grams) as well as placebo (starch) in different moments of the study. The volunteers received the supplementation, in a fasted state, 90 minutes before the training protocol which was exercised at 60% of maximal O₂ consumption for 1 h in a treadmill. Anthropometric evaluation was done at the beginning of the intervention as a basal blood collect. In six moments of the study, besides the basal moment, blood was collected (pre 1, pre 2, pre 3, post 1, post 2, post 3) to analyze serum levels of glycerol and taurine. The oxidize substrate was detected during the exercise protocol by indirect calorimetry. **Results:** Statistical difference ($p < 0,01$) were detected in the serum glycerol in all the intervention moments when compare pre and post exercise. However comparing between groups or between the different dosages supplementations statistical differences were not detected ($p > 0,05$). Related to lipid oxidation, carbohydrate oxidation and Quotient Respiratory (QR) no statistical differences were found between groups or between different dosages of taurine or placebo ($p > 0,05$). **Conclusion:** Taurine supplementation 90 minutes before a single bout of aerobic exercise in a fasted state did not show an additive effect in fat oxidation levels intragroup and intergroup and not even because of different dosages supplementation. **Key-words:** Fat oxidation; fasting; aerobic exercise; taurine.

Lista de abreviaturas e siglas

AG – Ácido graxo
AGL – Ácido graxo livre
AMPK – Proteína quinase dependente de AMP
ATGL – Lípase de triacilglicerol de adipócito
ATP – Adenosina trifosfato
cAMP – Adenosina monofosfato cíclico
CDO – Cisteínadioxigenase
CSAD – Cisteínasulfinato descarboxilase
DAG - Diacilglicerol
EROS – Espécies reativas de oxigênio
GNTr – Grupo não treinado
GTr – Grupo treinado
HSL – Lípase hormônio sensível
IMC – Índice de massa corporal
MAG - Monoacilglicerol
MGL – Monoacilglicerol lipase
PGC-1 α –Peroxisomoproliferator-activated receptor gamma-coativador 1 α
PPAR – Peroxisomoproliferator-activated receptor
QR – Quociente Respiratório
TAG - Triacilglicerol
TAU – taurina
VO₂ máximo – volume máximo de oxigênio
VCO₂máximo – Volume máximo de gás carbônico

Lista de tabelas

	Página
Tabela 1. Variáveis relacionadas ao desempenho físico inicial.	42
Tabela 2. Concentração sérica de taurina nos momentos: basal, pré e pós esforço.	42
Tabela 3. Concentração de glicerol plasmático (Mm/dL) entre os grupos treinados (n=8) e não treinados (n=9) nos momentos pré e pós exercício.	43
Tabela 4. Oxidação de substratos energéticos após o protocolo de esforço físico(GTr [n=8] e GNTTr [n=9])	43

Sumário

	Página
Resumo	VII
Abstract	VIII
Lista de abreviaturas e siglas	IX
Lista de tabelas	X
Introdução Expandida	12
Capítulo 1	22
Resumo	23
Introdução	24
Metodologia	26
Resultados	31
Discussão	32
Referências	36
Considerações finais	44
Referências	45

Introdução

A taurina é um composto nitrogenado intracelular livre, encontrado no coração, leucócitos, retina, sistema nervoso central, e em maiores quantidades no músculo(1).Este composto é considerado um aminoácido "semi-essencial" em humanos, pelo fato de que pode ser sintetizada a partir de outros aminoácidos sulfurados, como metionina e cisteína, através da via do ácido sulfínico-cisteína. Esta reação consiste primeiramente da oxidação da cisteína em ácido sulfínico-cisteína através da ação da enzima cisteínadioxigenase(CDO),que posteriormente será descarboxilada em hipotaurina pela enzima cisteínasulfinato descarboxilase (CSAD). A taurina é obtida então a partir da hipotaurina por uma oxidação enzimática espontânea (pela hipotaurinadesidrogenase) (2),(3).A disponibilidade de cisteína é altamente dependente do equilíbrio metabólico entre homocisteína e metionina, através do ácido fólico, vitamina B12 e vitamina B6 e a eficiência da enzima *Metileno-tetra-hidrofolato*reductase(4).

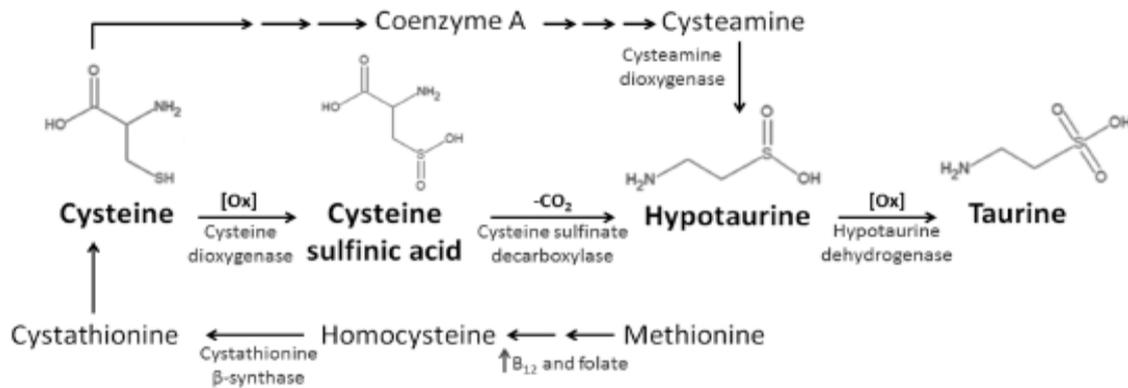


Figura 1. Síntese de Taurina. De Luca et al. 2015 (4)

A concentração intracelular de taurina varia entre 5 e 20 $\mu\text{mol/g}$ em vários tecidos, especialmente nos tecidos excitados, como cérebro, coração e músculo esquelético (5;6). Já a concentração plasmática varia de 10 a 100 μM , porém nos tecidos mais excitados também há um aumento desta concentração, podendo chegar a 70% do teor total de taurina corporal(7).

Os principais locais de síntese de taurina são fígado e sistema nervoso central, pois nesses tecidos há a maior produção das enzimas CDO e CSAD(8). Porém a produção endógena é insuficiente havendo assim a necessidade de obter taurina através da ingestão de alimentos, sendo estes de origem animal e marinha (9,10).

Após ser absorvida, a taurina é distribuída através de um transporte ativo para diversos órgãos, sendo este transporte regulado pelo gradiente de concentração (11). Uma parcela da taurina ingerida será utilizada pelo fígado para a conjugação com ácidos biliares e produção de sais biliares, e o excesso será excretado pelas vias renais (11,12).

Com relação ao tempo de permanência plasmática, Ghandforoush-Sattari et al.(13) suplementaram indivíduos saudáveis com dose aguda e constataram que o pico máximo de permanência de taurina na circulação é de 90 minutos, e após este período inicia-se seu decréscimo.

Dentre as funções da taurina podemos destacar a ação antiinflamatória e antioxidante devido ao ácido sulfônico presente em sua estrutura química. Este ácido faz com que ela reaja com o íon cloro e o ácido hipocloroso (substâncias altamente citotóxicas) formando taurina cloramina (composto mais estável e menos tóxico). A taurina cloramina atua nos leucócitos inibindo a formação de fatores pró-inflamatórios. A hipotaurina (precursor da taurina) tem o potencial de inibir a peroxidação lipídica que é a incorporação de um radical livre sobre os ácidos graxos da membrana celular, levando à destruição de sua estrutura, perda de trocas metabólicas e, em última condição, à morte celular. Alguns estudos mostram que grande parte da concentração intracelular de taurina esteja no interior das mitocôndrias, auxiliando na regulação da produção de radicais livres e prevenindo um desequilíbrio oxidativo (6, 14, 15).

Outra função que a taurina desempenha é no aumento da força de contração muscular, devido à melhora da regulação da homeostase do cálcio, conseqüentemente aumentando o depósito de cálcio no retículo sarcoplasmático. Desta forma há um estímulo na taxa de bombeamento que gera aumento da concentração de cálcio nas proteínas miofibrilares (actina e miosina) resultando em um aumento da força de contração muscular (6).

A taurina também atua no metabolismo da glicose auxiliando no controle da homeostase através da regulação da expressão dos genes necessários para estimular a secreção da insulina pelas células β , melhorando assim a sensibilidade à insulina. Com o aumento da disponibilidade de glicose há uma maior produção de energia e um maior estímulo à síntese protéica e à ressíntese do glicogênio (4).

Estudos recentes ainda não apresentam um consenso referente à dose ideal de taurina a ser suplementada em busca dos melhores resultados, sejam esses relacionados ao desempenho, oxidação lipídica, ação antioxidante, entre outros. Existem relatos de diferentes estudos os quais foram realizados com uso de diferentes doses.

Até o presente momento não foi encontrado na literatura científica um estudo que avalie parâmetros toxicológicos da taurina. Durelliet al.(16) em seu estudo com humanos suplementaram uma dose de 10g/dia e não mostraram sinais evidentes de toxicidade. Provavelmente isso ocorra em virtude da relação direta da taurina plasmática e sua taxa de excreção pelos rins (17).

Balshawet al. (18) suplementaram 8 atletas com 1g de TAU ingeridos 2 horas antes de uma performance máxima em um teste de 3 quilômetros de corrida. Seus resultados mostraram uma melhora na performance dos indivíduos suplementados em relação ao tempo até a exaustão no teste realizado quando comparado ao grupo controle.

Gallowayet al. (19) suplementaram homens recreacionalmente ativos com 1,66g de TAU anteriormente à realização de 2 horas de pedalada à

~60% $VO_{2m\acute{a}x}$. Estes não encontraram resultado significativo em relação à oxidação lipídica. Possivelmente o fato de os atletas receberem a suplementação da taurina de 2 a 4 horas antes do exercício, tenha representado uma ação minimizada desse ergogênico, pois o pico de ação de taurina no sangue ocorre entre 1,5h e 2h. E também, o exercício foi realizado em um momento pós-prandial, sendo este um dos fatores limitantes para o aumento da participação dos lipídios como substrato energético predominante.

Milioniet al. (20) realizaram uma suplementação aguda de taurina e/ ou placebo de 6 gramas em 17 homens e avaliaram o efeito aditivo do suplemento sobre o tempo de exaustão em dois bouts de corrida à 110% $VO_{2m\acute{a}x}$. Constataram que não houve um acréscimo no tempo de exaustão.

Zhang et al. (21) submeteram 11 homens sedentários à um teste de esforço até a exaustão realizado em ciclo ergômetro com uma suplementação de 6 gramas de taurina fracionada em 3 vezes ao dia. O mesmo teste foi realizado após 7 dias de suplementação e observou-se uma melhora no $VO_{2m\acute{a}x}$ e também no tempo de exaustão do exercício físico. Atribuíram esse resultado ao fato de que a taurina pode atenuar os danos induzidos pelo exercício ao DNA e melhorar a capacidade do exercício devido à sua capacidade protetora celular.

Outro estudo similar ao citado anteriormente, em que se fez uso de 6 gramas de taurina, também fracionada ao longo do dia, no entanto avaliando outro método de esforço físico, foi realizado por Ra et al. (22). Eles suplementaram 29 homens saudáveis durante 14 dias. O exercício físico

realizado consistia em 2 séries de 20 repetições máximas de contrações excêntricas. Os resultados deste estudo sugerem que o aumento tardio da rigidez arterial após o exercício excêntrico foi provavelmente afetado pelo estresse oxidativo induzido pelo exercício e foi atenuado pela suplementação com taurina.

Da Silva et al. (23) utilizaram doses individualizadas de 50mg/kg de peso/dia de taurina durante um período de 21 dias e realizaram um teste de força isométrica de 1 repetição máxima (1RM) no período basal e 14 dias após a suplementação. Encontraram como resultados melhoria na performance e aumento da força concêntrica e isométrica durante o período de recuperação pós exercício. Acredita-se que possivelmente a taurina tenha aumentado a produção de força nas fibras esqueléticas musculares por meio do acréscimo da liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático (RS) e aumento da sensibilidade dos filamentos contrácteis ao cálcio(24),(25) e também causando uma redução no dano muscular e estresse oxidativo. O que de acordo com Bakker e Berg (20) é benéfico pelo fato de que durante e após a realização de contrações excêntricas ocorre a formação de EROS (espécies reativas de oxigênio) que ocasionam uma isquemia-reperfusão e acúmulo excessivo de cálcio, o que normalmente produz dor e dano muscular (26, 27) por alguns dias após a realização do exercício físico.

Estudos com bebidas energéticas contendo taurina também foram conduzidos.

Astorino et al. (28) realizaram um teste de sprint – 3 sets de 8 séries “all out” -no futebol, onde suplementaram os voluntários com uma bebida

energética de 255 ml (Red Bull ®) contendo 1g taurina. Não foram observadas melhoras no tempo de realização dos sprints após a ingestão da referida bebida quando comparado os momentos pré e pós esforço físico.

Da mesma forma, Pettitt et al. (29) suplementaram 8 homens recreacionalmente treinados com uma bebida energética (Red Bull®) contendo 1 grama de taurina e também uma bebida controle (refrigerante de gengibre acrescido de açúcar e cafeína), ingeridos 35 minutos antes da realização do treino. Avaliaram o efeito da taurina no metabolismo aeróbio através de um analisador de gases metabólicos (Vo 2000) durante e após a realização do treino de alta intensidade no ciclo ergômetro durante duas séries de 10 minutos. Concluíram que uma dose desta bebida contendo taurina não aumentou o metabolismo aeróbio.

De acordo com Kim et al. (1) a ingestão de taurina pode auxiliar na redução do tecido adiposo por estimular o processo de lipólise. Estudos conduzidos em atletas têm confirmado tal fato.

Rutherford et al. (7) suplementaram atletas de ciclismo com 1,66g de taurina/dia e observaram um aumento de 16% na oxidação lipídica destes quando comparado ao placebo.

A oxidação de lipídios é importante para atletas, pois possibilita a utilização destes como fonte de energia e preserva as reservas de glicogênio (30). Os lipídios podem ser encontrados na forma de triacilglicerol (TAG) no tecido adiposo e no plasma, e na forma de ácidos graxos livres no sangue, e estes representam a maior reserva de energia do organismo humano (31). Dentre as principais funções dos lipídios está o fornecimento de

energia, sendo que para isso acontecer é necessário que ocorra a lipólise (32) – uma via catabólica que promove a hidrólise de TAG em três moléculas de ácido graxo e uma de glicerol. Esta hidrólise envolve três etapas através da ativação de lípases. Na primeira etapa o TAG é hidrolisado em diacilglicerol (DAG) através da ação da ATGL e resulta na liberação de um ácido graxo (AG). Posteriormente, o diacilglicerol sofre a ação da HSL e é convertido em monoacilglicerol (MAG) com a liberação de outra molécula de AG. Finalmente é convertido, pela ação da enzima MGL, em ácido graxo e glicerol (33).

O próximo passo para a utilização dos lipídios como substrato energético é a oxidação, que ocorre no interior da mitocôndria e produz energia para a homeostase das células e dos tecidos. Esta oxidação ocorre na sua maior parte no estado de jejum e/ou na falta de carboidrato (33). A glicose e hormônios como a insulina, glucagon e catecoaminas controlam a lipólise e a lipogênese e modulam a disponibilidade de substrato para a oxidação. O metabolismo acelerado da glicose pode inibir a oxidação devido ao aumento do piruvato que é transformado em malonil-CoA, reduzindo a via catabólica dos AG(34).

O estado de jejum apresenta um efeito aditivo no uso dos lipídios como substrato energético principal durante a realização do exercício físico(35, 36) pois durante o jejum, a gordura atua como fonte de energia predominante utilizada durante o exercício. Quando ocorre esta situação o glicerol plasmático e os níveis de AGL (ácido graxo livre) aumentam pelo fato de a lipólise ser ativada nos adipócitos, que é o primeiro

passo para a utilização de lipídios como energia. A ativação desta via metabólica é realizada pelas catecolaminas que se ligam aos receptores beta-adrenérgicos e também pelo glucagon, inibindo a insulina(37). No entanto algumas características têm sido evidenciadas ao uso desse tipo de ferramenta, como por exemplo, a intensidade e duração do esforço físico(38, 39)Em protocolos agudos, a intensidade tem papel fundamental nos níveis de lipólise e oxidação lipídica. Em exercícios de baixa intensidade (25-44% do VO_{2max}) o glicerol plasmático aumenta um pouco, porém estes níveis são significativamente maiores em condições de jejum. Especificamente, no jejum, durante períodos de repouso os valores de glicerol são 3,5 mmol/kg, passando para 8,5 mmol/kg após 60 min de exercício, enquanto que no estado alimentado, o glicerol circulante passa de 2,5 mmol/kg/min durante o repouso para 5,5 mmol/kg/min no mesmo intervalo de tempo (40, 41).

A realização do esforço físico de longa duração aumenta a necessidade de energia e especificamente essa característica do exercício estimula o processo de lipólise, liberando os ácidos graxos, bem como o uso do glicerol no processo de neoglicogênese(42).

Schoenfeld et al. (43)relatam que o exercício realizado em intensidades leve/moderada, aumenta a contribuição dos lipídios como substrato energético, pelo fato dos lipídios levarem um tempo maior do que os carboidratos para serem oxidados, atribuem-se esse fenômeno às etapas importantes para oxidação final dos lipídios, como a mobilização, transporte via corrente sanguínea, passagem nas membranas plasmática e

mitocondrial e por fim a ocorrência do processo de β -oxidação na matriz mitocondrial (44).

Achtenet al. (45) mostraram que ocorre uma maior oxidação lipídica no estado de jejum e em exercícios realizados em leve/moderada intensidade.

Por outro lado, durante o exercício realizado em alta intensidade (80-90% $VO_{2m\acute{a}x}$), a lipólise é atenuada (46, 47) em virtude do aumento do fluxo glicolítico na circulação, aumento da concentração plasmática do lactato (metabólito antilipolítico) que promoverá o aumento da concentração decarnitina na forma acetilada, diminuindo assim a carnitina livre. Esta diminuição influencia negativamente a ação da CarnitinaPalmitoilTransferase I e II e por conseguinte haverá uma redução no transporte dos ácidos graxos pela membrana mitocondrial(48, 49)ocorrendo então uma reesterificação dos ácidos graxos no tecido adiposo, interferindo na regulação da mobilização dos ácidos graxos para chegar à matriz mitocondrial(50).

Baseado no texto acima descrito, o presente trabalho teve como objetivo comparar o efeito de diferentes dosesde suplementação de taurina nos níveis de oxidaçãoem indivíduos treinados e não treinados após sessão aguda de exercício físico aeróbio em jejum.

Capítulo 1

Avaliação dos níveis de oxidação lipídica em indivíduos treinados e não treinados após suplementação de taurina associada ao exercício aeróbio em jejum

Milena Barbon de Carvalho ¹

Camila Fernanda Cunha Brandão²

Priscila Giacomo Fassini³

Thiago Mantello Bianco⁴

Eduardo Ferrioli³

Ellen Cristini de Freitas⁵

¹Universidade Estadual Paulista. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Departamento de Alimentos e Nutrição.

² Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Departamento de Clínica médica.

³ Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.
Departamento de Medicina interna.

⁴ Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.
Departamento de Oncologia Clínica, Células tronco e Terapia celular.

⁵ Universidade de São Paulo. Escola de Educação Física e Esporte de
Ribeirão Preto.

Resumo

Objetivo: Comparar o efeito da suplementação de taurina nos níveis de oxidação lipídica em indivíduos treinados e não treinados após sessão aguda de exercício aeróbio em jejum. **Métodos:** Participaram do estudo 17 indivíduos adultos, do sexo masculino, com idade entre 18 a 30 anos. Os indivíduos foram divididos em dois grupos, grupo treinado (GTr) (n=8) e grupo não treinado (GNTr) (n=9). Todos os participantes foram suplementados com diferentes doses de taurina (3gramas e 6gramas) bem como placebo (amido) em momentos diferentes do estudo. Os participantes foram suplementados, estando em jejum, antecedendo 90 minutos da realização do protocolo de treino que consistia em 60 minutos de caminhada na esteira à 60% do $VO_{2máx}$. A avaliação antropométrica foi realizada no início da intervenção assim como a coleta de sangue basal. Foram coletadas amostras de sangue em diferentes momentos da pesquisa após a coleta basal (pré 1, pré 2, pré 3, pós 1, pós 2, pós 3) para análise dos níveis séricos de glicerol taurina, e foi determinado o substrato energético oxidado durante o protocolo de exercício utilizando-se o método de calorimetria indireta. **Resultados:** Houve diferença estatística ($p < 0,01$) nos níveis de glicerol sanguíneo em ambos os grupos no momento pós esforço. Porém comparando-se entre os grupos e entre as diferentes doses de suplementação não foram detectadas diferenças significativas ($p > 0,05$). Com relação aos índices de oxidação lipídica e glicídica bem como os valores de Quociente Respiratório (QR) não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos e entre as doses de suplementação de taurina e placebo ($p > 0,05$). **Conclusão:** A suplementação de taurina 90 minutos antes da realização de exercício aeróbio em jejum não demonstrou um efeito aditivo nos níveis de oxidação lipídica intragrupos e entre os grupos.

Palavras-chaves: Oxidação lipídica; jejum; exercício aeróbio; taurina.

Introdução

Os lipídios têm como principal função o fornecimento de energia, após a lipólise(1), via catabólica que promove a hidrólise de triacilglicerol (TAG) em três moléculas de ácido graxo e uma de glicerol.

Assim, para a utilização dos lipídios como substrato energético é necessário que ocorra a oxidação no interior da mitocôndria, produzindo energia para a homeostase de células e tecidos. Sendo que a oxidação lipídica ocorre na sua maior parte no estado de jejum e/ou na falta de carboidrato(2). Como controle da lipólise e lipogênese, que modulam a disponibilidade de substrato para oxidação, têm-se a glicose e hormônios como a insulina, glucagon e catecoaminas(3).

Portanto, o estado de jejum pode apresentar um efeito aditivo no uso dos lipídios como substrato energético principal durante a realização do exercício físico (4,5), pois a gordura atua como fonte energética predominante durante o exercício. Contudo, pode haver diferença na resposta de acordo com a intensidade e duração do esforço físico(6).

Em protocolos agudos, a intensidade tem papel fundamental nos níveis de lipólise e oxidação lipídica. Assim como na realização do exercício físico de longa duração, que aumenta a demanda energética, podendo ser potente estimulador do processo de lipólise(7).

Schoenfeld et al.(8) relatam que o exercício realizado em intensidades leve/moderada, aumenta a contribuição dos lipídios como substrato energético, pelo fato de levarem tempo maior para sua oxidação quando comparados com os carboidratos. Atribuem-se esse fenômeno às etapas importantes para oxidação final dos lipídios, como a mobilização, transporte via corrente sanguínea, passagem nas membranas plasmática e mitocondrial e por fim a ocorrência do processo de β -oxidação na matriz mitocondrial(9).

Com o intuito de potencializar este efeito, recursos ergogênicos podem ser utilizados associados ao exercício físico. Como por exemplo a taurina que é um composto nitrogenado intracelular livre, encontrado no coração, leucócitos, retina, sistema nervoso central, e em maiores quantidades no músculo(1). Ela possivelmente aumenta a expressão de genes relacionados à produção de enzimas que participam do metabolismo de substratos lipídicos (10) e estimula assim o processo de lipólise(1). Além do mais, possui ação antioxidante e antiinflamatória(11-13), melhora na força de contração muscular(11) e na sensibilidade à insulina(14).

Estudos recentes ainda não apresentam um consenso referente à dose ideal de taurina a ser suplementada em busca dos melhores resultados sendo relacionados à oxidação lipídica, desempenho, ação antioxidante entre outros. Porém, existem relatos de diferentes estudos os quais foram realizados com uso de diferentes dosagens: Balshaw et al.(15) – 1 grama/dia; Rutherford et al.(16) e Galloway et al.(17) – 1,66 gramas/dia; Zhang et al. (18), Millioniet al.(19), e Ra et al.(20) – 6 gramas/dia; Da silva et al.(21) – 50mg/Kg de peso/dia; Astorino et al. (22) e Pettitt et al.(23) – 1 grama/dia contido em bebidas energéticas.

Galloway et al.(17) suplementaram homens recreacionalmente ativos com 1,66g de TAU anteriormente à realização de 2 horas de pedalada à ~60%VO₂ máximo e não encontraram resultados significativos em relação à oxidação lipídica, possivelmente pelo fato de os atletas receberem a suplementação da taurina de 2 a 4 horas antes do exercício. Isto pode ter

representado uma ação minimizada desse ergogênico, uma vez que o pico de sua ação no sangue ocorre entre 1,5h e 2h após sua ingestão(24). Além do mais, o exercício foi realizado em um momento pós-prandial, podendo ser um dos fatores limitantes para o aumento da participação dos lipídios como substrato energético predominante. Por outro lado, no estudo de Rutherford et al.(16) mostraram que a taurina pode melhorar a utilização do substrato energético pós esforço, onde ciclistas foram suplementados com 1,66g de taurina/dia e apresentaram um aumento de 16% na oxidação lipídica quando comparado ao placebo.

Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo comparar o efeito de diferentes doses de suplementação de taurina nos níveis de oxidação em indivíduos treinados e não treinados após sessão aguda de exercício físico aeróbio em jejum. Nossa hipótese é que a suplementação de taurina irá potencializar os níveis de oxidação lipídica e que isto ocorrerá em maior magnitude nos indivíduos treinados.

Metodologia

Indivíduos

Participaram do estudo 17 indivíduos adultos, do sexo masculino, com idade entre 18 a 30 anos, residentes na cidade de Ribeirão Preto/SP.

O recrutamento dos participantes ocorreu na EEFERP – USP, Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Campus Ribeirão Preto/SP. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Escola de Educação Física e Esporte de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, número do CAAE 56205516.2.0000.5659.

Um dos participantes foi desligado do estudo por apresentar problemas de saúde no decorrer da pesquisa. Sendo assim, foram incluídos

nos resultados 94,4% dos participantes que realizaram o protocolo do estudo.

Desenho do estudo

Foi realizado um estudo agudo, duplo cego e *crossover*, no qual os voluntários participaram de três sessões experimentais. Na primeira sessão ambos os grupos treinados (GTr) e não treinados (GNTr) receberam a suplementação de 3 gramas de taurina, ambos no estado de jejum de 12 horas, e 90 minutos após a suplementação foi realizada a coleta de sangue pré exercício (Pré 1, Pré 2 e Pré 3) e em seguida iniciou-se o protocolo de exercício (25). Finalizado o protocolo de exercício, realizou-se novamente a coleta de sangue denominada “Pós” (Pós 1, Pós 2 e Pós 3).

Após um “*wash out*” de uma semana o protocolo de suplementação e de exercício foi realizado novamente, assim como realizadas as coletas de sangue pré e pós-exercício, porém neste momento a suplementação foi realizada com cápsulas de placebo. E a terceira sessão, após um “*wash out*” de uma semana, onde o protocolo foi realizado novamente em ambos os grupos no estado de jejum, porém com a suplementação 6 gramas de taurina. O tipo de suplemento recebido em cada sessão foi revelado apenas ao final do protocolo experimental, no momento em que foi aberta a carta de cegamento dos suplementos.

Suplementação de taurina e placebo

Foi realizada a suplementação aguda de taurina ou placebo em cápsulas, sendo as doses de 3 g e 6 g de taurina e 6 g de placebo (amido). As cápsulas de taurina e placebo foram preparadas pela Farmácia Industrial do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, sendo utilizada Taurina (*AminoethylsulfonicAcid*, Ajinomoto®). Os participantes foram orientados a não consumir alimentos fonte de taurina, como bebidas energéticas (Red Bull® e similares), peixes e frutos do mar no dia que antecedia o teste físico.

Teste preliminar

Em momento anterior à realização do protocolo de exercício propriamente dito foi realizado um pré-teste para a determinação do consumo máximo de oxigênio ($VO_{2m\acute{a}x}$) e coleta de sangue basal. O pré-teste foi composto por um teste exaustivo em esteira ergométrica (InbramedSuper ATL). Antes de dar início ao teste foi coletada uma amostra de sangue do lóbulo da orelha para determinação dos níveis de lactato sanguíneo em repouso. O teste consistiu em 5 minutos de aquecimento a 4,5 km/hora, em seguida, foram realizados dois minutos de caminhada a 6,5 km/hora. Após esse tempo a velocidade foi aumentada em 1 km/hora a cada um minuto até atingir a velocidade de 10,5 km/hora. Então, a velocidade manteve-se constante, e o grau de inclinação da esteira foi aumentado em 2% a cada um minuto até que participante alcançasse a exaustão(25). Ao cada troca de estágio foi realizada coleta de amostra de sangue para posterior análise da concentração de lactato e limiar anaeróbio (26).

A troca gasosa respiratória foi monitorada continuamente durante o teste através de um circuito aberto e automático, o sistema de calorimetria indireta (Quark CPET ®), que foi calibrada usando o ar ambiente e um gás padrão de calibração. O maior valor de oxigênio consumido obtido durante o teste foi considerado o $VO_{2m\acute{a}x}$. Para o teste de esforço progressivo, a frequência cardíaca foi monitorada continuamente utilizando um monitor de frequência cardíaca (Polar, M400 ®) e a percepção subjetiva de esforço (RPE) foi registrada, de acordo com a escala de Borg(27).

Protocolo de treino

Uma semana após a realização do teste de esforço deu-se início aos treinos. O treino consistia em uma caminhada na esteira à 60% do $VO_{2m\acute{a}x}$ (controlados pela frequência cardíaca através do frequencímetro) durante 60 minutos, sendo que os participantes estavam em jejum e haviam sido

suplementados com taurina ou placebo 120 minutos antes. Assim que os voluntários chegavam ao laboratório o sangue era coletado em tubos de 5 ml contendo heparina (anticoagulante). Este procedimento ocorreu antes e após a realização do exercício para posterior análise sérica de glicerol e taurina. No primeiro dia de intervenção os participantes foram suplementados com 3 gramas de taurina, no segundo dia foram suplementados com 6 gramas de placebo (amido) e no último dia eles foram suplementados com 6 gramas de taurina.

Medidas antropométricas

Foram realizadas medidas de peso corporal e estatura. O peso foi medido em kg por meio de balança digital Filizola® eletrônica, com capacidade máxima de 200,0 kg e precisão de 0,1kg. O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado de acordo a fórmula $IMC (kg/m^2) = \text{Peso (kg)} / [\text{estatura}]^2$. Para a avaliação do estado nutricional, utilizou-se a classificação da World Health Organization (28).

Análises bioquímicas

A coleta de sangue foi realizada em sete momentos: no pré-teste, anteriormente à determinação do VO_{2max} (Basal); antes de iniciar o protocolo de exercício no estado de jejum (Pré 1, Pré 2 e Pré 3) e após a realização do esforço (Pós 1, Pós 2 e Pós 3).

Foram coletadas amostras de 5 ml de sangue, estando os participantes em jejum de 12h. Após a coleta, as amostras foram centrifugadas a 3500 rpm (rotação por minuto), à temperatura de 4° C por 10 minutos para extração de plasma. Em seguida foram armazenadas a -80 °C até o momento da análise.

As análises foram realizadas no laboratório de Laboratório de Fisiologia do Exercício e Metabolismo da Escola de Educação Física e Esportes de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo e no Laboratório Multiusuário da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Dosagem de glicerol sérico

A dosagem de glicerol circulante foi realizada no momento basal, em repouso antes da realização do exercício e imediatamente após o esforço por método enzimático (glicerol fosfato oxidase), utilizando-se o kit GlycerolAssay Kit sigma®, dosado em espectrofotômetro de massa.

Dosagem da oxidação lipídica e glicídica por Calorimetria Indireta

Os gases respiratórios foram medidos por um circuito aberto de calorimetria indireta (Quark CPET ®), na qual o consumo de oxigênio (VO_2), a produção de dióxido de carbono (VCO_2) e a taxa da troca gasosa (RER) foram obtidos. Antes do início da realização da calorimetria indireta, a temperatura ambiente foi medida e registrada pelo calorímetro. O monitor precisou ser ligado, no mínimo, 30 minutos antes do exame, para aquecimento e estabilização adequados. Os analisadores de O_2 e de CO_2 foram calibrados com gás de concentração conhecida antes de cada determinação e, periodicamente, validados conforme as especificações do fabricante. Inicialmente à calibração do sensor de fluxo, uma quantidade conhecida de ar ambiente foi injetada no aparelho através de uma seringa com capacidade de aproximadamente 2,5 litros de ar. Após as calibrações iniciou-se a medida de calorimetria indireta. Os gases respiratórios foram medidos imediatamente após o exercício. Os participantes vestiram uma máscara facial cobrindo o nariz e a boca, e permaneceram em repouso sentado em uma cadeira por 15 minutos.

Para obtenção dos valores de oxidação utilizou-se o valor do Quociente Respiratório ($R=VO_2/VCO_2$) fornecido pelo Calorímetro em L/min. Este valor pode ser empregado para conhecer o tipo de substrato que está sendo oxidado, em um determinado momento, pelo indivíduo em estudo (29)

$$QR= VCO_2/ VO_2$$

Para o cálculo da oxidação lipídica utilizou-se a fórmula(30)

$$\text{Oxidação lipídica} = \text{g/min} = 1,695 \times \text{VO}_2 - 1,701 \times \text{VCO}_2$$

Para o cálculo da oxidação glicídica utilizou-se a fórmula

$$\text{Oxidação glicídica} = \text{g/min} = 4,585 \times \text{VCO}_2 - 3,226 \times \text{VO}_2$$

**Os valores de VO_2 e VCO_2 foram expressos em L/min.

Dosagem de taurina

A taurina plasmática foi analisada por Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) Shimadzu, modelo LC 10AD pelo método de Deyl(31). Taurina 99%(Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) foi utilizada como padrão.

Avaliação da Ingestão Dietética

O inquérito nutricional foi obtido por meio de Recordatório Alimentar de 24 horas. Para a análise dos dados de ingestão dietética utilizou-se o programa Diet-Pro profissional 2012®.

Análise dos Resultados

Os resultados obtidos foram expressos em média \pm desvio padrão. Para análise dos níveis de glicerol sanguíneo, valores do Quociente Respiratório (QR), oxidação lipídica e glicídica foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para medida repetida mista e quando detectada a diferença, foi aplicado o teste *SIDAK* para determinar a magnitude das diferenças. Para análise e pareamento entre os grupos de acordo com os resultados do teste de esforço utilizou-se o teste *t de Student* para amostras independentes. Para as conclusões estatísticas foi considerado o nível de 5% de significância.

Resultados

Iniciaram o estudo 18 participantes, porém, 1 não pode concluir o estudo por motivos de saúde, concluindo 17 indivíduos (Grupo Treinado - **GTr** = 8; Grupo Não Treinados - **GNTTr** = 9). A média (\pm desvio padrão) de idade, peso, altura e IMC do GTr foi $25,12 \pm 2,44$ anos, $73,80 \pm 9,02$ kg, $1,76 \pm 0,05$ m e $23,13 \pm 2,76$ kg/m² e do GNTTr foi $24,66 \pm 4,18$ anos, $83,67 \pm 9,37$ kg, $1,83 \pm 0,07$ m e $24,68 \pm 2,28$ kg/m².

Na tabela 1, são apresentados a média e desvio padrão do desempenho físico dos voluntários, divididos pelos grupos treinando e não treinados.

Tabela 1

O consumo alimentar médio avaliado entre os grupos GTr e GNTTr foi de 2563 ± 728 Kcal/dia e $2,545 \pm 547$ kcal/dia respectivamente, sem diferença estatística entre os grupos. Com relação aos níveis plasmáticos de taurina, realizou-se uma estatística descritiva onde os valores são apresentados em média \pm desvio padrão (tabela 2).

*** Tabela 2***

Quanto aos níveis séricos de glicerol, houve aumento em ambos os grupos no momento pós esforço, porém sem diferença estatística entre os grupos quando comparado os momentos pré e pós esforço (GTr e GNTTr) e entre as diferentes doses de suplementação ($p > 0,05$) (Tabela 3). Assim como os dados referentes à oxidação de substratos energéticos lipídicos, glicídicos e quociente respiratório (QR) após o esforço físico não foi observado diferença estatística em ambos os grupos (GTr e GNTTr), como também nas diferentes condições, de placebo, suplementado com 3 e 6 g de taurina (Tabela 4).

Tabela 3

Tabela 4

Discussão

O presente estudo teve como objetivo do analisar o efeito da suplementação de taurina associada ao exercício aeróbio em jejum sobre os níveis de oxidação lipídica em indivíduos treinados e não treinados. O principal achado do mesmo foi que os níveis da oxidação lipídica mantiveram-se sem diferenças significativas com a suplementação de taurina, independente da condição de treinabilidade dos voluntários. Os resultados encontrados neste estudo são contrários aos observados na literatura científica tanto em relação ao efeito do exercício aeróbio em jejum sobre os níveis de oxidação lipídica como com a suplementação de taurina. De acordo com Robinson et al.(32) a realização do exercício físico em uma intensidade fixa causa ao organismo humano alterações hormonais e metabólicas que contribuem para o aumento nos níveis de lipólise e oxidação lipídica. Tem sido observado que quando este é realizado no estado de jejum há uma diminuição dos níveis de insulina (hormônio anti-lipolítico) e aumento do glucagon e das catecolaminas, ocasionando assim uma adição na concentração de ácido graxo livre na circulação (33).

Com relação aos níveis séricos de taurina, houve um aumento em todos os momentos após o período de suplementação quando comparado ao basal. Corroborando assim com o estudo de Zhanget al.(18) e Ghandforoush-Sattariet al.(24), que mostraram que após a suplementação com 6 gramas de taurina ocorreu aumento significativo nos níveis séricos deste aminoácido.

Quanto ao uso de suplementação de taurina associada ao exercício físico, Chen et al. (34) relatam que a taurina possivelmente exerça efeito sobre a oxidação lipídica por meio da ativação da adenilatociclase, estimulando diretamente a produção de cAMP ou também pelo aumento da secreção de catecolaminas (35). De acordo com Watt e Spriet(34) a ativação da cascata de cAMP, mediada especialmente pelo hormônios adrenalina e

noradrenalina é o mecanismo inicial pelo aumento da lipólise e oxidação lipídica durante a realização de exercícios em intensidade moderada. Tsuboyama-Kasaoka et al.(35) analisaram o metabolismo energético em ratos após a suplementação de 5% de taurina (*ad libitum*), e encontraram uma melhora na expressão gênica de PGC1- α , PPAR α e PPAR γ que são indutores de biogênese mitocondrial. Desta forma, possivelmente estimulando a expressão gênica da lipoproteína lípase, acil-CoA oxidase, acil-CoAsintetase e acil-CoA desidrogenase, que são relacionadas com a oxidação de lipídios como substrato(10).

Como citado anteriormente, com a ocorrência da lipólise há liberação de três moléculas de ácido graxo e uma de glicerol. O tecido adiposo não possui a enzima glicerol quinase necessária para a metabolização do glicerol, por este fato este permanece no sangue por um período maior antes de ser utilizado na via glicolítica ou na neoglicogênese, podendo ser utilizado com um indicador do processo de lipólise (5). Van Loonet al.(36) avaliaram os níveis de glicerol sanguíneo após a realização de 120 minutos de exercícios no ciclo ergômetro à 60% $VO_{2máx}$ onde observaram aumento da concentração sanguínea deste metabólito em virtude da realização de esforço físico, corroborando com o resultado encontrado no presente estudo. Refere-se este fato à realização do exercício, visto que os níveis de glicerol sanguíneo mostraram-se aumentados inclusive no momento em que os participantes foram suplementados com placebo. Todavia, este aumento após a realização do esforço físico não foi suficiente para ocasionar uma diferença significativa intragrupos e intergrupos.

Por outro lado, Galloway et al.(17) realizaram um estudo com homens ativos no qual foi realizada a suplementação com 5 gramas de TAU, divididas em 4 vezes ao dia, durante sete dias e ao final do último dia submeteu-os a um protocolo de exercício aeróbio com intensidade moderada. Neste estudo não foi relatado resultado significativo relacionado à oxidação lipídica. Possivelmente este fato possa ter ocorrido em virtude de que os atletas foram suplementados entre 2-4 horas antes do exercício, e de acordo com

Ghandforoush-Sattari et al.(24), o período de maior concentração sérica de TAU, no qual é considerado o período ideal de ação deste composto nitrogenado, ocorre entre 1h - 2,5h após a suplementação. Ademais, os autores descrevem que a suplementação foi realizada no período pós prandial associado às principais refeições. Sabe-se que nestas refeições há uma maior disponibilidade de carboidratos para serem utilizados como substrato, sendo este um dos principais sinalizadores de um potente hormônio antilipolítico inviabilizando o processo de lipólise. Estes dados corroboram com o presente estudo, uma vez que não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos e intragrupos independente da dose utilizada. Possivelmente atribuí-se este fato à duração do exercício ter sido 60 minutos, visto que no trabalho de Rutherford utilizou-se a mesma intensidade, porém com uma maior duração.

Segundo Van Proeyen et al.(37) o treino realizado no estado de jejum é bastante utilizado por atletas de endurance para aumentar os níveis de oxidação lipídica e também melhorar a capacidade oxidativa. Em seu estudo comparou-se cronicamente a oxidação de substratos entre um grupo que treinou após a ingestão de uma refeição rica em carboidrato e outro grupo no estado de jejum (pedalaram à 70% $VO_{2máx}$ durante 1-1,5h por 6 semanas). Encontraram uma maior contribuição dos lipídios como substrato energético no grupo jejum quando comparado com o grupo que ingeriu carboidrato. Assim como no estudo de Hulston et al.(38) que compararam a oxidação lipídica em grupos com altos níveis de glicogênio muscular e baixos níveis de glicogênio muscular (jejum) – ambos realizaram o protocolo de pedalada por 90 minutos à 70% $VO_{2máx}$. Observaram que o grupo que treinou com baixo conteúdo de glicogênio muscular oxidou mais lipídios do que o grupo com maior teor. Sabe-se que a atividade da AMPK é estimulada em exercícios realizados com restrição de carboidratos (39).

Segundo Noland 2015 (40), a contribuição relativa dos lipídios como substrato possivelmente aumenta assim que o exercício é prolongado além de 90 minutos. No estudo de Roepstorff et al.(41) e Van Loon et al.(36), onde

os exercícios foram realizados durante 60 minutos, não foi observado um aumento na participação lipídica como substrato energético. Estes resultados corroboram com o do presente estudo, onde os níveis de oxidação lipídica mantiveram-se sem diferença entre os grupos. Baseado nas evidências acima descritas, é possível afirmar que possivelmente este fato ocorreu em virtude da duração do esforço físico empregado.

Bergman e Brooks (42) avaliaram em seu estudos os gases respiratórios de indivíduos treinados e não treinado e alimentados ou em jejum. O objetivo do estudo foi avaliar o quanto o exercício físico com diferentes intensidades e duração do esforço (40% VO_{2pico} por 2 horas; 60% VO_{2pico} por 1,5 hora; 80 % VO_{2pico} por 45 minutos), influenciava na oxidação lipídica e também se com o consumo de carboidrato a utilização de substrato energético tenderia a ser pela via glicídica. Concluíram que os indivíduos treinados oxidam significativamente mais lipídios quando comparados aos não treinados somente em intensidades $\leq 40\%VO_{2pico}$. Possivelmente esse possa ser considerado um dos motivos de o presente estudo não ter encontrado diferença significativa na oxidação dos lipídios entre os grupos (GTr e GNTr), pois a intensidade do exercício realizada foi de 60% $VO_{2máx}$.

De acordo com os dados apresentados acima conclui-se que, contrastando com a hipótese do presente estudo, a suplementação aguda de taurina associada ao exercício aeróbio em jejum não apresentou um efeito aditivo nos níveis de oxidação lipídica pós esforço. Devido ao fato de a literatura mostrar que a taurina tem importante participação no metabolismo lipídico, sugere-se então a realização de novos trabalhos com suplementação de taurina e exercício físico para observar os níveis de oxidação lipídica, com alterações no protocolo de treinamento em relação à intensidade e duração.

Referências

1. Jeukendrup AE, Saris WH, Wagenmakers AJ. Fat metabolism during exercise: a review--part II: regulation of metabolism and the effects of training. *Int J Sports Med.* 1998;19(5):293-302.
2. Saponaro C, Gaggini M, Carli F, Gastaldelli A. The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients.* 2015;7(11):9453-74.
3. Sidossis LS, Wolfe RR. Glucose and insulin-induced inhibition of fatty acid oxidation: the glucose-fatty acid cycle reversed. *Am J Physiol.* 1996;270(4 Pt 1):E733-8.
4. Pilegaard H, Keller C, Steensberg A, Helge JW, Pedersen BK, Saltin B, et al. Influence of pre-exercise muscle glycogen content on exercise-induced transcriptional regulation of metabolic genes. *J Physiol.* 2002;541(Pt 1):261-71.
5. Maughan RJ, Fallah J, Coyle EF. The effects of fasting on metabolism and performance. *Br J Sports Med.* 2010;44(7):490-4.
6. Vicente-Salar N, Urdampilleta Otegui A, Roche Collado E. Endurance training in fasting conditions: biological adaptations and body weight management. *Nutr Hosp.* 2015;32(6):2409-20.
7. Spriet LL. Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(9):1477-84.
8. Schoenfeld BJ, Aragon AA, Wilborn CD, Krieger JW, Sonmez GT. Body composition changes associated with fasted versus non-fasted aerobic exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* 2014;11(1):54.
9. Curi R, Paulo UdS, Lagranha CJ, Paulo UdS, G. Jr JR, Universidade Estadual Paulista 'Julio de Mesquita Filho' B, et al. The Krebs cycle as limiting factor for fatty acids utilization during aerobic exercise. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47(2):135-43.
10. Murakami S. Role of taurine in the pathogenesis of obesity. *Mol Nutr Food Res.* 2015;59(7):1353-63.
11. Schaffer SW, Jong CJ, Ramila KC, Azuma J. Physiological roles of taurine in heart and muscle. *J Biomed Sci.* 2010;17 Suppl 1:S2.

12. Schaffer SW, Shimada K, Jong CJ, Ito T, Azuma J, Takahashi K. Effect of taurine and potential interactions with caffeine on cardiovascular function. *Amino Acids*. 2014;46(5):1147-57.
13. Oliveira MW, Minotto JB, de Oliveira MR, Zanotto-Filho A, Behr GA, Rocha RF, et al. Scavenging and antioxidant potential of physiological taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. *Pharmacol Rep*. 2010;62(1):185-93.
14. De Luca A, Pierno S, Camerino DC. Taurine: the appeal of a safe amino acid for skeletal muscle disorders. *J Transl Med*. 2015;13:243.
15. Balshaw TG, Bampouras TM, Barry TJ, Sparks SA. The effect of acute taurine ingestion on 3-km running performance in trained middle-distance runners. *Amino Acids*. 2013;44(2):555-61.
16. Rutherford JA, Spriet LL, Stellingwerff T. The effect of acute taurine ingestion on endurance performance and metabolism in well-trained cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2010;20(4):322-9.
17. Galloway SD, Talanian JL, Shoveller AK, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Seven days of oral taurine supplementation does not increase muscle taurine content or alter substrate metabolism during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2008;105(2):643-51.
18. Zhang M, Izumi I, Kagamimori S, Sokejima S, Yamagami T, Liu Z, et al. Role of taurine supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress in healthy young men. *Amino Acids*. 2004;26(2):203-7.
19. Milioni F, Malta Ede S, Rocha LG, Mesquita CA, de Freitas EC, Zagatto AM. Acute administration of high doses of taurine does not substantially improve high-intensity running performance and the effect on maximal accumulated oxygen deficit is unclear. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(5):498-503.
20. Ra SG, Choi Y, Akazawa N, Ohmori H, Maeda S. Taurine supplementation attenuates delayed increase in exercise-induced arterial stiffness. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(6):618-23.

21. da Silva LA, Tromm CB, Bom KF, Mariano I, Pozzi B, da Rosa GL, et al. Effects of taurine supplementation following eccentric exercise in young adults. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014;39(1):101-4.
22. Astorino TA, Matera AJ, Basinger J, Evans M, Schurman T, Marquez R. Effects of red bull energy drink on repeated sprint performance in women athletes. *Amino Acids*. 2012;42(5):1803-8.
23. Pettitt RW, Niemeyer JD, Sexton PJ, Lipetzky A, Murray SR. Do the noncaffeine ingredients of energy drinks affect metabolic responses to heavy exercise? *J Strength Cond Res*. 2013;27(7):1994-9.
24. Ghandforoush-Sattari M, Mashayekhi S, Krishna CV, Thompson JP, Routledge PA. Pharmacokinetics of oral taurine in healthy volunteers. *J Amino Acids*. 2010;2010:346237.
25. Zhang JQ, Thomas TR, Ball SD. Effect of exercise timing on postprandial lipemia and HDL cholesterol subfractions. *J Appl Physiol* (1985). 1998;85(4):1516-22.
26. Medbo JI, Mamen A, Holt Olsen O, Evertsen F. Examination of four different instruments for measuring blood lactate concentration. *Scand J Clin Lab Invest*. 2000;60(5):367-80.
27. Borg GA. Psychophysical bases of perceived exertion. *Med Sci Sports Exerc*. 1982;14(5):377-81.
28. World Health Organization. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. WHO Technical Report Series 854. Geneva: World Health Organization; 1995
29. Diener JR. [Indirect calorimetry]. *Rev Assoc Med Bras* (1992). 1997;43(3):245-53.
30. van Loon LJ, Greenhaff PL, Constantin-Teodosiu D, Saris WH, Wagenmakers AJ. The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans. *J Physiol*. 2001;536(Pt 1):295-304.
31. Deyl Z, Hyanek J, Horakova M. Profiling of amino acids in body fluids and tissues by means of liquid chromatography. *J Chromatogr*. 1986;379:177-250.

32. Robinson SL, Chambers ES, Fletcher G, Wallis GA. Lipolytic Markers, Insulin and Resting Fat Oxidation are Associated with Maximal Fat Oxidation. *Int J Sports Med.* 2016;37(8):607-13.
33. Frayn KN. Fat as a fuel: emerging understanding of the adipose tissue-skeletal muscle axis. *Acta Physiol (Oxf).* 2010;199(4):509-18.
34. Watt MJ, Spriet LL. Regulation and role of hormone-sensitive lipase activity in human skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 2004;63(2):315-22.
35. Tsuboyama-Kasaoka N, Shozawa C, Sano K, Kamei Y, Kasaoka S, Hosokawa Y, et al. Taurine (2-aminoethanesulfonic acid) deficiency creates a vicious circle promoting obesity. *Endocrinology.* 2006;147(7):3276-84.
36. van Loon LJ, Koopman R, Stegen JH, Wagenmakers AJ, Keizer HA, Saris WH. Intramyocellular lipids form an important substrate source during moderate intensity exercise in endurance-trained males in a fasted state. *J Physiol.* 2003;553(Pt 2):611-25.
37. Van Proeyen K, Szlufcik K, Nielens H, Ramaekers M, Hespel P. Beneficial metabolic adaptations due to endurance exercise training in the fasted state. *J Appl Physiol (1985).* 2011;110(1):236-45.
38. Hulston CJ, Venables MC, Mann CH, Martin C, Philp A, Baar K, et al. Training with low muscle glycogen enhances fat metabolism in well-trained cyclists. *Med Sci Sports Exerc.* 2010;42(11):2046-55.
39. De Bock K, Richter EA, Russell AP, Eijnde BO, Derave W, Ramaekers M, et al. Exercise in the fasted state facilitates fibre type-specific intramyocellular lipid breakdown and stimulates glycogen resynthesis in humans. *J Physiol.* 2005;564(Pt 2):649-60.
40. Noland RC. Exercise and Regulation of Lipid Metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci.* 2015;135:39-74.
41. Roepstorff C, Steffensen CH, Madsen M, Stallknecht B, Kanstrup IL, Richter EA, et al. Gender differences in substrate utilization during submaximal exercise in endurance-trained subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002;282(2):E435-47.

42. Bergman BC, Brooks GA. Respiratory gas-exchange ratios during graded exercise in fed and fasted trained and untrained men. *J Appl Physiol* (1985). 1999;86(2):479-87.

Tabelas

Tabela 1. Pareamento dos grupos por meio de variáveis de desempenho físico.

	Teste de esforço máximo	
	GTr (n = 8)	GNTTr (n = 9)
VO ₂ máx	56,12 ±6,58	42,62 ± 5,22
Tempo total (min)	20	16
PSE - Lan	13,87 ±1,55	13 ± 1,00
FC- Lan	176,75±6,92	168,44 ± 12,48

Valores apresentados em média ± desvio padrão. Lan, limiar anaeróbio; PSE, Percepção subjetiva de esforço; FC, Frequência cardíaca. (p<0,05 por teste t de Student)

Tabela 2. Concentração sérica de taurina nos momentos: basal, pré e pós esforço.

	GTr (n=8)			GNTTr (n=9)		
	Basal	Pré	Pós	Basal	Pré	Pós
	17,87±			15,23 ±		
	9,78			1,23		
Placebo		15,28 ±	15,59 ±		17,54 ±	17,64 ±
		1,66	2,81		2,25	3,24
TAU 1		209,17 ±	143,46 ±		182,70 ±	144,22 ±
		71,44	43,42		43,41	34,42
TAU 2		466,80 ±	256,04 ±		362,63 ±	297,51 ±
		179,20	127,67		166,95	144,29

Valores apresentados em média ± desvio padrão. Abreviações: TAU 1 = grupo suplementado com 3 gramas de taurina; TAU 2: grupo suplementado com 6 gramas de taurina; Placebo: grupo suplementado com 6 gramas de placebo (amido).

Tabela 3. Concentração de glicerol plasmático (Mm/dl) entre os grupos treinados e não treinados nos momentos pré e pós exercício.

	GTr (n=8)			GNTr (n=9)			p valor	
	Pré	Pós	Δ%	Pré	Pós	Δ%		
	Placebo	0,29±0,01	0,37±0,06	19,69	0,29±0,02	0,37±0,09	17,19	<0,001*
Glicerol (Mm/dl)	TAU 3g	0,31±0,01	0,41±0,5	24,21	0,31±0,02	0,40±0,05	23,14	<0,001*
	TAU 6g	0,30±0,03	0,41±0,5	25,96	0,30±0,03	0,38±0,03	22,06	<0,001*

Valores apresentados em média ± desvio padrão. * p ≤0,05. Abreviações: TAU 1 = grupo suplementado com 3 gramas de taurina; TAU 2: grupo suplementado com 6 gramas de taurina; Placebo: grupo suplementado com 6 gramas de placebo (amido).

* Diferença pré e pós (p< 0,05) independente dos grupos, por ANOVA medida repetida mista.

Tabela 4. Oxidação de substratos energéticos após o protocolo de esforço físico (GTr [n=8] e GNTr [n=9])

	Placebo		TAU 1		TAU 2	
	GTr	GNTr	GTr	GNTr	GTr	GNTr
Oxidação lipídica (g/hora)	6,34± 3,02	5,82± 3,05	6,85 ± 2,01	7,86 ± 1,89	8,18 ± 2,17	8,63 ± 2,55
Oxidação glicídica (g/hora)	18,0± 8,35	21,65± 6,75	18,49± 5,06	16,78± 6,20	18,85± 4,71	16,19± 4,81
QR	0,85 ± 0,06	0,87 ± 0,06	0,84 ± 0,04	0,83 ± 0,04	0,82 ± 0,03	0,82 ± 0,04

Valores apresentados em média ± desvio padrão; Abreviações:TAU 1 = grupo suplementado com 3 gramas de TAU;TAU 2 = grupo suplementado com 6 gramas de TAU; GTr = treinados; GNTr = não treinados.*p≤0.05 por ANOVA medida repetida mista.

Considerações finais

Podemos concluir que a suplementação aguda de taurina associada ao exercício aeróbio em jejum não apresentou um efeito aditivo nos níveis de oxidação lipídica pós esforço, contradizendo a hipótese inicial do estudo. Sugere-se a realização de novos trabalhos com suplementação de taurina e exercício físico para observar os níveis de oxidação lipídica, com alterações no protocolo de treinamento em relação à intensidade e duração.

Referências

1. Kim J, Park J, Lim K. Nutrition Supplements to Stimulate Lipolysis: A Review in Relation to Endurance Exercise Capacity. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)*. 2016;62(3):141-61.
2. Lourenco R, Camilo ME. Taurine: a conditionally essential amino acid in humans? An overview in health and disease. *Nutr Hosp*. 2002;17(6):262-70.
3. Faggiano A, Melis D, Alfieri R, De Martino M, Filippella M, Milone F, et al. Sulfur amino acids in Cushing's disease: insight in homocysteine and taurine levels in patients with active and cured disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(12):6616-22.
4. De Luca A, Pierno S, Camerino DC. Taurine: the appeal of a safe amino acid for skeletal muscle disorders. *J Transl Med*. 2015;13:243.
5. Huxtable RJ. Expanding the circle 1975-1999: sulfur biochemistry and insights on the biological functions of taurine. *Adv Exp Med Biol*. 2000;483:1-25.
6. Schaffer SW, Jong CJ, Ramila KC, Azuma J. Physiological roles of taurine in heart and muscle. *J Biomed Sci*. 2010;17 Suppl 1:S2.
7. Rutherford JA, Spriet LL, Stellingwerff T. The effect of acute taurine ingestion on endurance performance and metabolism in well-trained cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2010;20(4):322-9.
8. Bouckennooghe T, Remacle C, Reusens B. Is taurine a functional nutrient? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2006;9(6):728-33.

9. Szymanski K, Winiarska K. [Taurine and its potential therapeutic application]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2008;62:75-86.
10. Murakami S. Role of taurine in the pathogenesis of obesity. *Mol Nutr Food Res*. 2015;59(7):1353-63.
11. Han X, Patters AB, Jones DP, Zelikovic I, Chesney RW. The taurine transporter: mechanisms of regulation. *Acta Physiol (Oxf)*. 2006;187(1-2):61-73.
12. Lambert IH, Kristensen DM, Holm JB, Mortensen OH. Physiological role of taurine--from organism to organelle. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015;213(1):191-212.
13. Ghandforoush-Sattari M, Mashayekhi S, Krishna CV, Thompson JP, Routledge PA. Pharmacokinetics of oral taurine in healthy volunteers. *J Amino Acids*. 2010;2010:346237.
14. Schaffer SW, Shimada K, Jong CJ, Ito T, Azuma J, Takahashi K. Effect of taurine and potential interactions with caffeine on cardiovascular function. *Amino Acids*. 2014;46(5):1147-57.
15. Oliveira MW, Minotto JB, de Oliveira MR, Zanotto-Filho A, Behr GA, Rocha RF, et al. Scavenging and antioxidant potential of physiological taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. *Pharmacol Rep*. 2010;62(1):185-93.
16. Durelli L, Mutani R, Fassio F. The treatment of myotonia: evaluation of chronic oral taurine therapy. *Neurology*. 1983;33(5):599-603.
17. Shao A, Hathcock JN. Risk assessment for the amino acids taurine, L-glutamine and L-arginine. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2008;50(3):376-99.

18. Balshaw TG, Bampouras TM, Barry TJ, Sparks SA. The effect of acute taurine ingestion on 3-km running performance in trained middle-distance runners. *Amino Acids*. 2013;44(2):555-61.
19. Galloway SD, Talanian JL, Shoveller AK, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Seven days of oral taurine supplementation does not increase muscle taurine content or alter substrate metabolism during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol* (1985). 2008;105(2):643-51.
20. Milioni F, Malta Ede S, Rocha LG, Mesquita CA, de Freitas EC, Zagatto AM. Acute administration of high doses of taurine does not substantially improve high-intensity running performance and the effect on maximal accumulated oxygen deficit is unclear. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(5):498-503.
21. Zhang M, Izumi I, Kagamimori S, Sokejima S, Yamagami T, Liu Z, et al. Role of taurine supplementation to prevent exercise-induced oxidative stress in healthy young men. *Amino Acids*. 2004;26(2):203-7.
22. Ra SG, Choi Y, Akazawa N, Ohmori H, Maeda S. Taurine supplementation attenuates delayed increase in exercise-induced arterial stiffness. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2016;41(6):618-23.
23. da Silva LA, Tromm CB, Bom KF, Mariano I, Pozzi B, da Rosa GL, et al. Effects of taurine supplementation following eccentric exercise in young adults. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2014;39(1):101-4.
24. Bakker AJ, Berg HM. Effect of taurine on sarcoplasmic reticulum function and force in skinned fast-twitch skeletal muscle fibres of the rat. *J Physiol*. 2002;538(Pt 1):185-94.

25. Hamilton EJ, Berg HM, Easton CJ, Bakker AJ. The effect of taurine depletion on the contractile properties and fatigue in fast-twitch skeletal muscle of the mouse. *Amino Acids*. 2006;31(3):273-8.
26. Bloomer RJ, Goldfarb AH. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol*. 2004;29(3):245-63.
27. Goldfarb AH, Bloomer RJ, McKenzie MJ. Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Med Sci Sports Exerc*. 2005;37(2):234-9.
28. Astorino TA, Matera AJ, Basinger J, Evans M, Schurman T, Marquez R. Effects of red bull energy drink on repeated sprint performance in women athletes. *Amino Acids*. 2012;42(5):1803-8.
29. Pettitt RW, Niemeyer JD, Sexton PJ, Lipetzky A, Murray SR. Do the noncaffeine ingredients of energy drinks affect metabolic responses to heavy exercise? *J Strength Cond Res*. 2013;27(7):1994-9.
30. De Bock K, Derave W, Eijnde BO, Hesselink MK, Koninckx E, Rose AJ, et al. Effect of training in the fasted state on metabolic responses during exercise with carbohydrate intake. *J Appl Physiol*. 2008;104(4):1045-55.
31. Rupasinghe HP, Sekhon-Loodu S, Mantso T, Panayiotidis MI. Phytochemicals in regulating fatty acid beta-oxidation: Potential underlying mechanisms and their involvement in obesity and weight loss. *Pharmacol Ther*. 2016;165:153-63.
32. Jeukendrup AE, Saris WH, Wagenmakers AJ. Fat metabolism during exercise: a review--part II: regulation of metabolism and the effects of training. *Int J Sports Med*. 1998;19(5):293-302.

33. Saponaro C, Gaggini M, Carli F, Gastaldelli A. The Subtle Balance between Lipolysis and Lipogenesis: A Critical Point in Metabolic Homeostasis. *Nutrients*. 2015;7(11):9453-74.
34. Sidossis LS, Wolfe RR. Glucose and insulin-induced inhibition of fatty acid oxidation: the glucose-fatty acid cycle reversed. *Am J Physiol*. 1996;270(4 Pt 1):E733-8.
35. Pilegaard H, Keller C, Steensberg A, Helge JW, Pedersen BK, Saltin B, et al. Influence of pre-exercise muscle glycogen content on exercise-induced transcriptional regulation of metabolic genes. *J Physiol*. 2002;541(Pt 1):261-71.
36. Maughan RJ, Fallah J, Coyle EF. The effects of fasting on metabolism and performance. *Br J Sports Med*. 2010;44(7):490-4.
37. Vicente-Salar N, Urdampilleta Otegui A, Roche Collado E. Endurance training in fasting conditions: biological adaptations and bodyweightmanagement. *Nutr Hosp*. 2015;32(6):2409-20.
38. Spriet LL. New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sports Med*. 2014;44 Suppl 1:S87-96.
39. Freitas ECd, Nobrega MP, Troncom FR, Franco GS. Metabolismode los lípidos durante el ejercicio: movilización del ácido graso. *Pensar a Prática, Goiânia, jul./set*. 2012;15(3):551-820.
40. Horowitz JF, Mora-Rodriguez R, Byerley LO, Coyle EF. Lipolytic suppression following carbohydrate ingestion limits fat oxidation during exercise. *Am J Physiol*. 1997;273(4 Pt 1):E768-75.

41. Horowitz JF, Mora-Rodriguez R, Byerley LO, Coyle EF. Substrate metabolism when subjects are fed carbohydrate during exercise. *Am J Physiol.* 1999;276(5 Pt 1):E828-35.
42. Spriet LL. Regulation of skeletal muscle fat oxidation during exercise in humans. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(9):1477-84.
43. Schoenfeld BJ, Aragon AA, Wilborn CD, Krieger JW, Sonmez GT. Body composition changes associated with fasted versus non-fasted aerobic exercise. *J Int Soc Sports Nutr.* 2014;11(1):54.
44. Curi R, Paulo UdS, Lagranha CJ, Paulo UdS, G. Jr JR, Universidade Estadual Paulista 'Julio de Mesquita Filho' B, et al. The Krebs cycle as limiting factor for fatty acids utilization during aerobic exercise. *Arq Bras Endocrinol Metab.* 2003;47(2):135-43.
45. Achten J, Gleeson M, Jeukendrup AE. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34(1):92-7.
46. Spriet LL, Watt MJ. Regulatory mechanisms in the interaction between carbohydrate and lipid oxidation during exercise. *Acta Physiol Scand.* 2003;178(4):443-52.
47. Stisen AB, Stougaard O, Langfort J, Helge JW, Sahlin K, Madsen K. Maximal fat oxidation rates in endurance trained and untrained women. *Eur J Appl Physiol.* 2006;98(5):497-506.
48. Starritt EC, Howlett RA, Heigenhauser GJ, Spriet LL. Sensitivity of CPT I to malonyl-CoA in trained and untrained human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000;278(3):E462-8.

49. van Loon LJ, Greenhaff PL, Constantin-Teodosiu D, Saris WH, Wagenmakers AJ. The effects of increasing exercise intensity on muscle fuel utilisation in humans. *J Physiol.* 2001;536(Pt 1):295-304.
50. Marangon AFC, Welker AF. Otimizando a perda de gordura corporal durante os exercícios. *Univ Ciênc Saúde.* 2010;1(2):363-76. DOI: 10.5102/ucs.v1i2.518. 1. 2010.