

## METABOLISMO ENERGÉTICO DA CÉLULA MUSCULAR CARDÍACA

Lúcio Botas

Instituto de Bioquímica, Fac. Medicina de Lisboa

### RESUMO

O coração saudável depende apenas da produção aeróbica do ATP (na mitocôndria) para o fornecimento de energia ao aparelho contráctil através da oxidação de diferentes substratos no ciclo do Krebs (desidrogenação de intermediários do ciclo do ácido cítrico, requerendo,  $\text{NAD}^+$ ). Aqui, além da descarga de  $\text{CO}_2$  e conseqüente transporte do  $\text{H}^+$  e seus electrões através da cadeia respiratória (resultando consumo do  $\text{O}_2$  e produção de  $\text{H}_2\text{O}$ ), ocorre fosforilação oxidativa na qual o fosfato inorgânico se combina com ADP para formar ATP. No miocárdio, fora do período pós-prandial o substrato predominante para a síntese de ATP é representado pelos ácidos gordos livres (AGL). A glicose sanguínea é utilizada preferencialmente no período pós-prandial. Durante o esforço físico, a produção acelerada do lactato a nível dos músculos periféricos, tornam este substrato o metabolito preferencialmente utilizado pelo coração no indivíduo normal, não treinado. A captação miocárdica da maior parte dos substratos energéticos está directamente relacionada com a respectiva concentração arterial e com o fluxo coronário. A oxidação dos AGL catalisada pela carnitina (que no músculo cardíaco atinge valores particularmente elevados) origina grandes quantidades do citrato e ATP que vão deprimir a utilização da glicose por inibirem a fosfofrutocinase (enzima chave da glicólise). Por outro lado, o excesso do acetil-CoA e  $\text{NADH}_2$  resultantes da oxidação dos AGL, vão “desviar” CoA e inibir a desidrogenase pirúvica impedindo a “entrada” do ácido pirúvico no ciclo de Krebs, contribuindo também para limitar a glicólise. O miocárdio mantém valores de glicogénio mínimos e praticamente constantes (0,4-0,6% do peso do tecido fresco) pelo que em condições normais este substrato desempenha papel irrisório na produção de energia (excepto em situações de esforço extremo nos quais a fosforilase é activada devido a grande aumento de AMPc). Várias hormonas intervêm no metabolismo energético do miocárdio.

Palavras-chave: Miocárdio, ciclo do Krebs, carnitina, ácidos gordos livres

A insulina aumenta a captação de glicose. No esforço, a sua secreção diminui sem descer a níveis que bloqueiem o normal aumento de captação de glicose nesta fase. A descida de secreção de insulina origina aumento dos AGL disponíveis, por aumento da lipólise a partir do tecido adiposo e ainda aumento da glicogénese no fígado, estas acções são reforçadas pela acção conjugada da glicagina e da hormona do crescimento. As catecolaminas estimulam a glicólise (provável efeito sobre a fosfofrutocinase) e a glicogenólise (estimulando a activação da fosforilase), aumentando também a lipólise. Todas estas acções das catecolaminas são potenciadas no esforço.

O miocárdio é um tecido com necessidades energéticas muito grandes, consentâneas com o tipo de actividade que realiza. O adenosinotriphosphato (ATP) constitui a fonte de energia imediata que a célula cardíaca, tal como a grande maioria das células do organismo, utiliza, através da sua hidrólise, para a realização do trabalho que tem que executar (no coração, predominantemente a função de bomba impulsadora da corrente sanguínea) (1-7). Deste modo, o ATP é essencial para assegurar o funcionamento das proteínas contrácteis, bem como para outro tipo de actividade, fundamental no miocárdio, e que se prende com a manutenção da homeostasia iónica do interior da célula. No miocárdio existem vários mecanismos envolvendo enzimas consumidoras de ATP (ATP-ases) cuja tarefa consiste em assegurar a manutenção de gradientes electroquímicos adequados às trocas de sódio, potássio e hidrogénios, através do sarcolema (2, 5, 8). Por outro lado contribuem também para o transporte de cálcio, quer dentro da própria célula (movimentando-se dos seus depósitos até ao local de acção) quer no sentido do exterior, de forma a manter no interior apenas a quantidade de cálcio indispensável a actividade das proteínas contrácteis (8, 9).

A extrema dependência do miocárdio em relação aos teores de ATP e, principalmente, a "biodisponibilidade" deste metabolito, condiciona a tipo de metabolismo energético que este tecido apresenta, a qual assenta numa avidéz absoluta para o oxigénio (1 -8). O miocárdio é o maior consumidor de oxigénio por grama de tecido, donde resulta uma extracção máxima a partir do sangue arterial que pode rondar os 75%, mesmo em situações basais (saturação do sangue do seio coronário é cerca de 25%) (10).

A extracção de oxigénio pelo miocárdio não pode ser significativamente alterada, mesmo em situações de maior necessidade energética pelo que o coração tem de se socorrer de outros mecanismos que levem ao aumento do fornecimento de oxigénio (10). A dilatação da árvore coronária, com aumentos proporcionais do fluxo sanguíneo regional, é o mecanismo mais eficaz que o coração utiliza para aumentar o rendimento energético, uma vez que não só obtém maior fornecimento de oxigénio mas também de substratos utilizáveis para a produção de ATP (10).

O aumento do fluxo coronário, por utilização da reserva coronária, é condicionado pela acção de intermediários químicos entre os quais se salienta a adenosina, a qual produzida no interior da célula, junto do aparelho contráctil, atravessa o sarcolema e contacta a rede vascular, diminuindo deste modo a "pool" de nucleótidos disponíveis no interior da célula (10-12). Este facto, em condições fisiológicas é largamente compensado pelo aumento significativo do rendimento energético conseguida pelo maior aporte de oxigénio e substratos metabolizáveis.

O miocárdio está bem adaptado ao metabolismo aeróbio, possuindo estruturas adequadas à fixação e utilização do oxigénio, com elevado rendimento. A mioglobina é uma das estruturas mais eficiente para este tipo de objectivo. Existindo em grande abundância no citoplasma da célula miocárdica (1,4mg/g de miocárdio) esta hemoproteína tem uma capacidade de fixação do

oxigénio superior à da hemoglobina, apresentando uma curva de dissociação do oxigénio, fortemente desviada para a esquerda em relação a hemoglobina, traduzindo a sua maior “avidez” para o oxigénio, evidente principalmente para pressões parciais baixas deste elemento (3, 13). Por outro lado, existem, dispersas pelo citoplasma, numerosas mitocôndrias, ocupando no seu conjunto cerca de 35% do volume total de células, sendo curiosa a relação íntima existente entre estas e o aparelho contráctil, principal “cliente” do ATP produzido naqueles arganelos (3, 14).

A produção aeróbia do ATP, ocorre na mitocôndria através da oxidação de vários substratos sequenciados e interdependentes, no ciclo de Krebs, que se inicia pela condensação da acetil-CoA com a oxaloacetato, originando citrato (3, 14, 15). Este intermediário metabólico e os seus derivados imediatos são submetidos a acção sucessiva de várias enzimas, predominantemente desidrogenases, libertando dois “resíduos” de carbono e correspondentes átomos de hidrogénio, estes provenientes principalmente da oxidação das coenzimas nicotínicas e flavínicas (NADH e FADH<sub>2</sub>) (14, 16). O transporte dos átomos de hidrogénio e respectivos electrões, através das cadeias de oxidação-redução, constituídas por flavoproteínas e citocromos, realiza-se com consumo de oxigénio e formação final de água (14-16). A execução destas reacções sucessivas de oxidação dos átomos de hidrogénio liberta a energia neles contida (ou no seu electrão) permitindo que se criem condições locais para que a adenosinodifosfato (ADP) se ligue ao fosfato inorgânico, regenerando o ATP consumido (14-16).

Este processo, resumidamente descrito, é conhecido, por fosforilação oxidativa, constituindo-se na “pedra de toque” de toda a via aeróbia do metabolismo energético. Também a adenosinomonofosfato (AMP) e o ácido adenílico se podem comportar como “aceitadores de potencial energético” que lhes permite fixar iões de fosfato originando ATP ou outros nucleótidos que lhe fiquem próximos na hierarquia energética (3).

O coração, tal coma outros órgãos com necessidades energéticas elevadas (cérebro e músculo estriado) contém, no citoplasma das suas células, uma substância de elevada “potencial energético”, a fosfocreatina, a qual, contrariamente ao ATP, não se constitui como fonte de energia para as actividades celulares (15-16). No entanto, graças à actividade de uma enzima específica (a creatinafosfocinase) ajuda a manter estável a concentração de ATP quando este está a ser utilizado em larga escala (actividade contráctil intensa), catalisando a transferência de um grupo fosfato para o ADP (15, 16).

No coração, a fosfocreatina parece funcionar também como um sistema de vaivém, para transferir a energia do ATP formado na mitocôndria, a qual tem dificuldade em atravessar a membrana mitocondrial para o citoplasma, onde é utilizado no aparelho contráctil (miofibrilhas). Deste modo, o ATP consumido na actividade contráctil (no citoplasma) é rapidamente repostado pela fosfocreatina. A creatina que resta, difunde até a superfície externa da membrana mitocondrial. Aí existe uma variedade própria da creatinafosfocinase que, ligada a uma translocase específica (para nucleótidos adenílicos), transfere um grupo fosfato do ATP intramitocondrial, para se ligar à creatina, regenerando a fosfocreatina consumida (17).

A reposição dos teores de fosfocreatina do citoplasma é um mecanismo fundamental uma vez que torna disponível este metabolito para assegurar os elevados níveis citoplásmicos de ATP necessário para o funcionamento do aparelho contráctil. O ADP resultante da transferência do grupo fosfato através da membrana mitocondrial para a refosforilação da creatina é por sua vez rapidamente refosforilado na cadeia respiratória (15-17).

O miocárdio é um tecido com poucas exigências sob o ponto de vista metabólico, podendo virtualmente, recorrer a substratos das mais diversas origens, para a produção de energia (1-7). No entanto, são preferencialmente utilizadas os ácidos gordos livres (AGL), a

glicose e o lactato, consoante a intensidade da actividade muscular e a relação com o período de ingestão de alimentos (1-7).

A glicose é utilizada, como substrato principal, no período pós-prandial, quando os seus níveis séricos são elevados. Após este período os AGL constituem o substrato energético por excelência, posição que ocupam durante a maior parte das 24 horas (1-7).

Em períodos de grande actividade física, à medida que o ácido láctico começa a ser produzido nos músculos em actividade, o coração começa a utilizá-lo como substrato energético preferencial (1-7).

A razão de ser destas preferências de ocasião prende-se com a capacidade de extracção destas substâncias, a partir do sangue arterial, pelo miocárdio, o qual se relaciona com os níveis séricos e com o limiar de extracção para cada um deles (1-7).

A capacidade de o miocárdio utilizar preferencialmente as AGL durante a maior parte das 24 horas, relaciona-se com uma “nuance” da via glicolítica, própria deste tecido. No miocárdio, a metabolização da glicose até piruvato não “fornece” directamente o ciclo de Krebs, uma vez que o piruvato, por ausência da carboxilase neste tecido, não passa directamente a oxaloacetato (16). Assim, para posterior oxidação no ciclo de Krebs, o piruvato proveniente da glicólise, tem de se conjugar com a coenzima A (CoA), para originar acetil-CoA. Como a quantidade de moléculas de CoA não é ilimitada e estas são essencialmente utilizadas na degradação dos AGL, através da  $\beta$ -oxidação, a quantidade de CoA disponível para facilitar a “entrada” do piruvato no ciclo tricarboxílico, fica diminuída e a glicólise diminui de intensidade (1, 16, 18, 19).

Existem também outros factores limitativos da glicólise no músculo cardíaco. A actividade “exuberante” da  $\beta$ -oxidação dos AGL, que permite a entrada destes nas mitocôndrias e a incorporação de grandes quantidades de acetil-CoA no ciclo de Krebs, leva à produção de elevada número de moléculas de citrato que vão inibir uma enzima fundamental da via glicolítica - a fosfofrutocinase, a qual catalisa a passagem da frutose-6-fosfato a frutose 1,6-difosfato (3, 16, 18, 19). Por outro lado, o elevado número de moléculas de ATP produzidas através da metabolização aeróbia dos AGL, tem também uma função inibidora semelhante à do citrato, inibindo a fosfofrutocinase e a fosforilase do glicogénio, enzima reguladora da glicogenólise. A inibição desta última enzima, perturba indirectamente a glicólise uma vez que promove a diminuição da glicose-1-fosfato (G-1-P) proveniente da desagregação da grande molécula de glicogénio, diminuindo, por consequência, a quantidade de glicose-6-fosfato (G-6-P) (obtida por interconversão do G-1-2) disponível para a glicólise. Por outro lado, o excesso de produção do acetil-CoA, proveniente da  $\beta$ -oxidação dos AGL e o correspondente excesso de produção de NADH, levam também a inibição da desidrogenase pirúvica, complexa enzimática responsável pela passagem de piruvato a acetil-CoA (7, 18, 19). A inibição conjugada destas diferentes enzimas e grupos enzimáticas cootribui, decisivamente, para a interrupção do fluxo de moléculas de glicose, interrompendo a sua utilização como substrato energético (7, 18, 19).

A estimulação ou inibição das diferentes vias metabólicas, relaciona-se, quase sempre, com o mesmo tipo de acção sobre as enzimas dominantes dessas mesmas vias.

Em resumo, podemos dizer que no miocárdio a via glicolítica é estimulada pelo fosfato inorgânico, 5'-AMP, ADP e frutose-1,6-difosfato, substâncias que estão acumuladas no miocárdio em hipoxia, enquanto os metabolitos presentes quando o coração está bem oxigenado (citrato e ATP), inibem a actividade das enzimas atrás citadas, bloqueando a via glicolítica (7).

Em situações de aumento do consumo de oxigénio e ATP, como sejam as que resultam dos aumentos da pressão intraventricular, da frequência cardíaca e das catecolaminas circulantes, se os níveis plasmáticos dos AGL estiverem diminuídos, aumenta a captação da glicose, bem

como a sua oxidação. A insulina tem uma acção semelhante estimulando também a captação da glicose pelo miocárdio. (7).

Na captação e metabolização da glicose estão envolvidas diferentes etapas, cada uma delas com os seus componentes inibidores e estimuladores específicas. A 1ª etapa consiste no transporte, através da membrana celular, que envolve um sistema transportador contra gradiente de concentração.

Na ligação aos receptores da membrana celular existe competição entre as diferentes tipos de açúcares, com ligações de cada uma das substâncias a uma enzima específica (7, 20). Quando diminui a insulina, a concentração intracelular da glicose diminui também e o transporte através da membrana celular (sarcolema) é o factor limitativo major para a utilização da glicose. Por outro lado, se a insulina aumentar é o passo seguinte (fosforilação) que vai determinar a taxa de utilização da glicose (7, 20). O transporte da glicose no coração, em condições fisiológicas, é inibido pela oxidação dos AGL. Nos diabéticos a diminuição da sensibilidade insulina no miocárdio, resulta de um aumento plasmático e tecidual dos AGL (7, 20).

O aumento do trabalho cardíaco acelera o transporte da glicose tanto na presença como na ausência da insulina, mas não na presença de grandes quantidades de AGL (7, 16, 21).

A fosforilação da glicose (2ª etapa na via metabólica desta substância) é regulada pela hexocinase, enzima que consome ATP, transformando a glicose em G-6-P, a qual irá exercer depois inibição sobre a hexocinase (20).

Prosseguindo na via metabólica da glicose encontramos um dos factores reguladores mais importantes, a fosfofrutocinase, que catalisa a passagem da frutose-6-fosfato a frutose-1,6-difosfato (7, 22, 23). Esta enzima, que sofre a inibição do ATP e do citrato, controla não só a glicólise mas também, indirectamente, o metabolismo do glicogénio, sendo também inibida pelo pH ácido (7). Se a actividade da fosfofrutocinase for estimulada, a regulação da via glicolítica passa para a desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato tal como acontece na hipoxia e na isquémia, bem como em situações de aerobiose, mas com grandes aumentos da actividade cardíaca (7, 21-23). A actividade da desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato é inibida pelo aumento do NADH, da concentração hidrogeniónica e do lactato, sendo o 1º factor o mais importante (7, 21-23).

O produto final da via glicolítica é a piruvato que no coração pode ter três destinos. O principal consiste na passagem a acetil-CoA, etapa que ocorre nas mitocôndrias, por acção de um grupo enzimático habitualmente designado desidrogenase pirúvica (na realidade um conjunto de três enzimas, desidrogenase pirúvica, dehidrolipoiltransacetilase e dehidrolipoildesidrogenase) que, por descarboxilação oxidativa, catalisa a formação de acetil-CoA que pode entrar directamente no ciclo de Krebs. Esta via pode diminuir a sua intensidade por acção da  $\beta$ -oxidação dos AGL, que ao aumentar a concentração de acetil-CoA e NADH, inibe o complexo de desidrogenase pirúvica por activar a respectiva cinase (fosforilação) (7, 20, 22).

Nestas circunstancias dois outros caminhos se apresentam ao piruvato - a passagem a lactato (por acção da desidrogenase láctica) ou a passagem a alanina (por acção da alanina amino transferase). Estas vias alternativas dependem dos níveis de NAD, NADH,  $\alpha$ -cetogluturato e glutamato no citoplasma. Na hipóxia a piruvato e a NADH aumentam levando a aumento de concentração do lactato e da alanina no seio coronário (7, 20, 22).

Uma das vias que a glicose pode seguir no miocárdio é a da constituição de moléculas de glicogénio. O coração mantém um conteúdo desta substância mais ou menos constante, correspondendo a cerca de 0.4 a 0,6% do peso do tecido fresco, existindo a maior parte sob a forma de grânulos no sarcoplasma (3).

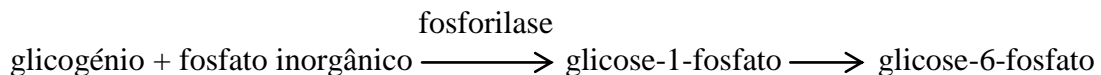
O glicogénio constitui-se como uma fonte potencial de material energético capaz de assegurar, só por si, o funcionamento do coração durante cerca de 4 minutos, facto que só ocorre em condições externas (isquémia) (1, 3).

O único precursor do glicogénio no miocárdio é a glicose, devido à ausência de frutose-1,6-difosfatase neste tecido (22, 24).



Na síntese do glicogénio influem a sintetase do glicogénio (uridino difosfato glicose glicogénio transferase) que necessita uridino trifosfato (LJIR) como fornecedor de energia (contrariamente ao habitual ATP), além de uma enzima ramificante da molécula (amilo-1,4-1.6-transglicosidade) (3, 7, 20).

Na glicogenólise intervém a fosforilase e uma enzima desramificante (amilo-1,6-glicosidade) que remove por hidrólise unidades de glicose (7, 20).



Ambas as enzimas principais do metabolismo do glicogénio, sintetase e fosforilase, se encontram em formas activas e não activas, dependendo a sua actividade e interconversão de controlo hormonal (adrenalina, noradrenalina, insulina, glicagina, hormonas tiroideias) e não hormonal (glicose-6-fosfato, ATP, AMPc, 5'AMP, glicogénio) (1, 7, 20).

A síntese do glicogénio aumenta quando se eleva a concentração de glicose na circulação, como acontece no período pós-prandial imediato. Nesta fase a estimulação exercida pela insulina e a glicose-6-fosfato são determinantes para o crescimento da molécula de glicogénio, principalmente à custa das ramificações mais exteriores. No jejum, a síntese do glicogénio diminui drasticamente e nem a insulina pode exercer a sua função estimulante. Convém contudo referir que no estado pós-prandial imediato, o conteúdo do glicogénio do miocárdio diminui em relação ao jejum porque apesar da síntese estar estimulada, a degradação também está aumentada (o “turnover” do glicogénio está acelerado em relação ao jejum), uma vez que nesta fase a glicose é o principal substrato energético do miocárdio. No jejum, apesar de não haver síntese, a glicogenólise também não é significativa. O mesmo se passa na diabetes na qual o aumento do conteúdo de glicogénio do miocárdio fica a dever-se à inibição da glicólise e à economia do consumo de glicogénio provocadas pelo aumento da concentração de AGL e pela metabolização preferencial dos corpos cetónicos pelo miocárdio. Este aumento na concentração do glicogénio parece depender, também em parte, da acção da hormona do crescimento que estimula a mobilização dos AGL a partir dos seus depósitos. A glicogenólise diminui também no esforço, devido à metabolização preferencial pelo miocárdio, do lactato produzido nos músculos dos membros em actividade (1, 3, 7, 20).

A sintetase do glicogénio existe em duas formas, sendo uma independente do precursor do glicogénio (a G-6-P) e que se denomina a sintetase I, e outra que requer a presença de G-6-P para que possa actuar, a sintetase D. A maior parte da enzima encontra-se na forma D, necessitando ATP para a interconversão a partir da forma I, uma vez que a sintetase D existe na forma fosforilada. Neste processo intervém uma ATP-ase dependente do Mg e que é estimulada pela

AMPc e por uma cinase da sintetase I. Nas situações em que há diminuição marcada do ATP (hipoxia) há uma rápida interconversão da sintetase D em I (4, 24).

A fosforilase existe também sob duas formas sendo uma activa na ausência de 5'AMP (fosforilase a) e outra activa só na presença de 5'AMP (fosforilase b). As fosforilases distribuem-se no coração do mesmo modo que o glicogénio aumentando do epicárdio para o endocárdio, correspondendo a sua maior predominância a zonas com menor índice de metabolismo oxidativo. O tecido ventricular possui maiores quantidades de fosforilases que a auricular (1, 4, 24).

A fosforilase é dimerizada e fosforilada por acção de uma cinase específica (cinase da fosforilase b) a qual é activada pelo AMPc, transformando-se na forma mais activa, a fosforilase a. Esta interconversão é importante na resposta do miocárdio à isquémia e parece ser influenciada pela libertação de catecolaminas endógenas, que estimulam a produção de AMPc. Este, assim que é produzido, é rapidamente hidrolisado pelas fosfodiesterases, existentes no miocárdio, impedindo que a sua acumulação iniba a adenilciclase, responsável pela renovação dos teores de AMPc (4, 24).

A fosforilase b é estimulada pela presença de 5'AMP, sendo a sua actividade especialmente importante nas situações de anoxia mantida, aumentando a afinidade para os seus substratos, glicogénio e fosfato inorgânico (4, 24).

Existe uma semelhança notável nas variações das concentrações de nucleótidos de adenosina que na anoxia e no esforço intenso estimulam, quer a glicólise quer a glicogenólise, através da acção sobre as suas enzimas chave, respectivamente a fosfofrutocinase e a fosforilase. Assim, a diminuição de ATP e o aumento de ADP, AMP e fosfato inorgânico, actuam sinergicamente sobre as duas enzimas sugerindo um mecanismo de controlo integrado para a actividade da glicólise e da glicogenólise (7, 20).

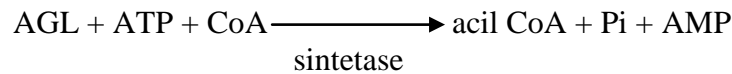
Os AGL são o substrato energético por excelência do miocárdio, durante grande parte do dia (1-7). O coração capta os AGL a partir da circulação, dependendo este processo da concentração daqueles metabolitos no sangue arterial, do comprimento da cadeia, do grau de instauração dos AGL e do grau de actividade do coração. O limiar de captação dos AGL é de 0,35mM no sangue arterial, abaixo do qual não há captação pelo coração (1-7).

Os AGL instaurados (ex<sup>o</sup> oleato) são preferencialmente utilizados sendo captados e oxidados mais rapidamente que os saturados (estearatos) e os di-insaturados (linoleatos). Nos saturados a captação diminui quando aumenta a extensão da cadeia (1-7).

Os ácidos gordos circulam no sangue de forma livre, ligados à albumina ou como triglicéridos nos quilomicra e lipoproteínas. O miocárdio utiliza preferencialmente os AGL podendo também hidrolisar os triglicéridos da circulação ou endógenos (no esforço intenso ou jejum prolongado), uma vez que possui elevada concentração de lipoproteinolipases no espaço intersticial e na membrana celular (sarcolema). Após refeição rica em gorduras, o miocárdio pode extrair AGL dos quilomicra (1-7).

O conteúdo plasmático em AGL depende da dieta e da mobilização destes a partir do fígado e do tecido adiposo, fenómeno que é regido por controlo hormonal. As catecolaminas aumentam os AGL no sangue arterial e condicionam maior extracção pelo miocárdio. A insulina diminui os AGL e diminui a captação destes pelo miocárdio. O processo de captação não necessita de energia e funciona obedecendo a gradientes de concentração entre o plasma e o interior da célula. Se houver consumo aumentado (oxidação) no interior da célula, por aumento das necessidades energéticas, aumenta a captação dos AGL. É o que acontece, por exemplo, quando aumenta a pressão intraventricular (1-7).

O primeiro passo na cadeia metabólica dos AGL é a sua conversão em acil-CoA de longa cadeia (activação) (7).



A sintetase do acil-CoA existe no miocárdio na parte externa da membrana mitocondrial e tem a sua acção regulada pela concentração de CoA no citoplasma, pela relação ATP/AMP e pela concentração de fosfato inorgânico (7, 14-16).

Após a activação, o acil-CoA pode ter dois destinos. Uma parte pode permanecer no citoplasma e contribuir para a síntese de lípidos complexos e a outra pode atravessar a membrana mitocondrial e ser oxidada. Este último é o destino mais frequente no miocárdio, para a grande maioria das moléculas de acil-CoA resultantes dos AGL (7, 14-16)

Para a fase seguinte (oxidação) o grupo acilo precisa de ser removido do exterior da membrana mitocondrial para a interior da mitocôndria. Para tal liberta-se do CoA e liga-se à carnitina (por acção da carnitina acil-CoA transferase I) formando um complexo acil-carnitina (7, 16, 22). A carnitina é um constituinte normal da grande maioria dos tecidos, sendo sintetizada principalmente no fígado e apresentando no coração os seus níveis mais elevados apesar de não ser aí sintetizada (25). A quantidade de carnitina disponível para formar acil-carnitina é que vai decidir do destino do acil-CoA. Se existir em quantidade adequada o acil-CoA seguirá na via da oxidação. Se faltar vai formar triglicéridos (7).

O complexo acilcarnitina uma vez formado vai atravessar a membrana mitocondrial por acção de uma transferase (palmitilcarnitina transferase I) situada na porção exterior da membrana mitocondrial, trocando com carnitina livre que se encontra no interior da mitocôndria e que assim volta ao citoplasma, ficando de novo disponível para formar mais acilcarnitina. Depois de chegar ao interior da mitocôndria o grupo acilo liberta-se da carnitina e liga-se novamente ao COA (CoASH) existente no local, por acção de outra transferase (palmitilcarnitinatransferase II) situada na face interior da membrana mitocondrial, reconstruindo o acilo-CoA que entra de seguida na cadeia da  $\beta$ -oxidação onde vai “sofrer” as transformações necessárias até chegar a acetil-CoA que fica pronto a fornecer o ciclo de Krebs (7, 14-16, 22).

Quando o ventrículo desenvolve pressão elevada, durante a sístole, a oxidação dos AGL acelera-se e os níveis de acil-carnitina aumentam em relação aos de acil-CoA que diminuem. Nestas condições a  $\beta$ -oxidação remove rapidamente o acil-CoA a uma velocidade superior à da que o sistema de transporte acil-carnitina ou a transferase da porção interna da membrana mitocondrial pode funcionar para renovar a reserva (7).

No esforço intenso pode haver inibição das transferases do interior da mitocôndria (principalmente da transferase I da carnitina palmitil CoA) pelo lactato produzido nos músculos esqueléticos levando à interrupção da  $\beta$ -oxidação, assumindo nesta fase o lactato, o papel de substrato energético principal. Por acção da desidrogenase láctica o lactato pode retornar a piruvato o qual segue depois a via metabólica já descrita (7).

A inibição produzida pela lactato (ou outro metabolito alterado pelo lactato) sobre a transferase, demonstra que esta enzima pode ser sensível não só a variações de substrato e seus produtos mas também à acção de outros agentes. Como a malonil CoA inibe a transferase e o miocárdio possui malonil CoA, pensa-se que a inibição da transferase pelo lactato, possa ser mediado pelo malonil CoA (7, 26, 27).



A captação e activação dos AGL são limitadas pela concentração intracelular destes, bem como pela diminuição da disponibilidade do CoA e da carnitina no citoplasma (16). A velocidade da  $\beta$ -oxidação é regulada pela capacidade de reoxidação do NADH e FADH<sub>2</sub> pela disponibilidade de CoASH na mitocondria e também pela possibilidade de oxidação do acetil-CoA pelo ciclo do ácido cítrico (7, 16).

Todo a acetil-CoA produzido na  $\beta$ -oxidação deverá, para que a sua capacidade total energética seja aproveitada, ser “absorvido” pelo ciclo de Krebs, tendo como única alternativa a passagem do grupo acetilo para fora da mitocôndria, ligado à carnitina (acetilcarnitina), regenerando acetil-CoA e carnitina (por acção conjugada de duas enzimas a carnitina acetil transferase e a carnitina acetilcarnitina transferase) (7, 15, 16, 22). Quando no citoplasma se acumulam a acetil-CoA e acetilcarnitina diminuem os níveis de CoA e carnitina disponíveis para transporte intramitocondrial do acil-CoA. Neste caso a  $\beta$ -oxidação diminui e aumenta o teor de AGL no miocárdio. Se aumentar o trabalho cardíaco (esforço) o fluxo através do ciclo do ácido cítrico aumenta também, permitindo o “escoamento” de mais moléculas de acetil-CoA e assim os níveis citoplásmicos de acetil-CoA e acetilcarnitina também diminuem e a  $\beta$ -oxidação é estimulada (7).

Conforme já atrás referimos o miocárdio não sintetiza carnitina. A regulação dos níveis desta substância no miocárdio é realizada por alterações na sua concentração sérica e pela velocidade de transporte para dentro das células (7).

O CoA é sintetizado pelo coração a partir do ácido pantoténico captado do sangue (controlo realizado pelo pantotenatocinase) (28).

A manutenção do funcionamento adequado do ciclo do ácido cítrico e da  $\beta$ -oxidação pressupõe a reoxidação constante do NADH formado em grande quantidade nestas duas etapas decisivas para a produção de energia. Como o NADH formado no citoplasma (glicólise) não pode atravessar directamente a membrana mitocondrial (nos mamíferos), são utilizados sistemas indirectos de transporte em vaivém que no coração assumem importância vital. Existem vários destes sistemas sendo predominante no coração o que utiliza o ciclo malato-aspartato. Neste ciclo, o oxaloacetato do citoplasma é reduzido a malato que entra na mitocôndria, onde é reoxidado a oxaloacetato com libertação de NADH que é reoxidado na cadeia de oxidação-redução (cadeia respiratória). A saída de oxaloacetato da mitocôndria é cineticamente limitada, por isso a oxaloacetato é preferencialmente transaminada com o glutamato originando aspartato e  $\beta$ -cetoglutarato. Este último pode sair da mitocôndria por troca com o malato, enquanto a saída do aspartato se equilibra com a entrada de glutamato para completar o ciclo (7, 16).

Outro dos sistemas de vaivém utilizados na reoxidação do NADH é a que é realizado pela interconversão dos corpos cetónicos acetoacetato/  $\beta$ -hidroxibutirato (29, 30). Estas substâncias, no coração, além de contribuírem para a reoxidação do NADH, podem actuar como substratos energéticos (1). Assim, o  $\beta$ -hidroxibutirato quando é oxidado por uma desidrogenase dependente do NAD, converte-se em acetoacetato (3). Este é por sua vez convertido em acetoacetil-CoA que pode ser cindido até acetil-CoA, o qual poderá ser oxidado no ciclo do ácido cítrico (3). Durante o jejum prolongado ou cetose diabética, pode haver uma preferência especial do miocárdio pela metabolização dos corpos cetónicos como substrato energético, provocando inibição do metabolismo da glicose e aumento do glicogénio cardíaco (3).

A metabolização de grandes quantidades de acetoacetato inibe a oxidação dos AGL, do lactato e do piruvato, possivelmente por competir com o CoA disponível (31).

## CONCLUSÕES

O miocárdio é um tecido com elevadas necessidades energéticas, encontrando-se altamente apetrechada para a via aeróbia de produção de energia.

A fosfocreatina assume no miocárdio um papel fundamental na manutenção dos teores de ATP necessários ao funcionamento do aparelho contráctil, quer por fornecer rapidamente um grupo fosfato ao ADP citoplásmico que resulta da hidrólise do ATP pelas proteínas contrácteis, quer porque funciona como mecanismo de vaivém, permitindo a passagem do ATP mitocondrial para o citoplasma.

Os substratos metabólicos utilizados são várias, explicando-se a preferência pelos AGL durante a maior parte das 24 horas, pelo facto do miocárdio não possuir carboxilase pirúvica impedindo desta forma o piruvato de passar directamente a oxaloacetato, ficando dependente da sua ligação ao CoA para formar acetil-CoA, impedindo assim a glicose de se tornar o metabolito energético preferencial, tal como acontece na maioria de todos os tecidos.

A utilização de substratos alternativos aos AGL depende fundamentalmente da ingestão de alimentos, da actividade imposta ao coração e da acção de várias hormonas (insulina, glicagina e catecolaminas).

O glicogénio cardíaco constitui uma reserva de substrato energético utilizável apenas em situações de emergência, quando há compromisso isquémico.

A carnitina desempenha um papel chave na metabolização dos AGL pelo miocárdio, permitindo o acesso do grupo acilo ao interior da mitocôndria onde será oxidado na cadeia da  $\beta$ -oxidação.

A capacidade de oxidação do acetil-CoA no ciclo do ácido cítrico, a reoxidação do NADH e do FADH<sub>2</sub> e a disponibilidade do CoASH na mitocôndria são os factores mais importantes da regulação da velocidade da oxidação dos AGL.

A reoxidação constante do NADH, formado em grandes quantidades no ciclo do ácido cítrico e na  $\beta$ -oxidação dos AGL é um mecanismo fundamental para a manutenção da via oxidativa do metabolismo energético do miocárdio. O NADH formado no citoplasma (glicólise) não pode atravessar directamente a membrana mitocondrial. Por isso são utilizados sistemas indirectos de transporte em vaivém (malato/asparato, acetoacetato/ $\beta$ -hidroxibutirato).

## SUMMARY

A healthy heart is exclusively dependent on aerobic production of AIR (in the mitochondrion) for the supply of energy to its contractile apparatus, by means of the oxidation of different Krebs' cycle substrates (dehydrogenation of citric acid cycle intermediate metabolites requiring NAD<sup>+</sup>). Thus, in addition to CO<sub>2</sub> discharge and consequent H<sup>+</sup> and electron transport through the respiratory chain (resulting in O<sub>2</sub> consumption and H<sub>2</sub>O production), there is also an oxidative phosphorylation where inorganic phosphate combines with ADP to yield ATP. In the myocardium, outside postprandial periods, the predominant substrates for AIR production are free fatty acids (FFA). Blood glucose is preferentially used in postprandial situations. During physical exertion, the increased production of lactic acid in peripheral muscles favours its utilization by heart muscle cells in the normal untrained individual. Myocardial uptake of most energetic substrates is directly proportional to their respective arterial

concentration and coronary blood flow. The heart is particularly rich in carnitin and carnitin-catalysed oxidation of FFA originates a great amount of citric acid and ATP, which inhibits glucose utilization via inhibition of phosphofructokinase (a key enzyme of glycolysis). On the other hand, excess of acetyl-CoA and NADH<sub>2</sub> (resulting from FFA oxidation) has a “pooling” effect upon CoA residues, and inhibits pyruvate dehydrogenase, thus causing an impaired transport of pyruvic acid into the Krebs’ cycle, thereby contributing to a limitation of glycolysis. Glycogen in the heart is minimal and for practical purposes its level is almost constant (0.4 to 0.6% for fresh tissue weight); consequently this substrate normally plays a negligible role in energy production (except in situations of extreme and strenuous exertion, where its phosphorylase is activated by great elevations of cAMP levels). Several hormones take part in the energetic metabolism of the myocardium. Insulin increases glucose uptake. During physical exercise, insulin secretion is impaired, although it never reaches such low values, as to block the physiological increase in glucose uptake. In this setting, a lower insulin secretion originates an elevation of available FFA, by means of an increased lipolysis in adipose tissue and additionally an increased glycogenesis in the liver. These metabolic shifts are reinforced by the concerted actions of glucagon and growth hormone. Catecholamines stimulate glycolysis (probable effect upon phosphofructokinase), glycogenolysis (via phosphorylase activation), and lipolysis. All these described actions of catecholamines are potentiated in exertion states.

#### BIBLIOGRAFIA

1. OPIE LH. Metabolism of the heart in health and disease (parte I). *Am. Heart J.* 76:685-698,1968.
2. OPIE LH. Metabolism of the heart in health and disease (parte II). *Am Heart J.*, 77:100-122,1969.
3. SCHLANT RC. Metabolism of the heart. In *The Heart*, 4th Edition. U.W. Hurst, P. Bruce Logue, P.C. Schlant and N.K. Wenger (eds), McGraw-Hill Book Company, New York, 1978, p 107-118
4. NEELY JR, ROVETTO MH, and ORAM JF. Myocardial utilization of carbohydrate and lipids. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 15:289-329,1972.
5. MOMMAERTS WF. Current problems in myocardial metabolism. In *Symposium on myocardial metabolism*. E. Braunwald (ed). *Circul. Res.* 35 (suppl. III):III2-III7,1974.
6. DAVIES RE. Biochemical processes in cardiac function. In *the Myocardium: Failure and Infarction*. E. Braunwald (ed), HP Publishing Co Inc. New York, 1974, pp 29-35
7. MORGAN HE and NEELY JR. Metabolic regulation and myocardial function. In *the Heart*, 6th edition. J. Willis Hurst (ed), McGraw Hill Book Company, New York, 1986, p 85-100
8. ALLEN DG and ORCHAND CH. Myocardial contractile function during ischemia and hypoxia. *Circul. Res.* 60:153-168,1987.
9. CHEUNG JY, BONUENTRE JV, MALIS CD and LEAF A. Calcium and ischaemic injury. *New Eng. J. Med.* 314:1670-1676,1986.

10. RUBIO R. The role of adenosine in the regulation of coronary blood flow. *Circul. Res.* 47:807-813,1980.
11. RUBIO R. and BERNE RM. Release of adenosine by the normal myocardium in dogs and its relationship to the regulation of coronary resistance. *Circul. Res.* 25:407-415,1969.
12. BERNE RM, THOMPSON I, MILLER L, FOLEY H, WATKINSON P and RUBIO R. The effect of increases in cardiac oxygen need on adenosine formation and coronary blood flow in the steady state and during the cardiac cycle. In *Microcirculation of the Heart*. H. Tillmans, W. Kübler and H. Zebe (eds), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1982, p 39-48.
13. FORSTER RE. Oxygenation of the muscle cell. *Circul. Res.* 20 (suppl. 1):115-120, 1967
14. IDELL-WENGER JA, GROTYOHANN LW and NELLY JR. Coenzyme A and carnitine distributian in normal and ischaemic hearts. *J. Biol. Chem.* 253:4310-4318,1978
15. MELA-RIKER LM and BUKOSKI RD. Regulation of mitochondrial activity in cardiac cells. *Ann. Rev. Physiol.* 47:645-653,1985
16. WILLIAMSON JR. Mitochondrial function in the heart. *Ann. Rev. Physiol.* 41:485-506,1979
17. JACOBUS WE. Respiratory control and the integration of heart high energy phosphate metabolism by mitochondrial creatine kinase. *Ann. Rev. Physiol.* 47:707-725,1985
18. RANDLE PJ, ENGLAND PJ and DENTON RM. Control of the tricarboxylate cycle and its interactions with glycolysis during acetate utilization in rat heart. *Biochem. J.* 117:677-695,1970
19. EVANS JR, OPIE LH, and REYNOLD AE. Piruvate metabolism in the perfused rat heart. *Am. J. Physiol.* 205:971-976,1963
20. NEELY JR and MORGAN HE. Relationship between carbohydrate and lipid metabolism and energy balance of heart muscle. *Ann. Rev. Physiol.* 36:413-459,1974
21. NEELY JR, WHITMER KM and MOCHIZUKIS. Effects of mechanical activity and hormones on myocardial glucose and fatty acid utilization. *Circul. Res.* 38 (suppl. I):22-29,1976
22. VARY TC, REIBEL DK and NEELY JR. Control of energy metabolism of heart muscle. *Ann. Rev. Physiol.* 43:419-430,1981
23. OPIE LH and NEWSHOLME EA. The activities of fructose 1,6 diphosphate, phosphofructakinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle. *Biochem. J.* 103:391-398,1967
24. VILLAR-PALASI C and LARMER J. Glycogen metabolism and glycolytic enzymes. *Ann. Rev. Biochem.* 39:639-645,1970
25. HAIGLER HT and BROQUISI HP. Carnitine synthesis in rat tissue slices. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 56:676-681,1974.
26. BIELEFELD DR, VARY TC and NEELY JR. Site of inhibition of fatty acid oxidation by lactate and oxfenicine in cardiac musculue. *Fed. Proc.* 42:1258, 1983(abstract)
27. McGARRY JD, MILLS SE, LONG CS and FOSTER DW. Observations on the affinity for carnitine and malonyl-CoA sensitivity of carnitine palmitoyl-transferase I in animal and human tissues: demonstration of the presence of malonyl-CoA in non-hepatic tissues of the rat. *Biochem. J.* 214:21-28,1983
28. SMITH CM. The effect of metabolic state on incorporation of <sup>14</sup>C-pantothenate into CoA in rat liver and heart. *J. Nutr.* 108:863-873,1978

29. BOXER GE and DEVLIN TM. Pathways of intracellular hydrogen transport. *Science*, 134:1495-1501,1961
30. LENHINGER AL. *Biochemistry*, New York Worth Publishers, 1970, p 400-408
31. BOSSENGE E, WENDT VE, SCHOLLMAYER P, BLUNCHEN G, GUDBJARNOSON S and BING RJ. The effect of ketone bodies an cardiac metabolism. *Am. J. Physiol.* 208:162-168,1965