

Título del Proyecto de Investigación  
al que corresponde el Reporte Técnico:

Efecto agudo de la dieta y del ejercicio aeróbico sobre el metabolismo energético y la utilización de macronutrientes en personas sanas.

Tipo de financiamiento

Sin financiamiento

Fecha de Inicio: 01/05/2018  
Fecha de Término: 30/06/2019

Tipo de Reporte

Parcial

Final

Autor (es) del reporte técnico:

Dr. Arnulfo Ramos Jiménez

## TÍTULO DEL REPORTE TÉCNICO

Efecto agudo de la dieta y del ejercicio aeróbico sobre el metabolismo energético y la utilización de macronutrientes en personas sanas.

### Resumen del reporte técnico en español (máximo 250 palabras)

Dentro de los estudios consultados encontramos una estrecha relación entre la ingesta de energía a expensas de los carbohidratos y las probabilidades de padecer obesidad. Por lo que este trabajo tuvo como objetivo el evaluar el efecto de un alimento alto en carbohidratos y el ejercicio físico sobre la tasa metabólica en sujetos masculinos con obesidad.

En el proyecto participaron 11 adultos ( $28.09 \pm 7.53$  años) masculinos con obesidad (IMC  $34.17 \pm 3.76$  kg/m<sup>2</sup>), los cuales cumplieron con cuatro sesiones. Se realizó una medición de calorimetría indirecta al inicio del proyecto y la determinación de composición corporal. Mediante la prueba de ejercicio a la máxima oxidación de grasas y la prueba de esfuerzo máximo se obtuvieron los datos necesarios para elaborar una sesión de caminata en banda sin fin a la intensidad de máxima oxidación de grasas. Seguido a esto consumieron un alimento alto en carbohidratos en forma de batido y

finalmente se midieron los datos de la tasa metabólica basal de los últimos 15 minutos de las 3 horas posteriores.

El consumo del alimento alto en carbohidratos incrementó la oxidación de carbohidratos durante la segunda hora posterior al alimento, disminuyendo durante la tercera hora post alimento a valores similares a los registrados en la primera hora post alimento. Mientras que en la oxidación de lípidos se observó un efecto inverso. La proporción de carbohidratos oxidados fue de 6 veces por arriba la de las grasas.

El alimento propició que en la jerarquización de utilización de sustratos fueran los carbohidratos la fuente de energía predilecta. Comprobando que un consumo elevado de carbohidratos termina por disminuir la tasa de oxidación de lípidos, aun al combinarse con la realización de ejercicio a la intensidad de máxima oxidación de grasas.

### **Resumen del reporte técnico en inglés (máximo 250 palabras):**

In the studies consulted, we found a close relationship between energy intake at the expense of carbohydrates and the probability of obesity sufferers. Therefore, this work aimed to evaluate the effect of high-carbohydrate food and physical exercise on metabolic rate in obese male subjects. The project involved 11 obese male adults ( $28.09 \pm 7.53$  years) ( $BMI 34.17 \pm 3.76$  kg/m<sup>2</sup>) who completed four sessions. An indirect calorimetry measurement was performed at the beginning of the project, and body composition was determined. The necessary data were obtained through the exercise test at maximum fat oxidation and the maximum effort test to prepare a treadmill walking session at the intensity of maximum fat oxidation. After this, they consumed a high-carbohydrate food in the form of a shake, and finally, the data on the basal metabolic rate of the last 15 minutes of the following 3 hours were measured. Consumption of high-carbohydrate food increased carbohydrate oxidation during the second hour after the meal, decreasing during the third hour to values like those recorded in the first hour after the meal.

Meanwhile, in lipid oxidation, an inverse effect was observed. The proportion of oxidized carbohydrates was 6 times higher than that of fats. The food caused carbohydrates to be the preferred energy source in the substrate use hierarchy. Proving that high carbohydrate consumption decreases the lipid oxidation rate, even when combined with exercise at the intensity of maximum fat oxidation.

**Palabras clave:** Lipid oxidation, nutrition, Physical exercise.

**Usuarios potenciales (del proyecto de investigación)**

Deportistas

**Reconocimientos**

Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

.

## **1. Introducción**

Dentro de los múltiples estudios consultados que buscan, al igual que este proyecto, encontrar una respuesta certera sobre la relación de la ingesta de energía a expensas de los carbohidratos y las probabilidades de padecer obesidad, se pudieron encontrar resultados diversos. Esta variabilidad se puede comprender mejor si se toma en cuenta que los estudios difieren en las características de la población estudiada (raza, edad, género, etc.). De ahí la importancia de este proyecto, ya que permitirá obtener datos sobre la relación entre el consumo de carbohidratos y las cifras de obesidad registradas en la población, ayudando a disminuir este problema.

Una de las interrogantes sobre los carbohidratos ingeridos es la forma como se metabolizan posterior al ejercicio y cuál es la forma correcta de propiciar esta interacción para que la oxidación de grasas no se vea disminuida. Por lo que, en el

presente proyecto, una de las prioridades es conocer la manera en la que una dieta alta en carbohidratos, combinada con ejercicio, alteran la tasa metabólica y la utilización de este macronutriente.

Por lo anterior, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál es el efecto de un alimento alto en carbohidratos y el ejercicio físico sobre la tasa metabólica?

## **2. Planteamiento**

### **Antecedentes**

Para que exista un buen desarrollo de los componentes del peso corporal, es necesario que el organismo este en buenas condiciones de nutrición y salud. El desequilibrio entre el consumo de alimentos y los requerimientos energéticos bien sea por déficit o exceso, tiene consecuencias en la composición corporal.

Diversos estudios reportan diferencias en composición corporal, relacionadas con el tipo de alimentación. El sobrepeso y la obesidad se caracterizan por un acumulo excesivo de grasa corporal, como consecuencia de un ingreso calórico superior al metabolismo basal y el requerido por cualquier actividad física. Por el contrario, en estados de desnutrición las reservas tanto de masa corporal magra como de masa grasa están disminuidas (Vargas y Lancheros, 2011).

Al encontrarnos en estado de reposo la energía utilizada se deriva predominantemente de la oxidación de carbohidratos y grasas. La glucosa en sangre, los ácidos grasos libres en plasma, el glucógeno muscular y los triacilgliceroles intramusculares son importantes sustratos para la producción de energía en los músculos esqueléticos (Mul *et al.*, 2015).

El realizar actividad física que exceda el 65% del consumo máximo de O<sub>2</sub> (VO<sub>2</sub>max) se produce un cambio importante en la jerarquización de la contribución de los macronutrientes para la obtención de energía. A medida que aumenta la intensidad de la

actividad física la oxidación de carbohidratos se ve facilitada, reportándose una disminución significativa de la oxidación de lípidos (Purdom *et al.*, 2018). Las dietas que tienen mayores proporciones de un macronutriente específico han demostrado favorecer en mayor grado la capacidad para oxidar dicho nutriente, teniendo así que el consumo de una dieta alta en carbohidratos aumenta las concentraciones de glucógeno y disminuye las de triacilgliceroles intramusculares (Purdom *et al.*, 2018).

En un metaanálisis publicado por Sartorius *et al.*, en el 2018, donde estudiaron la asociación entre dietas altas y bajas en carbohidratos y la obesidad, no encontraron relación alguna entre dicha ingesta y el desarrollo de obesidad. Sin embargo, parece ser que el efecto de la dieta depende del tipo de población estudiada, ya que en población hawaiana multiétnica (66% del total de la muestra agrupada) la alta ingesta de carbohidratos aumentó en 7.7% el riesgo de obesidad. Por el contrario, en los Estados Unidos de Norte América, las tres Encuestas Nacionales de Examen de Salud y Nutrición (15.71% del total de la muestra agrupada), indicaron que no hay un mayor riesgo o un menor riesgo de obesidad.

Los roles opuestos de los carbohidratos en la dieta también están respaldados en la literatura que demuestra que los carbohidratos simples promueven la obesidad, mientras que los carbohidratos complejos pueden tener el efecto contrario. Sin embargo, la información dista mucho de ser concluyente y los estudios no aportan pruebas suficientes sobre el riesgo de obesidad en relación con las diferentes categorías de carbohidratos (Sartorius *et al.*, 2018).

## **2.1 Marco teórico**

### **Obesidad**

A manera general, la obesidad es una enfermedad crónica en la cual se involucran aspectos genéticos, ambientales y de estilo de vida (Barquera *et al.*, 2010), encontrando

en la persona que la padece un incremento anormal del tejido adiposo. El exceso de peso corporal se reconoce actualmente como uno de los retos más importantes de la Salud Pública en el mundo debido a su magnitud, la rapidez de su incremento y el efecto negativo que ejerce sobre la salud de la población que la padece (Dávila *et al.*, 2015).

Según lo reportado en México por la Encuesta Nacional de Salud (ENSANUT) medio camino 2016, en nuestro país la población de hombres adultos de más de 20 años presenta una prevalencia del 27.7% de obesidad siendo un 16.8% más alta en zonas urbanas en contraste con las zonas rurales. Contrario a los propósitos en materia de salud, en el periodo de tiempo transcurrido entre la realización de la ENSANUT 2012 y la ENSANUT medio camino 2016 se produjo un aumento en la prevalencia del 0.9%.

La ENSANUT medio camino 2016 registró que la prevalencia del 27.7% se distribuye por grado de obesidad de la siguiente manera: 18.5% para obesidad grado 1, 7.5% para obesidad grado 2 y 1.7% para obesidad grado 3.

Para el estado de Chihuahua los datos más recientes son los publicados en la ENSANUT 2012, donde se muestra una prevalencia del 28.4% en el grupo de hombres adultos de más de 20 años, siendo la prevalencia nacional en ese mismo año del 26.8%. Por tipo de localidad, en la zona urbana se encuentra un 30.1% de prevalencia, mientras que en la zona rural se cuenta con un 18.6%. La clasificación de la obesidad en un individuo sirve para identificar a sujetos en quienes una intervención oportuna podría prevenir la aparición de obesidad, comorbilidades o complicaciones, para evaluar el tratamiento y mejorar el pronóstico de los pacientes. Así mismo, permite determinar a aquellos con mayor riesgo de morbimortalidad (Barquera *et al.*, 2010).

## **Dieta**

Definida como el conjunto de alimentos o mezclas de alimentos que se consumen habitualmente, haciendo referencia también al régimen que, en determinadas

circunstancias, realizan personas sanas, enfermas o convalecientes en el comer y beber (Britos *et al.*, 2010).

Para garantizar la buena calidad de la dieta consumida por la población, se han creado guías alimentarias en la mayoría de los países, sumando a esto las recomendaciones de instituciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS), encargándose de difundir el principio de alimentación saludable a través de la sugerencia en las proporciones adecuadas para integrar macro y micronutrientes. De acuerdo con las recomendaciones emitidas por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, la Organización Mundial de la Salud y la Universidad de las Naciones Unidas, se recomiendan los siguientes porcentajes para el contenido aceptable de cada macronutriente:

- Carbohidratos: del 50 al 70% de las calorías totales diarias requeridas, distribuidos de la siguiente manera: 40 a 45% complejos y de 20 a 25% carbohidratos simples.
- Proteínas: del 10 al 15% de las calorías totales diarias requeridas, dando preferencia a las de origen vegetal (combinando cereales con leguminosa) y pocas de origen animal.
- Lípidos: del 20 al 25% de las calorías totales diarias requeridas, distribuidos de la siguiente manera: 8% como ácidos grasos saturados, 12 a 15 % como ácidos grasos monoinsaturados y 10 a 15% como poliinsaturados.

Los alimentos de mejor calidad nutricional (hortalizas, frutas, lácteos, carnes magras de todo tipo, huevos, granos, pastas, legumbres, pan y aceites vegetales) deberían representar un 80-85% de las calorías ingeridas. El resto constituye el margen para incluir productos de mayor densidad calórica y menor contenido de nutrientes (Suarez *et al.*, 2017).



Sin embargo, en nuestro país se vive una transición nutricional, lo que se traduce en modificaciones en la estructura de la dieta, donde aumenta el consumo de comida preparada fuera de casa, la cual contiene de manera usual alimentos procesados que son adicionados con altas cantidades de grasas, azúcar y sal, sin dejar pasar que la actividad física se ha visto disminuida de forma importante en la población (Barquera *et al.*, 2010).

### **Ejercicio**

Se define como actividad física a toda actividad muscular que incrementa el gasto metabólico basal. Partiendo de la definición anterior el ejercicio físico es un tipo de actividad física que presenta una estructura definida. De esta manera, una actividad física cotidiana como caminar, puede transformarse en ejercicio físico cuando se estructura bajo cierta programación que incluye, intensidad, duración y frecuencia de la actividad (Jorquera y Cancino, 2012).

A menudo los cambios en los hábitos relacionados a la actividad física son consecuencia de cambios ambientales y sociales vinculados al desarrollo y la falta de políticas de apoyo en sectores como la salud, transporte, planeamiento urbano, medio ambiente y educación (Jorquera y Cancino, 2012).

Para contrarrestar los efectos negativos que el sedentarismo puede causar en la población general, el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, el Colegio Americano de Medicina del Deporte y la Asociación Americana del Corazón han creado recomendaciones sobre la práctica de actividad física, enfatizando lo siguiente para los adultos con exceso de peso:

- Acumular por lo menos de 60 a 90 minutos de actividad física moderada, por lo menos 5 días a la semana (de preferencia todos los días) (Matsudo, 2012).

Es importante mencionar que el ejercicio de tipo aeróbico debe predominar sobre el anaeróbico. El ejercicio aeróbico es de tipo continuo y utiliza preferentemente los grandes grupos musculares. El combustible que se utilizará en forma predominante durante el ejercicio, depende fundamentalmente de la intensidad del mismo. Durante ejercicios continuos de baja intensidad, el combustible que predomina son los lípidos, pero a medida que la intensidad del ejercicio aeróbico se incrementa, la contribución de los carbohidratos va creciendo (Jorquera y Cancino, 2012).

Entre los instrumentos existentes para medir la actividad física se puede mencionar el Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ), propuesto por la OMS como un instrumento a utilizarse para vigilancia epidemiológica a nivel poblacional. El indicador de actividad física se expresa tanto de manera continua, en MET-minutos/semana, como de manera categórica, clasificando el nivel de actividad física en bajo, moderado o alto. Los METs son una forma de calcular los requerimientos energéticos, son múltiplos de la tasa metabólica basal y la unidad utilizada, MET-minuto, se calcula multiplicando el MET correspondiente al tipo de actividad por los minutos de ejecución de la misma en un día o en una semana (Serón *et al.*, 2010).

### **Tasa metabólica basal**

La tasa metabólica basal (TMB) es la fracción del gasto energético consumida por un sujeto que está acostado, en reposo físico y mental, tras 12 horas de ayuno (Suarez y González *et al.*, 2017). Representa la integración de la actividad mínima de todos los tejidos del cuerpo en condiciones de equilibrio. Mitchell, la definió como la “tasa mínima de gasto energético compatible con la vida”. Constituye del 60 al 70% del gasto energético diario en la mayoría de los adultos sedentarios, en tanto, en los individuos físicamente muy activos es de aproximadamente el 50%. Sobre sus valores tienen influencia factores no modificables, como la edad y el género, pero también puede variar

en función al nivel de entrenamiento físico del sujeto, así como de su composición corporal, dependiendo tanto del peso total como de las proporciones de masa grasa (MG) y masa muscular (MM) (Vargas y Lancheros, 2011).

Siendo la proporción de masa libre de grasa o masa magra el principal factor individual que determina el consumo de energía en reposo (Suarez *et al.*, 2017).

El metabolismo basal expresado como tasa metabólica basal (TMB), es diferente a la tasa metabólica en reposo (TMR) o al gasto energético en reposo (GER). Este último se obtiene cuando la determinación se hace en reposo y en las condiciones descritas para la tasa metabólica basal pero no en ayuno, incluyendo por tanto la energía utilizada para el aprovechamiento biológico de los alimentos.

Estas mediciones, difieren en menos del 10% y ambos términos se tienden a utilizar indistintamente, en la actualidad se utiliza más la denominación de GER (Vargas y Lancheros, 2011).

### **3. Objetivos (general y específicos)**

Evaluar el efecto de un alimento alto en carbohidratos y el ejercicio físico sobre la tasa metabólica en sujetos adultos masculinos con obesidad.

### **4. Metodología**

#### **Diseño del estudio**

El presente estudio se definió como un ensayo clínico transversal comparativo. Teniendo que las variables a comparar serán los datos obtenidos para la tasa metabólica basal en los diferentes estadios del protocolo.

## **Muestra de estudio**

Durante un periodo de cuatro semanas participaron como sujetos de estudio a 11 hombres pertenecientes en su mayoría a los diferentes institutos que conforman a la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez (UACJ).

## **Consideraciones éticas**

El proceso de recolección de datos dio inicio una vez que se contó con la aprobación del comité de ética de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez

### *Criterios de inclusión*

Al reclutar a los 11 hombres se contemplaron como criterios de inclusión a los siguientes puntos:

- Edad: Entre 20 y 45 años
- IMC: Igual o mayor a 30 kg/m<sup>2</sup>
- Porcentaje de grasa corporal: Igual o mayor a 25%
- Nivel de actividad física: Bajo acorde al Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ), lo que es igual a la realización de dos o menos días de ejercicio estructurado a intensidad moderada por semana
- Historial clínico: Sin antecedentes de enfermedades fisiológicas, metabólicas o incapacidades físicas

### *Criterios de exclusión*

La exclusión de posibles sujetos de estudio se llevó a cabo al confirmar el incumplimiento de los criterios de inclusión, sumando a esto la falta de disposición para acudir a las 4 sesiones necesarias.

## Procedimientos

### *Estructuración del alimento*

Se formuló un alimento en presentación de batido con un contenido alto en carbohidratos, siendo sus características principales las siguientes:

- El contenido energético fue adaptado a los requerimientos individuales de cada sujeto, el cual fue estimado haciendo uso de la calorimetría indirecta y el IPAQ. El batido aportó el 25% de las calorías requeridas al día por cada uno de los sujetos.
- El 70% del contenido energético fue aportado por carbohidratos, 15% por grasas y 15% por proteínas.
- De los carbohidratos el 50% de ellos fueron complejos, mientras que el otro 50% fueron carbohidratos simples.
- Los ingredientes utilizados y las marcas comerciales que los distribuyen se muestran a continuación en la tabla 1.

**Tabla 1.** Ingredientes contenidos en el batido.

<b>Ingrediente</b>	<b>Marca comercial</b>
Avena integral y sémola de trigo	1 minuto
Manzana	Golden delicious
Leche light (1%)	LALA
Aceite de coco 100% puro	LouAna

Tres de los ingredientes utilizados (avena, leche y aceite de coco) fueron sometidos a análisis proximales por triplicado para aumentar la exactitud de los resultados obtenidos utilizando los métodos establecidos por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) (tabla 1). Esto sirvió como herramienta para definir el contenido de macronutrientes aportados por ingrediente y determinar la cantidad en gramos necesaria para asegurar que cada uno de los 14 batidos cumplió con los requerimientos energéticos y de macronutrientes previamente calculados.

**Tabla 2.** Métodos establecidos por la AOAC utilizados en esta investigación

Contenido a medir	Método utilizado para cada ingrediente			
	Avena integral y sémola de trigo	Manzana	Leche light (1%)	Aceite de coco 100% puro
Humedad	926.12	Su contenido de macronutrientes, humedad y cenizas fue obtenido por medio de la base de datos del departamento de agricultura de los Estados Unidos(USDA).	926.12	926.12
Cenizas	945.46		945.46	945.46
Proteína cruda	991.2		991.2	991.2
Lípidos totales	Extracción Soxhlet		Método de Gerber	Método de Gerber
Carbohidratos totales	Determinado por diferencia (carbohidratos - 100 - $\Sigma$ de cálculos anteriores)		Determinado por diferencia (carbohidratos - 100 - $\Sigma$ de cálculos anteriores)	Determinado por diferencia (carbohidratos - 100 - $\Sigma$ de cálculos anteriores)

Fuente: AOAC, 2015.

### *Sesiones de trabajo con los sujetos de estudio*

El trabajo dentro del laboratorio para el cual se requirió la cooperación de los sujetos de estudio se dividió en cuatro sesiones, realizando una por semana.

#### Sesión 1: Explicación del proyecto y entrega de formatos

De primera instancia, se registraron los valores de peso y talla para asegurar que los hombres interesados en el proyecto contaron con un IMC que permitió incluirlos. Esto se realizó haciendo uso de una báscula digital (DETECTO) y un estadímetro de pared (SECA 206).

Se les informó a los sujetos todo lo referente a este proyecto. Al encontrarse dispuestos a realizar las pruebas necesarias y estar de acuerdo con los términos acordados, se les pidió que firmaran la carta de consentimiento informado (anexo 2). Aunado a esto, proporcionaron los datos necesarios para el llenado del Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ) (Anexo 3), el cuestionario de registro de hábitos alimentarios para una semana (anexo 4) y el cuestionario del estado de salud general (anexo 5).

#### Sesión 2: Calorimetría indirecta y determinación de composición corporal

Como requerimiento para llevar a cabo esta sesión, se les pidió a los voluntarios que llegaran al laboratorio con un ayuno previo de por lo menos 8 horas, sin consumir

bebidas alcohólicas, café o té y con un periodo de descanso de al menos 8 h para lograr datos confiables en la medición de la tasa metabólica en reposo por medio de calorimetría indirecta, haciendo uso del analizador de gases (CORTEX Metalyzer 3B, Alemania).

Además, se valoró la composición corporal (masa grasa y masa libre de grasa) de cada uno de los 11 hombres por medio de la pletismografía por desplazamiento de aire (COSMED BOD POD, USA).

### Sesión 3: Prueba de máxima oxidación de grasas (FatMax) y prueba de esfuerzo

Para comenzar con esta parte del trabajo experimental, los sujetos de estudio llegaron al laboratorio con un ayuno previo de entre ocho y doce horas en macronutrientes diseñada para cubrir el 30% del requerimiento energético diario individualizado. Los porcentajes aportados por cada macronutriente al valor calórico total fueron los siguientes:

- Carbohidratos: 50%
- Lípidos: 20%
- Proteínas: 30%

Para esto se hizo uso del valor obtenido en la medición de la tasa metabólica en reposo y la formula de Harris-Benedict para la integración de los factores que determinaron la estimación del gasto energético total, teniendo como meta principal la óptima realización de las pruebas siguientes.

- Prueba de máxima oxidación de grasas (FatMax): Al inicio se colocó el pulsímetro (POLAR T61- CODED) que permitió monitorear la frecuencia cardiaca durante toda la sesión y la mascarilla que sirvió como medio para la calorimetría indirecta. Se llevó a cabo una primera punción capilar para obtener la muestra de sangre que hizo posible la medición de los niveles de lactato en estado basal (Nova biomedical-LACTATE PLUS). Una vez registrado este valor se hizo una medición de 5 minutos de la tasa metabólica basal. Contando con el registro de los datos basales (frecuencia cardiaca, lactato en sangre y tasa metabólica basal) el sujeto fue posicionado en la banda sin fin (Quinton Q-strees TM-55).

El trabajo en banda sin fin fue dividido en etapas con una duración de tres minutos cada una. Se comenzó con una velocidad de 1.9 mill/ h, incrementando 0.6 mill/ h cada tres minutos, donde el porcentaje de inclinación se mantuvo estable a lo largo de la prueba. Antes del término de cada una de las etapas se tomaron nota de los valores dados para la frecuencia cardiaca, la escala de percepción del esfuerzo de Borg y los niveles de lactato en sangre (se realizó una punción capilar). Dando por terminada la prueba al momento en el que los sujetos llegaron a un RQ de 1.00.

- Prueba de esfuerzo ( $VO_2$  max): Se implementó de manera inmediata al término de la prueba del FatMax (sin detener el calorímetro y la banda sin fin). Al aumentar la velocidad en cada etapa, también se aumentó en 1% la inclinación. A lo largo de las etapas, el porcentaje de frecuencia cardiaca máxima siguió siendo monitoreado. La prueba terminó en el momento en que los sujetos indicaron que alcanzaron su máximo esfuerzo, disminuyendo la velocidad e inclinación a valores que les permitieron estabilizar su frecuencia cardiaca.

Con los datos arrojados, se desarrolló de manera individualizada una sesión de 60 minutos en banda sin fin para cada uno de los sujetos.

#### Sesión 4: Realización de una hora de ejercicio al FatMax y consumo del alimento

Nuevamente, los sujetos llegaron al laboratorio con un ayuno de entre 8 y 12 horas, habiendo consumido la misma cena que les fue proveída antes de la sesión 3. Por un periodo no mayor a media hora se midió la tasa metabólica en reposo, subsecuentemente, dio inicio la sesión de ejercicio (60 minutos continuos) en banda sin fin, dividida en 6 periodos con una duración de 10 minutos cada uno. Este ejercicio fue realizado a la intensidad en la que cada uno de los sujetos reporto el pico máximo de oxidación de grasas (dato arrojado por la prueba FatMax). En conjunto mostraron valores expresados en media y desviación estándar para la intensidad del ejercicio realizado de  $32.82 \pm 5.75$  % del  $VO_{2max}$ .

Para asegurar que el ejercicio se estuvo realizando conforme a lo sugerido por la prueba FatMax se llevó registro de los valores de frecuencia cardiaca, concentraciones de lactato



en sangre y escala de percepción del esfuerzo de Borg, iniciando por los datos basales y terminando el monitoreo 20 minutos después de concluido el trabajo en banda sin fin. Al término del trabajo se continuó midiendo la tasa metabólica en reposo por una hora.

El batido previamente elaborado y conservado a manera de que su calidad no se viera afectada fue consumido una vez retirada la mascarilla, donde no fueron necesarios más de 30 minutos para la toma del mismo.

Se realizó el monitoreo de los valores para la tasa metabólica en reposo durante las 3 horas posteriores al consumo del alimento haciendo uso del analizador de gases únicamente durante los últimos 15 minutos de cada hora.

### **Análisis estadístico**

El análisis de la distribución de los datos para cada variable se realizó mediante el test de Shapiro-Wilk. Se utilizaron pruebas para variables dependientes: ANOVA de medidas repetidas o prueba de rango con signo de Wilcoxon, dependiendo de la condición de normalidad de las variables.

El tamaño del efecto del alimento sobre la tasa de oxidación de carbohidratos, tasa de oxidación de lípidos y tasa metabólica en reposo se estimó mediante la *d* de Cohen ( $d = 0,20$ , tamaño del efecto pequeño;  $d = 0,50$ , tamaño del efecto mediano;  $d = 0,80$ , tamaño del efecto grande).

Los datos recopilados a lo largo de este proyecto se expresaron como media y desviación estándar. El paquete estadístico SPSS 25 de Windows se empleó para este análisis, donde se mantuvo una confiabilidad del 95 % ( $p < 0.05$ ).

## 5. Instituciones, organismos o empresas de los sectores social, público o productivo participantes (Si aplica)

## 6. Resultados

Dentro de la tabla 3 se encuentran descritas las características de los 11 sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión y que por lo tanto formaron parte de este proyecto. Los valores de media y desviación estándar en el IMC muestran que el conjunto de individuos se encontraba oscilando entre las categorías de obesidad grado 1 y 2. El porcentaje de masa grasa deja en claro que los sujetos efectivamente presentaban obesidad, lo que se ve relacionado con el bajo nivel de actividad física que realizaban por semana.

**Tabla 3.** Características de los sujetos incluidos en el estudio, n= 11.

Edad (años)	28.09 ± 7.53
Peso corporal (kg)	102.01 ± 15.97
Estatura (m)	1.72 ± 0.08
IMC (kg/ m <sup>2</sup> )	34.17 ± 3.76
Masa grasa (%)	38.32 ± 5.33
Masa grasa (kg)	39.30 ± 9.25
IMG (MG/ m <sup>2</sup> )	13.23 ± 3.00
Masa libre de grasa (%)	61.62 ± 5.34
Masa libre de grasa (kg)	62.65 ± 9.62

---

Los valores se presentan como medias ± DE.

La dieta habitual de los sujetos de estudio presentó un elevado consumo de lípidos y proteínas, mientras que su ingesta de carbohidratos osciló entre ligeramente baja y normal (tabla 4).

**Tabla 4.** Dieta habitual promedio de los sujetos incluidos en el estudio

Dieta habitual promedio (n=11)	
Energía (kcal)	2109 ± 691
Carbohidratos (%)	46.50 ± 6.52
Lípidos (%)	33.00 ± 6.97
Proteínas (%)	20.00 ± 2.56

Los valores se presentan como medias ± DE.

#### **Alimento alto en carbohidratos**

El análisis proximal del alimento dejó en claro su alto contenido de humedad y carbohidratos. Más del 90% del batido se encontraba compuesto por dichos componentes, lo cual es comprensible si se toma en cuenta la elección de ingredientes utilizados.

**Tabla 5.** Composición del alimento por análisis proximal

Composición proximal (n=11)	
Humedad (%)	80.74 ± 1.26
Cenizas (%)	0.64 ± 0.04
Lípidos (%)	1.50 ± 0.23
Proteínas (%)	2.93 ± 0.28
Carbohidratos (%)	14.15 ± 1.10

Los valores se presentan como medias ± DE.

Los porcentajes de energía aportados por cada uno de los macronutrientes dentro del alimento se encontraron dentro de los parámetros establecidos al inicio del proyecto, sin presentar una desviación estándar amplia; alrededor de 70% para carbohidratos, 15% para lípidos y 15% para proteínas (tabla 5).

**Tabla 6.** Contenido energético y distribución de macronutrientes en el alimento.

Energía (kJ)	3380 ± 624
Carbohidratos (% del VCT)	69.27 ± 0.90
Lípidos (% del VCT)	15.82 ± 1.25
Proteínas (% del VCT)	14.73 ± 1.35

---

Los valores se presentan como medias ± DE.

### Efectos del ejercicio

Durante la hora de ejercicio la oxidación de carbohidratos aumento significativamente, disminuyendo drásticamente los primeros 10 minutos posteriores al ejercicio. Sin embargo, no llegó a niveles similares al basal hasta los 20 minutos posteriores al ejercicio.

La oxidación de lípidos también se vio incrementada a lo largo de la hora de ejercicio. Durante los primeros 10 minutos posteriores a la realización del ejercicio, la oxidación disminuyó a valores inferiores a los presentados en la medición basal. A partir de los 20 minutos posteriores al ejercicio se recuperaron cifras similares a las obtenidas durante la medición basal.

Por otra parte, la tasa metabólica solo sufrió un aumento significativo durante la hora de ejercicio, regresando a valores similares al obtenido en la medición basal, lo cual se mantuvo a lo largo de la hora post ejercicio.

En la tabla 7 se especifican los valores registrados por las principales variables estudiadas en la medición basal y los 60 minutos posteriores al ejercicio. Estos valores indican que todas las variables regresaron a valores similares a lo basal 1 hora después de terminado el ejercicio.

Tabla 7. Cambios observados en las principales variables estudiadas antes y después del ejercicio

---

n=11	Basal	60 minutos post ejercicio
------	-------	---------------------------

---

Tasa de oxidación de carbohidratos (g/ hr)	0.29 ± 0.10	0.34 ± 0.08
Tasa de oxidación de lípidos (g/ hr)	0.10 ± 0.04	0.07 ± 0.02
Tasa metabólica basal (kJ/ hr)	495.92 ± 107.50	498.12 ± 80.90
RQ	0.87 ± 0.04	0.89 ± 0.03

Los valores se presentan como medias ± DE.

### Efectos del alimento

Al consumir los sujetos de estudio el alimento alto en carbohidratos se pudo observar un incremento significativo en la oxidación de carbohidratos durante la segunda hora posterior al alimento, disminuyendo durante la tercera hora post alimento a valores similares a los registrados en la primera hora post alimento.

La oxidación de lípidos registró valores significativamente disminuidos durante la segunda y tercera hora posterior al alimento, esto al comparar dichas mediciones contra las realizadas en tiempo basal y a la primera hora posterior al consumo del alimento.

La tasa metabólica de los sujetos de estudio no se vio significativamente modificada en ninguna de las horas posteriores al consumo del alimento.

El RQ mostro valores significativamente elevados durante la segunda y tercera hora posterior al alimento, esto al comparar dichas mediciones contra las realizadas en tiempo basal y a la primera hora posterior al consumo del alimento.

Según el análisis estadístico realizado a los datos obtenidos antes y después del consumo del alimento, el ingerir dicho producto tuvo un efecto mediano en la tasa de oxidación de carbohidratos, mientras que en las otras tres variables generó un efecto grande (tabla 8).

Tabla 8. Tamaño del efecto

n=11	Previo-A	3 h Post-A	d de Cohen
------	----------	------------	------------

Tasa de oxidación de lípidos	0.07 ± 0.02	0.04 ± 0.03	1.08
Tasa de oxidación de carbohidratos	0.34 ± 0.08	0.40 ± 0.15	0.49
Tasa metabólica en reposo	507.95 ± 75.96	456.76 ± 81.72	0.78
RQ	0.89±0.03	0.93±0.06	0.78

Los valores se presentan como medias ± DE.

En la tabla 9 se indica que la oxidación total de carbohidratos durante la hora posterior al ejercicio y las tres horas posteriores al consumo del alimento fue mayor que la oxidación de lípidos por aproximadamente 77 gramos (considerando las medias de ambas variables). Mientras que durante las seis horas de protocolo la oxidación de carbohidratos supero por aproximadamente 130 gramos a la oxidación de lípidos.

Tabla 9. Oxidación total de sustratos no proteicos durante la última sesión del protocolo

Oxidación total de sustratos no proteicos (n=11)	
Oxidación carbohidratos a las cuatro horas posteriores al consumo del alimento (g)	89.71 ± 30.35
Oxidación de lípidos a las cuatro horas posterior al ejercicio (g)	12.86 ± 4.85
Oxidación de carbohidratos a las seis horas de protocolo (g)	154.26 ± 41.17
Oxidación de lípidos a las seis horas de protocolo (g)	24.13 ± 7.83

Los valores se presentan como medias ± DE.

## **Productos generados.**

- Dos tesis de maestría y una de doctorado.
- Cuatro artículos.

Se integrarán en los anexos las evidencias.

## **Conclusiones**

Sobre la base de los resultados obtenidos en las condiciones de este proyecto de investigación, se puede concluir que el consumo de un alimento alto en carbohidratos no genera un cambio significativo de los valores dados para la tasa metabólica en reposo, pero sí para la utilización de sustratos como fuente de energía. Aún al combinarse con la realización de ejercicio a la intensidad de máxima oxidación de grasas, propicia que en la jerarquización de utilización de sustratos sean los carbohidratos la fuente de energía predilecta. Comprobando que un consumo elevado de carbohidratos termina por disminuir la tasa de oxidación de lípidos.

**Mecanismos de transferencia. (Si aplica): N/A**

**Contribución e impacto del proyecto:** Se publicaron cuatro artículos de investigación y se graduaron dos alumnos.

## **Impacto económico, social y/o ambiental en la región**

## **Referencias (bibliografía)**

Acosta, E. **2012**. Obesidad, tejido adiposo y resistencia a la insulina. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 46 (2). 183-94.

Ascencio, C. *Fisiología de la nutrición*. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, D.F. 2012. 157 p.

AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC International. [En línea] 2015. [http://www.aoac.org/aoac\\_prod\\_imis/AOAC/Publications/Official Methods of Analysis/AOAC Member/Pubs/OMA/AOAC Official Methods of Analysis.aspx](http://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC/Publications/Official_Methods_of_Analysis/AOAC_Member/Pubs/OMA/AOAC_Official_Methods_of_Analysis.aspx)

(Consulta: 23 de junio del 2018)

Badui, S. (2006). *Química de los alimentos*. 4ª edición. Pearson Educación. México, 2006. 738 p.

Barquera, S.; Campos, I.; Rojas, R.; y Rivera, J. **2010**. Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención. *Gaceta Médica de México*. 146. 397-407.

Barrett, K.; Barman, S.; Boitano, S.; y Brooks, H. *Ganong, fisiología médica*. 23ª edición. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, D.F. 2010. 720 p.

Basain, J.; Valdés, M.; Pérez, M.; Socorro, G.; Álvarez, D.; y Mesa, I. **2016**. Mecanismos implicados en la aparición y regulación del proceso de remodelación del tejido adiposo y estado de lipoinflamación en la obesidad. *Revista Cubana de Pediatría*. 88(3). 348-359.

Britos, S.; Saraví, A.; y Vilella, F. **2010**. Buenas prácticas para una alimentación saludable de los argentinos. *Unidad de Agronegocios y Salud*. 1-70.

Dávila, J.; González, J.; y Barrera, A. **2015**. Panorama de la obesidad en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*. 53(2). 240-249.

García, H.; Meaney, E.; Vargas, G.; Escalante, M.; y Aldrete, J. **2011**. Dimensión económica del sobrepeso y la obesidad como problemas de salud pública. *Medicina interna de México*. 27(3). 270-280.

Jorquera, C.; y Cancino, J. **2012**. Ejercicio, obesidad y síndrome metabólico. *Revista médica clínica Condes*. 23(3). 227-235.

Malo-Serrano, M.; Castillo, N.; Pajita, D. **2017**. La obesidad en el mundo. *An Fac med*. 78(2).173-178.



- Matsudo, S. (2012). Actividad física: pasaporte para la salud. *Revista médica clínica Condes*, 23(3), 209-217.
- Morales, M.; Medina, S.; Chacón M.; y Espinosa L. **2016**. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 18(1). 22-31.
- Moreno, M. **2012**. Definición y clasificación de la obesidad. *Revista Médica Clínica Condes*. 23(2). 124-128.
- Mul, J.; Stanford, K.; Hirshman, M.; Goodyear, L. **2015**. Exercise and Regulation of Carbohydrate Metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci*. 135 (0). 17–37.
- Murray, R.; Bender, D.; Botham, K.; Kennelly, P.; Rodwell, V; y Weil, P. *Harper. Bioquímica ilustrada*. 2ª edición. McGraw-Hill Interamericana Editores. México, D.F. 2010. 693 p.
- OMS. Obesidad y sobrepeso. [En línea] 2018. <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (Consulta 17 de abril de 2018).
- Purdom, T.; Kravitz, L.; Dokladny, K.; Mermier, C. **2018**. Understanding the factors that effect maximal fat oxidation. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 15(3). 1-10.
- Santamaría, O.; Y Moreno, W. **2015**. El IPAQ como instrumento de medición de actividad física en empleados de la Universidad de los Llanos. *Revista Impetus*. 9(1). 81-86.
- Sartorius, K.; Sartorius, B.; Madiba T.; Stefan C. **2018**. Does high-carbohydrate intake lead to increased risk of obesity? A systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 8. 1-9.
- Serrano, M.; Cáscales, M.; y Martínez, M. **2016**. La pandemia de obesidad. Los vínculos fisiopatológicos: disfunción endócrina de la célula adiposa, inflamación y resistencia a la insulina. *Anales de la real academia nacional de farmacia*. 82. 182- 194.

Serón P.; Muñoz S.; y Lanas F. **2010**. Nivel de actividad física medida a través del cuestionario internacional de actividad física en población chilena. *Revista médica de Chile*. 138. 1232-1239

Suarez, W.; Sánchez, A.; y González, J. **2017**. Fisiopatología de la obesidad: Perspectiva actual. *Revista chilena de nutrición*. 44 (3). 226- 233.

Vargas M.; Lancheros L. **2011**. Gasto energético en reposo y composición corporal en adultos. *Rev. Fac. Med.* 59(1). 1-16.

Valdez, M.; Medina, S.; Chacón, M.; y Espinosa, L. **2016**. “Enfoque integral de la importancia de la dieta en las condiciones actuales de salud de la población mexicana”. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. 18(1). 22-31.

## Anexos

### Taxonomía de los Roles de Colaborador (con las actividades logradas)

Rol es	Definición de los roles	Nombre de él(la) investigador(a)	Figura	Grado de contribución	Actividades logradas durante el proyecto	Tiempo promedio semanal (en horas) dedicado al proyecto

### Estudiantes participantes en el proyecto

Nombre de estudiante(s)	Matrícula	Tiempo promedio semanal (en horas) dedicado al proyecto	Actividades logradas en la ejecución del proyecto
Isaac Chaves Guevara.	171426	16	Participó en el diseño de protocolos, evaluaciones físicas y análisis bioquímicos
Ruth Alejandra Zavala Llira	251919	16	Participó en el diseño de protocolos, evaluaciones físicas y análisis bioquímicos

## CONSIDERACIONES:

- Los reportes deben estar escritos en español o en inglés.
- Se debe entregar en formato PDF acorde a este formato.
- El texto debe ser escrito en hoja tamaño carta a espacio y medio, y los márgenes deberán encontrarse al menos a una pulgada (2.54 cm). La totalidad del texto debe escribirse en minúsculas, utilizando las mayúsculas sólo al principio de las oraciones y para los títulos de capítulos.
- Se recomienda usar el tipo de letra Arial tamaño 10 o Times New Roman tamaño 12.
- Todas las páginas deben estar numeradas en secuencia comenzando desde la portada.
- La extensión total del texto es de un mínimo de 10 cuartillas y un máximo de 30 cuartillas, con un interlineado de espacio y medio.
- Integrar en la sección de anexos las tablas y gráficas.
- Las figuras, fotografías y tablas, serán insertadas en el cuerpo del texto y numeradas en forma consecutiva comenzando con 1 y de manera independiente de las tablas. El número y descripción de la figura, tabla, etc., deberá colocarse antes de la misma.
- Se recomienda evitar el uso de sombras y líneas punteadas que no permitan una legibilidad clara de imágenes.
- Las fórmulas y ecuaciones deben hacerse con un editor de ecuaciones como el disponible en el procesador de textos Word. Estarán centradas y separadas del texto. La numeración será consecutiva



comenzando con el número 1. El número de la fórmula deberá encerrarse entre paréntesis y colocarse a la derecha de la fórmula lo más cercano posible al margen derecho.

- Las referencias bibliográficas en el texto deben ser en cualquier estilo reconocido como APA, MLA, ISO, etc.
- Los anexos se colocarán al final del documento después de la bibliografía, utilizando caracteres alfabéticos para distinguirlos: Anexo A, Anexo B, etc. La información contenida en los anexos es importante pero no indispensable para la comprensión del trabajo. Se recomienda colocar en los anexos mapas, fotografías, tablas, desarrollos matemáticos, diagramas, etc.
- La Taxonomía de los Roles de Colaborador, incluyendo la explicación de su llenado y las actividades a desarrollar, está disponible en los Términos de Referencia de los Proyectos Sin financiamiento, en el numeral 4.4.1 y en la tabla 1. Se debe integrar la tabla correspondiente en el apartado de los anexos y (en este caso sí deberá llevar los nombres de los investigadores propuestos en cada rol).



Review

# FAT/CD36 Participation in Human Skeletal Muscle Lipid Metabolism: A Systematic Review

Arnulfo Ramos-Jiménez <sup>1,\*</sup> , Ruth A. Zavala-Lira <sup>1</sup>, Verónica Moreno-Brito <sup>2</sup> and Everardo González-Rodríguez <sup>2</sup> 

<sup>1</sup> Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Ciudad Juárez, Anillo Envoltente del PRONAF y Estocolmo S/N, Ciudad Juárez 32310, Chihuahua, Mexico

<sup>2</sup> Facultad de Medicina, Circuito Universitario Campus II, Universidad Autónoma de Chihuahua, Chihuahua 31124, Chihuahua, Mexico

\* Correspondence: aramos@uacj.mx

**Abstract:** Fatty acid translocase/cluster of differentiation 36 (FAT/CD36) is a multifunctional membrane protein activated by a high-fat diet, physical exercise, fatty acids (FAs), leptin, and insulin. The principal function of FAT/CD36 is to facilitate the transport of long-chain fatty acids through cell membranes such as myocytes, adipocytes, heart, and liver. Under high-energy expenditure, the different isoforms of FAT/CD36 in the plasma membrane and mitochondria bind to the mobilization and oxidation of FAs. Furthermore, FAT/CD36 is released in its soluble form and becomes a marker of metabolic dysfunction. Studies with healthy animals and humans show that physical exercise and a high-lipid diet increase FAT/CD36 expression and caloric expenditure. However, several aspects such as obesity, diabetes, Single Nucleotide polymorphisms (SNPs), and oxidative stress affect the normal FAs metabolism and function of FAT/CD36, inducing metabolic disease. Through a comprehensive systematic review of primary studies, this work aimed to document molecular mechanisms related to FAT/CD36 in FAs oxidation and trafficking in skeletal muscle under basal conditions, physical exercise, and diet in healthy individuals.

**Keywords:** fat oxidation; fatty acid-binding protein; scavenger receptor type B2; adenosine monophosphate activating protein; muscle contraction; nutrients; mitochondria; sarcolemmal



**Citation:** Ramos-Jiménez, A.; Zavala-Lira, R.A.; Moreno-Brito, V.; González-Rodríguez, E. FAT/CD36 Participation in Human Skeletal Muscle Lipid Metabolism: A Systematic Review. *J. Clin. Med.* **2023**, *12*, 318. <https://doi.org/10.3390/jcm12010318>

Academic Editor: Gangyi Yang

Received: 8 November 2022

Revised: 16 December 2022

Accepted: 26 December 2022

Published: 31 December 2022



**Copyright:** © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## 1. Introduction

Obesity (body mass index  $\geq 30$  kg/m<sup>2</sup>) is well recognized as a global epidemic; it is an independent risk factor for stroke, hypertension, cardiovascular disease, cardiovascular disease mortality, atrial fibrillation, and sudden cardiac death [1,2]. Losing fat mass, especially in the abdominal zone or visceral adipose tissue, helps to reduce hypertension and improve metabolic syndrome, associated systemic inflammation, and endothelial dysfunction [1,2]. Obesity occurs when there is a chronically positive caloric balance. This imbalance seems simple to solve but does not, because obesity is a complex multifactorial phenomenon challenging to observe and measure in all dimensions [3,4]. Several individuals with obesity have metabolic dysregulation and adiposopathy (fat stores in body locations where fat is not physiologically stored, such as the liver, pancreas, heart, and skeletal muscle), also named sick fat [5]. Many non-surgical treatments designed to reduce body weight and fat propose low-energy diets, increase energy expenditure, and high fatty acids (FAs) oxidation, such as hypocaloric/ketogenic diets, low and moderate-intensity physical exercise, and high-intensity interval training (HIIT) [6–8]. However, diet and physical exercise treatments are hard to apply correctly due to physical and psychological differences, and the gene expression variability between individuals and populations [3,9], hence the importance of continuing to study the mechanisms that help to understand the obesity problem.

Of the genetic factors and mechanism of intermediary metabolism associated with obesity, there are those involved in the capture, transport, and oxidation of lipids. The

Fatty Acid Translocase/Cluster of Differentiation 36 (FAT/CD36) is responsible for the capture and translocation of FAs across the cell membrane and the outer mitochondrial membrane [10,11]. The Fatty Acid Binding Proteins (FABPs) along with the Fatty Acid Transport Proteins (FATPs) are responsible for the FAs trafficking in the aqueous environment of cells [11]. Variations in the transcription and translation of these proteins have been associated with obesity, metabolic syndrome, and neurodegenerative disorders [12,13], disorders that could be prevented by increasing mitochondrial oxidation and caloric expenditure, especially in skeletal muscle. In this sense, skeletal muscle contributes mostly to the total caloric expenditure because of its size and function. [14]. However, it has been widely reported that skeletal muscle metabolism is altered or works differently in subjects with obesity and diabetes compared to lean and healthy people [15]. Baker et al. report that plasma short-chain acylcarnitine species, skeletal muscle medium-chain acylcarnitine and FAT/CD36 increased from pre- to post-high fat diet (HFD) in obese but not lean subjects [3]. The above mean that although fatty acids (FAs) increase the expression of FAT/CD36, they could also impair  $\beta$ -oxidation. Pepino et al. report that the FAT/CD36 protein is regulated differently in each tissue to adjust to particular energy needs [16]. For that, several literature reviews have focused the implications of FAT/CD36 on FAs uptake, translocation and oxidation and its effect on energy homeostasis and obesity [17,18], supporting the idea of reduced fatty acid oxidation in the skeletal muscle of obese vs. lean individuals [18]. Given the non-conclusive evidence observed, it was proposed to investigate, through a comprehensive systematic review of primary studies, the relationship between human muscle skeletal FAT/CD36 expression, synthesis, and content and how diet and exercise modify them. Therefore, this work presents the best-known mechanisms related to FAs oxidation and FAT/CD36 in human skeletal muscle, and their relationship with diet and physical exercise. The hypothesis is that the skeletal muscle FAT/CD36 protein is regulated by nutritional status, diet, and physical exercise. The main contribution of this work is to elucidate the implications of FAT/CD36 on metabolic adaptations induced by nutritional status, physical exercise, and high fat diets in human skeletal muscle.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Literature Search Strategy

This review was conducted in accordance with the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses statement guidelines [19]. An exhaustive systematic search of electronic databases was conducted up to 9 October 2022, with previous searches on 10 May and 5 September 2022, including MEDLINE and BIVIR as institutional database integrator [20]. Although the research protocol was not previously published, all papers that met the inclusion and exclusion criteria were reviewed and evaluated. The search strategy comprised the following key phrases: FAT/CD36, SR-B2, diet, nutrition, nutrient, exercise “energy expenditure” “energy metabolism” to identify relevant trials. The booleans and syntax used was: (FAT/CD36 OR CD36 OR SR-B2) AND (diet OR nutrition OR nutrient) AND (exercise OR “energy expenditure” OR “energy metabolism”). The search strategy was limited to human subjects where the option was available. The reference lists of the included studies were also examined for any new references not found during the initial electronic search. Two reviewers independently appraised papers (R.A.Z.L. and A.R.J.); a third reviewer (V.M.V.) was consulted to resolve disputes.

The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) statement [21] was applied to analyze the strengths and weaknesses of the included studies (Supplementary Table S2).

## 2.2. Inclusion and Exclusion Criteria

### 2.2.1. Type of Study

The search included primary studies involving the uptake, transport, and oxidation of fatty acids by FAT/CD36 protein in human skeletal muscle, with a particular interest in dietary treatments and physical exercise. Longitudinal, cross-sectional, and crossover designs were included, written in English, Spanish or Portuguese. No restrictions were placed on the publication date. Animal studies were excluded from analysis.

### 2.2.2. Type of Participants

Human subjects.

### 2.2.3. Type of Interventions

Acute and long diet and physical exercise trials.

## 2.3. Outcomes

The primary outcomes were muscle-skeletal changes in fatty acids metabolism and FAT/CD36 produced by diet and physical exercise. Secondary outcomes were associations between FAT/CD36 expression and nutritional status.

## 2.4. Data Synthesis

Two reviewers (R.A.Z.L. and A.R.J.) extracted data in duplicate and cross-checked results. Zotero (v 6.0.15 free version for Mac, Corporation for Digital Scholarship, Fairfax, VA, USA) was used as a Reference Manager. Outcomes (author and year of publication, study design and population, the purpose of the study, type of intervention, and main results on the expression and activity of FAT/CD36 protein) were extracted and archived in a database for analysis.

## 3. Results

### 3.1. Descriptive Analysis

As shown in Figure 1, using the keywords described in the methods and the chosen metasearch engines, we found a total of 1970 manuscripts; 342 were repeated manuscripts. According to the inclusion criteria and the reading of titles and abstracts, 1469 were ineligible, leaving 159 for full-text reading. Finally, 139 manuscripts were excluded: seventy-nine being animal studies, fourteen for not presenting results on FAT/CD36, forty-five for being review articles, and one for containing the same population and data in two different journals.

Of the twenty manuscripts eligible for the synthesis and analysis, ten were cross-sectional, eight were longitudinal, and two were crossover studies (Table 1). In total, three-hundred and thirteen participants were included (41.5% women), three-hundred and three young adults, and seven older adults. Regarding their nutritional status, 208 were lean subjects, 31 were overweight, and 55 were obese. Regarding the type of study, 117 participated in dietary studies, 172 in physical exercise studies, and 23 in both classes. Regarding their physical activity level, 132 participants were sedentary, 121 were moderately active, and 60 were athletes.



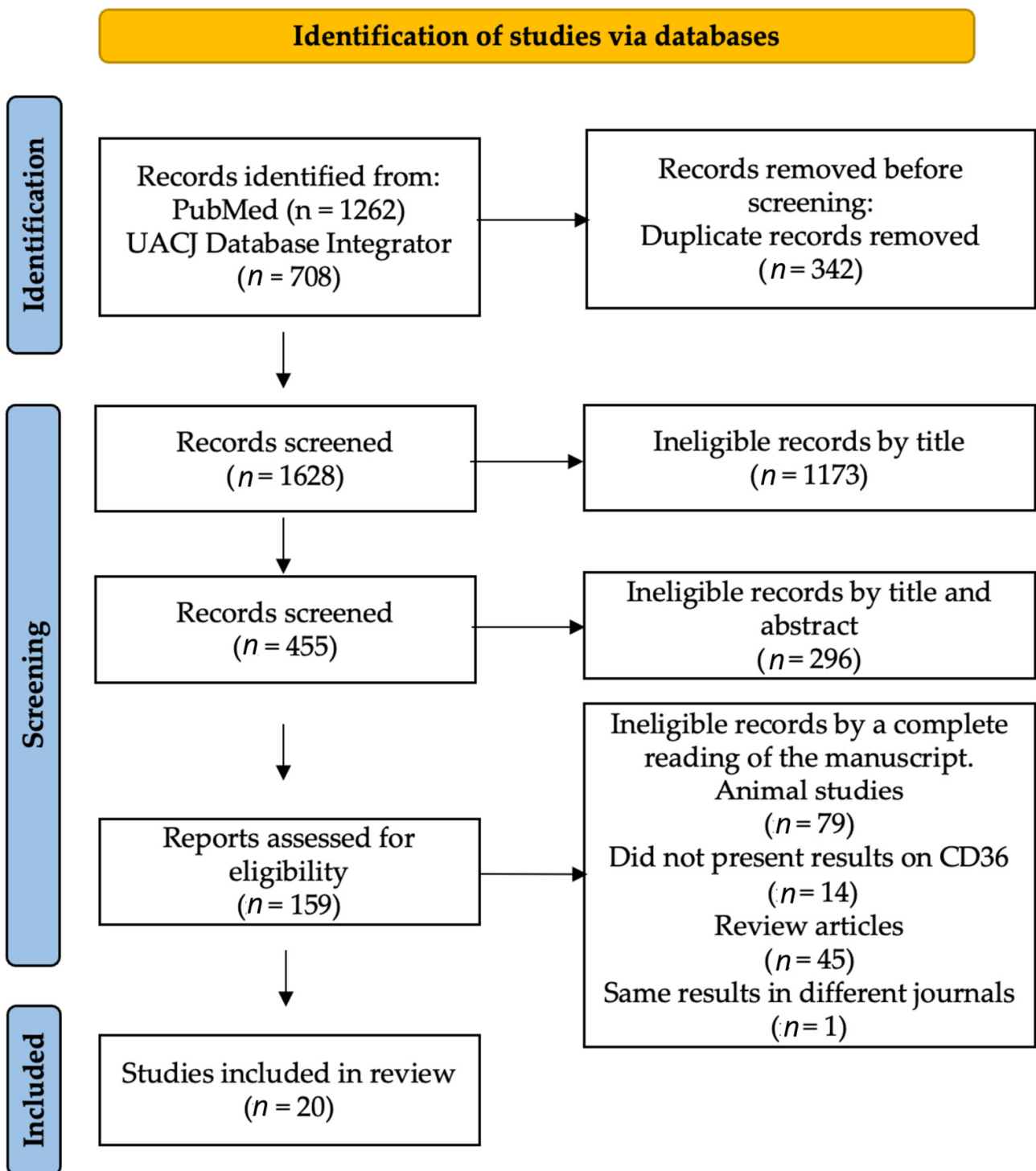


Figure 1. Flow of information through the different phases of a systematic review.

**Table 1.** Selected manuscripts according to the inclusion and exclusion criteria.

Author and Year of Publication	Design/Participats	Purpose of the Study	Characteristics of the Intervention	Output
Arkininstall, et al., 2004 [1]	Cross-sectional study. Seven males moderately trained in cycling: age = 35 ± 5 y, BM = 80.3 ± 9.5 kg.	To quantify the acute effect of HCD (77.7%) and LCD (7.7%) on energy metabolism genes transcription.	Glycogen depletion and HIIT: 2 min 95% and 2 min 55% of VO <sub>2</sub> peak. LCD (0.7 g/kg of BM of CHO, 4.4 g/kg BM of fat, 4 g/kg BM of protein) or HCD (10 g/kg BM of CHO, 1 g/kg BM of fat, 1.9 g/kg BM of protein).	FAT/CD36 and UCP3 gene transcriptions in skeletal muscle were increased following an acute LCD.
Baker et al., 2015 [3]	Cross-sectional study. Twelve sedentary and healthy caucasian males: age = 19–27 y. 6 lean: BMI ≤ 24.9 kg/m <sup>2</sup> , and 6 with obesity: BMI ≤ 30 kg/m <sup>2</sup>	Investigate the effects of obesity and HFD exposure on fatty acid oxidation and three carboxylic acids cycle intermediates and amino acids in skeletal muscle.	1 and 5 days of HFD: 65% fat, 15% protein, and 25% carbohydrate and comprise 35% of daily energy intake.	HFD increase skeletal muscle FAT/CD36 levels in obese but not in the lean individuals.
Bergouignan et al., 2012 [22]	Cross-sectional study. Nineteen healthy participants from 20–45 y: 9 lean men: BMI = 19–25 kg/m <sup>2</sup> , and 10 females with obesity: BMI = 30–40 kg/m <sup>2</sup>	To test that obese non-diabetic humans have an impaired ability to adapt to an HFD.	Isocaloric LFD (20% of energy) and isocaloric HFD (50% of energy).	The expression of skeletal muscle PDK 4, FAT/CD36 and AMPK increased during HFD in both lean and obese individuals during HFD.
Cameron-Smith et al., 2003 [23]	Crossover design. Fourteen well-trained males: age = 26.9 ± 1.7 y, BM = 73.7 ± 1.7 kg.	To determine the effect of HFD on genes expression for FATP and β-oxidation in skeletal muscle.	Five days of HFD (>65% lipids) or HCD (70–75% carbohydrate).	FAT/CD36 and β-HAD gene expression and FAT/CD36 gene abundance were greater after HFD vs. HCD.
Cheng et al., 2009 [24]	Crossover design. Eight healthy males: 22.5 ± 0.3 y, BMI = 22.7 ± 0.5 kg/m <sup>2</sup> .	To determine the effect of meal GI on GLUT4 and FAT/CD36 gene expressions in human skeletal muscle after a single bout of exercise.	60-min cycling exercise at 75% of VO <sub>2</sub> max, and an isocaloric meal of HGI or LGI with similar proportions of carbohydrate, fat, and protein.	FAT/CD36 mRNA and protein levels were decreased with the HGI vs. LGI meal but not by acute exercise. GLUT4 mRNA was downregulated by both HGI and LGI diets.
Frandsen et al., 2022 [9]	Prospective study. Fourteen well-trained cyclists male. Seven younger: age = 30 ± 5 y, BM ~77 kg, and 7 older: age 65 ± 6 y, BM ~70 kg.	To examine the physiologic and metabolic impact of repeated prolonged moderate intensity exercise (7–10 h/day for 15 consecutive days at ~63% HR maximal in two cohorts of younger and old cyclists.	3000 km of cycling from Copenhagen, Denmark, to Palermo, Italy over 15 days.	Fifteen days of extreme endurance exercise kept skeletal muscle FAT/CD36 and FABP4 unchanged.
Gerling et al., 2014 [25]	Prospective simple blind randomized study. Thirty healthy, recreationally active males, age ~21 y, BMI ~24.6 kg/m <sup>2</sup> . 21 intake omega-3 and 9 placebo.	To examine the effects of EPA and DHA supplementation on whole-body RMR and the content of proteins involved in fat metabolism in human skeletal muscle.	12 weeks of 3.0 g/day of EPA and DHA or olive oil.	Twelve weeks of 3.0 g/day of EPA and DHA did no change whole-body fat oxidation, and skeletal muscle mitochondrial content of FAT/CD36, FABP4, FATP 1, and FATP4.
Greene et al., 2012 [26]	Prospective study. Sixteen sedentary overweight and obese participants: 9 men, age = 41 ± 2 y, BMI = 32.0 ± 2.3 kg/m <sup>2</sup> ; 7 women, age 52 ± 2 y, BMI = 31.9 ± 1.7 kg/m <sup>2</sup> .	To determine the association of skeletal muscle PPAR content with blood lipids and lipoproteins before and after exercise.	A single session or 12-week program (3 session/day) of land or water treadmill training. 250–500 kcal/ session, 60–85% of VO <sub>2</sub> max.	A single exercise session, but not exercise training, increases the FAT/CD36, PPAR, PGC-1, and LPL content in skeletal muscle.

**Table 1.** *Cont.*

Author and Year of Publication	Design/Participants	Purpose of the Study	Characteristics of the Intervention	Output
Heilbronn et al., 2007 [27]	Cross-sectional study. Five men and twelve women sedentary and nonsmoking. 9 with (FHD-2): age = $46 \pm 6$ y, BMI = $26.6 \pm 5.3$ kg/m <sup>2</sup> , and 8 without FHD-2: age = $41 \pm 7$ y, BMI = $26.7 \pm 5.3$ kg/m <sup>2</sup>	To examine whole-body glucose and fat oxidation after a prolonged fast and in response to refeeding a single high-fat meal or high-carbohydrate meal in both groups.	1000-kcal meal, 76% of high-fat, or 76% of high-carbohydrate.	After a single high-fat meal, the individuals with FHD-2 increase the respiratory quotient and decrease FAT/CD36, CPT1, and PGC1 $\alpha$ gene expression in skeletal muscle.
Holloway et al., 2006 [11]	Cross-sectional study. Fifteen healthy, recreationally active individuals. 10 males and 5 females: age = $22 \pm 1$ y, BMI = $24 \pm 1$ kg/m <sup>2</sup> .	To investigate the effects of exercise on CPTI, palmitoyl-CoA and Malonil-CoA kinetics, on the presence and functional significance of FAT/CD36 on skeletal muscle mitochondria.	120 min of cycling at ~60% VO <sub>2</sub> peak	Whole body fat and palmitate oxidation rates in isolated mitochondria progressively increased during exercise and were correlated ( $r = 0.78$ ). Skeletal muscle FAT/CD36 protein increased by 63% during exercise and was correlated with mitochondrial palmitate oxidation rates ( $r = 0.52$ ).
Holloway et al., 2007 [28]	Cross-sectional study. Eighteen nondiabetic women. 9 lean: age = $47 \pm 3$ y, BMI < 27 kg/m <sup>2</sup> ; and 9 with obesity: age = $45 \pm 3$ y, BMI $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup> .	To examine whether the obesity-related decreases in skeletal muscle lipid oxidation are attributable to (1) a reduction in mitochondrial content and/or (2) an intrinsic defect in mitochondria, and (3) whether there are reductions in the content of mitochondrial FATP	NA	Skeletal muscle FAT/CD36 did not differ in lean and obese individuals but was correlated with mitochondrial fatty acid oxidation ( $r = 0.67$ ). Obesity did not alter the ability of isolated mitochondria to oxidize palmitate; however, fatty acid oxidation was reduced at the whole muscle level by 28% in the obese. Three days of a HFD (77% fat) decreased insulin sensitivity but was not associated with a relocation of FAT/CD36 or FABP4 protein to the skeletal muscle sarcolemma. FAT/CD36 and FABP4 mRNA, but not the proteins, were upregulated by increased fatty acid availability.
Jordy et al., 2014 [29]	Cross-sectional study. Eighteen healthy, moderately trained males: age = $24.4 \pm 0.7$ y, BMI = $23.3 \pm 0.5$ kg/m <sup>2</sup>	To investigate lipid-induced regulation of FABP4 in human skeletal muscle and the impact on insulin sensitivity.	A hypercaloric (175% of estimated daily energy intake) of HFD (77% from fat) or HCD (80% from carbohydrate) for 3 days.	A single 90-min exercise bout increased FAT/CD36 mRNA (25%) and FABP4 mRNA (15%) muscle levels in male and female. FAT/CD36 protein level was 49% higher in women than in men, irrespective of training status. FAT/CD36 mRNA was only higher in untrained women.
Kiens et al., 2004 [30]	Cross-sectional study. Forty six healthy and nonsmoking individuals. 24 eumenorrhic women: age ~26.3 y, body fat ~21.4%; and 22 men: age ~25.3 y, body fat ~13.9%.	To evaluate whether a physical exercise test and sex, influence the FABP4 and skeletal muscle LPL.	An exercise test on a bicycle ergometer at 60% VO <sub>2</sub> peak for 90 min.	A single 90-min exercise bout increased FAT/CD36 mRNA (25%) and FABP4 mRNA (15%) muscle levels in male and female. FAT/CD36 protein level was 49% higher in women than in men, irrespective of training status. FAT/CD36 mRNA was only higher in untrained women.

Table 1. Cont.

Author and Year of Publication	Design/Participats	Purpose of the Study	Characteristics of the Intervention	Output
Maunder et al., 2022 [31]	Cross-sectional. Seventeen endurance-trained male cyclists and triathletes: age $34 \pm 7$ y, BMI = $24.5 \text{ kg/m}^2$ .	To assess relationships between PFO measured during fasted incremental cycling, skeletal muscle FAT/CD36 abundance, endurance performance, and fat oxidation rates during prolonged moderate-intensity fed-state exercise.	Incremental cycling exercise test to evaluate the PFO.	FAT/CD36 abundance in skeletal muscle correlated with PFO ( $R = 0.68$ ) and Citrate Synthase activity ( $R = 0.84$ ).
Perry et al., 2008 [32]	Prospective study. Three females and 5 males: age = $24 \pm 1$ y, BMI ~ $22.7 \text{ kg/m}^2$ .	To investigate the ability of 6 wk of HIIT (18 h at 90% of $\text{VO}_2$ peak) to increase the whole-body CHO and Fat oxidation.	6 weeks of cycle-ergometer HIIT: ~1 h of $10 \times 4$ min intervals at ~90% of peak oxygen consumption ( $\text{VO}_2$ peak), separated by 2 min rest, 3 day·week <sup>-1</sup>	Eighteen sessions, six weeks of HIIT (3 d/wk) increases fat oxidation (60%) and FAT/CD36, B-HAD, FABP4 (14–30%) protein content.
Schenk and Horowitz, 2006 [33]	Prospective study. Fifteen abdominally obese premenopausal health women: age ~30 y, BMI = 30–40 $\text{kg/m}^2$ , waist circumference >100 cm.	To determine the effect of an endurance exercise training and weight loss program (12%) on fat oxidation and the colocalization of the fatty acid translocase FAT/CD36 with CPT1 in human skeletal muscle. To examine the effects of seven HIIT sessions over 2 wk on skeletal muscle fuel content, mitochondrial enzyme activities, fatty acid transport proteins, $\text{VO}_2$ peak, and whole body metabolic, hormonal, and cardiovascular responses	Caloric intake 500–800kcal/day below that required to maintain body weight. 45 min 3 d/wk of stationary bicycle at 70–85% of HRmax.	FAT/CD36 and CPT1 proteins coimmunoprecipitate in skeletal muscle. Weight loss program (diet + exercise) increased the coimmunoprecipitate of these proteins (25%) and total fat oxidation ( $R^2 = 0.857$ ).
Talanian et al., 2007 [34]	Prospective study. Eight healthy recreationally active women: age = $22.1 \pm 0.2$ y, BM = $65 \pm 2.2$ kg.	To examine the effects of seven HIIT sessions over 2 wk on skeletal muscle fuel content, mitochondrial enzyme activities, fatty acid transport proteins, $\text{VO}_2$ peak, and whole body metabolic, hormonal, and cardiovascular responses	Seven HIIT supervised sessions in 13 days: ten 4-min cycling bouts at 90% of $\text{VO}_2$ peak separated by 2 min of rest.	There were increased whole body fat oxidation and muscle skeletal FABP4, whereas FAT/CD36 content was unaffected.
Talanian et al., 2010 [35]	Prospective study. Ten healthy females: age = $22 \pm 1$ y, BM = $65 \pm 2$ kg, $\text{VO}_2$ peak = $2.82 \pm 0.14$ L/min.	To determine whether HIIT increased total skeletal muscle, sarcolemmal, and mitochondrial FABP contents.	Three days/wk, completing 18 supervised training sessions in 6 wk: ten 4-min cycling bouts at 90% $\text{VO}_2$ peak separated by 2 min of rest.	HIIT (3 d/wk for 6 wk) increased the mitochondrial (51%) and whole skeletal muscle amount (10%) of FAT/CD36 without alterations in sarcolemmal content. Whole muscle FABP4 increased in 48%. Sarcolemmal FABP4 increased in 23%, whereas mitochondrial FABP4 was unaltered.

**Table 1.** *Cont.*

Author and Year of Publication	Design/Participants	Purpose of the Study	Characteristics of the Intervention	Output
Tunstall et al., 2002 [36]	Cross-sectional and prospective study. Seven healthy untrained individuals: 3 male and 4 female, age = 20–42 y, BMI = 17–26 kg/m <sup>2</sup>	To study the effects of a single bout of exercise and exercise training on the expression of genes necessary for the transport and β-oxidation of FAs, together with the gene expression of transcription factors implicated in the regulation of FA homeostasis.	9-day of 60 min cycling per day at 63% VO <sub>2</sub> peak.	Nine consecutive days of aerobic training (63% of VO <sub>2</sub> peak) increased total lipid oxidation and expression of FAT/CD36 and CPT I mRNA during 1-h cycling bout in skeletal muscle.
Warren et al., 2020 [37]	Prospective study. Fourteen premenopausal women: age = 31.2 ± 6.7 y, BMI = 26.6 ± 5.1 kg/m <sup>2</sup>	To assess the effects of aerobic exercise training on skeletal muscle mitochondrial function and markers of lipid metabolism.	Three days per week for 8–16 weeks: 20–40 min, 67–80% of maximal HR.	8–16 weeks of aerobic exercise training increase skeletal muscle FAT/CD36 content and mitochondrial respiratory capacity proportionally.

β-HAD = β-hydroxy acyl-CoA dehydrogenase, AMPK = 5-AMP-activated protein kinase, BM = Body mass, BMI = Body Mass Index, CHO = Carbohydrate, CoA = Coenzyme A, CPT = Muscle Carnitine Palmitoyl Transferase, CPT1 = Carnitine Palmitoyl Transferase 1, DHA = Docosahexaenoic acid, EPA = Eicosapentaenoic acid, FABP4 = Muscle Fatty Acid Binding Protein, FAT/CD36 = Fatty Acid Translocase/Cluster of Differentiation 36, FATP = Long-chain Fatty Acid Transport Protein, FAs = Fatty acids, FHD-2 = Family history of diabetes type 2, GI = Glycemic Index, GLUT4 = Glucose transporter 4, HCD = High carbohydrate diet, HIIT = High intensity interval training, HFD = High fat diet, HGI = High Glycemic Index, HR = Heart rate, LCD = Low carbohydrate diet, LFD = Low fat diet, LGI = Low Glycemic Index, LPL = Lipoprotein Lipase, NA = No accreditation, PDK = Pyruvate Dehydrogenase Kinase, PFO = Peak Fat Oxidation, PGC = Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator, PPAR = Peroxisome proliferator-activated receptors, RMR = Resting metabolic rate, VO<sub>2</sub> max = Maximal oxygen uptake, UCP = Uncoupled Protein, VT = Ventilatory threshold. For more information, see the list of abbreviations.

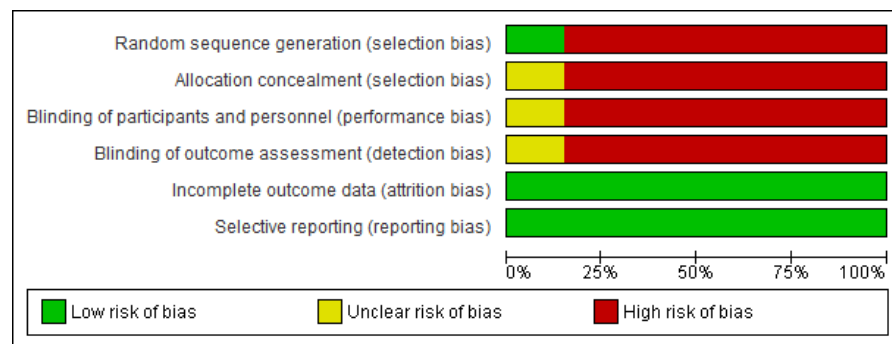
### 3.2. Interventions Analysis

Only three authors mention having performed a randomization of the participants, one of them blind selection (Figures 2 and 3). Moreover, according to the STROBE criteria, to qualify the strength and studies' weaknesses, all of them obtained a score of 19/22. The three main weaknesses were:

- the lack of information on the eligibility criteria;
- not mentioning the measures taken to avoid or reduce possible bias, and;
- not explaining how to determine the sample size and randomization.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)
Arkinstall 2004	-	-	-	-	+	+
Baker 2015	-	-	-	-	+	+
Bergouignan 2012	-	-	-	-	+	+
Cameron-Smith 2003	+	-	-	-	+	+
Cheng 2009	-	-	-	-	+	+
Frandsen 2022	-	-	-	-	+	+
Gerling 2014	+	+	?	?	+	+
Greene 2012	-	-	-	-	+	+
Heilbronn 2007	-	-	-	-	+	+
Holloway 2006	-	?	?	?	+	+
Holloway 2007	-	-	-	-	+	+
Jordy 2014	+	?	?	?	+	+
Kiens 2004	-	-	-	-	+	+
Maunder 2022	-	-	-	-	+	+
Perry 2008	-	-	-	-	+	+
Schenk 2006	-	-	-	-	+	+
Talanian 2007	-	-	-	-	+	+
Talanian 2010	-	-	-	-	+	+
Tunstall 2002	-	-	-	-	+	+
Warren 2020	-	-	-	-	+	+

Figure 2. Risk of bias summary: review authors' judgements about each risk of bias item for each included study [1,3,9,11,22–37].



**Figure 3.** Risk of bias graph: review authors' judgements about each risk of bias item presented as percentages across all included studies.

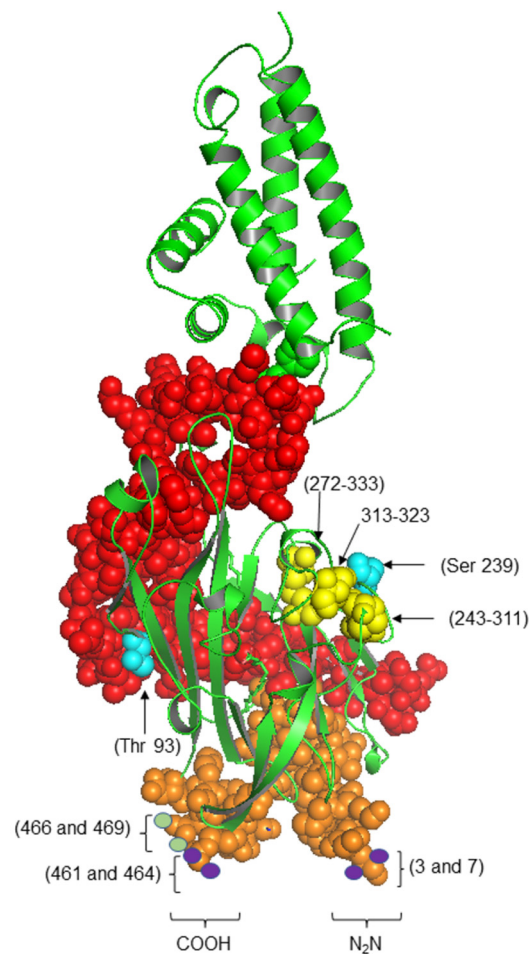
However, due to the nature of most studies (basic science, and assessing biological mechanisms), we do not consider that these three criteria biased the results, much less that it detracts from the studies quality.

Regarding diet, cross-sectional (five studies with 73 individuals) and crossover (one study with 14 individuals) design studies show that a high-fat meal increases the gene expression and abundance of the FAT/CD36 protein in skeletal muscle in lean and obese individuals. High glycemic index (HGI) meal decreases FAT/CD36 mRNA and protein levels (one study with 8 individuals). Regarding physical exercise, short sessions of endurance training and HIIT type increased the expression and amount of FAT/CD36 protein in skeletal muscle (eight studies with 116 individuals). The expression and quantity of the FAT/CD36 protein were associated with the activation of genes, increases in the synthesis and activation of FAs transport proteins, oxidation of fatty acids, hydrolysis of lipids and intermediates; among them, Uncoupled protein 3 (UCP3) gene, FABP4, Long-chain Fatty Acid Transport Protein 1 and 4 (FATP 1, FATP 4), Carnitine Palmitoyl Transferase 1 (CPT 1),  $\beta$ -hydroxy acyl-CoA dehydrogenase ( $\beta$ -HAD), muscle lipoprotein lipase (mLPL), Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR), nuclear-encoded protein peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator (PGC) 1, Pyruvate Dehydrogenase Kinase (PDK) 4, Citrate Synthase (CS), 5-AMP-activated protein kinase (AMPK), Extracellular Signaling Receptor Kinase (ERK), and Protein Kinase C (PKC).

#### 4. Discussion

##### 4.1. Characterization and Localization of FAT/CD36

Several FAs transport proteins work together, including FABPs, the FATP family, and FAT/CD36. They all facilitate the uptake and transport of FAs across the plasma and mitochondrial membranes and their subsequent oxidation, where FAT/CD36 is the main LCFAs transport protein in sarcolemma and mitochondrial membranes [10,38]. The multi-functional human protein FAT/CD36 (Figure 4) is an 88 kDa transmembrane glycoprotein, a member of a superfamily of Scavenger Receptor Proteins class B (SR-B) [39]; the gene is located on chromosome 7 (7q11.2). FAT/CD36/SR-B2 is encoded by 15 exons and is formed by a single chain of 472 amino acids [40,41]. It has two transmembrane areas, two short intracellular domains, a large extracellular loop and a hairpin membrane topology with two transmembrane regions [42]. Both NH<sub>2</sub> and COOH ends are short segments anchored in the cell cytoplasm [42]. Moreover, it has two phosphorylation sites, three external disulfide bridges, and four palmitoylation sites, two at the NH<sub>2</sub> and two at COOH terminals. The last part of the protein is the COOH terminal domain of FAT/CD36, which contains two ubiquitination sites [41].

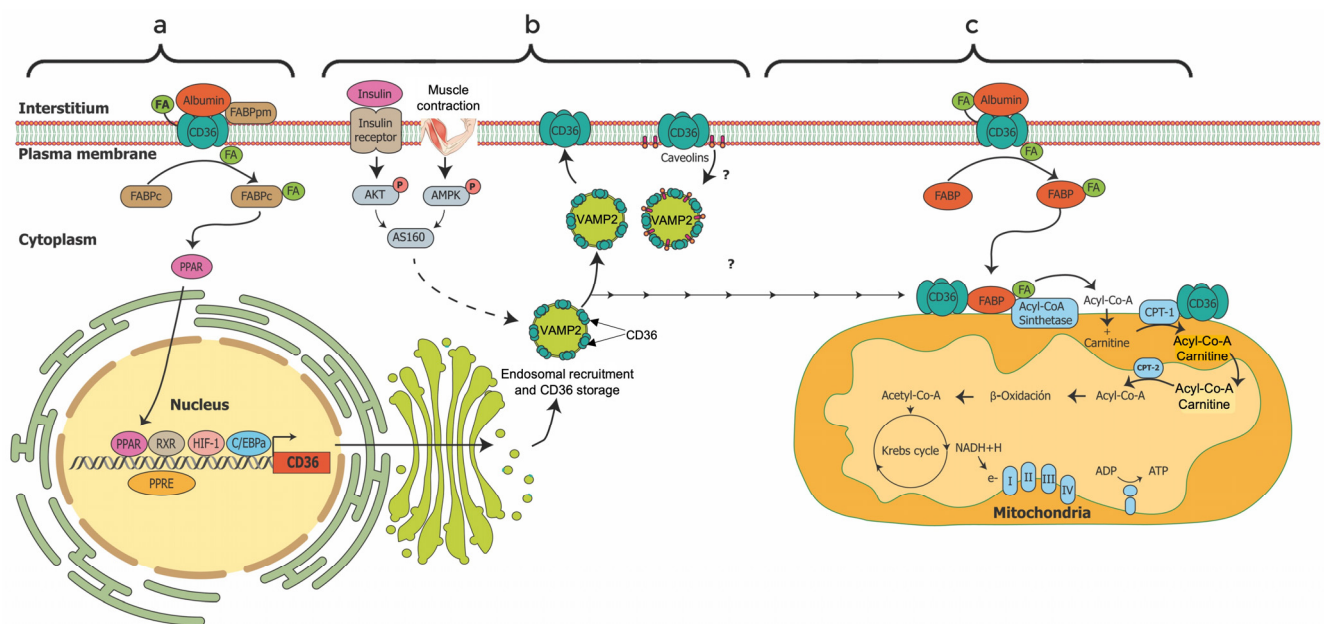


**Figure 4.** Three-dimensional structure of FAT/CD36 protein. The image represents the sites of the functional relevance of the FAT/CD36 protein. In orange, the intracellular amino and carboxyl-terminal domains, two phosphorylation sites (blue), four palmitoylation sites (purple), three disulfide bond sites (yellow), and two ubiquity sites (green). In red, the hydrophobic pocket is represented through which the fatty acids are presumed to be transported to the outer membrane—a model designed with 5LGD: X-ray Diffraction, 2.07 Å. “The CIDRa domain from MCvar1 PfEMP1 bound to CD36” data deposited and modeling in the SWISS-MODEL database. The graphs were visualized in the PyMOL 4.6.0. program.

FAT/CD36 is expressed in various tissues, such as the liver, heart, skeletal muscle, adipose tissue, endothelium, and blood cells [42,43]. Schenk and Horowitz reported in 2006 that FAT/CD36 and CPT1 proteins coimmunoprecipitate in skeletal muscle [33] so both are found in the outer mitochondrial membrane. Later in 2011, Smith et al. demonstrate that FAT/CD36 is positioned on the outer mitochondrial membrane, upstream of long-chain acyl-CoA synthetase activating FAs [44]. In 2022, Zeng et al. confirmed that FAT/CD36 is positioned on the upstream of long-chain acyl-CoA synthetase, thereby contributing to the FAs activation and regulation of mitochondrial Fas transport [45]. Nevertheless, FAT/CD36 is not in mitochondrial contact sites nor directly interacting with CPT-1, but with the FAs in order to activate them and, in turn, increasing the maximal transport (V<sub>max</sub>) of long-chain fatty acid (LCFAs) [46,47]. Its translocation to the mitochondria is like the sarcolemma (Figure 5b). At rest, FAT/CD36, similarly to other proteins (GLUT4), are generally found intracellularly in lipid rafts (VAMP2, a vesicle-associated membrane protein isoform) [42,43], which translocate to their sites of action upon stimulus. During an acute high-fat diet, physical exercise, and muscle contraction, FAT/CD36 is translocated from intracellular sites to the plasma and mitochondrial membrane, induced by several molecules such as insulin, Ca<sup>2+</sup>, AMPK, ERK, and Protein Kinase C (PKC) [48–50] (Figure 5).



Later, under new resting conditions, FAT/CD36 interacts with caveolins in the sarcolemma for its invagination and recovery in plasma.



**Figure 5.** (a). Regulation of FAT/CD36 expression. Fatty acids (Fas) internalized into the cytosol are natural ligands of the PPAR transcription factor; this interaction leads to its activation, a condition that induces the transcription of FAT/CD36 through the formation of a heterodimer with “PPAR response element (PPRE)”, the “retinoid X receptor (RXR)”. Additionally, other transcription factors can exert transcriptional control, such as HIF-1 and C/EBP $\alpha$ . (b). Diagram illustrating the feedback of FAT/CD36 expression in musculoskeletal tissue. Under resting conditions, FA internalization induces FAT/CD36 synthesis through the molecular mechanism regulated by the transcription factor PPAR. FAT/CD36 is transported across the endomembrane system and ultimately stored in endosomal vesicles. Under conditions of physical activity, muscle contraction, high fat diet, the presence of insulin or leptin, the movement of endosomal vesicles VAMP2, leading to FAT/CD36 to the plasma membrane is induced, increasing their number and consequently the internalization of Fas and their oxidation and production of ATP in the mitochondria. The model also illustrates a possible mechanism that can explain how FAT/CD36 can be transported and located in the mitochondrial membrane through the vesicular transport mechanism, which would confirm the reports regarding the presence of FAT/CD36 in mitochondrial membranes. (c). Traditional mechanism of facilitated diffusion of fatty acids (FAs). Long-chain FAs are transported from the extracellular space into the cell for esterification in the cytoplasm or oxidation in the mitochondria. FAT/CD36 actively participates in the transport of FAs, first placing them in its “hydrophobic pocket” (not shown), and later, under a Flip-flop mechanism, the Fas on the outer membrane surface are translocated to the inner membrane. Subsequently, by various phosphorylation mechanisms and activation, the Fas are transported to the surface of the mitochondria by FABPs to be activated by Acetyl-CoA-Synthetase, creating the activated form of FAs (acyl-CoA). Through the action of the enzymes CPT-1 and CPT-2, the acyl-CoA will be transported to the mitochondrial matrix for its final oxidation through the biochemical cycles of  $\beta$ -oxidation, the Krebs cycle, and oxidative phosphorylation. Please consult the list of abbreviations.

#### 4.2. Regulation and Functions of FAT/CD36

In a murine model of atherosclerosis, there are formation of foam cells, atherosclerotic plaques, mitochondrial reactive oxygen species high levels, decreased fatty acid oxidation, and LCFA accumulation; all these phenomena are correlated with FAT/CD36 expression. [51,52]. However, in non-pathological conditions, FAT/CD36 (Figure 5) is essential in the homeostasis and trafficking of LCFAs from the interstitial liquid into

cells for subsequent oxidation and ATP production [43]. FAT/CD36 expression, integration into the plasma membrane, and translocation through the cell plasma are highly stimulated by several mechanisms: among them N-linked glycosylation [53], AMPK phosphorylation [54], palmitoylation [45,55], leptin [54], insulin [56,57], high-fat diet [48], LCFAs availability in tissue [10,58], physical exercise [9,36], and muscle contraction [42,56,58,59]

FAT/CD36 function in a wide range of processes not always related to FAs uptake, translocation, and oxidation, as apoptosis, angiogenesis, phagocytosis, thrombosis, inflammation, and atherosclerosis [60]. In 2022, Glats et al. noted that LCFAs transport and oxidation in skeletal muscle are upregulated by the expression, protein synthesis and translocation of FAT/CD36 [10]. Moreover, FAs upregulate the expression and synthesis of FAT/CD36 by the activation of transcription factors PPARs (the preferred ligand of FAs) [61]. With this feedback regulation, the FAT/CD36 would cover most energy demands from lipid sources, especially in metabolically highly active tissues such as skeletal muscle. A close relationship has been observed between AMPK activation, FAT/CD36 translocation to the plasmatic membrane, and the subsequent increase in the capture and oxidation of FAs [62]. However, the mechanisms of this association are unknown. In 2015, Monaco et al. found that FAT/CD36 accumulation and translocation to the plasma membrane is independent of AMPK, but high muscle-contraction accelerates it [63]. In 2017, Momken et al. also found that leptin activate AMPK and induce the membranal plasma translocation of FAT/CD36 increasing FAs uptake and FAs oxidation in mice isolated extensor digitorum longus muscle [54]. However, Xu et al. [64], studying FAs transmembrane movement in HEK293 cells found that FAT/CD36 accelerates the uptake and rapid esterification of FAs without necessary catalyzing the translocation of FAs across the sarcolemmal. That is, FAs transport across the sarcolemmal is mainly through diffusion, a process that does not usually require FAT/CD36. Concluding, FAT/CD36 increase the FAs uptake without necessary cause the translocation of FAs across the plasma membrane. These mechanisms are still under study.

#### 4.3. Gene Expression and Molecular Heterogeneity of FAT/CD36

Defective FAT/CD36 protein has been related to several health problems as obesity, intestinal fat malabsorption, kidney disease, lipotoxic cardiomyopathy, impaired fatty acid metabolism, glucose intolerance, atherosclerosis, arterial hypertension, diabetes, cardiomyopathy, Alzheimer's disease, and multiple sclerosis [41,42,65]. Moreover, various FAT/CD36 post-translational modifications, such as glycosylation, acetylation, phosphorylation, palmitoylation, and ubiquitination, impact its function [66]. Some modifications are related to pathologies' appearance (Table 2). In this sense, there are several Single Nucleotide Polymorphisms (SNPs) at the FAT/CD36 gene related to modifications in protein expression levels, translation, and pathologies of metabolic origin [42]. Furthermore, oxidative stress and a prothrombotic phenotype perturb FAT/CD36 function and induce metabolic diseases as obesity, insulin resistance, diabetes, atherothrombotic disease, chronic kidney disease, neurodegenerative disorders and multiple sclerosis [67,68]. Mutations of the FAT/CD36 gene increase the accumulation of LCFAs in the human heart [69]. Concerning physical activity, Jayewardene et al. report a potential pleiotropic influence of FAT/CD36 SNPs, where TT SNP genotypes at rs1527479 and wild-type GG genotypes at rs1984112 were associated with significantly greater whole-body fat oxidation during submaximal exercise [70]. Koonen et al. mention that plasma soluble FAT/CD36 can be used as a metabolic marker for FAs metabolic dysfunction [71].

**Table 2.** Post-translational modifications in FAT/CD36.

Post-Translational Modifications	Impact
Glycosylation	Correct folding, stability, transport to the cell surface, and function of the protein.
Acetylation	The consequences for FAT/CD36 expression and/or functioning have not yet been investigated.
Phosphorylation	This process is linked to FAT/CD36 functioning and regulation of FA utilization in the heart and muscle.
Ubiquitination	Considered to trigger the degradation of FAT/CD36 proteins by directing them to proteasomes in skeletal muscle and adipocyte.
Palmitoylation	Have an impact on the subcellular localization, membrane interactions, and subcellular trafficking of proteins.

#### 4.4. Effect of Physical Exercise and Nutrients on FAT/CD36 Regulation and Energy Expenditure

The other purpose of this systematic review is to collect information regarding the FAT/CD36 protein and its interaction with factors such as physical activity and nutritional issues.

##### 4.4.1. Physical Exercise

Although it does not apply in all circumstances, this work defines physical exercise as any bodily movement carried out consciously to improve health or fitness. Aerobic exercise, also called endurance, can be carried out for long periods at low and moderate intensity (heart rate < 80%), using oxidative metabolic pathways to produce ATP. It is well-established that athletes and women use more fat than carbohydrates at any exercise intensity than sedentary people and men as an energy source; however, these differences are in discussion [72,73]. Regarding this work, the study of FAT/CD36 protein during physical exercise has increased over the last twenty years. On this topic, two thematic reviews have recently been published, one on the FAT/CD36 functions in lipid metabolism and signaling [10] and the other on regulating fat metabolism during aerobic exercise [74]. The first one highlights the importance of FAT/CD36 in cellular lipid homeostasis and its relevance as a target for metabolic modulation therapy in disease. The second provides a fascinating narrative of the FAs transport from the triacylglycerols lipolysis in muscle and adipocyte, to the bloodstream, and finally their entry into cells and mitochondria until its oxidation in the mitochondria matrix. In this sense Pelsers et al. [75], and Holloway [47] report that physical exercise is the primary source of increased oxidation of FAs, and a sedentary lifestyle is the leading cause of the imbalance between the entry of FAs and their oxidation in the mitochondria, increasing the accumulation of TAG in skeletal muscle and producing insulin resistance. LCFAs from the bloodstream are the primary source of skeletal muscle energy during low- and moderate-intensity exercise, especially for the type-1 fibers [75]. As detailed above, LCFAs enter cells via passive diffusion along the concentration gradient across the sarcolemma or facilitated membrane proteins. This facilitated pathway is highly regulated, either for the availability of LCFAs or various complex processes not yet fully understood. The facilitated pathway during the exercise is the top way to meet the energy demand. This section discusses the effect of physical exercise on FAs oxidation, energy expenditure, and the role of FAT/CD36 in skeletal muscle (Table 2).

In a cross-sectional study in 2007, Yanai et al. reported that participants with FAT/CD36 deficiency showed significantly lower ventilatory threshold (VT) than normal participants after 15 min of the incremental exercise test. Moreover, a high correlation ( $R = 0.785$ ) was observed between VT and decreased plasma FAs [76]. Holloway et al. through the Western Blotting technique in mitochondria isolated by centrifugation gradients, report a gradual increase in mitochondrial FAT/CD36 protein content (30–60%) and LCFA transport

and oxidation (radiolabel [ $C^{14}$ ] palmitate) during acute endurance exercise (120 min at 60% of  $VO_2$  peak) in skeletal muscle [11]. Recently in 2022, Maunder et al. found that FAT/CD36 abundance in skeletal muscle correlated with peak fat oxidation ( $R = 0.68$ ) and CS activity ( $R = 0.84$ ) [31]. In 2008, Perry et al., after 18 h of HIIT, reported an increase in the content and activity of oxidative and glycolytic proteins, improving skeletal muscle capacities to oxidize fat and carbohydrate in previously untrained individuals: increased Cytochrome C oxidase IV (Cox-IV, 18%), CS (26%),  $\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase ( $\beta$ -HAD, 29%), aspartate-amino transferase (AST, 26%), pyruvate dehydrogenase (PDH; 21%), FAT/CD36, FABP4, Glucose Transport (GLUT) 4, and monocarboxylate transporter (MCT) 1 and 4 (14–30%) [32]. Moreover Talanian et al. (2007, 2010) note that six weeks of HIIT (ten 4-min cycling bouts at 90%  $VO_2$  peak separated by 2 min of rest) increased FAT/CD36 protein at whole muscle (10%) and mitochondrial levels (51%) in skeletal muscle of untrained females [66]. In 2020, Warren et al. reported that after 8–16 weeks of endurance exercise training (3 days per week, 20–40 min, 67–80% of maximal HR), the FAT/CD36 muscle content and mitochondrial respiratory capacity increased [37]. In 2002, Tunstall et al., after 9-day endurance exercise (60 min cycling per day at 63% of  $VO_2$  peak;  $104 \pm 14$  W), detected increased gene expression and protein content of FAT/CD36 and CPT I mRNA during 1-h of cycling bout; this also increased the total lipid oxidation by 24% [36]. In summary, moderate-intensity exercise, HIIT, and aerobic type increase the content and enzymatic activity of proteins responsible for the translocation, transport, and oxidation of FAs. However, the above studies have the weakness of not controlling the participants' diet. The type of diet affects the FAT/CD36 gene transcription and translation and FAT/CD36 protein translocation [24,48] altering the FAs metabolism. These effects will be discussed later. An 8–16-week aerobic exercise training (3 day/wk, 20–40 min, 67–80% of maximal HR) improved FAs oxidation and CD36 mRNA content in skeletal muscle (healthy premenopausal women); the authors conclude that this improvement was primarily due to mitochondrial biogenesis and not intrinsic mitochondrial oxidative enzymes. [37]. However, Warren et al. indirectly measures mitochondrial biogenesis by high-resolution respirometry (Oroboros Oxygraph O2K). The above observations must be reinforced by analyzing a larger group of proteins related to the signaling pathways of mitochondrial biogenesis, such as nuclear respiratory factor-1 (NRF-1), NRF-2, and estrogen-related receptor- $\alpha$  (ERR- $\alpha$ ), and by the increase in expression of TFAM, the final effector of mtDNA transcription and replication. In addition, confocal microscopy could also more accurately quantify mitochondrial populations in muscle tissue.

There are no differences in LCFA oxidation and FAT/CD36 protein mitochondrial content between lean and obese people, and it seems that obesity does not alter the ability of skeletal muscle mitochondria to oxidize FAs at rest and during exercise. However, the systemic inflammation productid by obesity disturbs the immune system, activating the macrophages and altering de FAT/CD36 signaling pathways [77]. Holloway et al. (2007) and Holloway, Bonen, and Spriet (2009) report that there is a lower enzymatic activity of  $\beta$ -HAD, CS, and Cox IV, content and, therefore, lower palmitate oxidation in skeletal muscle of obese vs. lean women, but similar FAT/CD36 protein content; however, FAT/CD36 protein content was positively correlated with mitochondrial fatty acid oxidation ( $r = 0.67$ ,  $p < 0.05$ ) [28,47]. In 2012, Greene et al. report that after twelve weeks of endurance treadmill exercise (3 sessions/wk, progressing to 500 kcal/session) there is an increase in FAT/CD36, CPT I, Cox IV, LPL, PPAR- $\delta$  and PGC-1 $\alpha$  protein content in overweight and obese men and women [26]. Therefore physical exercise is necessary for a healthy oxidative metabolism because it acutely and chronically increases lipid oxidation, stimulating various genes that control mitochondrial function and oxidative metabolism.

Frandsen et al. recently reported that the response of energy metabolism to one long-duration aerobic exercise is different between old and younger men [9]. During a bicycle race (36 and 40 h), the energy balance decreased more in young than older men. After the race the  $VO_2$  max and heart rate, but not FAs oxidation, were only reduced in old men. Furthermore, maximal fat oxidation (MFO), FAs oxidation, and plasma FAs decrease more

in young men. After the race, the FAT/CD36, FATP-4 proteins, and the intramuscular triacylglycerols increase significantly in older men but not in the younger [9]. In other words, there is an apparent central adaptation to long-duration and extreme exercise in adults vs. young, observed by a decrease in heart rate at the end of the race in adults. However, physical exhaustion was higher in adults, observed by the decrease in  $\text{VO}_2$  max. Both groups improved insulin and leptin sensitivity, observed by a decrease in plasma concentrations of both. However, the concentrations of FAs in plasma and its maximum oxidation decreased. FAT/CD36 and FATP4 proteins increased in adults but not in young people. That means that age modifies adaptations to physical exercise. Clinically, this may suggest that treatments to increase fat energy expenditure are very specific between different populations.

Regarding the sex differences, Kiens et al. found that FAT/CD36 mRNA and FAT/CD36 protein in skeletal muscle increase by acute exercise, and is higher in women than in men, irrespective of training status [30]. The differences in muscle fiber-type specific contents could partly explain the sex differences in FAT/CD36 expression and FAs oxidation. A well-recognized sex difference (sexual dimorphism) in skeletal muscle morphology and metabolism exists, as skeletal muscle tissue tends to contain more type I muscle fibers in females vs. males [73,78]. In contrast, the proportion of type IIA or both IIA and IIX is more remarkable in men [79]. Moreover, the sex-specific differences in skeletal muscle FAT/CD36 protein content could also partly be due to the higher  $\beta$ -oxidation enzymes content and LCFA flux in females vs. males [73,80], promoting the gene expression and synthesis of FAT/CD36. In short, skeletal muscle FAT/CD36 protein content depends on muscle fiber-type composition, sex, and training status. However, based on respiratory exchange ratio (RER) and respiratory quotient (RQ) Roepstorff et al. report no sex difference in the relative contribution of carbohydrates and lipids to the oxidative metabolism across the leg (vastus lateralis) at rest and during submaximal exercise (90 min, 58% of  $\text{VO}_2$  peak) [81].

#### 4.4.2. Diet

Various animal studies show that cellular and body energy metabolism is modified by food and diet, where FAT/CD36 protein plays a significant role in this process. Moreover, differences in macronutrient composition and dietary glycemic index (GI) are sufficient to alter fat metabolism. This section discusses the literature on the relationship between FAT/CD36 in human skeletal muscle, meal, and diet.

FAT/CD36 gene transcription, translation and protein content and translocation are sensitively regulated by food and diet. In 2004, Arkinstall et al. found that after two isoenergetic meals [(235 kJ/kg of body mass (BM)), the low-carbohydrate diet (0.7 g/kg BM of CHO, 4.4 g/kg BM of fat, 4 g/kg BM of protein) vs. the high-carbohydrate diet (10 g/kg BM of CHO, 1 g/kg BM of fat, 1.9 g/kg BM of protein) increases the mRNA abundance of FAT/CD36, hormone-sensitive lipase (HSL),  $\beta$ -HAD, and uncoupling binding protein-3 (UCP3) in skeletal muscle [48]. In 2003, Cameron-Smith et al. found that one acute (48–120 h) fat diet (>65% of daily energy) increases the skeletal muscle gene expression of FATP, FAT/CD36, and  $\beta$ -HAD [23]. In 2014, Jordy et al. found an increase in intramuscular triacylglycerol content, HOMA-IR-Index and mRNA content of FAT/CD36 and FABP4 after three days of hypercaloric and high-fatty diet (175% of energy of estimated daily energy intake, 77% from fat) [29]. In 2015, Most et al. found that acute green tea intake (epigallocatechin-3-gallate; 282 mg/day) increases FAT/CD36 expression in adipose tissue, but not muscle lipolysis, whole-body-fat oxidation nor energy expenditure in overweight individuals [82]. In 2014, Gerling et al. reported an increase in resting metabolic rate (5.3%) via an increase in UCP3 long form (11%), without changes in mitochondrial FAT/CD36 and mitochondrial biogenesis after for 12 weeks of Omega-3 supplementation (3.0 g/day) in healthy young men [25].

The association between food intake and caloric expenditure is also due to hormonal changes, induced by food effect on the entire body, e.g., leptin is a central and peripheral glucose and lipid regulator. In the brain, leptin regulates feeding and

energy expenditure [83]. Animal and human studies have shown that obesity and high-fat diet induce leptin and insulin resistance [84,85]. Leptin activates AMPK and induces FAT/CD36 protein translocation to the plasma membrane, stimulating the uptake and oxidation of FAs and increasing energy expenditure [54,86]. The uptake and oxidation of FAs by leptin must activate processes other than AMPK phosphorylation since AMPK phosphorylation alone does not increase FAs oxidation [54]. In 2006 and 2009, Schenk et al. reported increases in resting whole-body fat oxidation and skeletal-muscle oxidative capacity after physical exercise; besides, FAT/CD36 content strongly correlated with the increase in whole-body fat oxidation ( $R^2 = 0.857$ ) after losing 12% of body weight by exercise and diet (stationary bicycle ergometer for 35–45 min, 70–80% of maximal heart rate, four days/week; 55% carbohydrate, 25% fat, and 20% protein; 500–800 kcal/day below that required to maintain body weight) but not by diet only [86,87]. Cheng et al. mentioned that FAT/CD36 mRNA and protein levels in skeletal muscle decrease below baseline after moderate exercise (60 min, 75%  $VO_2$ max) and a high-glycemic-index diet (70% carbohydrate, glycemic index = 76.6), but not after the only diet in healthy males [24]. Bergouignan et al. (2012) report that the ability to adapt to an acute increase in dietary fat is not impaired in obesity [22]. On the other hand, in 2008 Corpeleijn et al. found no differences in skeletal muscle FAT/CD36 and FABP4 content at the basal level between obese men with and without impaired-glucose tolerance (IGT) [87]. Moreover, skeletal muscle FAT/CD36 protein but not FABP4 increased 1.5-fold after 3 h of insulin-stimulation, similarly between obese men with and without IGT. The above confirms the specific participation of insulin in the intracellular regulation of FAT/CD36 protein concentrations. Moreover, Heilbronn et al. report that subjects with a family history of type 2 diabetes had an impaired ability to increase FAs oxidation in response to a high-fat meal [27]. This inability was related to impaired activation of genes involved in lipid metabolism, including those for PGC1 $\alpha$  and FAT/CD36 proteins. In 2010, Corpeleijn et al. found an insignificant  $-1.9\%$  in fat oxidation in 722 European obese subjects with SNP-78A > C FAT/CD36 (rs2232169) in the fasting state but not after a high-fat diet; 95% energy of fat (60% saturated fat, energy content 50% of estimated resting energy expenditure) [88]. In 2010, Bokor et al. report that four FAT/CD36 SNPs (rs3211908, rs3211867, rs3211883, and rs1527483) were associated with a high risk of obesity in adolescents (OR: 1.73–2.42) [89]. In 2015, Baker et al. found that skeletal muscle mRNA content for genes involved in  $\beta$ -oxidation and mitochondrial biogenesis is low in obese vs. non-obese individuals [3]. Moreover, a high-fat diet increases the concentrations of CS, CPT-1, PDK4, FAT/CD36, UCP-3, Nuclear Receptor Coactivator (NCOA) 1, NCOA2, and transcription factors PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$ , PPAR $\gamma$ , and PGC [3]. Therefore, genetic variability is also associated with FAs oxidation, energy expenditure and body weight changes.

## 5. Conclusions

The synthesis, activity, and translocation of FAT/CD36 protein increase the transport of LCFAs from the blood into the cell and mitochondria for its subsequent oxidation and ATP production; however, its exact transport mechanism has not been elucidated. FAT/CD36 is highly regulated by high-fat diet, physical exercise, LCFAs,  $Ca^{2+}$ , AMPK phosphorylation, and leptin. Polymorphisms and defects in FAT/CD36 transcription and translation alter normal lipid metabolism, producing obesity, metabolic syndrome, atherosclerosis, arterial hypertension, diabetes, cardiomyopathy, Alzheimer's disease, and multiple sclerosis. Cross-sectional and Crossover design studies show that a high-fat meal and physical exercise increases the expression and amount of the FAT/CD36 protein in skeletal muscle. Moreover, the expression and quantity of the FAT/CD36 protein in skeletal muscle were associated with improvement in the activation of genes, synthesis and activation of FAs transport proteins, FAs oxidation, and lipids hydrolysis. Some studies show that people with obesity have a lower oxidative capacity, but FAs oxidation and FAT/CD36 content are not affected; studies to confirm this is lacking. Women present

higher FAs oxidation and FAT/CD36 protein content than men; studies which confirm this are lacking. In summary, the studies reviewed here indicate that an acute and chronic high-fat diet (50–70% of lipids) and/or endurance exercise (<80% of HR) increase the human skeletal muscle FAT/CD36 mRNA and protein content; its translocation to the cell membrane and mitochondria increases lipid oxidation. Due to the small amount of work, subjects studied, and different methodologies used, the results are not conclusive. Moreover, weight loss treatments should be individualized and consider genetic factors, sex, age, nutritional status, and physical fitness, thus favoring a healthy oxidative metabolism and nutritional status.

## 6. Limitations

Due to the type of analysis in most of the works (cell biology), the sample size is still small, for which a subsequent meta-analysis is necessary to improve the strength of the results.

**Supplementary Materials:** The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/jcm12010318/s1>, Table S1: Output of the included manuscript; Table S2: STROBE method.

**Author Contributions:** Conceptualization and methodology, R.A.Z.-L. and A.R.-J.; methodology, formal analysis, A.R.-J.; investigation, A.R.-J. and R.A.Z.-L.; resources, A.R.-J.; writing—original draft preparation, R.A.Z.-L., A.R.-J., V.M.-B. and E.G.-R.; writing—review and editing, A.R.-J.; supervision, A.R.-J.; project administration, A.R.-J.; funding acquisition, A.R.-J., V.M.-B. and E.G.-R. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Funding:** This research received no external funding.

**Institutional Review Board Statement:** Not applicable.

**Informed Consent Statement:** Not applicable.

**Data Availability Statement:** The data is available at: [https://www.dropbox.com/sh/taf4k3tasuxrzv/AAAdfyFE1beP3In5U-t7\\_23a?dl=0](https://www.dropbox.com/sh/taf4k3tasuxrzv/AAAdfyFE1beP3In5U-t7_23a?dl=0) (accessed on 15 April 2022).

**Acknowledgments:** R.A.Z.-L. was supported by a MSc scholarship from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). However, the institution did not participate in the study design or manuscript preparation. Thanks to Rosa P. Hernández Torres and Joel Isai Ramos Hernández for review the final manuscript.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## Abbreviations

$\beta$ -HAD	$\beta$ -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase
AMPK	5-AMP-activated protein kinase
CPT 1	Carnitine Palmitoyl Transferase 1
CS	Citrate Synthase
Cox IV	Cytochrome C oxidase IV
ERK	Extracellular Signaling Receptor Kinase.
FABP	Fatty Acid-Binding Protein
FABP	Plasma Membrane Fatty Acid-Binding Protein.
FAs	Fatty acids
FAT/CD36/SR-B2	Fatty Acid Translocase/Cluster of Differentiation 36/ Scavenger Receptor Proteins class B2
FATP	Long-chain fatty acid transport protein
GLUT	Glucose transport
HFD	High fat diet
HIIT	High intensity interval training
HSL	Hormone-Sensitive Lipase

IGT	Impaired glucose tolerance
LCFAs	Long-chain Fatty acids
LFD	Low fat diet
LPL	Lipoprotein Lipase
MCT	Monocarboxylate Transporter
MFO	Maximal Fat Oxidation
PGC	Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Coactivator
PDK	Pyruvate Dehydrogenase Kinase
PKC	Protein Kinase C
PPAR	Peroxisome Proliferator-Activated Receptors
PPRE	PPAR response element
RER	Respiratory exchange ratio
RQ	Quotient respiratory
RXR	Retinoid X receptor
SNPs	Single Nucleotide polymorphisms
UCP	Uncoupled Protein
VO <sub>2</sub> max	Maximal consumption of O <sub>2</sub>
VT	Ventilatory threshold

## References

1. Powell-Wiley, T.M.; Poirier, P.; Burke, L.E.; Després, J.-P.; Gordon-Larsen, P.; Lavie, C.J.; Lear, S.A.; Ndumele, C.E.; Neeland, I.J.; Sanders, P. Obesity and Cardiovascular Disease: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation* **2021**, *143*, e984–e1010. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Koliaki, C.; Liatis, S.; Kokkinos, A. Obesity and Cardiovascular Disease: Revisiting an Old Relationship. *Metabolism* **2019**, *92*, 98–107. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Baker, P.R., 2nd; Boyle, K.E.; Koves, T.R.; Ilkayeva, O.R.; Muoio, D.M.; Houmard, J.A.; Friedman, J.E. Metabolomic Analysis Reveals Altered Skeletal Muscle Amino Acid and Fatty Acid Handling in Obese Humans. *Obes. Silver Spring MD* **2015**, *23*, 981–988. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Garvey, W.T.; Mechanick, J.I.; Brett, E.M.; Garber, A.J.; Hurley, D.L.; Jastreboff, A.M.; Nadolsky, K.; Pessah-Pollack, R.; Plodkowski, R. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Comprehensive Clinical Practice Guidelines For medical Care of Patients with Obesity. *Endocr. Pract.* **2016**, *22*, 1–203. [[CrossRef](#)]
5. Neeland, I.J.; Poirier, P.; Després, J.-P. Cardiovascular and Metabolic Heterogeneity of Obesity: Clinical Challenges and Implications for Management. *Circulation* **2018**, *137*, 1391–1406. [[CrossRef](#)]
6. Fock, K.M.; Khoo, J. Diet and Exercise in Management of Obesity and Overweight. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **2013**, *28*, 59–63. [[CrossRef](#)]
7. Shaw, K.A.; Gennat, H.C.; O'Rourke, P.; Del Mar, C. Exercise for Overweight or Obesity. *Cochrane Database Syst. Rev.* **2006**, *4*, CD003817. [[CrossRef](#)]
8. Wewege, M.; van den Berg, R.; Ward, R.E.; Keech, A. The Effects of High-Intensity Interval Training vs. Moderate-Intensity Continuous Training on Body Composition in Overweight and Obese Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Obes. Rev. Off. J. Int. Assoc. Study Obes.* **2017**, *18*, 635–646. [[CrossRef](#)]
9. Frandsen, J.; Sahl, R.E.; Rømer, T.; Hansen, M.T.; Nielsen, A.B.; Lie-Olesen, M.M.; Rasmussen, H.K.; Søgaard, D.; Ingersen, A.; Rosenkilde, M.; et al. Extreme Duration Exercise Affects Old and Younger Men Differently. *Acta Physiol. Oxf. Engl.* **2022**, *235*, e13816. [[CrossRef](#)]
10. Glatz, J.F.; Nabben, M.; Luiken, J.J. CD36 (SR-B2) as Master Regulator of Cellular Fatty Acid Homeostasis. *Curr. Opin. Lipidol.* **2022**, *33*, 103. [[CrossRef](#)]
11. Holloway, G.P.; Bezaire, V.; Heigenhauser, G.J.F.; Tandon, N.N.; Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Mitochondrial Long Chain Fatty Acid Oxidation, Fatty Acid Translocase/CD36 Content and Carnitine Palmitoyltransferase I Activity in Human Skeletal Muscle during Aerobic Exercise. *J. Physiol.* **2006**, *571*, 201–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Jauch-Chara, K.; Oltmanns, K.M. Obesity—A Neuropsychological Disease? Systematic Review and Neuropsychological Model. *Prog. Neurobiol.* **2014**, *114*, 84–101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. D'Anneo, A.; Bavisotto, C.C.; Gammazza, A.M.; Paladino, L.; Carlisi, D.; Cappello, F.; de Macario, E.C.; Macario, A.J.L.; Lauricella, M. Lipid Chaperones and Associated Diseases: A Group of Chaperonopathies Defining a New Nosological Entity with Implications for Medical Research and Practice. *Cell Stress Chaperones* **2020**, *25*, 805–820. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Heymsfield, S.B.; Peterson, C.M.; Bourgeois, B.; Thomas, D.M.; Gallagher, D.; Strauss, B.; Müller, M.J.; Bosy-Westphal, A. Human Energy Expenditure: Advances in Organ-tissue Prediction Models. *Obes. Rev.* **2018**, *19*, 1177–1188. [[CrossRef](#)]
15. Boyle, K.E.; Canham, J.P.; Consitt, L.A.; Zheng, D.; Koves, T.R.; Gavin, T.P.; Holbert, D.; Neuffer, P.D.; Ilkayeva, O.; Muoio, D.M.; et al. A High-Fat Diet Elicits Differential Responses in Genes Coordinating Oxidative Metabolism in Skeletal Muscle of Lean and Obese Individuals. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2011**, *96*, 775–781. [[CrossRef](#)]



16. Pepino, M.Y.; Kuda, O.; Samovski, D.; Abumrad, N.A. Structure-Function of CD36 and Importance of Fatty Acid Signal Transduction in Fat Metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* **2014**, *34*, 281. [CrossRef]
17. Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P. From Fat to FAT (CD36/SR-B2): Understanding the Regulation of Cellular Fatty Acid Uptake. *Biochimie* **2017**, *136*, 21–26. [CrossRef]
18. Battaglia, G.M.; Zheng, D.; Hickner, R.C.; Houmard, J.A. Effect of Exercise Training on Metabolic Flexibility in Response to a High-Fat Diet in Obese Individuals. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2012**, *303*, E1440–E1445. [CrossRef]
19. Page, M.J.; McKenzie, J.E.; Bossuyt, P.M.; Boutron, I.; Hoffmann, T.C.; Mulrow, C.D.; Shamseer, L.; Tetzlaff, J.M.; Moher, D. Updating Guidance for Reporting Systematic Reviews: Development of the PRISMA 2020 Statement. *J. Clin. Epidemiol.* **2021**, *134*, 103–112. [CrossRef]
20. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez Biblioteca Virtual (BIVIR): Institutional Database Integrator. Available online: <https://www.uacj.mx/bibliotecas/BIVIR/index.html> (accessed on 15 December 2022).
21. von Elm, E.; Altman, D.G.; Egger, M.; Pocock, S.J.; Gøtzsche, P.C.; Vandenbroucke, J.P. The Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology (STROBE) Statement: Guidelines for Reporting Observational Studies. *Int. J. Surg. Lond. Engl.* **2014**, *12*, 1495–1499. [CrossRef]
22. Bergouignan, A.; Gozansky, W.S.; Barry, D.W.; Leitner, W.; MacLean, P.S.; Hill, J.O.; Draznin, B.; Melanson, E.L. Increasing Dietary Fat Elicits Similar Changes in Fat Oxidation and Markers of Muscle Oxidative Capacity in Lean and Obese Humans. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e30164. [CrossRef] [PubMed]
23. Cameron-Smith, D.; Burke, L.M.; Angus, D.J.; Tunstall, R.J.; Cox, G.R.; Bonen, A.; Hawley, J.A.; Hargreaves, M. A Short-Term, High-Fat Diet up-Regulates Lipid Metabolism and Gene Expression in Human Skeletal Muscle. *Am. J. Clin. Nutr.* **2003**, *77*, 313–318. [CrossRef] [PubMed]
24. Cheng, I.-S.; Liao, S.-F.; Liu, K.-L.; Liu, H.-Y.; Wu, C.-L.; Huang, C.-Y.; Mallikarjuna, K.; Smith, R.W.; Kuo, C.-H. Effect of Dietary Glycemic Index on Substrate Transporter Gene Expression in Human Skeletal Muscle after Exercise. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *63*, 1404–1410. [CrossRef] [PubMed]
25. Gerling, C.J.; Whitfield, J.; Mukai, K.; Spriet, L.L. Variable Effects of 12 Weeks of Omega-3 Supplementation on Resting Skeletal Muscle Metabolism. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* **2014**, *39*, 1083–1091. [CrossRef]
26. Greene, N.P.; Fluckey, J.D.; Lambert, B.S.; Greene, E.S.; Riechman, S.E.; Crouse, S.F. Regulators of Blood Lipids and Lipoproteins? PPAR $\delta$  and AMPK, Induced by Exercise, Are Correlated with Lipids and Lipoproteins in Overweight/Obese Men and Women. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2012**, *303*, E1212–E1221. [CrossRef]
27. Heilbronn, L.K.; Gregersen, S.; Shirkhedkar, D.; Hu, D.; Campbell, L.V. Impaired Fat Oxidation after a Single High-Fat Meal in Insulin-Sensitive Nondiabetic Individuals with a Family History of Type 2 Diabetes. *Diabetes* **2007**, *56*, 2046–2053. [CrossRef]
28. Holloway, G.P.; Thrush, A.B.; Heigenhauser, G.J.F.; Tandon, N.N.; Dyck, D.J.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Skeletal Muscle Mitochondrial FAT/CD36 Content and Palmitate Oxidation Are Not Decreased in Obese Women. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2007**, *292*, E1782–E1789. [CrossRef]
29. Jordy, A.B.; Serup, A.K.; Karstoft, K.; Pilegaard, H.; Kiens, B.; Jeppesen, J. Insulin Sensitivity Is Independent of Lipid Binding Protein Trafficking at the Plasma Membrane in Human Skeletal Muscle: Effect of a 3-Day, High-Fat Diet. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* **2014**, *307*, R1136–R1145. [CrossRef]
30. Kiens, B.; Roepstorff, C.; Glatz, J.F.C.; Bonen, A.; Schjerling, P.; Knudsen, J.; Nielsen, J.N. Lipid-Binding Proteins and Lipoprotein Lipase Activity in Human Skeletal Muscle: Influence of Physical Activity and Gender. *J. Appl. Physiol. Bethesda MD 1985* **2004**, *97*, 1209–1218. [CrossRef]
31. Maunder, E.; Plews, D.J.; Wallis, G.A.; Brick, M.J.; Leigh, W.B.; Chang, W.-L.; Stewart, T.; Watkins, C.M.; Kilding, A.E. Peak Fat Oxidation Is Positively Associated with Vastus Lateralis CD36 Content, Fed-State Exercise Fat Oxidation, and Endurance Performance in Trained Males. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2022**, *122*, 93–102. [CrossRef]
32. Perry, C.G.R.; Heigenhauser, G.J.F.; Bonen, A.; Spriet, L.L. High-Intensity Aerobic Interval Training Increases Fat and Carbohydrate Metabolic Capacities in Human Skeletal Muscle. *Appl. Physiol. Nutr. Metab. Physiol. Appl. Nutr. Metab.* **2008**, *33*, 1112–1123. [CrossRef] [PubMed]
33. Schenk, S.; Horowitz, J.F. Coimmunoprecipitation of FAT/CD36 and CPT I in Skeletal Muscle Increases Proportionally with Fat Oxidation after Endurance Exercise Training. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2006**, *291*, E254–E260. [CrossRef] [PubMed]
34. Talanian, J.L.; Galloway, S.D.R.; Heigenhauser, G.J.F.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Two Weeks of High-Intensity Aerobic Interval Training Increases the Capacity for Fat Oxidation during Exercise in Women. *J. Appl. Physiol. Bethesda MD 1985* **2007**, *102*, 1439–1447. [CrossRef] [PubMed]
35. Talanian, J.L.; Holloway, G.P.; Snook, L.A.; Heigenhauser, G.J.F.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Exercise Training Increases Sarcolemmal and Mitochondrial Fatty Acid Transport Proteins in Human Skeletal Muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2010**, *299*, E180–E188. [CrossRef]
36. Tunstall, R.J.; Mehan, K.A.; Wadley, G.D.; Collier, G.R.; Bonen, A.; Hargreaves, M.; Cameron-Smith, D. Exercise Training Increases Lipid Metabolism Gene Expression in Human Skeletal Muscle. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2002**, *283*, E66–E72. [CrossRef]

37. Warren, J.L.; Hunter, G.R.; Gower, B.A.; Bamman, M.M.; Windham, S.T.; Moellering, D.R.; Fisher, G. Exercise Effects on Mitochondrial Function and Lipid Metabolism during Energy Balance. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2020**, *52*, 827. [[CrossRef](#)]
38. Bezaire, V.; Bruce, C.R.; Heigenhauser, G.J.F.; Tandon, N.N.; Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Identification of Fatty Acid Translocase on Human Skeletal Muscle Mitochondrial Membranes: Essential Role in Fatty Acid Oxidation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2006**, *290*, E509–E515. [[CrossRef](#)]
39. PrabhuDas, M.R.; Baldwin, C.L.; Bollyky, P.L.; Bowdish, D.M.E.; Drickamer, K.; Febbraio, M.; Herz, J.; Kobzik, L.; Krieger, M.; Loike, J.; et al. A Consensus Definitive Classification of Scavenger Receptors and Their Roles in Health and Disease. *J. Immunol. Baltim. MD 1950* **2017**, *198*, 3775–3789. [[CrossRef](#)]
40. Fernández-Ruiz, E.; Armesilla, A.L.; Sánchez-Madrid, F.; Vega, M.A. Gene Encoding the Collagen Type I and Thrombospondin Receptor CD36 Is Located on Chromosome 7q11. 2. *Genomics* **1993**, *17*, 759–761. [[CrossRef](#)]
41. Rač, M.E.; Safranow, K.; Poncyljusz, W. Molecular Basis of Human CD36 Gene Mutations. *Mol. Med.* **2007**, *13*, 288–296. [[CrossRef](#)]
42. Su, X.; Abumrad, N.A. Cellular Fatty Acid Uptake: A Pathway under Construction. *Trends Endocrinol. Metab.* **2009**, *20*, 72–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Karunakaran, U.; Elumalai, S.; Moon, J.-S.; Won, K.-C. CD36 Signal Transduction in Metabolic Diseases: Novel Insights and Therapeutic Targeting. *Cells* **2021**, *10*, 1833. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Smith, B.K.; Jain, S.S.; Rimbaud, S.; Dam, A.; Quadrilatero, J.; Ventura-Clapier, R.; Bonen, A.; Holloway, G.P. FAT/CD36 Is Located on the Outer Mitochondrial Membrane, Upstream of Long-Chain Acyl-CoA Synthetase, and Regulates Palmitate Oxidation. *Biochem. J.* **2011**, *437*, 125–134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Zeng, S.; Wu, F.; Chen, M.; Li, Y.; You, M.; Zhang, Y.; Yang, P.; Wei, L.; Ruan, X.Z.; Zhao, L.; et al. Inhibition of Fatty Acid Translocase (FAT/CD36) Palmitoylation Enhances Hepatic Fatty Acid  $\beta$ -Oxidation by Increasing Its Localization to Mitochondria and Interaction with Long-Chain Acyl-CoA Synthetase 1. *Antioxid. Redox Signal.* **2022**, *36*, 1081–1100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Holloway, G.P. The Role of Protein-Mediated Transport in Regulating Mitochondrial Long-Chain Fatty Acid Oxidation. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2008**, *33*, 141–142. [[CrossRef](#)]
47. Holloway, G.P.; Bonen, A.; Spriet, L.L. Regulation of Skeletal Muscle Mitochondrial Fatty Acid Metabolism in Lean and Obese Individuals. *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *89*, 455S–462S. [[CrossRef](#)]
48. Arkinstall, M.J.; Tunstall, R.J.; Cameron-Smith, D.; Hawley, J.A. Regulation of Metabolic Genes in Human Skeletal Muscle by Short-Term Exercise and Diet Manipulation. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2004**, *287*, E25–E31. [[CrossRef](#)]
49. Jordy, A.B.; Kiens, B. Regulation of Exercise-Induced Lipid Metabolism in Skeletal Muscle. *Exp. Physiol.* **2014**, *99*, 1586–1592. [[CrossRef](#)]
50. Smith, B.K.; Bonen, A.; Holloway, G.P. A Dual Mechanism of Action for Skeletal Muscle FAT/CD36 during Exercise. *Exerc. Sport Sci. Rev.* **2012**, *40*, 211–217. [[CrossRef](#)]
51. Chen, Y.; Yang, M.; Huang, W.; Chen, W.; Zhao, Y.; Schulte, M.L.; Volberding, P.; Gerbec, Z.; Zimmermann, M.T.; Zeighami, A. Mitochondrial Metabolic Reprogramming by CD36 Signaling Drives Macrophage Inflammatory Responses. *Circ. Res.* **2019**, *125*, 1087–1102. [[CrossRef](#)]
52. Geloën, A.; Helin, L.; Geeraert, B.; Malaud, E.; Holvoet, P.; Marguerie, G. CD36 Inhibitors Reduce Postprandial Hypertriglyceridemia and Protect against Diabetic Dyslipidemia and Atherosclerosis. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e37633. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Hoosdally, S.J.; Andress, E.J.; Wooding, C.; Martin, C.A.; Linton, K.J. The Human Scavenger Receptor CD36: Glycosylation Status and Its Role in Trafficking and Function. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 16277–16288. [[CrossRef](#)]
54. Momken, I.; Chabowski, A.; Dirx, E.; Nabben, M.; Jain, S.S.; McFarlan, J.T.; Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P.; Bonen, A. A New Leptin-Mediated Mechanism for Stimulating Fatty Acid Oxidation: A Pivotal Role for Sarcolemmal FAT/CD36. *Biochem. J.* **2017**, *474*, 149–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Hao, J.-W.; Wang, J.; Guo, H.; Zhao, Y.-Y.; Sun, H.-H.; Li, Y.-F.; Lai, X.-Y.; Zhao, N.; Wang, X.; Xie, C. CD36 Facilitates Fatty Acid Uptake by Dynamic Palmitoylation-Regulated Endocytosis. *Nat. Commun.* **2020**, *11*, 1–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Bonen, A.; Campbell, S.E.; Benton, C.R.; Chabowski, A.; Coort, S.L.M.; Han, X.-X.; Koonen, D.P.Y.; Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P. Regulation of Fatty Acid Transport by Fatty Acid Translocase/CD36. *Proc. Nutr. Soc.* **2004**, *63*, 245–249. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Luiken, J.J.F.P.; Dyck, D.J.; Han, X.-X.; Tandon, N.N.; Arumugam, Y.; Glatz, J.F.C.; Bonen, A. Insulin Induces the Translocation of the Fatty Acid Transporter FAT/CD36 to the Plasma Membrane. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2002**, *282*, E491–E495. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Yun, H.-Y.; Lee, T.; Jeong, Y. High-Fat Diet Increases Fat Oxidation and Promotes Skeletal Muscle Fatty Acid Transporter Expression in Exercise-Trained Mice. *J. Med. Food* **2020**, *23*, 281–288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Campbell, S.E.; Tandon, N.N.; Woldegiorgis, G.; Luiken, J.J.F.P.; Glatz, J.F.C.; Bonen, A. A Novel Function for Fatty Acid Translocase (FAT)/CD36: Involvement in Long Chain Fatty Acid Transfer into the Mitochondria. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 36235–36241. [[CrossRef](#)]
60. Maréchal, L.; Lavolette, M.; Rodrigue-Way, A.; Sow, B.; Brochu, M.; Caron, V.; Tremblay, A. The CD36-PPAR $\gamma$  Pathway in Metabolic Disorders. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 1529. [[CrossRef](#)]

61. Glatz, J.F.C.; Luiken, J.J.F.P. Dynamic Role of the Transmembrane Glycoprotein CD36 (SR-B2) in Cellular Fatty Acid Uptake and Utilization. *J. Lipid Res.* **2018**, *59*, 1084–1093. [[CrossRef](#)]
62. Samovski, D.; Sun, J.; Pietka, T.; Gross, R.W.; Eckel, R.H.; Su, X.; Stahl, P.D.; Abumrad, N.A. Regulation of AMPK Activation by CD36 Links Fatty Acid Uptake to  $\beta$ -Oxidation. *Diabetes* **2015**, *64*, 353–359. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Monaco, C.; Whitfield, J.; Jain, S.S.; Spriet, L.L.; Bonen, A.; Holloway, G.P. Activation of AMPK $\alpha$ 2 Is Not Required for Mitochondrial FAT/CD36 Accumulation during Exercise. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0126122. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Xu, S.; Jay, A.; Brunaldi, K.; Huang, N.; Hamilton, J.A. CD36 Enhances Fatty Acid Uptake by Increasing the Rate of Intracellular Esterification but Not Transport across the Plasma Membrane. *Biochemistry* **2013**, *52*, 7254–7261. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Yang, X.; Okamura, D.M.; Lu, X.; Chen, Y.; Moorhead, J.; Varghese, Z.; Ruan, X.Z. CD36 in Chronic Kidney Disease: Novel Insights and Therapeutic Opportunities. *Nat. Rev. Nephrol.* **2017**, *13*, 769–781. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Luiken, J.J.; Chanda, D.; Nabben, M.; Neumann, D.; Glatz, J.F. Post-Translational Modifications of CD36 (SR-B2): Implications for Regulation of Myocellular Fatty Acid Uptake. *Biochim. Biophys. Acta BBA-Mol. Basis Dis.* **2016**, *1862*, 2253–2258. [[CrossRef](#)]
67. Podrez, E.A.; Byzova, T.V.; Febbraio, M.; Salomon, R.G.; Ma, Y.; Valiyaveetil, M.; Poliakov, E.; Sun, M.; Finton, P.J.; Curtis, B.R. Platelet CD36 Links Hyperlipidemia, Oxidant Stress and a Prothrombotic Phenotype. *Nat. Med.* **2007**, *13*, 1086–1095. [[CrossRef](#)]
68. Dobri, A.-M.; Dudău, M.; Enciu, A.-M.; Hinescu, M.E. CD36 in Alzheimer's Disease: An Overview of Molecular Mechanisms and Therapeutic Targeting. *Neuroscience* **2021**, *453*, 301–311. [[CrossRef](#)]
69. Tanaka, T.; Nakata, T.; Oka, T.; Ogawa, T.; Okamoto, F.; Kusaka, Y.; Sohmiya, K.; Shimamoto, K.; Itakura, K. Defect in Human Myocardial Long-Chain Fatty Acid Uptake Is Caused by FAT/CD36 Mutations. *J. Lipid Res.* **2001**, *42*, 751–759. [[CrossRef](#)]
70. Jayewardene, A.F.; Mavros, Y.; Gwinn, T.; Hancock, D.P.; Rooney, K.B. Associations between CD36 Gene Polymorphisms and Metabolic Response to a Short-Term Endurance-Training Program in a Young-Adult Population. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2016**, *41*, 157–167. [[CrossRef](#)]
71. Koonen, D.P.; Jensen, M.K.; Handberg, A. Soluble CD36—A Marker of the (Pathophysiological) Role of CD36 in the Metabolic Syndrome? *Arch. Physiol. Biochem.* **2011**, *117*, 57–63. [[CrossRef](#)]
72. Aslankeser, Z.; Balcı, Ş.S. Re-Examination of the Contribution of Substrates to Energy Expenditure during High-Intensity Intermittent Exercise in Endurance Athletes. *PeerJ* **2017**, *5*, e3769. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Lundsgaard, A.-M.; Kiens, B. Gender Differences in Skeletal Muscle Substrate Metabolism—Molecular Mechanisms and Insulin Sensitivity. *Front. Endocrinol.* **2014**, *5*, 195. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Muscella, A.; Stefano, E.; Lunetti, P.; Capobianco, L.; Marsigliante, S. The Regulation of Fat Metabolism during Aerobic Exercise. *Biomolecules* **2020**, *10*, 1699. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Pelsers, M.M.A.L.; Stellingwerff, T.; van Loon, L.J.C. The Role of Membrane Fatty-Acid Transporters in Regulating Skeletal Muscle Substrate Use during Exercise. *Sports Med. Auckl. NZ* **2008**, *38*, 387–399. [[CrossRef](#)]
76. Yanai, H.; Watanabe, I.; Ishii, K.; Morimoto, M.; Fujiwara, H.; Yoshida, S.; Hui, S.-P.; Matsuno, K.; Chiba, H. Attenuated Aerobic Exercise Capacity in CD36 Deficiency. *J. Med. Genet.* **2007**, *44*, 445–447. [[CrossRef](#)]
77. Kennedy, D.J.; Kashyap, S.R. Pathogenic Role of Scavenger Receptor CD36 in the Metabolic Syndrome and Diabetes. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **2011**, *9*, 239–245. [[CrossRef](#)]
78. Welle, S.; Tawil, R.; Thornton, C.A. Sex-Related Differences in Gene Expression in Human Skeletal Muscle. *PLoS ONE* **2008**, *3*, e1385. [[CrossRef](#)]
79. Jeon, Y.; Choi, J.; Kim, H.J.; Lee, H.; Lim, J.-Y.; Choi, S.-J. Sex-and Fiber-Type-Related Contractile Properties in Human Single Muscle Fiber. *J. Exerc. Rehabil.* **2019**, *15*, 537. [[CrossRef](#)]
80. Maher, A.C.; Akhtar, M.; Vockley, J.; Tarnopolsky, M.A. Women Have Higher Protein Content of  $\beta$ -Oxidation Enzymes in Skeletal Muscle than Men. *PLoS ONE* **2010**, *5*, e12025. [[CrossRef](#)]
81. Roepstorff, C.; Steffensen, C.H.; Madsen, M.; Stallknecht, B.; Kanstrup, I.-L.; Richter, E.A.; Kiens, B. Gender Differences in Substrate Utilization during Submaximal Exercise in Endurance-Trained Subjects. *Am. J. Physiol.-Endocrinol. Metab.* **2002**, *282*, E435–E447. [[CrossRef](#)]
82. Most, J.; van Can, J.G.P.; van Dijk, J.-W.; Goossens, G.H.; Jocken, J.; Hospers, J.J.; Bendik, I.; Blaak, E.E. A 3-Day EGCG-Supplementation Reduces Interstitial Lactate Concentration in Skeletal Muscle of Overweight Subjects. *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 17896. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Elmquist, J.K.; Maratos-Flier, E.; Saper, C.B.; Flier, J.S. Unraveling the Central Nervous System Pathways Underlying Responses to Leptin. *Nat. Neurosci.* **1998**, *1*, 445–450. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Sáinz, N.; Barrenetxe, J.; Moreno-Aliaga, M.J.; Martínez, J.A. Leptin Resistance and Diet-Induced Obesity: Central and Peripheral Actions of Leptin. *Metabolism* **2015**, *64*, 35–46. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
85. Reseland, J.E.; Anderssen, S.A.; Solvoll, K.; Hjermann, I.; Urdal, P.; Holme, I.; Drevon, C.A. Effect of Long-Term Changes in Diet and Exercise on Plasma Leptin Concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* **2001**, *73*, 240–245. [[CrossRef](#)]
86. Pereira, S.; Cline, D.L.; Glavas, M.M.; Covey, S.D.; Kieffer, T.J. Tissue-Specific Effects of Leptin on Glucose and Lipid Metabolism. *Endocr. Rev.* **2021**, *42*, 1–28. [[CrossRef](#)]

87. Corpeleijn, E.; Pelters, M.M.A.L.; Soenen, S.; Mensink, M.; Bouwman, F.G.; Kooi, M.E.; Saris, W.H.M.; Glatz, J.F.C.; Blaak, E.E. Insulin Acutely Upregulates Protein Expression of the Fatty Acid Transporter CD36 in Human Skeletal Muscle in Vivo. *J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Pol. Physiol. Soc.* **2008**, *59*, 77–83.
88. Corpeleijn, E.; Petersen, L.; Holst, C.; Saris, W.H.; Astrup, A.; Langin, D.; MacDonald, I.; Martinez, J.A.; Oppert, J.-M.; Polak, J.; et al. Obesity-Related Polymorphisms and Their Associations with the Ability to Regulate Fat Oxidation in Obese Europeans: The NUGENOB Study. *Obes. Silver Spring MD* **2010**, *18*, 1369–1377. [[CrossRef](#)]
89. Bokor, S.; Legry, V.; Meirhaeghe, A.; Ruiz, J.R.; Mauro, B.; Widhalm, K.; Manios, Y.; Amouyel, P.; Moreno, L.A.; Molnàr, D.; et al. Single-Nucleotide Polymorphism of CD36 Locus and Obesity in European Adolescents. *Obes. Silver Spring MD* **2010**, *18*, 1398–1403. [[CrossRef](#)]

**Disclaimer/Publisher’s Note:** The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

## Reliability of the Metabolic Response During Steady-State Exercise at FATmax in Young Men with Obesity

Isaac A. Chávez-Guevara, Ratko Peric, Francisco J. Amaro-Gahete & Arnulfo Ramos-Jiménez


**To cite this article:** Isaac A. Chávez-Guevara, Ratko Peric, Francisco J. Amaro-Gahete & Arnulfo Ramos-Jiménez (07 Feb 2024): Reliability of the Metabolic Response During Steady-State Exercise at FATmax in Young Men with Obesity, Research Quarterly for Exercise and Sport, DOI: [10.1080/02701367.2024.2311641](https://doi.org/10.1080/02701367.2024.2311641)

**To link to this article:** <https://doi.org/10.1080/02701367.2024.2311641>

---

 [View supplementary material](#) 


---

 [Published online: 07 Feb 2024.](#)

---

 [Submit your article to this journal](#) 

---

 [View related articles](#) 





---

 [View Crossmark data](#) 

---



## Reliability of the Metabolic Response During Steady-State Exercise at FATmax in Young Men with Obesity

Isaac A. Chávez-Guevara <sup>a</sup>, Ratko Peric <sup>b,c</sup>, Francisco J. Amaro-Gahete <sup>d,e</sup>, and Arnulfo Ramos-Jiménez <sup>f</sup>

<sup>a</sup>Autonomous University of Baja California; <sup>b</sup>Orthopedic Clinic Orthosport; <sup>c</sup>University of Split; <sup>d</sup>University of Granada; <sup>e</sup>Instituto de Salud Carlos III; <sup>f</sup>Ciudad Juarez Autonomous University

### ABSTRACT

**Purpose:** In this study we evaluated the reliability of blood lactate levels (BLa), energy expenditure and substrate utilization during prolonged exercise at the intensity that elicits maximal fat oxidation (FATmax). Furthermore, we investigated the accuracy of a single graded exercise test (GXT) for predicting energy metabolism at FATmax. **Methods:** Seventeen young men with obesity ( $26 \pm 6$  years;  $36.4 \pm 7.2$  %body fat) performed a GXT on a treadmill in a fasted state (10–12 h) for the assessment of FATmax and cardiorespiratory fitness. Afterward, each subject performed two additional prolonged FATmax trials ( $102 \pm 11$  beats·min<sup>-1</sup>; 60-min) separated by 7 days. Indirect calorimetry was used for the assessment of energy expenditure and substrate utilization kinetics whereas capillary blood samples were taken for the measurement of BLa. **Results:** The BLa (limits of agreement (LoA):  $-1.2$  to  $0.8$  mmol·L<sup>-1</sup>;  $p = 1.0$ ), fat utilization (LoA:  $-8.0$  to  $13.4$  g·h<sup>-1</sup>;  $p = 0.06$ ), and carbohydrate utilization (LoA:  $-27.6$  to  $22.4$  g·h<sup>-1</sup>;  $p = 0.41$ ) showed a good agreement whereas a modest systematic bias was found for energy expenditure (LoA:  $-16811$  to  $33355$  kJ·h<sup>-1</sup>;  $p < 0.05$ ). All the aforementioned parameters showed a moderate to good reliability (Intraclass correlation coefficient: 0.67–0.92). The GXT overestimated fat (~46%) and carbohydrate (~26%) utilization as well as energy expenditure (36%) during steady-state exercise at FATmax. Conversely the GXT underestimated BLa (~28%). **Conclusion:** a single GXT cannot be used for an accurate prediction of energy metabolism during prolonged exercise in men with obesity. Thus, an additional steady-state FATmax trial (40–60 min) should be performed for a tailored and precise exercise prescription.

### ARTICLE HISTORY

Received 12 January 2023  
Accepted 15 January 2024

### KEYWORDS

Energy metabolism; exercise test; indirect calorimetry; nutrition; physical exercise

The maximal fat oxidation rate (MFO) measured during a submaximal exercise test and its corresponding exercise intensity (FATmax) are physiological biomarkers commonly used for the assessment of metabolic flexibility and exercise prescription (Brun et al., 2022; Chávez-Guevara et al., 2022). Although not universally observed (Amaro-Gahete et al., 2022), previous studies reported that MFO is directly associated to insulin sensitivity in trained men (Robinson et al., 2015) and subjects with obesity (Cancino-Ramírez et al., 2018; Lambert et al., 2017), suggesting that MFO can be used to investigate the role of metabolic flexibility in the pathophysiology of insulin resistance and type 2 diabetes (Chávez-Guevara et al., 2022). In addition, exercise training performed at FATmax improves adipokines levels, body composition, cardiovascular function, glucose homeostasis, muscle oxidative capacity and metabolic flexibility in patients with obesity and type 2 diabetes (Brun et al., 2022; Chávez-Guevara et al., 2020; Romain et al., 2012). Therefore, adequate determination of the FATmax and MFO seems to be a prerequisite in an effective non-pharmacological approach for the prevention and treatment of cardio-metabolic diseases

In this concern, several exercise protocols have been proposed for the accurate assessment of MFO and FATmax, with

the majority of studies using a single graded exercise test (GXT) with short-duration stages (1–5 minutes) (Amaro-Gahete et al., 2019). The reproducibility of such a GXT, however, is debatable, with numerous studies revealing a significant day-to-day variation of MFO (CV: 1–25%) and FATmax (CV: 3–26%) in trained and untrained healthy persons (Brun et al., 2014; Chrzanowski-Smith et al., 2020; Croci et al., 2014; Dandanell et al., 2017; De Souza Silveira et al., 2016; Gmada et al., 2013; Robles-González et al., 2021). According to previous studies, the reliability of MFO and FATmax is mainly dependent on methodological issues rather than biological factors and physical fitness. For example, the day-to-day variation in MFO and FATmax is reduced when the fat oxidation kinetics is computed through a mathematical modeling instead of visual inspection (Chrzanowski-Smith et al., 2020; Croci et al., 2014). The reproducibility of FATmax, however, is similar between men and women and is not affected by objectively measured physical activity, body fatness nor cardiorespiratory fitness in healthy adults (Chrzanowski-Smith et al., 2020).

On the other hand, Schwindling et al. (2014) and Takagi et al. (2014) showed that substrate utilization calculated during each stage of the GXT does not accurately predict substrate utilization during prolonged exercise in healthy men and

trained men. What's more, recent studies have also showed that carbohydrate utilization raises gradually during the initial 15 minutes of steady-state exercise at FATmax, stimulating an exponential decay in fat oxidation that falls below the MFO recorded during the GXT (Chávez-Guevara et al., 2021; Özdemir et al., 2019). According to Chávez-Guevara et al. (2021), such fat utilization decrement during the initial 15 minutes of steady-state exercise at FATmax is associated to lactate-stimulated acidosis, a phenomenon that may reduce fat oxidation through the inhibition of carnitine palmitoyl transferase 1 (Frangos et al., 2023; Spriet, 2014). Indeed, blood lactate levels (BLa) measured at 30-minutes of steady-state exercise at FATmax were higher than those values observed at FATmax in response to a GXT in young men with obesity (Chávez-Guevara et al., 2021). Hence, it seems that short duration stages are not sufficient to reach a steady-state in physiological parameters and a single GXT may not provide an accurate examination of MFO and FATmax, leading to equivocal conclusions regarding metabolic flexibility and the benefits of FATmax training.

Considering the aforementioned evidence, it seems necessary to investigate the day-to-day reliability of substrate utilization during prolonged exercise at FATmax. This is particularly relevant for subjects with obesity since exercising at FATmax during 40 to 60 minutes is an extended recommendation to improve physical fitness and metabolic flexibility in this population (Chávez-Guevara et al., 2023). Therefore, the current study evaluated the reliability of BLa, energy expenditure and substrate utilization during 60-minutes of walking at FATmax. Furthermore, we also investigated the accuracy of a single graded exercise test for predicting energy metabolism during prolonged exercise.

## Materials and methods

### Participants

Seventeen Hispanic men with obesity enrolled in this study. They were recruited from institutional e-mails, circulated pamphlets and posters. Inclusion criteria were: (I) body fat percentage  $\geq 25\%$ ; (II) fat mass index  $\geq 6 \text{ kg.m}^2$ ; (III) resting heart rate  $< 90 \text{ beats}\cdot\text{min}^{-1}$ ; (IV) not engaged in structured exercise program or dietary counseling. None of the participants were under pharmacological treatment or reported a clinical background of cardiovascular, metabolic, or respiratory diseases according to a comprehensive health survey (MacDougall et al., 1991). Moreover, they showed a low

physical activity level ( $\leq 600 \text{ METs}\cdot\text{min}\cdot\text{sem}$ ) based on the short version of the International Physical Activity Questionnaire (Craig et al., 2003).

### Study design

A repeated measures design including five separate sessions for the assessment of metabolic biomarkers and physical fitness was implemented in this study (Figure 1). Session 1: assessment of health status, physical activity level, body composition and dietary phenotype (i.e., energy and macronutrient intake of the diet). Session 2: evaluation of resting metabolic rate (RMR). Session 3: measurement of CRF, MFO, and FATmax by a GXT. Session 4 and 5: steady-state exercise trials at FATmax during 60 min on a motorized treadmill for the assessment of BLa, cardiorespiratory parameters, energy expenditure and substrate oxidation (see below). All the exercise trials were performed after a 7-days wash-out period with the experimental procedures carried out in the morning (08:00–11:00 h) after an overnight fasting (10–12 h) and under controlled environmental temperature (22–24°C). The energy intake and macronutrient content of the diet were assessed by a trained nutritionist by using the 24-h recall method, recording all the food consumed during three non-consecutive days (including one day of the weekend). Then, the subjects were instructed to maintain their habitual diet and physical activity during the entire study. Moreover, the performance of vigorous intensity exercise and the consumption of alcohol, caffeine and stimulants was restricted at least 24 h prior to all the metabolic measurements. The data from self-reported physical activity, dietary phenotype and resting metabolic rate were used to design a control dinner (55% carbohydrates, 30% lipids, and 15% proteins) which provided the 30% of individual energy requirements ( $977 \pm 145 \text{ kcal}$ ) and allow a proper standardization of resting fat oxidation before both steady-state exercise trials at FATmax (Chávez-Guevara et al., 2021).

The general details of the study were provided to all participants, who signed a written informed consent after acceptance. Previously, the study protocol was approved by the Institutional Ethics Committee and all the experimental procedures were carried out in accordance with the Declaration of Helsinki.

### Anthropometric and body composition measurements

Body weight and height were measured to the nearest 0.1 kg or cm by using a calibrated electronic scale (SECA 876,

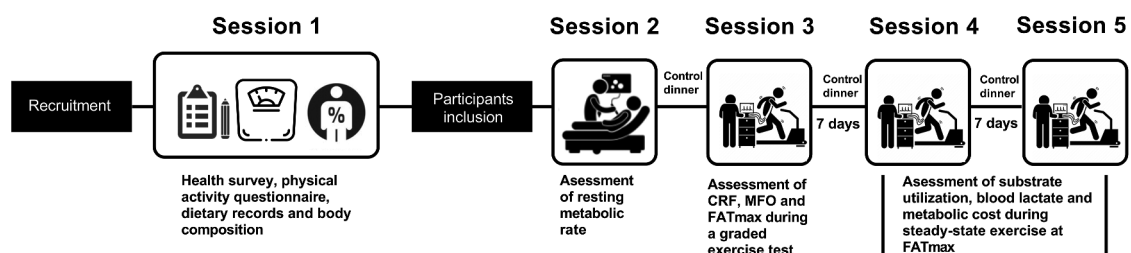


Figure 1. Stepwise study design. CRF, cardiorespiratory fitness; MFO, maximal fat oxidation; FATmax, exercise intensity eliciting maximal fat oxidation.

Hamburg, Germany) and a wall mount stadiometer (SECA BM206, Hamburg, Germany). Fat mass and free fat mass (FFM) were assessed by air displacement plethysmography (BODPOD; Cosmed, Rome, Italy) in accordance with manufacturer guidelines and validated accordingly (Ginde et al., 2005). The guidelines from the American College of Sports Medicine were used for definition of physical fitness (Dumke, 2018). All the measurements were performed with the subjects slightly dressed and barefoot.

### **Metabolic oxidative measurements**

Gas exchange was assessed by indirect calorimetry using a breath-by-breath gas analyzer (Cortex, MetaLyzer 3B, Germany) that provides reliable measurements of oxygen uptake ( $\text{VO}_2$ ) and carbon dioxide output ( $\text{VCO}_2$ ) during physical exercise (Bias =  $0.3 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ; Intraclass correlation coefficient > 0.96) (Meyer et al., 2001). The system was calibrated before each test by using a certified gas mixture of known concentrations (5%  $\text{CO}_2$ , 16%  $\text{O}_2$ , and balanced of  $\text{N}_2$ ; Cortex-Medical) and the flow sensor was calibrated with a 3-L syringe (Hans Rudolph, Shawnee, USA).

### **Resting metabolic rate**

The resting metabolic rate was measured prior to each exercise trial in order to standardize the metabolic condition of the participants. For such assessment, the participants rested in Fowler's anatomical position (semi-sitting) during 15 to 25 minutes while breath-by-breath were continuously recorded. Then, five continuous minutes' steady state ( $\text{RQ} < 5\%$ ) was used to calculate the resting metabolic rate from the Weir equation (Alcantara et al., 2020; Weir, 1949), whereas macro-nutrient oxidation was calculated with Frayn's stoichiometric equations (Frayn, 1983) assuming that nitrogen urinary excretion was negligible.

### **Graded exercise test protocol**

Each subject performed a GXT on a Quinton motor-driven treadmill (TM55, Washington D.C., USA) for the assessment of MFO, FATmax and CRF. The heart rate and BLA were measured at rest before the beginning of the GXT. A brief warm-up (5 min) was carried out by walking at  $4 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  with no inclination. Then, the test started at a speed of  $3 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  at 1% gradient, followed by speed increments of  $1 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  every 3 min until a respiratory exchange ratio of 1.0 was sustained for at least 30 seconds. Thereafter, both speed ( $+1 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$ ) and gradient ( $+1\%$ ) were simultaneously increased every 3 minutes until volitional exhaustion, following the American College of Sports Medicine general indications for stopping an exercise test (Dumke, 2018). Both gas exchange and heart rate (HR) were continuously measured (Polar Electro F6, Kempele, Finland) while the BLA (see below) and rate of perceived exertion (Borg scale: 0–10) (Borg, 1982) were recorded within the last 30 seconds of each stage.

The peak oxygen uptake ( $\text{VO}_{2\text{peak}}$ ) was calculated by averaging the  $\text{VO}_2$  values recorded over the last 30 s of the test and the CRF of the subjects was defined according to age and sex

by following the ACSM criteria (Dumke, 2018). Furthermore, adhering to analytical procedures previously applied in subject with obesity (Chávez-Guevara et al., 2021; Chávez-Guevara et al., 2023), the  $\text{VO}_2$  and  $\text{VCO}_2$  values registered over the last 120 s of each stage (RER with  $\text{CV} \leq 5\%$ ) were used to calculate substrate utilization and energy expenditure by applying the aforementioned stoichiometric equations (Frayn, 1983; Weir, 1949). Substrate utilization rates and energy expenditure were graphically depicted against exercise intensity (i.e.,  $\% \text{VO}_{2\text{peak}}$ , heart rate) to determine energy metabolism at FATmax (Amaro-Gahete et al. 2019), and these values were used to predict substrate utilization and energy expenditure during prolonged exercise, assuming a steady-state metabolic condition (See Supplementary File 1). Additionally,  $\text{VO}_2$  and HR corresponding to FATmax were used to control the exercise intensity during the two follow-up FATmax trials (see below).

### **Steady-state exercise trials at FATmax**

To standardize the initial metabolic conditions of the participants, a new RMR and resting HR measurements were conducted before this trial. Then, a 5 min warm-up was completed at a speed of  $4 \text{ km}\cdot\text{h}^{-1}$  and a gradient of 0%. Afterward, each patient walked for 60 minutes at their corresponding FATmax HR ( $\pm 5 \text{ beats}\cdot\text{min}^{-1}$ ) previously determined during a GXT. The  $\text{VO}_2$  and  $\text{VCO}_2$  recorded during the last 120 s of each 5 minutes' interval (RER with  $\text{CV} \leq 5\%$ ) were used to calculate energy expenditure (EE) and substrate utilization as described previously. Then, the area under the curve was computed by using GraphPad Prism v. 8.1 (Harvey Motulsky, San Diego, CA, USA) to calculate total fat and carbohydrate utilization as well as total energy expenditure (see Supplementary file 1).

### **Blood lactate assay**

Capillary blood samples were taken during the last 30 seconds of each GXT stage and every 30 min during 60 min of walking at FATmax. The BLA levels were determined by using test strips and the lactate plus meter analyzer (Nova Biomedical, Waltham, MA, USA) that was precalibrated with control lactate solutions (1.0–1.6 and 4.0–5.4 mM). This analyzer uses an electrochemical lactate oxidase biosensor to measure lactate concentration in a  $0.7 \mu\text{L}$  sample and shows a good reliability for the assessment of BLA during physical exercise (Bias =  $-0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (Hart et al., 2013).

### **Statistical analysis**

The Shapiro–Wilk test, Q–Q, and box plots were used to analyze data distribution. A paired t-test was used to analyze the systematic bias between predicted and measured metabolic parameters (i.e., substrate utilization and energy expenditure). A two-way (time x session) repeated measures analysis of variance was used for evaluating the time-trend variations among the different physiological parameters during steady-state exercise trials at FATmax. The Bonferroni correction was applied for multiple comparisons while the Mauchly's test was



used to test the sphericity of the covariance matrix. If violated, the Greenhouse-Geisser correction was applied ( $\epsilon < 0.75$ ) to test the potential significance of effects (Verma, 2016). The partial ETA squared ( $\eta_p^2$ ) was computed to determine the effect of time and session over substrate utilization and energy expenditure during steady-state exercise by following the criteria proposed by Cohen ( $\eta_p^2 = 0.01$ , *small*;  $\eta_p^2 = 0.06$ , *moderate*;  $\eta_p^2 = 0.14$ , *large*) (Lakens, 2013). Furthermore, a non-parametric Friedman and Wilcoxon test were used to investigate the effect of time and session on BLA levels during both steady-state exercise trials at FATmax.

Intraclass correlation coefficients (ICC), Bland-Altman plots and paired t test were used to examine the reliability of BLA, substrate oxidation and energy expenditure across both steady-state exercise trials at FATmax (Hopkins et al., 2009). Given that substrate utilization was calculated through stoichiometric equations based on  $\text{VO}_2$  and  $\text{VCO}_2$ , the agreement of substrate oxidation during exercise at FATmax was defined according to the measurement error of gas exchange ( $\pm 0.3$  L·min) previously reported for the Metalyzer 3B metabolic cart (Meyer et al., 2001). Likewise, the agreement of BLA during steady-state exercise at FATmax was based on the BLA measurement error previously reported for the Lactate Plus Meter analyzer ( $\pm 0.5$  mmol·L<sup>-1</sup>) (Hart et al., 2013). The criteria proposed by Koo and Li (2016), was considered for the interpretation of reliability based on the ICC values (Moderate: 0.5–0.75; Good: 0.75–0.90; Excellent: 0.90 or higher).

All the analyses were computed in SPSS v. 22 (IBM corporation, NY, USA) while the figures were elaborated in GraphPad Prism v. 8.1. The statistical significance was established at  $p \leq .05$ . Data are reported as mean  $\pm$  SE (graphs),  $\pm 95\%$  CI (Tables), and  $\pm$  SD (text).

## Results

### Participants characteristics and dietary phenotype

The descriptive characteristics of the participants are shown in Table 1. The 76% ( $n = 13$ ) of the enrolled participants showed a poor cardiorespiratory fitness while only 24% ( $n = 4$ ) of the

**Table 1.** Descriptive characteristics of the study participants.

Variable	Mean (95% CI)
<b>Body composition</b>	
Age (years)	26 (23–29)
Body weight (kg)	100.9 (93.2–108.6)
Height (m)	1.74 (1.70–1.78)
Body mass index (kg·m <sup>2</sup> )	33.1 (30.8–35.5)
Body fat (%)	36.3 (32.6–40.0)
Fat free mass (%)	63.6 (59.8–67.3)
Fat mass index (kg/m <sup>2</sup> )	12.2 (10.3–14.2)
<b>Dietary phenotype</b>	
Energy intake (kcal/d)	2242.6 (1804.0–2681.1)
Fat (%)	29.6 (24.7–34.5)
Carbohydrate (%)	49.6 (44.2–55.0)
Protein (%)	20.3 (17.5–23.1)
Fat (g/d)	79.0 (55.4–92.6)
Carbohydrate (g/d)	277.3 (220.4–334.2)
Protein (g/d)	116.0 (87.0–144.9)
<b>Cardiorespiratory fitness</b>	
Peak oxygen uptake (mL·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	38.7 (35.8–41.6)
Maximum heart rate (beats·min <sup>-1</sup> )	181 (175–187)
Maximum blood lactate (mmol·L <sup>-1</sup> )	5.9 (4.9–6.9)

subjects exhibited a fair cardiorespiratory fitness. In addition, the subjects consumed a diet with a balanced macronutrient content where carbohydrates provided  $49.6 \pm 9.7\%$  of daily energy intake. The metabolic and cardiopulmonary parameters recorded at FATmax during the graded exercise test are reported in Table 2

### Reliability of substrate utilization and energy expenditure during prolonged exercise at FATmax

The  $\text{VO}_2$ ,  $\text{VCO}_2$  and HR measured during both steady-state exercise trials at FATmax showed a low variation (CV < 10% for  $\text{VO}_2$  and  $\text{VCO}_2$ ; CV < 5% for HR) and were not different from those values observed in the GXT (Figure 2a,b). A significant effect of time was observed for fat ( $F = 48.4$ ;  $p < .01$ ;  $\eta_p^2 = 0.76$ ) and carbohydrate utilization ( $F = 71.47$ ;  $p < .01$ ;  $\eta_p^2 = 0.81$ ), with fat utilization kinetics showing an exponential decay between the 5–15 min and a subsequent recovery until reaching the predicted fat utilization rate at  $\sim 30$  min (Figure 2c). Conversely, carbohydrate oxidation increased during the first 15 min of exercise and decreased afterward (Figure 2d). Both, energy expenditure ( $F = 1.15$ ;  $p = .33$ ;  $\eta_p^2 = 0.06$ ; Figure 2e) and BLA ( $p > .05$ ) were sustained during the entire exercise sessions (Figure 2f). Additionally, no time per session interaction was observed neither for substrate utilization nor energy expenditure.

The systematic bias and inter-day reliability of metabolic parameters recorded across both steady-state exercise trials at FATmax are shown in Figure 3. Overall, no systematic bias was observed in BLA and substrate utilization between both exercise trials at FATmax. Nevertheless, energy expenditure showed a moderate systematic bias between the first and second steady-state exercise sessions at FATmax (effect size = 0.64).

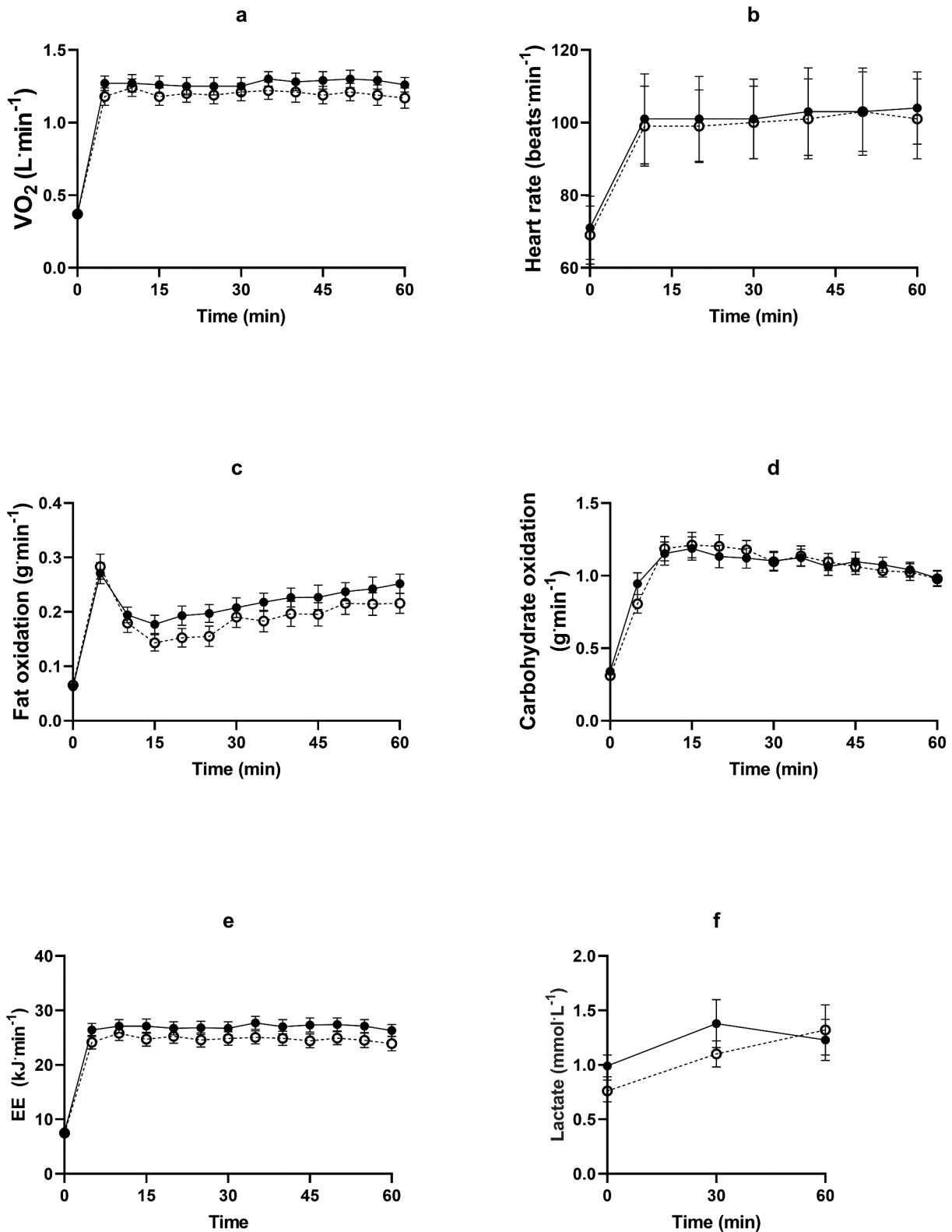
At the individual level, around 50% of the enrolled participants exhibited a reduction in BLA and fat utilization during the second exercise trial at FATmax whereas 75% of the evaluated subjects showed a reduction in energy expenditure. In all the participants, the BLA, energy expenditure and substrate utilization showed a good agreement whereas a moderate to good reliability was observed for all the aforementioned parameters (ICC: 0.67–0.92).

### Accuracy of a single graded exercise test for predicting energy metabolism during prolonged exercise

Fat and carbohydrate utilization during the 60 minutes of steady-state exercise trials were  $\sim 46\%$  and  $\sim 26\%$  lower than values predicted from the GXT, respectively (Supplementary

**Table 2.** Metabolic and cardiopulmonary parameters recorded at FATmax during the graded exercise test.

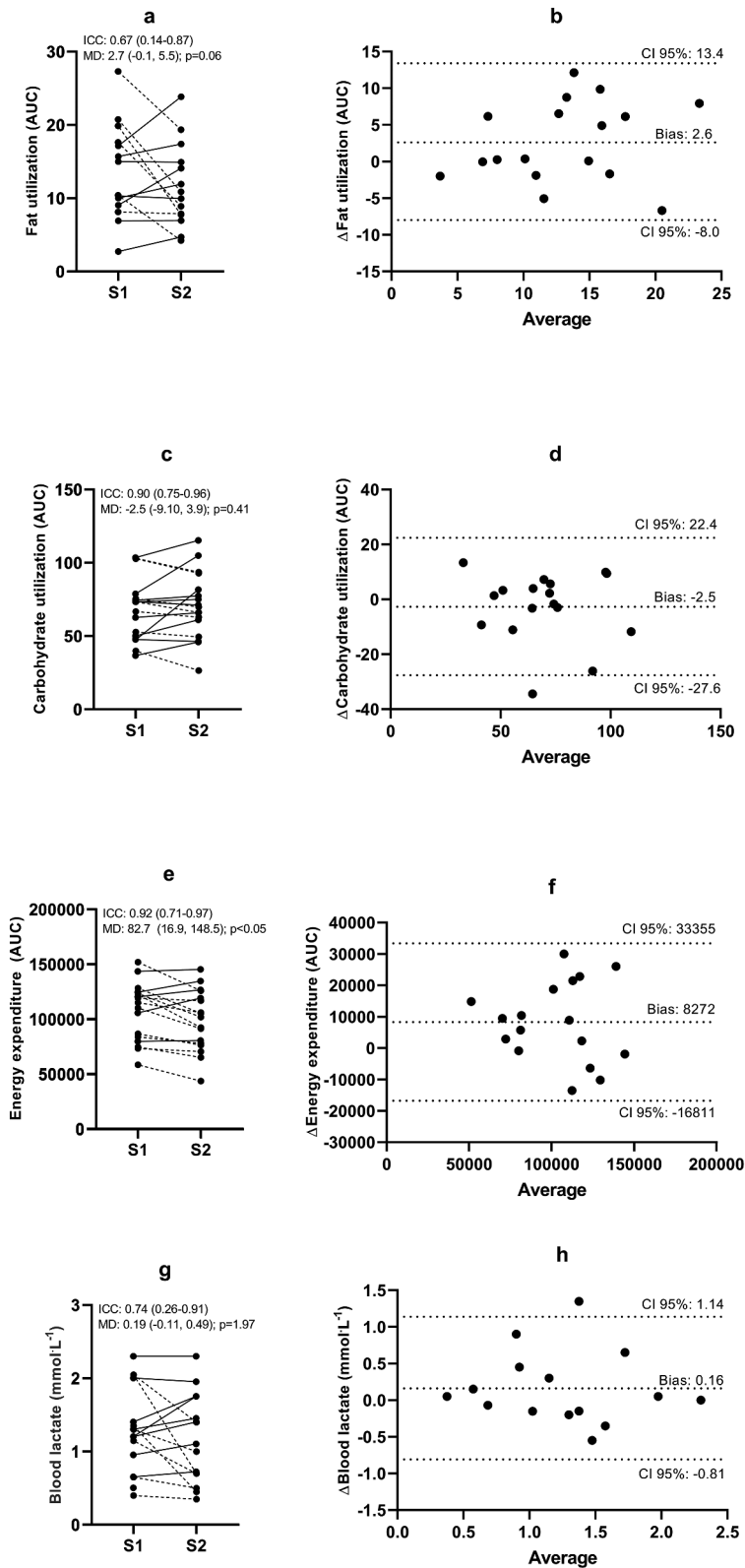
Variable	Mean (95% CI)
Fat oxidation (g·min <sup>-1</sup> )	0.25 (0.21–0.30)
Carbohydrate oxidation (g·min <sup>-1</sup> )	1.02 (0.83–1.19)
Energy expenditure (kJ·min <sup>-1</sup> )	26.94 (24.11–29.77)
Oxygen uptake (L·min <sup>-1</sup> )	1.29 (1.15–1.42)
Heart rate (beats·min <sup>-1</sup> )	102 (96–107)
Blood lactate (mmol·L <sup>-1</sup> )	0.94 (0.69–1.19)
Speed (km·h <sup>-1</sup> )	4.0 (3.6–4.4)



**Figure 2.** Time-trend changes in cardiorespiratory and metabolic indicators during steady state exercise at maximal fat oxidation intensity. Data are presented in 5 min interval during 1 h (each value is expressed as mean  $\pm$  SE).  $VO_2$  (oxygen uptake) (a), heart rate (b), fat (c) and carbohydrate (d) oxidation, energy expenditure (e), and lactate production (e). Session 1 ( $\bullet$ ); session 2 ( $\circ$ ).

file 1). In addition, energy expenditure recorded during steady-state exercise was  $\sim 36\%$  lower than values predicted from the GXT (Supplementary file 1). The average BLA

recorded during steady-state exercise was  $\sim 28\%$  higher than those values observed at FATmax during the GXT ( $0.98 \pm 0.52$  vs.  $1.26 \pm 0.54$   $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $p < .05$ ).



**Figure 3.** Agreement and reliability of total fat utilization (a,b), carbohydrate utilization (c,d), energy expenditure (e,f) and blood lactate levels (g,h) across the two exercise trials performed at maximal fat oxidation intensity. The participants that showed a decrement on metabolic parameters between the first and the second steady-state exercise trial at FATmax are represented in dotted lines. ICC, intraclass correlation coefficient; MD, mean difference. Data is reported as mean (CI 95%).

## Discussion

The present study evidence that BLA, energy expenditure and substrate utilization show a moderate to good reliability during prolonged exercise at FATmax in young men with obesity. Therefore, a consistent acute-metabolic response can be expected during prolonged FATmax in this population. Our findings corroborate those of Chávez-Guevara et al. (2021) that substrate utilization exhibits a biphasic kinetic during prolonged exercise at FATmax, even though energy expenditure is maintained. Furthermore, we showed that fat and carbohydrate utilization during the 60 minutes of steady-state exercise trials were ~46% and ~26% lower than values predicted from the single GXT, respectively. Our data confirm that a single GXT is not accurate enough for prescribing exercise. A prolonged FATmax trial is the best way to verify substrate utilization. We also found that the MFO value obtained from a single GXT is reached after approximately 40 minutes of steady-state exercise at FATmax. Thus, a minimum of 60 minutes of FATmax exercise may be necessary to achieve a considerable fat utilization for men with obesity.

Previous studies conducted in healthy non-obese individuals suggest that the exponential decay of fat utilization during the initial 25 minutes of exercise might result from the increment of glycolytic flux in skeletal muscle which inhibits fat utilization by different cellular pathways, including the inhibition of carnitine palmitoyl transferase 1 and the increment of mitochondrial FADH<sub>2</sub>, NADH, and acetyl CoA levels (Sahlin, 2009). Nevertheless, although carbohydrate utilization progressively increased during the initial 25 minutes of exercise, we failed to observe an increment in BLA that could explain a consequent reduction in fat utilization. Given that our study only measured blood lactate levels, further research at the molecular level seems to be necessary to fully understand the physiological mechanisms involved in substrate utilization at the beginning of exercise. The same would apply for the observed subsequent recovery in fat utilization, a phenomenon that has been associated to the concomitant augment of adrenaline, growth hormone, glucagon, and intracellular calcium, that promotes the partitioning of triacylglycerols in adipose tissue and skeletal muscle as well as the oxidation of fatty acids into the mitochondrion of muscle fibers (Holloway et al., 2006; Watt et al., 2002).

The present study investigated the reliability of BLA, energy expenditure and substrate utilization during prolonged exercise at FATmax in men with obesity, a population that obtain considerable health benefits by maximizing fat oxidation through exercise (Chávez-Guevara et al., 2020). However, the following limitations ought to be acknowledged: (i) previous investigations have reported a sexual dimorphism in MFO and FATmax (Brun et al., 2020; Chávez-Guevara et al., 2023). Thus, further studies investigating the reliability of energy metabolism during prolonged exercise at FATmax in women with obesity are necessary, (ii) the MFO is determined by age, body mass index and the type of exercise in subjects with obesity (Chávez-Guevara, Amaro-Gahete, Ramos-Jiménez, et al., 2023). Therefore, the findings reported in our work need to be

replicated in adolescents and elderly adults under different exercise conditions (i.e., cycling and rowing), and (iii) although energy intake and macronutrient content were calculated in our study, the discordance between low energy intake and large body fat index in our participants suggests that they may have underestimated their actual dietary intake, a common limitation of the 24-hour recall approach (Waterworth et al., 2022). Additionally, MFO seems to be positively associated with dietary fat in healthy lean individuals (Fletcher et al., 2017; Jurado-Fasoli et al., 2021). Therefore, further studies need to investigate whether the metabolic response to prolonged FATmax exercise differs between individuals consuming a high versus low carbohydrate diet.

## Conclusions

A single GXT cannot predict energy metabolism during prolonged exercise at FATmax. Thus, an additional steady-state exercise trial at FATmax must be used for a tailored and precise exercise prescription. A minimum of 60 minutes of FATmax exercise may be necessary to achieve a considerable fat utilization for men with obesity

## Acknowledgments

The authors would like to thank all the subjects who kindly participated in this study. Likewise, the authors recognize Dr. Marina Trejo who donated the test strips for the analysis of blood lactate levels. IACG was supported by a Ph.D scholarship (859438) from the Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (Conahcyt). However, the institution did not participate in the study design or manuscript preparation.

## Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

## Funding

The author(s) reported there is no funding associated with the work featured in this article.

## ORCID

Isaac A. Chávez-Guevara  <http://orcid.org/0000-0001-9773-5043>

Ratko Peric  <http://orcid.org/0000-0003-3345-6293>

Francisco J. Amaro-Gahete  <http://orcid.org/0000-0002-7207-9016>

Arnulfo Ramos-Jiménez  <http://orcid.org/0000-0002-4347-6725>

## Author contribution statement

Investigation, I.A.C.-G.; conceptualization and methodology, A.R.-J. and I.A.C.-G.; formal analysis, F.J.A.-G., I.A.C.-G., R.P.; data curation, R.P. and F.J.A.-G.; writing—original, I.A.C.-G.; writing—review and editing, A.R.-J., F.J.A.-G. and R.P.; visualization, F.J.A.-G. and I.A.C.-G.; supervision and project administration, A.R.-J. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

## Data availability statement

The dataset supporting the findings from this study is available from the lead author upon reasonable request.

## IRB approval

The study protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Autonomous University of Ciudad Juárez (CIBE-2018-1-11) prior study initiation.

## References

- Alcantara, J. M. A., Sanchez-Delgado, G., Amaro-Gahete, F. J., Galgani, J. E., & Ruiz, J. R. (2020). Impact of the method used to select gas exchange data for estimating the resting metabolic rate, as supplied by breath-by-breath metabolic carts. *Nutrients*, 12(2), 487. <https://doi.org/10.3390/nu12020487>
- Amaro-Gahete, F. J., Sanchez-Delgado, G., Jurado-Fasoli, L., De la-O, A., Castillo, M. J., Helge, J. W., & Ruiz, J. R. (2019). Assessment of maximal fat oxidation during exercise: A systematic review. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 29(7), 910–921. <https://doi.org/10.1111/sms.13424>
- Amaro-Gahete, F. J., Sanchez-Delgado, G., Jurado-Fasoli, L., & Ruiz, J. R. (2022). Uncertain association between maximal fat oxidation during exercise and cardiometabolic risk factors in healthy sedentary adults. *European Journal of Sport Science*, 22(6), 926–936. <https://doi.org/10.1080/17461391.2021.1895894>
- Borg, G. A. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 14(5), 377–381. <https://doi.org/10.1249/00005768-198205000-00012>
- Brun, J. F., Hammoudi, L., Gimet, F., Noirez, P., de Mauverger, E. R., & Mercier, J. (2020). Oxydation des lipides au cours de l'exercice : influence du sexe, de la corpulence et de l'âge à partir d'une base de données de 5258 calorimétries d'effort. *Nutrition Clinique et Métabolisme*, 34(1), 38. <https://doi.org/10.1016/j.nupar.2020.02.239>
- Brun, J. F., Myzia, J., Varlet-Marie, E., Raynaud de Mauverger, E., & Mercier, J. (2022). Beyond the calorie paradigm: Taking into account in practice the balance of fat and carbohydrate oxidation during exercise? *Nutrients*, 14(8), 1605. <https://doi.org/10.3390/nu14081605>
- Brun, J. F., Romain, A. J., Guiraudou, M., Fédou, C., & Mercier, J. (2014). Stability over time of the level of maximal lipid oxidation during exercise. *Science & Sports*, 29(3), 168–171. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2013.11.001>
- Cancino-Ramírez, J., Soto Sánchez, J., Zbinden Foncea, H., Moreno González, M., Leyton Dinamarca, B., & González Rojas, L. (2018). Cardiorespiratory fitness and fat oxidation during exercise as protective factors for insulin resistance in sedentary women with overweight or obesity. *Nutricion Hospitalaria*, 35(2), 312–317. <https://doi.org/10.20960/nh.1279>
- Chávez-Guevara, I. A., Amaro-Gahete, F. J., Osuna-Prieto, F. J., Labayen, I., Aguilera, C. M., & Ruiz, J. R. (2023). The role of sex in the relationship between fasting adipokines levels, maximal fat oxidation during exercise, and insulin resistance in young adults with excess adiposity. *Biochemical Pharmacology*, 216, 115757. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2023.115757>
- Chávez-Guevara, I. A., Amaro-Gahete, F. J., Ramos-Jiménez, A., & Brun, J. F. (2023). Toward exercise guidelines for optimizing fat oxidation during exercise in obesity: A systematic review and meta-regression. *Sports Medicine (Auckland, NZ)* Advance online publication. <https://doi.org/10.1007/s40279-023-01897-y>
- Chávez-Guevara, I. A., Hernández-Torres, R. P., González-Rodríguez, E., Ramos-Jiménez, A., & Amaro-Gahete, F. J. (2022). Biomarkers and genetic polymorphisms associated with maximal fat oxidation during physical exercise: Implications for metabolic health and sports performance. *European Journal of Applied Physiology*, 122(8), 1773–1795. <https://doi.org/10.1007/s00421-022-04936-0>
- Chávez-Guevara, I. A., Hernández-Torres, R. P., Trejo-Trejo, M., González-Rodríguez, E., Moreno-Brito, V., Wall-Medrano, A., Pérez-León, J. A., & Ramos-Jiménez, A. (2021). Exercise fat oxidation is positively associated with body fatness in men with obesity: Defying the metabolic flexibility paradigm. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(13), 6945. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136945>
- Chávez-Guevara, I. A., Urquidez-Romero, R., Pérez-León, J. A., González-Rodríguez, E., Moreno-Brito, V., & Ramos-Jiménez, A. (2020). Chronic effect of fatmax training on body weight, fat Mass, and cardiorespiratory fitness in obese subjects: A meta-analysis of randomized clinical trials. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(21), 7888. <https://doi.org/10.3390/ijerph17217888>
- Chrzanowski-Smith, O. J., Edinburgh, R. M., Thomas, M. P., Haralabidis, N., Williams, S., Betts, J. A., & Gonzalez, J. T. (2020). The day-to-day reliability of peak fat oxidation and FATMAX. *European Journal of Applied Physiology*, 120(8), 1745–1759. <https://doi.org/10.1007/s00421-020-04397-3>
- Craig, C. L., Marshall, A. L., Sjöström, M., Bauman, A. E., Booth, M. L., Ainsworth, B. E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J. F., & Oja, P. (2003). International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(8), 1381–1395. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB>
- Croci, I., Borrani, F., Byrne, N. M., Wood, R. E., Hickman, I. J., Chenevère, X., Malatesta, D., & Bacurau, R. F. P. (2014). Reproducibility of fatmax and fat oxidation rates during exercise in recreationally trained males. *PloS One*, 9(6), e97930. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097930>
- Dandanell, S., Præst, C. B., Søndergård, S. D., Skovborg, C., Dela, F., Larsen, S., & Helge, J. W. (2017). Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation in individuals with obesity. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 42(4), 405–412. <https://doi.org/10.1139/apnm-2016-0518>
- De Souza Silveira, R., Carlsohn, A., Langen, G., Mayer, F., & Scharhag-Rosenberger, F. (2016). Reliability and day-to-day variability of peak fat oxidation during treadmill ergometry. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 13(1), 4. <https://doi.org/10.1186/s12970-016-0115-1>
- Dumke, C. L., & Health-Related Physical Fitness and Testing Prescription. (2018). In *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*. (Diebe, D., Ehrman, J.K., Liguori, G., & Magal, M. Eds.; 10th ed.). Wolters Kluwer. Chapter 4.
- Fletcher, G., Eves, F. F., Glover, E. I., Robinson, S. L., Vernooij, C. A., Thompson, J. L., & Wallis, G. A. (2017). Dietary intake is independently associated with the maximal capacity for fat oxidation during exercise. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 105(4), 864–872. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.133520>
- Frangos, S. M., DesOrmeaux, G. J., & Holloway, G. P. (2023). Acidosis attenuates CPT-I-supported bioenergetics as a potential mechanism limiting lipid oxidation. *Journal of Biological Chemistry*, 299(9), 105079. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.105079>
- Frayn, K. N. (1983). Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology*, 55(2), 628–634. <https://doi.org/10.1152/jap.1983.55.2.628>
- Ginde, S. R., Geliebter, A., Rubiano, F., Silva, A. M., Wang, J., Heshka, S., & Heymsfield, S. B. (2005). Air displacement plethysmography: Validation in overweight and obese subjects. *Obesity Research*, 13(7), 1232–1237. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.146>
- Gmada, N., Marzouki, H., Haj Sassi, R., Tabka, Z., Shephard, R., Brun, J. F., & Bouhleb, E. (2013). Relative and absolute reliability of the crossover and maximum fat oxidation points and their relationship to ventilatory threshold. *Science & Sports*, 28(4), e99–e105. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2012.04.007>
- Hart, S., Drevets, K., Alford, M., Salacinski, A., & Hunt, B. E. (2013). A method-comparison study regarding the validity and reliability of the lactate plus analyzer. *BMJ Open*, 3(2), e001899. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2012-001899>
- Holloway, G. P., Bezaire, V., Heigenhauser, G. J., Tandon, N. N., Glatz, J. F., Luiken, J. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2006). Mitochondrial long chain fatty acid oxidation, fatty acid translocase/CD36 content and carnitine palmitoyltransferase I activity in human skeletal muscle during aerobic exercise. *Journal of Physiology, Paris*, 571(Pt 1), 201–210. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2005.102178>

- Hopkins, W. G., Marshall, S. W., Batterham, A. M., & Hanin, J. (2009). Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Medicine & Science in Sports and Exercise*, 41(1), 3–13. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31818cb27>
- Jurado-Fasoli, L., Amaro-Gahete, F. J., Merchan-Ramirez, E., Labayen, I., & Ruiz, J. R. (2021). Relationships between diet and basal fat oxidation and maximal fat oxidation during exercise in sedentary adults. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases: NMCD*, 31(4), 1087–1101. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2020.11.021>
- Koo, T. K., & Li, M. Y. (2016). A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *Journal of Chiropractic Medicine*, 15(2), 155–163. <https://doi.org/10.1016/j.jcm.2016.02.012>
- Lakens, D. (2013). Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Frontiers in Psychology*, 4, 863. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2013.00863>
- Lambert, K., Aguer, C., Kitzmann, M., Mannarino, A., Fedou, C., de Mauverger, E. R., Mercier, J., & Brun, J. F. (2017). Whole-body lipid oxidation during exercise is correlated to insulin sensitivity and mitochondrial function in middle-aged obese men. *Austin Diabetes Research*, 2(1), 1013.
- MacDougall, J. D., Wenger, H. A., & Green, H. J. (1991). *Physiological testing of the high-performance athlete* (2nd ed.). Human Kinetics.
- Meyer, T., Georg, T., Becker, C., & Kindermann, W. (2001). Reliability of gas exchange measurements from two different spiroergometry systems. *International Journal of Sports Medicine*, 22(8), 593–597. <https://doi.org/10.1055/s-2001-18523>
- Özdemir, Ç., Özgünen, K., Günaştı, Ö., Eryılmaz, S. K., Kılıç, A., & Kurdak, S. S. (2019). Changes in substrate utilization rates during 40 min of walking within the fatmax range. *Physiology International*, 106(3), 294–304. <https://doi.org/10.1556/2060.106.2019.28>
- Robinson, S. L., Hattersley, J., Frost, G. S., Chambers, E. S., & Wallis, G. A. (2015). Maximal fat oxidation during exercise is positively associated with 24-hour fat oxidation and insulin sensitivity in young, healthy men. *Journal of Applied Physiology* (Bethesda, Md.:1985), 118(11), 1415–1422. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00058.2015>
- Robles-González, L., Gutiérrez-Hellín, J., Aguilar-Navarro, M., Ruiz-Moreno, C., Muñoz, A., Del-Coso, J., Ruiz, R. J., & Amaro-Gahete, F. J. (2021). Inter-day reliability of resting metabolic rate and maximal fat oxidation during exercise in healthy men using the Ergostik Gas Analyzer. *Nutrients*, 13(12), 4308. <https://doi.org/10.3390/nu13124308>
- Romain, A. J., Carayol, M., Desplan, M., Fedou, C., Ninot, G., Mercier, J., Avignon, A., & Brun, J. F. (2012). Physical activity targeted at maximal lipid oxidation: A meta-analysis. *Journal of Nutrition and Metabolism*, 2012, 285395. <https://doi.org/10.1155/2012/285395>
- Sahlin, K. (2009). Control of lipid oxidation at the mitochondrial level. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 34(3), 382–388. <https://doi.org/10.1139/H09-027>
- Schwindling, S., Scharhag-Rosenberger, F., Kindermann, W., & Meyer, T. (2014). Limited benefit of fatmax-test to derive training prescriptions. *International Journal of Sports Medicine*, 35(4), 280–285. <https://doi.org/10.1055/s-0033-1349106>
- Spriet, L. L. (2014). New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sports Medicine (Auckland, NZ)*, 44(Suppl 1), S87–S96. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0154-1>
- Takagi, S., Sakamoto, S., Midorikawa, T., Konishi, M., & Katsumura, T. (2014). Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation in short-time testing. *Journal of Sports Sciences*, 32(2), 175–182. <https://doi.org/10.1080/02640414.2013.815360>
- Verma, J. P. (2016). Repeated measures ANOVA. In *Sports research with analytical solution using SPSS* Chapter 6. (pp. 156–190). Wiley.
- Waterworth, S. P., Kerr, C. J., McManus, C. J., Costello, R., & Sandercock, G. R. H. (2022). Obese individuals do not underreport dietary intake to a greater extent than nonobese individuals when data are allometrically-scaled. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council*, 34(7), e23743. <https://doi.org/10.1002/ajhb.23743>
- Watt, M. J., Heigenhauser, G. J., Dyck, D. J., & Spriet, L. L. (2002). Intramuscular triacylglycerol, glycogen and acetyl group metabolism during 4 h of moderate exercise in man. *Journal of Physiology, Paris*, 541(Pt 3), 969–978. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.018820>
- Weir, J. B. (1949). New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *Journal of Physiology, Paris*, 109(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1949.sp004363>




## Association Among Different Aerobic Threshold Markers and FATmax in Men With Obesity

Isaac A. Chávez-Guevara, Rosa P. Hernández-Torres, Marina Trejo-Trejo, Verónica Moreno-Brito, Everardo González-Rodríguez & Arnulfo Ramos-Jiménez


**To cite this article:** Isaac A. Chávez-Guevara, Rosa P. Hernández-Torres, Marina Trejo-Trejo, Verónica Moreno-Brito, Everardo González-Rodríguez & Arnulfo Ramos-Jiménez (2023) Association Among Different Aerobic Threshold Markers and FATmax in Men With Obesity, *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 94:3, 861-868, DOI: [10.1080/02701367.2022.2065235](https://doi.org/10.1080/02701367.2022.2065235)

**To link to this article:** <https://doi.org/10.1080/02701367.2022.2065235>

 [View supplementary material](#) 



 Published online: 05 May 2022.

 [Submit your article to this journal](#) 

 Article views: 211





 [View related articles](#) 

 [View Crossmark data](#) 

 Citing articles: 2 [View citing articles](#) 



## Association Among Different Aerobic Threshold Markers and FATmax in Men With Obesity

Isaac A. Chávez-Guevara <sup>a</sup>, Rosa P. Hernández-Torres<sup>b</sup>, Marina Trejo-Trejo<sup>c</sup>, Verónica Moreno-Brito <sup>d</sup>,  
Everardo González-Rodríguez <sup>d</sup>, and Arnulfo Ramos-Jiménez <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Ciudad Juarez Autonomous University; <sup>b</sup>Autonomous University of Chihuahua; <sup>c</sup>Autonomous University of Baja California; <sup>d</sup>Autonomous University of Chihuahua, Circuito Universitario, Campus II

### ABSTRACT

**Purpose:** This work studies the interrelation of the first ventilatory threshold (VT1), the heart rate inflection point (HRIP), and the exercise intensity at which blood lactate started to accumulate (LIAB) or increased 1 mmol·L<sup>-1</sup> above baseline (LT+1.0); and examine their association with the exercise intensity eliciting maximal fat oxidation (FATmax). **Methods:** Eighteen young men with obesity performed an incremental-load exercise test on a treadmill after overnight fasting. Gas exchange, heart rate, and blood lactate concentration were recorded. Linear regression analysis was used to determine the association among FATmax and AeT markers. A standard error of estimate (SEE)  $\leq 9$  beats·min<sup>-1</sup> and the concordance correlation coefficient (CCC) were used to examine the accuracy of different AeT for predicting FATmax heart rate. **Results:** The FATmax occurred at  $36 \pm 7\%$ VO<sub>2peak</sub> before the HRIP ( $41 \pm 6\%$ VO<sub>2peak</sub>), LIAB ( $42 \pm 10\%$ VO<sub>2peak</sub>), LT+1.0 ( $61 \pm 9\%$ VO<sub>2peak</sub>) and VT1 ( $40 \pm 7\%$ VO<sub>2peak</sub>). Furthermore, the HRIP ( $R^2 = 0.71$ ; SEE = 6 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.77), VT1 ( $R^2 = 0.76$ ; SEE = 5 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.84) and LIAB ( $R^2 = 0.77$ ; SEE = 5 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.85) were strongly associated to FATmax and showed an acceptable estimation error for predicting FATmax heart rate. Otherwise, LT+1.0 showed a moderate correlation with FATmax, a low accuracy for predicting FATmax HR ( $R^2 = 0.57$ ; SEE = 7 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.66) and a poor agreement with the rest of AeT markers (Bias: +20%VO<sub>2peak</sub>). **Conclusion:** The HRIP, LIAB and VT1 did not perfectly captured the FATmax, however, these could be exchanged for predicting the FATmax heart rate in men with obesity. Moreover, the LT+1.0 should not be used for AeT or FATmax assessment in men with obesity.

### ARTICLE HISTORY

Received 2 November 2021  
Accepted 7 April 2022

### KEYWORDS

Anti-obesity agents; energy metabolism; exercise test; indirect calorimetry

Exercise training performed at maximal fat oxidation intensity (FATmax) improves body composition, cardiorespiratory fitness, lipid profile, glucose homeostasis, and metabolic flexibility in subjects with obesity and diabetes type 2 (Chávez-Guevara et al., 2020). However, FATmax determination through indirect calorimetry (Amaro-Gahete et al., 2019; A. Jeukendrup & Achten, 2001) requires specialized and expensive equipment hindering FATmax assessment in a basic clinical setting. Therefore, alternative and cost-effective methodological approaches are needed for optimizing exercise fat oxidation in people with obesity.

In this sense, the aerobic threshold (AeT), representing the exercise intensity at which the blood lactate starts to accumulate in the blood showing a sustained increment (Binder et al., 2008) may be used for indirect FATmax determination as both markers indicate a metabolic transition point where glycolytic flux exponentially increases reducing fat oxidation due to several molecular mechanisms reported elsewhere (Sahlin, 2009; Spriet, 2014). Nonetheless, the relationship and agreement between AeT and FATmax remains controversial. Part of this problem comes to the differences in the methodological definition/evaluation of AeT [e.g., first ventilatory threshold (VT1) vs. first lactate threshold (LT1)], participant's characteristics

(e.g., body composition, trained status, and sex) and employed exercise protocol (e.g., stage duration, workload increment, ergometer) among existing studies (Binder et al., 2008; Bircher & Knechtle, 2004; Faude et al., 2009; Nikolovski et al., 2021; Venables et al., 2005). Previous studies analyzing trained (Nikolovski et al., 2021), and sedentary men with obesity (Peric & Nikolovski, 2020) reported that VT1, and FATmax are strongly associated ( $R^2 = 0.64$  for trained and  $R^2 = 0.79$  for men with obesity) and occurred at a similar intensity ( $\sim 47$  and  $43\%$ VO<sub>2max</sub> for trained and obese subjects, respectively). Likewise, Emerenziani et al. (2019) found a strong association between FATmax and VT1 in women with obesity ( $R^2 = 0.88$ ), although FATmax was lower than VT1 in this study ( $70 \pm 13$  vs.  $73 \pm 11\%$ VO<sub>2max</sub>). On the contrary, Venables et al. (2005) reported that FATmax is located below VT1 ( $48 \pm 1$  vs.  $65 \pm 1\%$ VO<sub>2max</sub>) in healthy individuals, while Bircher et al. (2005) observed that VT1 and FATmax occurred at  $\sim 46$  and  $65\%$ VO<sub>2max</sub> respectively in subjects with obesity with a moderate and significant association in women ( $R^2 = 0.42$ ) but not in men ( $R^2 = 0.14$ ), leading to question the agreement between these two variables. Moreover, VT1 is also defined through indirect calorimetry, which limits its applicability for FATmax assessment.



On the other hand, blood lactate concentration (BLa) can be easily measured using a portable lactate analyzer with test strips and BLa accumulation is associated with the decline of fat oxidation in trained males and subjects with metabolic syndrome ( $R^2 = 0.67$  and  $0.72$ , respectively; San-Millán & Brooks, 2018). Nevertheless, agreement and relationship between FATmax and LT1 also differ among studies, partly due to differences in the analytical approach used for LT1 definition [e.g., exercise intensity at which BLa shows a sudden and sustained increase above baseline (LIAB) vs. exercise intensity at which BLa increased  $1.0 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  above baseline levels (LT+1.0)]. Studies that used LIAB for LT1 determination reported a moderate association and good agreement between FATmax in trained men ( $61 \pm 5$  vs.  $63 \pm 8\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ;  $R^2 = 0.46$ ; Achten & Jeukendrup, 2004) and healthy adolescents ( $31 \pm 6$  vs.  $37 \pm 7\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ; Tolfrey et al., 2010). On the contrary, Bircher and Knechtle (2004) reported that LT+1.0 and FATmax occurred at  $\sim 49$  and  $65\% \text{VO}_{2\text{peak}}$  respectively, without a significant relationship between variables in subjects with obesity ( $R^2 = 0.10$  and  $0.19$  for men and women). In addition, data from Pallarés et al. (2016) showed that VT1 and LIAB occurred at a similar exercise intensity (Bias =  $-13.1 \text{ W}$ ;  $R^2 = 0.52$ ) in trained cyclist, whilst LT+1.0 was located above VT1 (Bias =  $+72.4 \text{ W}$ ;  $R^2 = 0.38$ ). The above mentioned evidence suggest that LIAB instead of LT+1.0 should be used for FATmax determination, which requires further examination.

As it is noted, there are several methodological sources of heterogeneity among studies that lead to contradictory results regarding the relationship of AeT indicators and FATmax. Moreover, the above-mentioned studies only report the systematic bias and correlation between FATmax and the different markers of AeT, without demonstrating if such markers could be used for FATmax determination with an acceptable estimate error. Furthermore, the heart rate inflection point (HRIP) is another alternative for determining AeT in men with obesity (Cambri et al., 2016) that, compared to VT1 and LT1, is more economical and easier to determine. Nonetheless, the HRIP has not been explored for FATmax determination; neither exist studies that determine the interrelationship of VT1, LIAB, LT+1.0, and HRIP in men with obesity. Therefore, the present study examined the association of the aforementioned AeT markers with FATmax and evaluated their accuracy for predicting the FATmax intensity in men with obesity. Moreover, we analyzed the interrelation and agreement among the different AeT markers.

We hypothesized that 1) FATmax will show a good agreement and strong correlations with HRIP, LIAB, and VT1 but not with LT+1.0; 2) The HRIP, LIAB, and VT1 will occur at a similar exercise intensity below LT+1.0.

## Materials and methods

### Participants

Eighteen young men with obesity (Table 1) volunteered to participate in this study. They were recruited from institutional e-mails as well as circulated flyers and pamphlets. Prior to study initiation, all participants completed a health survey, including their daily physical activities and preceding/current illnesses (Craig et al., 2003; MacDougall et al., 1991). During the study,

**Table 1.** Anthropometric characteristics and physical fitness of the enrolled participants ( $n = 18$ ).

Variable	Mean (95% CI)
Age (years)	27 (24–30)
Height (m)	1.75 (1.71–1.78)
Body mass (kg)	103.0 (94.2–112.0)
Body mass index ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )	32.9 (30.6–35.1)
Body fat (%)	36.0 (32.4–39.6)
Fat mass index ( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )	12.2 (10.2–14.2)
Fat-free mass (%)	64.0 (60.4–67.6)
$\text{VO}_{2\text{peak}}$ ( $\text{mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ )	36.5 (34.0–39.0)
$\text{HR}_{\text{peak}}$ ( $\text{lat}\cdot\text{min}^{-1}$ )	181 (177–186)
$\text{BLa}_{\text{peak}}$ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) <sup>a</sup>	6.3 (5.5–7.1)
MFO ( $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$ )	0.25 (0.21–0.29)
Self-reported physical activity ( $\text{METs}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{sem}^{-1}$ )	428 (281–574)
Resting metabolic rate (kcal-d)	2434.3 (2237.31–2631.35)

Data is presented as mean (95% CI).

Abbreviations:  $\text{BLa}_{\text{peak}}$  = peak of blood lactate,  $\text{HR}_{\text{peak}}$  = peak of heart rate, MFO = maximal fat oxidation,  $\text{VO}_{2\text{peak}}$  = peak of oxygen uptake.

they were not engaged in structured exercise program or dietary counseling. None of them took prescription medications or dietary supplements that may alter metabolic function, and neither reported a clinical background of cardiovascular, metabolic, or respiratory diseases. Obesity was defined as having a BMI  $\geq 30 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , body fat percentage  $\geq 25\%$ , and a fat mass index  $\geq 6 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  (Peltz et al., 2010; Pi-Sunyer, 2000).

### Experimental design

Participants attended on three separate occasions for body composition assessment (Session 1), resting metabolic rate evaluation (RMR, Session 2), and a graded-load exercise test, performance on a treadmill (Session 3). Each session was performed 48 h apart and the experimental measures were done between 8:00, 11:00 h, after 10–12 h overnight fasting. The laboratory environmental temperature was kept between  $22^\circ\text{C}$  and  $24^\circ\text{C}$ . Also, the subjects were instructed to maintain their habitual diet and physical activity and refrain from physical exercise during their participation. Moreover, energy drinks and caffeine consumption were restricted before oxidative metabolic trials. The night before the graded exercise test, a control dinner with a balanced macronutrient content (55% carbohydrates, 30% lipids, and 15% proteins) was provided to all participants to standardize the metabolic condition of the subjects. The meal was designed by a nutritionist and provided 30% of the total energy requirement of the participants ( $3966.81 \pm 648.37 \text{ kJ}$ ).

The study protocol was reviewed and approved by the Ethics Committee of the Autonomous University of Ciudad Juárez (CIBE-2018-1-11) prior study initiation, and all the experimental procedures were carried out according to the Declaration of Helsinki. The general details of the experimental procedures, benefits from participation and potential risks were communicated to all the subjects, who signed an informed consent after agreeing to participate.

### Measurements

#### Anthropometric measurements

Body measures were performed with subjects lightly dressed and barefoot. Weight and height were measured to the nearest  $0.1 \text{ kg}$  or  $\text{cm}$  with a calibrated electronic scale (SECA 876,

Hamburg, Germany) and a wall mount stadiometer (SECA BM206, Hamburg, Germany). Fat mass and free-fat mass were assessed by air displacement plethysmography (BODPOD; Cosmed, Rome, Italy) following manufacturer guidelines. Body fat percentage (%BF) was determined with Siri's equation (1993), and the fat mass index was calculated by dividing the fat mass (kg) by height squared (m).

### Metabolic oxidative measurements

Gas exchange at rest and during the graded exercise test was measured by indirect calorimetry with a gas analyzer (Cortex, MetaLyzer 3B, Germany). The system was calibrated before each test using a certified gas mixture of known concentrations (5% CO<sub>2</sub>, 16% O<sub>2</sub>, and balanced of N<sub>2</sub>; Cortex-Medical). A 3-L syringe (Hans Rudolph, Shawnee, USA) was used to calibrate the flow sensor.

### Resting metabolic rate

In brief, the participants remained sitting on a reclining chair for 15 to 25 minutes for metabolic measurements and five continuous minutes' steady-state (RQ CV ≤ 5%) was used to calculate the resting metabolic rate from the Weir equation (Weir, 1949). This value was used as for a nutritionist to estimating total energy expenditure and design the control dinner consumed by the participants.

### Incremental-load treadmill test

Each subject performed a graded exercise test on a Quinton motor-driven treadmill (TM55, WA, USA) for FATmax, AeT, and cardiorespiratory fitness evaluation. The resting heart rate, and BLA were measured before the test initiation. A brief walking warm-up (5 min) was carried out at 4 km·h<sup>-1</sup> with no inclination. Then, the test started at a speed of 3 km·h<sup>-1</sup> and a slope of 1%; afterward the velocity was increased by 1 km·h<sup>-1</sup> every 3 minutes until a respiratory exchange ratio of 1.0 was sustained for at least 30 seconds. After that, speed (+1 km·h<sup>-1</sup>) and gradient (+1%) were simultaneously increased every 3 minutes until volitional exhaustion, following the American College of Sports Medicine general indications for stopping an exercise test (Dumke, 2018). Both gas exchange and heart rate (Polar Electro F6, Kempele, Finland) were continuously recorded, while BLA before each stage ending.

The peak of oxygen uptake (VO<sub>2peak</sub>) and heart rate peak were defined by averaging the last 30-seconds of VO<sub>2</sub> and heart rate values. Otherwise, the VO<sub>2</sub> and VCO<sub>2</sub> values registered over the last 120 seconds of each test stage (RER CV ≤ 5%) were used to calculate fat and carbohydrate oxidation through Jeukendrup & Wallis equations (A. E. Jeukendrup & Wallis, 2005), assuming urinary excretion as negligible:

Fat oxidation:  $(VO_2 \times 1.695) - (VCO_2 \times 1.701)$

Carbohydrate oxidation (40–50%VO<sub>2peak</sub>):  $(VCO_2 \times 4.344) - (VO_2 \times 3.061)$

Carbohydrate oxidation (50–75%VO<sub>2peak</sub>):  $(VCO_2 \times 4.210) - (VO_2 \times 2.962)$

The fat oxidation rate was graphically depicted against exercise intensity to determine FATmax (Amaro-Gahete et al., 2019; Supplementary File S1A). The VT1 was determined manually through the ventilatory equivalents method (Binder

et al., 2008) whilst HRIP was mathematically determined through the Dmax method by plotting heart rate vs. treadmill speed (Supplementary File S1B; Cambri et al., 2006).

### Blood lactate assay and lactate thresholds determination

Fingerprint capillary blood samples were taken at rest and every 3-min during the graded exercise test (Supplementary File S1C). The BLA was determined using test strips and lactate plus meter (Nova Biomedical, Waltham, MA) calibrated before each test using control solutions of 1.0–1.6 and 4.0–5.4 mM. The BLA and VO<sub>2</sub> were log-transformed, and the log–log method proposed by Beaver et al. (1985) was used for LIAB definition. Otherwise, BLA was plotted against VO<sub>2</sub>, and a third-degree equation (R<sup>2</sup> > 0.95) was used for determining the LT+1.0.

### Statistical analysis

A one-way repeated measures ANOVA was used to determine differences across exercise intensity parameters corresponding to FATmax and different markers of the AeT by applying the Bonferroni correction for multiple comparisons. Pearson product-correlation was used to examine FATmax and AeT markers relationship. The association among FATmax and the markers of AeT was evaluated through linear regression analysis using the heart rate at FATmax as the dependent variable. The residuals autocorrelation (Durbin-Watson), normality (Kolmogorov-Smirnov), and distribution were analyzed to determine the validity of the computed models.

Moreover, a standard error of estimate ≤5%HRpeak (≤9 beats·min<sup>-1</sup>, see, Table 1) was considered acceptable. This percent is lower than FATmax zone (range of exercise intensities with fat oxidation rates above 90% of maximal fat oxidation) reported in subjects with obesity (Emerenziani et al., 2019; Lanzi et al., 2014), and corresponds to the range of heart rate observed during 60-minutes of physical exercise at FATmax (Chávez-Guevara et al., 2021). The systematic bias between predicted and measured FATmax HR values was analyzed through paired t-test. Moreover, the prediction accuracy of the different AeT markers was determined through Lin's concordance correlation coefficient (CCC), following the criteria proposed by McBride (2005; <0.90: Low; 0.90–0.95: Moderate; 0.95–0.99: Substantial; >0.99: Almost perfect)27. The analysis was computed using SPSS Statistics v.22 software for windows (IBM corporation, NY, USA; Supplementary File S2), and figures were constructed in GraphPad Prism v. 8.1. The statistical significance was set at p ≤ .05. Data are reported as mean ± 95% CI (Tables) or mean ± SD (Text).

### Results

All the analyzed data was normally distributed according to the Shapiro–Wilk test, Q-Q and box plots analysis. The anthropometric characteristics and resting metabolic rate of the enrolled participants is presented on Table 1. The MFO was reached at 36 ± 6%VO<sub>2peak</sub> (95% CI: 34–40%VO<sub>2peak</sub>) corresponding to 58 ± 5%HRpeak (106 ± 11 beats·min<sup>-1</sup>). Then, fat oxidation decreased and became negligible at 73 ± 15%VO<sub>2peak</sub> equivalent to 83 ± 10%HRpeak (151 ± 19 beats·min<sup>-1</sup>).

**Table 2.** Absolute and relative exercise intensity at FATmax and AeT (n = 18).

Variable	FATmax	HRIP	VT1	LIAB	LT+1.0
HR (beats·min <sup>-1</sup> )	105 (100–110)	111 (106–116) <sup>*†</sup>	109 (104–115) <sup>#†</sup>	113 (106–120) <sup>*†</sup>	136 (124–144) <sup>*</sup>
%HR <sub>peak</sub>	58 (55–61)	62 (59–64) <sup>*†</sup>	60 (58–63) <sup>#†</sup>	62 (58–65) <sup>*†</sup>	75 (71–79) <sup>*</sup>
VO <sub>2</sub> (mL·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	13.0 (12.1–14.0)	14.8 (14.1–15.7) <sup>*†</sup>	14.4 (13.3–15.4) <sup>#†</sup>	15.1 (13.7–16.6) <sup>*†</sup>	22.1 (20.4–23.8) <sup>*</sup>
%VO <sub>2peak</sub>	36 (33–40)	41 (38–45) <sup>*†</sup>	40 (36–43) <sup>#†</sup>	42 (37–47) <sup>*†</sup>	61 (56–65) <sup>*</sup>
Speed (km·h <sup>-1</sup> )	4.2 (3.9–4.6)	5.1 (4.9–5.3) <sup>*†</sup>	4.7 (4.5–5.0) <sup>†</sup>	5.0 (4.5–5.5) <sup>*†</sup>	6.3 (6.0–6.6) <sup>*</sup>

Data is presented as mean (CI 95%).

Abbreviations: FATmax = maximal fat oxidation exercise intensity, HR = heart rate, HR<sub>peak</sub> = peak of heart rate, LIAB = exercise intensity at which lactate started to accumulate in the blood, LT+1.0 = exercise intensity at which blood lactate increased by 1 mmol·L<sup>-1</sup>, VO<sub>2</sub> = oxygen uptake, VO<sub>2peak</sub> = peak of oxygen uptake, VT1 = first ventilatory threshold.

\* p < 0.01 vs. FATmax; #, p < 0.05 vs. FATmax; † p < 0.01 vs. LT+1.0

Repeated measures ANOVA showed that FATmax occurred at a lower exercise intensity in comparison to all the AeT markers (Table 2), observing a large effect size for absolute and relative HR and VO<sub>2</sub> ( $\eta_p^2$ : 0.81–0.83, p < .01), and a moderate effect size for treadmill speed ( $\eta_p^2$  = .68, p < .01). Otherwise, the HRIP, VT1, and LIAB presented at a similar exercise intensity (~41%VO<sub>2peak</sub>) before the LT+1.0 (~61%VO<sub>2peak</sub>).

The FATmax was strongly correlated with all the AeT markers that turned to be highly interrelated (Table 3). The lowest correlation coefficient was observed between LT+1.0 and the HRIP (r = 0.63, p < .01) whilst the strongest relationship was found between FATmax and LIAB (r = 0.88, p < .01). Furthermore, the HRIP, VT1, LIAB, and LT+1.0 explained the 71, 76, 77, and 57% of FATmax variance. The LIAB (SEE = 5 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.85) and VT1 (SEE = 5 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.84) showed the highest prediction accuracy and the LT+1.0 the lowest precision (SEE = 7 beats·min<sup>-1</sup>; CCC = 0.66; Figure 1). The residuals of the computed prediction models were normally distributed and did not show a significant autocorrelation (Figure 1). In addition, the average FATmax HR predicted from HRIP, VT1, LIAB and LT+1.0 was not significantly different from measured FATmax HR (mean difference: 0 beats·min<sup>-1</sup>, p: ns)

## Discussion

To our knowledge, this is the first study investigating the association and agreement of different AeT markers with FATmax in untrained men with obesity and a poor cardiorespiratory fitness (Dumke, 2018). Data reported here, agrees with that reported by Peric and Nikolovski (2020) who evaluated young men with obesity and observed that FATmax and VT1 occurred at ~43%VO<sub>2max</sub> (109 ± 2 beats·min<sup>-1</sup>), showing a strong association with each other (R<sup>2</sup> = 0.79). Such consistency could be explained by similarities in the participant's cardiorespiratory fitness (40.3 ± 2.7 vs. 36.5 ± 4.9

mL·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>), body fatness (32.7 ± 2.6 vs. 36.0 ± 7.2%), and the employed exercise protocol (workload increment: 1 km·h<sup>-1</sup>; treadmill running test).

On the other hand, previous investigations pointed out that VT1 may be more accurate than LT+1.0 for AeT assessment and FATmax prediction because there is a higher correlation coefficients and lower systematic bias between FATmax and VT1 in comparison to FATmax and LT+1.0 (Bircher & Knechtle, 2004; Nikolovski et al., 2021; Peric & Nikolovski, 2020). However, the exercise protocol employed by Peric and Nikolovski (2020) was notably different from Bircher and Knechtle (2004), hindering the comparison between the data reported by both studies. In the present investigation, VT1 and LT+1.0 were both strongly correlated with FATmax (r = 0.87 and 0.76, respectively); nevertheless, VT1 showed a higher accuracy for predicting FATmax HR, exhibiting a lower error of estimate (5 vs. 7 beats·min<sup>-1</sup>) and a higher CCC (0.84 vs. 0.66). Moreover, despite observing a strong relationship between VT1 and LT+1.0 (r = 0.80 p < .01) an ample systematic bias was found between both markers (40 vs. 61%VO<sub>2peak</sub>, p < .01) which agrees with data reported by Pallarés et al. (2016) in trained men, and corroborates that LT+1.0 must not be used for FATmax or AeT evaluation.

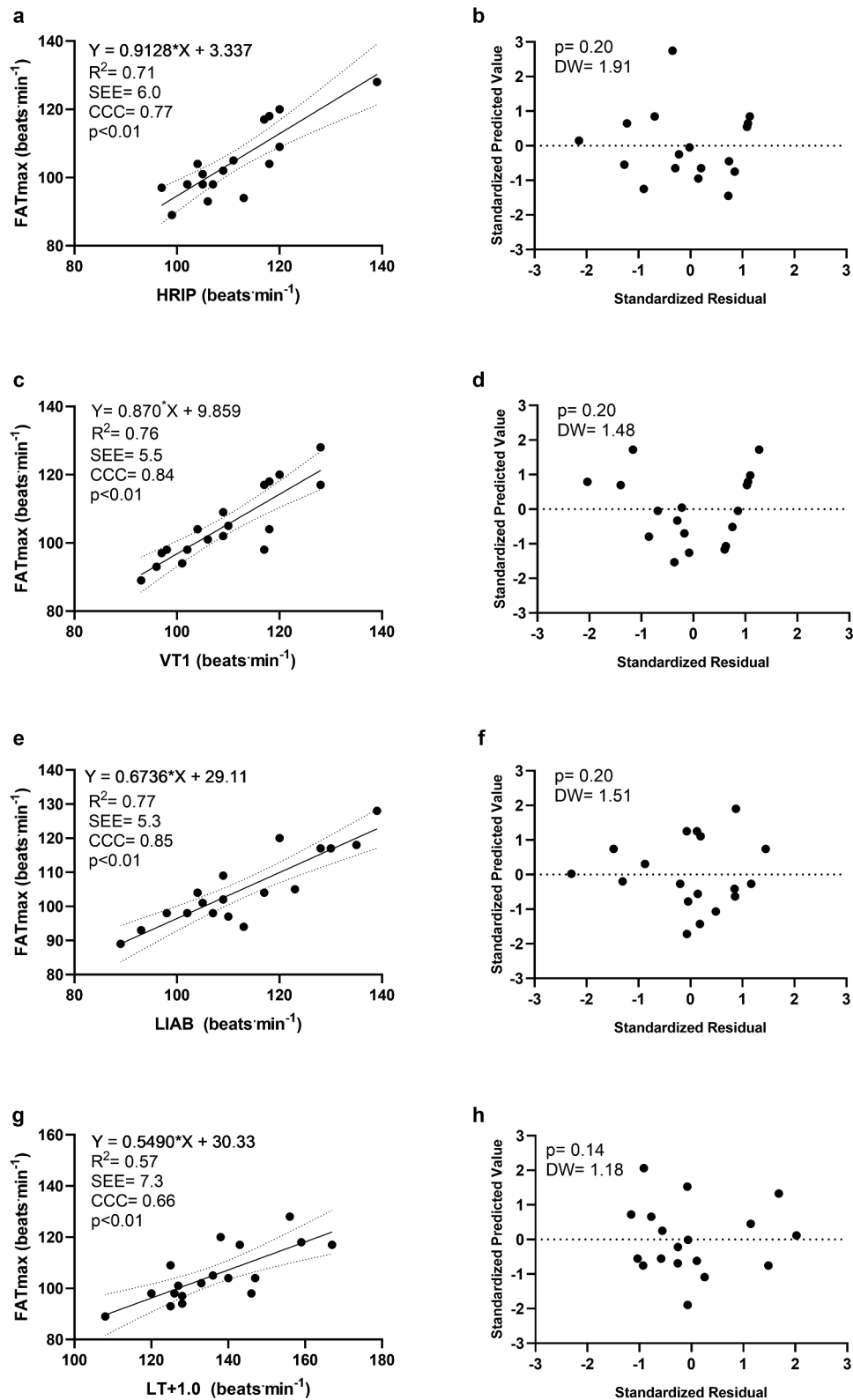
Otherwise, the HRIP, LIAB, and VT1 were strongly correlated and located at a similar exercise intensity (~41%VO<sub>2peak</sub>; Table 2), whereby these could be exchanged for AeT assessment. A good agreement between VT1 and LIAB was previously reported by Pallarés et al. (2016) in male cyclist; however, this is the first study demonstrating that HRIP is a valuable marker for defining the aerobic threshold in men with obesity. Moreover, the HRIP (r = 0.85), LIAB (r = 0.88), and VT1 (r = 0.87) showed a strong correlation with FATmax and a similar accuracy for predicting the FATmax HR. The LIAB and VT1 showed a standard error of estimate of 5 beats·min<sup>-1</sup> (4%VO<sub>2peak</sub>) while the prediction error for HRIP was 6 beats·min<sup>-1</sup> (5%VO<sub>2peak</sub>; CCC = 0.77). Such estimation error is lower than the FATmax zone reported for subjects with

**Table 3.** Pearson's product moment correlations between aerobic threshold markers and FATmax heart rate (n = 18).

	HRIP	VT1	LIAB	LT+1.0
FATmax	0.85 (0.63, 0.94) <sup>*</sup>	0.87 (0.68, 0.95) <sup>*</sup>	0.88 (0.70, 0.95) <sup>*</sup>	0.76 (0.45, 0.90) <sup>*</sup>
HRIP		0.81 (0.54, 0.92) <sup>*</sup>	0.71 (0.37, 0.88) <sup>*</sup>	0.63 (0.24, 0.85) <sup>*</sup>
VT1			0.77 (0.48, 0.91) <sup>*</sup>	0.80 (0.52, 0.92) <sup>*</sup>
LIAB				0.82 (0.57, 0.93) <sup>*</sup>

Abbreviations: LIAB = exercise intensity at which lactate started to accumulate in the blood, LT+1.0 = exercise intensity at which blood lactate increased by 1 mmol·L<sup>-1</sup>, VT1 = first ventilatory threshold, FATmax = maximal fat oxidation exercise intensity.

\*p < 0.01



**Figure 1.** Linear regression between FATmax and AeT indicators. Maximal fat oxidation exercise intensity (FATmax); first ventilator threshold (VT1); exercise intensity at which lactate started to accumulate in the blood (LIAB); exercise intensity at which blood lactate increased by 1 mmol·L<sup>-1</sup> (LT+1.0); concordance correlation coefficient (CCC); Durbin Watson statistic (DW). NOTE: p value in the residual plots refers to normality test.

obesity (Emerenziani et al., 2019; Lanzi et al., 2014). Therefore, these AeT markers could be used for sustaining fat oxidation rates above 90% of MFO during an exercise training session. From a practical standpoint, the LIAB and HRIP can be used

interchangeably for predicting FATmax HR because both markers occur at a similar exercise intensity and would result on an equivalent FATmax. For example, the predicted FATmax HR from a male patient with obesity exhibiting a LIAB or HRIP of

112 beats·min would be 105 and 106 beats·min, respectively. Therefore, sustaining a HR between 100 and 110 or between 100 and 112 beats·min during a training session would be recommended to the patient, taking into consideration the standard error of estimate of LIAB and HRIP. Of note, a minimum difference of ~1 beats·min does not represent a significant difference on the sustained physiological effort, thus depending on the available equipment, health-care professionals can easily perform a FATmax assessment either invasively by BLA, or noninvasively through heart rate, in order to design a training program for improving physical fitness, and metabolic health in men with obesity.

The cardiorespiratory adjustments by the Autonomic Nervous System induced by muscle acidosis and contraction—exercise pressor reflex—could explain the interrelation between HRIP, LIAB, and VT1 (Grotle et al., 2020). As the exercise intensity increase, ATP hydrolysis and glycolytic flux raise gradually, resulting in lactate, H<sup>+</sup>, and inorganic phosphate accumulation in the myocytes (Ducrocq & Kaufman, 2020; Hargreaves & Spriet, 2020). The accumulation of these metabolites decreases muscle fibers pH activating Acid Sensing Ion Channels 1 and 3 that increase afferents IV neurons activity, which signals cardiovascular and respiratory centers located in the medulla oblongata leading to an increase in heart rate, blood pressure, and ventilation (Ducrocq & Kaufman, 2020; Grotle et al., 2020). Data from the present study evidence the so-called metaboreflex demonstrating a coordinated cardiorespiratory response to lactate accumulation in men with obesity. Furthermore, lactate and H<sup>+</sup> accumulation are associated with the onset of fat oxidation decrease because pH myocyte reduction decreases carnitine palmitoyl-transferase 1 activity (~50%) and with-it long-chain fatty acids entry into the mitochondrion (Achten & Jeukendrup, 2004; Spriet, 2014). Thereby, the relationship between FATmax and the different AeT markers here reported have a solid physiological background.

Of note, this study only evaluated young male adults with obesity. A strong correlation between FATmax and VT1 during treadmill running has been also reported in women with obesity ( $R^2 = 0.88$ ), despite the FATmax and VT1 occurred at ~70% $VO_{2peak}$  and 73%  $VO_{2peak}$ , respectively (Emerenziani et al., 2019). Thus, regardless of sex, VT1 seems to be a reliable physiological marker for FATmax determination in people with obesity. Nevertheless, Emerenziani et al. (2019) only examined systematic bias and correlation between FATmax and VT1; thereby, future studies need to investigate the accuracy of the VT1, LIAB, and HRIP for predicting FATmax in women with obesity. Otherwise, future studies also need to analyze the here reported association in adolescents and elderly adults because the FATmax seems to decrease with aging (Riddell et al., 2008). In this regard, FATmax and LIAB showed a good level of agreement in physically active adolescents (Tolfrey et al., 2010) whilst a strong correlation between FATmax and VT1 was recently reported in healthy boys ( $R^2 = 0.93$ ) and girls ( $R^2 = 0.88$ ; Meucci et al., 2021). Nonetheless, the accuracy of LIAB and VT1 for predicting FATmax as well as the association between the HRIP and FATmax in adolescents warrants further analysis.

In addition, the present work examined the association of AeT and FATmax during investigated treadmill walking, which has proven to induce a higher fat oxidation rate in comparison with cycling, rowing, and elliptical (Filipovic et al., 2021). However, as fuel selection, BLA kinetics (Binder et al., 2008; Faude et al., 2009), and the adrenergic response (Davies et al., 1974) differ between exercise modalities, the here reported associations warrant further investigation. Moreover, as FATmax and LT show day-to-day variation (Chrzanowski-Smith et al., 2020; Faude et al., 2009), future investigations should examine the reliability of the here reported associations to corroborate the reliability of the different AeT markers for optimizing fat oxidation. Finally, the FATmax and AeT are modified throughout exercise training (Binder et al., 2008; Riddell et al., 2008; Venables et al., 2005), therefore, further studies need to investigate these variables longitudinally.

## Conclusion

The HRIP, LIAB, VT1, and LT+1.0 are interrelated and strongly associated with FATmax. However, as HRIP, LIAB, and VT1 showed a larger determination coefficient, a lower error of estimate, and better concordance with FATmax, these are more accurate for FATmax determination in men with obesity.

## Acknowledgments

The authors thank all the subjects who kindly participated in the study. Likewise, the authors recognize Alejandra Zavala and Martin Perez, who designed the control dinner meals. IACG was supported by a PhD scholarship (859438) from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). However, the institution did not participate in the study design or manuscript preparation.

## Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the author(s).

## Funding

The author(s) reported there is no funding associated with the work featured in this article.

## ORCID

Isaac A. Chávez-Guevara  <http://orcid.org/0000-0001-9773-5043>  
Verónica Moreno-Brito  <http://orcid.org/0000-0002-6094-7832>  
Everardo González-Rodríguez  <http://orcid.org/0000-0003-0401-0073>  
Arnulfo Ramos-Jiménez  <http://orcid.org/0000-0002-4347-6725>

## Authorship

Investigation and visualization, IACG; conceptualization and methodology, RPHT; resources and data curation, MTT; formal analysis, VMB, EGR; supervision and project administration, ARJ. All authors have read, edited, and approved the final version of the manuscript, and agree with the order of presentation of the authors.

## Data sharing

The dataset supporting the results from this study is available from the corresponding author upon request.

## References

- Achten, J., & Jeukendrup, A. E. (2004). Relation between plasma lactate concentration and fat oxidation rates over a wide range of exercise intensities. *International Journal of Sports Medicine*, 25(1), 32–37. <https://doi.org/10.1055/s-2003-45231>
- Amaro-Gahete, F. J., Sanchez-Delgado, G., Jurado-Fasoli, L., De-la-o, A., Castillo, M. J., Helge, J. W., & Ruiz, J. R. (2019). Assessment of maximal fat oxidation during exercise: A systematic review. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 29(7), 910–921. <https://doi.org/10.1111/sms.13424>
- Beaver, W. L., Wasserman, K., & Whipp, B. J. (1985). Improved detection of lactate threshold during exercise using a log-log transformation. *Journal of Applied Physiology*, 59(6), 1936–1940. <https://doi.org/10.1152/jappl.1985.59.6.1936>
- Binder, R. K., Wonisch, M., Corra, U., Cohen-Solal, A., Vanhees, L., Saner, H., & Schmid, J. P. (2008). Methodological approach to the first and second lactate threshold in incremental cardiopulmonary exercise testing. *European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation: Official Journal of the European Society of Cardiology, Working Groups on Epidemiology & Prevention and Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology*, 15(6), 726–734. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e328304fed4>
- Bircher, S., & Knechtle, B. (2004). Relationship between fat oxidation and lactate threshold in athletes and obese women and men. *Journal of Sports Science & Medicine*, 3(3), 174–181. <https://www.jssm.org/jssm-03-174.xml%3EFulltext#>
- Bircher, S., Knechtle, B., Müller, G., & Knecht, H. (2005). Is the highest fat oxidation rate coincident with the anaerobic threshold in obese women and men? *European Journal of Sport Science*, 5(2), 79–87. <https://doi.org/10.1080/17461390500167078>
- Cambri, L. T., Foza, V., Nakamura, F. Y., & de Oliveira, F. R. (2006). Heart rate and the identification of metabolic transition points in treadmill exercises. *Revista da Educação Física*, 17(2), 131–137. <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/RevEducFis/article/view/3325>
- Cambri, L. T., Novelli, F. I., Sales, M. M., de Jesus Lima de Sousa, L. C., Queiroz, M. G., Dias, A. R. L., Dos Santos, K. M., & Arsa, G. (2016). Heart rate inflection point estimates the anaerobic threshold in overweight and obese young adults. *Sport Sciences for Health*, 12(3), 397–405. <https://doi.org/10.1007/s11332-016-0304-y>
- Chávez-Guevara, I. A., Hernández-Torres, R. P., Trejo-Trejo, M., González-Rodríguez, E., Moreno-Brito, V., Wall-Medrano, A., Pérez-León, J. A., & Ramos-Jiménez, A. (2021). Exercise fat oxidation is positively associated with body fatness in men with obesity: Defying the metabolic flexibility paradigm. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(13), 6945. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136945>
- Chávez-Guevara, I. A., Urquidez-Romero, R., Pérez-León, J. A., González-Rodríguez, E., Moreno-Brito, V., & Ramos-Jiménez, A. (2020). Chronic effect of fatmax training on body weight, fat mass, and cardiorespiratory fitness in obese subjects: A meta-analysis of randomized clinical trials. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(21), 7888. <https://doi.org/10.3390/ijerph17217888>
- Chrzanowski-Smith, O. J., Edinburgh, R. M., Thomas, M. P., Haralabidis, N., Williams, S., Betts, J. A., & Gonzalez, J. T. (2020). The day-to-day reliability of peak fat oxidation and FATMAX. *European Journal of Applied Physiology*, 120(8), 1745–1759. <https://doi.org/10.1007/s00421-020-04397-3>
- Craig, C. L., Marshall, A. L., Sjöström, M., Bauman, A. E., Booth, M. L., Ainsworth, B. E., Pratt, M., Ekelund, U., Yngve, A., Sallis, J. F., & Oja, P. (2003). International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(8), 1381–1395. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB>
- Davies, C. T., Few, J., Foster, K. G., & Sargeant, A. J. (1974). Plasma catecholamine concentration during dynamic exercise involving different muscle groups. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 32(3), 195–206. <https://doi.org/10.1007/BF00423215>
- Ducrocq, G. P., & Kaufman, M. P. (2020). Inorganic phosphate and lactate potentiate the pressor response to acidic stimuli in rats. *Experimental Physiology*, 105(4), 613–621. <https://doi.org/10.1113/EP088349>
- Dumke, C. L. (2018). Health-related physical fitness testing and interpretation. In D. Diebe, J. K. Ehrman, G. Liguori, & M. Magal (Eds.), *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription* (10th ed., pp. 67–110). Wolters Kluwer.
- Emerenziani, G. P., Ferrari, D., Marocco, C., Greco, E. A., Migliaccio, S., Lenzi, A., Baldari, C., & Guidetti, L. (2019). Relationship between individual ventilatory threshold and maximal fat oxidation (MFO) over different obesity classes in women. *PLoS one*, 14(4), e0215307. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215307>
- Faude, O., Kindermann, W., & Meyer, T. (2009). Lactate threshold concepts: How valid are they? *Sports Medicine*, 39(6), 469–490. <https://doi.org/10.2165/00007256-200939060-00003>
- Filipovic, M., Munten, S., Herzig, K. H., & Gagnon, D. D. (2021). Maximal fat oxidation: comparison between treadmill, elliptical and rowing exercises. *Journal of Sports Science & Medicine*, 20(1), 170–178. <https://doi.org/10.52082/jssm.2021.170>
- Grotle, A. K., Macefield, V. G., Farquhar, W. B., O'Leary, D. S., & Stone, A. J. (2020). Recent advances in exercise pressor reflex function in health and disease. *Autonomic Neuroscience: Basic & Clinical*, 228, Article 102698. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2020.102698>
- Hargreaves, M., & Spriet, L. L. (2020). Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nature Metabolism*, 2(9), 817–828. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4>
- Jeukendrup, A., & Achten, J. (2001). Fatmax: A new concept to optimize fat oxidation during exercise? *European Journal of Sport Science*, 1(5), 1–5. <https://doi.org/10.1080/17461390100071507>
- Jeukendrup, A. E., & Wallis, G. A. (2005). Measurement of substrate oxidation during exercise by means of gas exchange measurements. *International Journal of Sports Medicine*, 26(1), S28–S37. <https://doi.org/10.1055/s-2004-830512>
- Lanzi, S., Codecasa, F., Cornacchia, M., Maestrini, S., Salvadori, A., Brunani, A., & Malatesta, D. (2014). Fat oxidation, hormonal and plasma metabolite kinetics during a submaximal incremental test in lean and obese adults. *PLoS one*, 9(2), e88707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088707>
- MacDougall, J. D., Wenger, H. A., & Green, H. J. (1991). *Physiological testing of the high-performance athlete* (2nd ed.). Human Kinetics.
- McBride, G. B. (2005). *A proposal for strength-of-agreement criteria for Lin's concordance correlation coefficient*. 2005 NIWA Client Report: HAM2005-062. National Institute of Water & Atmospheric Research.
- Meucci, M., Nandagiri, V., Kavirayuni, V. S., Whang, A., & Collier, S. R. (2021). Correlation between heart rate at maximal fat oxidation and aerobic threshold in healthy adolescent boys and girls. *Pediatric Exercise Science*, 33(3), 139–143. <https://doi.org/10.1123/pes.2020-0210>
- Nikolovski, Z., Barbaresi, S., Cable, T., & Peric, R. (2021). Evaluating the influence of differences in methodological approach on metabolic thresholds and fat oxidation points relationship. *European Journal of Sport Science*, 21(1), 61–68. <https://doi.org/10.1080/17461391.2020.1717640>
- Pallarés, J. G., Morán-Navarro, R., Ortega, J. F., Fernández-Eliás, V. E., & Mora-Rodríguez, R. (2016). Validity and reliability of ventilatory and blood lactate thresholds in well-trained cyclists. *PLoS one*, 11(9), e0163389. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0163389>
- Peltz, G., Aguirre, M. T., Sanderson, M., & Fadden, M. K. (2010). The role of fat mass index in determining obesity. *American Journal of Human Biology: The Official Journal of the Human Biology Council*, 22(5), 639–647. <https://doi.org/10.1002/ajhb.21056>
- Peric, R., & Nikolovski, Z. (2020). Can metabolic thresholds be used as exercise intensity markers in adult men with obesity – Fat burn points used as an exercise marker. *Comparative Exercise Physiology*, 16(2), 113–119. <https://doi.org/10.3920/cep190035>

- Pi-Sunyer, F. X. (2000). Obesity: Criteria and classification. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 59(4), 505–509. <https://doi.org/10.1017/S0029665100000732>
- Riddell, M. C., Jamnik, V. K., Iscoe, K. E., Timmons, B. W., & Gledhill, N. (2008). Fat oxidation rate and the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation decreases with pubertal status in young male subjects. *Journal of Applied Physiology*, 105(2), 742–748. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01256.2007>
- Sahlin, K. (2009). Control of lipid oxidation at the mitochondrial level. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism = Physiologie Appliquee, Nutrition et Metabolisme*, 34(3), 382–388. <https://doi.org/10.1139/H09-027>
- San-Millán, I., & Brooks, G. A. (2018). Assessment of metabolic flexibility by means of measuring blood lactate, fat, and carbohydrate oxidation responses to exercise in professional endurance athletes and less-fit individuals. *Sports Medicine*, 48(2), 467–479. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0751-x>
- Siri, W. E. (1993). Body composition from fluid spaces and density: Analysis of methods. *Nutrition*, 9(5), 480–492.
- Spriet, L. L. (2014). New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sports Medicine*, 44(1), S87–S96. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0154-1>
- Tolfrey, K., Jeukendrup, A. E., & Batterham, A. M. (2010). Group- and individual-level coincidence of the “Fatmax” and lactate accumulation in adolescents. *European Journal of Applied Physiology*, 109(6), 1145–1153. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1453-3>
- Venables, M. C., Achten, J., & Jeukendrup, A. E. (2005). Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: A cross-sectional study. *Journal of Applied Physiology*, 98(1), 160–167. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00662.2003>
- Weir, J. B. (1949). New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *The Journal of Physiology*, 109(1–2), 1–9. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.1949.sp004363>



# Biomarkers and genetic polymorphisms associated with maximal fat oxidation during physical exercise: implications for metabolic health and sports performance

Isaac A. Chávez-Guevara<sup>1</sup> · Rosa P. Hernández-Torres<sup>2</sup> · Everardo González-Rodríguez<sup>3</sup> · Arnulfo Ramos-Jiménez<sup>1</sup> · Francisco J. Amaro-Gahete<sup>4,5</sup>

Received: 23 December 2021 / Accepted: 18 March 2022

© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2022

## Abstract

The maximal fat oxidation rate (MFO) assessed during a graded exercise test is a remarkable physiological indicator associated with metabolic flexibility, body weight loss and endurance performance. The present review considers existing biomarkers related to MFO, highlighting the validity of maximal oxygen uptake and free fatty acid availability for predicting MFO in athletes and healthy individuals. Moreover, we emphasize the role of different key enzymes and structural proteins that regulate adipose tissue lipolysis (i.e., triacylglycerol lipase, hormone sensitive lipase, perilipin 1), fatty acid trafficking (i.e., fatty acid translocase cluster of differentiation 36) and skeletal muscle oxidative capacity (i.e., citrate synthase and mitochondrial respiratory chain complexes II–V) on MFO variation. Likewise, we discuss the association of MFO with different polymorphism on the ACE, ADRB3, AR and CD36 genes, identifying prospective studies that will help to elucidate the mechanisms behind such associations. In addition, we highlight existing evidence that contradict the paradigm of a higher MFO in women due to ovarian hormones activity and highlight current gaps regarding endocrine function and MFO relationship.

**Keywords** Athletes · Energy metabolism · Exercise · Gene expression · Genotype · Obesity

## Abbreviations

ACE Angiotensin-converting enzyme  
AR Androgen receptor  
ATGL Adipose triacylglycerol lipase  
 $\beta$ -AR<sub>3</sub> Beta-3 adrenergic receptor

CD36 Fatty acid translocase cluster of differentiation 36  
CPT1 Carnitine palmitoyltransferase 1  
CRF Cardiorespiratory fitness  
CS Citrate synthase  
FATmax Exercise intensity corresponding to maximal fat oxidation

Communicated by Michael Lindinger.

✉ Francisco J. Amaro-Gahete  
amarof@ugr.es

Isaac A. Chávez-Guevara  
isaac.chavez@uacj.mx

Rosa P. Hernández-Torres  
rhernant@uach.mx

Everardo González-Rodríguez  
evegonzal@uach.mx

Arnulfo Ramos-Jiménez  
aramos@uacj.mx

<sup>1</sup> Department of Chemical Sciences, Biomedical Sciences Institute, Ciudad Juárez Autonomous University, 32310 Chihuahua, Mexico

<sup>2</sup> Faculty of Physical Culture Sciences, Autonomous University of Chihuahua, 31000 Chihuahua, Mexico

<sup>3</sup> Faculty of Medicine and Biomedical Sciences, Autonomous University of Chihuahua, Circuito Universitario, Campus II, 31109 Chihuahua, Mexico

<sup>4</sup> EFFECTS-262 Research Group, Department of Medical Physiology, Faculty of Medicine, University of Granada, Granada, Spain

<sup>5</sup> PROMoting FITness and Health Through Physical Activity Research Group (PROFITH), Sport and Health University Research Institute (iMUDS), Department of Physical Education and Sports, Faculty of Sport Sciences, University of Granada, Granada, Spain



FFA	Free fatty acids
FFM	Fat-free mass
HIIT	High-intensity interval training
HSL	Hormone-sensitive lipase
IMTG	Intramuscular triglycerides
MFO	Maximal fat oxidation
Mito <sub>VD</sub>	Mitochondrial volume density
OXPHOS	Mitochondrial oxidative phosphorylation capacity
VO <sub>2max</sub>	Maximal oxygen uptake
VO <sub>2peak</sub>	Peak oxygen uptake
VT	Ventilatory threshold

## Introduction

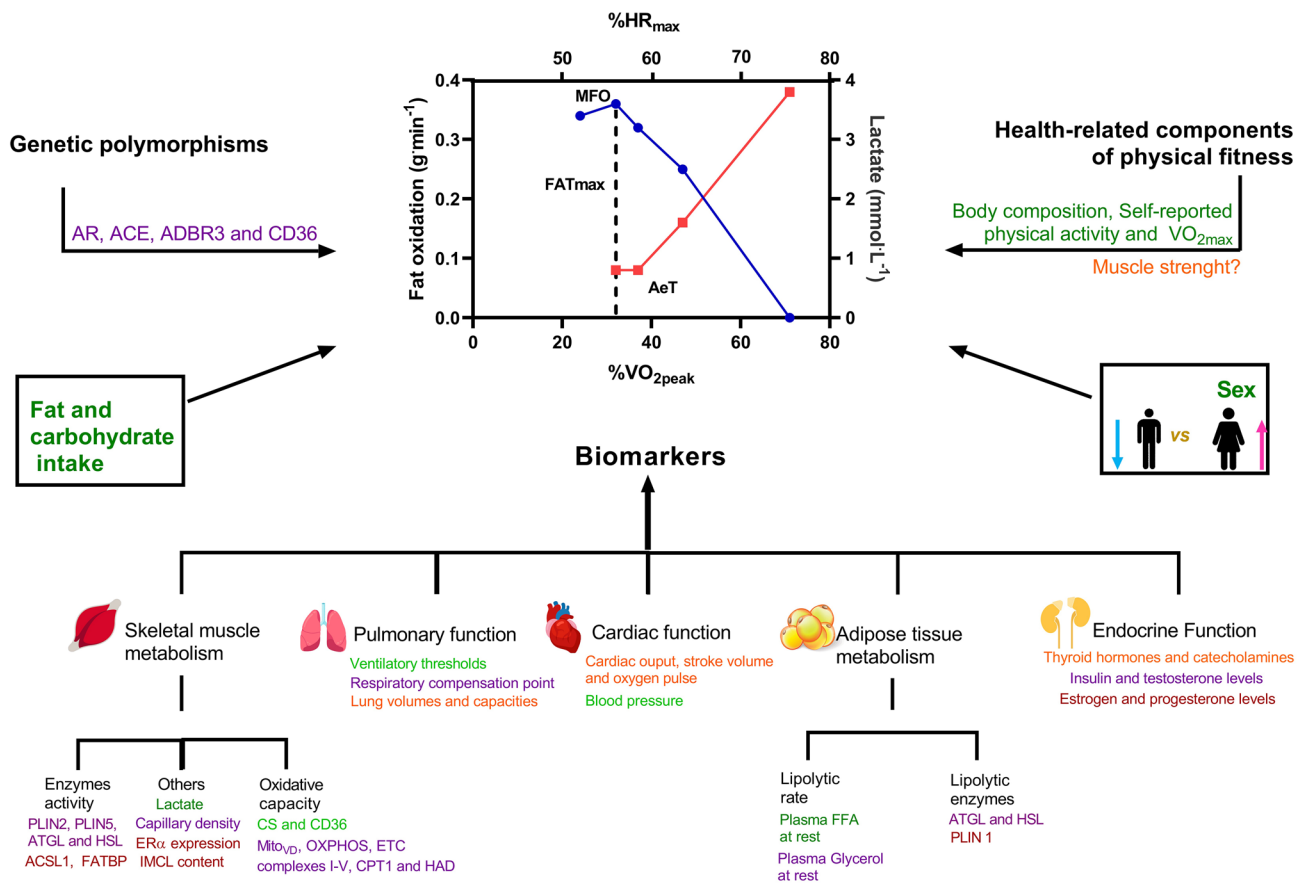
Skeletal muscle comprises ~40% of total body mass and poses relevant implications for metabolic health and sports performance. A poor fat oxidation in skeletal muscle may lead to the accumulation of lipid intermediates such as diacylglycerols and ceramides which are considered “lipotoxic” and are related to insulin sensitivity (Goodpaster and Sparks 2017; Arad et al. 2020). On the other hand, increasing fat oxidation in skeletal muscle through exercise training will reduce glycogenolysis rate, delaying glycogen depletion which is related to muscle fatigue (Holloszy and Coyle 1984; Ørtenblad and Nielsen 2015; Hearn et al. 2018).

The maximal fat oxidation rate (MFO) observed at sub-maximal exercise intensity during an incremental-load exercise test represents the capacity of the skeletal muscle to use fatty acids as a fuel when energy demand raises by muscle contraction (Fig. 1). Since introduced by Jeukendrup and Achten (2001), many studies have analyzed the validity of this parameter as a marker of metabolic flexibility and a predictor of sports performance in endurance athletes, reporting that (1) MFO is directly related to insulin sensitivity ( $r=0.33$ ,  $p<0.01$ ) and 24-h fat oxidation ( $r=0.65$ ,  $p<0.01$ ) in healthy males (Robinson et al. 2015); (2) predicts total fat oxidation during steady-state exercise in men with obesity ( $R^2=0.46$ ,  $p<0.01$ ) (Chávez-Guevara et al. 2021) and is positively associated with exercise fat oxidation in the post-prandial state in trained males ( $r=0.83$ ,  $p<0.01$ ) (Mauder et al. 2021); (3) is related with fat mass loss induced by exercise training performed at MFO intensity (FATmax) in subjects with obesity ( $r=0.35$ ,  $p<0.01$ ) (Drapier et al. 2018); (4) it explains 12 and 14% of endurance performance on Ironman (Frandsen et al. 2017) and ultra-trail male athletes, respectively (Martinez-Navarro et al. 2020). The aforementioned evidence highlights the relevance of investigating those biological and nutritional factors as well as the fitness components that determine MFO to understand the molecular and physiological mechanisms affecting metabolic health and athletic performance.

Previous investigations reported that cardiorespiratory fitness (CRF), body fat, exercise intensity eliciting MFO (FATmax), and fasting duration before the exercise test accounted for 47% of MFO intra-individual variance in athletes (Randell et al. 2017). In a similar way, the CRF, self-reported physical activity level, fat mass, fat-free mass (FFM), biological sex, and macronutrient content of the diet determined 46% of MFO variance in healthy untrained individuals (Fletcher et al. 2017). The physiological mechanisms explaining the association of the variables mentioned above with MFO have been described by Purdom et al. (2018) while Maunder et al. (2018) and Amaro-Gahete et al. (2018) provided MFO and FATmax values for trained and untrained individuals with different nutritional status. Nevertheless, determinants of MFO in endurance athletes, people with chronic diseases and elderly adults require further analysis.

Several studies suggest that women have greater fat oxidation than men, when MFO is expressed as mg kg FFM<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup> (Venables et al. 2005; Fletcher et al. 2017; Maunder et al. 2018). In these studies, females showed a lower FFM in comparison to males. Thus, when adjusting MFO relative to FFM this may result on females exhibiting a higher fat oxidation, because the regression of fat oxidation on FFM has a significant positive intercept. Nonetheless, Chrzanowski-Smith et al. (2021) reported that women exhibited a greater MFO relative to FFM in comparison to men even when both groups were matched by muscle mass. Moreover, a recent meta-analysis evidenced that sedentary women shows a higher reliance on fat oxidation during moderate intensity exercise in comparison to sedentary men (Cano et al. 2021). In this regard, several physiological mechanisms have been related with sex-based differences in fat oxidation, including (1) elevated lipolytic rate in adipose tissue; (2) elevated levels of estrogens; (3) increased proportion of type I muscle fibers; (4) elevated intramuscular lipids concentration. Therefore, is necessary to elucidate whether MFO is predicted by similar variables between sexes.

On the other hand, up to 50% of MFO variation remain unexplained and biomarkers representing adipose tissue metabolism and skeletal muscle oxidative capacity (i.e., lipolytic enzymes, circulating free fatty acids, mitochondrial content, hormones) could be involved in oxidative capacity processes affecting MFO (Muscella et al. 2020). In addition, Randell et al. (2017) pointed out that MFO could be also regulated by genetic and epigenetic factors, including several genetic polymorphisms associated with circulating fatty acid availability (Li et al. 2016), fat oxidation during physical exercise (Morita et al. 2009) and skeletal muscle fiber type composition (Ahmetov et al. 2012). Therefore, the present review considers several biomarkers and genetic polymorphism related to MFO, with particular emphasis on those biomarkers that have been validated as MFO predictor. Moreover, we describe the mechanisms behind such



**Fig. 1** Biomarkers, health-related components of physical fitness and genetic polymorphism related to maximal fat oxidation (MFO). Those biomarkers and health-related components previously validated as MFO predictors are highlighted in green color while those biomarkers that have only been correlated with MFO are remarked in purple. The biomarkers that are not associated with MFO are colored in red those biomarkers whose relationship with MFO has not been analyzed (but could be associated) are highlighted in orange. *ATGL* triacylglycerol lipase, *ACSL1* acyl-CoA synthetase, *CS* citrate synthase, *CPT1* carnitine palmitoyl transferase 1, *ER $\alpha$*  estrogen receptor alpha,

*ECT* electron transport chain, *FATBP* fatty acid binding protein, *FATmax* exercise intensity eliciting maximal fat oxidation, *FFA* free fatty acids, *HAD*  $\beta$ -hydroxy-acyl-CoA-dehydrogenase, *HSL* hormone sensitive lipase, *MFO* maximal fat oxidation, *IMCL* intramuscular lipids, *Mito<sub>VD</sub>* mitochondrial volume density, *OXPHOS* mitochondrial oxidative phosphorylation capacity, *PLIN* perilipin, *VO<sub>2max</sub>* maximal oxygen uptake. The fat oxidation and blood lactate kinetics showed in this figure correspond to Author's experimental data collected from an incremental-load exercise test performed on a patient with obesity

associations and discuss existing evidence regarding the effect of exercise training over all biomarkers and MFO. Furthermore, we identify prospective studies that will help to elucidate the molecular mechanism that may predispose to a low-fat oxidation phenotype leading to metabolic diseases and a poor physical performance.

### Biomarkers associated with exercise-induced maximal fat oxidation rate

Several biomarkers regarding CRF, endocrine function, fatty acid metabolism and skeletal oxidative capacity have been related with MFO observing contrasting results depending on training status and biological sex (Table 1).

### Cardiorespiratory fitness

Data from Venables et al. (2005) and Fletcher et al. (2017) showed that CRF is the main determinant of MFO variance in healthy individuals with low to moderate physical activity level (see standardized  $\beta$  coefficients reported in Table 1). In support of this, a positive and strong association between  $VO_{2max/peak}$  and MFO has been reported in a combined group of trained/untrained individuals ( $R^2 = 0.59$ ,  $p < 0.01$ ) (Nordby et al. 2006) and endurance trained males ( $R^2 = 0.78$ ,  $p < 0.01$ ) (Amaro-Gahete et al. 2019a), with a modest association reported on female ironman athletes ( $R^2 = 0.27$ ,  $p < 0.01$ ) (Vest et al. 2018), sedentary young adults with overweight ( $R^2 = 0.26$ ,  $p < 0.01$ ) and obesity ( $R^2 = 0.10$ ,  $p < 0.05$ ) (Amaro-Gahete et al. 2019b), and sedentary middle-aged adults ( $R^2 = 0.13$ ,  $p < 0.01$ ) (Amaro-Gahete et al.

**Table 1** Biomarkers and health-related fitness components associated with MFO in trained and untrained subjects

Study	Population	Exercise protocol	Analyzed biomarkers	Findings
Venables et al. (2005)	157 M (30 ± 11 years) BMI: 26 ± 4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 50.7 ± 0.7 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 157 W (32 ± 12 years) BMI: 25 ± 4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 41.4 ± 0.9 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill; Fasted state (4 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through measured values	Self-reported physical activity level; VO <sub>2max</sub> ; fat mass and fat-free mass	Self-reported physical activity ( $\beta = 0.15$ ), VO <sub>2max</sub> ( $\beta = 0.50$ ), fat-free mass ( $\beta = 0.41$ ) and biological sex ( $\beta = -0.29$ ) explained 34% of MFO variation
Nordby et al. (2006)	8 Untrained M (26 ± 3 years) BMI: 23.7 ± 2.5 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 46.5 ± 5.1 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 8 Trained M (28 ± 6 years) BMI: 23.2 ± 1.1 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 56.6 ± 3.6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (NR); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a second degree polynomial regression	CS and HAD activity in skeletal muscle, lean mass and VO <sub>2max</sub>	Both, lean mass and VO <sub>2max</sub> were directly associated with MFO in the combined cohort ( $R^2 = 0.59$ , $p < 0.01$ ) *Authors did not report the data for each group and did not perform a multiple linear regression analysis to determine the independent association of lean mass and VO <sub>2max</sub> with MFO
Stisen et al. (2006)	9 Untrained W (NR) BMI: 22.1 ± 2.4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 41.5 ± 5.1 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 8 Trained W (NR) BMI: 21.7 ± 1.8 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 53.8 ± 3.9 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Postprandial state (3 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression	CS, HAD and HSL activity in skeletal muscle, intramuscular glycogen and Fiber type I	Only HAD activity was significantly correlated to MFO in the combined cohort ( $r = 0.65$ , $p < 0.01$ ) *Authors did not report neither the data for each group nor performed a multiple regression analysis
Haufe et al. (2010)	38 Sedentary M (45 ± 6 years) BMI: 35.1 ± 8.6 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 26.1 ± 7.3 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 91 Sedentary W (42 ± 9 years) BMI: 33.9 ± 6.6 kg/m <sup>2</sup> VO <sub>2max</sub> : 21.9 ± 8.5 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Postprandial state (2 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression	Body fat, IMTG, lactate threshold, fat-free mass and VO <sub>2max</sub>	Only fat-free mass ( $r = 0.47$ , $p < 0.01$ ), VO <sub>2max</sub> ( $r = 0.59$ , $p < 0.01$ ) and oxygen uptake at lactate threshold ( $r = 0.55$ , $p < 0.01$ ) were correlated with MFO *Authors did not perform a multiple regression analysis
Robinson et al. (2016)	56 Trained M (24 ± 7 years) BMI: 24.2 ± 2.6 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 52 ± 6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (10 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through measured values	RFO, VO <sub>2max</sub> ; plasma lactate, glucose, glycerol, insulin and FFA at rest and FATmax	RFO ( $r = 0.41$ , $p < 0.01$ ), VO <sub>2max</sub> ( $r = 0.52$ , $p < 0.01$ ), plasma glycerol at FATmax ( $r = 0.51$ , $p < 0.01$ ), plasma FFA ( $r = 0.36$ , $p < 0.01$ ) and insulin ( $r = -0.29$ , $p < 0.05$ ) at rest were all correlated with MFO Authors did not perform a multiple regression analysis
Fletcher et al. (2017)	150 Untrained M (24 ± 7 years) BMI: 23.9 ± 2.3 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 54.4 ± 6.9 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 155 Untrained W (25 ± 6 years) BMI: 22.2 ± 2.2 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 45.6 ± 6.6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill; Fasted state (10–12 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through measured values	Self-reported physical activity level; VO <sub>2max</sub> ; fat mass, fat-free mass and dietary macronutrient content	Self-reported physical activity ( $\beta = 0.23$ ), VO <sub>2max</sub> ( $\beta = 0.52$ ), fat intake ( $\beta = 0.14$ ) and carbohydrate intake ( $\beta = -0.17$ ) determined 47% of MFO variation

Table 1 (continued)

Study	Population	Exercise protocol	Analyzed biomarkers	Findings
Frandsen et al. (2017)	61 male Ironman athlete's (35 ± 8 years) BMI: 26.3 ± 2.3 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 58.7 ± 5.4 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (9–13 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression	Body fat, lean body mass, VO <sub>2peak</sub> , oxygen uptake at FATmax, plasma free fatty acids, glucose, glycerol and lactate at rest	Together, oxygen uptake at FATmax, fasting plasma free fatty acids and lactate accounted for 23% of the variation in MFO ( <i>p</i> < 0.01)
Vest et al. (2018)	34 female Ironman athlete's (34 ± 6 years) BMI: 22.1 ± 2.0 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 53.0 ± 7.8 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (9–13 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a second degree polynomial regression	Body fat, lean body mass, VO <sub>2peak</sub> , plasma free fatty acids, estradiol, glucose, glycerol, lactate and progesterone at rest	Only VO <sub>2peak</sub> showed a significant association with MFO ( <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.27, <i>p</i> < 0.01)
Dandanell et al. (2018)	8 Trained M (age NR) BMI: NR VO <sub>2max</sub> : 71 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 8 Untrained M (age NR) BMI: NR VO <sub>2max</sub> : 48 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (NR); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a second degree polynomial regression	Skeletal muscle CS, Mitochondrial myofibrillar Mitochondrial, subsarcolemmal Mitochondrial, IMCL, fiber type I, capillary density, OXPHOS, FAO <sub>p</sub> and VO <sub>2max</sub>	Only IMCL was not correlated with MFO when data from both groups were combined. Otherwise, only CS ( <i>r</i> = 0.50, <i>p</i> < 0.05), Mitochondrial ( <i>r</i> = 0.50, <i>p</i> < 0.05) and VO <sub>2max</sub> ( <i>r</i> = 0.49, <i>p</i> < 0.05) were significantly correlated with MFO in trained individuals whilst capillary density ( <i>r</i> = 0.53, <i>p</i> < 0.05), fiber type I ( <i>r</i> = 0.51, <i>p</i> < 0.05) and VO <sub>2max</sub> ( <i>r</i> = 0.63, <i>p</i> < 0.05) were related to MFO in the untrained subjects
Amaro-Gahete et al. (2019a)	12 Trained M (25 ± 4 years) BMI: 22.7 ± 2.3 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 63.8 ± 9.6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill; Fasted state (7–10 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression *Two GXT were performed on a randomized order; one in the morning and other in the evening	VO <sub>2max</sub> and VT2	* Authors did not perform a multiple linear regression analysis Both, VO <sub>2max</sub> and VT2 were significantly associated with MFO in the morning ( <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.78, <i>p</i> < 0.01) and <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.55, <i>p</i> < 0.01, respectively) and evening ( <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.66, <i>p</i> < 0.01) and <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.37, <i>p</i> < 0.05, respectively) GXT
Amaro-Gahete et al. (2019b)	66 Sedentary lean subjects (15 M and 51 W; 25 ± 10 years) BMI: 22.2 ± 1.7 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 42.7 ± 8.6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 48 Sedentary overweight subjects (20 M and 28 W; 38 ± 16 years) BMI: 27.6 ± 1.3 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 35.1 ± 7.6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 24 Sedentary subjects with obesity (15 M and 9 W; 34 ± 15 years) BMI: 32.8 ± 2.4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 34.1 ± 5.6 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill; Fasted state (5–6 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression	VO <sub>2max</sub>	VO <sub>2max</sub> showed a modest association with MFO in lean individuals ( <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.17, <i>β</i> = 0.005, <i>p</i> < 0.01) as well as subjects with overweight ( <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.26, <i>β</i> = 0.006, <i>p</i> < 0.01) or obesity ( <i>R</i> <sup>2</sup> = 0.10, <i>β</i> = 0.006, <i>p</i> < 0.05)

Table 1 (continued)

Study	Population	Exercise protocol	Analyzed biomarkers	Findings
Frandsen et al. (2020)	34 Recreationally active W (23 years) BMI: $\sim 22$ kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : $\sim 43.9$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (10–12 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression *GXT was performed on three different phases of menstrual cycle (mid-follicular, late-follicular and mid-luteal)	Body fat, lean body mass, VO <sub>2peak</sub> , plasma free fatty acids, estradiol, glucose, glycerol, insulin, lactate, luteinizing hormone and progesterone at rest	Neither estradiol nor progesterone was related to MFO *No information about the other biomarkers was provided
Zurbuchen et al. (2020)	11 Cyclist M (27 $\pm$ 5 years) BMI: 21.7 $\pm$ 0.9 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2peak</sub> : 64.9 $\pm$ 3.9 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 11 Trained M (29 $\pm$ 5 years) BMI: 23.9 $\pm$ 2.4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2peak</sub> : 49.1 $\pm$ 7.4 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (10 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through SIN model	$\Delta$ [HbHb] <sub>BP</sub> , a <sub>1</sub> , MAP, RCP, VT1 and VO <sub>2peak</sub>	$\Delta$ [HbHb] <sub>BP</sub> ( $r=0.66$ , $p<0.05$ ), a <sub>1</sub> ( $r=-0.41$ , $p<0.05$ ), MAP ( $r=0.43$ ), RCP ( $r=0.62$ , $p<0.05$ ), VT ( $r=0.74$ , $p<0.01$ ) and VO <sub>2peak</sub> ( $r=0.65$ , $p<0.01$ ) were directly correlated to MFO in the combined cohort *Authors did not report the data for each group nor performed a multiple regression analysis
Shaw et al. (2020)	8 Untrained M (25 $\pm$ 4 years) BMI: 25.1 $\pm$ 1.8 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2peak</sub> : 44.9 $\pm$ 5.3 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 7 Trained M (28 $\pm$ 7 years) BMI: 24.0 $\pm$ 2.1 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2peak</sub> : 62.6 $\pm$ 4.1 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (4 h); GXT; Frayn's equations; Analytical procedure for FATmax determination was not reported	Vastus lateralis %Type I, %Type IIa, %Type IIx muscle fibers, skeletal muscle capillary density, IMCL on type I and type II fibers; SDHB, UQCRC2, COXII, ATP5A, ATGL, HSL, HAD, PLIN2, PLIN5 abundance, plasma glucose, free fatty acids, insulin and triacylglycerols, and VO <sub>2peak</sub>	The MFO was positively correlated with %type I fibers (0.81, $p<0.01$ ), capillary density ( $r=0.61$ , $p<0.05$ ), SDHB ( $r=0.59$ , $p<0.05$ ), UQCRC2 ( $r=0.69$ , $p<0.01$ ), COXII ( $r=0.77$ , $p<0.01$ ), ATP5A ( $r=0.59$ , $p<0.05$ ), ATGL ( $r=0.77$ , $p<0.01$ ), HAD ( $r=0.59$ , $p<0.05$ ), PLIN5 ( $r=0.68$ , $p<0.01$ ) and VO <sub>2peak</sub> (0.73, $p<0.01$ ) when combining data from both groups. Moreover, %type IIa fibers was negatively related with MFO ( $r=-0.74$ , $p<0.01$ ) None of the measured biomarkers were correlated with MFO in the trained group whilst only type II IMTG was correlated with MFO in the untrained group Authors did not report the relationship of the different metabolites or insulin with MFO and did not perform a multiple regression analysis

Table 1 (continued)

Study	Population	Exercise protocol	Analyzed biomarkers	Findings
Frandsen et al. (2021)	11 Trained W ( $27 \pm 4$ years) BMI: $22 \pm 3$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $57.4 \pm 7.0$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 10 Trained M ( $31 \pm 6$ years) BMI: $23 \pm 2$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $65.9 \pm 6.1$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; 4 trials on a fasted state (NR); 4 trials on a postprandial state (10 min after a high carbohydrate meal consumption); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression	Plasma free fatty acids, glycerol, glucose, lactate, $\beta$ -hydroxybutyrate, and triacylglycerols concentrations were analyzed at rest and during exercise trials. Basal blood samples were analyzed for insulin, estradiol, and progesterone	<sup>a</sup> Plasma FFA was significantly associated with MFO in the combined cohort ( $R^2 = 0.70$ , $p < 0.01$ ) No information about the other biomarkers was reported
Chrzanoski-Smith et al. (2021)	21 Physically active M ( $39 \pm 11$ years) BMI: $24.3 \pm 2.1$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $48.4 \pm 6.4$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 15 Physically active W ( $41 \pm 12$ years) BMI: $23.0 \pm 2.3$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $34.2 \pm 6.4$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (11–13 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through measured values	ESR1, ATGL, ABHD5, ACSL1, HSL and PLIN1 protein content in adipose tissue, ACSL1, ATGL, ESR1, CPT1b and FATBP content in skeletal muscle	Adipose tissue ESR1 ( $r = 0.46$ , $p < 0.05$ ) and HSL ( $r = 0.38$ , $p < 0.05$ ) tissue were correlated with MFO but not with $MFO_{FFM}$ Skeletal muscle FATBP ( $r = 0.44$ , $p < 0.05$ ), ATGL ( $r = 0.54$ , $p < 0.01$ ) and CPT1b ( $r = 0.52$ , $p < 0.01$ ) were related to MFO; only ATGL ( $r = 0.41$ , $p < 0.05$ ) and CPT1b ( $r = 0.45$ , $p < 0.05$ ) were correlated with $MFO_{FFM}$ <sup>b</sup> Adipose tissue ESR1 was significantly correlated with MFO in men ( $r = 0.49$ , $p < 0.05$ ) and women ( $r = 0.52$ , $p < 0.05$ ). Moreover, the relationship between MFO and HSL only reach significance when data from men and women were combined. Adipose tissue ABHD5 was correlated with MFO in men ( $r = 0.68$ , $p < 0.05$ ) but not in women (Skeletal muscle ATGL ( $r = 0.62$ , $p < 0.05$ ) and CPT1b ( $r = 0.74$ , $p < 0.05$ ) were related with MFO only in women whilst correlation between MFO and FATB content only reach significance when data from men and women were combined
Mauder et al. (2021)	17 Trained M ( $34 \pm 7$ years) BMI: Not reported $VO_{2peak}$ : $4.3 \pm 0.7$ L min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (11–13 h); GXT; Jeukendrup and Wallis equations; FATmax defined through a second degree polynomial regression	CS, CD36, $VO_{2peak}$ and VT2	<sup>a</sup> Together, CS ( $\beta = 0.59$ ), CD36 ( $\beta = 0.27$ ), $VO_{2peak}$ ( $\beta = -0.03$ ) and VT2 ( $\beta = 0.36$ ) explained 88% of MFO variation ( $p < 0.01$ )

Table 1 (continued)

Study	Population	Exercise protocol	Analyzed biomarkers	Findings
Chávez-Guevara et al. (2021)	21 Untrained M ( $27 \pm 11$ years) BMI: $32.6 \pm 2.1$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $39.9 \pm 6.0$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill; Fasted state (10–12 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through measured values	Fat-free mass, body fat and $VO_{2peak}$	<sup>a</sup> Body fat explained 40% of MFO variation ( $p < 0.01$ )
Amaro-Gabete et al. (2021)	38 Sedentary M ( $23 \pm 2$ years) BMI: $27.3 \pm 5.8$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $45.1 \pm 8.1$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 81 Sedentary W ( $22 \pm 2$ years) BMI: $23.9 \pm 3.7$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $39.8 \pm 6.6$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 34 Sedentary M ( $54 \pm 5$ years) BMI: $28.8 \pm 3.5$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $33.2 \pm 4.4$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> 71 Sedentary W ( $53 \pm 5$ years) BMI: $25.2 \pm 3.4$ kg m <sup>-2</sup> $VO_{2peak}$ : $33.2 \pm 4.4$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill; Fasted state (5–12 h); GXT; Frayn's equations; FATmax defined through a third degree polynomial regression	Fat mass, lean mass, visceral adipose tissue, waist circumference, plasma cholesterol, high density lipoprotein, low density lipoprotein, glucose, insulin, blood pressure, physical activity and $VO_{2max}$	<sup>a</sup> Together, waist circumference ( $\beta = -0.21$ ), systolic blood pressure ( $\beta = 0.40$ ) and participants sex ( $\beta = 0.27$ ; $M = 1$ ; $I = 2$ ) determined the 19% of MFO variation in young adults ( $p < 0.01$ ) Otherwise, only $VO_{2max}$ ( $\beta = 0.37$ ) was associated with MFO in middle-aged adults ( $R^2 = 0.13$ , $p < 0.01$ )

Data are presented as mean  $\pm$  SD

$a_1$  slope of the first phase of the muscle deoxygenation kinetics, *ABHD5* abhydrolase domain containing 5, *ATGL* adipose triglyceride lipase, *ACSL1* acyl-CoA synthetase, *ATP5A* ATP synthase subunit mitochondrial, *BLA* blood lactate concentration, *BMI* body mass index, *COXII* cytochrome c oxidase subunit 2, *CS* citrate synthase, *CPT1* carnitine palmitoyl transferase 1, *ESR1* estrogen receptor alpha, *FATBP* fatty acid binding protein, *FAO<sub>β</sub>* mitochondrial fatty acid oxidation, *FFA* free fatty acids, *GXT* graded exercise test,  $\Delta$ (*HHb*)<sub>IP</sub> breaking point of muscle deoxygenation kinetics, *HAD*  $\beta$ -hydroxy-acyl-CoA-dehydrogenase, *HSL* hormone sensitive lipase, *IMCL* intramuscular lipids, *M* men, *MAP* maximal aerobic power, *MFO* maximal fat oxidation, *MFO<sub>FFM</sub>* maximal fat oxidation relative to fat-free mass, *MitroV<sub>D</sub>* mitochondrial volume density, *NR* not reported, *OXPPOS* mitochondrial oxidative phosphorylation capacity, *PLIN* perilipin, *RCP* respiratory compensation point, *RFO* resting fat oxidation, *SDHB* succinate dehydrogenase, *UQCRC2* cytochrome b-c1 complex subunit 2,  $VO_{2peak}$  peak of oxygen uptake,  $VO_{2max}$  maximal oxygen uptake, *V<sub>T1</sub>* first ventilatory threshold (aerobic threshold), *V<sub>T2</sub>* second ventilatory threshold (anaerobic threshold), *W* women

<sup>a</sup>Data provided by the corresponding author

<sup>b</sup>Data retrieved from open access data set

2021). In the same way, a positive and significant correlation between  $VO_{2\max/\text{peak}}$  and MFO has been reported in trained men ( $r: 0.52\text{--}0.65$ ) (Robinson et al. 2016; Zurbuchen et al. 2020; Chrzanowski-Smith et al. 2021), combined groups of trained/untrained individuals ( $r: 0.72\text{--}0.84$ ) (Dandanell et al. 2018; Shaw et al. 2020) as well as sedentary subjects with obesity ( $r=0.59, p<0.01$ ) (Haufe et al. 2010), suggesting that improving CRF would lead to an increment on MFO.

### Effect of exercise training over $VO_{2\max}$ and MFO

In this regard, a concomitant increment in MFO ( $\Delta: 0.03\text{--}0.07\text{ g min}^{-1}$ ) and  $VO_{2\max}$  was reported in adolescents and elderly adults with obesity after 8–10 weeks of exercise training at FATmax (Chávez-Guevara et al. 2020). Indeed, recent studies in young (20–40 years old) and middle-aged sedentary adults (40–65 years old) observed that changes in  $VO_{2\max/\text{peak}}$  induced by endurance training (3 days/week; 300 or 600 kcal day<sup>-1</sup> above 70%  $VO_{2\text{peak}}$ ) (Rosenkilde et al. 2015) or high intensity interval training (HIIT) (40–65 min per week at an intensity of >95%  $VO_{2\max}$ ) (Amaro-Gahete et al. 2020) predicted MFO increments, demonstrating that enhancing CRF improves fat metabolism in untrained subjects. Up to date, the chronic effect of an exercise training intervention over MFO in athletic population remains unexplored. Nonetheless, Achten and Jeukendrup (2003a) reported that MFO was 16% higher in endurance trained men with high vs. low  $VO_{2\max}$  ( $71.9 \pm 6.1$  vs.  $58.6 \pm 5.2\text{ mL kg}^{-1}\text{ min}^{-1}$ ). In the same way, a significant mean difference in MFO levels ( $\sim 0.18\text{ g min}^{-1}$ ) was observed between long-distance male runners with high vs. low  $VO_{2\max}$  ( $68.4 \pm 4.5$  vs.  $58.6 \pm 5.4\text{ mL kg}^{-1}\text{ min}^{-1}$ ) (Lima-Silva et al. 2010), suggesting that an increment on CRF induced by exercise training would augment MFO in endurance athletes, a hypothesis that needs to be supported by further studies.

Of note, all the above-mentioned studies evaluating the increment of MFO and  $VO_{2\max}$  induced by exercise training employed an intervention period  $\leq 12$  weeks. Further studies are needed to elucidate whether CRF and fat metabolism keep improving after 12 weeks of physical exercise. Otherwise, findings from previous randomized clinical trials suggest that MFO and  $VO_{2\max}$  increments depend of exercise training characteristics (i.e., intensity, volume). In young men with obesity, a large increment on MFO ( $\Delta: 0.08\text{ g min}^{-1}; d=1.49$ ) and  $VO_{2\max}$  ( $\Delta: 2.8\text{ mL kg}^{-1}\text{ min}^{-1}; d=0.82$ ) was observed after 2 weeks of HIIT (8 exercise sessions speeded over 14 days;  $10 \times 60\text{-s}$  cycling intervals at workload eliciting  $\sim 90\%$  HRmax interspersed with 60-s recovery at 50 W) while only a low increment on MFO ( $\Delta: 0.03\text{ g min}^{-1}; d=0.32$ ) and  $VO_{2\max}$  ( $\Delta: 1.8\text{ mL kg}^{-1}\text{ min}^{-1}; d=0.27$ ) was observed after steady-state exercise training at FATmax (8 exercise sessions speeded over 14 days;

40–50 min day<sup>-1</sup>) (Lanzi et al. 2015). In addition, both MFO ( $\Delta 16\%, p<0.05$ ) and  $VO_{2\max}$  ( $\Delta 14\%, p<0.05$ ) increased significantly after 3 weeks of high intensity continuous training (5 days/week; 2 sessions day<sup>-1</sup>; 70%  $VO_{2\max}$ ) in adolescents with obesity but remain unchanged in patients who trained at FATmax (5 days/week; 2 sessions day<sup>-1</sup>) (Lazzer et al. 2011). Thus, in the short-term, training at high intensity seems to be more effective at improving MFO in comparison to exercising at FATmax. On the other hand, high-volume endurance training (3 days/week; 600 kcal day<sup>-1</sup> above 70%  $VO_{2\text{peak}}$ ) resulted on a larger increment on MFO in comparison to low-volume endurance training (3 days/week; 600 kcal day<sup>-1</sup> above 70%  $VO_{2\text{peak}}$ ) in sedentary men with overweight ( $\Delta 0.14$  vs.  $0.09\text{ g min}^{-1}$ ) (Rosenkilde et al. 2015). Moreover, in healthy men, the MFO and FATmax are higher during treadmill running in comparison to stationary cycling (Achten et al. 2003), elliptical and rowing exercises (Filipovic et al. 2021). Thus, the effect of exercise training on MFO may depend on exercise intensity, type and volume. Further clinical trials are needed to establish the optimal training characteristics for improving MFO in athletes, sedentary lean individuals and patients with chronic diseases.

Despite a clear relationship is observed between  $VO_{2\max}$  and MFO, the mechanisms behind such association are not fully understood. The  $VO_{2\max}$  represents the capacity of an organism for transport  $O_2$  from the environment to the body tissues for energy production in the mitochondrion through oxygen-dependent pathways, including fat oxidation. (Bassett and Howley 2000; Levine 2008). In this regard, the  $VO_{2\max}$  is determined by lungs capacity and volume, cardiovascular function, microcirculation, and skeletal muscle oxidative capacity (Wagner 1996; Levine 2008). Therefore, all the aforementioned factors might be implicated on the association between MFO and  $VO_{2\max}$ .

### Biomarkers of skeletal muscle oxidative capacity associated with MFO

The  $VO_{2\max}$  is positively associated with several biomarkers of skeletal muscle oxidative capacity, including mitochondrial volume density (Mito<sub>VD</sub>) and oxidative phosphorylation capacity (OXPHOS) (Lundby and Jacobs 2016), capillary density (Hendrickse and Degens 2019) and type I muscle fibers abundance (Foster et al. 1978). Recent studies have evaluated the association of MFO with all the above-mentioned biomarkers providing valuable insights about the mechanism that regulate fat oxidation capacity.

### Mitochondrial volume density and oxidative phosphorylation capacity

Dandanell et al. (2018) investigated the relationship of Mito<sub>VD</sub> and OXPHOS with MFO, observing a moderate



correlation between these variables ( $r=0.56$  and  $r=0.52$  for Mito<sub>VD</sub> and OXPPOS respectively) when combining data from endurance trained and untrained men. In the same study, mitochondrial fatty acid oxidation measured in vitro turned to be positively related with MFO ( $r=0.59$ ) suggesting that exercise training improves skeletal muscle fat oxidation capacity by enhancing mitochondrial quantity and OXPPOS.

The enzymatic activity of citrate synthase (CS) and the protein content of the mitochondrial respiratory chain complexes are considered reliable biomarkers of Mito<sub>VD</sub> and OXPPOS in skeletal muscle (Larsen et al. 2012) and its relationship with MFO has been analyzed in combined cohorts of trained/untrained individuals (Nordby et al. 2006; Stisen et al. 2006; Dandanell et al. 2018; Shaw et al. 2020). These studies noted a higher CS activity in trained vs. untrained subjects (35–44% higher) but only Dandanell et al. (2018) found a strong and significant relationship between CS and MFO ( $r=0.67$ ,  $p<0.01$ ) which may be explained due to a larger difference on  $VO_{2max}$  and CS activity among trained and untrained groups (see Table 1). In support of these data, the study by Maunder et al. (2021) observed that CS activity was more determinant than  $VO_{2max}$  for predicting MFO in young trained men (see standardized beta coefficients reported in Table 1). Moreover, Shaw et al. (2020) found a significant relationship between MFO and mitochondrial respiratory chain complexes II, III, IV and V when combining the data from trained and untrained individuals (Table 1), supporting the hypothesis that increasing skeletal muscle oxidative capacity would lead to a higher MFO.

The augment of MFO was positively correlated with the increment of muscle CS activity ( $r=0.63$ ,  $p<0.05$ ) and OXPPOS ( $r=0.78$ ,  $p<0.01$ ) after 10 weeks of exercise training at FATmax in subjects with type 2 diabetes (Bordenave et al. 2008). Moreover, Rosenkilde et al. (2015) showed that changes in CS activity and mitochondrial complexes chain complexes II, III, IV, and V induced by 12 weeks of endurance exercise training were related with MFO augment in young sedentary overweight men. Up to date, there is no evidence of a concomitant increment on Mito<sub>VD</sub> and MFO in athletic population.

Skeletal muscle contraction promotes mitochondrial biogenesis through activation of the transcriptional coactivator peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC1- $\alpha$ ) that recruits and co-regulates several transcription factors (i.e., nuclear respiratory factors 1 and 2, peroxisome proliferator-activated receptors, estrogen related receptor  $\alpha$ ) controlling the expression of mitochondrial proteins, including mitofusin 1 and 2 which regulate mitochondrial fusion and fission, respectively (Egan and Zierath 2013). In the same way, activation of PGC1- $\alpha$  upregulates the expression of several genes encoding CS and other proteins that regulate fatty acid trafficking and oxidation (see

below) (Egan and Zierath 2013). Thus, future investigations should analyze the association between PGC1- $\alpha$  and MFO to elucidate molecular mechanisms implicated on metabolic health and sports performance. Interestingly, exercise intensity is positively related to exercise-induced increment of PGC1- $\alpha$  mRNA levels ( $r=0.38$ ) (Granata et al. 2018a) whilst training volume is directly related to Mito<sub>VD</sub> changes induced by physical exercise (Granata et al. 2018b). Therefore, future studies are needed to establish training recommendations for optimizing skeletal muscle oxidative capacity and enhancing MFO.

In muscle fibers, the mitochondria are mainly distributed on intermyofibrillar cell compartment (Lundby and Jacobs 2016). Nonetheless, the relative increment of subsarcolemmal Mito<sub>VD</sub> is larger than in intermyofibrillar mitochondria after 6 weeks of high intensity endurance training ( $\sim 72\%$   $VO_{2max}$ ) (Suter et al. 1995). This may optimize oxygen and fatty acid diffusion to skeletal muscle mitochondria improving fat oxidation capacity. Indeed, subsarcolemmal Mito<sub>VD</sub> showed a larger correlation with MFO ( $r=0.62$ ,  $p<0.01$ ) in comparison to intermyofibrillar Mito<sub>VD</sub> ( $r=0.37$ ,  $p<0.01$ ) (Dandanell et al. 2018). Whether an increment on subsarcolemmal Mito<sub>VD</sub> influences muscle oxygenation kinetics and fatty acid uptake elevating MFO remains to be elucidated.

In addition, endurance training also improves intrinsic mitochondrial function by enhancing the surface of the mitochondrial inner membrane that in turn is positively related to  $VO_{2max}$  in both sedentary and trained individuals (Nielsen et al. 2017). The increment of mitochondrial cristae might lead to the assembly of electron transport chain supercomplexes enhancing mitochondrial respiratory capacity and ATP synthesis (Greggio et al. 2017). As before mentioned, a significant relationship between MFO and mitochondrial respiratory chain complexes II, III, IV and V was observed in lean individuals (Shaw et al. 2020). Nevertheless, whether an increment on electron transport chain supercomplexes could elevate MFO requires further investigation.

Exercise training improves Mito<sub>VD</sub>, mitochondrial respiration and insulin sensitivity in patients with obesity and type 2 diabetes, suggesting a link between skeletal muscle oxidative capacity and metabolic health (Genders et al. 2020). The mechanism behind such association is not fully understood but it might be possible that a higher fat oxidation induced by enhanced Mito<sub>VD</sub> and OXPPOS could attenuate the accumulation of bioactive lipids like diacylglycerols and ceramides which are related to insulin resistance (Perreault et al. 2018). In this regard, alongside with increased MFO and CS activity, Rosenkilde et al. (2015) also reported a significant reduction on fasting insulin levels ( $-30\%$ ) after 12 weeks of endurance training in sedentary men with overweight. On the contrary, 10 weeks of exercise training at FATmax did not reduce insulin or glucose circulating levels

in patients with diabetes despite a significant augment in MFO and CS activity (Bordenave et al. 2008). In the two aforementioned studies, changes of intramuscular lipids induced by exercise training were not measured. Therefore, future investigations are needed to elucidate whether an increment on MFO is associated with changes in skeletal muscle oxidative capacity, intramuscular lipid intermediates and insulin sensitivity.

In addition to increased Mito<sub>VD</sub> and OXPHOS, the abundance and activity of some glycolytic enzymes (e.g., lactate dehydrogenase) are reduced with exercise training attenuating muscle glycogenolysis which might delay glycogen depletion improving endurance performance (Holloszy and Coyle 1984; Egan and Zierath 2013; Knuiman et al. 2015; Hearnis et al. 2018). Further studies should analyze the modifications in MFO and glycogen utilization induced by exercise training in athletes.

### Capillary density

The MFO was positively correlated with muscle capillary density ( $r$ : 0.53–0.61) in young men (Dandanell et al. 2018; Shaw et al. 2020). Capillaries are blood vessels that deliver oxygen and nutrients to skeletal muscle fibers, being the number of capillaries per muscle fiber increased with endurance training throughout a process named angiogenesis (Egan et al. 2013; Hendrickse and Degens 2019). Up to date, whether an increment on capillary density induced by exercise training leads to a higher oxygen and fatty acid delivery to skeletal muscle elevating MFO remains undefined.

### Fiber type distribution

Recent studies performed on healthy men, reported a positive correlation between MFO and %type I muscle fibers ( $r$ : 0.51–0.81) (Dandanell et al. 2018; Shaw et al. 2020). This relationship could be explained due to a higher capillary density, larger Mito<sub>VD</sub> and a higher activity of CS and mitochondrial respiratory chain complexes on type 1 muscle fibers in comparison to type 2 fibers (Egan and Zierath 2013). In addition, the abundance of transport proteins involved on fatty acid trafficking [i.e., fatty acid binding protein and fatty acid translocase cluster of differentiation 36 (CD36)] and the enzymatic activity of 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase that regulates oxidation of fatty acids into the mitochondrion is also higher in type 1 muscle fibers (Vistisen et al. 2004; Egan and Zierath 2013).

To the best of our knowledge, the concomitant changes on %type I muscle fibers and MFO have not been analyzed neither in sedentary or trained individuals. Nevertheless, it is widely reported that skeletal muscle undergoes a remodeling process depending on exercise training characteristics. Several studies have shown that sprint, power and plyometric

training could elicit a transition of type I muscle fibers to type IIa (Plotkin et al. 2021). Otherwise, endurance training promotes the shift of muscle fibers type IIa/IIx towards type I muscle fibers (Plotkin et al. 2021). The increment of type 1 muscle fibers might be of particular interest for long-distance runners in whom %type 1 muscle fibers is directly related to endurance performance (Foster et al. 1978). Moreover, patients with metabolic syndrome might benefit from increasing %type 1 muscle fibers because a diminished proportion of these muscle fibers is observed in this population when compared to lean subjects (Stuart et al. 2013; Albers et al. 2015). Further research is needed to elucidate whether an increment on MFO and the proportion of type 1 fibers improves insulin sensitivity and endurance performance in patients with diabetes and athletes respectively.

### Cardiovascular function

A recent study evaluating the relationship between fat oxidation and muscle deoxygenation kinetics—assessed by the variations in deoxygenated hemo- and myoglobin concentrations—reported that the breakpoint and slope of the muscle deoxygenation kinetics correlated with MFO ( $r=0.66$ ,  $p<0.05$ ;  $r=-0.41$ ,  $<0.05$ , respectively) in a combined group of physically active individuals and well-trained cyclist (Zurbuchen et al. 2020). Therefore, the greater the capacity for maintaining a balance between oxygen delivery and extraction throughout a larger range of exercise intensities, the greater the reliance on aerobic metabolism and fat oxidation for ATP production.

The cardiovascular system is responsible for oxygen transport from the lungs to the different bodily tissues (Wagner 1996; Hoppeler and Weibel 2000; Levine 2008), thereby, cardiovascular function might be associated with exercise fat oxidation. In this regard, Skattebo et al. (2022) reported a higher MFO relative to muscle mass during one-leg cycling in comparison with two-leg cycling (+54%) being such differences associated with an elevated mass-specific oxygen delivery and a higher increment on cardiac output in response to one-leg cycling. These data suggest that enhancing oxygen delivery to skeletal muscle by increasing cardiac output may elevate MFO.

An increment of cardiac output occurs in response to exercise training due to a larger stroke volume, derived from an increment of left ventricle chamber dimension and also an increment in end-diastolic filling pressure (Hoppeler and Weibel 2000; Levine 2008). Recently, Vaccari et al. (2020) reported a concomitant increment of cardiac output, stroke volume,  $VO_{2max}$  and fat oxidation rates at 60–80%  $VO_{2max}$  after 3 months of HIIT in patients with obesity (34 exercise sessions; 3-min sprint intervals at ~100%  $VO_{2peak}$  interspersed by 90 s of walking at ~50%  $VO_{2peak}$ ). Nonetheless, in the same study, MFO did not increase in response to

exercise training. Noteworthy, despite a large increment on cardiac output was reported by the previous study, authors did not evaluate modifications of muscle oxygenation kinetics. Therefore, further studies are needed to investigate the association among MFO, oxygen delivery to skeletal muscle and biomarkers of cardiovascular function (Fig. 1).

## Pulmonary function

### Ventilatory threshold

A moderate association of the first and second ventilatory thresholds (VT) with MFO has been reported by several studies in trained men ( $R^2$ : 0.46–0.55) (Amaro-Gahete et al. 2019a, b; Zurbuchen et al. 2020; Maunder et al. 2021). The VT are positively related with muscle oxygenation kinetics (Zurbuchen et al. 2020) and performance in long-distance runners. Moreover, the VT increase with exercise training in sedentary men and women, with a higher improvement when exercise training is performed above the VT intensity (Gaskill et al. 2001).

The second VT indicates an increment on pulmonary ventilation that results from accumulation of lactate in the blood and skeletal muscle (Binder et al. 2008). The accumulation of lactate in skeletal muscle sarcoplasm induces a reduction of muscle pH that decrease the activity of carnitine palmitoyl transferase 1 (CPT1), thus reducing the entry of long-chain fatty acids into the mitochondrial matrix (Starritt et al. 2000; Achten and Jeukendrup 2004). Indeed, blood lactate levels are inversely associated with fat oxidation rates during a graded exercise test (San-Millán and Brooks 2018). Exercise training improves lactate clearance in skeletal muscle fibers by increasing the density of monocarboxylate transporters (MCT1 and MCT4) in the sarcolemma (Thomas et al. 2012). This adaptation delays the reduction of sarcoplasmic pH and the inhibition of CPT1 allowing a higher fat oxidation. San-Millán and Brooks (2018) reported that lactate threshold and MFO occurred at a higher workload in endurance trained athletes in comparison with patients that suffer from metabolic syndrome. Nevertheless, whether a parallel increment on lactate threshold, VT and MFO in obtained after exercise training remains to be elucidated.

### Lung capacities and volumes

Pulmonary function is a critical determinant of pulmonary ventilation, oxygen uptake and  $VO_{2max}$  (Wagner 1996). Several biomarkers of lung volumes (e.g., tidal volume) are positively related to physical activity and seem to be increased with endurance training (Lutfi 2017). Moreover, Durmic et al. (2017) suggest that lungs capacities also increase with exercise training because vital capacity and forced expiratory volume were higher in endurance trained individuals

vs. sedentary controls. The adaptations of lungs capacities might be related to exercise intensity, type and volume because vital capacity and maximal expiratory volume are notably higher in water polo athletes when compared against basketball, handball and soccer players (Durmic et al. 2015). Although the mechanism behind the increment of lung volumes and capacities are not fully understood, Durmic et al. (2017) proposed that endurance exercise may change airways resistance conduction, alveolar expansion and lung elasticity. In addition, exercise training increases the strength of respiratory muscles contributing to a higher pulmonary ventilation (Hackett 2020). Further studies need to evaluate whether lung capacities and volumes correlate with muscle oxygenation kinetics and MFO.

## Fatty acid metabolism

The contribution of fatty acid delivered from adipose tissue and intramuscular triglycerides (IMTG) to energy expenditure is determined by exercise intensity, being the plasma free fatty acids (FFA) the main energy source during low to moderate exercise intensity while IMTG increases its contribution as workload progressively augment during a graded exercise test (Hargreaves and Spriet 2020). The FATmax is commonly observed between 45 and 65%  $VO_{2max}$  (Purdum et al. 2018) which represent a moderate exercise intensity (Mann et al. 2013). Nevertheless, because the FATmax and the aerobic threshold occur at a similar intensity in both sedentary (Peric and Nikolovski 2020) and trained individuals (Nikolovski et al. 2021), MFO is located at a low exercise intensity (MacIntosh et al. 2021). Thus, FFA would be the main fuel used for ATP production and its concentration might be associated with MFO.

## Adipose tissue lipolysis

In this sense, Robinson et al. (2016) reported a low correlation between FFA concentration at FATmax and MFO in trained men ( $r=0.27$ ,  $p<0.05$ ). Such correlation disappeared when plasma FFA at rest was included as a covariate. Indeed, the FFA increment from rest to FATmax was not correlated with the differences between fat oxidation at rest and MFO. To the best of our knowledge, only this study has analyzed the association between FFA concentration at FATmax and MFO, therefore, further research is necessary to establish a robust conclusion. Interestingly, sedentary men with obesity exhibited higher FFA availability at FATmax and higher absolute MFO during an incremental-load exercise in comparison to lean subjects (Lanzi et al. 2014) which has been related with a larger fat mass in patients with obesity (Amaro-Gahete et al. 2019b). Moreover, women with low abdominal to lower body fat mass ratio exhibited a

higher MFO and FATmax in comparison to women with high abdominal to lower body fat mass ratio despite no differences in FFM and total fat mass (Isacco et al. 2014). The last finding could be explained by lower insulin levels and higher FFA concentration during moderate intensity exercise in women with high abdominal to lower body fat mass ratio (Isacco et al. 2013). Thereby, the relationship between FFA and MFO could be influenced by nutritional status and fat mass distribution, a hypothesis that also require further research.

The data from Robinson et al. (2016) suggest that fatty acid availability prior exercise seems to be more determinant than lipolytic response to this stimulus. In this sense, Frandsen et al. (2017) showed that overnight fasting (9–13 h) plasma FFA at rest was independently associated with MFO explaining 6% of its variation in male ironman athletes, although such association was not observed in female ironman athletes ( $R^2=0.07$ , ns) in whom  $VO_{2peak}$  was the only biomarker associated with MFO (Vest et al. 2018). The discrepancy across these studies suggests that MFO is determined by different physiological mechanisms across male and female ironman athletes which require further analysis. On the other hand, Frandsen et al. (2021) showed that increasing FFA throughout prolonged fasting (> 22 h) and repeated exercise sessions resulted on a higher MFO in endurance athletes. In the same study, a linear regression analysis showed that an increase of 500  $\mu\text{mol L}$  in plasma FFA would augment MFO by 4.5  $\text{mg kg lean body mass}^{-1} \text{min}^{-1}$  in men and by 5.5  $\text{mg kg lean body mass}^{-1} \text{min}^{-1}$  in women ( $R^2=0.70$ ,  $p<0.01$ ), highlighting the association between FFA availability and MFO. Future investigations are needed to corroborate whether a higher FFA availability led to higher fatty acid uptake and oxidation in skeletal muscle.

Triacylglycerol hydrolysis (lipolysis) is a sequential process involving (1) several enzymes called lipases and (2) different regulatory proteins located in the surface of lipid droplets named perilipins. The enzymes triacylglycerol lipase (ATGL) and hormone sensitive lipase (HSL) catalyze the hydrolysis of the first and second ester bonds producing diacylglycerol and monoacylglycerol, respectively, while perilipin 1 facilitates the access of lipases into the lipid droplet (Tsiloulis and Watt 2015). Both, HSL and perilipin phosphorylation increases in response to  $\beta$ -adrenergic stimulation which augment during physical exercise (Jordy and Kiens 2014; Tsiloulis and Watt 2015). A pilot study in healthy individuals showed that MFO was positively related with HSL ( $r=0.38$ ,  $p<0.05$ ) and perilipin 1 ( $r=0.71$ ,  $p<0.01$ ) abundance in adipose tissue (Chrzanowski-Smith et al. 2021). The higher expression of these proteins may elevate FFA availability inducing a higher MFO. Nevertheless, this study did not measure the activity or phosphorylation status of these proteins. Moreover, in the same study, ex vivo

adipose tissue lipolysis rates and MFO were not associated ( $r=-0.38$ ,  $p>0.05$ ). Several studies have informed an increment on adipose tissue HSL, ATGL and perilipin abundance after endurance training in rodents (Tsiloulis and Watt 2015). Moreover, aerobic exercise training seems to improve beta-adrenergic induced lipolysis in the sub-cutaneous adipose tissue of patients with obesity by decreasing the anti-lipolytic activity of alpha-2 adrenergic receptors (Laurens et al. 2020). Nonetheless, several studies report that FFA concentration at rest and during exercise does not increase with exercise training (Horowitz 2003; Tsiloulis and Watt 2015). Indeed, MFO increment after exercise training at FATmax (Bordenave et al. 2008), moderate intensity exercise (Rosenkilde et al. 2015) and high intensity interval training (Lanzi et al. 2015) occurred without a concomitant augment of circulating FFA at rest. Hence, despite increasing FFA availability is associated with an increment on MFO (Frandsen et al. 2021) more research is guaranteed to identify novel strategies that promote adipose tissue lipolysis in patients with obesity and athletes, to reduce body fat and increase the reliance on fatty acids for ATP production.

### Intramuscular triglycerides

As above mentioned, MFO is located at a low exercise intensity when IMTG shows a modest contribution to energy expenditure. Nevertheless, skeletal muscle HSL ( $r=0.75$ ,  $p<0.01$ ), ATGL ( $r: 0.54-0.76$ ) and perilipin 5 ( $r=0.67$ ,  $p<0.01$ ) content were positively related to MFO in healthy individuals (Shaw et al. 2020; Chrzanowski-Smith et al. 2021), suggesting that elevating IMTG breakdown would increase MFO. Of note, intramuscular lipids content was not related to MFO in patients with obesity (Haufe et al. 2010) or trained subjects (Dandanell et al. 2018). Hence, the relevance of IMTG utilization on MFO remains to be elucidated.

Previous studies, reported that perilipin 2 and 5 expression is upregulated by resistance exercise and endurance training in sedentary men, resulting on increased IMTG hydrolysis during physical exercise (Shaw et al. 2012; Shepherd et al. 2013, 2014). In addition, lipid droplets proximity to mitochondria in skeletal muscle increases with exercise training due to mobilization of lipid droplets from subsarcolemal region to intramyofibrillar cell compartment as well as elevated  $\text{Mito}_{VD}$  and OXPHOS in both athletes and patients with obesity (Gemnick et al. 2020). These changes led to increased IMTG utilization during exercise which is related to improvements on insulin sensitivity in patients with obesity (Shepherd et al. 2014; Gemnick et al. 2020) and exercise performance on athletes (Harris et al. 2018). Therefore, future studies are needed to investigate whether a simultaneous increase on IMTG breakdown and oxidation is associated to MFO.

## Fatty acid trafficking and oxidation in skeletal muscle

The abundance of different proteins regulating fatty acid trafficking [i.e., carnitine palmitoyltransferase 1 (CPT-1), fatty acid binding protein and fatty acid translocase cluster of differentiation 36 (CD36)] and oxidation (3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase) in skeletal muscle has been also associated with MFO variations in different cohorts of trained/untrained individuals (Stisen et al. 2006; Shaw et al. 2020), trained men (Maunder et al. 2021) and physically active men and women (Chrzanowski-Smith et al. 2021). From the aforementioned proteins, only CD36 has been validated as MFO predictor explaining 11% of MFO variation in trained men (Maunder et al. 2021). The CD36 mediates long-chain fatty acids transports across the sarcolemma and mitochondrial double membrane where it colocalizes with CPT1 (Smith et al. 2012). Thus, long-chain fatty acids mobilization across sarcolemma and mitochondria seems to be an important determinant of MFO, a finding that need to be corroborated in other populations. A previous study in untrained women, reported an increment on both skeletal muscle mitochondria CD36 content (+51%) and fat oxidation (+68%) during moderate intensity exercise (65%  $VO_{2peak}$ ) after 6 weeks of high intensity interval training (3 days/week; 4-min cycling bouts at 90%  $VO_{2peak}$ ) (Talanian et al. 2010). In the same way, colocalization of CD36 with CPT-1 in the mitochondria increased by 25% after an endurance training intervention (3 days/week; 35–45 min  $day^{-1}$  at 70–85% HRmax) in women with obesity which turned to be strongly associated with the increment of fat oxidation rate at rest ( $R^2=0.85$ ,  $p<0.01$ ) (Schenk and Horowitz 2006). Likewise, expression levels of CD36 and CPT1 in skeletal muscle increased after 12 weeks of endurance training (5 days/week; 60 min  $day^{-1}$  at 85%HRmax) in elderly adults (Mulya et al. 2017). In the last study, the increment of muscle CPT1 was positively correlated with a resting fat oxidation augment ( $r=0.45$ ,  $p=0.05$ ). The aforementioned evidence suggest that exercise training could enhance MFO by promoting fatty acid uptake across the sarcolemma and mitochondrial membranes. Nevertheless, future investigation is needed to corroborate such hypothesis. Otherwise, the CD36 also mediates fatty acid release from adipose tissue (Pepino et al. 2014). It would be interesting that future studies investigate whether CD36 abundance in adipose tissue and skeletal muscle is associated with FFA rate of appearance/disappearance affecting MFO.

The fat oxidation rate at rest is positively correlated with MFO in trained men ( $r=0.47$ ,  $p<0.01$ ) (Robinson et al. 2016) and is downregulated by high glucose and insulin concentrations (Melzer 2011). Insulin suppresses adipose tissue lipolysis by stimulating the activity of cellular

phosphodiesterase-3 (Horowitz 2003) and reduces skeletal muscle long-chain fatty acids oxidation and long-chain acyl-carnitine concentration showing a decrement on the functional activity of CPT1 (Rasmussen et al. 2002; Sidossis et al. 1996). A previous study by Achten and Jeukendrup (2003b) reported a decline on MFO (~28%) when 75 g of glucose was consumed 45 min prior exercise testing in moderately trained individuals. This evidence suggests that circulating glucose, insulin and lactate—a metabolite representing skeletal muscle glycolytic flux—may be associated with MFO. In this regard, Amaro-Gahete et al. (2021) did not found any relationship between MFO, plasma glucose and insulin concentration in sedentary young and middle-aged adults (Amaro-Gahete et al. 2021). Furthermore, plasma glucose and lactate were not associated with MFO in trained men (Robinson et al. 2016). On the contrary, plasma lactate levels at rest were negatively associated with MFO ( $R^2=0.12$ ,  $p<0.01$ ) in male ironman athletes (Frandsen et al. 2017), although similar lactate concentrations were noted in comparison to the participants from the study of Robinson et al. (2016) ( $0.8\pm 0.3$  vs.  $0.8\pm 0.2$  mmol  $L^{-1}$ , respectively). Thus, the influence of glycolytic flux at rest and MFO remains controversial and future investigations including individuals with obesity and type II diabetes mellitus who exhibit higher circulating levels of lactate, glucose and insulin will help to elucidate the aforementioned mechanism.

## Endocrine function

Physical exercise induces lipolysis throughout the action of several hormones (i.e., adrenaline, atrial natriuretic peptide, cortisol, glucagon and growth hormone) that regulate adipose tissue and skeletal muscle HSL and ATGL activity (Muscella et al. 2020). Nonetheless, whether the activity, circulating concentration of these hormones and the level of expression of their respective cellular receptors are associated with MFO remain unclear. Furthermore, previous studies have demonstrated that thyroid hormones regulate fatty acid oxidation in the skeletal muscle through p43 thyroid receptor alpha isoform which increases AMP-activated protein kinase phosphorylation and mitochondrial associated protein activity (enzymes that regulate CD36 translocation to sarcolemma and mitochondrial fatty acid oxidation) (Sayre and Lechleiter 2012). Thus, future studies should determine whether there is a direct association between thyroid hormones and MFO (Fig. 1).

On the other hand, female ovarian hormones (i.e., estradiol and progesterone) have been associated with higher MFO in women vs. men (Venables et al. 2005; Purdom et al. 2018; Maunder et al. 2018). In particular, estrogens could promote fatty acid oxidation through binding the

estrogen receptor alpha in the sarcoplasm that dimerizes and subsequently is translocated to the nucleus promoting the transcription of Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha, Nuclear Respiratory Factor and additional genes involved in mitochondrial biogenesis and long-chain fatty acids oxidation (Ventura-Clapier et al. 2019). Nonetheless, circulating estradiol concentration did not exhibit a correlation with MFO neither in recreationally active or ironman female athletes (Vest et al. 2018; Frandsen et al. 2020). Moreover, skeletal muscle estradiol receptor alpha, CPT1, HSL and ATGL content were not different between physically active men and women in spite the higher MFO reported in the female participants' cohort (Chrzanowski-Smith et al. 2021). Whereby, a higher skeletal muscle lipolysis and oxidative capacity induced by female sexual hormones seems not to be the physiological mechanism explaining MFO differences between sexes and further mechanisms should be explored. Interestingly, a recent study by Ponce González et al. (2017) reported a positive relationship between free testosterone levels and MFO in young men ( $r=0.45$ ,  $p<0.05$ ), which might be explained by the anabolic effect of testosterone that favor a higher muscle mass and a subsequent upregulation of genes involved in mitochondrial biogenesis and fatty acid metabolism via androgen receptor activity (Usui et al. 2014; Kelly and Jones 2015). Therefore, current evidence indicates that male but not female sexual hormones are related to MFO.

## Genetic polymorphisms

As before discussed, association of different biomarkers with MFO are inconsistent among studies investigating participants with a similar physical fitness, with most of these biomarkers explaining less than 40% of MFO variation (Table 1). This evidence points out that genetics may play an important role on determining an organism capacity for increasing fat oxidation in response to physical exercise. Indeed, recent studies have reported a significant association of ACE, ADRB3, AR and CD36 genotype with MFO (Table 2) providing valuable evidence that enhance the comprehension of the molecular pathways regulating exercise metabolism.

The ACE gene encodes the angiotensin-converting enzyme (ACE) which converts angiotensin I to angiotensin II increasing the vasoconstriction activity of this hormone that raise total peripheral resistance and blood pressure (Vasudeva et al. 2020). An intronic variant consisting of the deletion (D) of a 216 bp segment in intron 16 of the ACE gene has been associated with higher circulating levels of angiotensin II (Rigat et al. 1990), elevated blood pressure (Ma et al. 2018) and reduced CRF (Bueno et al. 2016). Thereby, the DD genotype is considered an independent

cardiovascular risk factor (Yuan et al. 2017). A recent study by Montes-de-Oca-Garcia et al. (2021) reported that MFO was 29% higher in female carriers of the DD genotype in comparison to carriers of the reference allele (II). Interestingly, the opposite was found in male participants where MFO was superior in male carriers of the DD genotype (15% higher), demonstrating a sex-genotype interaction regarding MFO whose explanation require further analysis. The DD genotype has been associated with higher circulating levels of the angiotensin II hormone (Rigat et al. 1990) which stimulates vasoconstriction and may reduce fatty acid and oxygen uptake by skeletal muscle. In fact, male carriers of the DD genotype exhibit a reduced capillary density on skeletal muscle (Valdivieso et al. 2017) which may explain a low MFO. However, further studies evaluating the association of circulating ACE concentration with FFA rate of appearance/disappearance, skeletal muscle deoxygenation kinetics and MFO are needed for elucidating the mechanisms behind the association of ACE genotype with MFO.

On the other hand, a missense mutation in the ADRB3 gene—resulting on the interchange of a tryptophan (W) for an arginine (R) in the position 64 of the Beta-3 adrenergic receptor ( $\beta$ -AR<sub>3</sub>)—was associated with a lower energy expenditure at FATmax in healthy adolescents (~14% lower), being considered a consequence of lower fat oxidation rates (Correa de Jesus et al. 2018). The  $\beta$ -AR<sub>3</sub> is a G-coupled protein located on adipocytes plasma membrane that regulate adipose tissue lipolysis by triggering HSL activation after binding of adrenaline (Tsiloulis and Watt 2015; Schena and Caplan 2019). The W > R substitution is located on a cytoplasmic topological domain that may negatively affect the receptor sensitivity reducing lipolysis and FFA availability during physical exercise which has been directly associated with MFO. Nonetheless, a previous study by Gómez-Gómez et al. (2014) did not observe a lower lipolytic rate in male carriers of the R allele during a steady-state exercise session at ~62%  $VO_{2max}$ . Thus, evidence of a lower FFA availability and MFO in carriers of the W64R polymorphism is needed. Moreover, as both W64R polymorphism and MFO are associated with body mass index and obesity (Amaro-Gahete et al. 2019a, b; Schena and Caplan 2019; Chávez-Guevara et al. 2021) analyze the interaction of  $\beta$ -AR<sub>3</sub> and MFO in this population would be especially relevant.

The AR gene encodes the androgen receptor protein (AR) that function as a steroid-hormone activated transcription factor that could upregulate lipolysis and fat oxidation in skeletal muscle (Kelly and Jones 2015). This gene contains 2 polymorphic trinucleotide repeat segments that encode polyglutamine (CAG) and polyglycine (GGN) tracts in the N-terminal transactivation domain of its protein that may affect AR sensitivity. Previous studies reported that MFO was ~35% higher in male carriers of the CAG<sub>L</sub> and GGN<sub>L</sub>

**Table 2** Genetic polymorphisms associated with MFO on trained and untrained subjects

Study	Population	Exercise protocol	Genetic polymorphism	Findings
Jayewardene et al. (2014)	15 men and 7 women (18–30 years) Physically active BMI: NR VO <sub>2max</sub> : NR	Cycle-ergometer; Fasted state (10 h); GXT	Gene: CD36 Intron variant (SNP) Alleles: T > C Global MAF: 0.51	Carriers of the CC genotype exhibited a higher MFO (NR) in comparison to individuals with TT genotype
Ponce González et al. (2016)	90 men Physically active CAG <sub>s</sub> BMI: 23.2 ± 3.6 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 42.6 ± 7.7 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> CAG <sub>L</sub> BMI: 27.8 ± 5.4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 44.4 ± 9.3 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> GGN <sub>s</sub> BMI: 24.9 ± 4.8 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 43.5 ± 8.4 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> GGN <sub>L</sub> BMI: 26.3 ± 5.4 kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 43.4 ± 8.9 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (NR); GXT; Frayn's stoichiometric equations	Gene: AR Exon variant: repeated polymorphism CAG <sub>s</sub> ≤ 21 repeats CAG <sub>L</sub> > 21 repeats GGN <sub>s</sub> ≤ 23 repeats GGN <sub>L</sub> ≥ 24 repeats	Subjects with the CAG <sub>L</sub> exhibited a higher MFO in comparison to individuals with the CAG <sub>s</sub> genotype (242.6 ± 100.6 mg min <sup>-1</sup> vs. 332.8 ± 117.1 mg min <sup>-1</sup> , <i>p</i> < 0.05). This difference prevailed even after accounting for VO <sub>2max</sub> as covariate No difference in MFO was observed between GGN <sub>L</sub> and GGN <sub>s</sub> carriers
Ponce González et al. (2017)	38 men Physically active CAG <sub>s</sub> BMI: NR VO <sub>2max</sub> : 42.4 ± 7.1 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> CAG <sub>L</sub> BMI: NR VO <sub>2max</sub> : 46.6 ± 8.7 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> GGN <sub>s</sub> BMI: NR VO <sub>2max</sub> : 40.6 ± 7.2 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> GGN <sub>L</sub> BMI: NR VO <sub>2max</sub> : 43.7 ± 6.5 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (NR); GXT; Frayn's stoichiometric equations	Gene: AR Exon variant: repeated polymorphism CAG <sub>s</sub> ≤ 23 repeats CAG <sub>L</sub> ≥ 24 repeats GGN <sub>s</sub> ≤ 22 repeats GGN <sub>L</sub> ≥ 25 repeats	Subjects with the CAG <sub>L</sub> genotype showed a higher MFO in comparison to individuals with the CAG <sub>s</sub> genotype (362.2 ± 160.9 mg min <sup>-1</sup> vs. 267.0 ± 104.6 mg min <sup>-1</sup> , <i>p</i> < 0.05) Carriers of the GGN <sub>L</sub> genotype showed a higher MFO in comparison to individuals with the GGN <sub>s</sub> genotype (375.2 ± 149.8 mg min <sup>-1</sup> vs. 276.6 ± 93.7 mg min <sup>-1</sup> , <i>p</i> < 0.05) *Differences between groups disappear after accounting for VO <sub>2max</sub> as a covariate
Correa de Jesus et al. (2018)	33 healthy boys and 39 healthy girls (11–17 years) Trp64Trp BMI: 20.9 (11.06) kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 43.9 ± 8.2 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> Trp64Arg + Arg64Arg BMI: 21.7 (12.38) kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : 41.0 ± 8.0 mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Treadmill running; GXT; Energy expenditure at FATmax was defined according to Lusk's table based on the respiratory exchange ratio	Gene: ADRB3 Missense variant (SNP) Alleles: A > G Global MAF: 0.07	Carriers of the Arg64 allele exhibited a lower energy expenditure at FATmax in comparison with carriers of the Trp64 genotype (6.75 kcal min <sup>-1</sup> vs. 7.78 kcal min <sup>-1</sup> , <i>p</i> < 0.05)

Table 2 (continued)

Study	Population	Exercise protocol	Genetic polymorphism	Findings
Montes-de-Oca-García et al. (2021)	46 healthy M ( $22 \pm 4$ years) and 28 healthy W ( $23 \pm 5$ years) DD BMI: $27.6 \pm 7.3$ kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : $37.3 \pm 13.1$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> ID+II BMI: $24.9 \pm 4.4$ kg m <sup>-2</sup> VO <sub>2max</sub> : $42.6 \pm 11.0$ mL kg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup>	Cycle-ergometer; Fasted state (> 8 h); GXT; Frayn's stoichiometric equations; FATmax was defined through a polynomial regression	Gene: ACE Intron variant: insertion/deletion of a 216 bp fragment in intron 16	No differences in MFO across genotypes was observed in the combined group A sex x genotype interaction was observed for MFO <sub>FFM</sub> . Carriers of DD polymorphism showed a higher MFO <sub>FFM</sub> in males ( $8.4 \pm 3.0$ mg kg FFM min <sup>-1</sup> vs. $6.5 \pm 2.9$ mg kg FFM min <sup>-1</sup> ) whilst carriers of the ID/II polymorphism exhibited a higher MFO <sub>FFM</sub> in women ( $7.6 \pm 2.6$ mg kg FFM min <sup>-1</sup> vs. $6.6 \pm 2.3$ mg kg FFM min <sup>-1</sup> ) ( $p < 0.05$ , $\eta_p^2 = 0.092$ )

Data are presented as mean  $\pm$  SD

BMI body mass index, GXT graded exercise test, M men, MFO maximal fat oxidation, MFO<sub>FFM</sub> maximal fat oxidation relative to fat-free mass, SNP single nucleotide polymorphism, VO<sub>2peak</sub> peak of oxygen uptake, VO<sub>2max</sub> maximal oxygen uptake, W women

genotypes in comparison with carriers of the CAG<sub>S</sub> and GGN<sub>S</sub> genotypes (see genotype classification described in Table 2) (Ponce-González et al. 2016; Ponce González et al. 2017). These results are interesting but controversial since the GAG<sub>L</sub> genotype was associated with a lower AR sensitivity (Chamberlain et al. 1994) that may lead to a reduced fat oxidation. Indeed, a recent study reported that AR inhibition attenuated skeletal muscle CPT1 and exercise fat oxidation increment on mice after 4 weeks of treadmill running (Kim et al. 2019). Therefore, it seems plausible that if a lower AR activity is associated with GAG<sub>L</sub> and GGN<sub>L</sub> genotypes, carriers of these genotypes should exhibit a lower MFO.

Interestingly, a single nucleotide polymorphism (T > C) in the upstream promoter region of the CD36 gene (intron 1B, - 3489 bp relative to the translation start site), was associated with higher levels of MFO in healthy individuals (Jayerwardene et al. 2014). This genetic variant has been also associated with a lower prevalence of type 2 diabetes in patients with obesity (Corpeleijn et al. 2006), supporting the association between MFO and insulin sensitivity (Robinson et al. 2016). Indeed, the T > C polymorphism may affect the transcription of CD36 gene (Corpeleijn et al. 2006). Because the CD36 abundance in skeletal muscle has been positively associated with MFO (Maunder et al. 2021), future studies performing skeletal muscle biopsies are required to determine whether CT/CC genotypes exhibit a higher content of FAT/CD36 on skeletal muscle, and whether these hypothetical greater values are associated to elevated MFO. Moreover, the study by Jayewardene et al. (2014) showed a poor statistical power ( $n = 22$ ;  $n \leq 9$  subjects per group) and they have to combine data from men and women together, matching participants by CRF. Thus, future investigations with a large statistical power and an appropriate control of those biological determinant of MFO are necessary to corroborate whether the CD36 genotypes partially explain MFO variance.

As noted, only a few number of studies have analyzed the association of genetic polymorphism with MFO, focusing on healthy subjects with low to moderate physical activity. Future studies investigating the interplay between the above-mentioned polymorphism, MFO and body fat reduction induced by exercise training in patients with obesity are needed. Besides, different polymorphism on the CD36 (rs2232169), SLC6A14 (rs2011162) and PCSK1 (rs6235) genes have been associated with a reduced fat oxidation at rest in European adults with obesity (Corpeleijn et al. 2010). Consequently, these may also be associated with MFO.



## Conclusions and future directions

In conclusion, there are several biomarkers, health-related components of physical fitness and genetic polymorphism associated with MFO (Fig. 1). Up to date, only  $VO_{2\max/\text{peak}}$  has been validated as MFO predictor in athletes and sedentary individuals while plasma FFA, circulating lactate concentrations and the protein content of CS and CD36 in skeletal muscle show a modest association with MFO in trained subjects. Although numerous manuscripts have been recently published about the present topic, there is still a lot of “gaps” regarding the physiological mechanism that regulate exercise-induced fat oxidation. Noteworthy, the majority of the here discussed studies focuses on evaluating the relationship of novel biomarkers with MFO rather than analyzing their contribution to prediction models reported for athletes (Randell et al. 2017) and healthy individuals (Venables et al. 2005; Fletcher et al. 2017). Mainly, this occurs due to a low statistical power, the independent evaluation of men and women and the lack of physical activity level and dietary macronutrient content assessments. Besides, most of the studies focus on healthy young adults with a scarce information regarding elderly adults and people with chronic diseases. Nonetheless, this work set the basis for future large-scale metabolomics and genomics studies that will contribute to the progress of exercise metabolism field. Indeed, further research about the association of MFO with different transcription factors (e.g., Peroxisome proliferator-activated receptor alpha, Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha, Nuclear respiratory factor) regulating mitochondrial biogenesis and fatty acid metabolism (Egan and Zierath 2013) will provide a further understanding about the molecular mechanisms influencing metabolic health and athletic performance. Moreover, investigating different microRNAs related to CPT1 (i.e., miR-1) (Rodrigues et al. 2021), CD36 (i.e., miR-145, miR-20a-5p, miR-29a) (Ding et al. 2019; Lin et al. 2019; Wang et al. 2020) and ACE (i.e., miR-143) (Vasudeva et al. 2019) might help to identify epigenetic mechanisms controlling MFO. Recent studies reported that physical exercise could regulate the expression of the above-mentioned microRNAs (Fernández-Sanjurjo et al. 2018; Silva et al. 2020); therefore, these might be implicated on metabolic adaptations induced by exercise training.

**Acknowledgements** The authors would like to thank Dr. Ed Maunder and Dr. Jacob Frandsen who kindly provided supplementary data regarding some of their studies and gave their consent for publication in this review. IACG was supported by a Ph.D scholarship (859438) from the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT). However, the institution did not participate in the manuscript preparation.

**Author contributions** IACG and FJAM conceived the main idea for the review. RPHT, ARJ and EGR participated in data extraction, analysis

and interpretation. The first draft of the manuscript was written by IACG. All authors commented on previous versions of the manuscript, read and approved the final manuscript.

## Declarations

**Conflict of interest** All authors declare that they have no conflict of interest.

## References

- Achten J, Jeukendrup AE (2003a) Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *Int J Sports Med* 24(8):603–608. <https://doi.org/10.1055/s-2003-43265>
- Achten J, Jeukendrup AE (2003b) The effect of pre-exercise carbohydrate feedings on the intensity that elicits maximal fat oxidation. *J Sports Sci* 21(12):1017–1024. <https://doi.org/10.1080/0264410310001641403>
- Achten J, Jeukendrup AE (2004) Relation between plasma lactate concentration and fat oxidation rates over a wide range of exercise intensities. *Int J Sports Med* 25(1):32–37. <https://doi.org/10.1055/s-2003-45231>
- Achten J, Venables MC, Jeukendrup AE (2003) Fat oxidation rates are higher during running compared with cycling over a wide range of intensities. *Metabolism* 52(6):747–752. [https://doi.org/10.1016/s0026-0495\(03\)00068-4](https://doi.org/10.1016/s0026-0495(03)00068-4)
- Ahmetov II, Vinogradova OL, Williams AG (2012) Gene polymorphisms and fiber-type composition of human skeletal muscle. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 22(4):292–303. <https://doi.org/10.1123/ijnsnem.22.4.292>
- Albers PH, Pedersen AJ, Birk JB, Kristensen DE, Vind BF, Baba O, Nøhr J, Højlund K, Wojtaszewski JF (2015) Human muscle fiber type-specific insulin signaling: impact of obesity and type 2 diabetes. *Diabetes* 64(2):485–497. <https://doi.org/10.2337/db14-0590> (Epub 2014 Sep 3, PMID: 25187364)
- Amaro-Gahete FJ, Sanchez-Delgado G, Ruiz JR (2018) Commentary: Contextualising maximal fat oxidation during exercise: determinants and normative values. *Front Physiol* 9:1460. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01460>
- Amaro-Gahete FJ, Jurado-Fasoli L, Triviño AR, Sanchez-Delgado G, De-la-O A, Helge JW, Ruiz JR (2019a) Diurnal variation of maximal fat-oxidation rate in trained male athletes. *Int J Sports Physiol Perform* 14(8):1140–1146. <https://doi.org/10.1123/ij spp.2018-0854>
- Amaro-Gahete FJ, Sanchez-Delgado G, Ara I, Ruiz R (2019b) Cardiorespiratory fitness may influence metabolic inflexibility during exercise in obese persons. *J Clin Endocrinol Metab* 104(12):5780–5790. <https://doi.org/10.1210/jc.2019-01225>
- Amaro-Gahete FJ, De-la-O A, Jurado-Fasoli L, Sanchez-Delgado G, Ruiz JR, Castillo MJ (2020) Metabolic rate in sedentary adults, following different exercise training interventions: the FIT-AGING randomized controlled trial. *Clin Nutr* 39(11):3230–3240. <https://doi.org/10.1016/j.clnu.2020.02.001>
- Amaro-Gahete FJ, Sanchez-Delgado G, Jurado-Fasoli L, Ruiz JR (2021) Uncertain association between maximal fat oxidation during exercise and cardiometabolic risk factors in healthy sedentary adults. *Eur J Sports Exerc Sci*. <https://doi.org/10.1080/17461391.2021.1895894> (advance online publication)
- Arad AD, Basile AJ, Albu J, DiMenna FJ (2020) No influence of overweight/obesity on exercise lipid oxidation: a systematic review. *Int J Mol Sci* 21(5):1614. <https://doi.org/10.3390/ijms21051614>
- Bassett DR, Howley ET (2000) Limiting factors for maximum oxygen uptake and determinants of endurance performance. *Med Sci*

- Sports Exerc 32(1):70–84. <https://doi.org/10.1097/00005768-200001000-00012>
- Binder RK, Wonisch M, Corra U, Cohen-Solal A, Vanhees L, Saner H, Schmid JP (2008) Methodological approach to the first and second lactate threshold in incremental cardiopulmonary exercise testing. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 15(6):726–734. <https://doi.org/10.1097/HJR.0b013e328304fed4>
- Bordenave S, Metz L, Flavier S, Lambert K, Ghanassia E, Dupuy AM, Michel F, Puech-Cathala AM, Raynaud E, Brun JF, Mercier J (2008) Training-induced improvement in lipid oxidation in type 2 diabetes mellitus is related to alterations in muscle mitochondrial activity. Effect of endurance training in type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 34(2):162–168. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2007.11.006>
- Bueno S, Pasqua LA, de Araújo G, Eduardo Lima-Silva A, Bertuzzi R (2016) The association of ACE genotypes on cardiorespiratory variables related to physical fitness in healthy men. *PLoS ONE* 11(11):e0165310. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165310>
- Cano A, Ventura L, Martinez G, Cugusi L, Caria M, Deriu F, Manca A (2021) Analysis of sex-based differences in energy substrate utilization during moderate-intensity aerobic exercise. *Eur J Appl Physiol*. <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04802-5> (advance online publication)
- Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL (1994) The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res* 22(15):3181–3186. <https://doi.org/10.1093/nar/22.15.3181>
- Chávez-Guevara IA, Urquidez-Romero R, Pérez-León JA, González-Rodríguez E, Moreno-Brito V, Ramos-Jiménez A (2020) Chronic effect of Fatmax training on body weight, fat mass, and cardiorespiratory fitness in obese subjects: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Int J Environ Res Public Health* 17(21):7888. <https://doi.org/10.3390/ijerph17217888>
- Chávez-Guevara IA, Hernández-Torres RP, Trejo-Trejo M, González-Rodríguez E, Moreno-Brito V, Wall-Medrano A, Pérez-León JA, Ramos-Jiménez A (2021) Exercise fat oxidation is positively associated with body fatness in men with obesity: defying the metabolic flexibility paradigm. *Int J Environ Res Public Health* 18(13):6945. <https://doi.org/10.3390/ijerph18136945>
- Chrzanowski-Smith OJ, Edinburgh RM, Smith E, Thomas MP, Walhin JP, Koumanov F, Williams S, Betts JA, Gonzalez JT (2021) Resting skeletal muscle PNPLA2 (ATGL) and CPT1B are associated with peak fat oxidation rates in men and women but do not explain observed sex differences. *Exp Physiol* 106(5):1208–1223. <https://doi.org/10.1113/EP089431>
- Corpeleijn E, van der Kallen CJ, Kruijshoop M, Magagnin MG, de Bruin TW, Feskens EJ, Saris WH, Blaak EE (2006) Direct association of a promoter polymorphism in the CD36/FAT fatty acid transporter gene with Type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Diabet Med* 23(8):907–911. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01888.x>
- Corpeleijn E, Petersen L, Holst C, Saris WH, Astrup A, Langin D, MacDonald I, Martinez JA, Oppert JM, Polak J, Pedersen O, Froguel P, Arner P, Sørensen TI, Blaak EE (2010) Obesity-related polymorphisms and their associations with the ability to regulate fat oxidation in obese Europeans: the NUGENOB study. *Obesity* (silver Spring) 18(7):1369–1377. <https://doi.org/10.1038/oby.2009.377>
- Dandanell S, Meinild-Lundby AK, Andersen AB, Lang PF, Oberholzer L, Keiser S, Robach P, Larsen S, Rønnestad BR, Lundby C (2018) Determinants of maximal whole-body fat oxidation in elite cross-country skiers: role of skeletal muscle mitochondria. *Scand J Med Sci Sports* 28(12):2494–2504. <https://doi.org/10.1111/sms.13298>
- Ding D, Ye G, Lin Y, Lu Y, Zhang H, Zhang X, Hong Z, Huang Q, Chi Y, Chen J, Dong S (2019) MicroRNA-26a-CD36 signaling pathway: Pivotal role in lipid accumulation in hepatocytes induced by PM2.5 liposoluble extracts. *Environmental Pollut* 248:269–278. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.01.112>
- Drapier E, Cherif A, Richou M et al (2018) Long term (3 years) weight loss after low intensity endurance training targeted at the level of maximal muscular lipid oxidation. *Integr Obes Diabetes*. <https://doi.org/10.15761/iod.1000201>
- Durmic T, Lazovic B, Djelic M, Lazic JS, Zikic D, Zucic V, Dekleva M, Mazic S (2015) Sport-specific influences on respiratory patterns in elite athletes. *J Bras Pneumol* 41(6):516–522. <https://doi.org/10.1590/S1806-37562015000000050>
- Durmic T, Lazovic Popovic B, Zlatkovic Svenda M, Djelic M, Zucic V, Gavrilovic T, Mihailovic Z, Zdravkovic M, Leischik R (2017) The training type influence on male elite athletes' ventilatory function. *BMJ Open Sport Exerc Med* 3(1):e000240. <https://doi.org/10.1136/bmjsem-2017-000240>
- Egan B, Zierath JR (2013) Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab* 17(2):162–184. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.12.012>
- Fernández-Sanjurjo M, de Gonzalo-Calvo D, Fernández-García B, Díez-Robles S, Martínez-Canal Á, Olmedillas H, Dávalos A, Iglesias-Gutiérrez E (2018) Circulating microRNA as emerging biomarkers of exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 46(3):160–171. <https://doi.org/10.1249/JES.0000000000000148>
- Filipovic M, Munten S, Herzig KH, Gagnon DD (2021) Maximal fat oxidation: comparison between treadmill, elliptical and rowing exercises. *J Sport Sci Med* 20(1):170–178. <https://doi.org/10.52082/jssm.2021.170>
- Fletcher G, Eves FF, Glover EI, Robinson SL, Vernooij CA, Thompson JL, Wallis GA (2017) Dietary intake is independently associated with the maximal capacity for fat oxidation during exercise. *Am J Clin Nutr* 105(4):864–872. <https://doi.org/10.3945/ajcn.116.133520>
- Foster C, Costill DL, Daniels JT, Fink WJ (1978) Skeletal muscle enzyme activity, fiber composition and VO<sub>2</sub> max in relation to distance running performance. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 39(2):73–80. <https://doi.org/10.1007/BF00421711>
- Frandsen J, Vest SD, Larsen S, Dela F, Helge JW (2017) Maximal fat oxidation is related to performance in an ironman triathlon. *Int J Sports Med* 38(13):975–982. <https://doi.org/10.1055/s-0043-117178>
- Frandsen J, Pistoljevic N, Quesada JP, Amaro-Gahete FJ, Ritz C, Larsen S, Dela F, Helge JW (2020) Menstrual cycle phase does not affect whole body peak fat oxidation rate during a graded exercise test. *J Appl Physiol* 128(3):681–687. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00774.2019>
- Frandsen J, Poggi AI, Ritz C, Larsen S, Dela F, Helge JW (2021) Peak fat oxidation rate is closely associated with plasma free fatty acid concentrations in women. Similar to Men *Front Physiol* 12:696261. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.696261>
- Gaskill SE, Walker AJ, Serfass RA, Bouchard C, Gagnon J, Rao DC, Skinner JS, Wilmore JH, Leon AS (2001) Changes in ventilatory threshold with exercise training in a sedentary population: the HERITAGE Family Study. *Int J Sports Med* 22(8):586–592. <https://doi.org/10.1055/s-2001-18522>
- Gemink A, Schrauwen P, Hesselink M (2020) Exercising your fat (metabolism) into shape: a muscle-centred view. *Diabetologia* 63(8):1453–1463. <https://doi.org/10.1007/s00125-020-05170-z>
- Genders AJ, Holloway GP, Bishop DJ (2020) Are alterations in skeletal muscle mitochondria a cause or consequence of insulin resistance? *Int J Mol Sci* 21(18):6948. <https://doi.org/10.3390/ijms21186948>
- Gómez-Gómez E, Ríos-Martínez ME, Castro-Rodríguez EM, Del-Toro-Equihua M, Ramírez-Flores M, Delgado-Enciso I, Pérez-Huitimea AL, Baltazar-Rodríguez LM, Velasco-Pineda G, Muñoz-Murguía J (2014) Carnitine palmitoyltransferase 1B 531K

- allele carriers sustain a higher respiratory quotient after aerobic exercise, but  $\beta$ 3-adrenoceptor 64R allele does not affect lipolysis: a human model. *PLoS one* 9(6):e96791. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096791>
- Goodpaster BH, Sparks LM (2017) Metabolic flexibility in health and disease. *Cell Metab* 25(5):1027–1036. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2017.04.015>
- Granata C, Jamnick NA, Bishop DJ (2018a) Principles of exercise prescription, and how they influence exercise-induced changes of transcription factors and other regulators of mitochondrial biogenesis. *Sports Med* 48(7):1541–1559. <https://doi.org/10.1007/s40279-018-0894-4>
- Granata C, Jamnick NA, Bishop DJ (2018b) Training-induced changes in mitochondrial content and respiratory function in human skeletal muscle. *Sports Med* 48(8):1809–1828. <https://doi.org/10.1007/s40279-018-0936-y>
- Greggio C, Jha P, Kulkarni SS, Lagarrigue S, Broskey NT, Boutant M, Wang X, Conde Alonso S, Ofori E, Auwerx J, Cantó C, Amati F (2017) Enhanced respiratory chain supercomplex formation in response to exercise in human skeletal muscle. *Cell Metab* 25(2):301–311
- Hackett DA (2020) Lung function and respiratory muscle adaptations of endurance- and strength-trained males. *Sports* 8(12):160. <https://doi.org/10.3390/sports8120160>
- Hargreaves M, Spriet LL (2020) Skeletal muscle energy metabolism during exercise. *Nat Metab* 2(9):817–828. <https://doi.org/10.1038/s42255-020-0251-4>
- Haufe S, Engeli S, Budziarek P, Utz W, Schulz-Menger J, Hermsdorf M, Wiesner S, Otto C, Fuhrmann JC, Luft FC, Boschmann M, Jordan J (2010) Determinants of exercise-induced fat oxidation in obese women and men. *Horm Metab Res* 42(3):215–221. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1242745>
- Harris MA, Hammond KM, Fell JM, Morton JP (2018) Regulation of muscle glycogen metabolism during exercise: implications for endurance performance and training adaptations. *Nutrients* 10(3):298. <https://doi.org/10.3390/nu10030298>
- Hendrickse P, Degens H (2019) The role of the microcirculation in muscle function and plasticity. *J Muscle Res Cell Motil* 40(2):127–140. <https://doi.org/10.1007/s10974-019-09520-2>
- Holloszy JO, Coyle EF (1984) Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 56(4):831–838. <https://doi.org/10.1152/jappl.1984.56.4.831>
- Hoppeler H, Weibel ER (2000) Structural and functional limits for oxygen supply to muscle. *Acta Physiol Scand* 168(4):445–456. <https://doi.org/10.1046/j.1365-201x.2000.00696.x>
- Horowitz JF (2003) Fatty acid mobilization from adipose tissue during exercise. *TEM* 14(8):386–392. [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(03\)00143-7](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(03)00143-7)
- Isacco L, Duche P, Thivel D, Meddahi-Pelle A, Lemoine-Morel S, Duclos M, Boisseau N (2013) Fat mass localization alters fuel oxidation during exercise in normal weight women. *Med Sci Sports Exerc* 45(10):1887–1896. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e3182935fe3>
- Isacco L, Thivel D, Duclos M, Aucouturier J, Boisseau N (2014) Effects of adipose tissue distribution on maximum lipid oxidation rate during exercise in normal-weight women. *Diabetes Metab* 40(3):215–219. <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2014.02.006>
- Jayewardene AF, Gwinn T, Hancock DP, Mavros Y, Rooney KB (2014) The associations between polymorphisms in the CD36 gene, fat oxidation and cardiovascular disease risk factors in a young adult Australian population: a pilot study. *Obes Res Clin Pract* 8(6):e618–e621. <https://doi.org/10.1016/j.orcp.2014.09.001>
- Jesus ÍC, Alle LF, Munhoz EC, Silva L, Lopes WA, Tureck LV, Purim K, Titski A, Leite N (2018) Trp64Arg polymorphism of the ADRB3 gene associated with maximal fat oxidation and LDL-C levels in non-obese adolescents. *J Pediatr (ri J)* 94(4):425–431. <https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2017.07.010>
- Jeukendrup A, Achten J (2001) Fatmax: a new concept to optimize fat oxidation during exercise? *Eur J Sport Sci* 1(5):1–5. <https://doi.org/10.1080/17461390100071507>
- Jordy AB, Kiens B (2014) Regulation of exercise-induced lipid metabolism in skeletal muscle. *Exp Physiol* 99(12):1586–1592. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2014.082404>
- Kelly DM, Jones TH (2015) Testosterone and obesity. *Obes Rev* 16(7):581–606. <https://doi.org/10.1111/obr.12282>
- Kim J, Park J, Kim N, Park HY, Lim K (2019) Inhibition of androgen receptor can decrease fat metabolism by decreasing carnitine palmitoyltransferase I levels in skeletal muscles of trained mice. *Nutr Metab* 16:82. <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0406-z>
- Knuiman P, Hopman MT, Mensink M (2015) Glycogen availability and skeletal muscle adaptations with endurance and resistance exercise. *Nutr Metab* 12:59. <https://doi.org/10.1186/s12986-015-0055-9>
- Lanzi S, Codecasa F, Cornacchia M, Maestrini S, Salvadori A, Brunani A, Malatesta D (2014) Fat oxidation, hormonal and plasma metabolite kinetics during a submaximal incremental test in lean and obese adults. *PLoS ONE* 9(2):e88707. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0088707>
- Lanzi S, Codecasa F, Cornacchia M, Maestrini S, Capodaglio P, Brunani A, Fanari P, Salvadori A, Malatesta D (2015) Short-term HIIT and Fat max training increase aerobic and metabolic fitness in men with class II and III obesity. *Obesity (silver Spring)* 23(10):1987–1994. <https://doi.org/10.1002/oby.21206>
- Larsen S, Nielsen J, Hansen CN, Nielsen LB, Wibrand F, Stride N, Schroder HD, Boushel R, Helge JW, Dela F, Hey-Mogensen M (2012) Biomarkers of mitochondrial content in skeletal muscle of healthy young human subjects. *J Physiol* 590(14):3349–3360. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.230185>
- Laurens C, de Glisezinski I, Larrouy D, Harant I, Moro C (2020) Influence of acute and chronic exercise on abdominal fat lipolysis: an update. *Front Physiol* 11:575363. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.575363>
- Lazzer S, Lafortuna C, Busti C, Galli R, Agosti F, Sartorio A (2011) Effects of low- and high-intensity exercise training on body composition and substrate metabolism in obese adolescents. *J Endocrinol Invest* 34(1):45–52. <https://doi.org/10.1007/BF03346694>
- Levine BD (2008) VO2max: what do we know, and what do we still need to know?. *J Physiol* 586(1):25–34. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.147629>
- Li SW, Wang J, Yang Y, Liu ZJ, Cheng L, Liu HY, Ma P, Luo W, Liu SM (2016) Polymorphisms in FADS1 and FADS2 alter plasma fatty acids and desaturase levels in type 2 diabetic patients with coronary artery disease. *J Transl Med* 14:79. <https://doi.org/10.1186/s12967-016-0834-8>
- Lima-Silva AE, Bertuzzi RC, Pires FO, Gagliardi JF, Barros RV, Hammond J, Kiss MA (2010) Relationship between training status and maximal fat oxidation rate. *J Sports Sci Med* 9(1):31–35
- Lin HY, Wang FS, Yang YL, Huang YH (2019) MicroRNA-29a suppresses CD36 to ameliorate high fat diet-induced steatohepatitis and liver fibrosis in mice. *Cells* 8(10):1298. <https://doi.org/10.3390/cells8101298>
- Lundby C, Jacobs RA (2016) Adaptations of skeletal muscle mitochondria to exercise training. *Exp Physiol* 101(1):17–22. <https://doi.org/10.1113/EP085319>
- Lutfi MF (2017) The physiological basis and clinical significance of lung volume measurements. *Multidiscip Respir Med* 12:3. <https://doi.org/10.1186/s40248-017-0084-5>
- Ma Y, Tong X, Liu Y, Liu S, Xiong H, Fan H (2018) ACE gene polymorphism is associated with COPD and COPD with pulmonary hypertension: a meta-analysis. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 13:2435–2446. <https://doi.org/10.2147/COPD.S168772>

- MacIntosh BR, Murias JM, Keir DA, Weir JM (2021) What is moderate to vigorous exercise intensity? *Front Physiol* 12:682233. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.682233>
- Mann T, Lamberts RP, Lambert MI (2013) Methods of prescribing relative exercise intensity: physiological and practical considerations. *Sports Med* 43(7):613–625. <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0045-x>
- Martinez-Navarro I, Montoya-Vieco A, Collado E, Hernando B, Hernando C (2020) Ultra trail performance is differently predicted by endurance variables in men and women. *Int J Sports Med*. <https://doi.org/10.1055/a-1255-3083> (advance online publication)
- Maunder E, Plews DJ, Kilding AE (2018) Contextualising maximal fat oxidation during exercise: determinants and normative values. *Front Physiol* 9:599. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00599>
- Maunder E, Plews DJ, Wallis GA, Brick MJ, Leigh WB, Chang WL, Stewart T, Watkins CM, Kilding AE (2021) Peak fat oxidation is positively associated with vastus lateralis CD36 content, fed-state exercise fat oxidation, and endurance performance in trained males. *Eur J Appl Physiol*. <https://doi.org/10.1007/s00421-021-04820-3> (advance online publication)
- Melzer K (2011) Carbohydrate and fat utilization during rest and physical activity. *E Spen Eur E J Clin Nutr Metab* 6(2):e45–e52. <https://doi.org/10.1016/j.eclnm.2011.01.005>
- Montes-de-Oca-García A, Perez-Bey A, Velázquez-Díaz D, Corral-Pérez J, Opazo-Díaz E, Rebollo-Ramos M, Gómez-Gallego F, Cuenca-García M, Casals C, Ponce-González JG (2021) Influence of ACE gene I/D polymorphism on cardiometabolic risk, maximal fat oxidation, cardiorespiratory fitness, diet and physical activity in young adults. *Int J Environ Res Public Health* 18(7):3443. <https://doi.org/10.3390/ijerph18073443>
- Morita E, Taniguchi H, Sakae M (2009) Trp64Arg polymorphism in beta3-adrenergic receptor gene is associated with decreased fat oxidation both in resting and aerobic exercise in the Japanese male. *Exp Diabetes Res* 2009:605139. <https://doi.org/10.1155/2009/605139>
- Mulya A, Haus JM, Solomon TP, Kelly KR, Malin SK, Rocco M, Barkouk H, Kirwan JP (2017) Exercise training-induced improvement in skeletal muscle PGC-1 $\alpha$ -mediated fat metabolism is independent of dietary glycemic index. *Obesity (silver Spring)* 25(4):721–729. <https://doi.org/10.1002/oby.21799>
- Muscella A, Stefano E, Lunetti P, Capobianco L, Marsigliante S (2020) The regulation of fat metabolism during aerobic exercise. *Biomolecules* 10(12):1699. <https://doi.org/10.3390/biom10121699>
- Nielsen J, Gejl KD, Hey-Mogensen M, Holmberg HC, Suetta C, Krstrup P, Elemans C, Ørtenblad N (2017) Plasticity in mitochondrial cristae density allows metabolic capacity modulation in human skeletal muscle. *J Physiol* 595(9):2839–2847. <https://doi.org/10.1113/JP273040>
- Nikolovski Z, Barbaresi S, Cable T, Peric R (2021) Evaluating the influence of differences in methodological approach on metabolic thresholds and fat oxidation points relationship. *Eur J Sport Sci* 21(1):61–68. <https://doi.org/10.1080/17461391.2020.1717640>
- Nordby P, Saltin B, Helge JW (2006) Whole-body fat oxidation determined by graded exercise and indirect calorimetry: a role for muscle oxidative capacity? *Scand J Med Sci Sports* 16(3):209–214. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2005.00480.x>
- Ørtenblad N, Nielsen J (2015) Muscle glycogen and cell function—location, location, location. *Scand J Med Sci Sports* 25(Suppl 4):34–40. <https://doi.org/10.1111/sms.12599>
- Pepino MY, Kuda O, Samovski D, Abumrad NA (2014) Structure-function of CD36 and importance of fatty acid signal transduction in fat metabolism. *Annu Rev Nut* 34:281–303. <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071812-161220>
- Peric R, Nikolovski Z (2020) Can metabolic thresholds be used as exercise intensity markers in adult men with obesity—fat burn points used as an exercise marker. *Comp Exerc Physiol* 16(2):113–119. <https://doi.org/10.3920/cep190035>
- Perreault L, Newsom SA, Strauss A, Kerege A, Kahn DE, Harrison KA, Snell-Bergeon JK, Nemkov T, D'Alessandro A, Jackman MR, MacLean PS, Bergman BC (2018) Intracellular localization of diacylglycerols and sphingolipids influences insulin sensitivity and mitochondrial function in human skeletal muscle. *JCI Insight* 3(3):e96805. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.96805>
- Plotkin DL, Roberts MD, Haun CT, Schoenfeld BJ (2021) Muscle fiber type transitions with exercise training: shifting perspectives. *Sports* 9(9):127. <https://doi.org/10.3390/sports9090127>
- Ponce González JG, Guadalupe-Grau A, Rodríguez-González FG, Torres-Peralta R, Morales-Alamo D, Rodríguez-García L, Díaz-Chico BN, López Calbet JA, Dorado C (2017) Androgen receptor gene polymorphisms and maximal fat oxidation in healthy men. A longitudinal study. *Polimorfismo del gen del receptor de andrógenos y oxidación máxima de grasa en hombres sanos. Estudio longitudinal. Nutr Hosp* 34(5):1089–1098. <https://doi.org/10.2096/nh.885>
- Ponce-González JG, Rodríguez-García L, Losa-Reyna J, Guadalupe-Grau A, Rodríguez-González FG, Díaz-Chico BN, Dorado C, Serrano-Sánchez JA, Calbet JA (2016) Androgen receptor gene polymorphism influence fat accumulation: a longitudinal study from adolescence to adult age. *Scand J Med Sci Sports* 26(11):1313–1320. <https://doi.org/10.1111/sms.12587>
- Purdum T, Kravitz L, Dokladny K, Mermier C (2018) Understanding the factors that effect maximal fat oxidation. *J Int Soc Sports Nutr* 15:3. <https://doi.org/10.1186/s12970-018-0207-1>
- Randell RK, Rollo I, Roberts TJ, Dalrymple KJ, Jeukendrup AE, Carter JM (2017) Maximal fat oxidation rates in an athletic population. *Med Sci Sports Exerc* 49(1):133–140. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001084>
- Rasmussen BB, Holmback UC, Volpi E, Morio-Liondore B, Padon-Jones D, Wolfe RR (2002) Malonyl coenzyme A and the regulation of functional carnitine palmitoyltransferase-1 activity and fat oxidation in human skeletal muscle. *J Clin Investig* 110(11):1687–1693. <https://doi.org/10.1172/JCI15715>
- Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F (1990) An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Investig* 86(4):1343–1346. <https://doi.org/10.1172/JCI114844>
- Robinson SL, Hattersley J, Frost GS, Chambers ES, Wallis GA (2015) Maximal fat oxidation during exercise is positively associated with 24-hour fat oxidation and insulin sensitivity in young, healthy men. *J Appl Physiol* (1985) 118(11):1415–1422. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00058.2015>
- Robinson SL, Chambers ES, Fletcher G, Wallis GA (2016) Lipolytic markers, insulin and resting fat oxidation are associated with maximal fat oxidation. *Int J Sports Med* 37(8):607–613. <https://doi.org/10.1055/s-0042-100291>
- Rodrigues AC, Spagnol AR, Frias FT, de Mendonça M, Araújo HN, Guimarães D, Silva WJ, Bolin AP, Murata GM, Silveira L (2021) Intramuscular injection of miR-1 reduces insulin resistance in obese mice. *Front Physiol* 12:676265. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.676265>
- Rosenkilde M, Reichkendl MH, Auerbach P, Bonne TC, Sjödin A, Ploug T, Stallknecht BM (2015) Changes in peak fat oxidation in response to different doses of endurance training. *Scand J Med Sci Sports* 25(1):41–52. <https://doi.org/10.1111/sms.12151>
- San-Millán I, Brooks GA (2018) Assessment of metabolic flexibility by means of measuring blood lactate, fat, and carbohydrate oxidation responses to exercise in professional endurance athletes and less-fit individuals. *Sports Med* 48(2):467–479. <https://doi.org/10.1007/s40279-017-0751-x>

- Sayre NL, Lechleiter JD (2012) Fatty acid metabolism and thyroid hormones. *Curr Trends Endocrinol* 6:65–76
- Schena G, Caplan MJ (2019) Everything you always wanted to know about  $\beta$ 3-AR \* (\* but were afraid to ask). *Cells* 8(4):357. <https://doi.org/10.3390/cells8040357>
- Schenk S, Horowitz JF (2006) Coimmunoprecipitation of FAT/CD36 and CPT I in skeletal muscle increases proportionally with fat oxidation after endurance exercise training. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291(2):E254–E260. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00051.2006>
- Shaw CS, Shepherd SO, Wagenmakers AJ, Hansen D, Dendale P, van Loon LJ (2012) Prolonged exercise training increases intramuscular lipid content and perilipin 2 expression in type I muscle fibers of patients with type 2 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 303(9):E1158–E1165. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00272.2012>
- Shaw CS, Swinton C, Morales-Scholz MG, McRae N, Erftemeyer T, Aldous A, Murphy RM, Howlett KF (2020) Impact of exercise training status on the fiber type-specific abundance of proteins regulating intramuscular lipid metabolism. *J Appl Physiol* (1985) 128(2):379–389. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00797.2019>
- Shepherd SO, Cocks M, Tipton KD, Ranasinghe AM, Barker TA, Burniston JG, Wagenmakers AJ, Shaw CS (2013) Sprint interval and traditional endurance training increase net intramuscular triglyceride breakdown and expression of perilipin 2 and 5. *J Physiol* 591(3):657–675. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2012.240952>
- Shepherd SO, Cocks M, Tipton KD, Witard OC, Ranasinghe AM, Barker TA, Wagenmakers AJ, Shaw CS (2014) Resistance training increases skeletal muscle oxidative capacity and net intramuscular triglyceride breakdown in type I and II fibres of sedentary males. *Exp Physiol* 99(6):894–908. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2014.078014>
- Sidossis LS, Stuart CA, Shulman GI, Lopaschuk GD, Wolfe RR (1996) Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *J Clin Invest* 98(10):2244–2250. <https://doi.org/10.1172/JCI119034>
- Silva F, Iop R, Andrade A, Costa VP, Gutierrez Filho P, Silva RD (2020) Effects of physical exercise on the expression of microRNAs: a systematic review. *J Strength Cond Res* 34(1):270–280
- Skattebo Ø, Peci D, Clauss M, Johansen EI, Jensen J (2022) Increased mass-specific maximal fat oxidation rate with small versus large muscle mass exercise. *Med Sci Sports Exerc*. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002864>
- Smith BK, Bonen A, Holloway GP (2012) A dual mechanism of action for skeletal muscle FAT/CD36 during exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 40(4):211–217. <https://doi.org/10.1097/JES.0b013e31825eb263>
- Starratt EC, Howlett RA, Heigenhauser GJ, Spriet LL (2000) Sensitivity of CPT I to malonyl-CoA in trained and untrained human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278(3):E462–E468. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.2000.278.3.E462>
- Stisen AB, Stougaard O, Langfort J, Helge JW, Sahlin K, Madsen K (2006) Maximal fat oxidation rates in endurance trained and untrained women. *Eur J Appl Physiol* 98(5):497–506. <https://doi.org/10.1007/s00421-006-0290-x>
- Suter E, Hoppeler H, Claassen H, Billeter R, Aebi U, Horber F, Jaeger P, Marti B (1995) Ultrastructural modification of human skeletal muscle tissue with 6-month moderate-intensity exercise training. *Int J Sports Med* 16(3):160–166. <https://doi.org/10.1055/s-2007-972985>
- Talanian JL, Holloway GP, Snook LA, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LL (2010) Exercise training increases sarcolemmal and mitochondrial fatty acid transport proteins in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 299(2):E180–E188. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00073.2010>
- Thomas C, Bishop DJ, Lambert K, Mercier J, Brooks GA (2012) Effects of acute and chronic exercise on sarcolemmal MCT1 and MCT4 contents in human skeletal muscles: current status. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 302(1):R1–R14. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00250.2011>
- Tsiloulis T, Watt MJ (2015) Exercise and the regulation of adipose tissue metabolism. *Prog Mol Biol Transl Sci* 135:175–201. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2015.06.016>
- Usui T, Kajita K, Kajita T, Mori I, Hanamoto T, Ikeda T, Okada H, Taguchi K, Kitada Y, Morita H, Sasaki T, Kitamura T, Sato T, Kojima I, Ishizuka T (2014) Elevated mitochondrial biogenesis in skeletal muscle is associated with testosterone-induced body weight loss in male mice. *FEBS Lett* 588(10):1935–1941. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2014.03.051>
- Vaccari F, Passaro A, D'Amuri A, Sanz JM, Di Vece F, Capatti E, Magnesa B, Comelli M, Mavelli I, Grassi B, Fiori F, Bravo G, Avancini A, Parpinel M, Lazzar S (2020) Effects of 3-month high-intensity interval training vs. moderate endurance training and 4-month follow-up on fat metabolism, cardiorespiratory function and mitochondrial respiration in obese adults. *Eur J Appl Physiol* 120(8):1787–1803. <https://doi.org/10.1007/s00421-020-04409-2>
- Valdivieso P, Vaughan D, Laczko E, Brogioli M, Waldron S, Rittweger J, Flück M (2017) The metabolic response of skeletal muscle to endurance exercise is modified by the ACE-I/D gene polymorphism and training state. *Front Physiol* 8:993. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00993>
- Vasudeva K, Balyan R, Munshi A (2020) ACE-triggered hypertension incites stroke: genetic, molecular, and therapeutic aspects. *Neuromolecular Med* 22(2):194–209. <https://doi.org/10.1007/s12017-019-08583-1>
- Venables MC, Achten J, Jeukendrup AE (2005) Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. *J Appl Physiol* 98(1):160–167. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00662.2003>
- Ventura-Clapier R, Piquereau J, Veksler V, Garnier A (2019) Estrogens, estrogen receptors effects on cardiac and skeletal muscle mitochondria. *Front Endocrinol* 10:557. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00557>
- Vest SD, Frandsen J, Larsen S, Dela F, Helge JW (2018) Peak fat oxidation is not independently related to ironman performance in women. *Int J Sports Med* 39(12):916–923. <https://doi.org/10.1055/a-0660-0031>
- Vistisen B, Roepstorff K, Roepstorff C, Bonen A, van Deurs B, Kiens B (2004) Sarcolemmal FAT/CD36 in human skeletal muscle colocalizes with caveolin-3 and is more abundant in type 1 than in type 2 fibers. *J Lipid Res* 45(4):603–609. <https://doi.org/10.1194/jlr.M300424-JLR200>
- Wagner PD (1996) Determinants of maximal oxygen transport and utilization. *Annu Rev Physiol* 58:21–50. <https://doi.org/10.1146/annurev.ph.58.030196.000321>
- Wang X, Ma Y, Yang LY, Zhao D (2020) MicroRNA-20a-5p ameliorates non-alcoholic fatty liver disease via inhibiting the expression of CD36. *Front Cell Dev Biol* 8:596329. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.596329>
- Yuan Y, Meng L, Zhou Y, Lu N (2017) Genetic polymorphism of angiotensin-converting enzyme and hypertrophic cardiomyopathy risk:

a systematic review and meta-analysis. *Medicine* 96(48):e8639. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000008639>

Zurbuchen A, Lanzi S, Voirol L, Trindade CB, Gojanovic B, Kayser B, Bourdillon N, Chenevière X, Malatesta D (2020) Fat oxidation kinetics is related to muscle deoxygenation kinetics during exercise. *Front Physiol* 11:571. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00571>

**Publisher's Note** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS**



**EFFECTO AGUDO DE DOS ALIMENTOS RICOS EN LÍPIDOS SOBRE LA FLEXIBILIDAD METABÓLICA EN SUJETOS CON EL SNP RS1527479 DE LA PROTEÍNA FAT/CD36.**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**Presenta**

**RUTH ALEJANDRA ZAVALA LIRA**

**Cd. Juárez, Chih., México**

**Octubre del 2022**

## **APROBACIÓN DE LA TESIS**

Efecto agudo de dos alimentos ricos en lípidos sobre la flexibilidad metabólica en sujetos con el SNP rs1527479 de la proteína FAT/CD36, reporte de investigación preparado por Ruth Alejandra Zavala Lira como requisito parcial para obtener el grado de

### **MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

ha sido aprobado y aceptado por:

---

**Dr. Arnulfo Ramos Jiménez**

**DIRECTOR DE TESIS**

---

**Dr. Joaquín Rodrigo García**

**ASESOR**

---

**Dr. José Alberto López Díaz**

**ASESOR**

---

**Dr. Jorge Alberto Pérez León**

**ASESOR**

---

**Dr. José Alberto Nuñez Gastelum**

**ASESOR**



## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

**EFFECTO AGUDO DE DOS ALIMENTOS RICOS EN LÍPIDOS SOBRE LA FLEXIBILIDAD METABÓLICA EN SUJETOS CON EL SNP RS1527479 DE LA PROTEÍNA FAT/CD36.**

Se permite el uso académico de información contenida en esta tesis, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor. Para la reproducción parcial o total de este documento con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de las autoridades que avalan esta tesis.

---

**Dra. Miroslava Quiñonez Martínez**

**COORDINADORA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

---

**Dr. José Alberto López Díaz**

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS**

---

**C.D. Salvador David Nava Martínez**

**DIRECTOR DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**

## **RESUMEN**

**EFFECTO AGUDO DE DOS ALIMENTOS RICOS EN LÍPIDOS SOBRE LA FLEXIBILIDAD METABÓLICA EN SUJETOS CON EL SNP RS1527479 DE LA PROTEÍNA FAT/CD36.**

Elaborado por: Ruth Alejandra Zavala Lira

## **CONTENIDO**

APROBACIÓN DE LA TESIS .....	ii
DECLARACIÓN INSTITUCIONAL .....	iii
RESUMEN.....	i
CONTENIDO.....	ii
INTRODUCCIÓN .....	1
ANTECEDENTES.....	1
1. MARCO TEÓRICO .....	5
1.1 Lípidos.....	5
1.1.1 Clasificación .....	5
1.1.2 Fuentes alimentarias.....	7
1.1.3 Digestión y absorción.....	7
1.1.4 Metabolismo .....	8
1.2 Proteína FAT/CD36 .....	9
1.3 Componente genético .....	10
1.3.1 Polimorfismos .....	10
1.4 Adaptación metabólica .....	11
1.4.1 Medición del gasto calórico.....	12
2. HIPÓTESIS .....	14
3. OBJETIVO GENERAL.....	14
4. OBJETIVOS ESPECIFICOS .....	14
5. MATERIALES Y MÉTODOS .....	15

En los siguientes apartados se muestra la metodología que seguida dentro de este proyecto de investigación.....	15
5.1 Diseño del estudio .....	15
5.3 Muestra de estudio .....	15
5.4 Consideraciones éticas .....	15
5.5 Criterios de inclusión .....	16
5.6 Criterios de exclusión .....	16
5.7 Estructura de los alimentos.....	16
5.8 Procedimiento con los sujetos .....	18
5.8.1 Sesión 1: Llenado de documentos y composición corporal. ....	19
5.8.2 Sesión 2. Composición corporal y tasa metabólica en reposo.....	19
5.8.3 Sesión 4. Prueba FAT <sub>MAX</sub> y de esfuerzo. ....	19
5.8.4 Sesión 4. Consumo del primer alimento. ....	20
5.8.4 Sesión 5. Consumo del segundo alimento.....	20
5.9. Análisis estadístico:.....	21
6. Resultados preliminares .....	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	27
ANEXOS.....	32
Anexo 1: Carta de consentimiento informado.....	32
Anexo 2: Historia Médica e informe de Lesiones .....	36
Anexo 3: Cuestionario Internacional de Actividad física .....	42
Anexo 4: Registro de ingesta de alimentos. ....	52

## **INTRODUCCIÓN**

Entendemos como flexibilidad metabólica a la capacidad de un organismo para adaptarse rápidamente a los cambios alimentarios, climáticos, niveles de estrés y actividades de la vida diaria, lo cual le permite mantener un equilibrio metabólico saludable (Goodpaster y Sparks, 2017). La obesidad, resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo II (DM2) se encuentran estrechamente relacionadas con la alteración de este mecanismo, lo cual se conoce como inflexibilidad metabólica (deficiencias en el equilibrio metabólico saludable) (Corpeleijn *et al.*, 2009). Los mecanismos moleculares envueltos en la inflexibilidad metabólica están por definirse, destacándose la presencia de algunos genes susceptibles al medio ambiente, estilos de vida y alimentación. El componente genético y sus polimorfismos representan actualmente marcadores fiables del comportamiento de varias patologías (Ramírez-Bello *et al.*, 2013). Los polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) son un tipo de variaciones genéticas producidas por sustituciones de un solo nucleótido en la secuencia del genoma que pueden dar como resultado la inflexibilidad metabólica (Salinas, 2017). Se ha demostrado que los SNPs identificados en el gen CD36 están relacionados con niveles elevados de lípidos plasmáticos, el riesgo a padecer síndrome metabólico y diabetes (Pietka *et al.*, 2014).

## **ANTECEDENTES**

El componente genético y sus polimorfismos sumados a su interacción con factores como la dieta consumida representan actualmente marcadores fiables del comportamiento de varias patologías (Ramírez-Bello *et al.*, 2013), entre ellas, el sobrepeso, la obesidad, la diabetes tipo 2, dislipidemias e hipertensión (Salinas, 2017).

Lo reportado por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 (ENSANUT-MC 2016) muestra que en México, enfermedades como el

sobrepeso y obesidad cuentan con una prevalencia del 72.5% en hombres adultos, estas cifras confirman que son un grave problema de salud pública de causas multifactoriales en donde se ven implicados los factores genéticos psicológicos y ambientales. Al hablar de factores genéticos se le puede dar un enfoque desde el funcionamiento de las proteínas implicadas en el correcto metabolismo de los sustratos energéticos, como lo es la proteína FAT/CD36 y cuyos polimorfismos identificados en el gen que la codifica están relacionados con la susceptibilidad a presentar enfermedades de este tipo (Pietka et al., 2014).

Dentro de los factores ambientales y psicológicos se toma en cuenta el tipo de dieta consumida por las personas (Hernández-Corona *et al.*, 2021).

Dilucidar si pacientes mexicanos que presentan el polimorfismo específico (rs1527479) en la proteína FAT/CD36 modifican su capacidad metabólica tras consumir una dieta alta en lípidos, nos permitirá comprender mejor dichas patologías desde la interacción entre gen y dieta, siendo el primer paso para implementar programas más acordes a las características de la población mexicana y así disminuir la prevalencia de dichas enfermedades.

Algunos de los trabajos realizados que comparten similitudes con este proyecto son los siguientes:

Glatz et al., (2006) al estudiar a 675 sujetos (Edad: >40 años; IMC: >25 kg/m<sup>2</sup>) con historia heredofamiliar de Diabetes Mellitus Tipo 2 observaron una relación de la presencia del polimorfismo rs1527479 del gen CD36 con el padecimiento de Diabetes Mellitus Tipo 2. Sin embargo, el estudio no incluyó el control de variables relacionadas con actividad física o dieta habitual.

Talanian y colaboradores en el 2007 sometieron a 8 mujeres deportistas sanas (Edad: 22±1 años; Peso: 65.0±2.2 kg; VO<sub>2</sub>peak: 2.36±0.24 l/min) a siete sesiones de HIIT. Observaron un incremento del 35% en la utilización de triacilgliceroles

intramusculares sin aumento de expresión de la proteína FAT/CD36, posterior a 60 min de ciclismo a una intensidad del 60% del  $VO_{2\text{pico}}$ .

En el año 2012, Battaglia y colaboradores publicaron un estudio que realizaron en Estados Unidos, donde fueron incluidos 12 sujetos masculinos delgados (IMC:  $25 \text{ kg/m}^2$ ) y 10 sujetos masculinos obesos (IMC  $30 \text{ kg/m}^2$ ) de entre 18 y 30 años. Cada participante consumió una dieta alta en lípidos (Distribución de macronutrientes: 70% lípidos, 15% carbohidratos y 15% proteína; calculada para ser eucalórica y mantener la masa corporal) durante 3 días sin realización de actividad física. Después de un período de lavado de 2 a 3 semanas, los sujetos se ejercitaron durante 10 días consecutivos y consumieron una dieta alta en lípidos entre los días 8 y 10 de actividad física al 70% del  $VO_{2\text{peak}}$ . Observaron que 3 días de consumir la dieta alta en lípidos aumentó la oxidación de lípidos en el músculo esquelético de los sujetos delgados, pero no ocurrió lo mismo en los sujetos obesos. La actividad física aumentó la oxidación de lípidos en el músculo esquelético en ambos grupos, sin presentar una mejora incremental con la adición de la dieta alta en lípidos. No se llevó a cabo ningún tipo de genotipificación y el estudio se enfocó en los cambios en la flexibilidad metabólica sin tomar en cuenta las modificaciones en la proteína FAT/CD36.

Gautam y colaboradores publicaron en 2013 los resultados de un estudio que realizaron en India, en el cual tomaron muestras de sangre de 100 pacientes diagnosticados con Diabetes Mellitus tipo 2 (Edad:  $48.12 \pm 5.69$  años) y 100 pacientes sin patologías (Edad:  $53.74 \pm 9.14$  años). A partir de dichas muestras se realizó una genotipificación para identificar la presencia de 4 polimorfismos (-178a, rs1984112, rs1527479, rs3211938) en la proteína FAT/CD36. Como resultados encontraron asociación entre el polimorfismo rs3211938 (T/G) con el padecimiento de Diabetes Mellitus tipo 2, mientras que los SNP rs1984112 (A/G) y rs1527479 (T/C) no mostraron asociación. También encontraron que los alelos menores de los polimorfismos ("G" de rs1984112, "C" de rs1527479 y "G" de

rs3211938) mostraron una asociación significativa con los perfiles clínicos de pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2. Sin embargo, el estudio no contó con monitoreo ni control de la dieta y el ejercicio realizado por los participantes.

En el año 2016 fue publicado un estudio realizado por Jayewardene y colaboradores en Australia, en el cual fueron incluidos 34 sujetos físicamente activos que presentaban los polimorfismos rs1527479 y rs1984112 en la proteína FAT/CD36 (22 hombres y 12 mujeres; Edad:  $22.7 \pm 0.6$  años) y que completaron sesiones de ciclismo por 4 semanas en las cuales la intensidad a la que entrenaron fue determinada en relación con su  $VO_2$ máx obtenido en la prueba inicial y se fue incrementando progresivamente de modo que los participantes pedalearon al 60 % del  $VO_2$ peak durante las semanas 1 y 2, al 70 % del  $VO_2$ peak durante la semana 3 y al 75 % del  $VO_2$ peak durante la semana 4. Dando como resultado que los portadores del polimorfismo rs1527479 presentaban una oxidación de grasas significativamente mayor que los portadores del polimorfismo rs1984112 al 40% y 60% del  $VO_2$ peak. Sin embargo, no se llevó un control riguroso del tipo de dieta consumida por los participantes durante su participación en el estudio, solo se les pidió realizar 3 diarios de alimentos los días antes de la prueba inicial.

Actualmente los descubrimientos realizados en este campo de investigación se encuentran enfocados en población no latinoamericana y no se ha estudiado la relación entre el polimorfismo rs1527479 de la proteína FAT/CD36 con un riguroso control de la dieta y ejercicio en población mexicana.



# 1. MARCO TEÓRICO

## 1.1 Lípidos

Siendo una de las principales macromoléculas que conforman a los alimentos, se define como lípidos al conjunto de biomoléculas compuestas por carbono, hidrogeno y oxígeno, integrados en cadenas hidrocarbonadas alifáticas o aromáticas las cuales también contienen fosforo y nitrógeno (Badui, 2013). Aunque comúnmente los términos “grasa” y “aceite” se suelen utilizar de manera indiscriminada como sinónimo de “lípidos”, las “grasas” son lípidos que se encuentran en estado sólido, mientras que los “aceites” son lípidos que a temperatura ambiente se encuentran en estado líquido (Cabezas-Zábala *et al.*, 2015).

### 1.1.1 Clasificación

Se puede realizar una clasificación de los lípidos usando como punto de partida su contenido de triacilgliceroles, los cuales son esteres de ácidos grasos con glicerol. Dichos ácidos grasos le confieren diferencias en sus propiedades fisicoquímicas a los lípidos y se encuentran clasificados en dos grupos (Badui, 2013):

- **Ácidos grasos saturados:** Cuentan con un contenido de átomos de carbono que va desde las 4 hasta las 26 unidades, el largo de las cadenas formadas por estas unidades les confiere su punto de fusión (a mayor largo de la cadena, más alto será su punto de fusión) (Badui, 2013). Aquellos de bajo peso molecular (cadenas menores a 14 carbonos) solo están presentes en la leche de coco y palma, mientras que los de peso molecular mayor (cadenas mayores a 18 carbonos) son fáciles de encontrar en las leguminosas. Su consumo desmedido se encuentra relacionado con el aumento del Índice de Masa Corporal (IMC), desarrollo de obesidad,

esteatosis hepática y resistencia a la insulina (Cabezas-Zábala *et al.*, 2016).

- **Ácidos grasos insaturados:** Cuentan con un contenido de átomos de carbono de 16 o más unidades. En cuanto a su punto de fusión se conoce que este disminuye conforme aumentan el número de dobles ligaduras. Una de sus características más notorias en su reactividad química beneficiada por las insaturaciones que presentan (Badui, 2013). A su vez, se pueden clasificar según la estructura de su molécula en conformación “*cis*” o “*trans*”. La mayoría de los ácidos grasos insaturados que consumimos a través de la dieta tienen conformación *cis*, aunque en la carne y la leche de los rumiantes (bovinos, ovejas), se pueden detectar cantidades de ácidos grasos insaturados en conformación “*trans*”. Se encuentran con frecuencia en peces y oleaginosas (Cabezas-Zábala *et al.*, 2016).

Así mismo, se puede llevar a cabo una clasificación de estas macromoléculas tomando como punto de partida su contenido de átomos de carbono, teniendo como resultado cuatro tipos de ácidos grasos:

- **Ácidos grasos de cadena corta (AGCC):** Aquellos que en su estructura contienen de 4 a 6 átomos de carbono.
- **Ácidos grasos de cadena media (AGCM):** Aquellos que en su estructura contienen de 8 a 14 átomos de carbono.
- **Ácidos grasos de cadena larga (AGCL):** Aquellos que en su estructura contienen de 16 a 18 átomos de carbono.
- **Ácidos grasos de cadena muy larga (AGCML):** Aquellos que en su estructura contienen 20 o más átomos de carbono (Vasudevan *et al.*, 2011).

### 1.1.2 Fuentes alimentarias

Según el tipo de ácido graso del que se hable serán los alimentos en los que se pueda encontrar preferentemente. A continuación, se muestran ejemplos de alimentos para cada tipo de ácido graso:

#### **Ácidos grasos saturados:**

- De origen animal: Manteca, mantequilla, crema, leche, yogurt, embutidos, cortes de carnes con altos contenidos de grasa, leche, queso, etc.
- De origen vegetal: Manteca vegetal, margarinas, aceite de coco, aceite de palma, etc.

**Ácidos grasos insaturados:** Aceites de maíz, soya, girasol, algodón, canola, etc.

**Ácidos grasos esenciales:** Aceite de girasol, maíz, germen de trigo, linaza, pescados y mariscos (Quintero, 2014).

### 1.1.3 Digestión y absorción

La digestión de los lípidos comienza en la boca, con la lipasa lingual que es producida por las glándulas de la lengua y cuyo trabajo es complementado con el de la lipasa gástrica producida por el estómago. Es hasta que los lípidos continúan su recorrido y llegan hasta la primera porción de intestino delgado (duodeno) que se lleva a cabo la mayor proporción de digestión, gracias a la lipasa pancreática. Las lipasas se enfocan en hidrolizar los enlaces 1 y 3 de los triglicéridos con relativa facilidad, sin embargo, cuando actúan sobre los enlaces 2 el proceso se realiza a una velocidad muy lenta, de manera que los principales productos de su acción son los ácidos grasos libres y los 2-monoglicéridos (2-monoacilgliceroles) (Goodman, 2010).

Las grasas son relativamente insolubles, lo que limita su capacidad para llegar a la superficie de las células de la mucosa. Sin embargo, por la acción detergente en el intestino delgado de las sales biliares, la lecitina y los monoglicéridos se produce una emulsificación. Los lípidos y las sales biliares interactúan formando micelas, lo cual promueve su transporte hacia los enterocitos. Por consiguiente, las micelas se desplazan a través de su gradiente de concentración traspasando la capa inerte hacia el borde en cepillo de las células de la mucosa. Los lípidos se difunden fuera de las micelas y se mantiene una solución acuosa saturada de los lípidos en contacto con el borde en cepillo de las células de la mucosa. Los ácidos grasos que contienen menos de 10 a 12 átomos de carbono tiene la capacidad de ser hidrosolubles y pasan a través del enterocito sin modificarse, por lo que son transportados activamente hacia la sangre de la vena porta. En el caso de los lípidos que contiene más de 10 a 12 átomos de carbono necesitan ser reesterificados a triglicéridos en los enterocitos (Barret *et al.*, 2010), siendo dependientes de proteínas de membrana para poder ingresar al interior de las células. Una de las proteínas de membrana más importantes es la proteína FAT/CD36, está altamente expresada en la mucosa intestinal proximal (Goodman, 2010).

#### **1.1.4 Metabolismo**

La formación de triacilgliceroles requiere glicerol y ácidos grasos que se transforme en glicerol-3P y acil-CoA graso para de esta manera poder ser utilizados como sustratos. La gliceroneogénesis es la producción de glicerol-3P a partir de sustratos gluconeogénicos como lo es el piruvato. La proporción de glicerol-3P producido a partir de la glucólisis y por glicerogénesis varía con el estado nutricional (estado postprandial o en ayunas). Una vez que se encuentran en el citoplasma celular, los ácidos grasos y la coenzima se esterifican en acil-coenzima A (acil-CoA) por acción de las enzimas acil-coenzima A sintetasa.

Los ésteres de acil-CoA de cadena media y larga se transportan dentro las

células por la proteína de unión acil-CoA (ACBP) que tiene una alta afinidad por estas moléculas, pero no se unen a los ácidos grasos (Large *et al.*, 2004).

Una vez dentro de la mitocondria, los acil-CoA se degradan en unidades de acetil-CoA a través de la beta-oxidación (los acil-CoA son acortados provocando que los dos átomos de carbono carboxi-terminales se liberan como unidades de acetil-CoA cada vez que se completa un ciclo). Cada ciclo produce un acil-CoA acortado por dos átomos de carbono, un acetil-CoA, una nicotinamida dinucleótido de adenina (NADH) y una flavina adenina dinucleótido (FADH<sub>2</sub>) como transportadores de electrones (o equivalentes). El acil-CoA resultante puede entrar en el ciclo del ácido cítrico para producir ATP (Hounten y wanders, 2010).

Entre las proteínas involucradas en el transporte de ácidos grasos, la proteína FAT/ CD36 juega un papel sumamente importante.

## **1.2 Proteína FAT/CD36**

La proteína FAT/CD36 es una proteína glicosilada que pertenece a la familia de los receptores tipo B (scavengers) que participa en la captación de ácidos grasos, particularmente de cadena larga y no solo se encuentra en la membrana plasmática de la célula, también se encuentra en la membrana mitocondrial. Se le conoce por otros nombres como lo son: antígeno CD36, antígeno de diferenciación de leucocitos CD36, translocasa de ácidos grasos (FAT), GPIV, glicoproteína IIIb (GPIIIB), glicoproteína plaquetaria, receptor de colágeno plaquetario. Se encuentra principalmente en el tejido adiposo, el tejido esquelético y en intestino delgado (Rać *et al.*, 2007).

FAT/ CD36 cumple con el 50% del transporte total de ácidos grasos en el tejido adiposo y el tejido muscular en seres humanos y ratones. Se sabe que los seres humanos con deficiencia de FAT/CD36 también muestran una absorción

significativamente menor de ácidos grasos en el corazón, los músculos y el tejido adiposo (Hao *et al.*, 2020). Aún se desconoce la manera exacta en la que transporta los ácidos grasos a través de la membrana plasmática, sin embargo, a partir del conocimiento de sus estructura se ha considerado que la manera en la que realiza su función es la siguiente: 1) los ácidos grasos son capturados en el espacio extracelular; 2) Se abren camino desde el exterior hacia el interior de la membrana mediante un proceso llamado "flip flop", en el cual el grupo carboxilo polar de los ácidos grasos se mueve a través del interior de la bicapa para reubicarse en la interfaz opuesta; 3) Una vez que han conseguido atravesar la membrana plasmática, los ácidos grasos se unen a la Proteína de Unión a Ácidos Grasos citoplásmicos (FABP); 4) Los ácidos grasos son activados a acil-CoA graso por la intervención de acil-CoA sintetetasas; 5) Gracias a la presencia de la proteína FAT/CD36 en la membrana mitocondrial, los ácidos grasos ingresan en la mitocondria (Glatz *et al.*, 2018). Esto permite que el acetil-CoA necesario para participar en la creación de ATP sea obtenido por medio de la beta- oxidación (Lundsgaard *et al.*, 2018).

### **1.3 Componente genético**

La existencia de una variación entre seres humanos relacionada con la respuesta a la dieta y a los propios nutrientes refuerza la importancia del estudio y entendimiento del componente genético dentro del concepto de la interacción gen-dieta o gen-nutriente (Caicedo *et al.*, 2019).

#### **1.3.1 Polimorfismos**

Dentro de las variaciones genéticas específicas que se pueden producir en los individuos podemos encontrar a los polimorfismos de un solo nucleótido o por sus siglas en ingles *SNPs (Single Nucleotide Polymorphism)*, los cuales son consecuencia de sustituciones de un solo nucleótido en la secuencia del genoma que pueden dar como resultado una adaptación metabólica insuficiente ante los

estímulos como lo son la alimentación y la actividad física (Salinas, 2017).

Estas variaciones genéticas se agrupan tomando en cuenta a su localización y funcionalidad, teniendo tres tipos:

**Polimorfismos s:** Se encuentran en los promotores de los genes encargados de codificar proteínas, estos impactan los niveles de expresión génica.

**Polimorfismos rs:** Se encuentran en los ARNm primarios (aquellos que contienen intrones) y en secundarios (aquellos que ya no contienen intrones), regiones no traducidas, regiones intrónicas y codificantes (en las que no ocurre un cambio de aminoácido). Pueden afectar la función y estructura de los ARN, la funcionalidad de las proteínas y la estabilidad de los ARNm, entre otros procesos biológicos propios de las células.

**Polimorfismos codificantes:** Se encuentran en exones, a su vez pueden ser sinónimos (si al realizarse el cambio de nucleótido no se lleva a cabo un cambio de aminoácidos o bien, no sinónimos (si al efectuarse el cambio de nucleótido también se lleva a cabo un cambio de aminoácido).

Un ejemplo de SNP de tipo rs es el rs1527479 encontrado en la proteína CD36, la cual está implicada en el metabolismo desregulado de ácidos grasos y lípidos en condiciones fisiopatológicas, particularmente en la resistencia a la insulina inducida por una dieta alta en grasas y en la miocardiopatía diabética (Glatz y Luiken, 2018).

#### **1.4 Adaptación metabólica**

La adaptación metabólica producida en el cuerpo humano ante situaciones amenazantes para el mantenimiento de la homeostasis energética (también conocida como flexibilidad metabólica) se ve ligada a la buena detección de dichas situaciones, el uso de los sustratos energéticos y los requisitos de energía

para afrontar de manera óptima las situaciones que pudieran tener un impacto negativo. El consumo excesivo de sustratos, la disminución en la realización de actividad física y un funcionamiento poco eficiente de los procesos metabólicos modifican de manera negativa la flexibilidad metabólica, lo que puede desencadenar y padecimiento de patologías (Palmer y Clegg, 2022).

El término flexibilidad metabólica fue utilizado por primera vez en 1999 cuando Kelley y colaboradores al estudiar la selección de combustible en el músculo esquelético de individuos delgados en comparación con individuos obesos tras verse sometidos a un ayuno nocturno observaron una mejor adaptabilidad del musculo esquelético de los individuos delgados en cuanto a preferencia de combustible (Smith *et al.*, 2018).

#### **1.4.1 Medición del gasto calórico**

Es posible calcular el gasto energético total de un individuo a partir de los datos obtenidos por medio de calorimetría indirecta. Este es un método de tipo indirecto y no invasivo que se encarga de estimar el gasto energético basal a partir de los equivalentes calóricos de oxígeno ( $VO_2$ ) utilizado y dióxido de carbono ( $VCO_2$ ) producido en la respiración, una vez obtenido el gasto energético basal se puede introducir este dato en ecuaciones para la determinación del gasto energético total (Nicolalde *et al.*, 2019). Además de la estimación del gasto energético basal, la calorimetría indirecta permite conocer otros parámetros como lo son la utilización de sustratos (lípidos, carbohidratos). La relación entre el oxígeno y el dióxido de carbono censados se conoce como cociente respiratorio (RQ por sus siglas en ingles); un RQ con valores iguales o mayores a 1,0 habla de que se están utilizando principalmente carbohidratos para generar energía; Un RQ con valores cercanos a 7,0 habla de que se esta llevando a cabo una utilización mixta de sustratos; Un RQ con valores menores a 7,0 habla de que se están utilizando principalmente lípidos para generar energía (Delsoglio *et al.*, 2019). También se puede hacer una estimación de la oxidación en gramos para cada sustrato



haciendo uso de las siguientes ecuaciones:

Oxidación de carbohidratos:  $4.55 \times VCO_2 - 3.21 \times VO_2 - 2.87$ .

Oxidación de lípidos:  $1.67 \times VO_2 - 1.67 \times VCO_2 - 1.92$  (Frayn, 1983).

## **2. HIPÓTESIS**

El polimorfismo rs1527479 de la proteína FAT/CD36 disminuye el metabolismo postprandial de ácidos grasos de cadena larga.

## **3. OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la interacción entre el polimorfismo rs1527479 de la proteína FAT/CD36 y el metabolismo de lípidos en hombres adultos sedentarios.

## **4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

4.1 Determinar la interacción entre el SNP rs1527479 de la proteína FAT/CD36 y los indicadores de flexibilidad metabólica durante el ejercicio aeróbico y durante la respuesta postprandial a dos alimentos altos en lípidos.

4.2 Establecer la relación entre el porcentaje de grasa, el fenotipo dietario y la flexibilidad metabólica en respuesta al ejercicio en hombres con el SNP rs1527479 de la proteína FAT/CD36.

4.3 Analizar la respuesta metabólica de dos tipos de alimentos (alto en lípidos vs alto en carbohidratos) posterior a la realización de un ejercicio aeróbico y su asociación con el SNP rs1527479 de la proteína FAT/CD36 en hombres adultos.

## **5. MATERIALES Y MÉTODOS**

En los siguientes apartados se muestra la metodología que seguida dentro de este proyecto de investigación.

### **5.1 Diseño del estudio**

Este proyecto de investigación es transversal observacional con un diseño aleatorizado cruzado en ciego.

### **5.2 Población de estudio**

El presente estudio se encuentra enfocado en la población de hombres adultos mexicanos sedentarios con obesidad y normopeso.

### **5.3 Muestra de estudio**

Se estudió a una muestra de **7** hombres adultos sedentarios que se encuentran dentro de la categoría de **sobrepeso comprobado por medio del porcentaje de grasa**, de los cuales el **50%** **contaran** con el alelo silvestre y el otro **50%** **contaran** con el alelo mutante (SNP rs1527479) de la proteína FAT/CD36. A su vez, se cuenta con una muestra de **3** hombres adultos sedentarios que se encuentran dentro de la categoría de **normopeso comprobado por medio del porcentaje de grasa**, de los cuales **50%** **contaran** con el alelo silvestre y **50%** con **contaran** con el alelo mutante (SNP rs1527479) de la proteína FAT/CD36.

### **5.4 Consideraciones éticas**

Todos los experimentos se condujeron acorde a la declaración de Helsinki y la norma oficial mexicana NOM-012-SSA3-2012, que establecen los criterios para la realización de estudios de investigación para la salud en seres humanos y la autorización del Comité en Ética en la investigación perteneciente a la UACJ.

## 5.5 Criterios de inclusión

Los candidatos fueron seleccionados como sujetos de estudio al contar con características que cumplen con cada uno de los siguientes criterios:

**Edad:** Contar con una edad mayor a 18 años y menor a 35 años.

**Genotipo:** Contar con el alelo silvestre o el alelo mutante (SNP rs1527479) de la proteína FAT/CD36).

**Índice de masa corporal (IMC):** Para el grupo de obesidad en un rango de más de 30 Kg/m<sup>2</sup>, mientras que para el grupo de normopeso fue un rango de 18.5 a 25 Kg/m<sup>2</sup>.

**Porcentaje de masa grasa (%MG):** En un rango mayor de 24% para el grupo de obesidad, mientras que para el grupo normopeso fue un rango de 18 a 24%.

**Frecuencia cardiaca en reposo (FCR):** Menor a 90 lat/min.

**Presión sanguínea en reposo (PS):** Menor a 120/80 mmHg.

**Glucosa en ayuno (Glucb):** En un rango de 70 a 110 mg/dL.

**Historia clínica:** Libre de enfermedades metabólicas, fisiológicas o lesiones físicas.

## 5.6 Criterios de exclusión

No cumplir con el 100% de las evaluaciones del presente protocolo.

## 5.7 Estructura de los alimentos

Se emplearon **cuatro alimentos** en presentación de batidos para favorecer una rápida absorción a nivel intestinal que permitiera apreciar cambios en la tasa

metabólica en el menor tiempo posible. Los batidos consumidos por el grupo de obesidad fueron:

1. Rico en lípidos mientras que el otro fue rico en carbohidratos.
2. El grupo de normopeso consumió:
3. un batido rico en ácidos grasos de cadena media,
4. mientras que el otro batido fue rico en ácidos grasos de cadena larga.

Ambos batidos fueron isocalóricos y siendo diseñados para proveer el 25% del gasto energético de 24 h. La estimación del gasto energético total se realizó con los datos obtenidos a partir de una medición inicial de tasa metabólica basal y el uso de la ecuación de Harris-Benedict para la estimación del gasto energético total. Además de que ambos contaron con la misma proporción de energía aportada por los macronutrientes (70% LIP, 15% PROT, 15% CHO).

En las siguientes tablas se enlistan los ingredientes que conformaron a ambos batidos:

Tabla 1. Ingredientes de los batidos consumidos por el grupo de obesidad.

<b>Ingredientes</b>	
<b>Alimento alto en lípidos</b>	<b>Alimento alto en carbohidratos</b>
Leche light (1%)	Leche light (1%)
Plátano	Manzana
Proteína en polvo	Avena integral y sémola de trigo

Aceite de coco 100% puro	Aceite de coco 100% puro
--------------------------	--------------------------

Tabla 2. Ingredientes de los batidos consumidos por el grupo de normopeso.

<b>Ingredientes</b>	
<b>Alimento alto en lípidos de cadena media</b>	<b>Alimento alto en lípidos de cadena larga</b>
Leche light (1%)	Leche light (1%)
Plátano	Crema de cacahuete
Proteína en polvo	Proteína en polvo
Aceite de coco 100% puro	Aceite de coco 100% puro

Para asegurar que ambos batidos contaron con la estructura previamente descrita se tomaron como referencia los resultados de los análisis proximales realizados en 2019, el cual siguió los métodos propuestos por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) a dos de los ingredientes (Leche y aceite de coco). Mientras que para el tercer alimento (crema de cacahuete) **serán** realizados los análisis proximales siguiendo los métodos propuestos por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) y para el cuarto y quinto ingredientes (plátano, aislado de proteína del suero de leche) se utilizaron los valores encontrados en la base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) como parte del presente proyecto.

## **5.8 Procedimiento con los sujetos**

El trabajo dentro del laboratorio con los sujetos de estudio fue dividido en 5 sesiones por sujeto. A continuación se describe lo pertinente a cada sesión:

#### **5.8.1 Sesión 1: Llenado de documentos y composición corporal.**

Se realizó el llenado de formatos (Historia clínica, Cuestionario Internacional de Actividad Física y registros de ingesta de alimentos), medición del IMC, FCR, PS y Glucb. Una vez confirmado que los candidatos cumplen con lo estipulado dentro de los criterios de inclusión y se procedió a firmar la carta de consentimiento informado.

#### **5.8.2 Sesión 2. Composición corporal y tasa metabólica en reposo.**

El sujeto de estudio llegó al laboratorio en condiciones de ayuno (10 horas máximo) y se le midió su composición corporal por medio de pletismografía de desplazamiento del aire (utilizando el analizador BODPOD) y su tasa metabólica en reposo por medio de calorimetría indirecta. Además se tomó una muestra de sangre venosa para la posterior genotipificación.

#### **5.8.3 Sesión 4. Prueba FAT<sub>MAX</sub> y de esfuerzo.**

Los sujetos de estudio llegaron al laboratorio con un ayuno no mayor a 10 horas, habiendo consumido con anticipación una cena equilibrada en macronutrientes diseñada para cubrir el 30% del requerimiento energético diario. Los porcentajes aportados por cada macronutriente al valor calórico total fueron: Carbohidratos: 50%, Lípidos: 20%, Proteínas: 30%. Se utilizó el valor obtenido en la medición de la tasa metabólica en reposo como parte de la fórmula de Harris-Benedict para la obtención del gasto energético total.

- **Prueba de máxima oxidación de grasas (FatMax):** Se colocó el pulsímetro (POLAR T61- CODED) y la mascarilla del calorímetro. Se llevó a cabo una primera punción capilar para obtener una muestra de sangre que permitió la

medición de los niveles de lactato en estado basal (Nova biomedical- LACTATE PLUS). Una vez registrado este valor se hizo una medición de 15 minutos de la tasa metabólica basal. Contando con el registro de los datos basales (frecuencia cardiaca, lactato en sangre y tasa metabólica basal) y el sujeto posicionado en la banda sin fin (Quinton Q-streets TM-55) se llevó a cabo el trabajo en banda sin fin, el cual se encuentra dividido en etapas con una duración de tres minutos cada una. Comenzando con una velocidad de 1.9 mill/ h, incrementando 0.6 mill/ h cada tres minutos, donde el porcentaje de inclinación se mantendrá estable a lo largo de la prueba. Antes del término de cada una de las etapas se tomaron nota de los valores dados para la frecuencia cardiaca, la escala de percepción del esfuerzo de Borg y los niveles de lactato en sangre. Dando por terminada la prueba al momento en el que los sujetos llegaron a un RQ de 1.00.

- **Prueba de esfuerzo (VO2 max):** Se implementó de manera inmediata al término de la prueba del FatMax (sin detener el calorímetro y la banda sin fin). Al aumentar la velocidad en cada etapa también se aumentó en 1% la inclinación. La prueba terminó en el momento en que los sujetos indicaron mediante la escala de Borg que alcanzaron su máximo esfuerzo o cuando mostraron indicios de no poder continuar, para lo cual se disminuyó la velocidad e inclinación a valores que les permitan estabilizar su frecuencia cardiaca. Con los datos arrojados, se desarrolló de manera individualizada una sesión de 60 minutos en banda sin fin.

#### **5.8.4 Sesión 4. Consumo del primer alimento.**

Se midió la tasa metabólica del sujeto de estudio en estado preprandrial durante 15 minutos, se elaboró y consumió uno de los alimentos (el orden de consumo fue aleatorizado) y se realizó la medición de la tasa metabólica durante el periodo postprandial (los últimos 15 minutos de cada hora durante 4 horas).

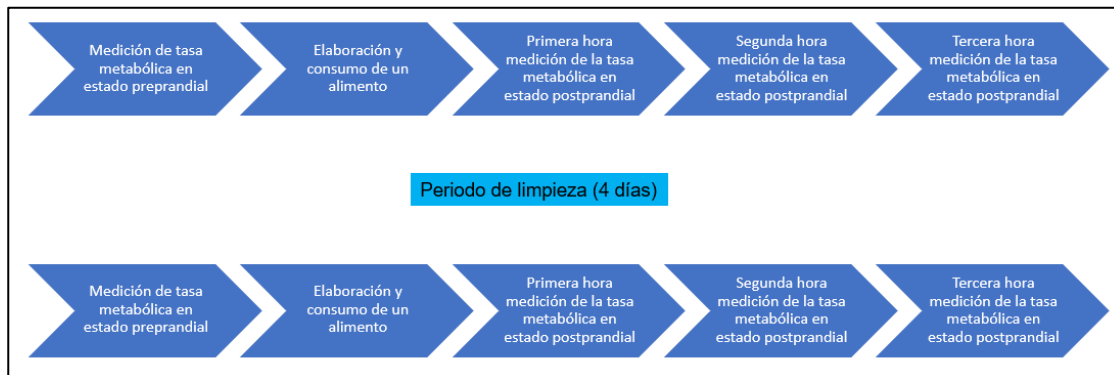
#### **5.8.4 Sesión 5. Consumo del segundo alimento.**



Se midió la tasa metabólica del sujeto de estudio en estado preprandial durante 15 minutos posterior a una hora de realización de ejercicio al  $FAT_{max}$  y una hora de reposo, una vez hecho esto se elaboró y consumió el otro alimento y se realizó la medición de la tasa metabólica durante el periodo postprandial (los últimos 15 minutos de cada hora durante 3 horas).

Para garantizar que la metodología realizada en la sesión 3 no influirá en los datos obtenidos en la sesión 4 estas estuvieron separadas por un periodo de limpieza de al menos 4 días. En la figura 1 se observa el procedimiento seguido durante estas dos sesiones.

**Figura 1.** Procedimiento seguido durante las sesiones 3 y 4.



## 5.9. Análisis estadísticos

Los datos recopilados s analizados utilizando el paquete estadístico SPSS versión 25 para Windows con una confiabilidad del 95% ( $p < 0.5$ ), siendo expresados como media  $\pm$  desviación estándar.

Cuando los datos presenten una distribución normal se utilizará la prueba T de student para analizar la diferencia entre los grupos de datos por tipo de alelo presentado y por tipo de alimento consumido. Además de una prueba de

correlación bivariada y una prueba ANOVA de dos vías para variables independientes, en la cual se considerarán como variables dependientes a los datos obtenidos de máxima tasa de oxidación de lípidos, glucosa y lípidos; las variables independientes serán los tipos de alelos y tipos de alimentos; y como covariables se considerará al %MG, umbral de lactato y  $VO_{2max}$  alcanzados en la prueba de esfuerzo.

## 6. Resultados preliminares

Como resultados preliminares obtenidos para cubrir lo estipulado en el objetivo del presente proyecto se encontró lo siguiente:

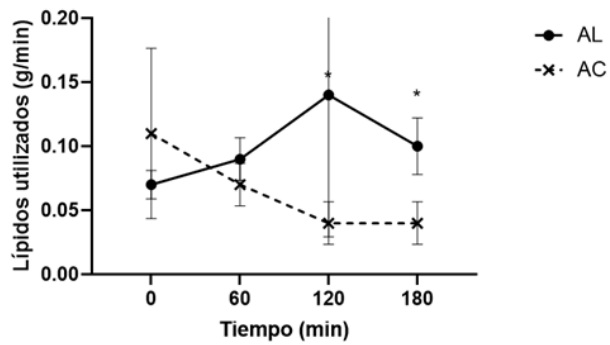
**Tabla 1. Características de los participantes.**

Características (n=15)	
Edad (años)	26.4 ± 6.9
Peso (Kg)	98.0 ± 13.5
Estatura (m)	1.7 ± 0.07
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	32.4 ± 4.4
Masa grasa (Kg)	35.4 ± 10.4
Masa grasa (%)	35.7 ± 7.4
IMG (MG/m <sup>2</sup> )	11.8 ± 3.7
Masa libre de grasa (kg)	62.5 ± 8.3
Masa libre de grasa (%)	64.2 ± 7.4
Energía (kJ)	9383 ± 3314
Carbohidratos (%)	50 ± 10
Lípidos (%)	30 ± 9

Proteína (%)

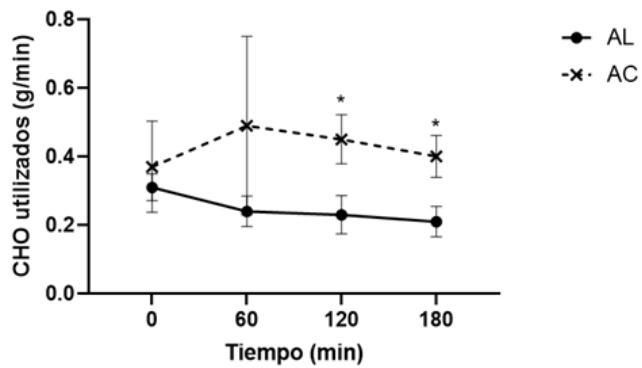
20 ± 5

Figura 2. Cinética: oxidación de lípidos.



n=15, AL: Alimento alto en lípidos, AC: Alimento alto en carbohidratos.

Figura 3. Cinética: oxidación de carbohidratos



n=15, AL: Alimento alto en lípidos, AC: Alimento alto en carbohidratos.

**Tabla 2. Correlación bivariada entre las variables de composición corporal, de la condición física y la oxidación de macronutrientes.**

	Área bajo la curva (AC)	IMC	Masa grasa (%)	Vo <sub>2</sub> al LT	VO <sub>2max</sub>
Área bajo la curva (AL)	0.504	0.243	0.539	-0.374	-0.401
Área bajo la curva (AC)		0.245	0.391	0.107	-0.166
IMC			0.769	-0.458	-0.855
Masa grasa (%)				-0.490	-0.729
Vo <sub>2</sub> al LT					0.619

**Tabla 3. Correlación bivariada entre las variables de la actividad física y la oxidación de macronutrientes tras el consumo de los alimentos.**

	Área bajo la curva (TFO)	Área bajo la curva (AL)	Área bajo la curva (AC)
RER <sub>peak</sub>	-0.135	-0.152	0.171
Área bajo la curva (TFO)		0.575	0.395
Área bajo la curva (AL)			0.504

El resto de los análisis de datos obtenidos, así como la discusión y conclusión de este proyecto se llevará a cabo durante el mes de junio y Julio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Badui, S. (2013). *Química de los alimentos*. 5ª edición. México: Pearson Educación.
- Battaglia, G. M., Zheng, D., Hickner, R. C., & Houmard, J. A. (2012). Effect of exercise training on metabolic flexibility in response to a high-fat diet in obese individuals. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 303(12), E1440-E1445.
- Cabezas-Zábala, C.; Hernández-Torres, B. y Vargas-Zárate, M .2016. Aceites y grasas: efectos en la salud y regulación mundial. *Rev. Fac. Med.* 64 (4). 761-768.
- Caicedo, L.; Velásquez, K. y Franco, A. 2019. La nutrigenética y su importancia en la nutrición personal. 3(4). 93-114.
- Cameron-Smith, D.; Burke, L.; Angus, D.; Tunstall, R.; Cox, J.; Bonen, A. ... Hargreaves, M. 2003. A short-term, high-fat diet up-regulates lipid metabolism and gene expression in human skeletal muscle. *American Journal of Clinical Nutrition*. 77 (2). 313-318.
- Corpeleijn, E.; Saris, W.; Blaak, E. 2009. Metabolic flexibility in the development of insulin resistance and type 2 diabetes: effects of lifestyle. *Obes Rev.* 10(2). 178-193.
- Corpeleijn, E.; Van der Kallen, C.; Kruijshoop, M.; Magagnin, M.; De Bruin, T.; Feskens, E. ... Blaak, E. 2006. Direct association of a promoter polymorphism in the CD36/FAT fatty acid transporter gene with Type 2 diabetes mellitus and insulin resistance. *Diabet Med.* 23(8). 907-11.
- Delsoglio, M., Achamrah, N., Berger, M. M., & Pichard, C. (2019). Indirect

- calorimetry in clinical practice. *Journal of clinical medicine*, 8(9), 1387.
- Frayn, K. N. (1983). Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *Journal of applied physiology*, 55(2), 628-634.
- Ganong, W. F., Barrett, K. E., Barman, S. M., Boitano, S., & Brooks, H. L. (2010). *Ganong*. McGraw-Hill Interamericana Editores.
- Gautam, S., Pirabu, L., Agrawal, C. G., & Banerjee, M. (2013). CD36 gene variants and their association with type 2 diabetes in an Indian population. *Diabetes technology & therapeutics*, 15(8), 680-687.
- Glatz, J. F., Nabben, M., Heather, L. C., Bonen, A., & Luiken, J. J. (2016). Regulation of the subcellular trafficking of CD36, a major determinant of cardiac fatty acid utilization. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1861(10), 1461-1471.
- Glatz, J. y Luiken, J. (2018). Dynamic role of the transmembrane glycoprotein CD36 (SR-B2) in cellular fatty acid uptake and utilization. 59. 1084-1093.
- Goodman, B. E. (2010). Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Advances in physiology education*, 34(2), 44-53.
- Goodpaster, H. y Sparks, M. 2017. Metabolic flexibility in health and disease. *Cell Metab.* 25(5):1027-1036.
- Hao, J. W., Wang, J., Guo, H., Zhao, Y. Y., Sun, H. H., Li, Y. F., ... & Zhao, T. J. (2020). CD36 facilitates fatty acid uptake by dynamic palmitoylation-regulated endocytosis. *Nature communications*, 11(1), 1-16.
- Hernández-Corona, D. M., Ángel-González, M., Vázquez-Colunga, J. C., Berenice Lima-Colunga, A., Vázquez-Juárez, C. L., & Colunga-Rodríguez, C. (2021). hábitos de alimentación asociados a sobrepeso y obesidad en



adultos mexicanos: una revisión integrativa. *Ciencia y enfermería*, 27.

Houten, S. M., & Wanders, R. J. (2010). A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. *Journal of inherited metabolic disease*, 33(5), 469-477.

Jayewardene, A. F., Mavros, Y., Gwinn, T., Hancock, D. P., & Rooney, K. B. (2016). Associations between CD36 gene polymorphisms and metabolic response to a short-term endurance-training program in a young-adult population. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(2), 157-167.

Large, V., Peroni, O., Letexier, D., Ray, H., & Beylot, M. (2004). Metabolism of lipids in human white adipocyte. *Diabetes & metabolism*, 30(4), 294-309.

Lundsgaard, A. M., Fritzen, A. M., & Kiens, B. (2018). Molecular regulation of fatty acid oxidation in skeletal muscle during aerobic exercise. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 29(1), 18-30.

Nicolalde, M., Álvarez, L., Fonseca, D., Guevara, M., Poveda, C., Heredia, S., & Peralta, L. (2019). Comparación de la estimación del gasto energético en reposo por ecuación de predicción y calorimetría indirecta en población adulta. *La Ciencia al Servicio de la Salud*, 10(Ed. Esp.), 142-148.

Norma Oficial Mexicana NOM-030-SSA2-2009, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica. México, 31 de mayo del 2010.

Pietka, T.; Schappe, T.; Conte, C.; Fabbrini, E.; Patterson, B.; Klein, S. ... LoveGregory, L. 2014. Adipose and muscle tissue profile of CD36 transcripts in obese subjects highlights the role of CD36 in fatty acid homeostasis and insulin resistance. *Diabetes Care*. 37 (7). 1990-1997.

- Salinas, M. (2017). Identificación de SNPs implicados en la diferente respuesta a componentes de la dieta y asociación con enfermedades relacionadas con la alimentación: Estudios nutrigenéticos. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Madrid.
- Shamah-Levy, T.; Cuevas-Nasu, L.; Gaona-Pineda, E. B.; Gómez-Acosta, L. M.; Morales-Ruán, M. D. C.; Hernández-Ávila, M.; y Rivera-Dommarco, J. Á. 2018. Sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes en México, actualización de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. *Salud Pública de México*. 60(3). 244-253.
- Smith, R.; Soeters, M.; Wüst, R.; y Houtkooper, R. 2018. Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. *Endocr Rev*. 39(4). 489–517.
- Palmer, B. F., & Clegg, D. J. (2022, March). Metabolic Flexibility and Its Impact on Health Outcomes. In *Mayo Clinic Proceedings*. Elsevier.
- Rač, M. E., Safranow, K., & Poncyljusz, W. (2007). Molecular basis of human CD36 gene mutations. *Molecular Medicine*, 13(5), 288-296.
- Ramírez-Bello, J.; Vargas-Alarcón, G.; Tovilla-Zárate, C. y Fragoso, J. 2013. Polimorfismos de un solo nucleótido (SNP): Implicaciones funcionales de los SNP reguladores (rSNP) y de los SNP-ARN estructurales (srSNP) en enfermedades complejas. *Gaceta Medica de México*. 149 (2). 220-228.
- Talanian, J. L., Galloway, S. D., Heigenhauser, G. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2007). Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *Journal of applied physiology*.
- Organización Mundial de la Salud. *10 datos sobre la obesidad*. Recuperado de:

<https://www.who.int/features/factfiles/obesity/facts/es/>

Vasudeban, Dm.; Sdreekumari. S y Kannan, V. (2011). *Texto de bioquímica*. 6ª edición. Panamá: Editorial Cuéllar Ayala.

## **ANEXOS**

### **Anexo 1: Carta de consentimiento informado**

A través de este documento se le informa que:

Se le está invitando a participar en el proyecto de investigación “Efecto agudo de dos alimentos ricos en lípidos sobre la flexibilidad metabólica en sujetos con el SNP rs1527479 de la proteína FAT/CD36” que tiene como objetivo evaluar la interacción entre el polimorfismo rs1527479 de la proteína FAT/CD36 y el metabolismo de lípidos en hombres adultos. Este proyecto se enfoca en comprender la interacción entre una variación genética específica y el metabolismo de las grasas consumidas en la dieta.

El estudio presenta el beneficio de darle a usted una noción del estado de salud desde el punto de vista nutricional. Los investigadores se comprometen a entregar y explicar a los participantes información actualizada obtenida de los estudios, sin que para usted signifique gasto económico alguno.

Su participación consiste en acudir en cuatro ocasiones al Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la UACJ (edificio Z-104), con ropa deportiva y en estado de ayuno de 8 a 10 h. En dicho lugar permanecerá entre dos a cuatro horas para cada sesión y se le realizará los siguientes estudios y mediciones:

Primera sesión: tiempo aproximado 2 h.

- 1) Llenado del Cuestionario Internacional de Actividad Física
- 2) Llenado del registro de alimentos
- 3) Llenado del formato de historia clínica
- 4) Medición del peso y estatura

- 5) Registro de la frecuencia cardiaca y presión sanguínea en reposo
- 6) Recolección de una muestra de sangre capilar para la medición de la glucosa en ayuno.
- 7) Recolección de una muestra de sangre venosa para genotipificación.

Segunda sesión: tiempo aproximado 2 h.

- 1) Medición del porcentaje de grasa corporal por pletismografía de desplazamiento de aire.
- 2) Medición de la tasa metabólica en reposo por calorimetría indirecta.

Tercera y cuarta sesiones: tiempo aproximado 3-4 h.

Durante estas sesiones consumiré dos alimentos en forma de batido, a cuya formulación se garantiza su seguridad para que las personas la consuman sin perjudicar su salud. El orden de consumo de ambos batidos será aleatorizado:

Aclaraciones:

Para estandarizar los resultados perseguidos en el estudio, la noche anterior a las sesiones tres y cuatro deberá consumir en su casa la dieta que el personal de nutrición le recomiende.

Riesgos que se pueden derivar de los procedimientos: náuseas al momento de consumir los alimentos, sin embargo, en caso de que así sea se suspenderá la sesión para garantizar su bienestar.

Se me ha explicado que mi participación es libre y voluntaria y que puedo abandonar el estudio en el momento que lo desee sin que esto afecte mi relación con las personas a cargo de esta investigación. Se me ha garantizado que mis

datos personales serán confidenciales y solo se harán públicos los resultados que se obtengan sin relacionarme a ellos, teniendo derecho a solicitar que se mantengan en completo anonimato todos los registros que pudieran considerarse particularmente delicados (como fotografías, cintas de video o de audio). Todo lo anterior acorde a la ley de transparencia y protección de datos personales de sujetos obligados y derivados de la participación en estudios de investigación.

Declaro que todo lo que se ha mencionado en este documento me fue explicado verbalmente.

Con fecha \_\_\_\_\_ y, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi participación, acepto participar en el estudio antes mencionado.

\_\_\_\_\_

Nombre, firma y/o huella digital del/la participante

\_\_\_\_\_

Nombre y firma del testigo: \_\_\_\_\_

Dirección y teléfono: \_\_\_\_\_

Relación que guarda con el participante: \_\_\_\_\_

Este documento se extiende por duplicado, quedando un ejemplar en poder del participante de investigación o de su representante legal, y el otro en poder del investigador. Queda entendido que este documento estará disponible para su consulta y deberá ser conservado por el investigador responsable durante un mínimo de 5 años (NOM-004-SSA3-2012).

Para preguntas o comentarios comunicarse con:

Dr. Arnulfo Ramos Jiménez, responsable del estudio, al teléfono 656 1679309 y/o al correo electrónico [aramos@uacj.mx](mailto:aramos@uacj.mx)

Lic. En Nutrición. Ruth Alejandra Zavala Lira, investigadora, al teléfono 6563178980 y/o al correo electrónico [al199079@alumnos.uacj.mx](mailto:al199079@alumnos.uacj.mx)

**NOTA:** En caso de sentir vulnerados sus derechos, puede comunicarse con la Dra. Gwendolyne Peraza Mercado Presidente del Comité en Ética en la investigación perteneciente a la UACJ, a los correos [gperaza@uacj.mx](mailto:gperaza@uacj.mx)

**Anexo 2: Historia Médica e informe de Lesiones**

Fecha \_\_\_\_\_

Nombre completo \_\_\_\_\_ Sexo: Hombre    Mujer

Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento \_\_\_\_\_

Dirección

Calle y Número: \_\_\_\_\_

Código Postal \_\_\_\_\_ Colonia \_\_\_\_ \_\_\_\_

Ciudad \_\_\_\_\_ Estado \_\_\_\_\_

Teléfono particular (    ) \_\_\_\_\_

Teléfono de trabajo (    ) \_\_\_\_\_ ext \_\_\_\_\_

Teléfono celular \_\_\_\_\_

Servicio Médico con el que cuenta:

IMSS    ISSSTE    Pensiones    Otro \_\_\_\_\_

Número o clave del servicio médico: \_\_\_\_\_

Fecha del último examen médico:

DD MM AA

Fecha del último examen dental:

DD MM AA

Alergias: \_\_\_\_\_

Medicamentos                    que                    está                    tomando                    actualmente:  
\_\_\_\_\_

En caso de urgencia notificar a:	
Nombre	



Dirección	
Teléfono (s)	
Parentesco	

**Historia familiar**

Por favor, identifique cualquier problema de salud que haya ocurrido en su familia (padres, abuelos o hermanos consanguíneos).

	si	no	quién		si	no	quién
Alguien menor a 50 años ha muerto súbitamente				Alergias o asma			
Alta presión arterial				Anemias			
Problemas de corazón				Diabetes			
Cáncer o tumores				Epilepsia			
Migrañas				Desórdenes de riñón y vejiga			
Problemas emocionales				Desórdenes de estómago			
				Alteraciones genéticas			
Número de hermanos y hermanas							

**Historia personal**

Ha tenido o tiene alguno de los siguientes problemas de salud		
si	no	Dificultades con sus ojos o con la visión
si	no	Dificultades con su nariz o garganta
si	no	Problemas con sus oídos
si	no	Dolor de cabeza, mareos, debilidad, fatiga o problemas de coordinación o equilibrio (subraye cuáles)
si	no	Adormecimiento en cualquier parte de su cuerpo

si	no	Peligro de conmoción (pérdida de conocimiento) o algo de temblor de alguna parte de su cuerpo
si	no	Tos, dificultad de respirar, dolor en el pecho o palpitaciones
si	no	Poco apetito, vómito, dolor abdominal, estreñimiento (subraye)
si	no	Rigidez muscular, hinchamiento, dolor de músculos y /o huesos (subraye cuáles)
si	no	Algún problema de la piel como dolor, comezón, enrojecimiento o sensación de calor, etc.
si	no	¿Algún otro síntoma?

Ha tenido o le han dicho que ha tenido o consultado con un médico por alguno de los siguientes padecimientos:		
si	no	Diabetes, bocio (hipo o hipertiroidismo) o alguna enfermedad de alguna glándula endocrina
si	no	Epilepsia
si	no	Desordenes nerviosos o cualquier enfermedad del cerebro o sistema nervioso
si	no	Problemas del corazón o fiebre reumática
si	no	Venas varicosas, flebitis o hemorroides
si	no	Alguna enfermedad de la sangre, formación fácil de moretones o tendencia de sangrado
si	no	Tuberculosis, asma o cualquier enfermedad de los pulmones o alteraciones del Sist. Respiratorio
si	no	Úlceras o cualquier enfermedad del estómago, intestino hígado o vesícula biliar
si	no	Orina con azúcar, sangre o albúmina o cualquier enfermedad de los riñones u órganos genitourinario
si	no	Artritis, reumatismo, o algún lesión o enfermedad en los huesos, articulaciones, espina dorsal o espalda
si	no	Hernia o cualquier enfermedad de los músculos o la piel
si	no	Cáncer, tumor o cualquier crecimiento en el cuerpo
si	no	Alguna lesión en la cabeza que le ha ocasionado un mareo severo, pérdida de la memoria, vómito, pérdida de la conciencia o requerido atención médica o hospitalización.
si	no	Problemas con deshidratación (pérdida excesiva de agua y/o sales).

si	no	Alguna vez ha tenido problemas de regulación de su temperatura (incremento súbito y sin causa aparente de la temperatura de su cuerpo arriba de 40.5 °C.
		En caso de que si ¿fue hospitalizado?
si	no	Algún otro desorden de control de la temperatura. Especifique
si	no	Ha estado hospitalizado para ser observado o recibir tratamiento de alguna enfermedad. Anemia
si	no	¿Ha cambiado su peso en el último año? Perdido_____kg. Ganado _____ kg.
si	no	¿Qué explicación le da a este cambio de peso? _____Falta de ejercicio_____
si	no	¿Está últimamente más sediento que anteriormente?
si	no	¿Estas actualmente en un programa de pérdida de peso?
		Si tu respuesta es si. ¿Cuál es tu esquema? Dieta____ Ejercicio_____ Ambos_____

Drogas, complementos alimenticios y agentes varios.		
si	no	¿Está tomando algún medicamento?
si	no	¿Está tomando alguna vitamina?
si	no	¿Está tomando algún estimulante (anfetamina, benzadina, otros)?
si	no	¿Está tomando algún agente anabólico (medicamento o suplemento estimulador del crecimiento)
si	no	¿Está tomando pastillas para dormir?
si	no	¿Está tomando algún otro medicamento que se lo haya indicado un médico? ¿Cuál(es)?
si	no	¿Está tomando algún medicamento no indicado por ningún médico? ¿Cuál(es)?
si	no	¿Fuma?

si	no	¿Toma? Si su respuesta es sí ¿Cuánto por semana?
si	no	Alguna vez algún médico le ha dicho que no practique algún(os) deporte(s) por algún período de tiempo. Si su respuesta es sí.  ¿Cuál(es) deporte(s)?  ¿Cuánto tiempo?
si	no	¿Usa lentes de contacto cuando practica deporte?

Traumas y lesiones corporales		
si	No	¿Se ha lesionado, alguna vez, sus hombros, brazos, codos, o muñecas?
		¿Si su respuesta es si, la lesión lo incapacito por 1 semana o más?
si	no	¿Se ha lesionado, alguna vez, la cabeza, la columna a nivel cervical, torácico o lumbar o en la región sacro-ilíaca?
si	no	¿Tiene algún dolor en su espalda?
si	no	Si su respuesta es sí. ¿Con que frecuencia?  a) rara vez b) ocasionalmente c) frecuentemente d) solo después de ejercicio vigoroso.
si	no	¿Se ha lesionado, alguna vez, su cadera, rodilla, tobillo o pie?
		Si su respuesta fue sí, ¿lo incapacitó por una semana o más?
si	no	¿Se ha lesionado, alguna vez, los cartílagos (meniscos) de alguna articulación?
si	no	¿Ha tenido alguna vez problemas con su rótula (condromalasia o dislocación, etc.)?
si	no	¿Le han dicho alguna vez que los ligamentos de sus rodillas se han dislocado?
si	no	¿Le han dicho alguna vez que le truena la rodilla?
si	no	¿Tiene un perno, clavo o placa en su cuerpo como resultado de alguna intervención quirúrgica para unir 2 huesos?
si	no	¿Ha tenido alguna fractura en los últimos 2 años? Si su respuesta es sí, especifica donde y cuando.

si	no	¿Ha sido sometido a alguna intervención quirúrgica? Si su respuesta es sí, especifique por qué y cuándo. Anginas (5 años), Fractura de muñeca

Carta Médica: Resumen cronológico de las enfermedades y lesiones contestadas con un SI		
Fecha	Nombre del Médico y dirección que lo atendió (consultorio, hospital, etc.)	Naturaleza de la enfermedad o lesión

NOMBRE Y FIRMA DEL PARTICIPANTE

---

### Anexo 3: Cuestionario Internacional de Actividad física

#### Formato del IPAQ

<b>Fecha del estudio:</b>			
Nombre:		Fecha de nacimiento:	
Talla (m):	Peso (kg):	IMC:	C. cintura (cm):  C.CADERA:

USA Spanish version translated 3/2003 - SHORT LAST 7 DAYS SELF-ADMINISTERED version of the IPAQ. Traducido al español por Ramos-Jiménez Arnulfo y Hernández Torres Rosa Patricia.

Estamos interesados en saber acerca de la clase de actividad física que la gente hace como parte de su vida diaria. Las preguntas se referirán acerca del tiempo que usted utilizó siendo físicamente activo(a) en los **últimos 7 días**. Por favor responda cada pregunta aún si usted no se considera una persona activa.

Por favor piense en aquellas actividades que usted hace como parte del trabajo, en el jardín y en la casa, para ir de un sitio a otro, y en su tiempo libre de descanso, ejercicio o deporte. Piense acerca de todas aquellas actividades **vigorosas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **vigorosas** son las que requieren un esfuerzo físico fuerte y le hacen respirar mucho más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos

10 minutos continuos.

1. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días realizó usted actividades físicas **vigorosas** como levantar objetos pesados, excavar, aeróbicos, o pedalear rápido en bicicleta?

\_\_\_\_\_ **días por semana** Ninguna actividad física vigorosa **Pase a la pregunta 3**

2. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le tomó realizar actividades físicas **vigorosas** en uno de esos días que las realizó?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día **No sabe/No está seguro(a)**

Piense acerca de todas aquellas actividades **moderadas** que usted realizo en los **últimos 7 días** Actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado y le hace respirar algo más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

3. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como cargar objetos livianos, pedalear en bicicleta a paso regular, o jugar dobles de tenis? No incluya caminatas.

\_\_\_\_\_ **días por semana** Ninguna actividad física moderada **Pase a la pregunta 5**

4. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas**?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día                      **No      sabe/No      está**  
**seguro(a)**

Piense acerca del tiempo que usted dedicó a caminar en los **últimos 7 días**. Esto incluye trabajo en la casa, caminatas para ir de un sitio a otro, o cualquier otra caminata que usted hizo únicamente por recreación, deporte, ejercicio, o placer.

5. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días caminó usted por al menos 10 minutos continuos?

\_\_\_\_\_ días por semana                      No caminó ***Pase a la pregunta 7***

6. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando**?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día                      **No      sabe/No      está**  
**seguro(a)**

La última pregunta se refiere al tiempo que usted permaneció **sentado(a)** en la semana en los **últimos 7 días**. Incluya el tiempo sentado(a) en el trabajo, la casa, estudiando, y en su tiempo libre. Esto puede incluir tiempo sentado(a) en un escritorio, visitando amigos(as), leyendo o permanecer sentado(a) o acostado(a) mirando televisión.



7. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo en promedio permaneció **sentado(a)** por día?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día      **No      sabe/No      está**  
**seguro(a)**

### Registro de Ingesta de Alimentos

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Edad (años) \_\_\_\_\_ Peso (kg) \_\_\_\_\_ Estatura (cm) \_\_\_\_\_

Alimentos ingeridos. <sup>1</sup>	Cantidades. <sup>2</sup>	Cómo se preparó. <sup>3</sup>	Eq.
-----------------------------------	--------------------------	-------------------------------	-----

#### Desayuno.<sup>4</sup>

Comida			

#### Cena


#### Colaciones


1. En caso de alimentos comerciales añada la marca comercial, o dónde fueron preparados.
2. Describa las cantidades en tasas, platos, cucharadas, piezas y su tamaño, gramos, mililitros.
3. Mencionar si fue asado, frito, cocido y se le añadieron aderezos o aceites.
4. Registre la hora aproximada cuando se realizó el desayuno la comida y la cena.

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**  
**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**



**EFFECTO AGUDO DEL EJERCICIO FAT<sub>MAX</sub> Y UN ALIMENTO ALTO EN  
GRASAS SOBRE EL METABOLISMO ENERGÉTICO Y LA UTILIZACIÓN DE  
MACRONUTRIENTES EN SUJETOS SEDENTARIOS CON OBESIDAD**

**TESIS**

**Que para obtener el grado de**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**QUÍMICO BIOLÓGICAS**

**Presenta**

**Bbbbb as**

**Director de tesis**

**Dr. Arnulfo Ramos Jiménez**

**Cd. Juárez, Chih., México**

**Mayo 2019**

## **APROBACIÓN DE LA TESIS**

Efecto agudo del ejercicio  $\text{fat}_{\text{max}}$  y un alimento alto en grasas sobre el metabolismo energético y la utilización de macronutrientes en sujetos sedentarios con obesidad, reporte de investigación preparado por Isaac Armando Chávez

Guevara como requisito parcial para obtener el grado de:

### **MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

ha sido aprobado y aceptado por:

---

**Dr. Arnulfo Ramos Jiménez**

DIRECTOR DE TESIS

---

**Dr. José Alberto López Díaz**

ASESOR

---

**Dra. Rosa Patricia Hernández Torres**

ASESOR

---

**Dr. Joaquín Rodrigo García**

ASESOR

---

**Dr. Rene Urquídez Romero**

ASESOR

## **DECLARACIÓN INSTITUCIONAL**

### **EFFECTO AGUDO DEL EJERCICIO $FAT_{MAX}$ Y UN ALIMENTO ALTO EN GRASAS SOBRE EL METABOLISMO ENERGÉTICO Y LA UTILIZACION DE MACRONUTRIENTES EN SUJETOS SEDENTARIOS CON OBESIDAD.**

Se permite el uso académico de información contenida en esta tesis, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente al autor. Para la reproducción parcial o total de este documento con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita de las autoridades que avalan esta tesis.

---

**Dra. Miroslava Quiñones Martínez**

**COORDINADOR DE MAESTRÍA EN CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

---

**Dr. José Alberto López Díaz**

**JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS**

---

**C.D. Salvador David Nava Martínez**

**DIRECTOR DEL INSTITUTO DE CIENCIAS BIOMÉDICAS**

## **DEDICATORIA**

En esta sección es opcional. El autor dedica su esfuerzo y logros a alguien muy especial.

Nota importante: Esta hoja debe ser la ii. Después del título **DEDICATORIA** en mayúsculas, negritas y centrado, debe haber un espacio de 18 puntos.

## **AGRADECIMIENTOS**

En esta sección el autor agradece al asesor, a la universidad, a los maestros, a los compañeros, a la entidad de financiamiento por el apoyo durante la formación académica, o el desarrollo del proyecto de investigación.

Nota importante: Esta hoja debe ser la página iii. Después del título **AGRADECIMIENTOS** en mayúsculas, negritas y centrado, debe haber un espacio de 12 puntos.

## RESUMEN

### EFFECTO AGUDO DEL EJERCICIO FAT<sub>MAX</sub> Y UN ALIMENTO ALTO EN GRASAS SOBRE EL METABOLISMO ENERGETICO Y LA UTILIZACION DE MACRONUTRIENTES EN PERSONAS SEDENTARIAS CON OBESIDAD

Elaborado por: Isaac Armando Chávez Guevara

El ejercicio Fat<sub>max</sub> y el consumo de una dieta alta en grasas han sido propuestos como las mejores herramientas para reducir el peso corporal. No obstante, su efecto no ha sido analizado de manera conjunta y tampoco se han validado protocolos Fat<sub>max</sub> en banda sin fin. 11 hombres sedentarios con obesidad (IMC = 34.18±3.76) participaron en el estudio. La composición corporal fue determinada por pletismografía corporal, la Fat<sub>max</sub> fue determinada a través de un protocolo en banda sin fin de corta duración. La máxima tasa de oxidación de grasas, la utilización de sustratos durante el ejercicio, el efecto del ejercicio y los alimentos se determinó por calorimetría indirecta. El ejercicio Fatmax se realizó en estado de ayuno durante 60 minutos y posterior al ejercicio se consumió de forma aleatoria un alimento alto en grasas (69.27±1.55% LIP) y uno alto en carbohidratos (69.27±0.91% CHO). La máxima tasa de oxidación de grasas fue de 0.25±0.08 g·min<sup>-1</sup>, y esta se presentó al 33±4% del consumo máximo de O<sub>2</sub>, al 57±4% de la frecuencia cardíaca máxima y a una concentración de lactato en sangre ([LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub>) de 1.1±0.4 mM. No existieron diferencias en la máxima tasa de oxidación de grasas alcanzada durante el protocolo y las dos sesiones de ejercicio (p=0.20). La contribución de grasas al gasto energético se incrementó 0.43 Kcal·min durante los últimos 20 minutos de ejercicio (p<0.05) la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> permaneció constante (p=0.79). El ejercicio no incrementó la tasa de oxidación de grasas ni la tasa metabólica durante los 60 minutos post ejercicio. El alimento alto en grasas favoreció una mayor utilización de lípidos que el alimento alto en carbohidratos



( $p < 0.01$ ). Ninguno de los alimentos incremento significativamente la tasa metabólica en reposo.

## CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE CUADROS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>IX</b>
<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>XI</b>
<b>GLOSARIO.....</b>	<b>XVIII</b>
<b>INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>ANTECEDENTES .....</b>	<b>3</b>
TÍTULO DE SEGUNDO ORDEN .....	2
<i>Título de tercer orden.....</i>	2
Título de cuarto orden .....	2
<b>HIPÓTESIS.....</b>	<b>46</b>
<b>OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>46</b>
OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	46
<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
TÍTULO DE SEGUNDO ORDEN .....	4
<i>Título de tercer orden.....</i>	4
Título de cuarto orden .....	4
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>61</b>
TÍTULO DE SEGUNDO ORDEN .....	5
<i>Título de tercer orden.....</i>	5
Título de cuarto orden .....	5
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>87</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>88</b>
<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>107</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Clasificación de la condición física de hombres y mujeres según el porcentaje de masa grasa	3
2	Indicadores antropométricos de obesidad de hombres y mujeres	3
3	Clasificación del grado de obesidad por el IMC según la organización mundial de la salud	4
4	Etapas de la glucólisis	11
5	Promedio de reservas energéticas para un adulto de 65 kg de peso con 12% de masa grasa	16
6	Efecto de la dieta alta en grasas sobre la tasa de oxidación de sustratos energéticos	30
7	Intensidad $Fat_{max}$ en hombres y mujeres con obesidad	35
8	Equivalentes metabólicos para cada tipo de actividad física incluida en el IPAQ	51
9	Clasificación del nivel de actividad física, según el IPAQ	51
10	Composición de macronutrientes de los alimentos a emplearse en el estudio	59
11	Ingredientes integrados en los alimentos empleados en el estudio	59

12	Características físicas y nivel de actividad física	62
13	Características de la dieta	62
14	Intensidad del ejercicio y concentración de $[LA^-]_b$ correspondiente al $Fat_{max}$ , LIAB, ULAB, $D_{max}$ , $Fat_{min}$ y OBLA	64
15	Correlación entre el $VO_{2max}$ y la intensidad de ejercicio al $Fat_{max}$ , $Fat_{min}$ , LIAB, ULAB, $D_{max}$ y OBLA	66
16	Variación de la tasa metabólica, intensidad del ejercicio, frecuencia cardíaca y concentración de $[LA^-]_b$ durante las dos sesiones de ejercicio	68
17	Composición proximal de los alimentos	71
18	Contenido energético, proporción y contenido de macronutrientes en los alimentos	71
19	Tamaño del efecto propiciado por los alimentos sobre la tasa de oxidación de grasas, tasa de oxidación de carbohidratos, $RQ_{np}$ y tasa metabólica en reposos	74

---

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pagina
1	Ciclo de Krebs	13
2	Cadena de transporte de electrones	14
3	Glucogenólisis	16
4	B-Oxidación de ácidos grasos	24
5	Vía de la cetogénesis en el hígado	25
6	Cinética de oxidación de grasas respecto a la intensidad del ejercicio	34
7	Diseño experimental del estudio	48
8	Protocolo empleado durante la cuarta y quinta sesión	49
9	Cinética de la tasa de oxidación de grasas y carbohidratos respecto a la intensidad del $\text{VO}_2\text{max}$ y la FCM	63
10	Tasa de oxidación de grasas y concentración de $[\text{LA}^-]_b$ respecto a la intensidad del $\text{VO}_2\text{max}$	64
11	Correlación entre el $\text{VO}_2$ y la concentración de $[\text{LA}^-]_b$ correspondiente al umbral de $[\text{LA}^-]_b$ determinado por el método ULAB y el método Dmax	65
12	Contribución de lípidos y carbohidratos durante el ejercicio	67

13	Cinética de $[LA^-]_b$ durante la primera y segunda sesión de ejercicio	67
14	Tasa de oxidación de grasas, tasa de oxidación de carbohidratos, tasa metabólica y consumo de oxígeno previo al ejercicio, durante el ejercicio y en el periodo post ejercicio	70
15	Efecto del alimento alto en grasas y el alimento alto en carbohidratos sobre la tasa de oxidación de grasas, la tasa de oxidación de carbohidratos, la tasa metabólica en reposo y el RQnp	73
16	Comparación del gasto energético y oxidación total de sustratos propiciados por el alimento alto en grasas y el alimento alto en carbohidratos durante el periodo post alimento y la totalidad de la sesión	74
17	Balance de sustratos energéticos al finalizar el periodo post alimento y la sesión completa	75
18	Balance energético durante la sesión del alimento alto en grasas y la sesión del alimento alto en carbohidratos	76

---

## ABREVIATURAS

AEC	Alimento alto en carbohidratos
AEG	Alimento alto en grasas
AG	Ácidos grasos
AGCL	Ácidos grasos de cadena larga
AGCM	Ácidos grasos de cadena media
AGL	Ácidos grasos libres
CCI	Coefficiente de correlación intraclase
CHO	Carbohidratos
CPT-1	Carnitina palmitoil transferasa 1
CV	Coefficiente de variación
DAC	Dieta alta en carbohidratos
DAG	Dieta alta en grasas
DE	Desviación estándar
EEM	Error estándar de la media
ETA	Efecto termogénico de los alimentos
FAT/CD36	Translocasa de ácidos grasos CD36
Fat <sub>max</sub>	Intensidad de máxima tasa de oxidación de grasas
Fat <sub>min</sub>	Intensidad de oxidación de grasas nula
FC	Frecuencia cardíaca
FCM	Frecuencia cardíaca máxima
%FCM	Porcentaje de la frecuencia cardíaca máxima

GE	Gasto energético
IC	Ingesta calórica
[LA <sup>-</sup> ] <sub>b</sub>	Concentraciones de lactato en sangre
LIAB	Intensidad a partir de la cual se incrementa la [LA <sup>-</sup> ] <sub>b</sub>
LIP	Lípidos
LPL	Lipoproteína lipasa
LHS	Lipasa sensible a hormonas
IMC	Índice de masa corporal
IMG	Índice de masa grasa
MG	Masa grasa
MLG	Masa libre de grasa
MTOG	Máxima tasa de oxidación de grasas
NAF	Nivel de actividad física
NEFA	Ácidos grasos no esterificados
OBLA	[LA <sup>-</sup> ] <sub>b</sub> de 4 mM
OMS	Organización mundial de la salud
PC	Peso corporal
PDH	Piruvato deshidrogenasa
PER	Percepción del esfuerzo realizado
PKA	Piruvato deshidrogenasa quinasa
PROT	Proteínas
Quilomicrón	Quilomicrón



RER	Relación de intercambio respiratorio
RET	Requerimiento energético total
RQnp	Cociente respiratorio no proteico
TAG	Triacilgliceroles
TM	Tasa metabólica en reposo
TMR	Tasa de oxidación de carbohidratos
TOC	Tasa de oxidación de grasas
TOG	Tasa de oxidación de sustratos energéticos
TOS	Umbral de lactato
UL	$[LA^-]_b$ 0.5 mM, arriba de la concentración basal
ULAB	Producción de dióxido de carbono
VCO <sub>2</sub>	Consumo de oxígeno
VO <sub>2</sub>	Máximo consumo de oxígeno
VO <sub>2</sub> max	Porcentaje del máximo consumo de oxígeno
%VO <sub>2</sub> max	

## GLOSARIO

ULAB	Método que determina el UL ubicando la intensidad a la cual el $[LA^-]_b$ se incrementa 0.5 mM por arriba de las concentraciones basales.
Dmax	Método que determina el umbral de $[LA^-]_b$ al determinar el punto de mayor lejanía entre la curva construida con la cinética de $[LA^-]_b$ .



## INTRODUCCIÓN

La obesidad es una condición física caracterizada por un exceso de masa grasa acumulada en el organismo que conduce al desarrollo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares que afectan la calidad de vida de una persona e incrementan su riesgo de muerte. Esta condición es desarrollada por una predisposición genética, acompañada de un excesivo consumo calórico y un bajo gasto energético. Revertir esta condición requiere una reducción del contenido calórico de la dieta y un aumento de la tasa de oxidación de grasas (TOG), para lo cual es necesario modificar la proporción de macronutrientes en la dieta e incrementar la realización de ejercicio estructurado.

La proporción de macronutrientes en la dieta tiene una influencia directa sobre el metabolismo energético, en especial sobre las calorías gastadas y utilización de sustratos energéticos como fuente de energía, ya que la dieta, mediante señalización hormonal, determina la tasa de oxidación y jerarquía de utilización de los sustratos energéticos en estado de reposo, siendo el macronutriente de mayor proporción consumido en la dieta el que se oxida en mayor cantidad (Schrauwen et al., 1997). Estudios previos han demostrado que el consumo de una dieta isocalórica alta en lípidos (DAL), favorece una mayor reducción de peso corporal (PC), masa grasa (MG) y Triacilgliceroles en sangre (TAG), que el consumo de una dieta alta en carbohidratos (Mansoor et al., 2015; Bueno et al., 2013). Asimismo, se ha observado que el efecto de la DAL es dependiente de su composición de ácidos grasos, ya que el consumo de una DAL con alta proporción de ácidos grasos de cadena media (AGCM) favorece una mayor reducción de las variables mencionadas con anterioridad (Mumme et al., 2015), efecto que se debe

a que los AGCM propician una mayor TOG y una mayor tasa metabólica en reposo (TMR) (St. Onge et al., 2003).

Por su parte, el ejercicio realizado a la intensidad de máxima oxidación de grasas ( $Fat_{max}$ ) ha sido propuesto como la mejor alternativa para las personas con obesidad, ya que este favorece una mayor TOG y una mayor reducción de PC que el ejercicio de alta intensidad (Lazzer et al., 2010a, Lazzer et al., 2011). Sin embargo, el efecto del modo de ejercicio realizado sobre la TOG no se ha estudiado.

Tanto la DAL como el ejercicio  $Fat_{max}$ , han mostrado ser efectivos de forma independiente para el tratamiento de la obesidad, sin embargo, hasta la fecha, no se ha determinado el efecto que estas variables en conjunto propician sobre el metabolismo energético. Por ello, el propósito principal del presente estudio fue determinar el efecto agudo que el ejercicio  $Fat_{max}$  y el consumo de un alimento alto en ácidos grasos de cadena media propician sobre la tasa metabólica y la tasa de oxidación de sustratos energéticos.

## ANTECEDENTES

### Obesidad

La obesidad se define como una condición física donde la proporción de masa grasa excede los niveles normales en el organismo (Cuadro 1), y según los datos reportados en el 2016 por la organización mundial de la salud, más de medio billón de personas adultas padecen de esta condición a nivel global (OMS, 2018).

**Cuadro 1.** Clasificación de la condición física de hombres y mujeres según el porcentaje de masa grasa (Adaptada de Pi-Sunyer, 2000).

	% Masa Grasa		
	Normal	Sobrepeso	Obesidad
Hombres	15-22	>22	>25
Mujeres	18-32	>32	>35

### ***Diagnóstico y clasificación.***

Regularmente, la obesidad es diagnosticada en base a indicadores antropométricos (Cuadro 2), y el grado de obesidad en un individuo se determina según el índice de masa corporal (IMC), que se calcula dividiendo el peso del individuo (kg) entre la talla elevada al cuadrado (m<sup>2</sup>) (Cuadro 3).

**Cuadro 2.** Indicadores antropométricos de obesidad en hombres y mujeres (Datos tomados de Nimptsh, et al., 2019; Peltz et al., 2011).

	Hombres	Mujeres
IMC (kg·m <sup>2</sup> )	>35	>35
Índice de masa Grasa (kg·m <sup>2</sup> )	>6.6	>9.5
Circunferencia de cintura (cm)	>108	>102
Índice de cintura cadera	0.95	0.80

**Cuadro 3.** Clasificación del grado de obesidad por el IMC según la Organización Mundial de la Salud.

Grado de obesidad	IMC (kg·m <sup>2</sup> )
I	30-35
II	35-40
III	>40

***Causas de obesidad.***

La obesidad se desarrolla por la interacción de distintos factores genéticos y ambientales, que contribuyen al desarrollo de un fenotipo obeso que afecta la

calidad de vida e incrementa el riesgo de muerte. Respecto a los factores genéticos, la obesidad se encuentra asociada con mutaciones en receptores celulares, entre ellos, peroxisoma proliferador de activado gamma (PPAR $\gamma$ ) y  $\beta$  adrenérgicos, así como en las concentraciones sanguíneas de grelina y leptina. Las mutaciones en el factor de transcripción PPAR $\gamma$  pueden asociarse a una menor expresión de la carnitina palmitoil transferasa tipo 1 (CPT 1) en el tejido adiposo y muscular (Warfel et al., 2017) que conducen a una menor TOG. Asimismo, la mutación en los receptores  $\beta$ -adrenérgicos disminuye la tasa lipolítica, y con ello la disminución en la TOG en reposo y durante el ejercicio (Morita et al.,2009). Por otro lado, las mutaciones en las hormonas leptina y grelina, propician una mayor sensación de hambre que conduce a una hiperfagia y ganancia de peso corporal (Singh et al., 2016). Aunque el genotipo es un factor determinante en el desarrollo de la obesidad, se ha propuesto que este solo explica entre un 20-40% de las diferencias en peso entre personas con y sin obesidad (Pi-Sunyer,2000), dejando a la dieta y la actividad física como los principales factores que propician la ganancia de PC.

La dieta y la actividad física son los factores ambientales que determinan el balance energético y la oxidación de sustratos en el organismo, influyendo en el mantenimiento, ganancia o pérdida de masa grasa y peso corporal. El balance energético es definido como la relación equilibrada entre la ingesta calórica (IC) y el gasto energético (GE). Cuando la IC equivale al GE, el organismo mantiene su peso corporal. No obstante, cuando la IC supera al GE la oxidación de macronutrientes no iguala a la cantidad consumida en la alimentación diaria y se propicia la expansión de las reservas energéticas (Horton et al., 1995; McDevitt et al., 2000;Schrauwen & Westerterp, 2000), conduciendo a una inadecuada acumulación intracelular de lípidos en distintos órganos, como el hígado, músculos esqueléticos, músculo cardíaco y paredes de vasos sanguíneos, propiciando el desarrollo de enfermedades metabólicas y cardiovasculares como



la diabetes mellitus tipo 2, (Borén et al., 2013) y la aterosclerosis (Lovren et al., 2015).

Estudios realizados en el siglo XX asociaban el incremento en la obesidad con una elevada proporción de lípidos en la dieta, sin embargo, recientemente se ha observado que la prevalencia de obesidad continua en aumento a pesar de la reducción en la grasa dietaria, proponiéndose ahora el alto consumo de carbohidratos como el causante de la obesidad. Según estudios que analizan las diferencias del patrón alimenticio entre las civilizaciones antiguas y las modernas, el aumento en la prevalencia de obesidad coincide con un aumento en el consumo de carbohidratos de alto índice glicémico, principalmente azúcares y harinas refinadas (Westman et al., 2007). Esto se explica mediante el modelo de obesidad insulínica, el cual propone que un elevado consumo de carbohidratos simples conduce al aumento del tejido adiposo mediante la acción anabólica de la insulina, que estimula la síntesis de glucógeno y TAG en el adipocito, reduciendo la disposición de sustratos energéticos para otros tejidos con alta actividad metabólica, lo que conduce a una sensación constante de hambre y con ello un consumo excesivo de energía (Ludwid & Ebbeling, 2018). Además, el mantener altas concentraciones de insulina, contribuye al fenotipo de obesidad, ya que disminuye la liberación y oxidación de la grasa dietaria y de reserva en el organismo (Horowitz et al., 1997).

Así pues, revertir el exceso de masa grasa, requiere el alcance de un balance energético negativo donde la oxidación de sustratos energéticos (principalmente las grasas) supere la cantidad ingerida de los mismos y con ello la pérdida de peso corporal. Para ello, es necesario la modificación de estilos de alimentación y la realización de ejercicio físico.

## **Metabolismo Energético.**

Se conoce por metabolismo energético al conjunto de todas las transformaciones químicas que tienen lugar en una célula u organismo con la finalidad de convertir un precursor (macronutriente) en un producto (energía) mediante reacciones químicas catalizadas enzimáticamente.

El requerimiento energético total (RET) es determinado por la tasa metabólica en reposo (TMR), el efecto termogénico de los alimentos (ETA), la actividad física habitual y el ejercicio realizado. La TMR corresponde a la cantidad de energía requerida por el cuerpo para mantener el estado homeostático en condiciones regulares de reposo. Esta demanda energética depende de distintas variables como la edad, el sexo, peso corporal y la estatura del individuo, las cuales establecerán la cantidad de energía requerida para mantener activos los órganos vitales y sus respectivos procesos. Estudios previos han reportado que la TMR disminuye conforme la edad, reducción que se encuentra asociada al decremento en la masa de distintos órganos con alta actividad metabólica (cerebro, hígado, músculo esquelético y riñones) (St. Onge & Gallagher, 2010). Los hombres tienen una mayor TMR en reposo que las mujeres, independientemente de su composición corporal y estado de acondicionamiento físico (Arciero et al., 1993; Lazzer et al., 2010b), diferencia que se ha relacionado con una menor actividad de la  $Na^+ - K^+$  ATPasa en mujeres (Arciero et al., 1993). El ETA corresponde en promedio al 10% del metabolismo basal. Esta cantidad de energía es utilizada para la digestión y absorción de nutrientes, por ende, es dependiente de la cantidad de kcal ingeridas y la proporción de macronutrientes utilizados (Melzer, 2011)

El RET de un organismo se satisface mediante la ingesta de macronutrientes que al pasar por distintos procesos bioquímicos son transformados en energía.

## **Macronutrientes.**

Los macronutrientes son biomoléculas que aportan energía al organismo e integran gran parte de su estructura a nivel celular según su diferente composición química. Existen 3 tipos de macronutrientes que el ser humano ingiere en su alimentación cotidiana, estos son los carbohidratos (CHO), los lípidos (LIP) y las proteínas (PROT) los cuales se encuentran distribuidos en 4 grupos alimenticios fundamentales: 1) frutas y verduras, 2) alimentos de origen animal, 3) leguminosas y 4) cereales. Cada uno de estos grupos cuenta con una gran diversidad de alimentos cuya distintiva heterogeneidad permite una amplia posibilidad nutritiva.

El aporte energético total de cada macronutriente depende de la cantidad en gramos que se ingiere del mismo. Los CHO y las PROT tienen el mismo aporte energético por cada g (4 kcal), mientras que los LIP aportan más del doble que los mencionados anteriormente (9 kcal) (Tappy, L., 1996).

La utilización de estas biomoléculas como combustible depende de la disposición de macronutrientes en el organismo y de los requerimientos energéticos del individuo, que fluctuarán según su composición corporal y nivel de actividad física.

## **Carbohidratos.**

Los CHO son polihidroxialdehidos o polihidroxicetonas que se componen principalmente por átomos de carbono, hidrógeno, oxígeno y un grupo funcional distintivo (aldehído o cetona) que en conjunto con otras moléculas de igual o distinta estructura integrarán una macromolécula de importante función estructural o metabólica. La unidad más pequeña en que se puede convertir este macronutriente es la D-glucosa, la cual es un monosacárido de 6 átomos de carbono que funge como el combustible o sustrato principal que utilizan la mayoría de los organismos, y es también la unidad estructural básica de los polisacáridos

más abundantes como el almidón. Los CHO más comunes en la dieta del ser humano son los azúcares simples o monosacáridos (glucosa y fructosa), los disacáridos (lactosa y sacarosa) y finalmente los polisacáridos, de los cuales el almidón es el que se encuentra con mayor frecuencia.

### ***Digestión y absorción de carbohidratos.***

La digestión y degradación de estas macromoléculas inicia en la boca con la secreción de la enzima  $\alpha$ -amilasa que rompe los enlaces glucocídicos  $\alpha$  1-4 ubicados en la zona intermedia de la cadena de monosacáridos permitiendo así el paso de estas moléculas hacia el estómago a través del esófago. Una vez en el estómago esta enzima es desactivada por el elevado pH del ambiente estomacal interrumpiendo con ello su efecto sobre estas moléculas. Una vez que los carbohidratos ingresan al intestino delgado el páncreas secreta jugo pancreático a través del esfínter de Oddi y neutraliza el ácido gástrico con su alta concentración de bicarbonato. Consecuentemente la  $\alpha$ -amilasa pancreática alcanza el duodeno intestinal y continua la hidrólisis de las moléculas de di, tri y oligosacáridos (dextrinas) obtenidos tras la degradación inicial en la boca y el estómago hasta reducirlos a monosacáridos simples mediante la acción enzimática de los disacáridos ubicados en la membrana plasmática del tejido epitelial del intestino. Existe una enzima específica para cada molécula de disacáridos y oligosacáridos, la Sucarasa degrada la sacarosa en moléculas de glucosa y fructosa mientras que la Isomaltasa degrada las dextrinas en unidades de glucosa y maltosa para que estas últimas sean degradadas nuevamente por la Maltasa en monómeros individuales de glucosa. Los monosacáridos que se obtienen como producto final de este proceso digestivo pasarán al torrente sanguíneo tras ser absorbidos en el intestino delgado por la acción de las proteínas transportadoras de sodio y glucosa (SGLT), las cuales se localizan en la zona luminal de las células epiteliales y aprovechan el ingreso de sodio a favor del gradiente electroquímico entre el exterior y el interior de la célula (enterocito) para transportar la glucosa en contra

de un gradiente químico. La concentración normal de glucosa en sangre (euglicemia) es de 5-6 mM, equivalente a 90-108 mg de glucosa por decilitro de sangre. Tras una comida el nivel de glucosa en sangre se eleva por encima de lo normal (hiperglicemia) incrementando su concentración a 9 mM (160 mg/dL) o más, por el contrario, cuando la concentración de glucosa en sangre se aproxima a 2.5 mM, o menos, el organismo cae en hipoglicemia (Houston, 2006). Estas moléculas de glucosa viajan por el torrente sanguíneo hasta las distintas células que requieren energía donde serán utilizadas como sustrato para generación de glucógeno, o bien catalizadas hasta agua y CO<sub>2</sub> y la síntesis de ATP.

### ***Oxidación de carbohidratos.***

La captación de glucosa está regulada por 3 factores: la concentración o disponibilidad de glucosa en sangre, la permeabilidad de la membrana para transportar la glucosa al interior de la célula y los mecanismos celulares para almacenarla como glucógeno u oxidarla para producir energía (Ramos-Jiménez et al., 2009). Para esto las bicapas lipídicas de las membranas celulares cuentan con proteínas especializadas en el transporte de glucosa, galactosa o fructosa que permiten el ingreso de estas moléculas al interior de la célula. Estas proteínas transportadoras de glucosa (GLUT) varían según el tejido donde se encuentren y de las 5 principales en el organismo, solo la GLUT2 y la GLUT5 son capaces de transportar fructosa al interior de la célula para ser metabolizada (Manolescu, 2007). Las células del músculo cardiaco, el músculo esquelético, el tejido adiposo, el cerebro, el bazo y los leucocitos requieren ser estimulados por la hormona insulina para activar la translocación de las vesículas que tienen integrados los GLUT4 hacia la membrana celular, permitiendo así que las moléculas de glucosa puedan ingresar al interior de la célula para ser transformadas en energía. Una vez que ingresa a la célula, la glucosa es modificada por la adición de un fosfato en el

carbono 6 proveniente de la hidrólisis del ATP, originando así la glucosa 6-p. Esta reacción es catalizada por acción de las hexocinasas que son un grupo de 4 isoenzimas ubicadas en los distintos tejidos corporales, siendo la isoforma 4 (glucoquinasa) la única ubicada en el hígado y páncreas. La acción de estas hexocinasas es inhibida por la elevada concentración de glucosa-6-p en el interior celular, lo que impide la fosforilación y reduce el gradiente para su transporte, disminuyendo con ello el ingreso de glucosa al citosol.

**Glucólisis.** Una vez fosforilada, la glucosa-6-p ingresará a su primer ruta metabólica llamada glucólisis en la cual es transformada en piruvato por acción de las distintas enzimas glucolíticas ubicadas en el citosol. Esta vía metabólica se divide en las 3 etapas mostradas en el Cuadro 4, durante las cuales se van dando diferentes reacciones químicas que a su vez generan distintos sustratos energéticos, los cuales se van utilizando conforme avanzan en la cadena enzimática.

**Cuadro 4.** Etapas de la glucólisis.

Reacción detallada	Enzima
Glucosa 6-fosfato $\leftrightarrow$ fructosa 6-fosfato	Glucosa 6-fosfato isomerasa
Fructosa 6-fosfato + ATP $\leftrightarrow$ fructosa 1,6-bifosfato + ADP + H <sup>+</sup>	Fosfofructoquinasa-1
Fructosa 1,6 bifosfato $\leftrightarrow$ gliceraldehido 3-fosfato + dihidroxiacetona fosfato	Aldolasa
Dihidroxiacetona fosfato $\leftrightarrow$ gliceraldehido 3-fosfato	Triosa fosfato isomerasa
Gliceraldehido 3-fosfato + Pi + NAD <sup>+</sup> $\leftrightarrow$ 1,3- bifosfoglicerato	Gliceraldehido 3-fosfato

	+ NADH + H <sup>+</sup>	deshidrogenasa
1,3- bifosfoglicerato + ADP	↔ 3- fosfoglicerato + ATP	Fosfoglicerato quinasa
3-fosfoglicerato	↔ 2-fosfoglicerato	Fosfoglicerato mutasa
2-fosfoglicerato	↔ fosfoenolpiruvato + H <sub>2</sub> O	Enolasa
Fosfoenolpiruvato+ ADP + H <sup>+</sup>	↔ piruvato + ATP	Piruvato quinasa

Al finalizar la glucólisis se obtienen 2 moléculas de ATP, 2 moléculas de agua, 2 moléculas de NADH+H y 2 moléculas de piruvato, el cual según los requerimientos energéticos de la célula se irá transformado en lactato por acción de la enzima lactato deshidrogenasa, o bien ingresará al interior de la mitocondria celular donde será transformado en energía mediante la fosforilación oxidativa. Cuando el piruvato es transformado lactato, este será excretado de la célula e ingresará al torrente sanguíneo donde puede ser captado y oxidado por algún otro tejido, alguna célula adyacente (en caso de las fibras musculares) o bien puede ser utilizado por el hígado para ser convertido en un precursor para generar glucosa (Gladden, 2008). Por lo tanto, al finalizar la glucólisis se obtiene una ganancia total de 2 moléculas de ATP que serán utilizadas para suplir las demandas energéticas del organismo en reposo o durante la realización de ejercicio, principalmente durante el ejercicio de alta intensidad.

**Ciclo de Krebs.** En estado basal o cuando la demanda energética no es grande y la intensidad de la actividad física es moderada las 2 moléculas de piruvato producidas en la glucolisis ingresarán a la matriz mitocondrial para ser transformadas en acetil-CoA e ingresar al ciclo de Krebs (figura 1), donde a través de una serie de reacciones químicas los electrones de los grupos acetilo serán removidos de esta molécula y se añadirán al di-nucleótido de nicotinamida

y adenina (NAD<sup>+</sup>) y al di nucleótido de flavina adenina (FAD) formando 2 moléculas de FADH<sub>2</sub> y 3 moléculas de NADH+H por cada molécula de acetil-CoA que ingresa en el ciclo.

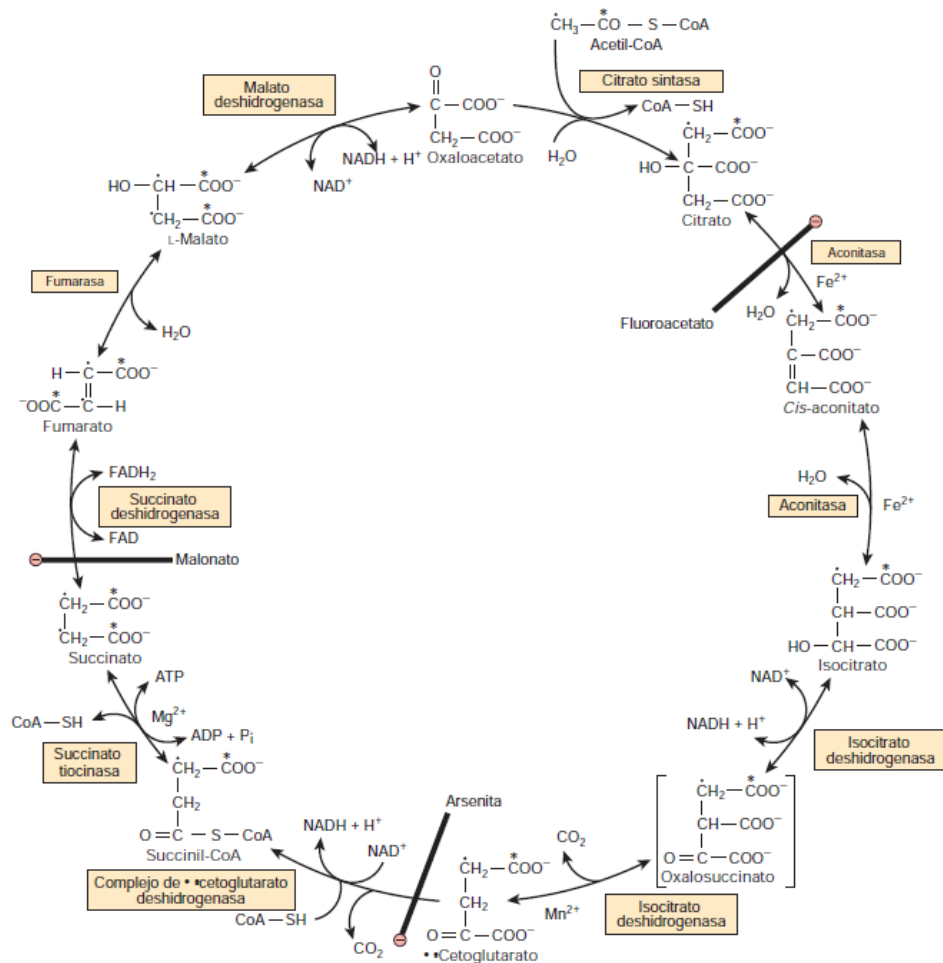


Figura 1. Ciclo de Krebs. Tomada de Murray et al., 2010.

**Cadena de transporte de electrones.** Los NADH+H y los FADH<sub>2</sub> producidos en el Ciclo de Krebs serán utilizados para producir energía mediante la cadena de transporte de electrones (figura 2) que se lleva a cabo mediante una serie de reacciones químicas en el complejo proteico de la membrana interna de la



mitocondria. En esta última los di nucleótidos ceden sus electrones al complejo proteico, los cuales al transferirse de un complejo a otro (complejos 1, 2 y 4) crean un gradiente electrogénico bombeando cada complejo un par de protones hacia el espacio intermembranal de la matriz generando un gradiente electroquímico entre la matriz mitocondrial y el espacio intermembranal de la mitocondria. Cada  $\text{NADH} + \text{H}^+$  moverá 6 protones y cada  $\text{FADH}_2$  4 protones hacia el espacio intermembranal, los cuales al reingresar al interior de la matriz mitocondrial a través de la ATP sintasa producirán un total de 5 moléculas de ATP en respuesta a la demanda de energía. Por lo que la oxidación aeróbica de una molécula de glucosa redituará en una ganancia aproximada de 36 moléculas de ATP.

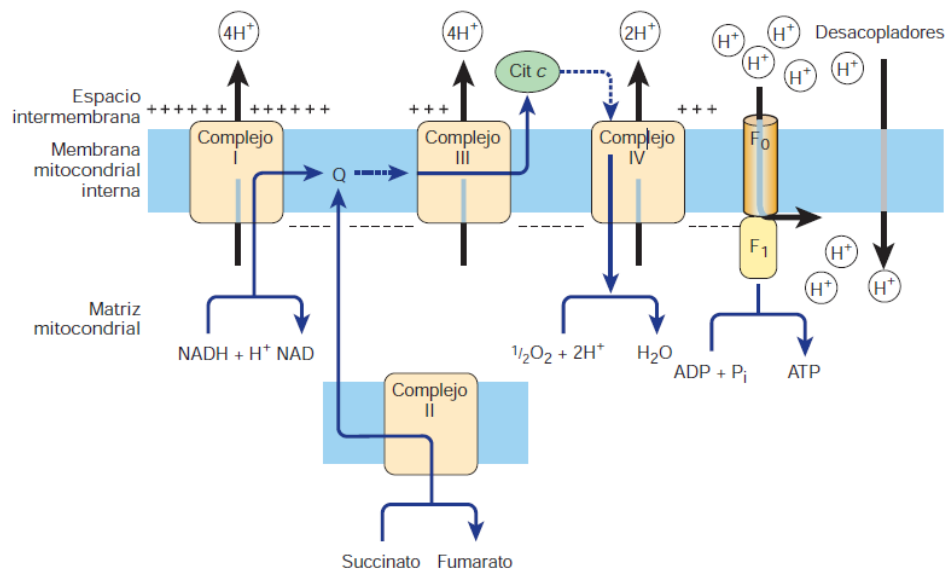


Figura 2. Cadena de transporte de electrones. Tomada de Murray et al., 2010.

**Glucogéneogénesis.** Cuando los monómeros de glucosa no son metabolizados por alguno de los tejidos son transportados al hígado y músculos esqueléticos para la síntesis de TAG glucógeno. Esta síntesis de glucosa se llevará tras la ingesta de alimentos que origina la existencia de altas concentraciones de glucosa e

insulina en el torrente sanguíneo, pues la insulina activará a la proteína fosfatasa-1 que a su vez inactivará a la glucógeno fosforilasa para permitir el almacenamiento y conversión de glucosa en glucógeno. Para ello la molécula de glucosa ingresa al respectivo tejido donde será almacenada e inmediatamente fosforilada a glucosa 6-P por acción de la hexoquinasa en el musculo esquelético, o bien por la enzima glucoquinasa en el hígado. Posteriormente esta glucosa 6-P es convertida en glucosa 1- fosfato por acción de la fosfoglucomutasa para ser transformada en UDP-glucosa mediante acción enzimática de la UDP-glucosa pirofosforilasa para que finalmente la glucógeno sintasa añada las unidades glicosilicas de la UDP-Glucosa al extremo de una molécula de glucógeno existente. Estas moléculas de glucosa serán unidas mediante enlaces glucocídicos  $\alpha$  1-4 generando una larga cadena de glucosas que posteriormente será ramificada por acción enzimática al generar enlaces  $\alpha$  1-6.

La cantidad de Glucógeno almacenado dependerá del tipo de dieta de los individuos y el gasto energético total, que a su vez será determinado por el tipo de actividad física habitual y el tipo de ejercicio que realiza. No obstante, tal como lo muestra el Cuadro 5, esta capacidad de almacenamiento es muy limitada en comparación a la magnitud del almacenamiento de grasas, esto se debe a que los tejidos disponibles para el almacenamiento de glucógeno son de pequeño tamaño, en comparación al tejido capaz de almacenar los ácidos grasos en forma de TAG (Melzer, 2011). En etapa postprandial un individuo saludable de temprana edad almacenará el 30% de los CHO ingeridos en el tejido muscular y un 20% adicional como glucógeno en el hígado (Macauley, 2015). Estas reservas de glucógeno serán utilizadas por el organismo en los periodos interalimentarios para mantener estable la concentración de glucosa en sangre (euglucemia) y de igual manera se utilizarán para satisfacer las demandas energéticas durante el ejercicio dinámico (Romijn et al., 1993).

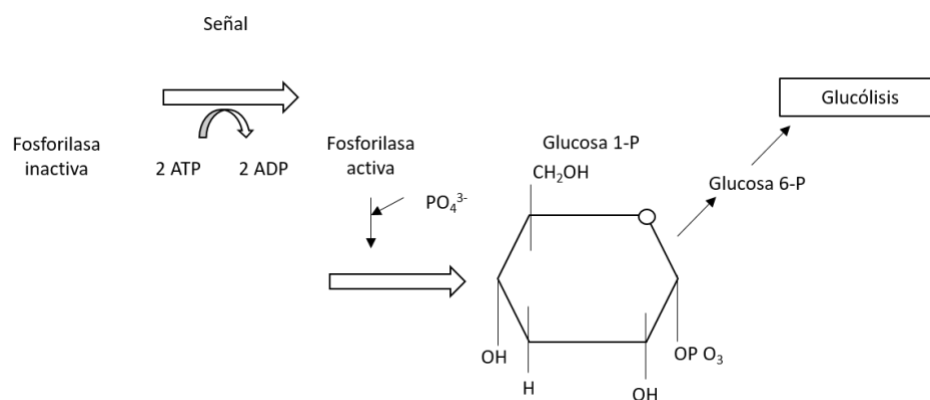
**Cuadro 5.** Promedio de reservas energéticas para un adulto de 65 kg de peso con 12% de masa grasa.

	contenido corporal (g)	kcal
<b>Carbohidratos</b>		
Glucógeno hepático	110	451
Glucógeno muscular	500	2,050
Glucosa en fluidos corporales	15	62
<b>Grasa</b>		
Subcutánea y visceral	7800	72,540
Intramuscular	161	1,497

Adaptado de Melzer, 2011.

**Glucogenólisis.** Tras periodos prolongados de ayuno o durante la realización de ejercicio físico de alta intensidad, el cuerpo utilizará las reservas de glucógeno para la generación de energía. La degradación de las moléculas de glucógeno (glucogenólisis) almacenadas en el hígado y en los músculos es llevada a cabo por la enzima glucógeno fosforilasa (GP), la cual para funcionar requiere la inactivación de la glucógeno sintasa (GS), lo que sucederá cuando la GP sea fosforilada por acción de la glucógeno fosfato quinasa (GPKa). En el hígado la Glucogenólisis está regulada por la hormona Glucagón que es producida y secretada por las células alfa del páncreas como respuesta a los bajos niveles de glucosa en sangre. Al llegar a las células del hígado la Glucagón se une a su receptor específico y activa una cascada de señalizaciones que provoca el

incremento de la concentración de adenosin mono-fosfato cíclico (cAMP) lo cual activara la proteína quinasa A, que es la encargada de activar la GPK<sub>b</sub> mediante la adición de un grupo fosfato proveniente de una molécula de ATP para posteriormente la GPK<sub>a</sub> libere las moléculas de glucosa 6-P y puedan ser metabolizadas vía glucólisis anaeróbica o bien ingresen a la ruta de la fosforilacion oxidativa para la generación de moléculas ricas en energía (Figura 3).



**Figura 3.** Glucogenólisis. Adaptada de MacLaren & Morton, 2012.

En el músculo esquelético la Glucogenólisis es activada por la hormona adrenalina o por el estímulo eléctrico de algún nervio motor del sistema nervioso central. Cuando la adrenalina se une a los receptores  $\beta$ -adrenergéticos (BAR) activa una cascada de señalización que provocará un cambio en la proteína G que interactúa con la adenilil ciclase (AC) la cual incrementará su habilidad de transformar el ATP en cAMP para activar la GPK<sub>a</sub> e iniciar la degradación de glucógeno. Por otro lado, cuando el músculo es activado por el estímulo eléctrico de un nervio motor, se inducirá la liberación de iones de calcio almacenados en el retículo sarcoplasmático que activarán a la GPK<sub>a</sub> liberando con ello moléculas de glucosa

para su utilización como combustible, acción que culminará con el retorno de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior del retículo sarcoplasmático.

En condiciones regulares la disposición de glucosa en sangre es muy baja, esto es debido a que la glucosa es utilizada constantemente por una gran variedad de tejidos que en conjunto resultan en una necesidad obligatoria de 160 g/día de glucosa en estado de reposo. Un adulto de 70 kg con una dieta equilibrada, libera desde el hígado hacia el torrente sanguíneo una cantidad aproximada de 125-175 mg de glucosa por minuto durante la etapa postabsorptiva, lo que para una persona con 70 g de glucógeno en el hígado representará su agotamiento total tras un periodo de 8 horas de ayuno (Houston, 2006). No obstante, si durante este periodo de ayuno se realiza algún tipo de ejercicio físico la capacidad del hígado para sostener la euglucemia será insuficiente y el organismo deberá recurrir a otro mecanismo para la generación de glucosa.

**Gluconeogénesis.** La gluconeogénesis (figura 3) es la formación de nueva glucosa a partir de precursores no provenientes de los CHO. Esta se lleva a cabo tras periodos prolongados de ayuno y sucede tanto en estado de reposo como durante el ejercicio. Los precursores utilizados en esta vía metabólica son el lactato, piruvato, glicerol, ácido propionico, y los esqueletos carbonados de los aminoácidos de una manera muy particular. La mayoría de estos precursores son transformados mediante una reacción inversa de la vía glicolítica ya que la mayoría de sus reacciones son reversibles, sin embargo, hay 3 reacciones glucolíticas irreversibles: la reacción de la piruvato quinasa, la reacción de la fosfofructoquinasa y la reacción de la glucoquinasa, por lo que el transformar estos precursores gluconeogénicos requerirá rutas alternativas. Por ejemplo, tras la oxidación de lactato a piruvato en las células del hígado o en los riñones, el piruvato requerirá 2 reacciones alternativas para ser convertido en fosfoenolpiruvato (PEP).

Estas rutas alternativas son mediadas por la piruvato carboxilasa que transforma el piruvato a oxalacetato usando la coenzima biotina que transfiere un ion de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) a la molécula de 3 carbonos, y la fosfoenolpiruvato carboxilasa que convierte el oxalacetato en PEP para que este sea transaminado en aspartato, o bien sea reducido a malato para posteriormente ser transportado desde la matriz mitocondrial hacia el citosol celular para su posterior transformación a glucosa mediante reacciones inversas de la glucólisis.

Por su parte el glicerol liberado de los adipocitos mediante lipólisis es transformado a glucosa en el hígado. Para ello el glicerol es fosforilado por la glicerol quinasa dando lugar al glicerol 3-P, el cual es posteriormente oxidado a dihidroxiacetona fosfato por acción catalítica de la enzima glicerol 3-P deshidrogenasa. En periodos de ayuno el glicerol es el precursor gluconeogénico principal, pues genera más de 1/3 de la glucosa producida por el hígado (Houston, 2006).

El propionato es una molécula de 3 carbonos con 3 grupos propionilos. Esta se genera durante la degradación de los ácidos grasos que poseen un número impar de átomos de carbono. Este propionato es convertido a propionil CoA a un costo de 2 moléculas de ATP. Posteriormente es transformado a succinil CoA para ser convertido a oxalacetato en los últimos 4 pasos del ciclo de Krebs.

## **Lípidos.**

Los lípidos o TAG son biomoléculas de alto aporte energético e importancia biológica, ya que son componentes estructurales de la membrana celular (fosfolípidos, esfingolípidos, colesterol) (Sonnino & Prinetti, 2013) y precursores de hormonas esteroideas y colesterol. Los TAG son los lípidos que aportan energía, y representan entre el 90-95% de los lípidos ingeridos en la dieta (Iqbal & Hussein, 2009). Los TAG están constituidos por tres ácidos grasos (AG) unidos a una molécula de glicerol mediante un enlace éster. Según la longitud de su cadena

carbonada existen tres tipos de AG: cadena corta (<6 C), cadena media (6-12 C) y cadena larga (>16 C). Los ácidos grasos de cadena larga (>16 C) (AGCL) son los más abundantes y se encuentran en alimentos de origen animal y vegetal. Estos se clasifican según el número de enlaces dobles en su cadena: saturados (sin doble enlace), mono-insaturados (un doble enlace) y poli-insaturados (dos o más dobles enlaces). Por otro lado, los ácidos grasos de cadena media (6-12 C) (AGCM) solamente se encuentran en cantidades significativas en el aceite de coco y de palma (Krishnan & Cooper., 2014). La digestión, absorción, transporte y oxidación de los AGCL y los AGCM se lleva a cabo mediante distintos procesos metabólicos, los cuales se especifican a continuación.

### ***Digestión y absorción de lípidos.***

La digestión de lípidos inicia en la boca, por acción de la lipasa lingual o salival que es secretada por las glándulas “Von Ebner” de la lengua e inicia la hidrólisis de enlaces éster produciendo la liberación de ácidos grasos contenidos en los alimentos (Kulkarni & Mattes., 2014). Posteriormente la digestión continua en el estómago mediante la acción enzimática de la lipasa gástrica, donde también ocurre la emulsificación de la grasa dietaria a través de movimientos peristálticos originándose pequeñas gotas lipídicas. Las gotas lipídicas y lípidos no emulsificados en el estómago entran al duodeno intestinal estimulando la secreción de enzimas pancreáticas (lipasa pancreática, colipasa, esterases y fosfolipasas) y la liberación de sales biliares desde el esfínter de Oddi que acceden a través del lumen intestinal y continúan la liberación y emulsificación de ácidos grasos en el yeyuno. La lipasa pancreática libera los ácidos grasos ubicados en la posición 1 y 3 del Triacilglicerol, produciendo ácidos grasos libres y monoacilglicerol. Por su parte, la enzima colesterol esterasa se encarga de hidrolizar el colesterol unido a los ácidos grasos y la enzima fosfolipasa, se encarga

de hidrolizar los ácidos grasos de los fosfolípidos. Una vez que las micelas generadas como producto de la digestión de los lípidos, llegan a la zona apical de los enterocitos, los AGCL son protonados y abandonan la micela para pasar al interior del enterocito mediante difusión simple o facilitada a través de distintas proteínas transportadoras de ácidos grasos, principalmente la traslocasa de ácidos grasos (FATCD/36). Una vez en el interior del enterocito los ácidos grasos son transportados al retículo endoplasmático para sintetizar TG que posteriormente se unen a la apoproteína B48 (ApoB48) por acción de la Proteína Microsomal Transferidora de Triacilglicerol conformando así un pre-quilomicrón que será transportado por distintas vesículas hacia el aparato de Golgi donde será procesado en un quilomicrón (QM) al añadirle más lípidos (fosfolípidos y colesterol). Estos quilomicrones abandonan el enterocito en la región baso lateral, pasando hacia el sistema linfático y posteriormente al torrente sanguíneo a través del conducto torácico (Iqbal & Hussein., 2009; Goodman., 2010). Por su parte los AGCM al ser anfipáticos se solubilizan en agua y pasan al interior del enterocito mediante difusión simple. Los AGCM no son re-esterificados, por lo que pasan directamente a circulación a través de la vena porta (Marten et al., 2005). Una vez en circulación, los ácidos grasos serán transportados hasta las distintas células para ser utilizados como sustrato para lipogénesis u oxidados para la obtención de ATP.

**Lipólisis.** En el tejido adiposo, muscular y cardiaco, la hidrólisis de los TG contenidos en los QM, se lleva a cabo por acción de la enzima lipoproteína lipasa (LPL). La LPL es sintetizada por los miocitos y adipocitos, y se localiza en el endotelio vascular de estos tejidos. La LPL es activada por acción de la apolipoproteína C-II que se une al QM cuando este entra a circulación sistémica, produciendo la liberación de ácidos grasos libres (AGL) y glicerol (Carvajal, 2014). Los remanentes de QM resultantes de la lipólisis llegan hasta el hígado, donde



serán hidrolizados por acción de la lipasa hepática, y tras ingresar a las células serán degradados para la obtención de energía o resintetizados en lipoproteínas de muy baja, baja o alta densidad (Carvajal, 2014). Una vez que los AGCL llegan a los distintos tejidos, son transportados a través de la membrana plasmática por distintas proteínas como la FATCD/36 y las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP, FATP) (Glatz et al., 2010). La translocación de estos transportadores a nivel intracelular es inducida por la contracción muscular y la hormona insulina. Las FABP son los principales transportadores a nivel hepático mientras que la FATCD/36 es la principal proteína transportadora de AGCL en adipocitos, enterocitos, miocitos cardíacos y musculares (Glatz & Luiken, 2017; Glatz et al., 2010). Por otro lado, los AGCM pasan por la membrana plasmática mediante difusión simple. Al ingresar al citoplasma celular, los AGCL se adhieren a la proteína transportadora de acil-CoA, que se encargará de transportarlos hasta la membrana mitocondrial externa. Al llegar a la mitocondria los AGCL son activados por la enzima acil-CoA Sintasa y posteriormente les es añadida una molécula de carnitina por la carnitin palmitoiltransferasa 1 (CPT-1). Este último paso es determinante en el proceso de oxidación de AGCL, ya que los AGCL se oxidan dentro de la mitocondria y si no son modificados por la CPT-1, no pueden acceder a la matriz mitocondrial. Contrario a esto, los AGCM no requieren ser activados en el citoplasma celular, ni requieren de transporte facilitado a través de la membrana mitocondrial, sino que estos son capaces de permear por si solos la membrana (Schönfeld & Wojtczak, 2016). Una vez que llegan a la membrana mitocondrial interna, los AGCL son activados por la carnitin palmitoiltransferasa 2 (CPT-2) que remueve la carnitina y añade un CoA, mientras que los AGCM son activados por la acil-CoA sintetasa (Marten et al., 2006).

***β-oxidación.*** Una vez activados, los ácidos grasos ingresan a su primera vía metabólica llamada β-oxidación. Esta vía consiste en la eliminación sucesiva de un

par de átomos de carbono del AG, mediante una serie de cuatro reacciones químicas (Figura 4) que originan como producto un acetil-CoA, un  $\text{FADH}_2$  y un  $\text{NADH}+\text{H}$ , los cuales posteriormente pasarán por las rutas metabólicas del Ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones para la síntesis de ATP. El número de ocasiones que un ácido graso pasa por el ciclo de  $\beta$ -oxidación depende del número de carbonos en su cadena, determinando a su vez la cantidad de energía producida mediante la oxidación completa de un ácido graso. Por ejemplo, la oxidación completa del ácido palmítico (16 C), resulta en una ganancia de 131 moléculas de ATP, donde 21 ATPs se obtienen de 7  $\text{NADH}+\text{H}$ , 14 ATPs de 7  $\text{FADH}$  (en la cadena del transporte de electrones) y 96 ATPs de 8 acetil-CoA (Ciclo de Krebs). En estado de reposo este proceso está regulado por la insulina y la concentración citoplasmática de malonil-CoA, ya que ambos inhiben la actividad de la CPT-1 impidiendo el paso de AG a la matriz mitocondrial (Sidossis et al., 1996).

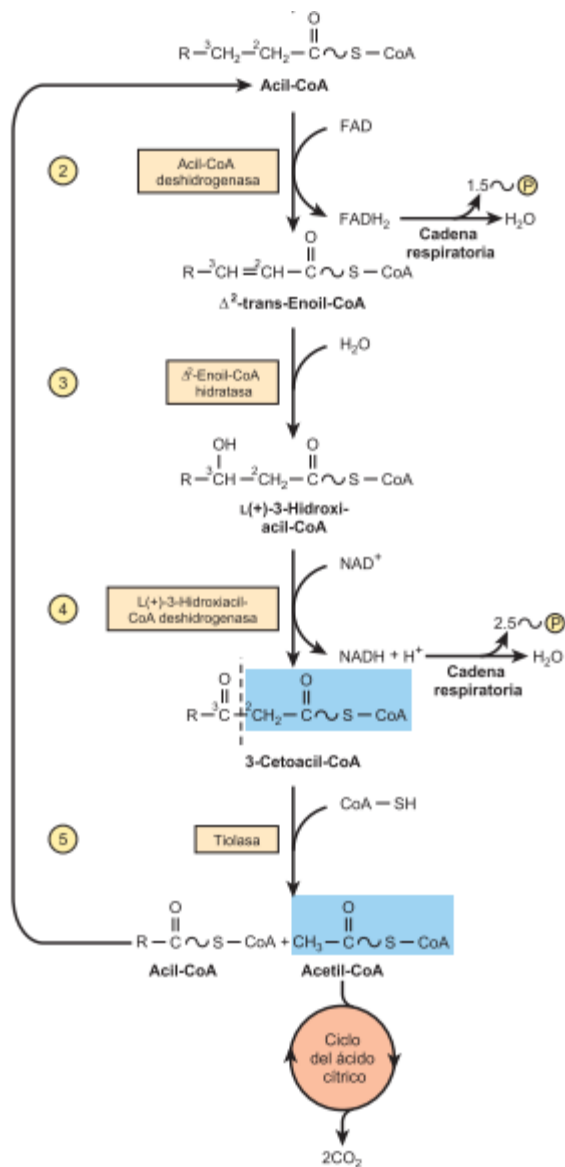
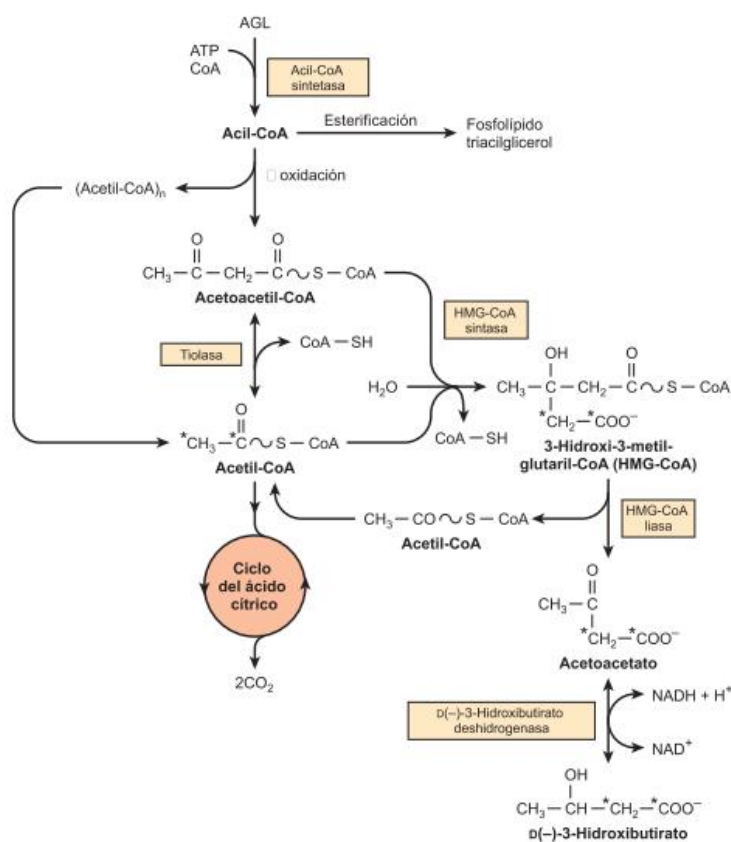


Figura 4. B-oxidación de ácidos grasos. Tomada de Murray et al., 2010.

**Cetogénesis.** Cuando existe una concentración elevada de AGL en plasma, como producto de un elevado consumo de grasas, una alta tasa lipolítica propiciada por la realización de ejercicio en estado post absortivo o un ayuno prolongado, el

hígado utiliza el acetil-CoA producido durante la  $\beta$ -oxidación en los hepatocitos para la síntesis de cuerpos cetónicos (cetogénesis) (figura 5), los cuales sirven como sustrato energético para tejidos extra hepáticos como el muscular o el respiratorio. Los cuerpos cetónicos son reconvertidos a acetil-CoA que ingresa al Ciclo de Krebs para la producción de ATP (MacLaren & Morton, 2012).



**Figura 5.** Vía de la cetogénesis en el hígado. Tomada de Murray et al., 2010.

**Lipogénesis.** En estado de reposo, tras la ingesta de alimentos o cuando existen altas concentraciones de insulina, los ácidos grasos son re-esterificados para la formación de TAG (lipogénesis). Para ello se requiere la síntesis de ácidos grasos mediante la reconversión de acetil-CoA generado en la  $\beta$ -oxidación o glucólisis (*de*

*novo* lipogénesis). El acetil-CoA se reconvierte a citrato por acción de la citrato Sintasa, el cual sale de la matriz mitocondrial hacia el citoplasma donde es transformado en oxalacetato y acetil-CoA por acción de la citrato liasa. Después, el acetil-CoA se convierte a malonil-CoA mediante una reacción catalizada por la enzima acetil-CoA carboxilasa, y posteriormente es utilizado por el complejo multienzimático ácido graso sintasa para la formación de un ácido graso. Finalmente, la enzima glicerol-3-fosfato aciltransferasa, esterifica 3 acil-CoA a una molécula de glicerol-3-fosfato proveniente de la vía glucolítica. Este proceso metabólico está regulado por la hormona insulina que aumenta la actividad de enzimas lipogénicas y glucolíticas a través de modificación covalente, (Kersten, 2001).

**Lipólisis de TAG.** Durante prolongados periodos de ayuno, baja disposición de glucosa e insulina y durante la realización de ejercicio físico de baja-moderada intensidad, el organismo acudirá a los TAG almacenados intracelularmente en el citoplasma para la generación de energía. Este proceso metabólico ocurre principalmente en los adipocitos, fibras musculares y hepatocitos, y está regulado por la hormona insulina, glucagón, adrenalina y noradrenalina. Los ácidos grasos contenidos en los TAG son liberados secuencialmente por acción de tres enzimas: triacilglicerol lipasa (TGL), lipasa sensible a hormonas (LSH) y monoacilglicerol lipasa (Watt,2010). La adrenalina es secretada en respuesta a estímulos de estrés como ayunos prolongados o la realización de ejercicio físico, al llegar al adipocito o fibra muscular, se une a los receptores  $\beta$ -adrenérgicos de la membrana plasmática propiciando una cascada de señalización que activa la adenilato ciclasa que convierte el ATP a AMP<sub>c</sub>, el cual posteriormente activa a la proteína kinasa A (PKA) que fosforila a la LSH (Duncan et al., 2007). Por su parte, la glucagón es secretada por las células  $\alpha$  del páncreas en respuesta a bajas concentraciones de glucosa en sangre. La glucagón actúa sobre el adipocito incrementando la

activación de la LSH al aumentar la actividad de la adenilato ciclasa. La insulina se secreta en respuesta a un elevado consumo de carbohidratos propiciando la inactivación de la LSH, mediante la reconversión de AMP<sub>c</sub> a AMP, a través de la activación de la enzima fosfodiesterasa, impidiendo la activación de la PKA y con ello la subsecuente liberación de ácidos grasos (McLaren & Morton, 2012). El glicerol liberado se solubiliza en agua, mientras que los ácidos grasos se unen a la albumina, proteína que transporta más de 10 ácidos grasos por molécula hasta el tejido graso o muscular donde serán utilizados para la generación de ATP.

### **Modificación del metabolismo energético.**

Dado que la obesidad se caracteriza por el exceso de masa grasa y una baja tasa de oxidación de grasas, es necesaria la modificación del metabolismo energético, de forma que se favorezca la oxidación de grasas sobre la de carbohidratos, permitiendo alcanzar un balance negativo de grasas. El metabolismo energético está influenciado por factores individuales (edad, sexo, composición corporal, hormonas, somatotipo, genotipo) y ambientales (temperatura, humedad, dieta alimenticia, actividad física habitual, ejercicio) que determinarán la cantidad total de energía producida y el sustrato utilizado. La dieta y el ejercicio son los factores ambientales que mayor influencia tienen sobre el metabolismo energético, ya que ambos pueden modificar la tasa de oxidación de sustratos al incrementar el gasto energético e influenciar la concentración de distintas hormonas que regulan las vías metabólicas.

### ***Dieta***

La dieta es definida como el conjunto de alimentos que un ser vivo consume de manera habitual para satisfacer su requerimiento energético. La proporción de macronutrientes en la dieta es un factor determinante de la tasa de oxidación de

sustratos energéticos, tanto en reposo como durante el ejercicio, ya que el macronutriente predominante en la dieta estimula su propia oxidación sin importar la condición física del organismo (Schrauwen et al., 1997; Koutsari et al., 2003; Bergouignan et al., 2012).

La combinación de los 3 tipos de macronutrientes varía según los hábitos alimenticios de los individuos, y permite distinguir diferentes tipos de dietas. Clasificadas según su contenido calórico encontramos la dieta alta en calorías (hipercalórica), la dieta baja en calorías (hipocalórica) y la dieta equilibrada (isocalórica). A su vez estas se clasifican en base a la proporción de energía aportada por los distintos macronutrientes ingeridos como alta en CHO y baja en LIP (CHO  $\geq$ 60%, LIP  $\leq$ 30%, PROT  $\leq$ 15%), alta en LIP y baja en CHO (LIP  $\geq$ 50%, CHO  $\leq$ 30%, PROT  $\leq$ 15%) o equilibrada (55% CHO, 30% LIP, 15% PROT).

**Efecto de la dieta sobre el metabolismo energético.** Cuando los carbohidratos son el macronutriente predominante en la dieta (>55% IC), estos se convierten en la principal fuente de energía en estado de reposo, promoviendo la síntesis de ácidos grasos (Jequier & Schutz, 1983; McDevitt et al., 2000). Esto se debe a tres factores principales: la inhibición de la lipasa sensible a hormonas por señalización insulínica (MacLaren & Morton, 2012), la inactivación de la CPT-1 al aumentar la formación de malonil-CoA (Sidossis et al., 1996; Xu et al., 2012) y la necesidad obligatoria de glucosa que diversos órganos, entre ellos el tejido nervioso y muscular, tienen para su óptimo funcionamiento (Melzer, 2011). Distintos estudios han demostrado que la adaptación a una dieta alta en carbohidratos (>55 %) (DAC) se alcanza en solo 2 días, logrando que la oxidación de CHO iguale a la cantidad consumida en el alimento (balance de carbohidratos). Sin embargo, cuando el porcentaje de carbohidratos en la dieta supera el 70%, en solo 7 días las reservas de glucógeno se incrementan por encima de los 500 g. Sin embargo, cuando existe

una alta proporción de carbohidratos simples, el 50% de ellos es utilizado para la formación de grasas (Jequier y Schutz, 1983; Schwarz et al., 2015), principalmente a nivel hepático (Sevastianova et al., 2012). Este aumento en la síntesis de lípidos se debe al incremento en la actividad del factor de transcripción SREBP-1 que aumenta la expresión de la acetil-coA carboxilasa y la ácido graso Sintasa (Minehira et al., 2004; Kersten,2001).

Por otro lado, la dieta alta en grasas (DAG) propicia un aumento en la TOG y una reducción de la tasa de oxidación de carbohidratos. Este cambio en la utilización de sustratos se debe a la baja disposición de glucosa y glucógeno en el organismo, por lo que los tejidos recurren a las reservas del tejido adiposo para la formación de cuerpos cetónicos, los cuales el cuerpo utilizará como principal combustible para los tejidos (Westman et al., 2007). Este cambio jerárquico de la utilización de sustratos se ve reflejado en la disminución del cociente respiratorio (RQ) y se presenta tanto en sujetos saludables como en sujetos con obesidad, sin importar el género (Cuadro 6)(Hall et al., 2015; Bergouignan et al., 2012; Koutsari & Sidossis, 2003). El aumento en la TOG se debe al incremento en la expresión de proteínas y enzimas involucradas en los procesos de lipólisis y oxidación de AG, ya que la DAG favorece el aumento de la LPL, la FAT/CD36, la  $\beta$ -HAD y la CPT-1 (Bergouignan et al., 2012; Schrauwen-Hinderling et al., 2005; Achten & Jeukendrup, 2004a.). Algunos estudios han observado que el consumo de una dieta alta en grasas (DAG) no estimula una oxidación de grasas que sea suficiente para alcanzar el balance de oxidación (Smith et al.,2000 a). Schrauwen et al., (1997) demostraron que tras 7 días alimentándose con una dieta elevada en grasas, se favorece la oxidación de las mismas a tal grado que la oxidación iguala la ingesta, aun en ausencia de ejercicio estructurado.



**Cuadro 6.** Efecto de la dieta alta en grasas sobre la tasa de oxidación de sustratos energéticos

Estudio	Población	n	% grasa	Duración de la dieta (d)	TMR	
					RQ	Diferencia
Schrauwen et al. (1997)	DEL	6	30	6	0.87	0.06
			60	7	0.81	
Smith et al (2000)	DEL	6	37	1	0.88	0.03
			50	4	0.85	
Bergouignan (2012)	DEL y OB	10 y 9	20	4	0.9	0.07
			50	2	0.83	
Hall et al (2015)	OB	19	35	5	0.85	0.06
			7.7	6	0.85	
			50	6	0.79	

DEL, sujetos delgados sin obesidad; OB, sujetos con obesidad; RQ, cociente respiratorio; TRR EB, Tasa de recambio respiratorio en estado basal.

Las diferencias entre estos estudios se atribuyen al porcentaje de lípidos empleado en las distintas dietas durante la intervención, ya que los estudios que no encontraron una adaptación a la DAG utilizaron un porcentaje de lípidos inferior al 60% mientras aquellos estudios que sí encontraron una adaptación, emplearon un porcentaje superior al 60%, lo que significa que, a mayor proporción de grasas en la dieta, mayor el efecto sobre la tasa de oxidación de grasas. Además, Schrauwen et al., (1997) reportan que el periodo de adaptación a una DAG es de 7 días continuos y Smith et al., (2000) implementaron una intervención de solo 4 días. El

efecto de la DAG sobre la TOG y la tasa metabólica (TM) no solo es dependiente de la proporción de lípidos en la dieta, también depende del tipo de ácidos grasos que predominan en la dieta. Distintos estudios han demostrado que durante una DAG los ácidos grasos insaturados o de cadena media (AGCM) se absorben con mayor velocidad (Krishnan & Cooper., 2014). Además, se ha observado que los AGCM se oxidan en mayor cantidad y favorecen una mayor TMR, comparados a los AG saturados de cadena larga (St. Onge et al., 2003).

**Efecto de la dieta sobre la composición corporal.** Distintos meta-análisis han demostrado que comparada con la DAC, la DAG favorece una mayor pérdida de masa grasa y peso corporal (Mansoor et al., 2015; Bueno et al., 2013). Esto se debe a que la DAG propicia una mayor TOG, una menor síntesis de glucógeno y TG y una mayor TMR (Ebbeling et al., 2018; Blundell et al., 2002). No obstante, se ha observado que una DAG con alto contenido de AGCM, favorece una mayor pérdida de peso corporal, en comparación a una DAG con alta proporción de AGCL (Mumme et al., 2015).

### **Ejercicio.**

Previamente se ha comprobado que el ejercicio físico potencia el efecto propiciado por una DAG en personas con obesidad (Hawkins et al., 2012) siendo de mayor beneficio el ejercicio realizado a la intensidad de máxima oxidación de grasas ( $Fat_{max}$ ), ya que, comparado con el ejercicio de alta intensidad, permite una mayor utilización de grasas durante el ejercicio (Brandou et al., 2005; Lazzer et al., 2010 b; Lazzer et al., 2011; Alkahtani et al., 2013; Lanzi et al., 2015). Conforme aumenta la intensidad del ejercicio la oxidación de grasas se incrementa hasta alcanzar un pico máximo a partir del cual disminuye la contribución de grasas y aumenta la aportación de los carbohidratos al gasto energético, hasta depender totalmente de

la vía glucolítica (Achten et al., 2002). El incremento en la intensidad del ejercicio aumenta la contracción de las fibras musculares tipo II, que aumentan la producción de ácido láctico, que al disociarse en  $[LA^-]_b^-$  y  $H^+$ , disminuye el pH celular (Hermansen & Olsen, 1972), lo cual inactiva la CPT-1 impidiendo el paso de ácidos grasos de cadena larga hacia el interior de la mitocondria, y con ello la contribución de grasas al gasto energético (Achten & Jeukendrup, 2004b).

### ***Ejercicio $Fat_{max}$ .***

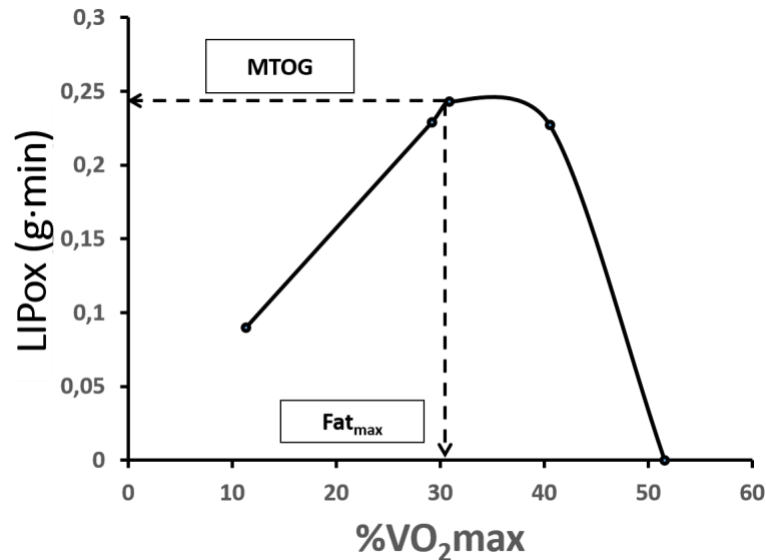
El pico de oxidación de grasas observado en relación con la intensidad del ejercicio es definido como la máxima tasa de oxidación de grasas (MTOG), y la intensidad a la cual es alcanzado se define como  $Fat_{max}$  (Figura 6). Se ha observado que tanto la MTOG como el  $Fat_{max}$ , varían según el estado de acondicionamiento físico, el sexo, la dieta, el modo de ejercicio realizado, el estado metabólico y el genotipo de los receptores  $\beta$  adrenérgicos. Las personas con una mejor condición cardiopulmonar ( $VO_{2max}$ ) alcanzan un mayor pico de oxidación de grasas (Achten & Jeukendrup, 2003a), diferencia que se debe a una mayor masa mitocondrial en las personas con mayor nivel de actividad física (Egan et al., 2010). El efecto del estado de acondicionamiento físico es independiente de la composición corporal (Crocì et al., 2014). La TOG difiere entre sexo y composición corporal. Entre personas con normo-peso, las mujeres alcanzan una mayor TOG que los hombres a cualquier intensidad de ejercicio, a pesar de tener ellas una menor condición cardiopulmonar y menor masa libre de grasa (MLG) (Venables et al., 2005). Sin embargo, en personas con sobrepeso y obesidad, los hombres alcanzan una mayor TOG que las mujeres (Bogdanis, 2008). Dichas diferencias se atribuyen a las diferencias en las concentraciones hormonales entre sexo y composición corporal (Freeman et al., 2010); en este sentido el estradiol incrementa la expresión de proteínas transportadoras de ácidos grasos (FAT CD/36, CPT-1) y enzimas con

acción lipolítica, incluyendo la lipoproteína lipasa (LPL) y la lipasa sensible a hormonas (LSH) (Maher et al., 2010).

Por otro lado, la proporción de macronutrientes en la dieta influye en gran medida sobre la MTOG, ya que el consumo de una mayor proporción de carbohidratos disminuye la TOG en reposo y durante el ejercicio (Fletcher et al., 2017) al incrementar las concentraciones basales de insulina (Robinson et al., 2015) y reducir significativamente los niveles de TAG intramusculares afectando la disponibilidad de sustrato y la tasa de oxidación de grasas durante el ejercicio (Coyle et al., 2001). En cuanto al modo de ejercicio, al realizar el ejercicio en banda sin fin o en una máquina de remo, se alcanza una mayor TOG que al realizar el ejercicio en cicloergómetro (+28% y +45%, para la banda sin fin y la máquina de remo, respectivamente), diferencia debida probablemente a una mayor masa muscular involucrada durante el ejercicio tanto en la banda sin fin como en el remo, resultando en una mayor demanda energética y utilización de sustratos (Achten et al., 2003b; Egan et al., 2016). Las diferencias entre el cicloergómetro y la máquina de remo también pueden explicarse por diferencias en la tasa lipolítica, ya que se ha observado que al realizar ejercicio con los brazos se propicia una mayor liberación de catecolaminas, que al realizar ejercicio solo con las piernas, lo cual propiciaría una mayor disposición de grasas para su posterior utilización como sustrato energético (Zouhal et al., 2008).

En cuanto al estado metabólico en que se realiza el ejercicio, se ha observado que al realizar el ejercicio en estado postprandial se alcanza una menor TOG comparado con la realización del ejercicio en estado de ayuno (Achten & Jeukendrup, 2003; Shimada et al., 2013). No obstante, en dicho estudio, el alimento otorgado previo a la realización del ejercicio tuvo una alta proporción de carbohidratos (>60%), quedando aún por determinar si el consumo de un alimento alto en grasas previo al ejercicio disminuye la TOG.

Respecto al genotipo de los receptores  $\beta$  adrenérgicos, se ha observado que la sustitución de un triptófano por una arginina en la posición 64 de la proteína madura, resulta en una menor tasa lipolítica y con ello una menor TOG durante el ejercicio (de Jesus et al., 2018).



**Figura 6.** Cinética de oxidación de grasas respecto a la intensidad del ejercicio. MTOG, máxima tasa de oxidación de grasas; Fat<sub>max</sub>, Intensidad de máxima oxidación de grasas. Datos tomados de una prueba piloto realizada a un paciente con obesidad en nuestro laboratorio.

El ejercicio realizado al Fat<sub>max</sub>, ha sido propuesto como la mejor intensidad de entrenamiento para personas con obesidad ya que les permite utilizar una mayor cantidad de grasa durante el ejercicio, contribuyendo a lograr un balance negativo de grasas que permita la pérdida de MG. Además, el ejercicio al Fat<sub>max</sub> es ideal para iniciar un programa de entrenamiento ya que dicho Fat<sub>max</sub> se alcanza a una baja intensidad (Cuadro 7).

Cuadro 7. Intensidad  $Fat_{max}$  en hombres y mujeres con obesidad.

Estudio	Sexo	$Fat_{max}$ (% $VO_2max$ )
Bogdanis et al., 2008	Hombres	40.1±1.8
	Mujeres	39.5±2.3
Venables et al., 2008	Hombres	44±2
Croci et al., 2014	Hombres	45.4±7.2
Dandanell et al., 2017	Mujeres	45±2

Los datos indican media±DE.  $Fat_{max}$ , intensidad de máxima oxidación de grasas.

**Utilización de sustratos durante el ejercicio  $Fat_{max}$ .** Estudios previos han demostrado que, durante el ejercicio de larga duración a una intensidad constante, la TOG aumenta mientras que la TOC disminuye progresivamente hasta cambiar su contribución al GE de forma significativa (Watt et al., 2002). Este cambio en la contribución de sustratos se explica por la reducción progresiva de insulina (Watt et al., 2002), el aumento progresivo de adrenalina (Koivisto et al., 1982), el agotamiento progresivo de glucógeno muscular (Watt et al., 2002) y la activación progresiva de la Piruvato deshidrogenasa quinasa (PKA) que fosforila e inhibe a la enzima Piruvato deshidrogenasa (PDH) encargada de la descarboxilación del piruvato a acetyl-CoA para su posterior oxidación en la mitocondria (Watt et al., 2004). Hasta la fecha, el cambio en la contribución de sustratos energéticos durante el ejercicio  $Fat_{max}$  de larga duración no ha sido determinado tanto en personas con normo peso como en personas con obesidad y es necesario determinar si la TOG continúa aumentando respecto al tiempo.

**Efecto del ejercicio Fat<sub>max</sub> en personas con obesidad.** El ejercicio Fat<sub>max</sub> ha mostrado ser favorable en personas con obesidad ya que les permite mejorar su condición cardiopulmonar y alcanzar una pérdida significativa de PC y MG independientemente del modo de entrenamiento, edad y género de los individuos (B. Ounis et al., 2008a; B. Ounis et al., 2008b; B. Ounis et al., 2010; B. Ounis et al., 2011; Tan et al., 2012; Tan et al., 2016<sup>a</sup>; Tan et al., 2016b; Tan et al., 2018). Además, el ejercicio Fat<sub>max</sub> disminuye el riesgo de enfermedades metabólicas y mejora la flexibilidad de la cadera al reducir significativamente la circunferencia de cintura (Wang et al., 2015; Tan et al., 2016).

**Efecto sobre la tasa de oxidación de sustratos.** El efecto del ejercicio Fat<sub>max</sub> sobre la TOS en personas con obesidad ha sido analizado en muy pocos estudios, donde se ha observado que 45 minutos de ejercicio Fat<sub>max</sub> realizado en estado de ayuno sobre una banda sin fin no propicia una mayor TOG en el periodo inmediato posterior al ejercicio (60 min) (Lazzer et al., 2010). No obstante, no se ha determinado si una mayor dosis (tiempo) de ejercicio pudiese propiciar un efecto significativo sobre la TOS y la TM.

**Efecto sobre biomarcadores moleculares.** En cuanto al efecto del ejercicio Fat<sub>max</sub> sobre distintos biomarcadores de salud, se ha encontrado que el ejercicio Fat<sub>max</sub> favorece una reducción significativa de los niveles plasmáticos de TAG, ácidos grasos no esterificados (NEFA) glucosa, insulina, colesterol y leptina (Ben Ounis et al., 2008 a; Ben ounis et al., 2008 b; Ben Ounis et al., 2010; Tan et al., 2012, Tan et al., 2016 a; Tan et al., 2018). La reducción en las concentraciones de TAG están relacionadas con el aumento en las concentraciones de LPL (+26%) (Tan et al., 2016 b), lo cual se explica por el aumento en la hormona de crecimiento, la cual incrementa la expresión de LPL (Ben Ounis et al., 2011). Por otra parte, la disminución de los niveles de leptina, se debe a la reducción de la masa grasa, ya

que el tejido adiposo es el órgano secretor de esta hormona (Friedman & Halaas et al., 1998). La realización de cinco sesiones de ejercicio Fat<sub>max</sub> en banda sin fin, disminuyó significativamente las concentraciones basales de glucosa (Tan et al., 2016; Tan et al., 2018), mejorando la sensibilidad a la insulina. Esta reducción se ha relacionado con la reducción de la grasa abdominal y el incremento de adiponectina (Ounis et al., 2008a), la cual incrementa la fosforilación de la AMPK y la subsecuente translocación de transportadores de glucosa (GLUTs) a la membrana celular, favoreciendo la internalización y oxidación de glucosa (Ramos et al., 2006; Yadav et al., 2013). Hasta la fecha no hay estudios que determinen el efecto del ejercicio al Fat<sub>max</sub> sobre la expresión de distintos marcadores moleculares importantes en la oxidación de grasas como el PPAR<sub>α</sub>, PPAR<sub>γ</sub>, LSH, FAT/CD36 y la CPT-1.

### **Instrumentos de medición.**

#### ***Condición Cardiopulmonar.***

El VO<sub>2</sub> máx es un indicador del estado de salud y la capacidad cardiorrespiratoria de las personas, y este se determina mediante la realización de una prueba de esfuerzo máximo (laboratorio) o sub máximo (de campo), según los recursos disponibles. La primera se realiza en condiciones controladas dentro de un laboratorio y consiste en la medición del intercambio de gases respiratorios (RER) durante el aumento gradual de una determinada carga de trabajo que continua hasta alcanzar el agotamiento total del individuo, con lo cual se obtiene el valor de VO<sub>2 máx</sub> expresado en ml·min<sup>-1</sup>·kg<sup>-1</sup>. Regularmente, esta prueba se realiza en un cicloergómetro o en una banda sin fin, dependiendo las condiciones físicas y fisiológicas de los sujetos, sin embargo, para ambos instrumentos existen distintas especificaciones y protocolos. Cuando la prueba se realiza en un cicloergómetro, se establece la carga inicial de trabajo (W) en función de la edad, peso corporal, nivel de acondicionamiento físico e IMC, y posteriormente se incrementa entre 15



y 30 W por etapa, cada etapa de 3 minutos, hasta llegar al agotamiento (J Achten et al., 2002; Ramos-Jiménez et al., 2008). Por otra parte, cuando la prueba se realiza en banda sin fin se establecen la velocidad e inclinación inicial en función de las mismas variables mencionadas anteriormente, y seguidamente se incrementa la velocidad e inclinación de forma periódica (1 a 3° de inclinación y/o 1 a 3 km por hora cada etapa) hasta llegar al agotamiento (Achten et al., 2003; Edvardsen et al., 2014). No obstante, a pesar de sus diferencias, ambas pruebas se realizan en etapa postabsorptiva tras un periodo de ayuno nocturno de 8-12 h, y es necesario que los sujetos no realicen actividad física el día anterior a la prueba para evitar un menor rendimiento. De igual forma, durante la prueba se toman muestras sanguíneas para analizar el  $[LA^-]_b$  y se monitorea continuamente la frecuencia cardíaca (FC), esto con la finalidad de asociarles al incremento gradual de la intensidad del ejercicio y determinar el umbral de lactato (UL) y la frecuencia cardíaca máxima (FCM), que sirven también como indicadores del estado de acondicionamiento físico. Finalmente cabe destacar que los sujetos requieren un periodo previo de adaptación y calentamiento antes del inicio de la prueba para evitar que se presente alguna lesión provocada por movimientos mecánicos erróneos. Por otro lado, cuando no se cuenta con el equipamiento adecuado, se pueden realizar pruebas de campo como el test de Cooper o el test de Course Navette, sin embargo estas solo proveen un valor aproximado del  $VO_{2max}$  (García & Secchi, 2014; Grant et al., 1995), y por ello su utilización para fines científicos no son convenientes.

### **Umbral de lactato.**

El UL es definido como la intensidad relativa ( $\%VO_{2max}$ ) o absoluta del ejercicio ( $VO_2$ ), a la cual la producción de  $[LA^-]_b$  supera su tasa de reutilización provocando que el este comience a acumularse a nivel plasmático. Gráficamente este se

observa como un incremento no lineal de  $[LA^-]_b$  respecto a la intensidad del ejercicio. Algunos autores calculan el UL definiendo la intensidad del ejercicio a la cual el  $[LA^-]_b$  se incrementa 0.5 o 1.0 mM por arriba de la concentración basal mediante una curva de regresión (ULAB) (Bircher & Knechtle, 2004; Bircher et al., 2005). Otros lo definen como el punto de mayor lejanía entre la curva construida con la cinética de  $[LA^-]_b$  durante la prueba y la línea recta formada entre la menor y mayor concentración de la curva (Dmax) (Cheng et al., 1992). Finalmente, algunos autores lo definen como la intensidad a la cual se presenta una concentración de 4 mM (OBLA). Hasta la fecha no hay estudios que comparen la intensidad del UL obtenida por ambos métodos, determinando cuál de estos favorece una mayor correlación entre la  $[LA^-]_b$  y el  $VO_2$ .

### ***Prueba Fat<sub>max</sub>.***

Consiste en determinar la cinética de oxidación de grasas respecto a la intensidad del ejercicio. La  $Fat_{max}$  y el  $VO_{2max}$  pueden ser determinados en una misma prueba utilizando un protocolo que consiste en dos etapas (Achten & Jeukendrup, 2003b). En la primera etapa se realizan incrementos graduales de velocidad sin inclinación o viceversa hasta alcanzar una tasa de recambio respiratorio (RER) con valor de 1, a partir del cual la TOG alcanza valores de 0 ( $Fat_{min}$ ). A partir de esto se inicia la segunda etapa, donde tanto la velocidad como la inclinación se aumentan gradualmente hasta llegar a la máxima capacidad cardiopulmonar.

Al finalizar la prueba, la cinética de oxidación de grasas se grafica contra la intensidad del ejercicio ( $\%VO_{2max}$ ,  $\%FCM$ ,  $VO_2$ , FC y  $[LA^-]_b$ ).

**Lactato y  $Fat_{max}$ .** Las concentraciones de lactato intracelular afectan negativamente a la TOG al reducir el pH e inhibir a la CPT-1. En sujetos entrenados, al determinar la  $Fat_{max}$  a través de protocolos de corta duración (3 min) en cicloergómetro, se ha observado que la  $Fat_{max}$  se presenta a una intensidad

inferior al UL, ya sea que este se determine por el método Dmax (Achten & Jeukendrup, 2004) o por el método ULAB (Bircher et al., 2005). Achten & Jeukendrup, 2004, reportan que la  $Fat_{max}$  se presenta a la intensidad a partir de la cual el  $[LA^-]_b$  comienza a acumularse por arriba de la concentración basal (LIAB) y que a partir del primer incremento de  $[LA^-]_b$  la TOG comienza a disminuir. En estos estudios, la  $Fat_{max}$  se ha reportado a  $[LA^-]_b$  inferior a los 2 mM, sugiriendo a esta concentración como un parámetro de control para el ejercicio  $Fat_{max}$ . Sin embargo, hasta la fecha, ninguno de los estudios que han utilizado al  $Fat_{max}$  como modo de entrenamiento, han utilizado el UL como parámetro de control y no hay estudios que corroboren que la  $[LA^-]_b$  se mantenga por debajo de 2 mM durante una sesión prolongada de ejercicio al  $Fat_{max}$  (Lazzer et al., 2011; Lanzi et al., 2015; Tan et al., 2012, Tan et al., 2018). Aunado a esto, Bircher et al. (2005), refuerzan la relación entre el  $[LA^-]_b$  y la TOG ya que reportan una correlación positiva entre la intensidad al UL y la intensidad  $Fat_{max}$ . Estudios previos han demostrado que las personas sedentarias con obesidad tienen una menor capacidad para reutilizar el  $[LA^-]_b$  producido como sustrato energético, y por ello alcanzan el UL a una menor intensidad y mayor  $[LA^-]_b$  (Messonnier et al., 2013; San-Millán & Brooks, 2013), afectando la relación entre el  $[LA^-]_b$  y la  $Fat_{max}$ . Bircher et al., (2004) reportan la  $Fat_{max}$  a una intensidad mayor que el UL sin encontrar una correlación significativa entre variables en personas con obesidad. No obstante, sus resultados son controversiales ya que reportan la intensidad  $Fat_{max}$  al 65% del  $VO_{2max}$ , mientras que la mayoría de los estudios han reportado que en sujetos con obesidad el  $Fat_{max}$  se encuentra a una intensidad  $\leq 55\%VO_{2max}$  (Bogdanis et al., 2008; Venables et al., 2008; Lanzi et al., 2015; Dandanell et al., 2017). Por lo que protocolos mayores al 50% del  $VO_{2max}$  se consideran como no apropiado para personas con obesidad.

Además, es necesario determinar la relación entre la  $Fat_{max}$  y el UL al realizar el ejercicio en banda sin fin, ya que los resultados difieren según el modo de ejercicio

y hasta la fecha los estudios que han determinado el  $Fat_{max}$  en banda sin fin no han incluido a personas con obesidad.

**Validación de un protocolo  $Fat_{max}$ .** Hasta la fecha, solo Dandanell et al., (2016) han intentado validar un protocolo para prescribir ejercicio al  $Fat_{max}$  en personas con obesidad. No obstante, sus datos observan una elevada variabilidad interdiaria en la TOG (CV 11%), requiriendo la validación de protocolos con mayor fiabilidad. Además, hasta la fecha no se ha validado un protocolo  $Fat_{max}$  realizado sobre una banda sin fin, donde se alcanza una mayor TOG.

### ***Tasa metabólica.***

Para establecer el efecto del ejercicio y de los macronutrientes sobre el metabolismo energético es necesario determinar el gasto energético total, la ingesta calórica total, el balance energético, la tasa de oxidación de sustratos, la composición corporal y los niveles plasmáticos de hormonas con alta influencia metabólica. Para ello se han validado distintas técnicas de medición que nos permiten conocer el complejo funcionamiento metabólico de nuestro organismo.

El balance energético es la diferencia entre la ingesta y el gasto calórico total, y para conocerlo es necesario determinar la cantidad total de kcal ingeridas y kcal gastadas por el organismo. Para ello es necesario tener un registro del régimen alimenticio de los participantes en un periodo mínimo de 7 días continuos (Seale & Rumpler, 1997). Este registro debe contener la información del alimento, su respectiva porción ingerida y su equivalente calórico, lo cual es posible conocerlo mediante la utilización del sistema mexicano de alimentos equivalentes.

Por otro lado, el gasto energético total se puede determinar mediante distintas técnicas como la calorimetría directa e indirecta y el método de agua doblemente marcada. La calorimetría directa consiste en la medición de la cantidad de calor

producida por el organismo, y esta se realiza en una cámara metabólica que contiene termosensores que registran la temperatura a la entrada y la salida de la cámara en un tiempo determinado (Vargas et al.,2011). De igual forma esta cámara metabólica permite cuantificar el tiempo activo del sujeto puesto que cuenta con radares que detectan cualquier movimiento superior a 7 mm-seg (Jequier y Schutz, 1983). Aunque la cámara metabólica no permite conocer la intensidad de la actividad realizada, conocer el tipo de actividad y su duración es de gran utilidad puesto que permite calcular el gasto energético de su actividad física habitual utilizando las tablas estandarizadas de equivalentes metabólicos (MET), que se define como la razón entre el metabolismo energético de un individuo al realizar un trabajo mecánico y su metabolismo basal (Ainsworht et al., 2000). No obstante, las mediciones realizadas con este método no proveen una situación de vida real puesto que los sujetos no realizan el total de sus actividades cotidianas. Por ende, los resultados obtenidos durante el periodo de estudio diferirán de la realidad de los sujetos. Por su parte, la calorimetría indirecta, además de medir las calorías gastadas durante la actividad física, permite determinar la tasa de oxidación de sustratos energéticos y la jerarquía de utilización de los mismos, mediante la medición del volumen y concentración de los gases inspirados y espirados ( $VO_2$  y  $VCO_2$ ), esto permite estimar el cociente respiratorio ( $RQ:VCO_2/VO_2$ ), el cual tiene valores definidos que permiten conocer cual sustrato (carbohidrato o lípido) está siendo utilizado como principal fuente de energía (Jequier & Schutz, 1983; Vargas et al., 2011). El cociente respiratorio no proteico ( $npRQ$ ) se define como la relación entre el  $VCO_2$  producido y  $O_2$  consumido en estado de reposo ( $VCO_2/VO_2$ ). Este es un indicador de la tasa de oxidación de sustratos energéticos, y permite conocer cual vía oxidativa está contribuyendo en mayor medida al gasto energético. Un RQ cercano a 0.70 indica que la vía lipolítica está contribuyendo en mayor medida al gasto energético, mientras que un RQ cercano a 1.0 indica una predominancia de la vía glicolítica.

Un npRQ en estado de reposo con valores  $\geq 1.0$ , indica la existencia de lipogénesis y con ello la ausencia total de lipólisis.

De igual manera la calorimetría indirecta nos permite estimar el gasto energético mediante la ecuación matemática de Weir que toma en cuenta el volumen de  $O_2$  y  $CO_2$  producido, así como la producción de nitrógeno urinario (Weir, 1949). Sin embargo, si no se dispone de habitaciones para estadía supervisada, la utilización de este método dificulta el control de la ingesta calórica, por lo que su uso será eficiente para analizar el efecto agudo de las variables deseadas sobre el metabolismo energético. Por otro lado el método de agua doblemente marcada determina la producción de  $CO_2$  mediante la diferencia de la tasa de eliminación de Isotopos de O ( $^{18}O$ ) e Hidrogeno ( $^2H$ ), y posteriormente se utiliza la ecuación de Weir para determinar el gasto energético (Seale & Rumpler, 1997; Vargas et al., 2011). De igual manera es posible estimar el gasto energético total mediante ecuaciones predictivas como la de Harrison-Benedict, Quenouille u Oxford (Vargas et al., 2011). Sin embargo, estas solo nos permiten aproximaciones a la realidad, puesto que la composición corporal y las condiciones metabólicas y fisiológicas difieren en cada sujeto.

### ***Composición corporal.***

Por otra parte, para conocer la composición corporal de un sujeto es necesario determinar el % de masa grasa, masa muscular, masa ósea y masa visceral con relación al peso corporal del individuo. Para esto existen distintos métodos y técnicas que difieren en su grado de validez.

**Impedancia Bioeléctrica.** En este método, un espectro de corriente eléctrica viaja a través de todos los tejidos corporales confrontando una determinada resistencia asociada a masa libre de grasa o masa grasa, permitiendo con ello el cálculo de su porcentaje en determinada zona corporal (Gibson, 2008).

**Densitometría.** Existen dos formas de determinar la composición corporal por

densitometría. La primera determina la composición corporal mediante la medición del peso corporal fuera y dentro de un tanque lleno de agua. Esto último requiere que el sujeto sea sumergido en agua y respire utilizando un espirómetro para la medición del volumen pulmonar, valor que permitirá conocer el % de masa grasa del sujeto (Westerterp, 2008). El segundo método es la densitometría por pletismografía corporal (BodPod). Este consiste en la determinación de la densidad corporal mediante la medición del peso y volumen de los individuos, dato que será empleado para determinar los porcentajes de MG y MLG mediante la fórmula de Siri. (Siri,1961). Cabe señalar, que la utilización de ambos métodos es de un costo muy elevado y por ello la mayoría de los estudios se emplea métodos doblemente indirectos para realizar sus mediciones.

**Antropometría.** Consiste en la medición del peso corporal, talla, pliegues cutáneos, circunferencias y diámetros óseos, lo cual mediante distintas ecuaciones matemáticas (Durnin o Yuhasz) permite conocer el % de MG, muscular, ósea y visceral de los sujetos (Vargas et al., 2011; Westerterp, 2008).

## Planteamiento del problema

Según los datos reportados por la OMS en el año 2016, el 13% de la población a nivel global padecía de obesidad, triplicándose la tasa de prevalencia desde 1975 y con ello la presencia de enfermedades no transmisibles que han propiciado que cada año aproximadamente 2.8 millones de personas mueran por tener sobrepeso u obesidad. En el 2016, la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino, reporto una prevalencia de obesidad alta en todas las edades: 16% en niños (5-11 años), 36.3% en adolescentes (12-19 años) y 72.5% en adultos (>20 años), incrementando consigo la prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles, la tasa de mortandad y los gastos de en salud pública (ENSANUTMC2016), requiriendo la definición de tratamientos efectivos que contribuyan a reducir estos índices. El consumo de una DAG con alto contenido de AGCM y la realización de ejercicio al  $Fat_{max}$  han demostrado ser efectivos para combatir la obesidad de forma independiente, no obstante, hasta la fecha no hay estudios que determinen el efecto que ambos factores en conjunto propician sobre el metabolismo energético. Además, no se han validado protocolos  $Fat_{max}$  en banda sin fin que permitan la prescripción de ejercicio para personas con obesidad. De igual manera, es necesario determinar la relación entre la intensidad  $Fat_{max}$  y el UL, así como la cinética de utilización de sustratos y de [LA-B] durante una hora de ejercicio al  $Fat_{max}$ .



## HIPÓTESIS

Una sesión de ejercicio aeróbico realizado a la intensidad del pico de oxidación de grasas durante 60 minutos en combinación con un alimento con alto contenido de ácidos grasos de cadena media favorecerá el metabolismo oxidativo en sujetos sedentarios con obesidad.

## OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto agudo que el ejercicio  $Fat_{max}$  y un alimento con alto contenido de ácidos grasos de cadena media producen sobre el metabolismo energético y la tasa de oxidación de sustratos en sujetos sedentarios con obesidad.

### Objetivos específicos

1. Determinar la  $[LA^-]_b$  que corresponde a la intensidad de máxima oxidación de grasas, mediante un protocolo realizado en una banda sin fin.
2. Establecer la relación existente entre la intensidad  $Fat_{max}$  y el UL mediante un protocolo realizado en una banda sin fin en personas con obesidad.
3. Determinar la fiabilidad de un nuevo protocolo  $Fat_{max}$ , y su utilidad para prescribir ejercicio en personas con obesidad.
4. Determinar la cinética de utilización de sustratos y la  $[LA^-]_b$  durante 60 minutos de ejercicio al  $Fat_{max}$ .
5. Determinar el efecto agudo de 60 minutos de ejercicio  $Fat_{max}$ , realizado en estado de ayuno sobre el metabolismo energético.
6. Comparar el efecto agudo de un alimento alto en ácidos grasos de cadena media y un alimento alto en carbohidratos sobre la tasa de oxidación de sustratos energéticos y la tasa metabólica en reposo.

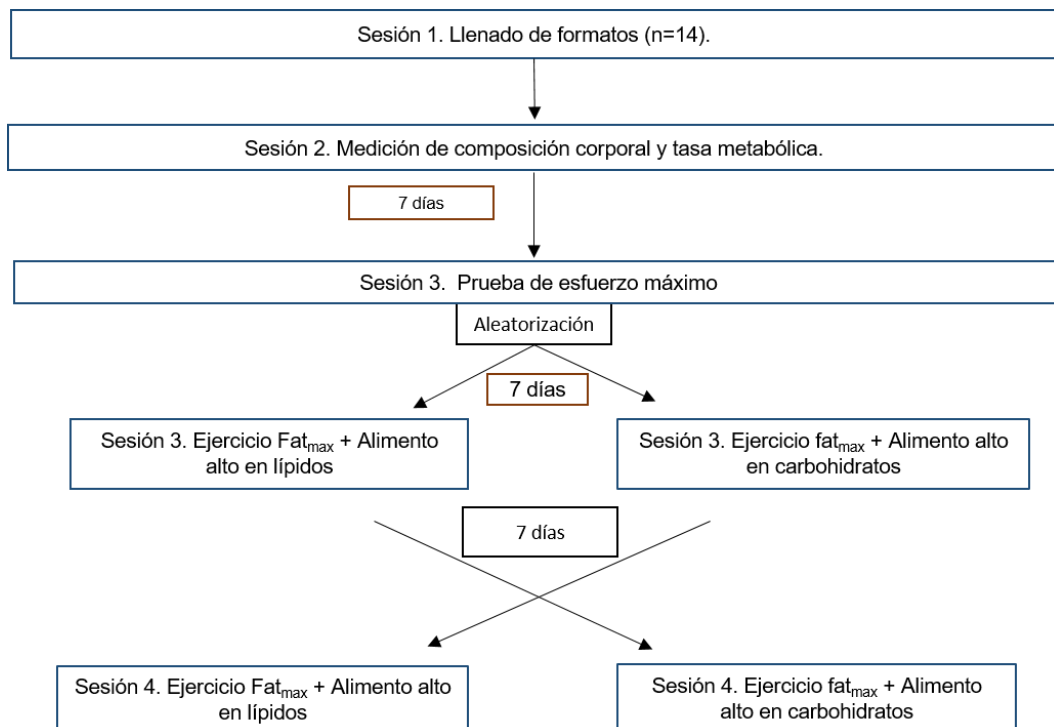
## MATERIALES Y MÉTODOS

### Sujetos

Se reclutaron 11 sujetos de sexo masculino cuya inclusión dependió de los siguientes aspectos: edad promedio de 18-45 años de edad; IMC igual o superior a 30 kg/m<sup>2</sup>; porcentaje de masa grasa igual o superior a 25%, nivel bajo de actividad física ( $\leq 600 \text{ MET}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{sem}^{-1}$ ); historial clínico sin antecedentes de enfermedades fisiológicas, metabólicas o incapacidades físicas.

### Protocolo.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. La muestra poblacional reclutada fue sometida a un estudio transversal con un diseño cruzado donde cada sujeto fungió como su propio control (Figura 7). El periodo de intervención fue de cinco semanas por sujeto, asistiendo a un total de cinco sesiones separadas por intervalos de 7 días.



**Figura 7.** Diseño experimental del estudio.

***Primera sesión.***

Los pacientes acudieron al laboratorio para realizar el llenado de los siguientes formatos: Carta de consentimiento informado (Anexo 1), historial clínico (Anexo 2) y Cuestionario internacional de actividad física (IPAQ, Anexo 3) historial clínico (Anexo 3). Asimismo, le fueron entregados los formatos de registro de alimentos y actividad física (Anexos 4).

***Segunda sesión.***

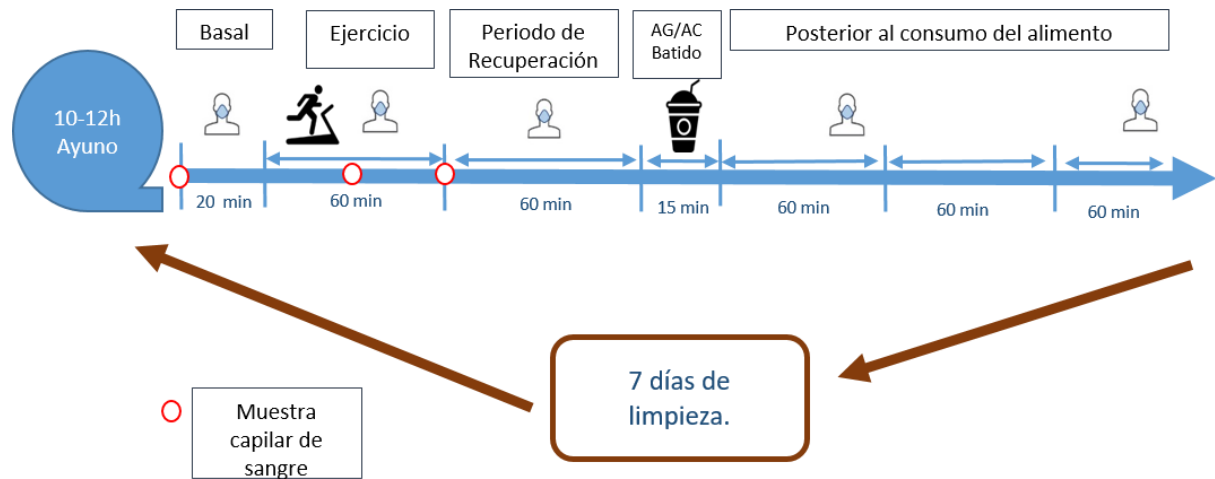
En esta sesión se determinó el peso, talla, composición corporal de los pacientes y su respectiva tasa metabólica en reposo.

***Tercera sesión.***

Consistió en la realización de una prueba de esfuerzo, previamente diseñada, que permitió la determinación de la intensidad  $Fat_{max}$  y el  $VO_{2max}$  en una misma sesión.

***Cuarta y quinta sesión.***

Las últimas dos sesiones consistieron en la realización de una hora de ejercicio al  $fat_{max}$ , la determinación del efecto del ejercicio en el periodo de recuperación (60 min), el consumo de un alimento con alto contenido de lípidos o carbohidratos, y la medición de su efecto sobre la tasa metabólica durante tres horas posteriores a su consumo (Figura 8).



**Figura 8.** Protocolo empleado durante la cuarta y quinta sesión.

**Carta de consentimiento informado.** Los pacientes recibieron un documento que contenía una explicación general sobre la justificación y objetivos del estudio, proporcionándoles de forma sintetizada la información y orden de los procedimientos a seguir durante la totalidad del estudio (Anexo 1). Su objetivo fue informar a los participantes sobre los beneficios a obtener y los posibles riesgos durante su participación. Los pacientes que estuvieron de acuerdo en ser incluidos en el estudio proporcionaron información personal de contacto, de un familiar y firmaron la carta de consentimiento informado.

**Historial clínico.** Se utilizó para evaluar el estado de salud general de cada uno de los individuos, con el objetivo de descartar la existencia de enfermedades metabólicas, cardiorrespiratorias, cardiovasculares o físicas, que impidiesen o afectasen la participación en el estudio (Anexo 2).

**Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ).** Se utilizó para determinar el nivel de actividad física de los pacientes, mediante el cálculo de

MET en minutos por semana, que fue realizado a través de 7 ítems que permiten conocer la frecuencia de realización de actividades físicas vigorosas, moderadas y de baja intensidad (caminar). Cada tipo de actividad corresponde a un determinado equivalente metabólico (Cuadro 8), el cual fue multiplicado por la frecuencia (d/sem) y duración (min) del ejercicio realizado, efectuando al final una sumatoria de los MET calculados para cada tipo de actividad, que permitió clasificar a los sujetos en un respectivo nivel de actividad física (Cuadro 9) (Anexo 3).

**Cuadro 8.** Equivalentes metabólicos para cada tipo de actividad física incluida en el IPAQ.

Actividad Física	METs
Vigorosa	8
Moderada	4
Caminar	3.3

**Cuadro 9.** Clasificación del nivel de actividad física, según el IPAQ.

Nivel	Met's·minuto <sup>-1</sup> ·semana <sup>-1</sup>
Bajo	<600
Moderado	600-1500
Alto	>1500

**Registros alimenticios.** Se utilizó para determinar el promedio de kcal y macronutrientes consumidos la semana previa al inicio del estudio, los pacientes realizaron un registro detallado de todos los alimentos ingeridos durante 7 días continuos, incluyendo su porción y modo de preparación (Anexo 3).

**Registro del peso.** Fue determinado mediante la utilización de una báscula digital (Cosmed), previamente calibrada con pesas de 20 kg. Para ello, los sujetos subían a la báscula vistiendo solo un calzoncillo de licra, mantenían su vista al frente y sus brazos a los costados.

**Registro de la estatura.** Para su determinación se empleó un estadiómetro de pared (seca). El sujeto se colocó debajo del estadiómetro, manteniendo su espalda y piernas rectas. La cabeza fue ajustada y mantenida en ángulo de Frankfurt, y la estatura fue determinada al realizar y sostener una inhalación profunda.

**Registro de la composición corporal.** Los porcentajes de masa grasa y masa libre de grasa fueron determinados mediante pletismografía corporal (Bod Pod, Cosmed, USA).

La densidad corporal fue determinada midiendo el peso y volumen de los individuos.

$$D = \frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Volumen (L)}}$$

Posteriormente, la masa grasa se determinó mediante la fórmula de Siri (1961).

$$\%MG = \frac{4.95}{d} - 4.50$$

Dónde: d=densidad corporal.

Previo a cada medición, el equipo fue calibrado utilizando un cilindro de volumen definido (50.402 L).

### ***Tasa metabólica***

La tasa metabólica fue determinada a través de calorimetría indirecta. Este método permite la medición continua del intercambio de gases respiratorios, al determinar el consumo de oxígeno ( $VO_2$ ) y producción de dióxido de carbono ( $VCO_2$ ), valores que son empleados para determinar la tasa metabólica en reposo (TMR), el cociente respiratorio y la tasa de oxidación de grasas (TOG) y carbohidratos (TOC). Durante el presente estudio, se empleó un analizador de gases CORTEX (METALYZER3B, Alemania), el cual utiliza una mascarilla de gases para la captación de estos. Esta cubre por completo la nariz y boca y es sostenida por una correa que se coloca alrededor del cráneo, lo cual impide la fuga de gases. Previo a cada medición, el analizador fue calibrado con el aire del ambiente y una mezcla conocida de gases (5%  $CO_2$ , 15%  $O_2$ , Balance de  $N_2$ ). El sensor de flujo fue calibrado con una jeringa de calibración de 3 L.

**Tasa metabólica en reposo.** La tasa metabólica en reposo es definida como la cantidad de energía que un organismo requiere para satisfacer los requerimientos energéticos de sus órganos y tejidos en condiciones de reposo. Para su determinación, el paciente permaneció recostado en una silla reclinable (ojos cerrados) durante un periodo de 15-30 minutos hasta alcanzar un estado estacionario de al menos 5 min, del cual se promediaron los valores de  $VO_2$  y  $VCO_2$  obtenidos de cada respiración para realizar los cálculos correspondientes. Buscando facilitar un estado de relajación durante la medición, la luz del cuarto permaneció apagada y se reprodujo una música de fondo relajante (Jazz). La TMR (kcal) fue determinada mediante la ecuación de Weir (Weir, 1949), y esta se empleó para determinar el requerimiento energético total de los individuos (RET), mediante la fórmula de:

$$RET = TMR + (TMR \cdot ETA) + (TMR \cdot NAF)$$

ETA: efecto termogénico de los alimentos= 0.10

NAF: Nivel de actividad física= 0.20

### Cociente respiratorio

Se determinó mediante la siguiente formula:

$$npRQ = \frac{VCO_2}{VO_2}$$

**Tasa de oxidación de sustratos energéticos.** La tasa de oxidación de lípidos y carbohidratos permite conocer la cantidad neta de sustrato oxidado ( $g \cdot \text{min}^{-1}$ ), y la contribución de cada sustrato al gasto energético. Estos valores se obtuvieron durante la medición de TMR, la prueba  $\text{fat}_{\text{max}}$ , las sesiones de ejercicio al  $\text{fat}_{\text{max}}$ , el periodo de recuperación posterior al ejercicio y la tasa metabólica en reposo posterior al consumo de los alimentos. La tasa de oxidación de sustratos se calculó mediante las siguientes ecuaciones estequiométricas (Frayn, 1983):

$$LIPox: (1.67 \cdot VO_2) - (1.67 \cdot VCO_2)$$

$$CHOox: (4.55 \cdot VCO_2) - (3.21 \cdot VO_2)$$

### **Prueba $\text{Fat}_{\text{max}}$ .**

La prueba se realizó sobre una banda sin fin (Quinton TM55, WA, USA) entre las 8:00-10:00 am tras un periodo de 10-12 h de ayuno. Previo al inicio de la prueba, los pacientes realizaron un calentamiento de cinco minutos a una velocidad de 2.5 mph e inclinación de 0%. La prueba inició a una velocidad de 1.9 mph e inclinación de 1%. Posteriormente la velocidad de la banda se incrementó 0.6 mph cada tres minutos hasta alcanzar una relación de intercambio respiratorio (RER) con valor de 1.0, tras lo cual se aumentó tanto la velocidad (0.6 mph) como la inclinación (1%) de la banda, hasta llegar al máximo esfuerzo. Durante la prueba se registraron las siguientes variables: frecuencia cardíaca, percepción del esfuerzo realizado (PER),  $[LA^-]_b$  en sangre (cada etapa), el  $VO_2$  y  $VCO_2$ . Los valores de  $VO_2$



y  $\text{VCO}_2$ , se utilizaron para calcular la tasa de oxidación de sustratos durante cada etapa del protocolo, empleando las ecuaciones mencionadas en la sección anterior (Frayn,1983). La PER fue determinada utilizando la escala de Borg con valores de 0-10. La intensidad  $\text{Fat}_{\text{max}}$  fue determinada al graficar la tasa de oxidación de grasas contra la intensidad del ejercicio ( $\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ).

**Frecuencia cardíaca.** Previo a la prueba  $\text{fat}_{\text{max}}$ , y durante la totalidad de la prueba se registró la frecuencia cardíaca (FC) utilizando un pulsímetro (Polar F6, Finlandia), que fue colocado a la altura del pecho.

El mayor valor de frecuencia cardíaca alcanzado durante la prueba fue registrado como la frecuencia cardíaca máxima (FCM). Al finalizar, se registró la FC alcanzada a la máxima oxidación de grasas y a la oxidación de grasas nula. La frecuencia cardíaca correspondiente a la intensidad LIAB y al punto OBLA, se determinó graficando la  $[\text{LA}^-]_b$  contra la frecuencia cardíaca, para cada paciente.

El valor promedio de FC correspondiente a cada etapa fue transformado a  $\% \text{FCM}$ , mediante la siguiente formula:

$$\% \text{FCM} = \frac{(\text{FCE} \times 100)}{\text{FCM}}$$

Dónde: FCE= Valor promedio de FC durante la etapa.

**Medición del  $\text{VO}_{2\text{max}}$ .** El consumo de oxígeno (L y mL) se registró continuamente durante la totalidad de la prueba, promediando los valores de los últimos 2 minutos de cada etapa para realizar los cálculos de la TOS.

El valor máximo de  $\text{VO}_2$  alcanzado durante la prueba, fue registrado como  $\text{VO}_{2\text{max}}$ , indicador que permite conocer el estado de acondicionamiento físico y la condición cardiopulmonar.

Al finalizar la prueba, se registró el valor de  $\text{VO}_2$  correspondiente a la intensidad

Fat<sub>max</sub> y Fat<sub>min</sub>. El valor promedio de VO<sub>2</sub> correspondiente a cada etapa, fue transformado a %VO<sub>2max</sub>, mediante la siguiente formula:

$$\%VO_{2max} = \frac{(VO_{2E} \times 100)}{VO_{2max}}$$

Dónde: VO<sub>2E</sub>= Valor promedio de VO<sub>2</sub> durante la etapa.

**Lactato.** Previo al ejercicio y durante los últimos 30 segundos de cada etapa, se tomó una muestra capilar de sangre de las yemas de los dedos para determinar la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> (mM). Las muestras de sangre fueron colocadas en tiras reactivas (nova Biomedical, UK) y analizadas con un aparato nova Biomedical. Los valores de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> correspondientes a cada etapa se graficaron contra su respectivo VO<sub>2</sub> para realizar una regresión polinómica de segundo orden. La ecuación obtenida se utilizó para calcular los valores de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> correspondientes al VO<sub>2</sub> de cada etapa del protocolo, la intensidad LIAB, OBLA y la intensidad de ejercicio correspondiente a una [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 mM arriba de la concentración basal. El [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> fue determinado mediante el método ULAB y el Dmax (página 36). La [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> encontrada en la última etapa completada durante la prueba de esfuerzo fue registrada como la concentración máxima de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub>. Al final de la prueba se registró la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> correspondiente al Fat<sub>max</sub> y Fat<sub>min</sub>.

**Cena controlada.** La noche previa a la prueba de esfuerzo, y las subsiguientes sesiones de ejercicio (Figura 8), los sujetos consumieron una cena con una proporción balanceada de macronutrientes (55% CHO, 30% LIP, 15% PROT), con el objetivo de favorecer una tasa metabólica similar en todas las sesiones de ejercicio. La cena fue diseñada para suplir el 30% del RET de cada individuo.

Ejercicio Fat<sub>max</sub>

Los pacientes realizaron una hora de ejercicio a la intensidad del Fat<sub>max</sub> en estado de ayuno sobre una banda sin fin. Como parámetro de control de la intensidad del ejercicio se utilizó la frecuencia cardíaca, con una variación menor de 6 lat/min

durante todo el ejercicio, para ello se aumentó o disminuyó ligeramente la velocidad de la banda sin fin. El intercambio de gases respiratorios se registró durante toda la hora de ejercicio. Para realizar los cálculos de oxidación de sustratos, la sesión fue dividida en etapas de 10 minutos, y los valores promedio de  $VO_2$  y  $VCO_2$  durante los últimos 5 minutos de cada etapa fueron empleados para calcular la tasa de oxidación de lípidos y carbohidratos. Al final de cada sesión de ejercicio se registró la MTOG alcanzada para determinar la validez del protocolo. Asimismo, se calculó el valor promedio de la TOG, TOC,  $VO_2$ ,  $VCO_2$ , RER, GE y  $[LA^-]_b$  en reposo y durante el ejercicio para determinar si existió una variación interdiaria en el metabolismo. Para calcular la oxidación total de sustratos se promediaron los valores obtenidos de cada etapa y se multiplicaron por la duración total en minutos de la sesión de ejercicio:

$$LIPoxT = LIPox (g \cdot min) \cdot 60 min$$

$$CHOoxT = CHOox (g \cdot min) \cdot 60 min$$

**Gasto energético.** Para determinar el gasto energético del ejercicio (GE), la oxidación total de cada sustrato fue multiplicada por su respectivo equivalente calórico (9 kcal para lípidos y 4 kcal para carbohidratos), y posteriormente sumadas:

$$GEE: (LIPoxT \cdot 9) + (CHOox \cdot 4)$$

El gasto energético en kilocalorías fue convertido a kilojulios ( $kcal \cdot 4.18$ ), unidad en la que se reporta en los resultados.

**Lactato y percepción del esfuerzo.** Durante el ejercicio, se tomaron muestras capilares de sangre a los 30 y 60 minutos, con la finalidad de observar la cinética durante 60 minutos de ejercicio  $Fat_{max}$ . Asimismo, cada 10 minutos se registró la PER, para observar el nivel de cansancio según la dosis de ejercicio otorgada.

**Efecto del ejercicio.** Al finalizar la sesión de ejercicio, el paciente tomaba asiento en una silla reclinable donde permaneció despierto y en reposo durante 60 minutos. Durante este periodo se determinó la TMR, el RQnp y las TOS mediante calorimetría indirecta, realizando los mismos cálculos explicados en la sección anterior.

### ***Alimentos***

Al finalizar la medición de la tasa metabólica post ejercicio se otorgó a los pacientes un alimento previamente diseñado para proveer el 25% de su RET. Se otorgaron 15 minutos a los pacientes, para consumir el alimento. El orden de consumo de los alimentos fue previamente aleatorizado, utilizando el Random Allocation Software v 1.0.

**Diseño de los alimentos.** Los alimentos se proporcionaron en forma de batido, estos se igualaron en contenido calórico a pesar de diferir en su composición de macronutrientes (Cuadro 10). Para ello, los ingredientes empleados en cada alimento (Cuadro 11), fueron sometidos a análisis proximal, utilizando los métodos establecidos por la Asociación Analítica de Químicos Oficiales (AOAC): humedad (926.12), cenizas (945.46), proteína (991.20), lípidos totales (Gerber y Soxhlet) y carbohidratos por diferencia (Carbohidratos= 100 menos la suma de los cálculos anteriores). Todas las muestras fueron analizadas por triplicado. La cantidad de ácidos grasos de cadena media fue calculada mediante la información proporcionada por la base de datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA). Los alimentos fueron probados por los investigadores para asegurar una textura, sabor y olor agradables.

**Cuadro 10.** Composición de macronutrientes de los alimentos a emplearse en el estudio.

Alimento	%Carbohidratos	%Lípidos	%Proteínas	%RET
Alto en lípidos	15	70	15	25
Alto en carbohidratos	70	15	15	25

**Cuadro 11.** Ingredientes integrados en los alimentos empleados en el estudio.

Alimento	Ingredientes
Alto en lípidos	Aceite de coco (LouAna), proteína de soya en polvo, plátano, Leche baja en grasa (LALA 1%), edulcorante (Stevia)
Alto en carbohidratos	Aceite de coco (LouAna), avena (¿?), manzana, leche baja en grasa (LALA 1%).

**Efecto del alimento.** El efecto de los alimentos sobre la tasa metabólica en reposo y la tasa de oxidación de sustratos, se determinó mediante calorimetría indirecta, bajo las mismas condiciones mencionadas en la sección 3. Para ello, se realizaron tres mediciones posteriores al consumo del alimento, separadas por intervalos de 60 minutos (Figura 10).

### **Análisis estadístico.**

La distribución de los datos de todas las variables fue determinada mediante la prueba de Shapiro-Wilk. La correlación entre la TOG, la TOC y  $[LA^-]_b$  se determinó mediante el coeficiente de correlación de Spearman. La correlación entre el  $VO_2max$ , el NAF y la MTOG se determinó mediante el coeficiente de correlación de Pearson. Asimismo, la correlación entre la intensidad al  $Fat_{max}$ , UL,  $Fat_{min}$  y OBLA, se determinó mediante el coeficiente de correlación de Pearson y Spearman. Las diferencias entre la intensidad absoluta y relativa al  $Fat_{max}$ , LIAB, ULAB, Dmax,  $Fat_{min}$  y OBLA se determinaron mediante pruebas de t para muestras emparejadas, Friedman y Wilcoxon. La correlación entre estas intensidades del ejercicio y el  $VO_2max$  se determinó mediante el coeficiente de correlación de Pearson y Spearman. La diferencia en la MTOG durante la prueba  $Fat_{max}$  y las sesiones de ejercicio se determinó mediante una prueba de Friedman. Las diferencias en los valores de la TOC,  $VO_2$ , TM,  $[LA^-]_b$  y FCR en reposo se determinó mediante Anova de medidas repetidas. La diferencia en la TOG en reposo se determinó por prueba de Friedman. La variación interdiaria del  $VO_2$ , la TOG, la TOC, la FC, el  $[LA^-]_b$  y el RER durante las dos sesiones de ejercicio fue determinada mediante el coeficiente de correlación intraclase (CCI), el coeficiente de variación (CV), prueba de t para muestras emparejadas, Friedman y Wilcoxon. El efecto del ejercicio y del alimento sobre el metabolismo energético se determinó mediante las diferencias entre tiempo, analizadas por ANOVA de medidas repetidas utilizando el ajuste de Bonferroni para encontrar la ubicación exacta de la diferencia, o bien por prueba de Friedman y Wilcoxon según su distribución. Las diferencias entre la composición de los alimentos y su efecto sobre el metabolismo se determinaron por prueba de t de para muestras emparejadas o Wilcoxon. El tamaño del efecto de los alimentos sobre la TOG, la TOC, RQnp y la TMR se determinó mediante la d de Cohen, comparando la media de los valores obtenidos previo al consumo del alimento vs la media obtenida a las 3 h post alimento. El

tamaño del efecto se clasificó como bajo (0.2), medio (0.5), grande (>0.8) y muy grande (>1.0). Las diferencias en la oxidación y balance de sustratos entre alimentos se determinaron mediante pruebas de t para muestras relacionadas y Wilcoxon.

Para el análisis estadístico se utilizaron el software SPSS v.22 (IBM, Chicago, IL) y el software G Power v 3.1. Para la construcción de gráficos se utilizó el software Graphpad Prism v.8. En los Cuadros los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar (DE), mientras que en las Figuras se presentan como media  $\pm$  error estándar de la media (EEM). Para todos los análisis se utilizó un nivel de significancia de 0.05.

## RESULTADOS

Las características físicas y el NAF de los pacientes reclutados se describen en el Cuadro 12. De los 11 pacientes reclutados solamente 8 entregaron completo su registro alimenticio de 7 días continuos, por lo cual en las características de la dieta solo se reportan los datos de estos 8 pacientes (Cuadro 13).

**Cuadro 12.** Características físicas y nivel de actividad física.

Edad (años)	28±7
Peso Corporal (kg)	102.01±15.96
Estatura (m)	1.72±0.08
IMC (Kg·m <sup>2</sup> )	34.18±3.76
MG (kg)	39.30±9.25
%MG	38.3±5.3
MLG (kg)	62.65±9.62
%MLG	61.6±5.3
IMG (Kg de MG·m <sup>2</sup> )	13.23±3.00
MET's·min <sup>-1</sup> ·sem <sup>-1</sup>	508 ±414

Los datos se presentan como media±DE. IMC, índice de masa corporal; MF, masa grasa; MLG, masa libre de grasa; IMG, índice de masa grasa.

**Cuadro 13.** Características de la dieta.

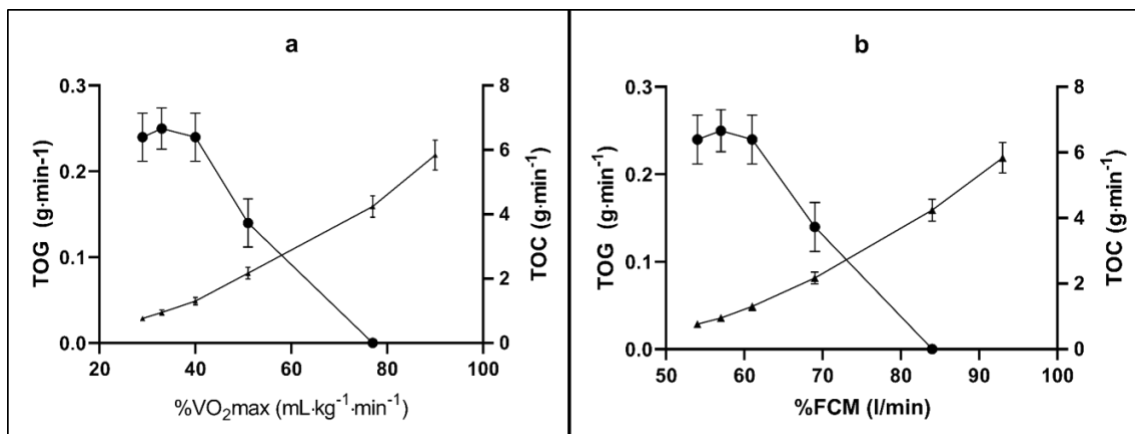
Ingesta calórica (kcal·d)	2109±691
% Lípidos	33±7
% Carbohidratos	47±7
% Proteínas	20±3



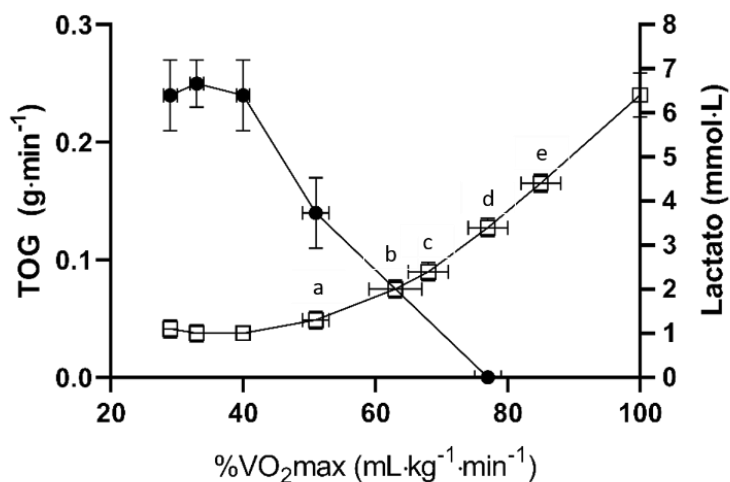
Los datos se presentan como media  $\pm$  DE

### Prueba Fat<sub>max</sub>.

La cinética de oxidación de sustratos energéticos respecto a la intensidad del ejercicio se muestra en la figura 9. El VO<sub>2</sub>max alcanzado fue de 36.55 $\pm$ 4.18 mL·Kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>, indicando una baja condición cardiopulmonar en los pacientes. La MTOG alcanzada durante la prueba fue de 0.25 $\pm$ 0.08 g·min<sup>-1</sup>, y esta se presentó al 33 $\pm$ 4% del VO<sub>2</sub>max, al 57.4% de la FCM, a una PER de 2 $\pm$ 1 y a una concentración de LACT de 1.1 $\pm$ 0.4 mM (Figura 10). La Fat<sub>max</sub> se alcanzó a una velocidad de 2.4 $\pm$ 0.6 mph, una FC de 103 $\pm$ 5 lal·min<sup>-1</sup> y una PER de 2 $\pm$ 1. La Fat<sub>min</sub> se presentó al 77 $\pm$ 7 del %VO<sub>2</sub>max, al 84 $\pm$ 9% de la FCM, a una [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> de 3.4 $\pm$ 1.0 mM, una velocidad de 4.3 $\pm$ 0.4 mph, una FC de 151 $\pm$ 15 lat·min<sup>-1</sup> y una PER de 6 $\pm$ 1. La [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> fue de 1.4 $\pm$ 0.6 mM, y permaneció hasta el 51 $\pm$ 6% del VO<sub>2</sub>max (LIAB). A partir de ese punto la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> se incrementó gradualmente hasta una concentración máxima de 6.4 $\pm$ 1.8 mM. La correlación entre la TOG y la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> fue negativa ( $r = -0.71$ ,  $p < 0.01$ ) y entre la TOC y la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> fue positiva ( $r = 0.70$ ,  $p < 0.01$ ). El punto OBLA se alcanzó al 82 $\pm$ 10% VO<sub>2</sub>max.



**Figura 9.** Los datos se presentan como media $\pm$ EEM. Cinética de la tasa de oxidación de grasas (●) y carbohidratos (Δ) respecto a la intensidad del VO<sub>2</sub>max y la FCM (a y b, respectivamente).



**Figura 10.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Tasa de oxidación de grasas (●) y  $[LA^-]_b$  (□) respecto a la intensidad del  $VO_2max$ .<sup>a</sup> Intensidad LIAB, <sup>b</sup> +0.5 mM<sup>1</sup>, <sup>c</sup>+1.0 mM, <sup>d</sup>+2.0 mM, <sup>e</sup>+3.0 mM.

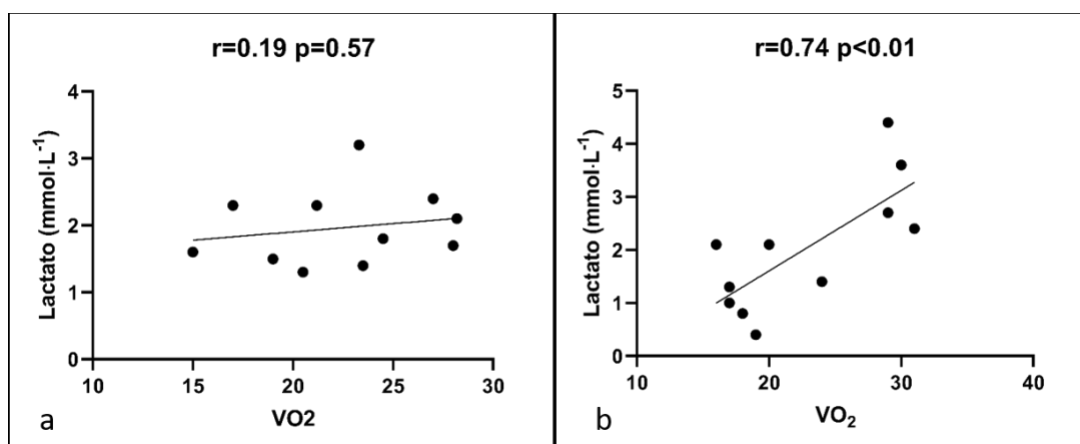
El UL calculado mediante el método ULAB se alcanzó a un  $VO_2$  de  $22.47 \pm 4.39$  y a un  $\%VO_2max$  del  $64 \pm 12\%$ , sin mostrar diferencia significativa respecto a los datos obtenidos mediante el método Dmax ( $p=0.89$ ,  $p=0.92$  para intensidad absoluta y relativa respectivamente) (Cuadro 14). La  $Fat_{max}$  se presentó a una intensidad menor que el LIAB y el UL ( $p<0.01$ ). La  $Fat_{min}$  ocurrió a una intensidad mayor que el LIAB y el UL, sin ser distinta de la intensidad OBLA.

Aunque la intensidad del UL no fue distinta entre el método ULAB y el Dmax, los valores de  $VO_2$  y  $[LA^-]_b$  solo mostraron una correlación significativa al ser calculados mediante el método Dmax (Figura 11). La correlación entre el  $VO_2max$ ,  $Fat_{max}$ ,  $Fat_{min}$ , OBLA y el UL determinado por el método ULAB y el Dmax se muestran en la Cuadro 15.

**Cuadro 14.** Intensidad del ejercicio y  $[LA^-]_b$  correspondiente al  $Fat_{max}$ , LIAB, ULAB, Dmax,  $Fat_{min}$  y OBLA.

	$VO_2$ ( $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ )	$\%VO_2max$	$[LA^-]_b$ (mM)
$Fat_{max}$	$11.82 \pm 1.25$	$33 \pm 4$	$1.1 \pm 0.4$
LIAB	$18.18 \pm 2.04$	$51 \pm 6$	$1.3 \pm 0.6$
ULAB	$22.47 \pm 4.39$	$63 \pm 12$	$2.0 \pm 0.6$
Dmax	$22.73 \pm 5.97$	$62 \pm 11$	$2.0 \pm 1.2$
$Fat_{min}$	$27.91 \pm 1.8$	$77 \pm 7$	$3.4 \pm 1.0$
OBLA	30.10	$81 \pm 11$	4.0

Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM.  $[LA^-]_b$ , lactato;  $VO_2$ , consumo de oxígeno;  $\%VO_2 max$ ; intensidad del ejercicio.  $Fat_{max}$ , intensidad de máxima oxidación de grasas; LIAB, Intensidad a partir de la cual se incrementa la  $[LA^-]_b$ ; ULAB, intensidad a la cual el  $[LA^-]_b$  se incrementa 0.5 mM; Dmax, Umbral de  $[LA^-]_b$ ; OBLA,  $[LA^-]_b$  de 4 mM.



**Figura 11.** Correlación entre el  $VO_2$  y la  $[LA^-]_b$  (mM) correspondiente al umbral de  $[LA^-]_b$  determinado por el método ULAB (a) y el método Dmax (b).

**Cuadro 15.** Correlación entre el VO<sub>2</sub>max y la intensidad de ejercicio al Fat<sub>max</sub>, Fat<sub>min</sub>, LIAB, ULAB, Dmax y OBLA.

	VO <sub>2</sub> max	Fatmax VO <sub>2</sub>	LIAB VO <sub>2</sub>	ULAB VO <sub>2</sub>	Dmax VO <sub>2</sub>	FatminVO <sub>2</sub>	OBLA VO <sub>2</sub>
VO <sub>2</sub> max		0,5	0,5	0,22	0,80**	0,74	0,44
Fat <sub>max</sub> VO <sub>2</sub>			0,42	0,70*	0,49	0,68*	0,77**
LIAB VO <sub>2</sub>				0,59	0,51	0,58	0,55
ULAB VO <sub>2</sub>					0,11	0,53	0,74*
Dmax VO <sub>2</sub>						0,54	0,36
Fat <sub>min</sub> VO <sub>2</sub>							0,81**

VO<sub>2</sub>max, máximo consumo de oxígeno; Fat<sub>max</sub>, Intensidad de máxima oxidación de grasas; LIAB, intensidad a la cual se presentó el primer incremento de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub>; ULAB y Dmax, umbral de lactato; Fat<sub>min</sub>, intensidad de oxidación de grasas nula. \*p<0.05; \*\* p<0.01.

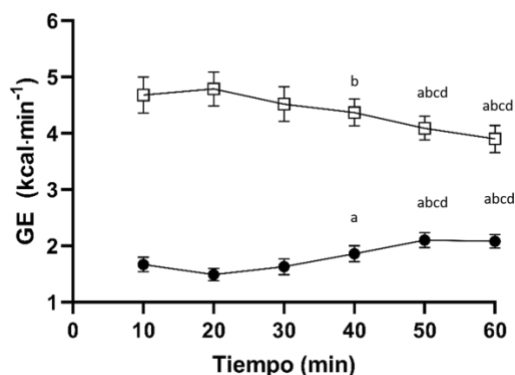
### Validación del protocolo

La MTOG alcanzada durante la sesión 1 fue de 0.26±0.07 g·min<sup>-1</sup> y durante la sesión 2 fue de 0.23±0.06 g·min<sup>-1</sup>. Al compararla con la MTOG alcanzada durante el protocolo Fat<sub>max</sub> no se encontró diferencia significativa (p=0.20). El CV para esta variable fue de 6%.

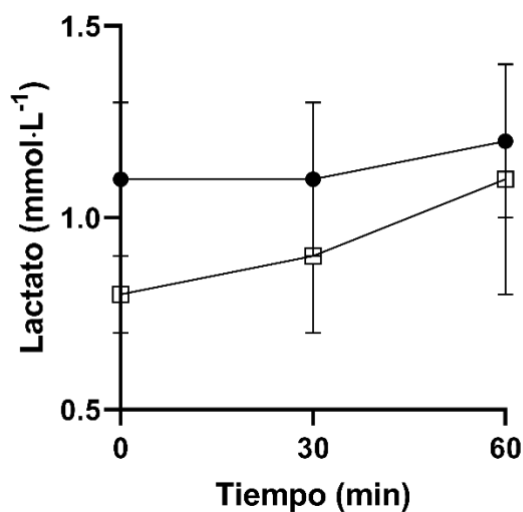
### Oxidación de sustratos y de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> durante el ejercicio Fat<sub>max</sub>.

La contribución de lípidos al GE fue aumentando conforme al tiempo, siendo mayor durante los últimos 20 minutos de ejercicio. Sin embargo, la contribución de carbohidratos disminuyó progresivamente y fue menor durante los últimos 20 minutos de ejercicio (Figura 12). Debido a problemas técnicos, la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> durante las 2 sesiones de ejercicio fue determinada solo en 8 participantes. El [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> fue aumentando conforme al tiempo durante las dos sesiones de ejercicio, sin

embargo, al comparar la  $[LA^-]_b$  a los 30 y 60 minutos no se encontró diferencia significativa ( $p=0.79$ ,  $p=0.40$ , para la sesión 1 y 2 respectivamente). La  $[LA^-]_b$  promedio durante ambas sesiones de ejercicio se mantuvo debajo de la concentración correspondiente al UL ( $<2$  mM) (Cuadro 16).



**Figura 12.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Contribución de lípidos (●) y carbohidratos (□) durante el ejercicio. GE, gasto energético. <sup>a</sup>  $p<0.05$  vs 10 min; <sup>b</sup>  $p<0.05$  vs 20 min; <sup>c</sup>  $p<0.05$  vs 30 min; <sup>d</sup>  $p<0.05$  vs 40 min.



**Figura 13.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Concentración de LT durante la primera (●) y segunda (□) sesión de ejercicio.

Variabilidad interdiaria de la tasa metabólica en reposo y durante el ejercicio  $Fat_{max}$ . Los valores del CCI para la TOG, TOC, RER,  $VO_2$ ,  $VCO_2$ ,  $\%VO_{2max}$ , FC,  $[LA^-]_b$  y GE entre las dos sesiones de ejercicio fue entre 0.72 y 0.99, existiendo un coeficiente de variación  $\leq 7\%$  entre las sesiones de ejercicio (Cuadro 15). La comparación de muestras emparejadas mostró diferencias significativas entre las sesiones del ejercicio solo en el  $VO_2$ , siendo menor en la segunda sesión de ejercicio ( $p < 0.05$ ). No existieron diferencias significativas entre sesiones para los valores en reposo previo al ejercicio: TOG ( $p = 0.13$ ), TOC ( $p = 0.80$ ),  $VO_2$  ( $p = 0.30$ ), TM ( $p = 0.35$ ),  $[LA^-]_b$  ( $p = 0.52$ ) y FCR ( $p = 0.30$ ). Al ordenar los datos del ejercicio conforme a la sesión del alimento consumido tampoco se encontraron diferencias significativas.

**Cuadro 16.** Variación de la tasa metabólica, intensidad del ejercicio, frecuencia cardíaca y concentración de LT durante las dos sesiones de ejercicio.

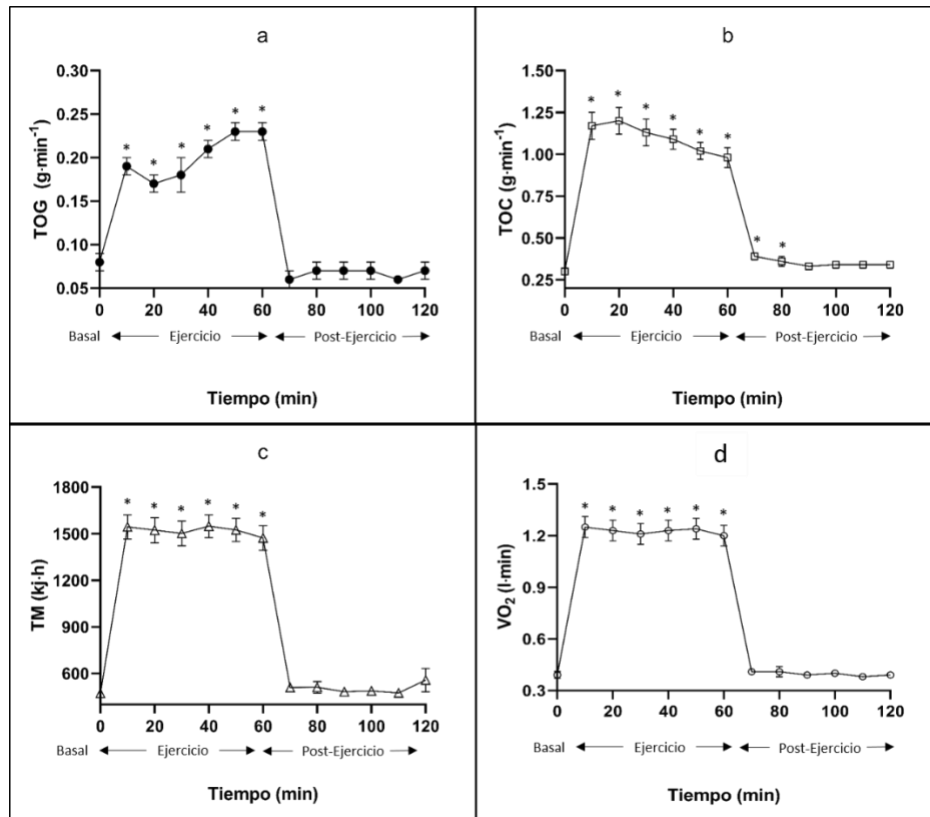
	EX- Sesión 1	EX-Sesión 2	CCI	CV	valor p
TOG ( $g \cdot min^{-1}$ )	0.21 (0.17-0.24)	0.19 (0.15-0.24)	0.75	7%	0.49
TOC ( $g \cdot min^{-1}$ )	1.11 (0.90-1.32)	1.08 (0.89-1.28)	0.99	2%	0.16
RER	0.90 (0.89-0.91)	0.90 (0.89-0.92)	0.72	0%	0.32
$VO_2$ ( $L \cdot min^{-1}$ )	1.25 (1.04-1.45)	1.16 (0.97-1.36)	0.96	5%	$< 0.05$
$VCO_2$ ( $L \cdot min^{-1}$ )	1.13 (0.94-1.31)	1.09 (0.90-1.29)	0.97	3%	0.25
$\%VO_{2max}$	33 (30-37)	32 (29-36)	0.91	4%	0.30
FC ( $lat \cdot min^{-1}$ )	105 (98-111)	105 (99-111)	0.96	0%	0.80
$[LA^-]_b$ (mM)	1.1 (0.7-1.5)	1.0 (0.5-1.4)	0.90	7%	0.25
GE ( $kJ \cdot h^{-1}$ )	1579 (1322-1837)	1523.88 (1284-1763)	0.97	4%	0.12

Los datos se presentan como media  $\pm$  95% IC. TOG, tasa de oxidación de grasas; TOC, tasa de oxidación de carbohidratos; RER, relación de intercambio respiratorio;  $VO_2$ , consumo de oxígeno;

VCO<sub>2</sub>, dióxido de carbono; %VO<sub>2</sub>max, intensidad del ejercicio; FC, frecuencia cardíaca; [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub>, concentración lactato en sangre; GE, gasto energético.

### **Efecto del ejercicio sobre la oxidación de sustratos energéticos, la tasa metabólica en reposo y el consumo de oxígeno.**

Los valores de la TOG, TOC, TM y VO<sub>2</sub> previo al ejercicio, durante el ejercicio y en el periodo posterior al ejercicio se muestran en la figura 14. La contribución de lípidos y carbohidratos al GE durante el ejercicio se muestra en la figura 15. Previo al ejercicio la TOG en reposo fue de  $0.08 \pm 0.03 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , la TOC de  $0.30 \pm 0.10 \text{ g} \cdot \text{min}^{-1}$ , la TMR de  $471.24 \pm 97.36 \text{ KJ} \cdot \text{h}^{-1}$  y el VO<sub>2</sub> fue de  $0.39 \pm 0.08 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$ . Comparados con los valores basales la TOG, TOC, TM y el VO<sub>2</sub> fueron más altos durante toda la sesión de ejercicio (figura 13,  $p < 0.05$ ). El ejercicio no propicio una mayor TOG, TM o VO<sub>2</sub> durante los 60 minutos post ejercicio. La TOC permaneció superior a los valores alcanzados en reposo durante los primeros 20 minutos post ejercicio y a los 30 minutos alcanzo los valores basales.



**Figura 14.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Tasa de oxidación de grasas (a), tasa de oxidación de carbohidratos (b), Tasa metabólica (c) y consumo de oxígeno (d) previo al ejercicio (0), durante el ejercicio (0-60 minutos) y en el periodo post ejercicio (60-120 minutos).

### Alimentos.

La composición proximal de los alimentos diseñados se muestra en el Cuadro 17. El contenido energético del alimento alto en grasas (AEG) fue de  $3352 \pm 605$  Kj y el del alimento alto en carbohidratos (AEC) de  $3380 \pm 624$  Kj, sin existir diferencia significativa entre alimentos ( $p=0.92$ ) (Cuadro 18). La comparación de muestras emparejadas mostró diferencias significativas en la proporción de carbohidratos ( $p<0.01$ ), lípidos ( $p<0.01$ ) y proteínas entre alimentos ( $p<0.01$ ). Asimismo, la cantidad en gramos de carbohidratos y lípidos fue diferente entre alimentos ( $p<0.01$ ), sin encontrarse diferencia significativa en el contenido de proteínas ( $p=0.53$ ). En el AEG el contenido de AGCM fue de  $31.40 \pm 5.49$ .



**Cuadro 17.** Composición proximal de los alimentos.

	AEG	AEC	valor p
%Humedad	73.75±1.24	80.75±1.26	<0.01
%Cenizas	0.75±0.03	0.64±0.04	<0.01
%Carbohidratos	7.89±1.50	14.15±1.10	<0.01
%Lípidos	12.83±0.67	1.51±0.23	<0.01
%Proteínas	5.33±0.64	2.94±0.28	<0.01

Los datos se presentan como media ± DE. AEG, alimento alto en grasas; AEC, alimento alto en carbohidratos.

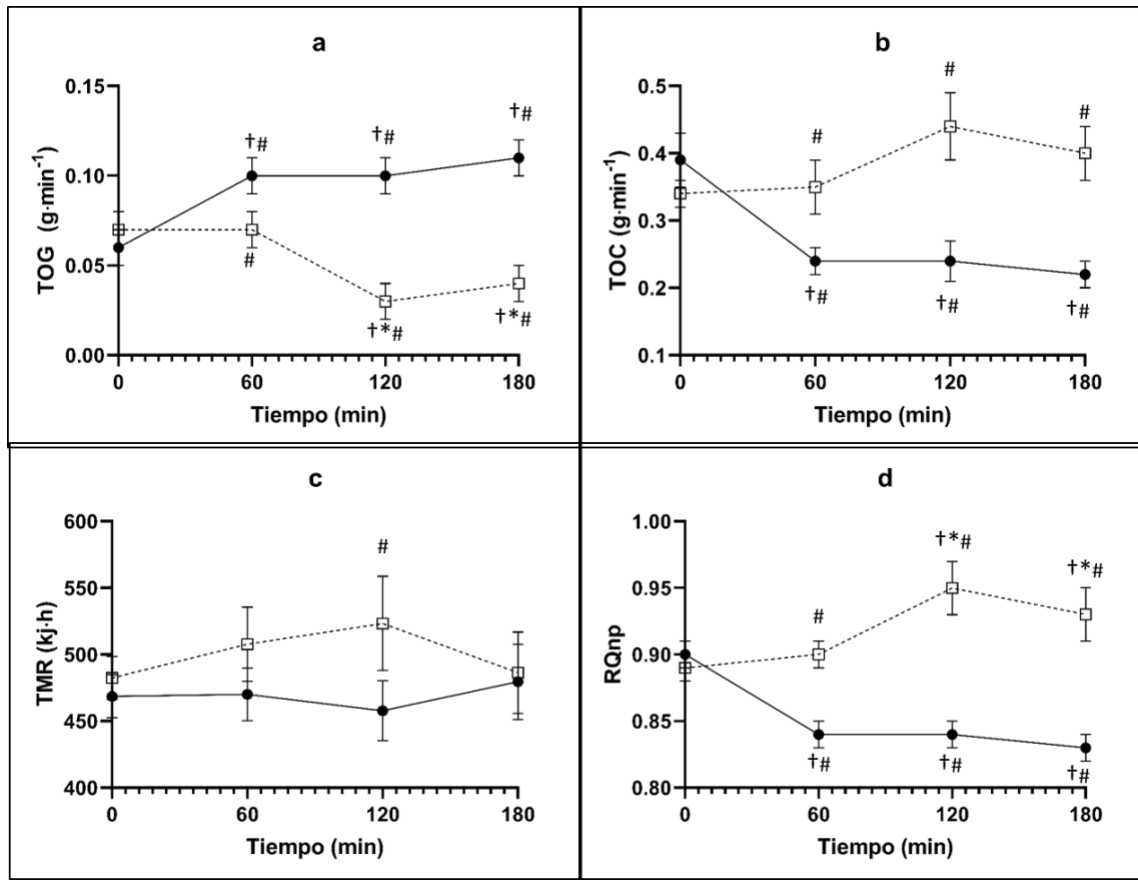
**Cuadro 18.** Contenido energético, proporción y contenido de macronutrientes en los alimentos.

	AEG	AEC	valor p
Contenido Energético (Kj)	3352±605	3380±624	0.92
%Carbohidratos	17.91±0.70	69.27±0.91	<0.01
%Lípidos	69.27±1.55	15.82±1.25	<0.01
%Proteínas	12.82±1.16	14.73±1.34	<0.05
Carbohidratos (g)	35.85±6.65	138.23±25.23	<0.01
Lípidos (g)	61.83±11.39	14.63±3.79	<0.01
Proteínas (g)	24.95±5.03	28.66±3.23	0.53

Los datos se presentan como media ± DE. AEG, alimento alto en grasas; AEC, alimento alto en carbohidratos.

### **Efecto de los alimentos sobre la oxidación de sustratos energéticos y la tasa metabólica en reposo.**

Los cambios propiciados por los alimentos sobre la TOG, la TOC, la TMR y el RQnp se muestran en la Figura 15. El tamaño del efecto de los alimentos se muestra en el Cuadro 18. El AEG incrementó la TOG ( $+0.05 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $p<0.01$ ), disminuyó la TOC ( $-0.17 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $p<0.01$ ) y redujo el RQnp ( $-0.07$ ,  $p<0.01$ ), sin afectar la TMR ( $p=0.18$ ). Por su parte el alimento AEC redujo la TOG ( $-0.04 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ ) y aumentó el RQ ( $+0.04$ ,  $p<0.01$ ) sin afectar significativamente la TOC ( $p=0.59$ ) ni la TMR ( $p=0.20$ ). La comparación de muestras emparejadas mostró diferencias significativas para la TOG, TOC y RQnp entre sesiones durante las 3 horas posteriores al alimento. No se encontraron diferencias para los valores en reposo previo a la ingesta de alimentos. El AEG tuvo un tamaño del efecto muy grande sobre la TOG, TOC y RQnp ( $\geq 1.8$ ) y un efecto muy bajo sobre la TMR (0.10). Por su parte, el AEC tuvo un efecto muy grande sobre la TOG (1.08), un efecto medio sobre la TOC (0.49) y RQnp (0.78), y muy bajo sobre la TMR (0.05).



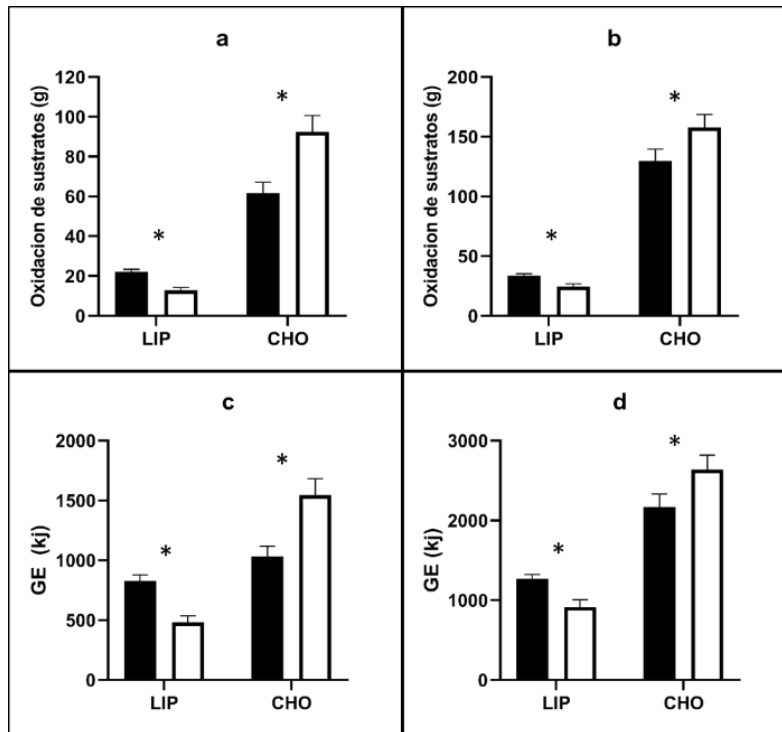
**Figura 15.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Efecto del alimento alto en grasas (-●-) y el alimento alto en carbohidratos (-□-) sobre la tasa de oxidación de grasas (a), la tasa de oxidación de carbohidratos (b), la tasa metabólica en reposo (c) y el RQnp (d). #  $p < 0.05$  entre alimentos, †  $p < 0.05$  vs Previo al alimento (0), \*  $p < 0.05$  vs 1 h Post alimento (60 min).

**Cuadro 19.** Tamaño del efecto propiciado por los alimentos sobre la tasa de oxidación de grasas, la tasa de oxidación de carbohidratos, RQ y tasa metabólica en reposo.

	AEG			AEC		
	Previo-A	3 h Post-A	<sup>d</sup> Cohen	Previo-A	3 h Post-A	<sup>d</sup> Cohen
TOG	0.06±0.02	0.11±0.03	1.80	0.07±0.02	0.04±0.03	1.08
TOC	0.39±0.04	0.22±0.02	4.61	0.34±0.08	0.40±0.15	0.49
RQnp	0.90±0.03	0.83±0.04	2.28	0.89±0.03	0.93±0.06	0.78
TMR	468.6±53.7	479.5±93.5	0.10	482.44±5.3	486.4±101.3	0.05

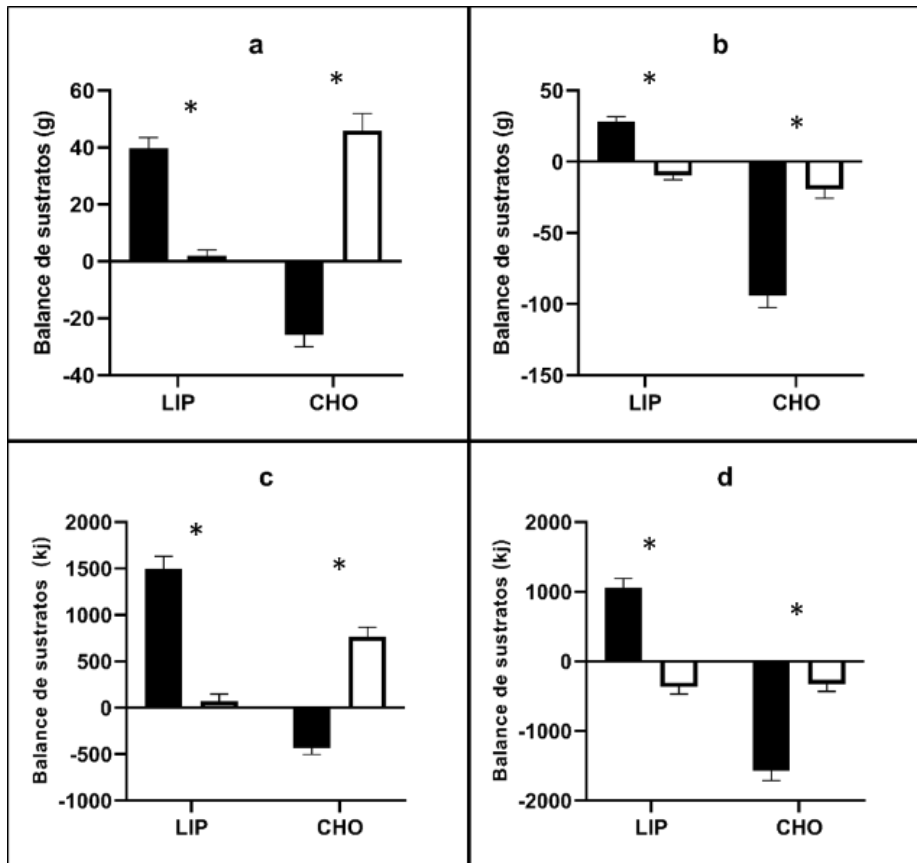
Los datos se presentan como media ± DE. TOG, tasa de oxidación de grasas, TOC, tasa de oxidación de carbohidratos; RQnp, cociente respiratorio; TMR, tasa metabólica en reposo.

Durante las 4h post alimento, el AEG propició una oxidación de 22.02±1.33 g (828±49 kj) de lípidos y 61.75±5.25 g (1032±87 kj) de carbohidratos. Por su parte el AEC propicio una oxidación de 12.80±1.44 g (481±54 kj) de lípidos y 92.34±8.20 g (1543±137 kj) de carbohidratos. Al sumar a estos valores la cantidad de lípidos y carbohidratos utilizados durante el ejercicio, la oxidación de lípidos fue mayor durante la sesión del AEG (p<0.01) mientras que la oxidación de carbohidratos fue mayor durante la sesión del AEC (p<0.01) (Figura 16).



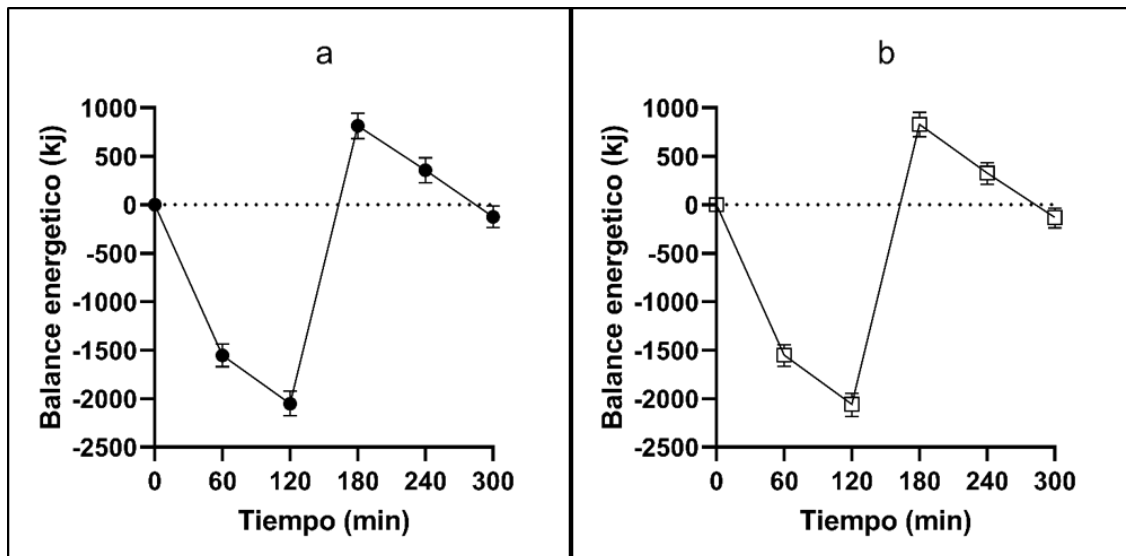
**Figura 16.** Comparación del gasto energético y oxidación total sustratos propiciados por el alimento alto en grasas (barras negras) y el alimento alto en carbohidratos (barras blancas) durante el periodo post alimento (a y c) y la totalidad de la sesión (b y d). \*  $p < 0.01$  entre alimentos y sesiones.

El balance de sustratos energéticos se muestra en la Figura 17. Al finalizar el periodo post alimento, el balance de lípidos fue de  $39.80 \pm 3.63$  g ( $1427 \pm 136$  kJ) para el AEG y de  $1.84 \pm 2.16$  g ( $68 \pm 81$  kJ) para el AEC ( $p < 0.01$ ). El balance de carbohidratos fue de  $-25.89 \pm 4.10$  g ( $-432.99 \pm 68$  kJ) para el AEG y de  $45.89 \pm 6.04$  g ( $767 \pm 100$  kJ) para el AEC ( $p < 0.01$ ). Sumando la oxidación de sustratos durante el ejercicio, obtuvimos un balance de lípidos de  $28.12 \pm 3.51$  g ( $1058 \pm 131$  kJ) para la sesión del AEG, y de  $-9.74 \pm 2.77$  g ( $-365 \pm 104$  kJ) para la sesión del AEC ( $p < 0.01$ ). El balance de carbohidratos fue de  $-93.90 \pm 8.59$  g ( $1569 \pm 143$  kJ) al finalizar la sesión del AEG, y de  $-19.47 \pm 6.25$  g ( $-325 \pm 104$  kJ) al finalizar la sesión del AEC ( $p < 0.01$ ).



**Figura 17.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Balance de sustratos energéticos al finalizar el periodo post alimento (a y c) y la sesión completa (b y d). Alimento alto en grasa (barras negras) vs alimento alto en carbohidratos (barras blancas). \*  $p < 0.01$  vs alimento y sesión.

El balance energético durante la totalidad de las sesiones se muestra en la figura 18. Tanto en la sesión del AEG como en la sesión del AEC, el balance energético permaneció negativo durante la hora de ejercicio ( $-1553 \pm 117$  kJ para AEG y  $-1550 \pm 105$  kJ para AEC) y el periodo post ejercicio ( $-2051 \pm 126$  kJ para AEG y  $-2058 \pm 112$  kJ, para AEC). Tras consumir el alimento el balance energético permaneció positivo durante las primeras dos horas y a la tercera hora se alcanzó nuevamente un balance energético negativo ( $-124 \pm 109$  kJ para AEG y  $-130 \pm 95$  kJ para AEC). No se encontraron diferencias entre sesiones para ninguna de las etapas del protocolo.



**Figura 18.** Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. Balance energético durante la sesión del alimento alto en grasas (a) y la sesión del alimento alto en carbohidratos (b)

## DISCUSIONES

Las principales aportaciones de este trabajo fueron que el ejercicio  $Fat_{max}$  realizado en estado de ayuno permite utilizar una cantidad importante de lípidos, sin embargo, 60 minutos de ejercicio no son suficientes para incrementar la TOG ni la TMR durante las tres primeras horas post ejercicio. El consumo de un AEG con alto contenido de AGCM incrementa la TOG durante los primeros 60 minutos de ingerido, sin aumentar la TMR. Contrario a esto, el consumo de un AEC disminuye la TOG.

### **Efecto del ejercicio sobre la oxidación metabólica de los macronutrientes.**

La utilización total de grasas durante las dos pruebas de ejercicio fue semejante, ( $12.3 \pm 2.94$  g vs.  $11.6 \pm 4.30$  g, para sesión 1 y sesión 2 respectivamente), sin embargo, los 60 minutos de ejercicio  $Fat_{max}$  no fueron suficientes para aumentar la TOG ni la TMR, ya que en tan solo 10 minutos después del ejercicio se alcanzaron

los valores previos al ejercicio. Teóricamente la TOG puede estar incrementada posterior al ejercicio debido al aumento en la expresión de varias enzimas con efecto lipolítico, entre ellas UCP3, PDK4, LPL, LSH y CPT-1 (Pilegaard et al., 2000). Sin embargo, al igual que Lazzer et al., (2010), no encontramos un aumento en la TOG posterior al ejercicio.

Aunque el ejercicio Fat<sub>max</sub> no propició una mayor TOG ni mayor TMR en el periodo inmediato posterior al ejercicio, esto no indica que pueda carecer de efecto sobre el metabolismo energético, ya que el principal efecto del ejercicio se observa durante el periodo de sueño (Hawkins et al., 2012), por lo que se sugiere que los efectos del ejercicio Fat<sub>max</sub> sobre el metabolismo energético incluyan la etapa del sueño.

A intensidades bajas de ejercicio (<50% VO<sub>2</sub>max) la proporción de glucosa como fuente de energía es por fuentes intramusculares, y conforme la intensidad, aumentan las fuentes plasmáticas (Romijn et al., 1993).

Es importante mencionar que es posible que el ejercicio Fat<sub>max</sub> sea capaz de aumentar la TMR si se incrementa la cantidad de trabajo, ya que hemos encontrado una correlación positiva entre el GE durante el ejercicio y la TMR posterior al ejercicio (datos no mostrados).

### **Efecto del alimento sobre la oxidación metabólica de los macronutrientes.**

En personas con obesidad es necesario incrementar la TOG tanto en reposo como durante el ejercicio, hasta alcanzar un balance de oxidación negativa que permita la pérdida de MG y PC. En nuestros resultados observamos que, comparado con el AEC, el AEG propicio una mayor oxidación de grasas (12.80±1.44 g vs. 22.02±1.33 g, respectivamente). Blundell et al., (2002) reportan que, en personas con obesidad, la respuesta metabólica a un alimento es dependiente de la



proporción de macronutrientes y tipo de dieta, donde las personas que consumen una baja cantidad de lípidos (<35% de la ingesta calórica total) no incrementan la TOG. No obstante, en el presente estudio, la TOG se incrementó al consumir el alimento AEG a pesar de existir un bajo consumo de lípidos en la dieta (33±7 %). Estas diferencias pueden atribuirse a la composición de AG del alimento otorgado, ya que Blundell et al., (2002) utilizaron una alta proporción de AGCL, mientras que en el presente estudio el 50% de los AG eran AGCM, que propician una mayor TOG. Estas diferencias pueden atribuirse a la composición de AG del alimento otorgado, ya que Blundell et al., (2002) utilizaron una alta proporción de AGCL, mientras que en nuestro estudio el 50% de los AG eran AGCM, que como abajo se explica, propician una mayor TOG.

El efecto del AEG sobre la TOG se debe a la alta proporción de AGCM y la disminución de insulina. Los AGCM tienden a oxidarse en lugar de almacenarse e inducen la expresión del PPAR-1 $\alpha$  aumentando la biogénesis de la LPL, FAT/CD36 y CPT-1 a nivel muscular (Montgomery et al., 2013; Pietraszek et al., 2013), mientras que la disminución de la insulina aumenta la tasa lipolítica (Horowitz et al., 1997) y la activación de la CPT-1 (Sidossis et al., 1996). Comparado con lo reportado por St. Onge et al., (2003), nosotros encontramos una mayor TOG tras el consumo de un alimento con alto contenido de AGCM. Las diferencias en la TAG también pueden ser explicadas por la proporción de lípidos, tipo de ácidos grasos (saturados, insaturados y longitud de la cadena hidrocarbonada) y el estado físico del alimento otorgado. Courchesne-Loyer et al., (2017) muestran que la respuesta metabólica a un alimento con alto contenido de lípidos depende del AGCM predominante en el alimento, observando que a menor longitud del ácido graso mayor respuesta cetogénica: el ácido octanoico propicia una mayor respuesta cetogénica que el ácido decanoico. Contrario a lo arriba citado, en el estudio de St. Onge et al., (2003), el principal ACGM en el alimento fue el ácido decanoico mientras que, en nuestro estudio, el AGCM de mayor proporción fue el ácido

dodecanoico. No encontramos estudios que muestren el efecto del ácido dodecanoico sobre el metabolismo energético. Respecto al estado físico del alimento, St. Onge et al (2003) otorgaron un alimento sólido, mientras que en nuestro estudio se otorgó un alimento líquido, el cual propicia una menor respuesta insulínica (Habas & Macdonald, 1998) contribuyendo a una mayor TOG.

Por otro lado, el AEC disminuyó la TOG sin modificar la TOC ( $RQ_{np} < 1.0$ ). Esto es explicado por 3 factores: la composición de carbohidratos del alimento, la realización de ejercicio previo al alimento y el estado físico del alimento. En el presente estudio el AEC tenía una alta proporción de carbohidratos complejos (50%) y una alta cantidad de fructosa (manzana), los cuales propician una menor respuesta insulínica que la glucosa y la sacarosa (Jenkins et al., 1986; Lee & Wolever, 1998). Zakrzewski et al., (2012), reportan que 60 minutos de ejercicio  $Fat_{max}$  en banda sin fin disminuye la respuesta insulínica a un alimento con alto índice glicémico, favoreciendo una menor TOC y una mayor TOG. El ejercicio de moderada intensidad mejora la sensibilidad a la insulina al incrementar la translocación de los GLUT-4 en el músculo esquelético mediante el aumento de la fosforilación del Akt, lo que podría explicar el efecto de este tipo de ejercicio (Thorell et al., 1999). Finalmente, el consumo de un AEC en estado líquido induce una menor respuesta insulínica que el consumo de un alimento isocalórico en estado sólido (Habas & Macdonald, 1998). Sin embargo, se puede observar que, a pesar de estos factores, el AEC disminuyó la TOG lo cual no es positivo para las personas con obesidad. Se requieren estudios posteriores donde se consuma el alimento sin la realización de ejercicio para observar si la respuesta metabólica es diferente y confirmar si existe un efecto del ejercicio.

La respuesta metabólica al AEG se presentó desde la primera hora posterior a su consumo, mientras que el AEC tardó dos horas en cambiar la TOS. Esto se debe a la composición de los alimentos ya que el AEG tenía un alto contenido de AGCM que se absorben rápidamente por difusión simple, mientras que el AEC tenía una

alta proporción de carbohidratos complejos (50%) que se absorben con menor rapidez (Jenkins et al., 1986). Previamente se ha reportado que la emulsificación de AGCM en leche favorece una mayor velocidad de absorción a nivel intestinal debido a que las micelas formadas pueden hidrolizarse con mayor facilidad y rapidez por las lipasas gástricas y pancreáticas (Courchesne-Loyer et al., 2017), y dado que los AGCM contenidos en el aceite de coco fueron mezclados con leche en una licuadora, la emulsificación pudo haber favorecido una mayor velocidad de absorción, lo que permitió observar la rápida respuesta en la TOS tras solo 60 minutos posterior a su consumo.

### ***Balance de oxidación de sustratos.***

La pérdida de peso corporal requiere alcanzar un balance negativo de oxidación de sustratos para utilizar las reservas energéticas (Schrauwen & Westerterp, 2000). El AEG aumento la TOG, sin embargo, este aumento no fue suficiente para lograr un balance negativo de grasas en 180 minutos. Estos resultados coinciden con lo reportado por Flatt et al., (1985) y Clamp et al., (2015) que encontraron un balance de lípidos tras 9 y 6 horas posteriores al consumo de un AEG. No obstante, en nuestro estudio, la TOG continuó aumentando respecto al tiempo, y es probable que en unas horas se alcanzara el balance de oxidación de grasas que evite la acumulación de TAG. Contrario a esto, el AEC permitió alcanzar un balance de oxidación de lípidos en solo 3 h ( $1.84 \pm 2.16$  g).

Por otro lado, el AEG favoreció un balance negativo de carbohidratos en el periodo post alimento indicando una utilización de las reservas energéticas de glucógeno que contribuyen a que la TOG continúe aumentando por efecto gluconeogénico. Por su parte, el AEC aumento la TOC sin lograr un balance de oxidación de carbohidratos. A las tres horas post alimento, la TOC comenzó a disminuir

nuevamente, por lo cual, el balance de carbohidratos pudiese quedar en valores positivos.

Los resultados del presente análisis muestran que el ejercicio Fat<sub>max</sub> realizado en estado de ayuno contribuye a lograr un balance negativo de grasas y carbohidratos (Figura 17). Sin embargo, estos resultados solo muestran resultados a corto tiempo, y se requiere determinar el balance de sustratos por 24 h para poder establecer mejores conclusiones.

### ***Efecto de alimento sobre la TMR***

Ninguno de los dos alimentos otorgados aumentó significativamente la TMR durante las 3 h post alimento. No obstante, el alimento AEC, propicio un mayor efecto termogénico durante las primeras dos horas posteriores al consumo del alimento. Esta diferencia se debe a un mayor costo energético para digerir y absorber los carbohidratos (Melzer, 2011).

### **Parámetros para prescribir ejercicio Fat<sub>max</sub>**

Nuestros resultados muestran que, en personas con obesidad, la Fat<sub>max</sub> ocurre a una intensidad menor que el UL, independientemente del método empleado para calcularlo (33±4% del VO<sub>2</sub>max vs. 62±11% del VO<sub>2</sub>max, respectivamente). Esta intensidad se presentó al 57±4%FCM alcanzándose a una velocidad de 2.4 mph y una concentración de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> de 1.1±0.4 mM·L. La intensidad Fat<sub>max</sub> encontrada en el presente estudio es menor a la reportada previamente en personas con obesidad (≥40% VO<sub>2</sub>max) (Bogdanis et al., 2008; Tan et al., 2012; Croci et al., 2014; Dandanell et al., 2017). Venables et al., 2008, analizaron a hombres con obesidad empleando un protocolo en banda sin fin muy similar al nuestro, sin embargo, a pesar de las similitudes en el protocolo y el estado de acondicionamiento físico de la población (36.55±4.18 vs. 33.4±4.7 mL·Kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>), la Fat<sub>max</sub> se alcanzó a una menor intensidad en nuestro estudio (33±4 vs 44±2 % del VO<sub>2</sub>max). Las discrepancias en el %VO<sub>2</sub>max correspondiente al Fat<sub>max</sub> se han

reportado en revisiones previas (Ghanbari-Niaki & Zare-Kookandeh, 2016), y establecen que la utilización del %VO<sub>2</sub>max como parámetro para prescribir ejercicio Fat<sub>max</sub> a la población en general no es adecuado, ya que este valor varía en la población a pesar de tener un estado de acondicionamiento físico similar.

Contrario a lo reportado por Bircher et al., (2004), nuestros resultados indican que tanto el UL como una [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> ≤2 mM pueden ser utilizados como parámetros de control del ejercicio Fat<sub>max</sub> en personas con obesidad. No obstante, un mejor parámetro de control sería el mantener la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> debajo de 1.5 mM, y evitando que la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> se incremente 0.5 mM respecto a la concentración basal.

Según los datos reportados por la literatura, la Fat<sub>max</sub> se alcanza entre el 58-65% de la FCM (Wang et al., 2015; Lazzer et al., 2011; Lazzer et al., 2010). En el presente estudio, la Fat<sub>max</sub> se alcanzó al 57±4%FCM y corrobora la utilidad del %FCM como un parámetro de prescripción del ejercicio Fat<sub>max</sub>. Otro parámetro que hasta la fecha no se ha considerado es la velocidad de caminata o carrera a la cual se alcanza el Fat<sub>max</sub> en banda sin fin. De todos los estudios encontrados en nuestra búsqueda solamente Tan et al., (2016b) reportan que en adolescentes con obesidad la Fat<sub>max</sub> se alcanzó a una velocidad de 2.4 mph en banda sin fin coincidiendo con nuestros resultados. Ante esto proponemos que una velocidad de 2-3 mph pudiese emplearse como parámetro del ejercicio Fat<sub>max</sub> en hombres con obesidad.

Otro dato importante encontrado en este estudio es la relación existente entre la Fat<sub>min</sub> y el OBLA, ya que no hemos encontrado diferencia entre la intensidad y concentración de LT a la que ambos ocurren. El OBLA puede ser utilizado como un parámetro de identificación de la Fat<sub>min</sub> en personas con obesidad y en búsqueda de garantizar la MTOG, es necesario mantener la [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> inferior a 4 mM

**Relación de [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> y tasa de oxidación de grasas.**

El aumento en  $[LA^-]_b$  fue acompañado de la disminución progresiva de la TOG ( $r=0.71$ ,  $p<0.01$ ) y el aumento en la TOC ( $r=0.70$ ,  $p<0.01$ ). Sin embargo, la primera disminución en la TOG ocurrió antes del LIAB ( $40\pm 1$  vs  $51\pm 6\%$   $VO_{2max}$ ). La correlación entre el  $VO_2$  al  $Fat_{max}$ , el  $VO_{2max}$  y el UL de moderada a alta (0.5-0.80, cuadro 15). Conforme aumenta la intensidad del ejercicio la TOG disminuye, lo anterior debido al aumento en el  $[LA^-]_b$ , que reduce el pH intracelular y con ello la actividad de la CPT-1 (Achten & Jeukendrup, 2004b). En personas entrenadas, la correlación negativa entre la TOG y la  $[LA^-]_b$  se observa con claridad, ya que la primera disminución en la TOG coincide con la intensidad LIAB (Achten & Jeukendrup, 2004; San-Millán & Brooks, 2017). En el presente estudio observamos igualmente una correlación negativa entre la TOG y la  $[LA^-]_b$ , sin embargo, la TOG comenzó a disminuir incluso antes del LIAB. Estos resultados coinciden por lo reportado por San-Millán & Brooks, (2017) al realizar la prueba  $Fat_{max}$  en cicloergómetro en personas con obesidad, indicando que, en personas con obesidad, la TOG disminuye conforme aumenta la  $[LA^-]_b$ .

Tanto el  $VO_{2max}$  como el UL, son indicadores del estado de acondicionamiento físico, y en atletas entrenados ambos indicadores están relacionados positivamente con la intensidad  $Fat_{max}$  (Achten et al., 2003; San Millán & Brooks, 2017). A mayor  $VO_{2max}$ , mayor densidad del transportador de monocarboxilatos 1, resultando en una mayor capacidad para reutilizar el  $[LA^-]_b$  producido durante el ejercicio (Messonnier et al., 2013), lo cual retarda el aumento de  $[LA^-]_b$  y permite alcanzar la  $Fat_{max}$  a una mayor intensidad de ejercicio. Nuestros resultados son los primeros en observar una relación moderada entre el UL con la  $Fat_{max}$  en personas sedentarias con obesidad y corrobora que el estado de acondicionamiento físico es un factor determinante de la  $Fat_{max}$ , independientemente de la forma física.

**Diferencias entre los métodos para calcular el umbral de lactato.**

El UL se ha determinado mediante el método ULAB y el Dmax, en el presente estudio encontramos que, en personas con obesidad, ambos se presentan a la misma intensidad de ejercicio y la misma  $[LA^-]_b$ . No obstante, la correlación entre Dmax, el  $VO_2$  y  $[LA^-]_b$  fue más alta ( $r=0.80$  y  $0.74$ ,  $p<0.01$ ; para  $VO_2$  y  $[LA^-]_b$  respectivamente). Esto demuestra que el método Dmax tiene una mayor fiabilidad y validez para determinar el UL en personas con obesidad.

#### **Validación del protocolo Fat<sub>max</sub>.**

En el presente estudio, el pico de oxidación de grasas (MTOG) alcanzado durante el protocolo Fat<sub>max</sub> fue semejante durante las dos sesiones de ejercicio. Nuestros resultados muestran una mayor consistencia que los reportados por Dandanell et al., (2016) quienes durante 20 minutos al Fat<sub>max</sub> ellos observaron un mayor CV en sus resultados (CV 6% vs. 11%). La alta consistencia muestra que el protocolo diseñado en el presente estudio tiene una alta fiabilidad y validez.

#### **Variación interdiaria de la tasa metabólica en reposo y durante el ejercicio.**

En nuestro análisis no encontramos una variación interdiaria en la TOS, TMR y  $[LA^-]_b$  observados en reposo y durante el ejercicio, obteniendo valores altos de CCI (0.72-0.99). Estudios previos han observado que incrementar la proporción de carbohidratos en la dieta aumenta los valores basales de insulina y reduce la TOG en reposo (Koutsari & Sidossis, 2003) y durante el ejercicio (Robinson et al., 2016). En el presente estudio, la alimentación se controló solo en la noche del día antes de cada uno de los estudios, permitiendo en lo posible estandarizar los estudios metabólicos.

A pesar de que no existió una diferencia estadísticamente significativa en la TOS durante las dos sesiones de ejercicio, en la segunda sesión se observó una ligera disminución en la TOG (-9.5%), TOC (-2.7%), GE (-3.5) y  $VO_2$  (-7.2%). Esto pudiese indicar una adaptación biomecánica a la intensidad del ejercicio que conduce a la realización de un menor esfuerzo físico y con ello una menor

demanda energética. No obstante, se requieren futuros estudios donde se realicen más sesiones de ejercicio para observar si continua esta tendencia.

### **Cinética de la utilización de sustratos y producción de lactato durante el ejercicio**

Nuestro estudio es el primero en determinar la utilización de sustratos durante el ejercicio  $Fat_{max}$ , observándose un aumento progresivo de la TOG y disminución en la TOC conforme el tiempo, lo cual como ejercicio sistemático puede favorecer una pérdida de masa grasa en menor tiempo. Nosotros encontramos que dichos cambios se presentan a partir de los primeros 40 minutos de ejercicio, mientras Watt et al., estudiando a atletas entrenados, lo reportan a partir de los 150 min. Estas diferencias pueden explicarse por diversos factores: la intensidad del ejercicio realizado (33 vs 55%  $VO_{2max}$ ), el estado metabólico en que fue realizado el ejercicio (postabsortivo vs postprandial), el modo de ejercicio (banda sin fin vs cicloergometro) y la condición física de los sujetos evaluados (sedentarios vs. atletas).

Al realizar el ejercicio en estado postprandial se presenta una mayor concentración de insulina (Horowitz et al., 1997) y menor de adrenalina, retrasando la TOG. En cuanto al modo de ejercicio, la concentración de adrenalina durante el ejercicio es proporcional a la masa muscular involucrada en el movimiento (Davies et al., 1974), por lo que el ejercicio en banda sin fin favorece una mayor lipólisis y con ello una mayor TOG. Finalmente, las personas con obesidad tienen una mayor respuesta adrenérgica que las personas saludables durante el ejercicio, conduciendo a una mayor utilización de lípidos durante el ejercicio (Goodpaster et al., 2002). La mayor rapidez con que se presentó el cambio significativo en la TOS en personas con obesidad es algo favorable, ya que les permite utilizar una mayor cantidad de grasa en un menor periodo de tiempo.



En este trabajo controlamos la intensidad del ejercicio  $Fat_{max}$  manteniendo constante la frecuencia cardíaca, por lo que la  $[LA^-]_b$  se mantuvo por debajo de 2 mM. Estudios previos han observado que durante el ejercicio continuo a intensidad moderada (70%  $VO_{2max}$ ), las personas con obesidad tienen una menor capacidad de transportar y utilizar el lactato producido, debido a una menor expresión del transportador de monocarboxilatos 1 (MCT-1) en el sarcolema y la mitocondria, propiciando la acumulación intracelular de lactato (Messonnier et al., 2013). Sin embargo, debido a que el ejercicio a  $Fat_{max}$  es de baja intensidad la  $[LA^-]_b$  no es factor limitante en la disminución de la TAG. Por lo anterior, la  $[LA^-]_b$  es un parámetro fiable para controlar la intensidad del ejercicio al  $Fat_{max}$ .

## CONCLUSIONES

La realización de 60 minutos de ejercicio Fat<sub>max</sub> no incrementa la oxidación de sustratos energéticos ni la tasa metabólica durante las primeras tres horas post ejercicio, sin embargo, se requieren futuros estudios que determinen si una mayor dosis (gasto energético) sea capaz de aumentar la TMR, sobre todo durante el sueño.

El consumo de un alimento alto en grasas con alto contenido de ácidos grasos de cadena media favorece una mayor oxidación de grasas que el consumo de un alimento alto en carbohidratos, por lo que un régimen de ejercicio Fat<sub>max</sub> y una dieta alta en grasas permitiría una mayor reducción de peso corporal para personas con obesidad. No obstante, es necesario realizar estudios que corroboren este planteamiento.

En personas sedentarias con obesidad, la máxima oxidación de grasas se alcanza a una baja intensidad del ejercicio (33% VO<sub>2</sub>max) antecediendo al UL. La Fat<sub>max</sub> ocurre a una [LA<sup>-</sup>]<sub>b</sub> inferior a 1.5 mM y esta concentración puede ser empleada como un parámetro válido de control del ejercicio Fat<sub>max</sub>. El protocolo diseñado en el presente estudio tiene una alta validez para determinar el Fat<sub>max</sub> ya que no se encontraron diferencias en la MTOG alcanzada durante dos sesiones subsecuentes de ejercicio.

Por último, es recomendable realizar más de 40 minutos de ejercicio Fat<sub>max</sub> en banda sin fin, ya que la utilización de grasas aumenta después de este periodo de tiempo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achten, J., Gleeson, M., & Jeukendrup, A. E. **2002**. Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Journal of Sports Sciences*. 34(1): 92–97. <https://doi.org/10.1080/02640414.2013.815360>
- Achten J, Jeukendrup AE. **2003**. Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *Int J Sports Med*.24: 603-608. doi: 10.1055/s-2003-43265
- Achten, J., Venables, M. C., & Jeukendrup, A. E. **2003**. Fat oxidation rates are higher during running compared with cycling over a wide range of intensities. *Metabolism*. 52(6):747–752. [https://doi.org/10.1016/S0026-0495\(03\)00068-4](https://doi.org/10.1016/S0026-0495(03)00068-4)
- Achten J, Jeukendrup AE. Optimizing fat oxidation through exercise and diet. **2004**. *Nutrition*. 20:716–727. doi:10.1016/j.nut.2004.04.005
- Achten J, Jeukendrup AE. 2004. Relation between plasma lactate concentration and fat oxidation rates over a wide range of exercise intensities. *Int J Sports Med*. 25 (1) :32–37. doi:10.1055/s-2003-45231
- AINSWORTH, B. E., HASKELL, W. L., WHITT, M. C., IRWIN, M. L., SWARTZ, A. M., STRATH, S. J., ... LEON, A. S. (2000). Compendium of Physical Activities: an update of activity codes and MET intensities. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 32: S498–S516. <https://doi.org/10.1097/00005768-200009001-00009>
- Arciero, P. J., Goran, M. I., & Poehlman, E. T. **1993**. Resting metabolic rate is lower in women than in men. *Journal of Applied Physiology*. 75(6): 2514–2520. doi:10.1152/jappl.1993.75.6.2514
- Ben Ounis O, Elloumi M, Ben Chiekh I, Zbidi A, Amri M, Lac G, et al. 2008. Effects of two-month physical-endurance and diet-restriction programmes on lipid profiles and insulin resistance in obese adolescent boys. *Diabetes & Metabolism*. 34(6):595–600. doi:10.1016/j.diabet.2008.05.011
- Ben Ounis O, Elloumi M, Zouhal H, et al. **2010**. Effect of individualized exercise training

combined with diet restriction on inflammatory markers and IGF-1/IGFBP-3 in Obese children. *Ann Nutr Metab.* 56:260–266. doi: 10.1159/000275888

Ben Ounis O, Elloumi M, Zouhal H, et al. **2011**. Effect of an individualized physical training program on resting cortisol and growth hormone levels and fat oxidation during exercise in obese children. *Annales d' Endocrinologie.*;72:34–41. doi:10.1016/j.ando.2010.04.002

Bergouignan, A., Gozansky, W. S., Barry, D. W., Leitner, W., MacLean, P. S., Hill, J. O., ... Melanson, E. L. **2012**. Increasing dietary fat elicits similar changes in fat oxidation and markers of muscle oxidative capacity in lean and obese humans. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030164>Bergouignan, A., Kealey, E. H., Schmidt, S. L., Jackman, M. R., & Bessesen, D. H. **2014**. Twenty-four hour total and dietary fat oxidation in lean, obese and reduced-obese adults with and without a bout of exercise. *PLoS ONE*. 9(4): 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094181>Bircher, S., Knechtle, B. **2004**. Relationship between Fat Oxidation and Lactate Threshold in Athletes and Obese Women and Men. *J Sports Sci Med.* 3 (3):174-181

Bircher, S., Knechtle, B., & Knecht, H. **2005**. Is the intensity of the highest fat oxidation at the lactate concentration of 2 mmol L<sup>-1</sup>? A comparison of two different exercise protocols. *European Journal of Clinical Investigation.* 35(8): 491–498. doi:10.1111/j.1365-2362.2005.01538.x

Blundell, J. E., Cooling, J., & King, N. A. **2002**. Differences in postprandial responses to fat and carbohydrate loads in habitual high and low fat consumers (phenotypes). *The British Journal of Nutrition.* 88(2002), 125–132. <https://doi.org/10.1079/BJNBJN2002609>

Bogdanis, G. C., Vangelakoudi, A., & Maridaki, M. **2008**. Peak fat oxidation rate during walking in sedentary overweight men and women. *Journal of Applied Physiology*, (December 2008), 525–531.

Borén, J., Taskinen, M.-R., Olofsson, S.-O., & Levin, M. **2013**. Ectopic lipid storage and insulin resistance: a harmful relationship. *Journal of Internal Medicine*. 274(1): 25–40. doi:10.1111/joim.12071

Bueno, N. B., de Melo, I. S. V., de Oliveira, S. L., & da Rocha Ataíde, T. **2013**. Very-low-carbohydrate ketogenic diet v. low-fat diet for long-term weight loss: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition*. 110(07): 1178–1187. doi:10.1017/s0007114513000548

Carvajal, C. **2014**. Lipoproteínas: metabolismo y lipoproteínas aterogénicas. *Medicina Legal de Costa Rica*. 31(2): 88-94. Retrieved May 03, 2019, from [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S140900152014000200010&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140900152014000200010&lng=en&tlng=es).

Clamp, L., Hehir, A. P. J., Lambert, E. V., Beglinger, C., & Goedecke, J. H. **2015**. Lean and obese dietary phenotypes: differences in energy and substrate metabolism and appetite. *British Journal of Nutrition*. 114(10):1724–1733. doi:10.1017/s0007114515003402

Cheng, B., Kuipers, H., Snyder, A., Keizer, H., Jeukendrup, A., & Hesselink, M. **1992**. A New Approach for the Determination of Ventilatory and Lactate Thresholds. *International Journal of Sports Medicine*. 13(07), 518–522. doi:10.1055/s-2007-1021309

Courchesne-Loyer, A., Lowry, C.-M., St-Pierre, V., Vandenberghe, C., Fortier, M., Castellano, C.-A., ... Cunnane, S. C. **2017**. Emulsification Increases the Acute Ketogenic Effect and Bioavailability of Medium-Chain Triglycerides in Humans. *Current Developments in Nutrition*. 1(7): e000851. doi:10.3945/cdn.117.000851

Croci I, Hickman IJ, Wood RE, Borrani F, Macdonald GA, Byrne NM. **2014**. Fat oxidation

over a range of exercise intensities: fitness versus fatness. *Appl Physiol Nutr Metab*. 39:1352–1359. [dx.doi.org/10.1139/apnm-2014-0144](https://doi.org/10.1139/apnm-2014-0144)

Jesus, Í. C. de, Alle, L. F., Munhoz, E. C., Silva, L. R. da, Lopes, W. A., Tureck, L. V., ... Leite, N. **2018**. Trp64Arg polymorphism of the ADRB3 gene associated with maximal fat oxidation and LDL-C levels in non-obese adolescents. *Jornal de Pediatria*. 94(4): 425–431. [doi:10.1016/j.jpmed.2017.07.010](https://doi.org/10.1016/j.jpmed.2017.07.010)

Davies, C. T. M., Few, J., Foster, K. G., & Sargeant, A. J. **1974**. Plasma catecholamine concentration during dynamic exercise involving different muscle groups. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*. 32(3): 195–206. [doi:10.1007/bf00423215](https://doi.org/10.1007/bf00423215)

Duncan, R.E., Ahmadiam, A., Jaworski, K., Sarkady-Nagy, E., Sook Sul, H. **2007**. Regulation of lipolysis in adipocytes. *Annu Rev Nutr*. 27: 79–101. [doi:10.1146/annurev.nutr.27.061406.093734](https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093734).

Edwardsen, E., Hem, E., & Anderssen, S. A. **2014**. End criteria for reaching maximal oxygen uptake must be strict and adjusted to sex and age: A cross-sectional study. *PLoS ONE*. 9(1): 18–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085276>  
Erlanson-Albertsson, C., & Mei, J. **2005**. The effect of low carbohydrate on energy metabolism. *International Journal of Obesity*. 29, S26–S30. <https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803086>

Ebbeling, C. B., Feldman, H. A., Klein, G. L., Wong, J. M. W., Bielak, L., Steltz, S. K., ... Ludwig, D. S. **2018**. Effects of a low carbohydrate diet on energy expenditure during weight loss maintenance: randomized trial. *BMJ*. k4583. [doi:10.1136/bmj.k4583](https://doi.org/10.1136/bmj.k4583)

Egan, B., Carson, B. P., Garcia-Roves, P. M., Chibalin, A. V., Sarsfield, F. M., Barron, N., ... O’Gorman, D. J. **2010**. Exercise intensity-dependent regulation of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$  mRNA abundance is

associated with differential activation of upstream signalling kinases in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*. 588(10): 1779–1790. doi:10.1113/jphysiol.2010.188011

Egan B, Ashley DT, Kennedy E, O'Connor PL, O'Gorman DJ. **2016**. Higher rate of fat oxidation during rowing compared with cycling ergometer exercise across a range of exercise intensities. *Scand J Med Sci Sport*. 26(6):630–637. doi:10.1111/sms.12498

Flatt, J. P., Ravussin, E., Acheson, K. J., & Jéquier, E. **1985**. Effects of dietary fat on postprandial substrate oxidation and on carbohydrate and fat balances. *Journal of Clinical Investigation*. 76(3): 1019–1024. doi:10.1172/jci112054

Fletcher, G., Eves, F. F., Glover, E. I., Robinson, S. L., Vernooij, C. A., Thompson, J. L., & Wallis, G. A. **2017**. Dietary intake is independently associated with the maximal capacity for fat oxidation during exercise. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 105(4), 864–872. doi:10.3945/ajcn.116.133520

Frayn, K. N. **1983**. Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *Journal of Applied Physiology*. 55(2), 628–34. <https://doi.org/0161-7567/83>

Freeman, E. W., Sammel, M. D., Lin, H., & Gracia, C. R. **2010**. Obesity and reproductive hormone levels in the transition to menopause. *Menopause*. 1. doi:10.1097/gme.0b013e3181cec85d

Friedman, J. M., & Halaas, J. L. **1998**. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*, 395(6704), 763–770. doi:10.1038/27376

García, G. C., & Secchi, J. D. **2014**. Test course navette de 20 metros con etapas de un minuto. Una idea original que perdura hace 30 años. *Apunts Medicina de l'Esport*, 49(183), 93–103. <https://doi.org/10.1016/j.apunts.2014.06.001>

Ghanbari-Niaki, A., & Zare-Kookandeh, N. **2016**. Maximal Lipid Oxidation (Fatmax) in Physical Exercise and Training: A review and Update. *Annals of Applied Sport Science*, 4(3), 1–10. doi:10.18869/acadpub.aassjournal.4.3.1

Gibson, A. L., Holmes, J. C., Desautels, R. L., Edmonds, L. B., & Nuudi, L. **2008**. Ability of new octapolar bioimpedance spectroscopy analyzers to predict 4-component model percentage body fat in Hispanic, black, and white adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 87(2): 332–338. doi:10.1093/ajcn/87.2.332

Gibson, A. A., Seimon, R. V., Lee, C. M. Y., Ayre, J., Franklin, J., Markovic, T. P., ... Sainsbury, A. **2015**. Do ketogenic diets really suppress appetite? A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews*. 16(1): 64–76. <https://doi.org/10.1111/obr.12230>

Goodpaster, B. H., Wolfe, R. R., & Kelley, D. E. **2002**. Effects of Obesity on Substrate Utilization during Exercise. *Obesity Research*. 10(7), 575–584. doi:10.1038/oby.2002.78

Gladden, L. B. **2008**. A “Lactatic” Perspective on Metabolism. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 40(3): 477–485. doi:10.1249/mss.0b013e31815fa580

Glatz, J. F. C., Luiken, J. J. F. P., & Bonen, A. **2010**. Membrane Fatty Acid Transporters as Regulators of Lipid Metabolism: Implications for Metabolic Disease. *Physiological Reviews*. 90(1): 367–417. doi:10.1152/physrev.00003.2009

Glatz, J. F. C., & Luiken, J. **2017**. From fat to FAT (CD36/SR-B2): Understanding the regulation of cellular fatty acid uptake. *Biochimie*. 136, 21–26. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.12.007>

Goodman, B. E. **2010**. Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Advances in Physiology Education*. 34(2): 44–53. doi:10.1152/advan.00094.2009

Grant, S., Corbett, K., Amjad, A. M., Wilson, J., & Aitchison, T. **1995**. A comparison of



methods of predicting maximum oxygen uptake. *British Journal of Sports Medicine*. 29(3): 147–152. <https://doi.org/10.1136/bjism.29.3.147>

Habas, M. E., & Macdonald, I. A. **1998**. Metabolic and cardiovascular responses to liquid and solid test meals. *British Journal of Nutrition*, 79(03): 241. doi:10.1079/bjn19980041

Haghshenas, R., Jafari, M., Ravasi, A., Kordi, M., Gilani, N., Shariatzadeh, M., ... Rahimi, M. **2014**. The effect of eight weeks endurance training and high-fat diet on appetite-regulating hormones in rat plasma. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 17(4): 237–243.

Hall, K. D., Bemis, T., Brychta, R., Chen, K. Y., Courville, A., Crayner, E. J., ... Yannai, L. **2015**. Calorie for calorie, dietary fat restriction results in more body fat loss than carbohydrate restriction in people with obesity. *Cell Metabolism*. 22(3): 427–436. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.021>

Hawkins, K. R., Hansen, K. C., Schoeller, D. A., & Cooper, J. A. **2012**. Effect of exercise on the diurnal variation in energy substrate use during a high-fat diet. *European Journal of Applied Physiology*. 112(11): 3775–3785. <https://doi.org/10.1007/s00421-012-2360-6>

Hermansen L, Osnes JB. Blood and muscle pH after maximal exercise in man. **1972**. *J Appl Physiol*. 32 (3):304–308. doi:10.1152/jappl.1972.32.3.304

Horowitz, J. F., Mora-Rodriguez, R., Byerley, L. O., & Coyle, E. F. **1996**. LIPOLYTIC SUPPRESSION FOLLOWING CARBOHYDRATE INGESTION LIMITS FAT OXIDATION DURING EXERCISE 442. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 28: 74. doi:10.1097/00005768-199605001-00443

Horton, T. J., Drougas, H., Brachey, A., Reed, G. W., Peters, J. C., & Hill, J. O. **1995**. Fat and carbohydrate overfeeding in humans: different effects on energy storage. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 62(1): 19–29. doi:10.1093/ajcn/62.1.19

Houston, M.E. *Biochemistry primer for exercise science*. 3ra edicion. Human Kinetics. **2006**. 266 p.

Instituto Nacional de Salud. **2016**. Encuesta nacional de Salud y Nutricion de Medio Camino.

Iqbal, J., Hussain, M.M. **2009**. Intestinal lipid absorption. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 296: E1183–E1194. doi:10.1152/ajpendo.90899.2008.

Iwayama, K., Kawabuchi, R., Nabekura, Y., Kurihara, R., Park, I., Kobayashi, M., ... Tokuyama, K. **2017**. Exercise before breakfast increases 24-h fat oxidation in female subjects. *PLoS ONE*, 12(7). 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180472>

J, G., & Ravussin, E. **2008**. Energy metabolism, fuel selection and body weight regulation. *NIH Public Access*. 32(7). 109–119. <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.246>.

Jenkins, D. J.A., Jenkins, A.L., Thomas, M.S., Wolever, M.D., Thomson, L.H., Venkat-Rao, A. **1986**. Simple and complex carbohydrates. *Nutrition Reviews*. 44 (2): 44-49

Jequier, E., & Schutz, Y. 1983. Long-term measurements of energy expenditure in humans using a respiration chamber. *American Journal of Clinical Nutrition*.

Jeukendrup, a E. **2003**. Modulation of carbohydrate and fat utilization by diet, exercise and environment. *Biochemical Society Transactions*. 31: 1270–1273. <https://doi.org/10.1042/BST0311270>

Kersten, S. **2001**. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. *EMBO Reports*. 2(4): 282–286. doi:10.1093/embo-reports/kve071

Koivisto, V., Hendler, R., Nadel, E., & Felig, P. **1982**. Influence of physical training on the fuel-hormone response to prolonged low intensity exercise. *Metabolism*. 31(2): 192–197. doi:10.1016/0026-0495(82)90135-4

Koutsari, C., & Sidossis, L. S. **2003**. Effect of isoenergetic low- and high-carbohydrate diets on substrate kinetics and oxidation in healthy men. *Br J Nutr.* 90(2): 413–418. <https://doi.org/10.1079/BJN2003894>

Krishnan, S., & Cooper, J. A. **2014**. Effect of dietary fatty acid composition on substrate utilization and body weight maintenance in humans. *European Journal of Nutrition.* 53: 691–710. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0638-z>

Kulkarni, B. V., & Mattes, R. D. **2014**. Lingual lipase activity in the orosensory detection of fat by humans. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology.* 306(12): R879–R885. doi:10.1152/ajpregu.00352.2013

Lazzer S, Lafortuna C, Busti C, et al. **2010**. Fat oxidation rate during and after a low- or high-intensity exercise in severely obese Caucasian adolescents. *Eur J Appl Physiol.* 2010;108:383–391. doi:10.1007/s00421-009-1234-z

Lazzer, S., Bedogni, G., Lafortuna, C. L., et al. 2010. Relationship Between Basal Metabolic Rate, Gender, Age, and Body Composition in 8,780 White Obese Subjects. *Obesity.* 18(1): 71–78. doi:10.1038/oby.2009.162

Lazzer S, Lafortuna C, Busti C, Galli R, Agosti F, Sartorio A. **2011**. Lazzer S, Lafortuna C, Busti C, et al. **2010**. Fat oxidation rate during and after a low- or high-intensity exercise in severely obese Caucasian adolescents. *Eur J Appl Physiol.* Effects of low- and high-intensity exercise training on body composition and substrate metabolism in obese adolescents. *J Endocrinol Invest.* 34(1):45–52. doi: 10.3275/7238

Lee, B., & Woleve, T. **1998**. Effect of glucose, sucrose and fructose on plasma glucose and insulin responses in normal humans: comparison with white bread. *European Journal of Clinical Nutrition.* 52(12): 924–928. doi:10.1038/sj.ejcn.1600666

- Lovren, F., Teoh, H., & Verma, S. **2015**. Obesity and Atherosclerosis: Mechanistic Insights. *Canadian Journal of Cardiology*. 31(2): 177–183. doi:10.1016/j.cjca.2014.11.031
- Ludwig, D. S., & Ebbeling, C. B. **2018**. The Carbohydrate-Insulin Model of Obesity. *JAMA Internal Medicine*. 178(8): 1098. doi:10.1001/jamainternmed.2018.2933
- Macauley, M., Smith, F. E., Thelwall, P. E., Hollingsworth, K. G., & Taylor, R. **2015**. Diurnal variation in skeletal muscle and liver glycogen in humans with normal health and Type 2 diabetes. *Clinical Science*. 128(10): 707–713. doi:10.1042/cs20140681
- Maclaren, D., Morton, U. *Biochemistry for sports and exercise metabolism*. 1ra edicion. John Wiley and Soons. United Kingdom. **2012**. 249 p.
- Maher AC, Akhtar M, Tarnopolsky MA. **2010**. Men supplemented with 17beta-estradiol have increased beta-oxidation capacity in skeletal muscle. *Physiol Genomics*. 42:342–347. doi:10.1152/physiolgenomics.00016.2010.
- Manolescu, A. R., Witkowska, K., Kinnaird, A., Cessford, T., & Cheeseman, C. **2007**. Facilitated Hexose Transporters: New Perspectives on Form and Function. *Physiology*. 22(4): 234–240. doi:10.1152/physiol.00011.2007
- Mansoor, N., Vinknes, K. J., Veierød, M. B., & Retterstøl, K. **2015**. Effects of low-carbohydrate diets v. low-fat diets on body weight and cardiovascular risk factors: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition*, 115(03): 466–479. doi:10.1017/s0007114515004699
- Marten, B., Pfeuffer, M., & Schrezenmeir, J. **2006**. Medium-chain triglycerides. *International Dairy Journal*, 16(11): 1374–1382. doi:10.1016/j.idairyj.2006.06.015
- McDevitt, R. M., Poppitt, S. D., Murgatroyd, P. R., & Prentice, A. M. **2000**. Macronutrient disposal during controlled overfeeding with glucose, fructose, sucrose, or fat in lean and obese women. *American Journal of Clinical Nutrition*. 72(2): 369–377.

Melzer, K. **2011**. Carbohydrate and fat utilization during rest and physical activity. *E-SPEN*, 6(2): e45–e52. <https://doi.org/10.1016/j.eclnm.2011.01.005>

Messonnier, L. A., Emhoff, C.-A. W., Fattor, J. A., Horning, M. A., Carlson, T. J., & Brooks, G. A. **2013**. Lactate kinetics at the lactate threshold in trained and untrained men. *Journal of Applied Physiology*. 114(11): 1593–1602. doi:10.1152/jappphysiol.00043.2013

Minehira, K., Vega, N., Vidal, H., Acheson, K., & Tappy, L. **2004**. Effect of carbohydrate overfeeding on whole body macronutrient metabolism and expression of lipogenic enzymes in adipose tissue of lean and overweight humans. *International Journal of Obesity*. 28(10): 1291–1298. doi:10.1038/sj.ijo.0802760

Monteleone, P., Bencivenga, R., Longobardi, N., Serritella, C., & Maj, M. **2003**. Differential Responses of Circulating Ghrelin to High-Fat or High-Carbohydrate Meal in Healthy Women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. <https://doi.org/10.1210/jc.2003-030797>

Montgomery, M. K., Osborne, B., Brown, S. H. J., Small, L., Mitchell, T. W., Cooney, G. J., & Turner, N. **2013**. Contrasting metabolic effects of medium- versus long-chain fatty acids in skeletal muscle. *Journal of Lipid Research*. 54(12): 3322–3333. doi:10.1194/jlr.m040451

Morita, E., Taniguchi, H., & Sakaue, M. **2009**. Trp64Arg Polymorphism in Beta3-Adrenergic Receptor Gene Is Associated with Decreased Fat Oxidation Both in Resting and Aerobic Exercise in the Japanese Male. *Experimental Diabetes Research*. 1–5. doi:10.1155/2009/605139

Mumme, K., & Stonehouse, W. **2015**. Effects of Medium-Chain Triglycerides on Weight Loss and Body Composition: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 115(2): 249–263. doi:10.1016/j.jand.2014.10.022

Murray,R.K.,Bender, D.A, Botham, K.M., Kenelly, P.J., Rodwell, V.W., Weil, P.A. *Bioquímica ilustrada de Harper*. 28.McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES. Mexico, D.F. 2010. 687 p.

Nimptsch, K., Konigorski, S., & Pischon, T. **2019**. Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. *Metabolism*. 92: 61–70. doi:10.1016/j.metabol.2018.12.006

Organizacion Mundial de la Salud. **2018**. Datos y cifras, Obesidad y Sobrepeso.

Ounis OB., Elloumi M., Amri M., Zbidi A., Tabka Z., Lac G. **2008**. Impact of diet, exercise and diet combined with exercise programs on plasma lipoprotein and adiponectin levels in obese girls. *J Sport Sci Med*. 7:437–445. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3761909/>

Peltz, G., Aguirre, M. T., Sanderson, M., & Fadden, M. K. **2010**. The role of fat mass index in determining obesity. *American Journal of Human Biology*. 22(5): 639–647. doi:10.1002/ajhb.21056

Pietraszek, A., Hermansen, K., Pedersen, S. B., Langdahl, B. L., Holst, J. J., & Gregersen, S. **2013**. Effects of a meal rich in medium-chain saturated fat on postprandial lipemia in relatives of type 2 diabetics. *Nutrition*. 29 (7-8): 1000–1006. doi:10.1016/j.nut.2013.01.018

Pilegaard, H., Ordway, G. A., Saltin, B., & Neufer, P. D. **2000**. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 279(4): E806–E814. doi:10.1152/ajpendo.2000.279.4.e806

Pi-Sunyer, F. X. **2000**. Obesity: criteria and classification. *Proceedings of the Nutrition Society*. 59(04): 505–509. doi:10.1017/s0029665100000732

Ramos-Jiménez, A., Hernández-Torres, R. P., Torres-Durán, P. V, Romero-Gonzalez, J., Mascher, D., Posadas-Romero, C., & Juárez-Oropeza, M. a. (2008). The

Respiratory Exchange Ratio is Associated with Fitness Indicators Both in Trained and Untrained Men: A Possible Application for People with Reduced Exercise Tolerance. *Clinical Medicine. Circulatory, Respiratory and Pulmonary Medicine*.2:1–9. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2990231&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Ramos-Jiménez Arnulfo, Hernández-Torres Rosa P, Wall-Medrano Abraham, Torres-Durán Patricia V., Juárez-Oropeza Marco A. **2009**. Efectos del ejercicio sobre los mecanismos celulares para la captación de glucosa en el músculo esquelético. *Revista de Educación Bioquímica*. 28(4): 130-139. ISSN: 1665-1995.

Rivera, J. A., Pedraza, L. S., Aburto, T. C., Batis, C., Tania, G. S., Cos, D., ... Pedroza-tob, A. **2016**. Overview of the Dietary Intakes of the Mexican Population : Results from the National Health. <https://doi.org/10.3945/jn.115.221275.1851S>

Robinson, S., Chambers, E., Fletcher, G., & Wallis, G. **2016**. Lipolytic Markers, Insulin and Resting Fat Oxidation are Associated with Maximal Fat Oxidation. *International Journal of Sports Medicine*. 37(08): 607–613. doi:10.1055/s-0042-100291

Romijn, J. A., Coyle, E. F., Sidossis, L. S., Gastaldelli, A., Horowitz, J. F., Endert, E., & Wolfe, R. R. **1993**. Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 265(3): E380–E391. doi:10.1152/ajpendo.1993.265.3.e380

San-Millán, I., & Brooks, G. A. **2017**. Assessment of Metabolic Flexibility by Means of Measuring Blood Lactate, Fat, and Carbohydrate Oxidation Responses to Exercise in Professional Endurance Athletes and Less-Fit Individuals. *Sports Medicine*. 48(2): 467–479. doi:10.1007/s40279-017-0751-x

Shimada, K., Yamamoto, Y., Iwayama, K., Nakamura, K., Yamaguchi, S., Hibi, M., ... Tokuyama, K. **2013**. Effects of post-absorptive and postprandial exercise on 24h fat oxidation. *Metabolism*. 62(6): 793–800. doi:10.1016/j.metabol.2012.12.008

Schönfeld, P., & Wojtczak, L. **2016**. Short- and medium-chain fatty acids in energy metabolism: the cellular perspective. *Journal of Lipid Research*. 57(6): 943–954. doi:10.1194/jlr.r067629

Schrauwen-Hinderling, V. B., Kooi, M. E., Hesselink, M. K. C., Moonen-Kornips, E., Schaart, G., Mustard, K. J., ... Schrauwen, P. **2005**. Intramyocellular lipid content and molecular adaptations in response to a 1-week high-fat diet. *Obesity Research*. 13(12): 2088–94. <https://doi.org/10.1038/oby.2005.259>

Schrauwen, P., van Marken Lichtenbelt, W. D., Saris, W. H., & Westerterp, K. R. **1997**. Changes in fat oxidation in response to a high-fat diet. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 66(2): 276–282. doi:10.1093/ajcn/66.2.276

Schrauwen, P., Lichtenbelt, W. D., Saris, W. H., & Westerterp, K. R. **1998**. Fat balance in obese subjects: role of glycogen stores. *The American Journal of Physiology*. 274(21): E1027–E1033.

Schrauwen, P., & Westerterp, K. R. **2000**. The role of high-fat diets and physical activity in the regulation of body weight. *British Journal of Nutrition*. 84: 417–427. <https://doi.org/10.1017/S0007114500001720>

Schwarz, J. M., Noworolski, S. M., Wen, M. J., Dyachenko, A., Prior, J. L., Weinberg, M. E., ... Mulligan, K. **2015**. Effect of a high-fructose weight-maintaining diet on lipogenesis and liver fat. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3678>

Seale, J. L., & Rumpler, W. V. **1997**. Comparison of energy expenditure measurements



by diet records, energy intake balance, doubly labeled water and room calorimetry. *European Journal of Clinical Nutrition*. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600498>

Sevastianova, K., Santos, A., Kotronen, A., Hakkarainen, A., Makkonen, J., Silander, K., ... Yki-Järvinen, H. **2012**. Effect of short-term carbohydrate overfeeding and long-term weight loss on liver fat in overweight humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 96(4): 727–734. doi:10.3945/ajcn.112.038695

Sidossis, L. S., Stuart, C. A., Shulman, G. I., Lopaschuk, G. D., & Wolfe, R. R. **1996**. Glucose plus insulin regulate fat oxidation by controlling the rate of fatty acid entry into the mitochondria. *Journal of Clinical Investigation*. 98(10): 2244–2250. doi:10.1172/jci119034

Singh, R. K., Kumar, P., & Mahalingam, K. **2017**. Molecular genetics of human obesity: A comprehensive review. *Comptes Rendus Biologies*. 340(2): 87–108. doi:10.1016/j.crv.2016.11.007

Siri, W. E. **1961**. *Body composition from fluid space and density*. In J. Brozek & A. Hanschel. *Techniques for measuring body composition 223-244*. Washington, DC: National Academy of Science.

Smith, S. R., De Jonge, L., Zachwieja, J. J., Roy, H., Nguyen, T., Rood, J. C., ... Bray, G. A. **2000**. Fat and carbohydrate balances during adaptation to a high-fat diet. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71(2): 450–457.

Sonnino, S., & Prinetti, A. **2012**. Membrane Domains and the Lipid Raft Concept. *Current Medicinal Chemistry*. 20(1): 4–21. doi:10.2174/0929867311320010003

Stensel, D. **2011**. Exercise, appetite and appetite-regulating hormones: Implications for food intake and weight control. *Annals of Nutrition and Metabolism*. 57(2): 36–42. <https://doi.org/10.1159/000322702>

Steven R Smith, Lilian de Jonge, Jeffery J Zachwieja, Heli Roy, Tuong Nguyen, Jennifer Rood, Marlene Windhauser, Julia Volaufova, and G. A. B. **2000**. Concurrent physical activity increases fat oxidation during the shift to a high-fat diet. 72(20): 131–138. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.010132>. INTRODUCTION

St-Onge, M.-P., Bourque, C., Jones, P. J. H., Ross, R., Parsons, W. E. **2003**. Medium-versus long-chain triglycerides for 27 days increases fat oxidation and energy expenditure without resulting in changes in body composition in overweight women. *International Journal of Obesity*. 27(1): 95–102. doi:10.1038/sj.ijo.0802169

Tan S, Wang X, Wang J. **2012**. Effects of supervised exercise training at the intensity of maximal fat oxidation in overweight young women. *Journal of Exercise Science & Fitness*. 10 (2): 64–69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jesf.2012.10.002>

Tan S, Wang J, Cao L, Guo Z, Wang Y. **2016**. Positive effect of exercise training at maximal fat oxidation intensity on body composition and lipid metabolism in overweight middle-aged women. *Clin Physiol Funct Imaging*. 36: 225–230. doi:10.1111/cpf.12217

Tan S, Wang J, Cao L. **2016**. Exercise training at the intensity of maximal fat oxidation in obese boys. *Appl Physiol Nutr Metab*. 41(1):49–54. doi:10.1139/apnm-2015-0174

Tan S, Du P, Zhao W, Pang J, Wang J, Science E, et al. **2018**. Exercise Training at Maximal Fat Oxidation Intensity for Older Women with Type 2 Diabetes. *Int J Sport*

Tappy, L. **1996**. Thermic effect of food and sympathetic nervous system activity in humans. *Reproduction Nutrition Development*. 36(4): 391-397.

Thorell, A., Hirshman, M. F., Nygren, J., Jorfeldt, L., Wojtaszewski, J. F. P., Dufresne, S. D., ... Goodyear, L. J. **1999**. Exercise and insulin cause GLUT-4 translocation in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 277(4): E733–E741. doi:10.1152/ajpendo.1999.277.4.e733

Vargas, M., Lancheros, L., & Barrera, M. **2011**. Gasto Energético En Reposo Y Composición Corporal En Adultos. *Revista de La Facultad de Medicina*. 59(1): 43–58.

Venables, M. C., Achten, J., & Jeukendrup, A. E. **2005**. Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. *Journal of Applied Physiology*. 98(1): 160–167. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00662.2003>.

Venables, M. C., & Jeukendrup, A. E. **2008**. Endurance training and obesity: Effect on substrate metabolism and insulin sensitivity. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 40(3): 495–502. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e31815f256f>

Vilaça-Alves, J., Muller, F., Rosa, C., Payan-Carreira, R., Lund, R., Matos, F., ... Machado Reis, V. **2018**. Cardiorespiratory, enzymatic and hormonal responses during and after walking while fasting. *PLOS ONE*. 13(3): e0193702. doi:10.1371/journal.pone.0193702

Wang, J., Tan, S., & Cao, L. **2015**. Exercise training at the maximal fat oxidation intensity improved health-related physical fitness in overweight middle-aged women. *Journal of Exercise Science & Fitness*. 13(2): 111–116. doi:10.1016/j.jesf.2015.08.003

Warfel, J. D., Vandanmagsar, B., Dubuisson, O. S., Hodgeson, S. M., Elks, C. M., Ravussin, E., & Mynatt, R. L. **2017**. Examination of carnitine palmitoyltransferase 1 abundance in white adipose tissue: implications in obesity research. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*; 312(5): R816–R820. doi:10.1152/ajpregu.00520.2016

Watt, M. J., Heigenhauser, G. J. F., Dyck, D. J., & Spriet, L. L. **2002**. Intramuscular triacylglycerol, glycogen and acetyl group metabolism during 4 h of moderate exercise in man. *The Journal of Physiology*. 541(3): 969–978. doi:10.1113/jphysiol.2002.018820

Watt, M. J., Heigenhauser, G. J. F., LeBlanc, P. J., Inglis, J. G., Spriet, L. L., & Peters, S. J. **2004**. Rapid upregulation of pyruvate dehydrogenase kinase activity in human skeletal muscle during prolonged exercise. *Journal of Applied Physiology*. 97(4): 1261–1267. doi:10.1152/jappphysiol.00132.2004

Watt, M. J., & Spriet, L. L. **2010**. Triacylglycerol lipases and metabolic control: implications for health and disease. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 299(2): E162–E168. doi:10.1152/ajpendo.00698.2009

Weir, B. Y. J. B. D. E. V. **1949**. New methods for calculating metabolic rate with special reference to protein metabolism. *J. Physiol.* 109(5): 1–9.

Westerterp, K. R. **2008**. Basic concepts in nutrition: Body composition and its measurement. *E-SPEN*. 3(3): 126–129.

<https://doi.org/10.1016/j.eclnm.2008.02.005>

Westman, E. C., Feinman, R. D., Mavropoulos, J.C., Vernon, M.C., Volek, J.S., Wortman, J.A., Yancy, W.S., Phynney, S.D. **2007**. Low-Carbohydrate nutrition metabolism. *Am J Clin Nutr.* 86: 276-284.

Xu, X., Gopalacharyulu, P., Seppänen-Laakso, T., Ruskeepää, A.-L., Aye, C. C., Carson, B. P., ... Telemann, A. A. **2012**. Insulin Signaling Regulates Fatty Acid Catabolism at the Level of CoA Activation. *PLoS Genetics.* 8(1): e1002478. doi:10.1371/journal.pgen.1002478

Yadav A, Kataria M. A., Saini V, Yadav A. **2013**. Role of leptin and adiponectin in insulin resistance. *Clinica Chimica Acta.* 417:80-84. doi:10.1016/j.cca.2012.12.007

ZAKRZEWSKI, J. K., & TOLFREY, K. **2012**. Acute Effect of Fatmax Exercise on the Metabolism in Overweight and Nonoverweight Girls. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 44(9): 1698–1705. doi:10.1249/mss.0b013e31825804cf

Zouhal, H., Jacob, C., Delamarche, P., & Gratas-Delamarche, A. **2008**. Catecholamines and the Effects of Exercise, Training and Gender. *Sports Medicine.* 38(5): 401–423. doi:10.2165/00007256-200838050-00004

## ANEXOS

Anexo 1.



**UNIVERSIDAD AUTONOMA DE CIUDAD JUAREZ**

**Maestría en Ciencias Químico Biológicas**

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**



**Efecto agudo de la dieta y del ejercicio aeróbico sobre el metabolismo energético y la utilización de macronutrientes en sujetos sedentarios con obesidad.**

Yo \_\_\_\_\_ acepto de manera voluntaria participar en el presente estudio. Lo anterior luego de haber conocido y comprendido en su totalidad el protocolo, los riesgos potenciales (si los hubiera), y los beneficios directos e indirectos de mi participación.

### **JUSTIFICACIÓN:**

La dieta occidental caracterizada por un alto consumo de grasas, ha dado lugar a una elevada tasa de obesidad en la población mexicana, permitiendo el desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles que a su vez incrementan la tasa de mortalidad. Ante este creciente problema, es necesario el desarrollo y consolidación de metodologías efectivas que favorezca la disminución de la masa grasa incrementando su oxidación para lograr un balance calórico. El ejercicio y la dieta han demostrado ser dos vías efectivas para alcanzar este objetivo, sin embargo, las intensidades ideales de ejercicio y las dietas adecuadas para la mayor oxidación de grasas se encuentran en discusión.

### **OBJETIVOS:**

- Comprobar que una ingesta alta en grasas favorece la oxidación de las mismas.
- Comprobar que el ejercicio aeróbico realizado a una intensidad del 40% del consumo máximo de O<sub>2</sub> (VO<sub>2max</sub>) acelera la oxidación de grasas en sujetos sedentarios con obesidad.

### **ACTIVIDADES A REALIZAR:**

- I. Sesión 1. Evaluación del estado general de salud.
  - 1) Historial clínico.
- II. Sesión 2. Determinación de la ingesta y el gasto calórico.
  - 1) Formatos de registro alimenticio.
  - 2) Cuestionario de actividad física (IPAQ).
  - 3) Calorimetría indirecta.
- III. Sesión 3. Evaluación de la composición corporal.
  - 1) Mediciones antropométricas.
  - 2) Impedancia Bioeléctrica
- IV. Sesión 4. Evaluación de la capacidad cardiorrespiratoria.
  - 1) Prueba de esfuerzo máximo.
  - 2) Medición de la frecuencia cardíaca.
  - 3) Toma de la temperatura corporal.
  - 4) Toma de muestras sanguíneas para determinar nivel de LT en sangre.
- V. Sesión 5. Dieta y ejercicio

- 1) Medición de la tasa de recambio respiratorio en estado basal.
- 2) Ejercicio aeróbico en banda sin fin, realizado a la intensidad del pico de oxidación de grasas.
- 3) Medición de LT en sangre.
- 4) Consumo de un alimento alto en grasas.
- 5) Medición de la frecuencia cardíaca.

### **PROCEDIMIENTOS:**

Las actividades y evaluaciones se realizarán en el laboratorio de fisiología del ejercicio, edificio Z del Instituto de Ciencias Biomédicas.

Cada sesión tendrá su propio procedimiento, el cual será explicado detalladamente en su momento, y la calendarización de las mismas, será en base a la disponibilidad y horario de cada uno de los sujetos, de forma que no se afecte su historial académico.

### **Criterios de inclusión:**

- Edad: 18-35 años
- Sexo: Masculino
- IMC: De 30 kg/m<sup>2</sup> - 35 kg/m<sup>2</sup>
- Gasto calórico en actividades físicas menor de 1000 Kcal por semana
- Historial clínico libre de enfermedades fisiológicas, metabólicas o incapacidades físicas.

### **Indicaciones:**

- Se pedirá a los participantes que asistan puntualmente al laboratorio de Fisiología del Ejercicio usando vestimenta deportiva adecuada (shorts, tenis y playera).

### **BENEFICIOS:**



Los participantes conocerán sus capacidades físicas y la intensidad de ejercicio ideal para el mayor gasto energético, y con ello bajar masa grasa a mayor velocidad.

**CONFIDENCIALIDAD:**

La información que se nos proporcione será de carácter estrictamente confidencial, utilizada únicamente con fines estadísticos y en ningún momento se mencionarán sus nombres, ni otros datos particulares.

**RIESGOS POTENCIALES:**

Los mayores compromisos serán cansancio, fatiga muscular, sudoración, aumento moderado de la temperatura corporal ( $\leq 2$  °C), de la frecuencia cardíaca y su presión sanguínea; estos últimos dos dentro de los parámetros normales por el efecto del ejercicio. Un muy bajo porcentaje de personas (< 5%) pueden presentar mareos, náuseas, dolor de cabeza, taquicardia, palidez, deshidratación, dolor articular e hipoglucemia, por lo que usted estará en constante supervisión durante todas las actividades por personal capacitado en primeros auxilios. En caso de un riesgo mayor será canalizado a los servicios de emergencia institucionales (Cruz roja o sus servicios médicos).

**PARTICIPACION VOLUNTARIA/RETIRO:**

La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Ningún participante recibirá alguna retribución monetaria por su contribución; además, si usted decide, en cualquier momento, no continuar participando no tendrá ningún tipo de repercusión.

**CORREO A CONTACTAR:**

Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto esta investigación, por favor comuníquese con el investigador (a) responsable por alguno de los siguientes medios:

Correo: al171426@alumnos.uacj.mx

Celular:656-385-15-87

Si usted acepta participar en el estudio, se le hará entrega de una copia de este documento, el cual le pedimos sea tan amable de firmar.

Nombre \_\_\_\_\_ del  
participante:\_\_\_\_\_

Firma:\_\_\_\_\_ Fecha:\_\_\_\_\_

Nombre completo del testigo 1:

\_\_\_\_\_

Dirección:\_\_\_\_\_ Fecha:

\_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Relación con el participante: \_\_\_\_\_

Nombre completo del testigo 2:

\_\_\_\_\_

Dirección:\_\_\_\_\_ Fecha:

\_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Relación con el participante: \_\_\_\_\_

Nombre de la persona que obtiene el  
consentimiento:\_\_\_\_\_

Fecha:\_\_\_\_\_

Información médica y de contacto.

Le pedimos de favor que anexe los datos correspondientes a la clínica adscrita, así como la información pertinente de la(s) persona(s) a quien(es) se recurrirá en caso de emergencia.

Clínica adscrita: \_\_\_\_\_ Derechohabiente: \_\_\_\_\_

Número de seguro social: \_\_\_\_\_

Contacto 1

Nombre completo: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

Correo: \_\_\_\_\_

Contacto 2

Nombre completo: \_\_\_\_\_

Parentesco: \_\_\_\_\_ Celular: \_\_\_\_\_

Correo: \_\_\_\_\_

Anexo 2

CUESTIONARIO DE SALUD

Historia Médica e informe de Lesiones

Fecha \_\_\_\_\_

Nombre completo \_\_\_\_\_ Sexo: Hombre

Mujer

Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_

Lugar de nacimiento \_\_\_\_\_

Dirección

Calle y Número:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Código Postal \_\_\_\_\_ Colonia \_\_\_\_\_

Ciudad \_\_\_\_\_ Estado

\_\_\_\_\_

Teléfono particular ( ) \_\_\_\_\_

Teléfono de trabajo ( ) \_\_\_\_\_ ext \_\_\_\_\_

Teléfono celular \_\_\_\_\_

Servicio Médico con el que cuenta:

IMSS ISSSTE Pensiones Otro \_\_\_\_\_

Número o clave del servicio médico:

\_\_\_\_\_

Fecha del último examen médico \_\_\_\_ \_\_\_\_ \_\_\_\_

DD MM AA

Fecha del último examen dental \_\_\_\_ \_\_\_\_ \_\_\_\_

DD MM AA

Alergias:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Medicamentos que está tomando actualmente:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

En caso de urgencia notificar a:	
Nombre	
Dirección	
Teléfono (s)	
Parentesco	

## 1.2 Historia familiar

Por favor, identifique cualquier problema de salud que haya ocurrido en su familia (padres, abuelos ó hermanos consanguíneos).						
			quién			quién
Alguien menor a 50 años ha muerto súbitamente	si	no		Alergias o asma	si	no
Alta presión arterial	si	no		Anemias	si	no
Problemas de corazón	si	no		Diabetes	si	no
Cáncer o tumores	si	no		Epilepsia	si	no
Migrañas	si	no		Desórdenes de riñón y vejiga	si	no
Problemas emocionales	si	no		Desórdenes de estómago	si	no
				Alteraciones genéticas	si	no
Número de hermanos y hermanas						

## 2.2 Historia personal

Ha tenido o tiene alguno de los siguientes problemas de salud		
si	n	Dificultades con sus ojos o con la visión
	o	

si o	n	Dificultades con su nariz o garganta
si o	n	Problemas con sus oídos
si o	n	Dolor de cabeza, mareos, debilidad, fatiga o problemas de coordinación o equilibrio (subraye cuáles)
si o	n	Adormecimiento en cualquier parte de su cuerpo
si o	n	Peligro de conmoción (pérdida de conocimiento) ó algo de temblor de alguna parte de su cuerpo
si o	n	Tos, dificultad de respirar, dolor en el pecho o palpitaciones
si o	n	Poco apetito, vómito, dolor abdominal, estreñimiento (subraye)
si o	n	Rigidez muscular, hinchamiento, dolor de músculos y /o huesos (subraye cuáles)
si o	n	Algún problema de la piel como dolor, comezón, enrojecimiento o sensación de calor, etc.
si o	n	¿Algún otro síntoma?

Ha tenido ó le han dicho que ha tenido o consultado con un médico por alguno de los siguientes padecimientos:		
si o	n	Diabetes, bocio (hipo o hipertiroidismo) o alguna enfermedad de alguna glándula endocrina
si o	n	Epilepsia
si o	n	Desordenes nerviosos o cualquier enfermedad del cerebro o sistema nervioso
si o	n	Problemas del corazón o fiebre reumática
si o	n	Venas varicosas, flebitis o hemorroides
si o	n	Alguna enfermedad de la sangre, formación fácil de moretones o tendencia de sangrado
si o	n	Tuberculosis, asma o cualquier enfermedad de los pulmones o alteraciones del Sist. Respiratorio
si o	n	Úlceras o cualquier enfermedad del estómago, intestino hígado o vesícula biliar
si o	n	Orina con azúcar, sangre o albúmina ó cualquier enfermedad de los riñones u órganos genitourinario



si o	n	Artritis, reumatismo, o algún lesión o enfermedad en los huesos, articulaciones, espina dorsal o espalda
si o	n	Hernia o cualquier enfermedad de los músculos o la piel
si o	n	Cáncer, tumor o cualquier crecimiento en el cuerpo
si o	n	Alguna lesión en la cabeza que le ha ocasionado un mareo severo, pérdida de la memoria, vómito, pérdida de la conciencia o requerido atención médica ó hospitalización.
si o	n	Problemas con deshidratación (pérdida excesiva de agua y/o sales).
si o	n	Alguna vez ha tenido problemas de regulación de su temperatura (incremento súbito y sin causa aparente de la temperatura de su cuerpo arriba de 40.5 °C.
		En caso de que si ¿fue hospitalizado?
si o	n	Algún otro desorden de control de la temperatura. Especifique
si o	n	Ha estado hospitalizado para ser observado o recibir tratamiento de alguna enfermedad
si o	n	¿Ha cambiado su peso en el último año? Perdido_____kg. Ganado _____ kg.

si	n	¿Qué explicación le da a este cambio de peso?
	o	_____
si	n	¿Está últimamente más sediento que anteriormente?
	o	
si	n	¿Estas actualmente en un programa de pérdida de peso?
	o	
		Si tu respuesta es si. ¿Cuál es tu esquema? Dieta_____ Ejercicio_____ Ambos_____

Drogas, complementos alimenticios y agentes varios.		
si	n	¿Está tomando algún medicamento?
	o	
si	n	¿Está tomando alguna vitamina?
	o	
si	n	¿Esta tomando algún estimulante (anfetamina, benzdina, otros)?
	o	
si	n	¿Esta tomando algún agente anabólico (medicamento o suplemento estimulador del crecimiento)
	o	
si	n	¿Está tomando pastillas para dormir?
	o	

si	n	¿Está tomando algún otro medicamento que se lo haya indicado un médico?
	o	¿Cuál(es)?
si	n	¿Está tomando algún medicamento no indicado por ningún médico? ¿Cuál(es)?
	o	
si	n	¿Fuma?
	o	
si	n	¿Toma? Si su respuesta es sí ¿Cuánto por semana?
	o	
si	n	Alguna vez algún médico le ha dicho que no practique algún(os) deporte(s) por algún período de tiempo. Si su respuesta es si .
	o	¿Cuál(es) deporte(s)?
		¿Cuánto tiempo?
si	n	¿Usa lentes de contacto cuando practica deporte?
	o	

Traumas y lesiones corporales		
si	N	¿Se ha lesionado, alguna vez, sus hombros, brazos, codos, o muñecas?
	o	
		¿Si su respuesta es si, la lesión lo incapacito por 1 semana o más?

si o	n	¿Se ha lesionado, alguna vez, la cabeza, la columna a nivel cervical, torácico o lumbar o en la región sacro-ilíaca?
si o	n	¿Tiene algún dolor en su espalda?
si o	n	Si su respuesta es si. ¿Con que frecuencia? a) rara vez b) ocasionalmente c) frecuentemente d) solo después de ejercicio vigoroso.
si o	n	¿Se ha lesionado, alguna vez, su cadera, rodilla, tobillo o pie?
		Si su respuesta fue sí, ¿lo incapacitó por una semana o más?
si o	n	¿Se ha lesionado, alguna vez, los cartílagos (meniscos) de alguna articulación?
si o	n	¿Ha tenido alguna vez problemas con su rótula (condromalasia o dislocación, etc)?
si o	n	¿Le han dicho alguna vez que los ligamentos de sus rodillas se han dislocado?
si o	n	¿Le han dicho alguna vez que le truena la rodilla?
si o	n	¿Tiene un perno, clavo o placa en su cuerpo como resultado de alguna intervención quirúrgica para unir 2 huesos?

si	n	¿Ha tenido alguna fractura en los últimos 2 años? Si su respuesta es sí, especifica donde y cuando.
	o	
si	n	¿Ha sido sometido a alguna intervención quirúrgica? Si su respuesta es si, especifique por qué y cuándo.
	o	

Carta Médica: Resumen cronológico de las enfermedades y lesiones contestadas con un SI		
Fecha	Nombre del Médico y dirección que lo atendió (consultorio, hospital, etc)	Naturaleza de la enfermedad o lesión

NOMBRE Y FIRMA DEL

SUJETO \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Anexo 3

### Formato del IPAQ

<b>Fecha del estudio:</b>			
Nombre:		Fecha de nacimiento:	
Talla (m):	Peso (kg):	IMC:	C. cintura (cm):

USA Spanish version translated 3/2003 - SHORT LAST 7 DAYS SELF-ADMINISTERED version of the IPAQ. Traducido al español por Ramos-Jimenez Arnulfo y Hernández Torres Rosa Patricia.

Estamos interesados en saber acerca de la clase de actividad física que la gente hace como parte de su vida diaria. Las preguntas se referirán acerca del tiempo que usted utilizó siendo físicamente activo(a) en los **últimos 7 días**. Por favor responda cada pregunta aún si usted no se considera una persona activa.

Por favor piense en aquellas actividades que usted hace como parte del trabajo, en el jardín y en la casa, para ir de un sitio a otro, y en su tiempo libre de descanso, ejercicio o deporte. Piense acerca de todas aquellas actividades **vigorosas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **vigorosas** son las que requieren un esfuerzo físico fuerte y le hacen respirar mucho más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

1. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días realizó usted actividades físicas **vigorosas** como levantar objetos pesados, excavar, aeróbicos, o pedalear rápido en bicicleta?

\_\_\_\_\_ días por semana Ninguna actividad física vigorosa **Pase a la pregunta 3**

2. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le tomó realizar actividades físicas **vigorosas** en uno de esos días que las realizó?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día **No sabe/No está seguro(a)**

Piense acerca de todas aquellas actividades **moderadas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado y le hace respirar algo más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos 10 minutos continuos.

3. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como cargar objetos livianos, pedalear en bicicleta a paso regular, o jugar dobles de tenis? No incluya caminatas.

\_\_\_\_\_ días por semana Ninguna actividad física moderada **Pase a la pregunta 5**

4. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas**?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día **No sabe/No está seguro(a)**

Piense acerca del tiempo que usted dedicó a caminar en los **últimos 7 días**. Esto incluye trabajo en la casa, caminatas para ir de un sitio a otro, o cualquier

otra caminata que usted hizo únicamente por recreación, deporte, ejercicio, o placer.

5. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días caminó usted por al menos 10 minutos continuos?

\_\_\_\_\_ días por semana

No caminó ***Pase a la pregunta 7***

6. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando**?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día  
**seguro(a)**

**No sabe/No está**

La última pregunta se refiere al tiempo que usted permaneció **sentado(a)** en la semana en los **últimos 7 días**. Incluya el tiempo sentado(a) en el trabajo, la casa, estudiando, y en su tiempo libre. Esto puede incluir tiempo sentado(a) en un escritorio, visitando amigos(as), leyendo o permanecer sentado(a) o acostado(a) mirando televisión.

7. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo en promedio permaneció **sentado(a)** por día?

\_\_\_\_\_ horas y/o \_\_\_\_\_ minutos por día  
**seguro(a)**

**No sabe/No está**



