

ADAPTAÇÃO METABÓLICA AO EXERCÍCIO FÍSICO

J. Martins e Silva

Instituto de Bioquímica, Faculdade de Medicina de Lisboa

SUMÁRIO

Este trabalho inclui duas vertentes. A primeira refere as vias metabólicas e principais factores de regulação que intervêm na oxidação dos principais nutrientes consumidos pelo músculo esquelético. Na segunda parte é revista a resposta metabólica ao exercício físico.

São revistos os principais intermediários e etapas enzimáticas da glicólise (em aerobiose e anaerobiose) e do metabolismo do glicogénio. Segue-se a análise da formação e oxidação do acetil-CoA, que inclui o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa mitocondrial. Este processo, que faz parte da respiração celular e depende do consumo de oxigénio, é também partilhado pelos resíduos provenientes da oxidação de aminoácidos e ácidos gordos. É destacada a proveniência dos ácidos gordos livres (alimentar, reservas do tecido adiposo ou do próprio tecido muscular), mecanismos de transporte pelo sangue, captação transmembrana, transporte intracelular e utilização metabólica (regeneração de depósitos de triacilglicerol ou oxidação). São focados os principais intermediários e etapas enzimáticas da β -oxidação, cetogénese hepática e consumo dos corpos cetónicos e respectiva intervenção na geração de ATP pelo músculo. É revista a proveniência (digestão alimentar ou de outros tecidos) dos aminoácidos captados do sangue pelos miócitos, destacada a importância da renovação proteica e das etapas de conversão enzimática essenciais (transaminação e desaminação oxidativa) na degradação dos aminoácidos, síntese proteica e ou formação de derivados azotados dos aminoácidos. É abordada a origem e destino dos grupos aminados removidos dos aminoácidos, quer para a geração de aminoácidos diferentes ou a serem eliminados, após conversão em amoníaco e ureia. É focada a utilização dos cetoácidos como precursores da glicose e glicogénio, através da gliconeogénese.

O tipo de contracção e movimento produzidos dependem, em grande parte, da estrutura e capacidade metabólica dos músculos esqueléticos envolvidos; enquanto

Palavras-chave: Exercício físico, metabolismo aeróbio e anaeróbio dos glúcidos, oxidação metabólica dos ácidos gordos e aminoácidos

um esforço continuado, baseado nas fibras vermelhas musculares, requer constante de energia obtida, preferencialmente, em aerobiose, as variações bruscas de actividade que se baseiam na contractilidade das fibras brancas utilizam energia imediatamente disponível, sob a forma de fosfocreatina e ATP pré-existentes e ou com recurso à glicólise anaeróbia. Verifica-se que o tipo de nutrientes mais utilizados pelo músculo esquelético para a obtenção energia total requerida depende de diversos factores, com destaque para a intensidade e duração do exercício físico, e as características morfológicas e composição em fibras musculares. Os glícidos são o material energético mais consumido em todos os tipos de actividade física, sobretudo durante o exercício moderado e intenso, enquanto os lípidos (ácidos gordos e corpos cetónicos), utilizados pelo músculo esquelético e outros tecidos em períodos de repouso, são primordiais no esforço de resistência. A adaptação do músculo esquelético ao esforço assenta em modificações na actividade metabólica, induzidas por moduladores alostéricos e hormonais, que tendem a reverter ao nível basal após um período de inactividade. É referida a importância do glicogénio para o esforço físico continuado. Em condições normais, o glicogénio hepático (em grande parte formado a partir de precursores gliconeogénicos) assegura o fornecimento da glicose requerida pelo músculo esquelético, sendo modificado pelas condições e dieta alimentar. Nos músculos em fase de recuperação do esforço físico, o lactato pode ser consumido como material energético e, em menor proporção, na gliconeogénese. A lactatemia, aumentada durante o esforço, diminui no período de repouso subsequente, particularmente se este incluir algum exercício. Admite-se que a redução acentuada do pH intramuscular, resultante da acumulação de lactato no músculo durante o exercício intenso, contribua para o desenvolvimento da fadiga e menor rendimento físico. O consumo de ácidos gordos pelo músculo esquelético depende da intensidade do esforço físico, do treino existente e da dieta. Cerca de metade dos AGL oxidados durante o exercício moderado e prolongado resulta da fracção captada do sangue, sendo a restante derivada da lipólise das reservas de triacilglicerol muscular. O treino físico aumenta a capacidade de utilização dos corpos cetónicos pelos miócitos. O exercício prolongado tende a induzir o aumento da proteólise (corporal e muscular) aumentando o efluxo de aminoácidos para o plasma (que reverte ao normal no período de recuperação, a par com a redução da síntese proteica). Alguns dos aminoácidos naturais (alanina, aspartato, glutamato e glutamina) têm particular envolvimento durante as fases de exercício e repouso muscular, enquanto os aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) são importantes fornecedores de energia química nos períodos de actividade prolongada. Deste tipo de consumo resulta o aumento do amoníaco e da ureia, em conjunto com o reaproveitamento dos cetoácidos pela gliconeogénese.

INTRODUÇÃO

O trabalho muscular é uma função especializada, executada por células com características morfológicas e funcionais adequadas, no contexto de um organismo em que prevalece a diferenciação estrutural, funcional e metabólica. As células musculares possuem vias

metabólicas e mecanismos de regulação com aspectos comuns aos dos restantes tecidos corporais, embora evidenciem algumas particularidades específicas.

Numa perspectiva global, a actividade muscular não é um acto isolado, pois que depende, funcional e metabolicamente, com maior ou menor relevância, dos nutrientes recebidos e da participação dos restantes tecidos e órgãos, de modo integrado e coordenado por mecanismos de acção global, designadamente endócrinos e do sistema nervoso. Assim, para citar alguns exemplos desse conjunto cooperativo, enquanto o músculo promove o movimento, o fígado tem um desempenho central no armazenamento e distribuição de nutrientes e produtos do metabolismo pelos restantes tecidos, o tecido adiposo contém reservas energéticas para todo organismo e o cérebro (e restante sistema nervoso) induz a formação e distribuição de estímulos sinais eléctricos.

A composição estrutural e estado energético do músculo esquelético, assim como a origem e importância da excitação nervosa para a contracção muscular, foram referidas anteriormente neste trabalho.

Recorde-se que os nutrientes preferencialmente utilizados no metabolismo muscular variam em função do estado alimentar do indivíduo (pós-prandial ou em jejum), em anoxia, tetania e exercício. Esta diferenciação será particularizada no decorrer do texto.

Importa agora dar realce às particularidades metabólicas dos tecidos, em geral, e às do músculo esquelético, em particular, quanto ao processo de obtenção de energia química, em grande parte sob a forma de ATP. A contribuição integrada do metabolismo hepático e adiposo será mencionada a propósito da adaptação do organismo ao exercício físico e necessidades energéticas do músculo.

METABOLISMO OXIDATIVO DOS PRINCIPAIS NUTRIENTES

No músculo esquelético (assim como na generalidade dos tecidos corporais), a oxidação metabólica final dos glícidos (sob a forma de monossacáridos) ocorre em anaerobiose (glicólise anaeróbia, Fig.1a) e ou em aerobiose (pelo mecanismo mitocondrial de respiração celular (Fig.1b), sendo este último processo comum para a oxidação final dos constituintes de lípidos (ácidos gordos) e proteínas (aminoácidos). Em alguns tecidos (p. ex., retina, eritrocitos), a via glicolítica é o único processo de obtenção de energia química necessária à sua sobrevivência e funcionalidade.

A glicose é o nutriente privilegiado de todas as células corporais no período pós-prandial, a partir do qual obtêm ATP por oxidação. Exceptuando menos de 2% da glicose metabolizada pela via das fosfopentoses, a quase totalidade é consumida exclusivamente através da glicólise anaeróbia ou, em condições de boa oxigenação, pela glicólise e fosforilação oxidativa. A quantidade de ATP gerada em aerobiose pela oxidação de glícidos, lípidos e proteínas (de origem alimentar ou reservas corporais) é de cerca de 95 % do total (1,2); a fracção energética (ATP) restante provém da oxidação anaeróbia dos monossacáridos (de origem alimentar ou em depósito sob a forma de glicogénio) através da glicólise. Esta via existe em todas as células humanas, tendo como principal vantagem a rapidez (cerca de 2,5 vezes a das oxidações aeróbias) com que extrai a energia química da glicose (e, indirectamente, de outras hexoses e pentoses) na ausência de oxigénio, através da qual são formadas moléculas de ATP. Por via deste atributo, a glicólise é particularmente útil em muitos tecidos, em particular nas situações que requeiram grande rapidez de acção e ou haja limitação crítica de oxigénio tecidual (2-5). É o que sucede,

p.ex., durante a actividade contráctil, dependente de músculos em que prevalecem as fibras brancas de contracção rápida (6).

De momento, interessa focar a utilização metabólica da glicose, preferencialmente utilizado pelo músculo como fonte energética em período pós-prandial, assim como as condições em que aquela opção dá lugar ao consumo privilegiado de ácidos gordos, corpos cetónicos e aminoácidos.

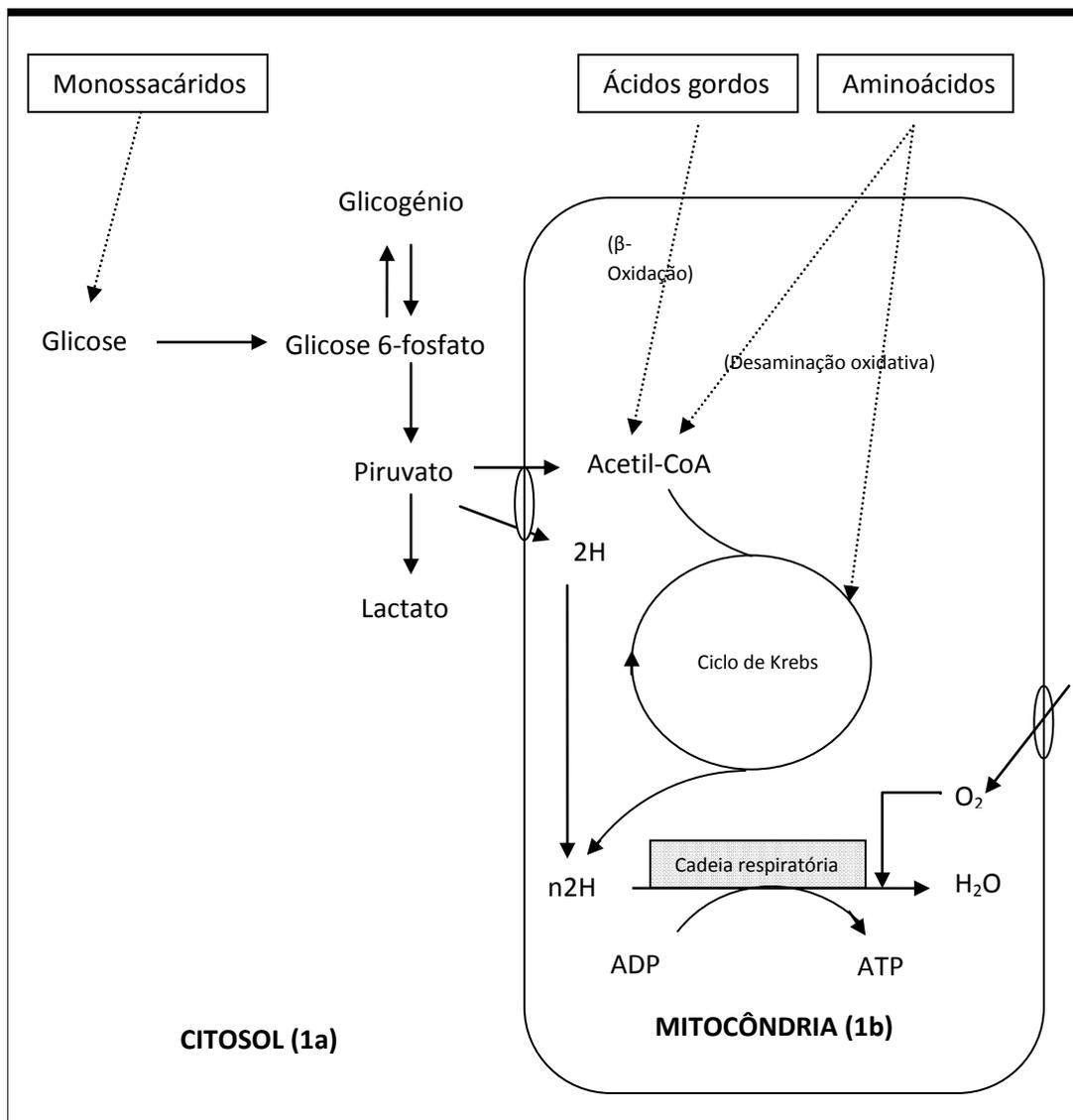


FIGURA 1

Representação esquemática da utilização metabólica da glicose (proveniente do plasma) pelas células. 1^a: A glicose presente no citosol, depois de fosforilada na posição 6, contribui para a formação da reserva de glicogénio celular (quando não é utilizada) ou é oxidada pela via glicolítica para a formação imediata de ATP; dessa oxidação resulta o piruvato que, na ausência de oxigénio, é reduzido em lactato; 1b: Oxidação aeróbia, intramitocondrial, dos principais nutrientes energéticos celulares, designadamente, o piruvato (proveniente da oxidação dos glícidos em aerobiose), ácidos gordos e aminoácidos, com recurso ao ciclo do ácido cítrico e à cadeia respiratória mitocondrial. Da oxidação em aerobiose pela glicólise e ciclo do ácido cítrico resultam equivalentes redutores ($2H^+$), transportados pela cadeia respiratória até ao seu aceitador final (o oxigénio molecular), originando a formação de moléculas de ATP por fosforilação oxidativa.

METABOLISMO DO GLICOGÉNIO E OXIDAÇÃO DA GLICOSE

Relativamente ao metabolismo glicídico, o músculo apresenta três características próprias: (i) O glicogénio, assim como a glicose, são para uso próprio, (ii) A quantidade de ATP requerido varia substancialmente entre a fase de repouso e o exercício máximo; (iii) A gliconeogénese muscular é pouco relevante, pelo que a maior parte da glicose indispensável para consumo metabólico do músculo provém da circulação ou das reservas de glicogénio do próprio músculo.

Influxo celular da glicose - A captação da glicose em circulação no sangue pelo músculo depende da presença de insulina, a qual activa um transportador específico da glicose (GLUT-4) a nível do sarcolema. A insulina é secretada pelas células β dos ilhéus de Langerhans pancreáticos à medida que aumenta a glicemia no território da veia porta. Esta evolução justifica que a glicemia e a insulinemia aumentem quase a para após a ingestão alimentar (7,8). A insulina também estimula a captação de ácidos gordos pelo músculo esquelético, ainda que aquela acção exija a presença de glicose (9).

Para que a glicose proveniente do compartimento extra-celular seja metabolizada pela célula tem de ser previamente fosforilada pelo ATP em glicose 6-fosfato; esta etapa, catalisada pela hexocinase dá que início à glicólise. Porém, após a sua formação, a glicose 6-fosfato, tem como opções metabólicas não só a glicólise mas também a sua polimerização em glicogénio (glicogénese) (10).

Síntese e degradação do glicogénio- O glicogénio é um polímero que funciona como depósito transitório da glicose, designadamente no músculo e fígado. A concentração de glicogénio hepático (cerca de 5%, do peso tecidual) supera a que existe no músculo (inferior a 1%). Porém, o facto de a massa muscular (cerca de 50% do peso corporal) ser muito superior à daquele órgão, justifica que nos músculos exista cerca do triplo da quantidade de glicogénio hepática (11). Tal como no músculo, a síntese de glicogénio hepático aumenta no período pós-prandial (12).

Ainda que a captação da glicose pelos hepatocitos seja independente da insulina, esta hormona estimula a glicogénese e inibe a glicogenólise em ambos os tipos celulares (13). A

baixa actividade enzimática da glicose 6-fosfatase no músculo (excepto em jejum, em que aumenta substancialmente) explica que a glicose seja aqui encaminhada exclusivamente para as vias de oxidação intracelular (14). Pelo contrário, os depósitos intra-hepáticos de glicogénio são utilizados essencialmente para assegurar a manutenção da glicemia, na sequência da estimulação da glicogenólise e efluxo da glicose desfosforilada para a corrente sanguínea (15,16).

O glicogénio disponibiliza quantidades extra de glicose aos miocitos quando as exigências energéticas excedem os níveis captados do sangue pelos miocitos, como sucede no exercício ou em jejum (17).

O facto de o glicogénio ser uma molécula muito ramificada reflecte-se nos múltiplos pontos da molécula em que a glicogenólise tem início, simultaneamente; segue-se uma rápida libertação de muitas moléculas de glicose 1-fosfato, o que é particularmente útil para suprir as exigências energéticas da actividade muscular, sobretudo em situações de emergência (18) (Fig.2). Pelo contrário, a glicogénese muscular processa-se mais lentamente do que a glicogenólise. Estas duas vias partilham substratos e algumas enzimas mas têm regulação distinta e finalidades opostas (19).

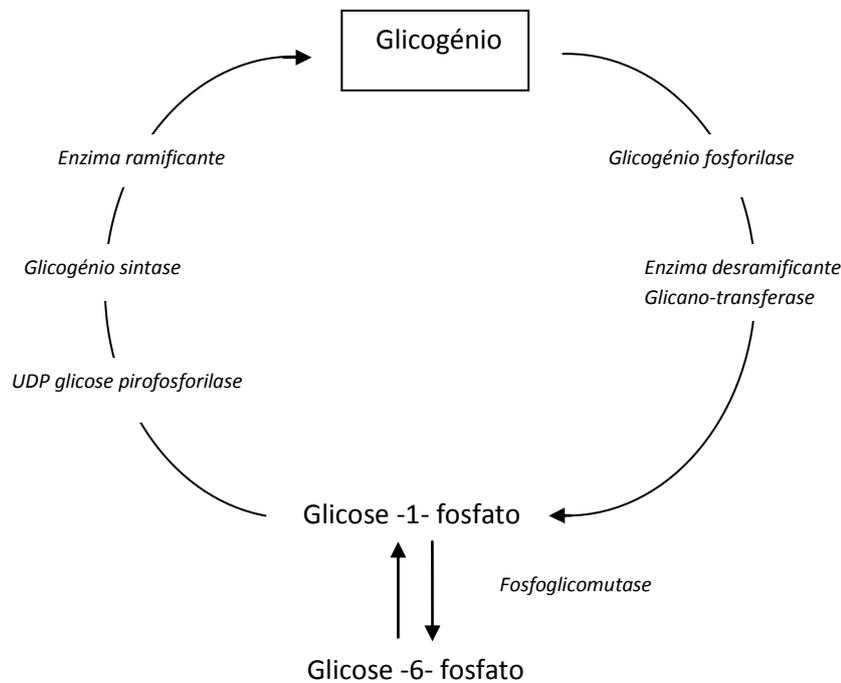


FIGURA 2

Representação da glicogénese e glicogenólise

A glicogenólise é regulada, sobretudo ao nível da etapa catalisada pela fosforilase do glicogénio, por dois tipos de mecanismos, alostérico e hormonal. Aquela enzima induz a clivagem de ligações α - [1-4] nos segmentos periféricos da molécula de glicogénio, de que resulta a remoção de sucessivos resíduos de glicose 1-fosfato (20). O processo requer duas

enzimas auxiliares: a glicano transferase, que transfere unidades de trissacárido de um ramo para outro, expondo as ligações α - [1-6], hidrolisadas pela enzima desramificante. A abertura destas ramificações permite a continuação da fosforólise das ligações α - [1-4] de um novo segmento, até faltarem cerca de 4 resíduos de glicose para outra ligação α - [1-6], onde intervêm novamente a glicano transferase e a enzima desramificante, e assim sucessivamente, até à degradação (quase) completa do glicogénio existente. Os resíduos de glicose 1- fosfato resultantes são, por acção da fosfoglicomutase, convertidos no substrato iniciador da glicólise, a glicose 6-fosfato.

O controlo da glicogenólise no músculo difere do que se passa a nível do fígado, embora haja alguns aspectos comuns. Assim, a glicogenólise muscular é inibida ao nível da fosforilase (a) do glicogénio pelo ATP e pela glicose 6-fosfato pré-existent. Acresce que a fosforilase do glicogénio muscular, ao contrário da sua isoenzima hepática, disponibiliza um centro de fixação para o AMP (resultante da reacção catalisada pela adenilato cinase ou da hidrólise do ATP), o qual actua como activador da forma inactiva (b) da fosforilase. Durante a contracção muscular intensa, o AMP, cuja concentração intracelular aumenta em resultado da hidrólise de ATP, liga-se e activa a fosforilase do glicogénio, induzindo a dissociação sequencial de moléculas de glicose 1-fosfato, imediatamente convertidas em glicose 6-fosfato para oxidação intra-celular. Deste modo, a concentração de AMP sinaliza o estado energético celular, ao indicar a necessidade de maior formação de ATP (20). Quando o músculo entra em repouso, o aumento imediato da concentração de ATP nos miócitos, induz a inibição do sítio alostérico para o AMP nas moléculas de fosforilase do glicogénio, em simultâneo com a remoção dos grupos fosforilo da fosforilase (a), inactivando-a.

A glicogenólise muscular pode ser também activada por outro processo, dependente do aumento da concentração de Ca^{2+} no sarcoplasma e síncrono com o início da contracção muscular (21,22). A fixação de 4 iões unidos na molécula de calmodulina na subunidade δ da fosforilase cinase induz a conversão (activação) da fosforilase (b) do glicogénio em fosforilase (a) (22), provocando um aumento rápido da quantidade de substrato indispensável a um ritmo glicolítico centenas de vezes superior, próprio da contracção muscular (23).

Enquanto a fosforilação da fosforilase (b) origina uma enzima activa (a), sucede o inverso com a sintase do glicogénio, cuja forma activa (a) é desfosforilada. Esta particularidade justifica que aquelas duas enzimas, fundamentais na regulação da glicogenólise e glicogénese, dependam de efeitos recíprocos, em que a activação de uma das vias decorre a par da inactivação da outra, e vice-versa. Nesta regulação é crucial a concentração de AMPc intracelular (24, 25), na mediação de acção hormonal em tecidos-alvo (26). Quando o AMPc aumenta no músculo, p.ex., por acção da epinefrina, promove a activação de uma proteína cinase específica, de resulta a activação da fosforilase cinase (b) em (a) e, desta, a fosforilação da forma (b) da fosforilase do glicogénio em forma (a), que desencadeia a glicogenólise (27). Em simultâneo, a glicogénese permanece inibida enquanto os níveis de AMPc estiverem elevados, devido à fosforilação da glicogénio sintetase (a) em (b). Inversamente, a desfosforilação das enzimas mencionadas pela fosfoproteína fosfatase -1 (por diminuição do AMPc) conduz ao aumento da glicogénese e inibição da glicogenólise (28). Esta regulação é reforçada pela insulina, com acção contrária à induzida pelo AMPc, que, ao activar fosfoproteína fosfatase e inactivar a fosforilação da sintase do glicogénio, provoca a inibição da fosforilase do glicogénio, (29,30).

Adicionalmente, a insulina, ao aumentar a captação de glicose no miócito e a respectiva conversão em glicose 6-fosfato, reforça, por acção alostérica deste intermediário metabólico, a inibição da activação da fosforilase (b) (31,32). Deste modo, a insulina estimula a actividade da

sintetase do glicogénio (que promove a glicogénese) e, simultaneamente, inibe a fosforilase do glicogénio (anulando a glicogenólise), o que, em conjunto, favorece a glicogénese muscular.

Glicólise - A glicólise evolui através de onze etapas enzimáticas que, no total, correspondem a uma sequência oxidativa sob regulação metabólica (Fig. 3). Cada reacção evolui com determinado diferencial energético relativamente à que a antecede e à que se lhe segue (33).

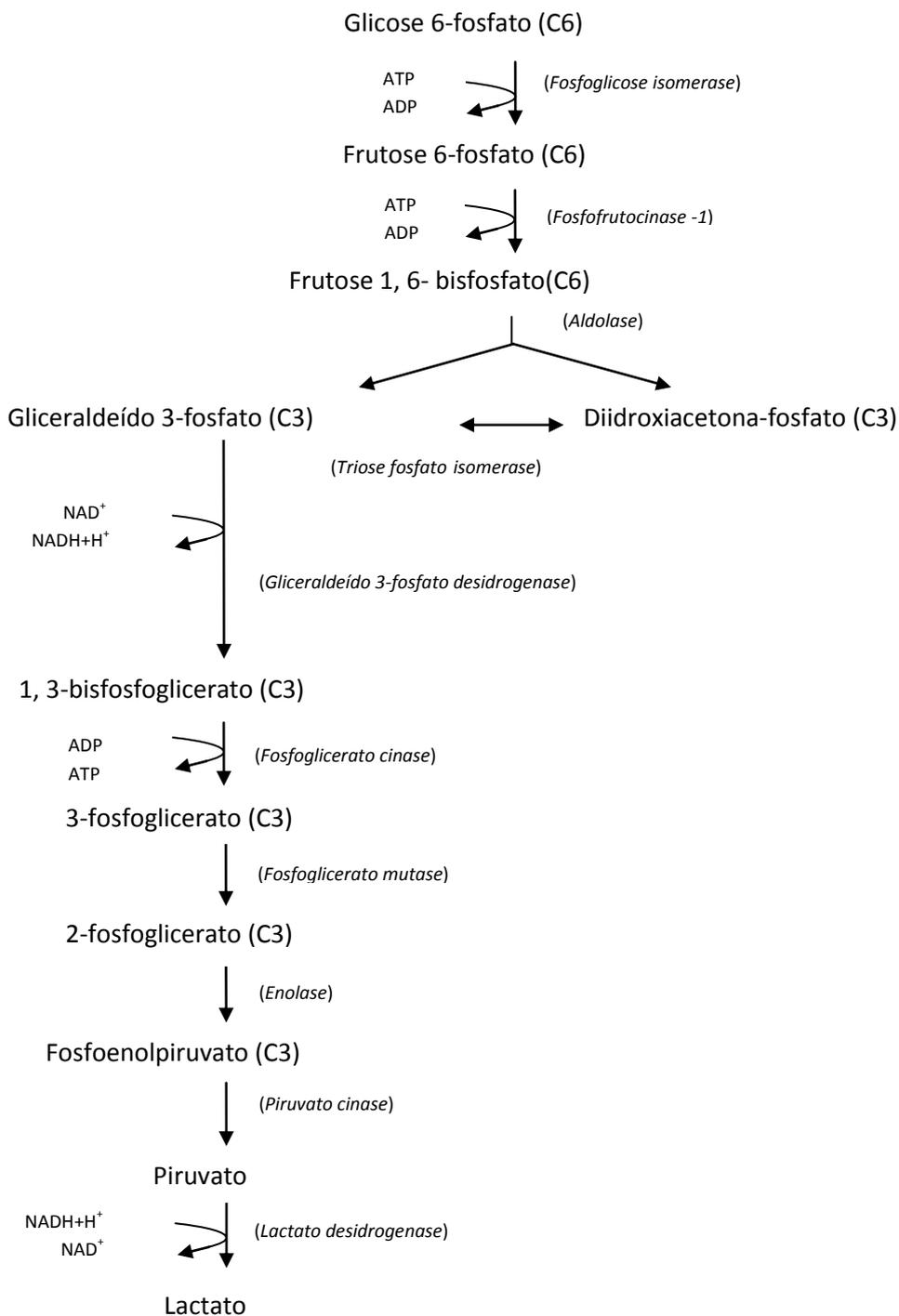


FIGURA 3

Diagrama da glicólise. Todas as etapas enzimáticas decorrem no citosol, em duas fases. Na primeira fase são requeridas duas moléculas de ATP por cada molécula de glicose 6-fosfato inicial, de modo a elevar a energia livre dos intermediários metabólicos imediatos e provocar a clivagem em duas trioses fosfato. Na segunda fase da glicólise, que termina no piruvato (em aerobiose) ou lactato (em anaerobiose), são recuperadas quatro moléculas de ATP por cada molécula de glicose 6-fosfato oxidada.

No conjunto da via, são geradas quatro moléculas de ATP em duas das etapas em que é maior a libertação de energia livre (34, 35).

Como já referido, a glicólise é iniciada após a fosforilação da glicose livre em glicose 6-fosfato e subsequente conversão em frutose 6-fosfato, com gasto de uma molécula de ATP; na etapa seguinte, a frutose 6-fosfato é fosforilada, por nova molécula de ATP, em frutose 1,6-bisfosfato. No total, na primeira parte da glicólise são consumidos duas moléculas de ATP por cada molécula de glicose oxidada (Fig. 4):

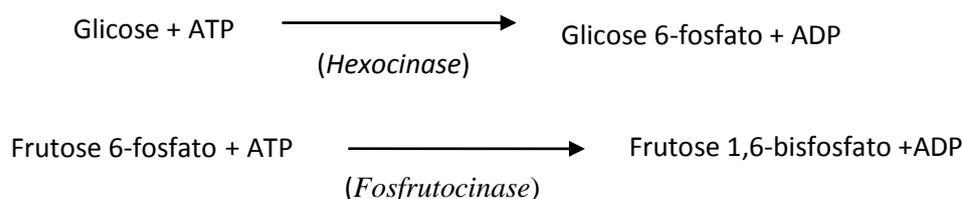


FIGURA 4

Esquema das reacções de fosforilação na 1ª parte da glicólise

Na segunda parte daquela via ocorre a clivagem de cada hexose-fosfato em duas moléculas de triose-fosfato, interconvertíveis (36).

Todavia, para que a glicólise possa prosseguir, a diidroxicetona-fosfato tem de ser convertida em gliceraldeído 3-fosfato (37). Por conseguinte, a partir desta fase, a oxidação incide em duas moléculas de gliceraldeído 3-fosfato por cada molécula de glicose 6-fosfato iniciadora da via (Fig. 5)

A terceira parte inclui reacções de oxidação-redução e a síntese do ATP. A sequência recomeça com a oxidação do gliceraldeído 3-fosfato, catalisada por uma desidrogenase específica, de que resulta a remoção de um protão (H^+) e um electrão (e^-) do substrato da reacção e a formação do seu produto, 1,3-bisfosfoglicerato (38). Estes equivalentes redutores são captados pela coenzima nucleótido nicotinamida adenina difosfato (NAD), gerando a sua forma reduzida (NADH). Pelos motivos atrás apresentados, cada molécula de glicose oxidada na via origina duas de NADH (39).

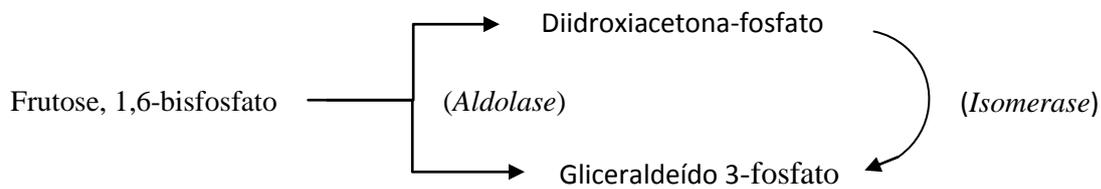


FIGURA 5

Clivagem de uma hexose-fosfato (frutose 1,6- bisfosfato) em duas trioses- fosfato (gliceraldeído 3-fosfato e diidroxiacetona-fosfato), por acção da aldolase. A triose-fosfato isomerase interconverte, reversivelmente, ambas a trioses-fosfato. Na glicólise, a reacção desequilibra-se no sentido da formação do gliceraldeído 3-fosfato, que é o único substrato aceite na sua oxidação pela gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase.

Na glicólise, o ATP é formado em duas das etapas exergónicas com o maior diferencial energético de toda a via, n um total de quatro moléculas daquele nucleótido (Fig.6).

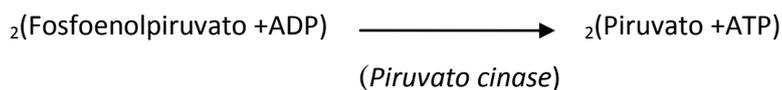
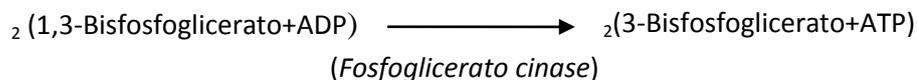


FIGURA 6

Etapas exergónicas da glicólise

Considerando que há um dispêndio de duas moléculas de ATP na primeira parte da glicólise e a formação de quatro moléculas de ATP na segunda parte, o rendimento da via é de duas moléculas de ATP por mole de glicose oxidada.

As moléculas de NADH geradas na glicólise têm duas finalidades optativas. Na glicose anaeróbia (e nas células sem mitocôndrias), intervêm na redução do penúltimo metabolito da glicólise (piruvato) no produto final da via (lactato), na reacção (reversível) catalisada por uma desidrogenase específica; a reoxidação do NADH possibilita a continuidade da glicólise em anaerobiose, atendendo a que o NAD^+ existe em quantidade limitada no citosol (Fig. 7) (39).

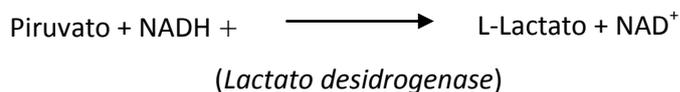
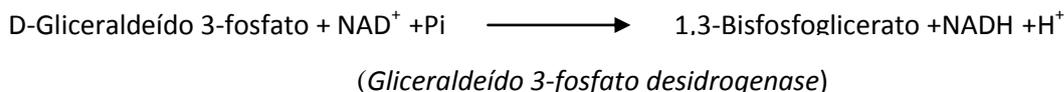


FIGURA 7

Reutilização dos equivalentes redutores (transferidos como $\text{NADH} + \text{H}^+$) da glicólise aeróbia.

Observa-se este resultado metabólico quando a quantidade de trabalho produzido pelo músculo esquelético (em particular, pelas fibras brancas) excede a capacidade de oxigenação tecidual e, conseqüentemente, os níveis de ATP gerados pela respiração celular; a contracção muscular em hipoxia relativa passa a depender, como recurso de pouca duração, da glicólise anaeróbia, que conduz ao aumento à acumulação de lactato no tecido muscular e aumento da lactatemia (40,41). Neste último caso, o lactato, ao reduzir o pH intracelular, tem o inconveniente de limitar a actividade glicolítica, e, conseqüentemente, a contracção máxima além de um minuto, ao actuar (sobretudo) a nível da sua principal enzima reguladora, a fosfofrutocinase (42).

Formação do acetil-CoA e respiração celular - Em aerobiose, a oxidação glicídica não termina no lactato, antes prossegue com o precursor imediato, o piruvato. Este metabolito, depois de atravessar as duas membranas mitocondriais, é convertido em acetil-CoA, também o produto final da β -oxidação dos ácidos gordos (43, 44). A formação do acetil-CoA inicia as etapas finais da oxidação aeróbia das principais biomoléculas, que inclui o ciclo de Krebs, do ácido cítrico ou do citrato e a fosforilação oxidativa mitocondrial (Fig 1). O conjunto destas transformações oxidativas, em que o oxigénio molecular participa como aceitador final dos electrões provenientes das moléculas oxidadas e veiculados através da cadeia respiratória mitocondrial, recebe a designação de respiração celular (45).

O acetil-CoA e alguns dos intermediários do ciclo de Krebs são, igualmente, produtos finais da oxidação dos aminoácidos (44.) Aqueles e outros dos constituintes do ciclo do citrato têm a particularidade de serem, também, o ponto de partida da biossíntese dos hidratos de carbono, lípidos e proteínas corporais. O facto de participar em actividades catabólicas ou anabólicas, caracteriza o ciclo de Krebs como um processo anafibólico. Esta característica é estreitamente regulada por sinais metabólicos que, através de enzimas reguladoras das vias anabólicas ou catabólicas, assinalam a existência ou ausência de energia química ou dos produtos finais essenciais à manutenção e renovação da actividade e estrutura celulares.

Em aerobiose, os equivalentes redutores (2H^+ e 2e^-) provenientes do par NADH são transferidos para a matriz (citossol) das mitocôndrias através de um duplo sistema de vaivém transmembranar, específico e irreversível, o do glicerol-fosfato (Fig.8) e o do malato-aspartato (46) (Fig.9). Os equivalentes redutores transferidos da glicólise em aerobiose contribuem, assim,

para a formação de ATP pela fosforilação oxidativa mitocondrial (47). Nesta situação, a glicólise termina, virtualmente, no piruvato que, após atravessar a membrana interna mitocondrial, origina o acetil-CoA por descarboxilação oxidativa (Fig 1). No músculo esquelético, bem como no cérebro, prevalece o sistema de transferência do malato-aspartato.

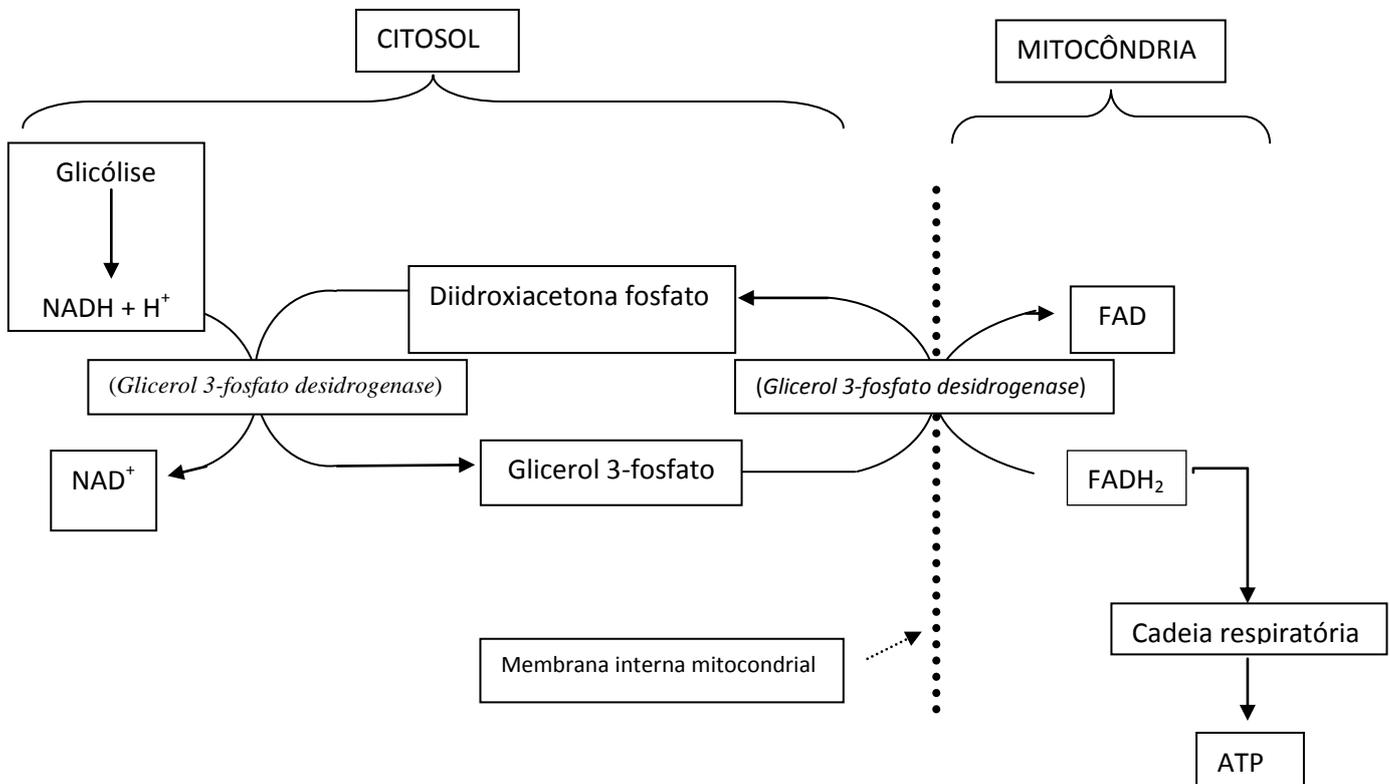


FIGURA 8

Sistema de transferência do glicerol-fosfato. Cada par de átomos de hidrogênio do NADH , ao ser captado por uma molécula de diidroxiacetona-fosfato, origina uma molécula de glicerol 3-fosfato e outra de NAD^+ . A reação é catalisada por uma desidrogenase do glicerol-fosfato presente no citosol, sendo os dois equivalentes redutores transportados até à face externa da membrana interna mitocondrial pelo glicerol-fosfato (o qual não entra na mitocôndria). Neste ponto, a isoenzima mitocondrial da desidrogenase do glicerol 3-fosfato regenera a diidroxiacetona-fosfato, ao ceder os equivalentes redutores para uma molécula de FAD e, desta, para a ubiquinona, com entrada na cadeia respiratória.

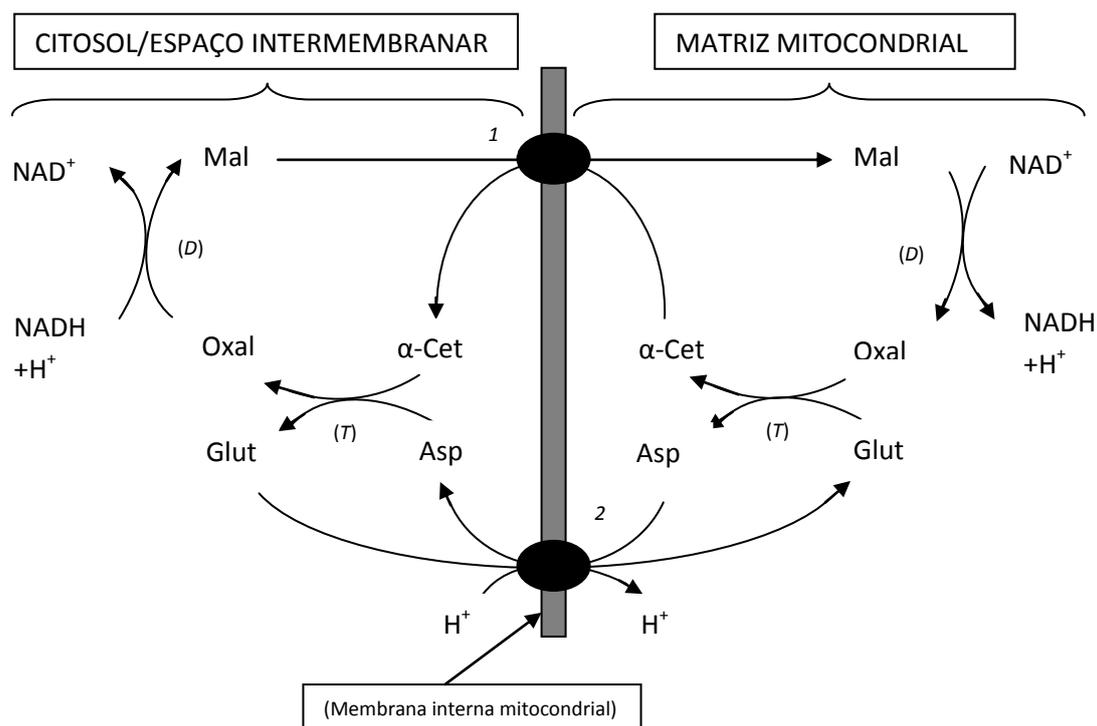


FIGURA 9

Sistema de transferência do malato-aspartato, operacional na maioria dos tecidos, principalmente no miocárdio, fígado e rim. Os equivalentes redutores são transportados do citosol para a matriz mitocondrial pelo NADH, onde são aceites pelo oxaloacetato (Oxal), de que resulta a formação do malato (Mal), por acção da desidrogenase do malato (D). O malato é, seguidamente, transportado para a matriz mitocondrial por troca com o α -cetoglutarato, por um transportador (1) comum. Os equivalentes redutores são, na matriz, transferidos (por uma reacção inversa à verificada no compartimento anterior, catalisada pela malato desidrogenase mitocondrial) do malato para o NAD^+ , do que resulta a formação de oxaloacetato e NADH, sendo este oxidado pela cadeia respiratória. Para voltar ao citosol e dar continuidade ao sistema, o oxaloacetato, para atravessar a membrana interna, é transformado noutro intermediário, o aspartato, numa reacção de transaminação (T, pela aspartato aminotransferase), com recurso a um grupo amina do glutamato. Ao ser desaminado, o glutamato é transformado em α -cetoglutarato, por sua vez transferido para o citosol pelo transportador 1. A saída do aspartato para o citosol ocorre através do transportador glutamato-aspartato (2), por troca com o glutamato, que segue o sentido inverso. Ao ceder no citosol o seu grupo aminado ao α -cetoglutarato, o aspartato (por acção da aspartato aminotransferase do citosol) transforma-se em oxaloacetato e origina glutamato, numa reacção de sentido contrário à verificada na matriz mitocondrial. A formação do oxaloacetato citosólico possibilita a continuidade deste sistema de transferência de equivalentes redutores, transportados das reacções oxidativas pelo NADH.

Na célula muscular, a glicólise é regulada por modulação alostérica, principalmente a nível de três das suas enzimas: hexocinase, fosfofrutocinase e piruvato cinase. A actividade da hexocinase depende da presença de ATP, sendo inibida pela acumulação do seu produto final, a glicose 6-fosfato. A fosfofrutocinase é estimulada por níveis elevados de AMP e frutose 2,6-bisfosfato, e inibida pelo ATP, pH ácido, citrato, entre outros produtos formadas na via oxidativa a jusante. A piruvato cinase é activada pela frutose 1,6 bisfosfato e inibida pelo ATP e alanina. Um outro ponto de regulação está localizada na etapa catalisada pela desidrogenase do gliceraldeído 3-fosfato, estimulada quando a relação $[NAD^+] / [NADH]$ é superior a 1, e inibida quando <1 (33; 39).

Em aerobiose, cada molécula de piruvato (anião) utiliza o gradiente de H^+ transmembranar para entrar nas mitocôndrias, através de um sistema simporta ($1 \text{ piruvato}^- + 1H^+$) localizado na membrana interna mitocondrial. A oxidação descarboxilativa (irreversível) do piruvato em acetil-CoA decorre na matriz mitocondrial, por acção do complexo enzimático da piruvato desidrogenase. No músculo, esta etapa é regulada por mecanismo alostérico e modulação covalente, sendo estimulada por níveis elevados de piruvato, NAD e CoA e inibida pelo ATP, acetil-CoA e NADH (39,48).

Formação e oxidação do acetil-CoA - O acetil-CoA produto comum do catabolismo dos glúcidos (piruvato), lípidos (ácidos gordos e corpos cetónicos) e proteínas (alguns aminoácidos) - é oxidado pelo ciclo de Krebs (ou do ácido cítrico/citrato). Deste modo, o ciclo de Krebs constitui a parte final de um processo oxidativo comum das principais moléculas nutrientes, decorrente em aerobiose (Fig.10). Para que o ciclo funcione, o acetil-CoA conjuga-se com o metabolito final do ciclo (o oxalacetato) numa reacção irreversível catalisada por uma enzima limitativa (citrato sintase) que forma o citrato, molécula com 6 carbonos e três grupos carboxílicos. Nas nove reacções subsequentes (catalisadas por enzimas livres ou aderentes à membrana interna mitocondrial) obtém-se a regeneração do oxalacetato, são removidas duas moléculas de CO_2 (nas etapas da isocitrato desidrogenase e complexo da α -cetoglutarato desidrogenase) e oito equivalentes redutores (nas duas etapas anteriores e em outras duas, estas sob a acção catalítica da succinato desidrogenase e da malato desidrogenase) e é formada uma molécula de ATP (por fosforilação associada ao substrato, pela enzima succinil-CoA sintetase) (49).

Na conversão do piruvato em acetil-CoA e oxidação deste metabolito pelo ciclo de Krebs há a redução de coenzimas intervenientes (designadamente, NAD^+ e FAD), depois re-oxidados no processo de formação do ATP por fosforilação oxidativa (50). Neste processo, genericamente designado por respiração celular, é essencial a presença de oxigénio molecular, utilizado como aceitador final de electrões e oxidante das coenzimas reduzidas. No conjunto das etapas de oxidação envolvidas por cada molécula de piruvato inicial (tomando em conta a síntese do acetil-CoA, uma volta do ciclo e a reoxidação do NADH e $FADH_2$ associada à cadeia respiratória) são formadas cerca de doze moléculas de ATP (51,52).

Poderá concluir-se que, à semelhança das vias oxidativas referidas anteriormente, o ciclo de Krebs depende, em grande parte e em cada momento, dos níveis existentes de NAD^+ (para a captação de equivalentes redutores) e de ADP (para a formação de ATP, à custa da energia livre obtida no processo oxidativo) (53). Neste conjunto, sobressaem, como enzimas reguladoras, a desidrogenase do piruvato, a citrato sintase e a desidrogenase do α -cetoglutarato. A enzima citrato sintase é activada pelos seus substratos (acetil-CoA e oxaloacetato) e inibida alostericamente pelo ATP e cadeias longas de acil-gordo CoA (proveniente da β -oxidação dos ácidos gordos). A isocitrato desidrogenase é activada pelo ADP e inibida pelo ATP e NADH. O

complexo da α -cetoglutarato desidrogenase tem regulação semelhante à da piruvato desidrogenase. A succinato desidrogenase é inibida pelo oxalacetato, enquanto a enzima malato desidrogenase é estimulada pelo NAD^+ (54,55). Adicionalmente, no músculo, algumas das enzimas oxidativas referidas são também activadas pelo aumento da concentração de Ca^{2+} na fase de contracção (56,57).

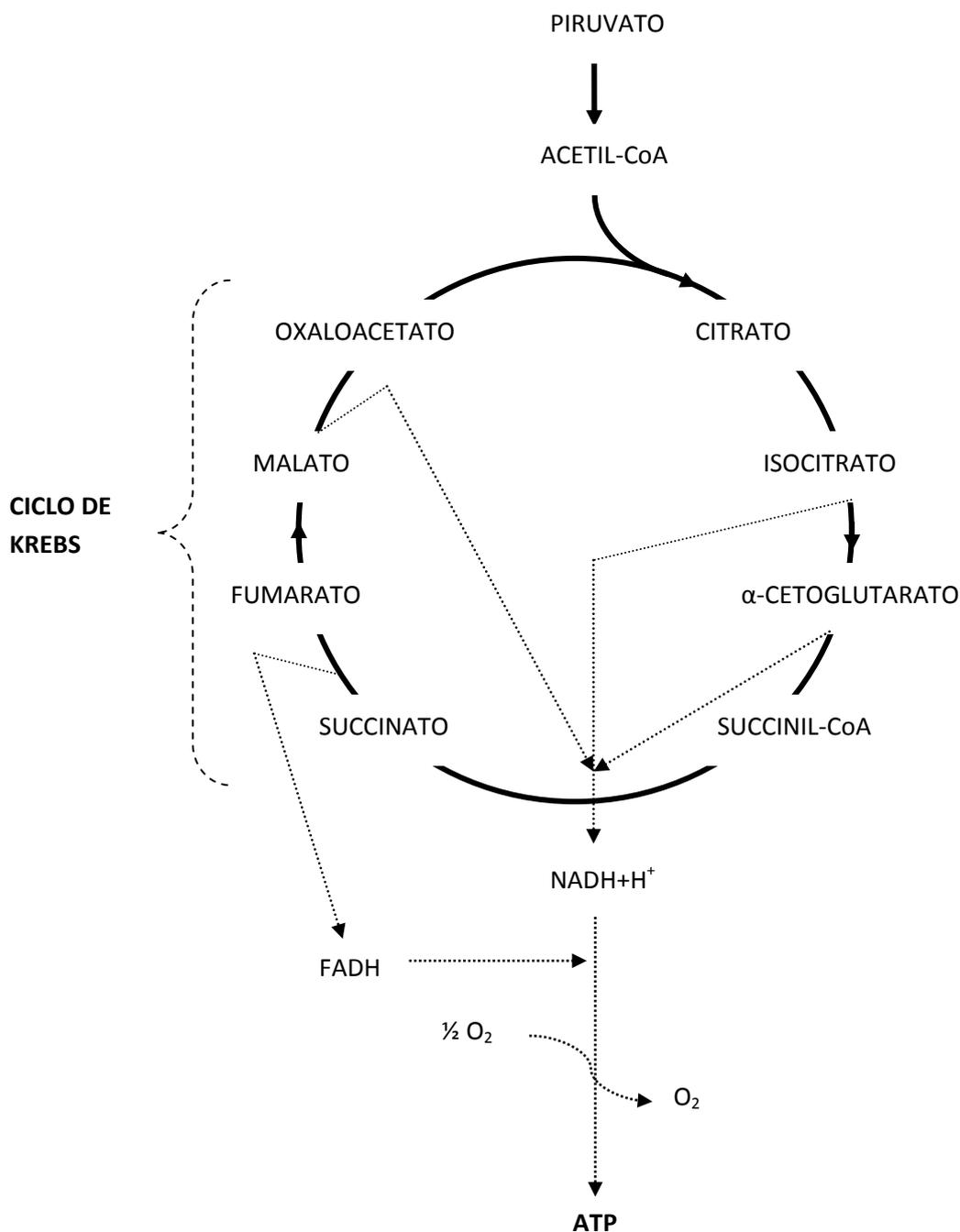


FIGURA 10

Diagrama da respiração celular, que inclui o ciclo de Krebs e a fosforilação oxidativa. O acetil-CoA, após conjugar-se com o oxaloacetato, origina a formação de um composto de 6 carbonos, o citrato, primeiro intermediário de um ciclo de transformações oxidativas de que resulta a perda de duas moléculas de CO₂ e de 4 moléculas de H₂. A oxidação destes equivalentes redutores pelo oxigénio, no extremo final da cadeia de transporte de electrões, promove a fosforilação de moléculas de ADP em ATP.

METABOLISMO OXIDATIVO DOS ÁCIDOS GORDOS

Origem, transporte e captação - Os ácidos gordos livres (AGL), ou ácidos gordos não esterificados, constituem uma das mais importantes fontes energéticas do organismo, quer em repouso quer durante o exercício (58). Cerca de 80% da quantidade energética necessária às actividades do fígado e coração provém da oxidação local de ácidos gordos de cadeia extensa em acetil-CoA e do subsequente consumo pelo ciclo de Krebs, em associação com a cadeia respiratória.

No músculo, à semelhança de outras células corporais, os AGL derivam da hidrólise de moléculas de triacilglicerol de origem alimentar ou das reservas lipídicas (existentes no próprio tecido e, sobretudo, do tecido adiposo) (59,60). Devido à sua baixa insolubilidade no plasma, o transporte de AGL e de outros lípidos pela circulação requer que se associem a proteínas solubilizantes, originando complexos de AGL-albumina ou lipoproteínas.

Os AGL em circulação associados à albumina (cerca de 10 AGL por molécula proteica), embora representem somente cerca de 4% dos lípidos plasmáticos, são a sua forma metabolicamente mais activa; provêm da lipólise do triacilglicerol depositado no tecido adiposo e, ainda, da acção lipolítica da lipoproteína lipase sobre o triacilglicerol transportado pelos quilomicra aos tecidos-alvo (adiposo, glândula mamária, músculo esquelético e miocárdio) (61,62).

No endotélio dos capilares que irrigam aqueles tecidos é detectada uma abundância de moléculas da enzima lipoproteína lipase; da sua acção catalítica resulta a remoção progressiva dos ácidos gordos das moléculas originais de triacilglicerol, até à obtenção final de AGL e glicerol, captados rapidamente pelas células adjacentes (63). Exceptuando uma fracção dos AGL que refluem para a circulação sanguínea, a maior parte é, na continuidade, oxidada para obtenção de energia (sobretudo no músculo) ou formar ésteres de glicerol, com regeneração de triacilglicerol (particularmente no tecido adiposo) (64). A captação de AGL pelas células depende directamente da concentração presente no plasma; este valor aumenta em jejum, sendo em grande parte determinado pelo grau de actividade lipolítica do tecido adiposo. Por seu lado, o jejum, assim como o exercício físico, são factores determinantes no aumento da oxidação dos AGL provenientes das lipoproteínas ou das reservas de triacilglicerol existentes em outros tecidos, designadamente, nos músculos, esquelético e cardíaco (65). O aumento da concentração plasmática de AGL, particularmente depois do exercício físico, induz uma redução acentuada do consumo de glicogénio hepático e muscular, sugerindo que a oxidação lipídica minimiza a da glicose (66). Este efeito será potenciado pela inibição exercida pelos ácidos gordos e corpos cetónicos sobre a captação e acumulação da glicose nos miocitos (67).

A entrada dos AGL nas células-alvo é precedida pela sua dissociação da albumina (61,68), de modo a ligarem-se a outra proteína membranar, num processo de co-transporte com Na^+ que conduz os AGL ao citosol, onde se fixam a outra proteína que viabiliza o seu transporte intracelular (69).

Ainda que lipoproteína lipase não esteja activa a nível do fígado, cerca de 20% dos AGL provenientes dos quilomicra (na composição do triacilglicerol) são recebidos pelos hepatocitos (70), na sequência da endocitose hepática dos quilomicra remanescentes (71). O resto de triacilglicerol ainda existente nos quilomicra remanescentes, recebido pelos hepatocitos depois de clivado nos seus constituintes, viabiliza a obtenção de energia através da oxidação de ácidos gordos, originando ainda precursores de corpos cetónicos; em alternativa, se os ácidos gordos excederem a quantidade necessária para o seu consumo imediato, são re-esterificados em novas moléculas de triacilglicerol (64,72). Seguidamente, estas moléculas (formadas com ácidos gordos provenientes do plasma ou sintetizados nos hepatocitos a partir do acetil-CoA) são exportadas pelas lipoproteínas endógenas de muito baixa densidade (VLDL) para o tecido adiposo e músculo, nos quais, à semelhança do processo da captação referido para os quilomicra, a lipoproteína lipase promove a hidrólise de triacilglicerol, com subsequente captação dos seus constituintes, designadamente os ácidos gordos (73,74). Estes são metabolizados na formação de triacilglicerol pelos adipocitos (75), enquanto no músculo, pelo contrário, são preferencialmente oxidados para o fornecimento de energia à actividade contráctil (60,67).

Oxidação dos ácidos gordos – A utilização metabólica dos ácidos gordos de cadeia extensa como fonte energética do músculo segue um mecanismo semelhante (designado como β -oxidação) ao de todos os tipos celulares onde ocorre, integrado num sistema mitocondrial comum ao de outras biomoléculas (77,78). As cadeias longas de hidrocarboneto dos ácidos gordos são estruturas com grau elevado de hidrogenação, pelo que, ao serem completamente oxidadas, libertam mais do dobro da energia de oxidação das moléculas glicídicas ou proteicas com peso equivalente (78). A oxidação dos ácidos gordos termina com a formação de moléculas de acetil-CoA¹, também obtidas pela oxidação da glicose e de alguns aminoácidos (Fig.1). Tal como na oxidação dos glícidos, a oxidação progressiva dos ácidos gordos em acetil-CoA, depois oxidado pelo ciclo de Krebs, produz equivalentes redutores e utiliza o mesmo tipo de nucleótidos (NAD^+ e FAD) para os transportar até à cadeia de transporte de electrões para a obtenção de ATP (79,80). A oxidação dos ácidos gordos tem, porém, algumas particularidades. Assim, o consumo de ácidos gordos como fonte energética varia (por vezes muito) de tecido para tecido e é influenciado pelo estado metabólico, alimentar e actividade física do organismo. Enquanto a oxidação de ácidos gordos pelo tecido nervoso é irrelevante, a sua utilidade para a actividade muscular é muito acentuada. Adicionalmente, o acetil-CoA oxidado não conduz exclusivamente à formação directa de ATP, pois que, a nível do fígado, é precursor da cetogénese (81,82).

A β -oxidação dos ácidos gordos processa-se na matriz mitocondrial, o que requer a passagem daqueles lípidos do citosol para as mitocôndrias através da dupla membrana destas estruturas (83). Os ácidos gordos com 12 ou menos átomos de carbono atravessam directamente a membrana mitocondrial, mas a maioria, com cadeia mais extensa, são pré-activados (por acil-sintetases) para que o seu transporte seja possível através de um sistema de vaivém, que inclui uma molécula proteica transportadora, particularmente abundante no músculo (a carnitina) e

¹ A oxidação completa dos ácidos gordos com número par de carbonos termina com duas moléculas de acetil-CoA (cada uma com 2 átomos de carbono), enquanto os de número ímpar originam uma molécula de acetil-CoA e outra de propionil-CoA (com 3 carbonos).

duas isoenzimas (carnitina aciltransferase I e II) (Fig. 11) (84-87). A activação dos AG consiste na sua união (por uma ligação tioéster) a uma molécula de coenzima A, com consumo de ATP e formação de um composto de alta energia (acil gordo-CoA). Este intermediário metabólico tem dois destinos principais: participa na formação dos lípidos membranares ou, o que é mais comum no músculo, atravessa a barreira mitocondrial para ser convertido em acetil-CoA e contribuir para a formação de ATP.

A oxidação das moléculas de acil-gordo-CoA derivadas de ácidos gordos saturados decorre em três fases (83,88). Na primeira (β -oxidação), o composto inicial é submetido a ciclos repetidos de reacções enzimáticas (com a intervenção de quatro enzimas diferentes, em sequência: acil-CoA desidrogenase, enoil-CoA hidratase, β -hidroacil-CoA desidrogenase e acil-CoA acetiltransferase); no termo de cada ciclo é removida uma molécula de acetil-CoA (Fig. 12).

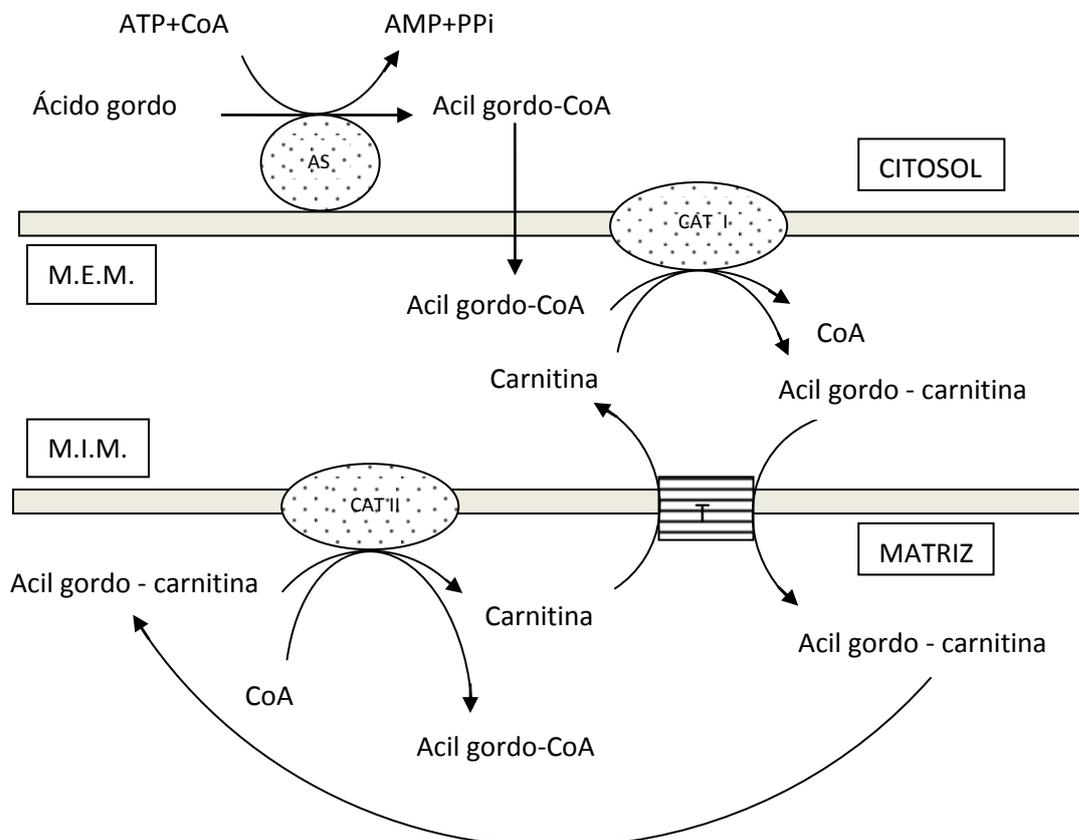


FIGURA 11

A passagem dos ácidos gordos para a matriz mitocondrial é precedida pela sua activação, pelo ATP, num composto de alta energia, o acil gordo-CoA. A reacção, catalisada por acil-CoA sintetases (ACS) específicas, requer a clivagem do ATP em AMP e PPI. Cada uma das moléculas de acil-gordo atravessa sem dificuldade a membrana externa mitocondrial (M.E.M.) após o que se associa a molécula de carnitina. Desta reacção, catalisada pela carnitina-acil transferase I (CAT I), resulta a formação de uma molécula de acil gordo-carnitina e a dissociação do CoA. A membrana interna mitocondrial (M.I.M.) permite a passagem moléculas de acil gordo-carnitina para a matriz, por acção de uma translocase (T). Na matriz, as moléculas de acil gordo-carnitina reagem com o CoA intramitocondrial, originando, por acção da carnitina-acil transferase II (CAT II), a regeneração do acil-gordo-CoA e a dissociação da carnitina, seguidamente devolvida ao espaço intermembranar pela anterior translocase, dando possibilidade à endocitose de outras moléculas de acil-gordo.

Recorrendo ao exemplo de AG mais comum (ácido palmítico, com 16 carbonos), a β -oxidação requer 7 ciclos de sequência oxidativa, com a formação final, aproximada, de oito moléculas de acetil-CoA e a remoção de 14 H_2 (7 como $NADH+H^+$ e 7 $FADH_2$). Na segunda fase, cada molécula de acetil-CoA, oxidada pelo ciclo de Krebs, origina 4 H_2 (removidos por 3 moléculas de NAD^+ e 1 de FAD). Na terceira fase, estes equivalentes redutores (a que acrescem os produzidos na primeira fase) são transferidos para a cadeia respiratória, através da qual a reoxidação de cada molécula de $NADH$ e de $FADH_2$ origina, respectivamente, cerca de 3 e 2 ATP.

A oxidação de ácidos gordos insaturados ou com n° ímpar de carbonos apresenta algumas particularidades (88). No primeiro caso, são requeridas duas reacções adicionais (catalisadas por uma isomerase e outra redutase), enquanto no segundo, a última etapa da β -oxidação gera uma molécula de acetil-CoA e outra com 3 carbonos, o propionil-CoA, cuja oxidação final termina na formação de um dos intermediários do ciclo de Krebs, o succinil-CoA.

Cetogénese – Em condições de jejum, fome ou consumo exagerado de ATP (p. ex., no exercício físico prolongado), assim como na diabetes mellitus, verifica-se um acentuado incremento da β -oxidação dos ácidos gordos no fígado, de que resulta grande quantidade de acetil-CoA e, simultaneamente, de $NADH$ (89-91). Na sequência do aumento da relação $[NADH]/[NAD^+]$ intramitocondrial, o ciclo de Krebs tende a ser inibido, limitando a oxidação do acetil-CoA (92). Quando este intermediário metabólico excede a quantidade de oxalacetato disponível (para a formação de citrato e subsequente oxidação pelo ciclo de Krebs), aumenta substancialmente a concentração intramitocondrial de acetoacetil-CoA, convertido em corpos cetónicos (acetoacetato, β -hidroxibutirato e acetona) (93-95) (Fig. 13).

Aparte a acetona (derivada da descarboxilação do acetoacetato e eliminada do sangue sob a forma de gás), os dois outros compostos, transportados pela circulação sanguínea, representam uma fonte energética importante aos tecidos extra-hepáticos (em alternativa à glicose, designadamente, no músculo esquelético e miocárdio) (96). Nas células- alvo, o acetoacetato e o β -hidroxibutirato são reconvertidos em acetil-CoA e, desta forma, oxidados pelo ciclo de Krebs. A conversão do β -hidroxibutirato em acetoacetato é o inverso da reacção da cetogénese, catalisada pela mesma enzima, a 3-hidroxibutirato desidrogenase. Na etapa seguinte, é requerida

a activação do acetoacetado em acetoacetyl-CoA, à custa do CoA transferido do succinil-CoA por uma transferase específica. Desta reacção resulta o succinato, outro dos intermediários do ciclo de Krebs. Segue-se a dissociação do acetoacetyl-CoA em duas moléculas de acetyl-CoA (por acção da tiolase) e a respectiva oxidação pelo ciclo de Krebs (97,98) (Fig.14).

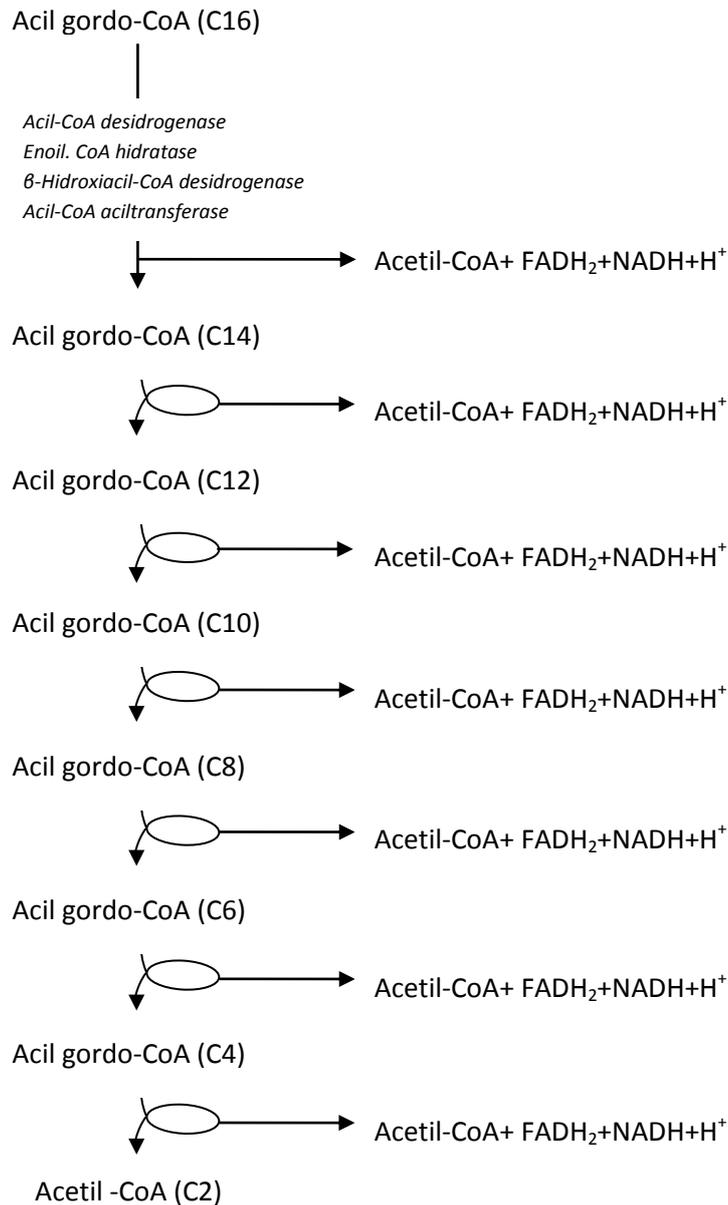


FIGURA 12

Diagrama da β-oxidação dos ácidos gordos saturados e com número par de carbonos, neste caso o palmitato (16 carbonos). Em cada etapa, catalisada por um conjunto comum de quatro enzimas sequenciais, um resíduo com dois carbonos (acetilo) é removido da extremidade carboxílica do palmitoil-CoA-CoA, sob a forma de acetyl-CoA.

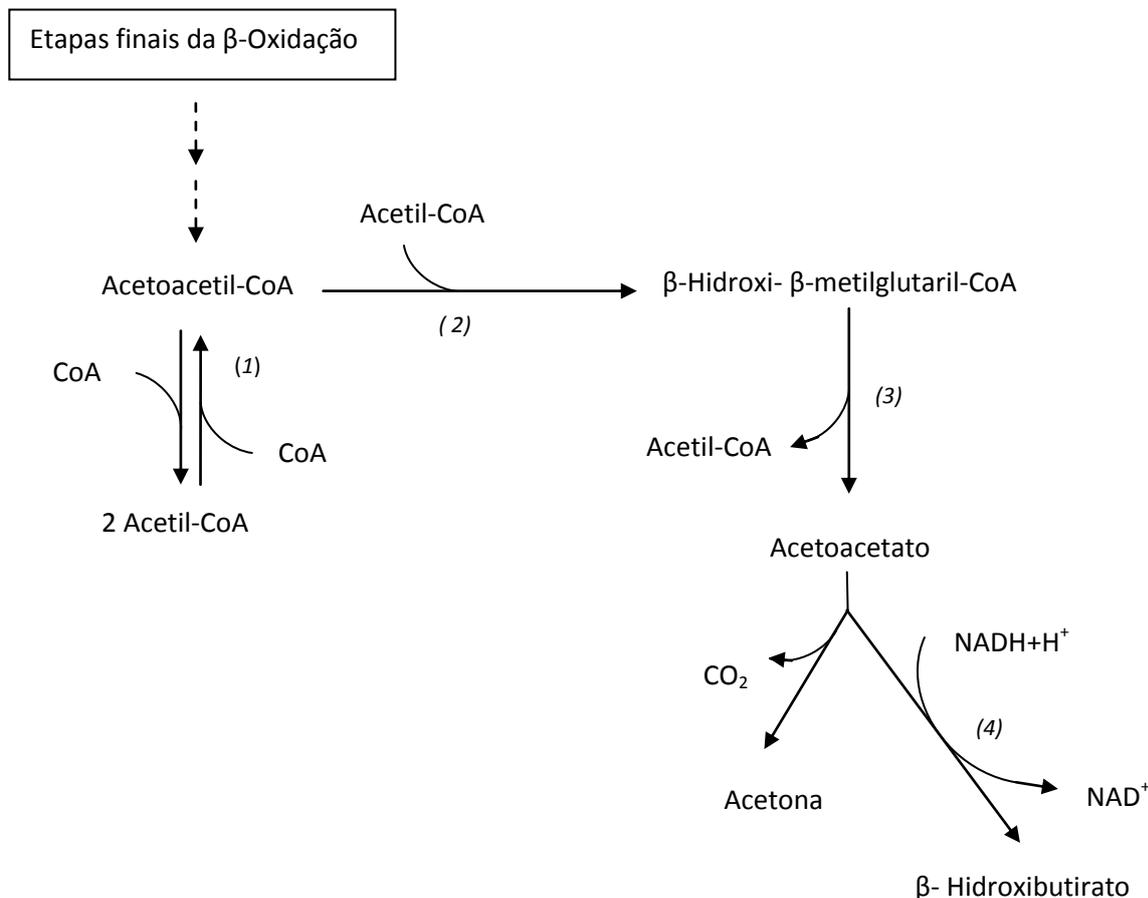


FIGURA 13

Formação de corpos cetônicos, a partir de duas moléculas de acetil-CoA e ou de uma molécula de acetoacetil-CoA. Todas as enzimas da cetogênese existem e actuam nas mitocôndrias hepáticas: (1) tiosolase; (2) 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA sintase; (3) 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liase; (4) 3-hidroxiacetato desidrogenase. A acetona é formada por descarboxilação espontânea.

METABOLISMO OXIDATIVO DOS AMINOÁCIDOS E GLICONEOGENESE

Origem e aproveitamento metabólico dos aminoácidos – Os miócitos, assim como a generalidade das células, recebem (pelo sangue) aminoácidos (essenciais e não essenciais) provenientes da digestão alimentar ou de outros tecidos corporais (99). Os aminoácidos são transportados através da membrana plasmática por moléculas específicas de natureza proteica, quer do meio extracelular para o intracelular, ou o reverso (2). Quando, devido a ingestão proteica excessiva, os aminoácidos em circulação excedem a capacidade de utilização metabólica na formação de proteínas celulares ou compostos azotados e, adicionalmente, não podem ser armazenados nem excretados, são aproveitados pelas células receptoras de dois modos: oxidação ou transformação em glícidos e lípidos (99,100).

Além do músculo esquelético, também o fígado e os intestinos são particularmente importantes no aproveitamento dos aminoácidos em excesso.

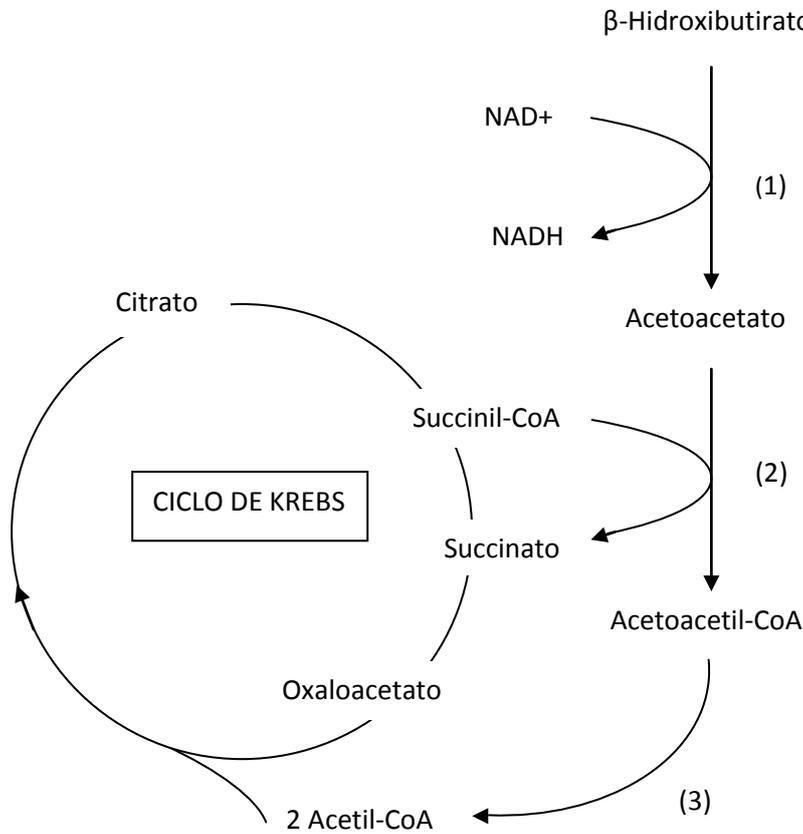


FIGURA 14

Consumo de corpos cetônicos por uma célula muscular. Genericamente, as transformações conducentes à regeneração do acetil-CoA seguem um sentido inverso ao da cetogénese, catalisadas pelas mesmas enzimas. Exceptua-se a etapa de activação do acetilacetato por uma molécula de CoA, transferida do succinil-CoA pela succinil-CoA-acetoacetato-CoA transferase (2).

O músculo esquelético contém cerca de 80% dos aminoácidos livres do total corporal, enquanto o plasma, pelo contrário contém somente entre 0,2 a 6% (7,8). Entre os aminoácidos essenciais livres existentes no músculo, aproximadamente 80% são representados pelo glutamato, glutamina e alanina; os dois últimos são, também, os principais transportadores de grupos amina entre os diversos órgãos (101,102). Os aminoácidos ramificados (valina, leucina e isoleucina) da alimentação são utilizados preferencialmente no músculo, em particular como fonte energética (13).

Os aminoácidos exógenos e os intra-celulares (sintetizados de precursores, ou resultantes da proteólise local) partilham opções metabólicas diversificadas: síntese proteica, formação de derivados azotados e ou degradação oxidativa. Por conseguinte, a energia química pode ser obtida pela oxidação dos aminoácidos das proteínas alimentares e das que constituem as estruturas celulares; neste último caso, os aminoácidos utilizados como fonte energética provêm de uma contínua renovação proteica e ou de um aumento excessivo da sua degradação em condições especiais, fisiológicas ou patológicas (99, 103).

A renovação proteica caracteriza-se por um equilíbrio dinâmico entre a quantidade degradada e a que é sintetizada diariamente (cerca de 1 a 2% do total proteico do organismo humano) (104), ainda que em proporção variável de tecido para tecido, quer devido a diferenças na vida média proteica ou da massa corporal (105). O músculo esquelético, ao totalizar cerca de metade da massa corporal, representa um dos mais importantes sectores em que decorre a renovação proteica (106,107). Em condições normais, cerca de 75% dos aminoácidos resultantes da proteólise são reutilizados pelas mesmas células ou por células e tecidos diferentes, quer na síntese de novas proteínas e derivados proteicos ou, ainda, como material energético. Quando em excesso (e por não formarem depósitos), os aminoácidos tendem a ser rapidamente transformados em outros produtos ou intermediários metabólicos com destinos distintos (108).

Também atendendo à fracção ponderal que representa, o músculo esquelético é (potencialmente) a principal fonte energética não lipídica do organismo humano adulto. Esta particularidade assume particular importância em situações de desnutrição prolongada ou patológica (diabetes mellitus), ao possibilitar a oxidação preferencial dos aminoácidos nas situações em que escasseiam ou existem deficiências na utilização metabólica de outros nutrientes energéticos (108).

Os aminoácidos provenientes da alimentação são transportados para o fígado, onde decorre a maior parte da sua metabolização (109). Neste processamento sobressaem dois tipos essenciais de reacção: transaminação e desaminação. Pelo facto de as enzimas respectivas (aminotransferases e desidrogenases) catalisarem reacções em equilíbrio relativo, podem promover a degradação ou a síntese de aminoácidos em circunstâncias bem definidas. Nas transaminações, a transferência do grupo amina de um aminoácido para um aceitador cetoácido (geralmente o α -cetoglutarato), possibilita que este se transforme noutra aminoácido (glutamato), enquanto o composto dador (outro tipo de aminoácido) adquire a estrutura de cetoácido (110). Na desaminação, o grupo amina dissocia-se do aminoácido, originando um resíduo de 3 ou 4 carbonos com um grupo funcional cetona (cetoácido) (111). Os cetoácidos derivados de qualquer daqueles tipos de reacções podem ser reutilizados (a) na regeneração de aminoácidos, (b) intermediários das vias oxidativas, gerando energia química ou, havendo ATP suficiente disponível, (c) na regeneração da glicose e glicogénio pela gliconeogénese. Interessa para o presente texto analisar as duas últimas opções metabólicas.

Aproveitamento metabólico dos grupos amina -Os grupos aminados, depois de removidos dos aminoácidos (e de se converterem em amoníaco, NH_3), podem ser reciclados em diversas reacções metabólicas ou, quando em excesso, excretados do organismo como ureia ou ião amónio (NH_4^+) (109, 112- 114). Neste processo, o glutamato e a glutamina contribuem, em particular, para a captação de grupos aminados, enquanto a glutamina, em conjunto com a alanina (em apenas 1/10 do total), promovem o seu transporte entre os diversos órgãos, para aproveitamento local.

No fígado, os grupos aminados são transferidos (no citosol) para o α -cetoglutarato (por acção da glutamato aminotransferase), gerando glutamato. Enquanto a maior parte deste

aminoácido intervém na síntese de outros aminoácidos (designadamente, o aspartato) ou em outras funções metabólicas, uma fracção menor, depois de entrar nas mitocôndrias, é desaminada (pelo glutamato desidrogenase); desta reacção resulta o grupo NH_4^+ para a síntese da ureia e um resíduo de α -cetoglutarato, a ser consumido como material energético ou na gliconeogénese. O ião amónio formado no intestino e rim é igualmente veiculado para o fígado e, no caso do rim (na acidose metabólica), também eliminado pela urina. No fígado, o amoníaco/ião amónio proveniente de todas as origens contribui para a síntese da ureia.

Nos tecidos que utilizam os aminoácidos com fonte energética por oxidação do respectivo cetoácido, os grupos aminados são preferencialmente utilizados na formação de glutamato e, deste, em glutamina, que os transporta até ao fígado (102,115). O músculo esquelético tem ainda a particularidade de os grupos aminados excedentes serem transportados para o fígado pela alanina, formada a partir do piruvato (pela alanina amino transferase) (116,117).

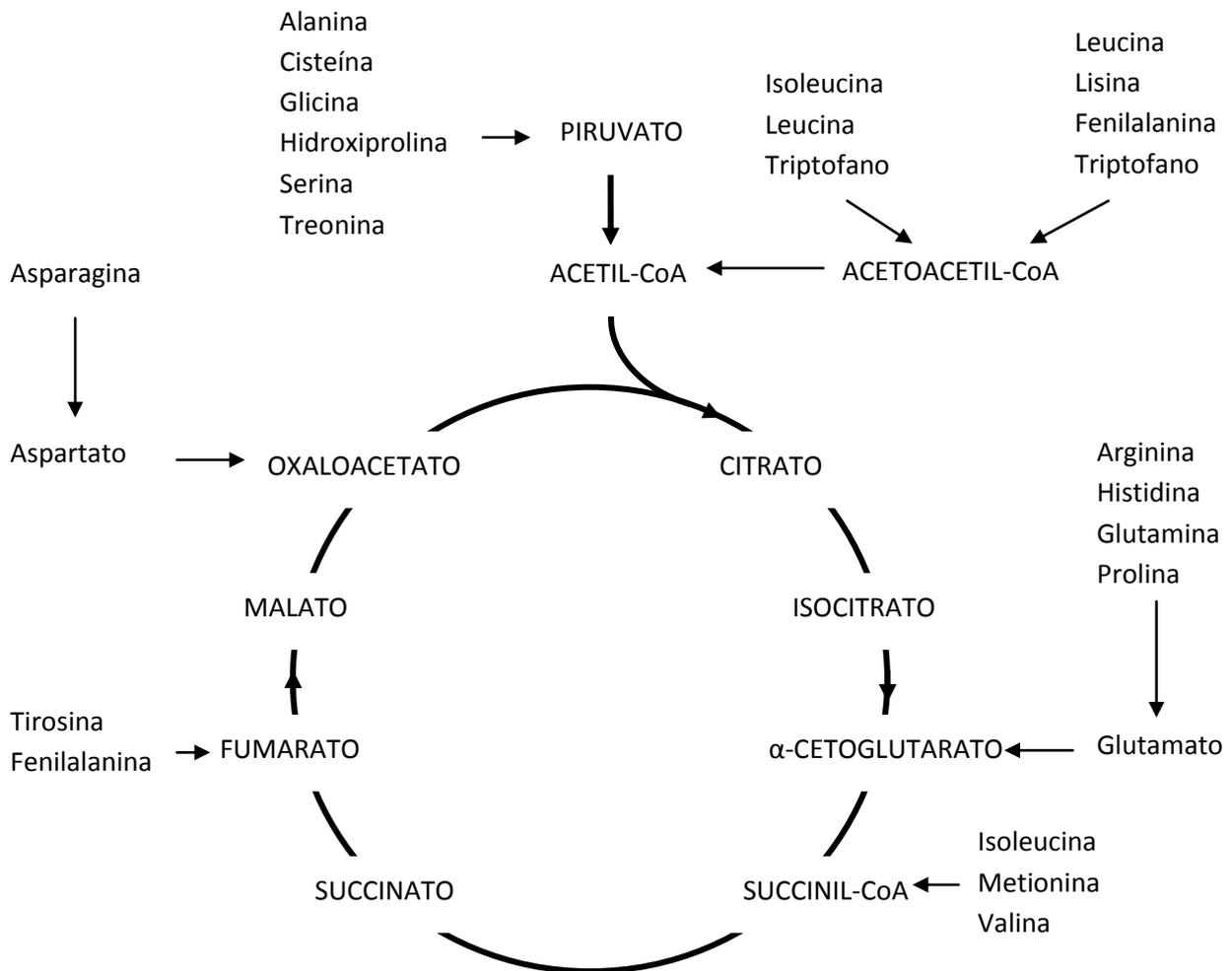


FIGURA 15

Intermediários do ciclo de Krebs que derivam do esqueleto de carbono de aminoácidos.

Esta via alternativa é particularmente importante nos períodos de exercício muscular intenso em anaerobiose, em que são produzidas grandes quantidades de piruvato e lactato, a que acresce o amoníaco resultante da proteólise (118). A par da formação da alanina e da glutamina (119,120), aqueles produtos finais da glicólise são transportados para o fígado e aqui reaproveitados para formar glicose (pela gliconeogénese), por seu lado reencaminhada para os músculos e outros tecidos, completando-se assim uma sequência de transformações designadas como ciclos da glicose-alanina (121,122) e da glicose - lactato e piruvato (ciclo de Cori) (123,124).

Oxidação dos aminoácidos e gliconeogénese – Em condições fisiológicas, somente 10 a 15% da energia produzida pelo organismo provém da degradação de aminoácidos. Por seu lado, o contributo de cada aminoácido naquela transformação depende de vários factores: composição, utilização em biossínteses e disponibilidade.

Os aminoácidos cuja degradação termina em piruvato (alanina, cisteína, glicina, serina, treonina e triptofano), α -cetogluturato (glutamato, glutamina, arginina, histidina, prolina), succinil-CoA (isoleucina, metionina, treonina, valina), fumarato (fenilalanina, tirosina) e ou oxaloacetato (asparagina, aspartato) podem formar, a partir destes intermediários metabólicos, a glicose e ou glicogénio pela via da gliconeogénese. Outros aminoácidos (fenilalanina, tirosina, leucina, isoleucina, triptofano, lisina e treonina) que, ao serem degradados no fígado, originam acetil-CoA e ou acetoacetil-CoA como produtos finais, são, a partir destes compostos, convertidos em corpos cetónicos, sobretudo em situações de fome ou na diabetes descontrolada. Alguns dos aminoácidos mencionados (fenilalanina, tirosina, triptofano, isoleucina e treonina) são simultaneamente cetogénicos e glicogénicos (109,127,128). No conjunto, a sequência catabólica específica para os vinte aminoácidos naturais termina em seis compostos que, directa ou indirectamente, são oxidados pelo ciclo de Krebs, contribuindo para a formação de ATP (109,113; 125-127).

Além dos aminoácidos glicogénicos (através dos respectivos cetoácidos), também o lactato, glicerol e propionato são precursores da síntese *de novo* da glicose e glicogénio, que ocorre, sobretudo, no fígado e (cerca de 1/10) no córtex renal. A gliconeogénese tem a particularidade de partilhar muitas das enzimas da glicólise, ainda que actuando em sentido inverso quando as reservas corporais de glicose e glicogénio ficam aquém do necessário; oferece ainda a vantagem de reutilizar alguns dos produtos finais do catabolismo dos aminoácidos, lipólise e glicólise, e assegurar os níveis adequados de intermediários do ciclo de Krebs. É o caso oxaloacetato, p. ex., proveniente por desaminação do glutamato, ou por carboxilação oxidativa do piruvato, é essencial para a oxidação das quantidades excessivas de acetil-CoA produzido em situações de acentuada lipólise (126, 129).

RESPOSTA METABÓLICA AO EXERCÍCIO DINÂMICO

Fibras musculares, ATP e exercício físico - O sistema muscular encontra-se em permanente actividade, em resposta a estímulos de intensidade e duração variáveis. Sendo o tipo de contracção e movimento produzidos dependentes, em grande parte, da estrutura e capacidade metabólica dos músculos esqueléticos envolvidos. Explica-se assim que um esforço continuado, baseado nas fibras vermelhas musculares, requiera um fornecimento constante de energia, enquanto as variações bruscas de actividade utilizam energia imediatamente disponível, utilizada preferencialmente pelas fibras brancas (130).

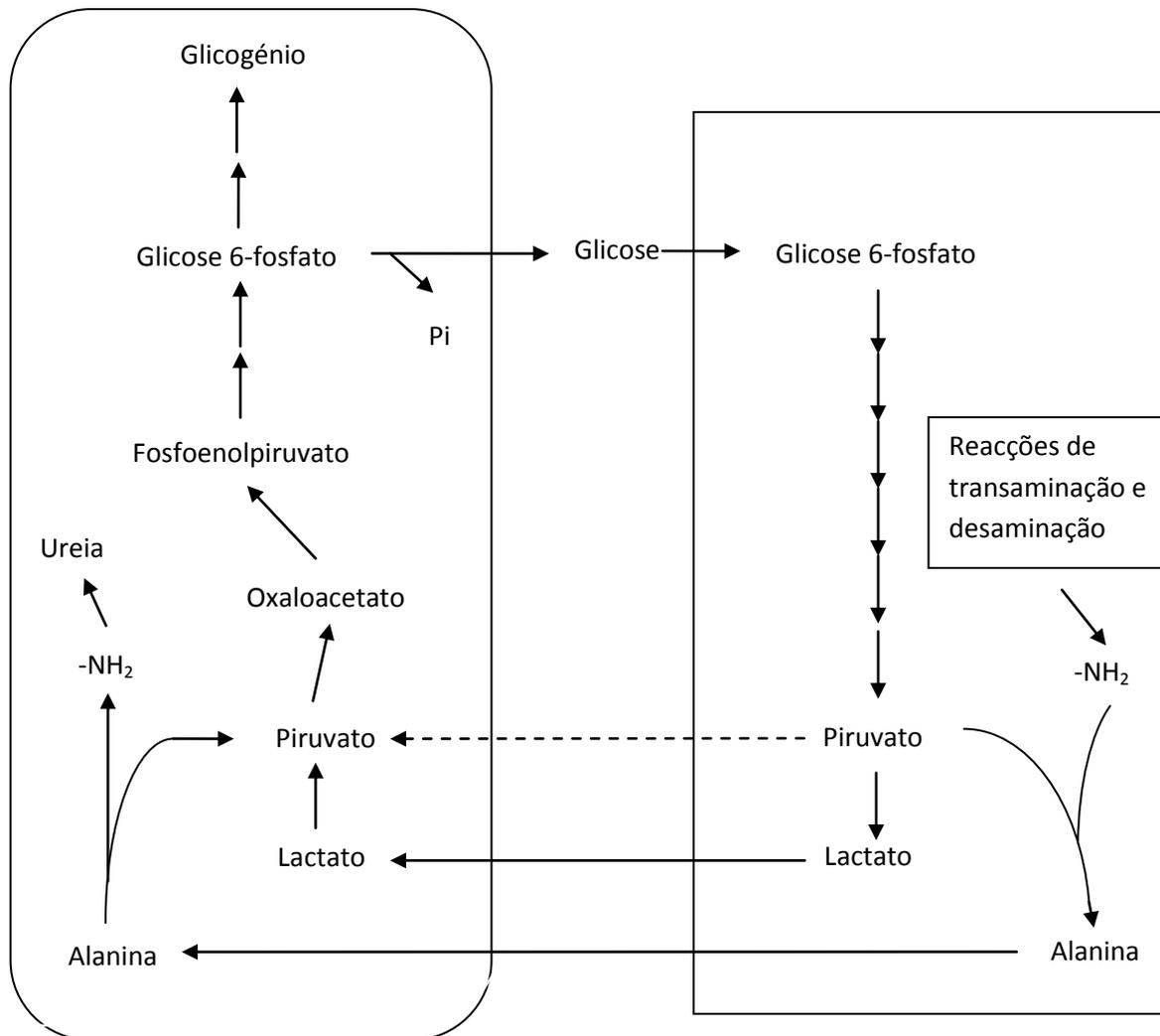


FIGURA 16

Via da gliconeogénese, em que se salientam os ciclos da glicose-alanina e de Cori. O lactato (e também o piruvato), produzidos pela glicólise do músculo em exercício intenso anaeróbio, é veiculado para o fígado. No fígado, aqueles produtos, bem como outros metabolitos precursores da glicose/glicogénio, são convertidos em fosfoenolpiruvato. A conversão do piruvato em fosfoenolpiruvato não é directa. Primeiro, o piruvato, após entrar nas mitocôndrias é carboxilado em oxaloacetato pela piruvato carboxilase; segue-se a redução do oxaloacetato em malato pela respectiva desidrogenase (invertendo o sentido de oxidação do ciclo de Krebs); depois de passar a membrana mitocondrial para o citosol, o malato é reconvertido, por oxidação, em oxaloacetato pela isoenzima local, seguindo-se a descarboxilação deste metabolito em fosfoenolpiruvato pela respectiva carboxinase. Nas situações em que há aumento da proteólise muscular, os grupos aminados resultantes da degradação dos aminoácidos são transferidos para o piruvato, com formação de alanina, transportada pela circulação para o fígado. Neste órgão, a alanina dissocia-se em piruvato e grupos amina; enquanto estes são eliminados na ureia, o piruvato, junto com outros precursores da glicose, são metabolizados pela gliconeogénese.

A distribuição e proporção do tipo de fibras em cada músculo varia em função da actividade desenvolvida, de acordo com observações em atletas e indivíduos sujeitos a determinado tipo de actividade repetida (131). Acresce que características metabólicas e estruturais de cada tipo de fibras musculares podem ser modificadas pela duração, intensidade e tipo de exercício e treino físico mais intenso (132). O mesmo sucede com o alargamento das fibras, dependente da intensidade do exercício, e subsequente aumento de volume dos grupos musculares envolvidos, nos treinos de resistência ou força (133,134). Pelo contrário, a imobilização temporária ou interrupção do treino físico revertem aquelas modificações ao estado inicial (135,136), culminando na atrofia e na distribuição alterada das fibras musculares, como sucede em situações de imobilidade prolongada ou definitiva (135) e, também, no envelhecimento (137).

A actividade metabólica das fibras brancas, em que escasseiam as mitocôndrias, depende quase integralmente do ATP formado na glicólise, enquanto nas fibras vermelhas, ricas em mitocôndrias, a glicose é completamente oxidada, originando, *in vivo*, cerca de 13 vezes mais quantidade de ATP (138).

A concentração de ATP no músculo esquelético (cerca de 8mM) é, aproximadamente, 10 vezes superior à de ADP e 100 vezes à de AMP. Estes níveis mantêm-se virtualmente constantes durante o exercício sub-máximo, embora tendam a diminuir com a fadiga (139,140). Por seu lado, a concentração de fosfocreatina é cerca de 3 vezes superior à de ATP, sendo 20% mais elevada nas fibras do tipo II do que nas de tipo I (141). Porém, enquanto os níveis de ATP permanecem constantes, a concentração da fosfocreatina diminui proporcionalmente ao esforço físico desenvolvido, até a um valor constante; este nível é inversamente proporcional à intensidade do exercício e, também, ao da VO_2 . Na origem desta interrelação está a concentração de ADP, que não só estimula o consumo de fosfocreatina (para formar ATP) como aumenta a fosforilação oxidativa mitocondrial e, conseqüentemente, o valor o consumo total de oxigénio (VO_2) (142). A situação é revertida pela interrupção do exercício, com a rapidíssima recuperação dos níveis iniciais da fosfocreatina muscular (143).

A oxidação metabólica em aerobiose que predomina nos músculos vermelhos - ricos em oxigénio (associado às moléculas de mioglobina), indispensável à fosforilação oxidativa mitocondrial - possibilita a manutenção da contracção muscular durante horas; este tipo de exercício utiliza cerca de 1/4 do ATP (por unidade de tempo) do que é dispendido no exercício muscular máximo em anaerobiose, e consome cerca de 100 vezes mais nutrientes do que em repouso, ainda que a concentração plasmática daquelas substâncias permaneça virtualmente inalterada. Por seu lado, o exercício físico vigoroso e rápido, desenvolvido em anaerobiose, aumenta a renovação do ATP muscular cerca de 1000vezes, ainda que a sua concentração tecidual quase não varia. Numa posição intermédia, p.ex., em corridas de meia distância desenvolvida no máximo da capacidade física, o ATP consumido provém, em partes iguais, do metabolismo anaeróbio e aeróbio; à medida que aumenta a distância é também maior a proporção de energia produzida em aerobiose. Em repouso, a glicólise e o ciclo de Krebs actuam a cerca de 10%, ou menos, da respectiva capacidade máxima, com produção mínima de lactato, ao passo que, durante a actividade física normal, o consumo de glicose e de oxigénio tende a aumentar cerca de 20 vezes (144,145).

Em condições de equilíbrio dinâmico, o ATP é essencialmente formado por fosforilação oxidativa, sendo a renovação do seu total corporal determinada directamente pelo valor da VO_2 . Enquanto em repouso o consumo máximo de oxigénio varia entre 0,2-0,3 l/min, no esforço máximo pode aumentar cerca de 20 vezes, de modo a possibilitar a síntese de ATP necessário (146.).

De facto, no músculo, ao contrário do que sucede na generalidade dos tecidos, verifica-se grande variação das exigências energéticas em função do tipo de actividade desenvolvida. A intensidade do exercício físico é o principal determinante da renovação do ATP, entre outros factores, tais como a composição (em fibras musculares), eficiência mecânica, temperatura e fadiga muscular. No exercício intenso de curta duração (p.ex., uma corrida de 100 metros), a renovação do ATP corporal aumenta cerca de 3 vezes relativamente ao valor verificado durante uma corrida de maratona e cerca de 50 vezes superior ao de repouso. Todavia, em outro tipo de exercício, p.ex, contracção isométrica de curta duração, a renovação de ATP é cerca de 2/3 da que se observa após pedalar vigorosamente durante 10 s, a que correspondem valores entre 300 e 400 vezes superiores aos de repouso (145). Estas diferenças na renovação do ATP foram confirmadas em fibras musculares humanas isoladas, sujeitas a modos contrácteis distintos; p.ex., a renovação de ATP das fibras musculares do tipo II é 3 a 4 vezes superior ao das fibras do tipo I (147).

A concentração de ATP muscular, habitualmente constante e que raramente diminui mais do que 30% no nível inicial durante actividades contrácteis mais exigentes, não parece ser um factor determinante da fadiga muscular. Esta tem sido associada, entre outros factores presumíveis, à desaminação dos nucleótidos adenílicos musculares. A desaminação do AMP em IMP aumenta com a redução dos níveis de fosfocreatina e pH (148,149) e da capacidade contráctil (144,150). Este tipo de situação verifica-se quando o exercício decorre em isquemia ou hipoxia, de que resulta a diminuição dos níveis de fosfocreatina, maior formação de IMP (149), e maior susceptibilidade à fadiga (151). A concentração de IMP aumenta com esforços energéticos de curta duração ou mais prolongados de intensidade moderada, aparentemente associada à redução do nível de glicogénio muscular e desenvolvimento da fadiga (151).

Nutrientes, formação de ATP e características do exercício físico - Diversos factores influenciam o tipo de nutrientes mais utilizados pelo músculo esquelético para a obtenção energia total requerida; entre outros, destacam-se a intensidade e duração do exercício físico, as características morfológicas e composição em fibras musculares, o estado de ansiedade e nutricional de cada indivíduo, e o ambiente em a actividade decorre).

Os glícidos são o material energético mais consumido em todos os tipos de actividade física, sobretudo durante o exercício moderado e intenso, enquanto os lípidos (ácidos gordos e corpos cetónicos), utilizados pelo músculo esquelético e outros tecidos em períodos de repouso, são primordiais no esforço de resistência. Em qualquer dos casos, a utilização daqueles nutrientes é determinada pelas características e funcionalidade das vias metabólicas intervenientes na formação máxima de ATP. Numa perspectiva geral, e como termo de comparação (por não pertencer à categoria de nutriente), verifica-se que o valor máximo ($\text{mmol}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$) de formação do ATP no quadricépede crural em exercício dinâmico (152) provém da degradação da fosfocreatina, em que o contributo deste composto é cerca do dobro do obtido na glicogenólise e glicólise anaeróbia (152), 5 vezes o da oxidação completa do glicogénio muscular (153) e, aproximadamente, 10 vezes o da oxidação aeróbia da glicose proveniente do glicogénio hepático ou glicose obtida da alimentação (154) e dos ácidos gordos recebidos do tecido adiposo (155). A oxidação conjunta glicose e ácidos gordos transportados pelo sangue ao músculo é particularmente importante no período final do exercício prolongado (após serem consumidas as reservas glicídicas endógenas), quase totalizando a quantidade de ATP formado a partir o glicogénio muscular (Fig.17).

Contributo de nutrientes
comuns para o VO_2 (%)

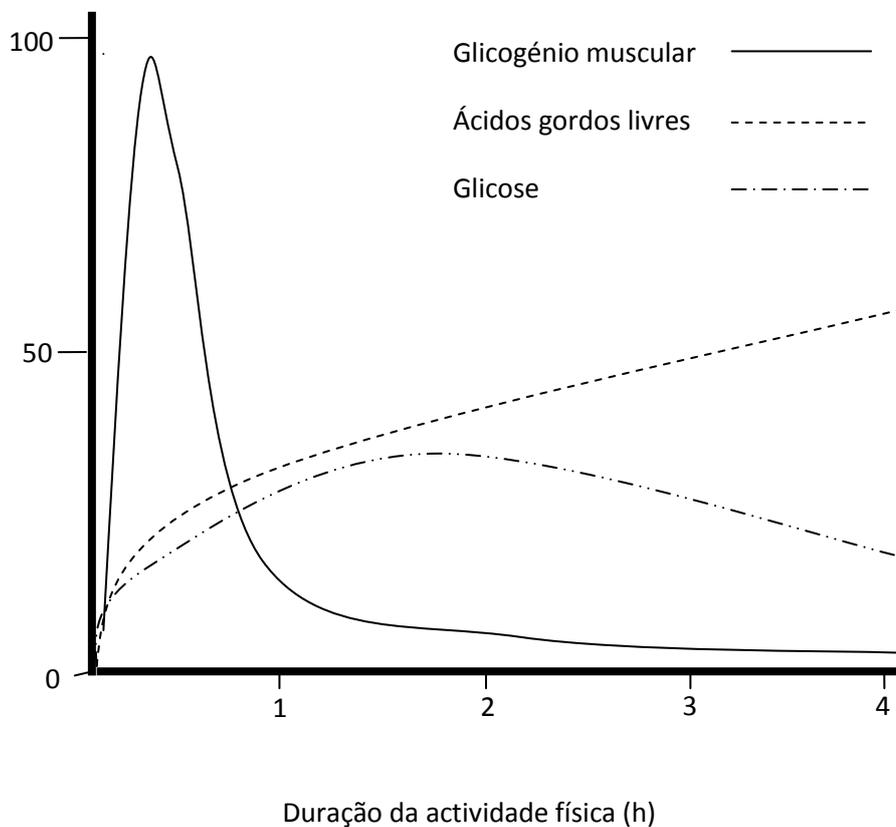


FIGURA 17

Contributo relativo dos principais nutrientes, em termos de consumo de oxigénio, durante o exercício físico prolongado até à exaustão. As reservas de glicogénio muscular preenchem grande parte das exigências metabólicas durante a 1ª hora, a par com um aumento gradual do consumo de glicose e dos AGL em circulação. A partir desse período e nas duas horas seguintes, virtualmente esgotadas as reservas de glicogénio muscular, os AGL e a glicose (regenerada por gliconeogénese e resultante da glicogenólise hepática) partilham o fornecimento de nutrientes indispensáveis à continuidade do esforço físico. O período final é possibilitado, em grande parte, pela oxidação dos AGL. Esquema adaptado de Fox EL (156).

Ainda que os ácidos gordos constituam o substrato energético preferencial do músculo em repouso ou em actividade ligeira, as limitações impostas pela lipólise e transporte dos ácidos gordos até ao músculo explicam (pelo menos inicialmente) que haja também algum consumo de glicose. À medida que aumenta o esforço desenvolvido, é gradualmente maior o contributo da oxidação glicídica. No seguimento da depleção das reservas de glicogénio muscular continuam a

ser utilizados a glicose e ácidos gordos provenientes da circulação. Este último recurso não evita, porém, que o rendimento físico diminua rapidamente à medida que se esgota a glicose, pois que os ácidos gordos dão seguimento somente a actividade pouco intensa. Por seu lado, o consumo da fosfocreatina e a glicólise anaeróbia são reservados para esforços físicos enérgicos (156).

Adaptação muscular ao exercício – O músculo esquelético reage ao esforço através de modificações na actividade metabólica, induzidas por moduladores alostéricos e hormonais. Estas alterações têm sido confirmadas por biopsia muscular em diversos tipos de exercício físico.

Verificou-se que o treino repetido e prolongado de exercício isométrico aumenta a oxidação aeróbia de glícidos e lípidos, originando uma maior produção da ATP mitocondrial, a par com o aumento da densidade capilar e do conteúdo de mioglobina muscular. Estas alterações revertem ao estado inicial após algumas semanas de inactividade (157; 158). Por seu lado, o tipo de nutriente utilizado é determinado pela intensidade e duração do exercício físico. Assim, no exercício intenso em que o consumo de oxigénio é superior a 70%, são consumidos quase só glícidos, enquanto no exercício prolongado de intensidade moderada, a percentagem de energia resultante da oxidação dos ácidos gordos a supera progressivamente a da glicose (159).

A adaptação do metabolismo glicídico ao esforço físico parece resultar de uma maior capacidade oxidativa do ciclo de Krebs e da cadeia respiratória, em resposta ao aumento da concentração de ADP e Pi resultantes da hidrólise do ATP consumido durante o exercício. O ciclo de Krebs seria regulado pela actividade da α -cetoglutarato desidrogenase, cerca de 40% ou 90% mais elevada, respectivamente, no quadricípede crural de atletas treinados, com preparação média ou boa. Nos mesmos indivíduos, acrescia um aumento 20 ou 50%. da capacidade de captação de oxigénio muscular. Desta adaptação resultou um aumento substancial da produção de ATP com o treino (18), que se reflectiria em menor actividade da glicólise (160-162) e da glicogenólise (163,164) muscular, compensada por maior contributo (simultâneo) da β -oxidação dos ácidos gordos (80,81) e da capacidade de utilização do triacilglicerol (165). O ATP e a fosfocreatina diminuam menos como o exercício após 3 e 7 meses de treino, enquanto se registava um menor aumento de lactatemia (166).

A adaptação metabólica ao exercício máximo de curta duração segue um padrão distinto, devido a uma necessidade imediata de energia, a níveis que excedem o valor máximo de formação de ATP em aerobiose e, por consequência, induzem a intervenção do ATP sintetizado pela glicólise anaeróbia e da fosfocreatina. Este tipo de adaptação, com aumento relevante da concentração de ATP e fosfocreatina (166-168), bem como da actividade da miosina ATPase, miocinase, fosfocreatina cinase (169) e enzimas reguladoras a glicólise (167,170), acentua-se após um período de treino máximo, com substancial melhoria da capacidade física e resultados subsequentes. Adicionalmente, o treino repetido de exercício máximo de curta duração parece aumentar capacidade de adaptação à acidose muscular subsequente à acumulação de ácido láctico (171).

Importância do glicogénio hepático para o exercício físico – Em condições normais, o glicogénio hepático existente assegura o fornecimento da glicose requerida pelos tecidos corporais, designadamente o músculo esquelético; cerca de 40% da glicose disponibilizada provém de precursores gliconeogénicos. (172). Esta proporção aumenta gradualmente durante o jejum, sendo quase total ao fim de 30 horas de privação alimentar (173). Entretanto, a quantidade de glicogénio acumulado no fígado depende da proporção de glícidos ingeridos na refeição anterior e da que é gerada por gliconeogénese, sendo virtualmente nula após 1 dia de jejum ou em estado de privação alimentar total (172,174). A ingestão de dieta sem glícidos ou jejuns repetidos diminuem substancialmente as reservas de glicogénio hepático, bem como e glicose em

circulação. Pelo contrário, a substituição da anterior dieta por outra rica em glúcidos, ainda que com idêntico valor calórico, eleva o depósito de glicogénio para níveis superiores aos resultantes de uma alimentação mista (174,175).

O exercício físico é também uma das causas de espoliação do glicogénio hepático (176), sobretudo quando executado em jejum ou após uma dieta pobre em glúcidos. (176). Nestas condições, o rendimento físico e a glicemia diminuem, podendo a carência de glicose impedir a continuidade do exercício (178,179). As reservas de glicogénio podem ser inteiramente consumidas ao fim de 1 a 3h de esforço físico excessivo, sendo por isso aconselhável a ingestão prévia de uma dieta rica em glúcidos. Pelo contrário, se a alimentação for pobre em glúcidos, a recuperação do glicogénio fica aquém do que deveria, originando hipoglicemia durante o exercício e reduzindo o respectivo rendimento (180). A quantidade de glicogénio hepático regenerado pós-exercício varia, ainda, com o tipo de glúcido administrado, além de influenciar também o rendimento físico.

A glicose fornecida pelo fígado ao músculo esquelético aumenta com a carga de esforço físico sendo também proporcional ao valor de VO_2 (181-183). Esta variação seria desencadeada pelo início da contração muscular e respectiva intensidade, a que associaria a diminuição da glicemia durante o exercício, com estimulação directa (pela glicose) e ou intervenção hormonal (catecolaminas, glicagina e insulina) da respectiva fosforilase (184). Todavia, o esforço ligeiro não altera, virtualmente, a glicemia habitual em repouso (183). No exercício desenvolvido em jejum aumenta a participação da oxidação lipídica e a concentração de epinefrina em circulação, enquanto diminui a insulinemia; este mecanismo como que compensa a hipoglicemia e a menor disponibilidade de glicose para consumo muscular (179,185).

Variações do glicogénio muscular com a dieta e exercício - A quantidade de glicogénio muscular, à semelhança do hepático, depende da actividade física e da qualidade da alimentação; nos indivíduos sedentários com dieta normal mista, o conteúdo de glicogénio muscular praticamente não se altera. Todavia, após 4 dias de jejum ou com uma alimentação pobre em glúcidos, a quantidade de glicogénio pode ser, respectivamente, 40 % ou 30% inferior; estes depósitos pouco variam, também, se a alimentação for rica em glúcidos e mantiver o sedentarismo (186).

A situação modifica-se quando as alterações alimentares se associam ao exercício. Assim, o glicogénio muscular dispendido durante o exercício pode ser regenerado lentamente durante o jejum mas, se for administrada uma dieta rica em glúcidos, a quantidade de glicogénio sintetizado não só aumenta rapidamente no período de recuperação como atinge valores muito superiores aos de repouso (187). Esta particularidade tem sido atribuída a diversos mecanismos, intervenientes no transporte transmembranar da glicose e ou na activação da glicogénese muscular (186).

A concentração de glicogénio muscular condiciona a capacidade para executar o exercício físico. A execução intermitente (em períodos de 15 minutos) de um esforço sub-máximo até à exaustão, intercalado por períodos de igual duração para repouso, induzia a redução do valor de glicogénio do quadricépede crural até quase a zero ao fim de pouco mais de uma hora de exercício, causando ainda incapacidade para a sua repetição (153). Porém, a duração do esforço poderia duplicar ou triplicar se, durante 3 a 7 dias antes de um exercício sub-máximo prolongado, os indivíduos estudados recebessem alimentação rica em glúcidos (178,186). Dietas de composição diferente mas valor calórico idêntico influenciavam, também, a concentração de glicogénio muscular, repercutindo-se na duração de esforço até ao esgotamento físico, em que este coincidia com a depleção total do glicogénio (186). A administração de uma

dieta rica em glícidos durante um período de repouso de 3 dias possibilitava a recuperação rápida dos níveis de glicogénio muscular, sobretudo em indivíduos com treino físico (186).

No músculo em repouso, a fosforilase (a) do glicogénio perfaz somente cerca e 5 a 10% do total daquela enzima, maioritariamente na forma inactiva, (b) (188). Ainda que ambas as formas de fosforilase tenham igual capacidade glicogenolítica, a forma activa, ao contrário da (b), responde directamente a diversos estímulos associados à contracção muscular. Acresce que a sensibilidade da fosforilase (a) aos principais moduladores (ADP, AMP, IMP, Pi) é muito superior à da forma (b). O facto de a fosforilase fazer parte de um complexo com o glicogénio, retículo sarcoplásmico e outras enzimas (cinase e fosfatase da fosforilase), justifica a eficácia do Ca^{2+} que, ao passar daquele compartimento subcelular para o citosol, induz a activação da fosforilase, desencadeando a glicogenólise em conjunto com a contracção muscular (22,189). A estimulação dos receptores β -adrenérgicos pela epinefrina induz o aumento do AMPc e a subsequente cascada de activação, que termina na conversão da forma (b) em forma (a) da fosforilase pela respectiva cinase (22, 189).

A activação da fosforilase (b) em (a), ainda que decisiva para o início da glicogenólise não é, porém, suficiente. Aparentemente, o aumento da concentração do Pi, resultante da hidrólise do ATP e da fosfocreatina durante o exercício muscular, é essencial para desencadear a degradação do glicogénio (22,188, 189) A continuação do exercício muscular tende a reverter a fosforilase (a) em (b), o que poderá ser devido à redução do pH, ao inibir a fosforilase cinase (190).

Formação e remoção do lactato muscular – O lactato tende a acumular-se no músculo esquelético (e daí passar para o sangue venoso periférico) sujeito a exercício intenso, em resultado de duas causas principais: (a) início rápido da glicólise com o exercício dinâmico e (b) grande incremento da glicólise anaeróbia, que atinge níveis muito superiores aos da fosforilação oxidativa. Esta, por seu lado, é limitada pela quantidade de oxigénio fornecido ao músculo em contracção intensa, podendo ser insuficiente para dar continuidade ao metabolismo aeróbio. No fim do período deste tipo de exercício muscular, a concentração de lactato pode exceder 30 mmole.kg-1 nos músculos utilizados e mais de 20 mM no sangue (191,192).

O lactato produzido pode ter dois destinos metabólicos: (a) gliconeogénese e (b) oxidação nos tecidos periféricos (incluindo os músculos em repouso). Nos músculos em fase de recuperação do esforço físico, o lactato pode ser consumido como material energético e, em menor proporção, na gliconeogénese.

A gliconeogénese ocorre no fígado (a maior proporção), no rim (cerca de 1/10 do valor anterior) e, também, no músculo esquelético. Em músculos de rato (193-195) e homem (196), menos de 20 % do lactato muscular produzido em exercício máximo era convertido em glicogénio no período de recuperação, sendo o restante re-oxidado pelos miócitos. Nos mamíferos, a gliconeogénese muscular prevalece nas fibras de tipo II, enquanto nas de tipo I predomina a oxidação do lactato (176, 197). Outros estudos mostraram que a regeneração do glicogénio muscular aumentava a par com o aumento do lactato produzido e acumulado naquele tecido. Concentrações de lactatemia superior a 13 mM (com correspondente redução do pH sanguíneo) tendem a limitar o efluxo do lactato, repercutindo-se na sua acumulação prolongada no músculo no período de recuperação do exercício (198); adicionalmente, limitam a glicólise (por inibição da fosfofrutocinase) e favorecem a regeneração do glicogénio (199), em particular nas fibras do tipo II. Se a deposição de lactato no músculo for baixa não há regeneração do glicogénio, ainda que este tenha sido espoliado pelo exercício (200).

Ao contrário do que se pensava anteriormente (201), menos de 20% do lactato é veiculado pelo ciclo de Cori para o fígado, convertendo-se em glicogénio, sendo a maior parte consumida periféricamente por oxidação (195,202).

Entretanto, o excesso de lactato em circulação, bem como a fracção acumulada no músculo após um exercício intenso, diminuem mais rapidamente se o período de recuperação incluir algum exercício (196,189). Esta particularidade deve-se ao aumento do fluxo sanguíneo, que induz uma maior remoção do lactato para a regeneração de glicogénio no fígado ou para oxidação em outros tecidos.

A redução acentuada do pH intramuscular, resultante da acumulação de lactato no músculo durante o exercício intenso (203, 204) seria uma das causas do desenvolvimento da fadiga e menor rendimento físico ainda a requerer confirmação.

A lactatemia aumenta durante o exercício sub-máximo, primeiro gradualmente e depois de modo mais acentuado à medida que o exercício se intensifica (205). Este tipo de variação resultará de uma combinação de processos que influenciam a síntese e efluxo do lactato muscular para o sangue e a sua remoção pelos tecidos que o reutilizam. No início do esforço, a produção de lactato excede um pouco a sua remoção do sangue mas, quando a intensidade do exercício aumenta, a formação do lactato torna-se marcadamente excedentária. Em consequência, aumenta a concentração de lactato nos músculos em actividade e no sangue e, progressivamente, também nos restantes músculos inactivos e outros tecidos (101,206).

Admitiu-se que o aumento da lactatemia durante o exercício intenso resultaria de um desequilíbrio entre o oxigénio disponível e o requerido pelos músculos em actividade (207), Contudo este mecanismo foi posto em causa por resultados contraditórios (208,209). O lactato produzido não seria somente um desperdício metabólico a eliminar em condições de exercício mais intenso e ou hipoxia. Em alternativa, afigura-se como produto metabolicamente útil permutado entre compartimento e tecidos diversos. A atestar a hipótese de “vaivém do lactato” invoca-se o facto do fluxo metabólico do lactato ser, em determinadas condições (p. ex., no esforço físico, moderado ou mais intenso, e em altitude) superior ao da glicose (206). O músculo esquelético, pela grande proporção da sua massa corporal e tipo de actividade desenvolvida, seria o principal tecido interveniente naquele sistema, não só pela vertente da produção mas também como principal consumidor metabólico do lactato durante os períodos de repouso, actividade ou recuperação do exercício (210,221). A captação e consumo de lactato da circulação sanguínea pelo músculo esquelético, cardíaco ou fígado são influenciados por diversos factores, nomeadamente: actividade metabólica do tecido recipiente, gradientes de lactato e pH (tecido/sangue e líquido intersticial envolvente), fluxo sanguíneo e treino físico.

A captação pelo músculo esquelético verifica-se já em repouso (ainda que pouco relevante), aumentando no período de recuperação do exercício intenso e durante o exercício (ligeiro, moderado ou prolongado). Esta captação ocorre nos músculos em repouso ou em actividade, nos quais o lactato, captado do sangue ou acumulado, é oxidado (212). A fracção restante do lactato eliminado para a circulação é utilizada na gliconeogénese hepática (213) ou muscular (em algumas fibras glicolíticas em repouso) (176,189) ou é oxidada pelo miocárdio (214) e fibras oxidativas do tipo I do músculo esquelético em repouso (176). No miocárdio, o consumo de lactato pode perfazer até 40% das necessidades energéticas em repouso, aumentando até cerca de 60% (como substrato preferencial em substituição da glicose) quando o fluxo sanguíneo e a captação de oxigénio também se elevam (215).

Contributo dos lípidos para a actividade muscular – Parte da energia requerida pelos diversos tipos de exercício dinâmico provém dos lípidos, primariamente como ácidos gordos

livres (216,217) e, em fracção mínima, como corpos cetónicos (218,219). A contribuição dos lípidos para as exigências energéticas do exercício é particularmente relevante quanto este decorre ao longo de várias horas. Na actividade física de intensidade moderada, o consumo dos lípidos aumenta entre cerca de 46% em repouso até quase 90% ao fim de 4 horas de esforço físico, a par com uma diminuição gradual da fracção de glícidos utilizados no metabolismo oxidativo, entre cerca de 80% e pouco mais de 10% no mesmo período (159). As fibras musculares de contracção lenta são as principais consumidoras dos ácidos gordos oxidados durante o exercício moderado e prolongado (220). Eventualmente, a concentração elevada de AGL registada neste tipo de actividade inibe a glicogenólise e a oxidação da glicose (221,22); em alternativa, a existência de concentração elevada de glicogénio no músculo inibiria a oxidação dos ácidos gordos não esterificados. Este mecanismo explicaria que o aumento dos AGL em circulação durante o exercício físico prolongado fosse menor depois de uma refeição rica em hidratos (223), do mesmo modo que a ingestão de glicose durante aquele tipo de exercício diminui a lipólise (224).

A principal fracção dos AGL deriva da lipólise no tecido adiposo, constantemente estimulada desde o início do exercício dinâmico prolongado (159,225,226). Desta acção resulta um aumento rápido de AGL em circulação na primeira hora e mais discreto até à sua conclusão.

O exercício desencadeia a lipólise local na sequência da activação (fosforilação pela proteína cinase A) da lipase hormono-dependente, pelo aumento das catecolaminas em circulação e respectiva união aos receptores β -adrenérgicos da superfície membranar dos adipocitos (227). O efeito lipolítico anterior é contrariado pela insulina, que, ao unir-se aos receptores α -adrenérgicos dos adipocitos, induz a desfosforilação da referida lipase (228). Deste modo, a lipólise pode variar em função de efeitos hormonais opostos, na dependência de estímulos distintos, tais como o estado de actividade física e o estado de repouso em determinado momento. Por seu lado, a quantidade de ácidos gordos postos em circulação pelos adipocitos reflecte um balanço entre a actividade lipolítica e a capacidade de remoção dos AGL pelo sangue de perfusão local, em contraponto à sua reesterificação, com regeneração de triacilglicerol (225,229). O aumento da perfusão sanguínea do tecido adiposo que acompanha o exercício prolongado (230) promove a remoção dos AGL da lipólise local (231). Porém, um factor determinante da mobilização dos AGL do tecido adiposo será a sua utilização pelo músculo durante o exercício (232). Pelo contrário, no período pós-exercício parece aumentar substancialmente a retenção e reesterificação dos AGL no tecido adiposo (233).

O treino prolongado tende a diminuir a resposta catecolaminérgica (234) assim como a insulinemia (225), o que não obsta a que os AGL sejam mais utilizados pelos indivíduos treinados do que pelos sedentários submetidos a esforço físico equivalente (234,236). Este efeito parece resultar de uma maior capacidade lipolítica induzida pelo treino físico (237), que atinge o seu máximo ao fim de alguns meses de exercício regular (238), na dependência de uma maior sensibilidade dos receptores β -adrenérgicos dos adipocitos e eventual aumento da actividade da lipase hormono-dependente (239,240). Ao fim de alguns dias de inactividade física, a capacidade lipolítica tende a reverter ao nível inicial (241).

Os ácidos gordos transportados pelas lipoproteínas ao músculo esquelético, provenientes da dieta (pelos quilomicra) ou do fígado (veiculados pelas VLDL) são captados, sobretudo pelas fibras do tipo I, após a lipólise do triacilglicerol pela lipoproteína lipase membranar. A actividade desta enzima é modulada por diversos factores, designadamente pelas exigências metabólicas do momento que determinam o destino dos ácidos gordos para consumo energético ou formação de depósitos de triacilglicerol (242). A regulação do triacilglicerol muscular e

subsequente obtenção de ácidos gordos parece depender de uma lipoproteína lipase intracelular, estimulável pelas catecolaminas (243). O contributo das lipoproteínas circulantes para o fornecimento de ácidos gordos ao músculo é pouco relevante, ainda que seja evidente durante o exercício intenso prolongado (244). Esta variação seria apoiada pelo aumento de actividade da lipoproteína lipase muscular (duplica) e do tecido adiposo (cerca de 20 vezes mais) no exercício físico com duração superior a uma hora (245), também constatada nos indivíduos treinados, relativamente aos sedentários (246).

O consumo de ácidos gordos pelo músculo esquelético depende da intensidade do esforço físico, do treino existente e da dieta. A captação dos ácidos gordos exógenos é um processo rápido, independente de energia química e, em parte, dependente da concentração transportada no sangue pela albumina; deste modo, a quantidade de ácidos gordos captados seria afectada pelo mecanismo que regula a lipólise do tecido adiposo e, ainda pela capacidade da sua utilização metabólica pelos miócitos (247).

Cerca de metade dos AGL oxidados durante o exercício moderado e prolongado é proveniente da fracção transportada pela circulação sanguínea, sendo o resto derivado da lipólise muscular. A actividade lipolítica dependeria de uma lipase intracelular activada pelas catecolaminas e pela contracção muscular (243)., o que justificaria a redução do nível de triacilglicerol intramuscular durante o exercício (248,249) e a recuperação dos valores iniciais horas ou dias depois da sua interrupção (250,251).

Relativamente aos ácidos gordos, a oxidação dos corpos cetónicos muscular perfaz no máximo, cerca de 7% da energia requerida. Em animais de laboratório e humanos constatou-se que o treino físico aumentava a capacidade de utilização de corpos cetónicos (e ácidos gordos), pelo que os indivíduos treinados beneficiavam mais da cetose associada ao exercício do que os não treinados (252,253).

Utilização metabólica de aminoácidos e proteínas durante o exercício físico – Ao contrário do que se pensava, o exercício físico promove alterações no balanço do azoto e do metabolismo proteico em humanos, das quais resulta que a proteína degradada contribui para 3 a 10% do total energético consumido em esforços com duração superior a 1 hora. O exercício prolongado tende a induzir o aumento da proteólise (corporal e muscular) e, por consequência, maior efluxo de aminoácidos para o plasma (254- 256), o qual reverte ao normal no período de recuperação (257). Por seu lado, a síntese proteica no músculo esquelético diminui com a actividade contráctil (256-259), em particular no exercício exaustivo (256), normalizando após seu termo (259).

No exercício de curta duração, a concentração plasmática de alanina, aspartato, glutamato e glutamina aumenta na sequência das reacções(nos miócitos) de transaminação e da sintase da glutamina (260,261, enquanto a dos aminoácidos ramificados permanece inalterada. Todavia, a oxidação dos aminoácidos mantém-se praticamente inalterada naquele tipo exercício (254,255, 262).

O efluxo de alanina do músculo para a circulação sanguínea aumenta em proporção com a intensidade do exercício (263). Parte daquela alanina (cerca de 10%) existe no estado livre, sendo a restante formada por aminação do piruvato (264), à custa do grupo aminado resultante do catabolismo de outros aminoácidos presentes no músculo, designadamente os ramificados (116), mas sem exclusão de outros (265). O aumento da síntese da alanina muscular, permite que os grupos amina em excesso que dela derivam sejam transportados pelo sangue ao fígado sob uma forma não tóxica. A subsequente formação da glicose pela gliconeogénese a partir da alanina recebida do músculo completa o ciclo da glicose-alanina (263), pelo qual a glicemia pode

ser estabilizada enquanto a glicose transportada ao músculo melhora um pouco a sua funcionalidade durante o exercício e em período de recuperação (264,266).

O glutamato, abundante no músculo, intervém na formação de amoníaco e da glutamina. A concentração plasmática deste aminoácido, bem como a do aspartato, também aumenta com a carga de esforço físico (256,267), diminuindo até cerca de 25% do valor após 1 hora de exercício. Durante o exercício sub-máximo, a concentração de glutamina muscular aumenta a par com a redução do nível de glutamato, confirmando-se assim a intervenção da glutamina como aceitador e transportador de amoníaco do músculo para outros órgãos (268). Porém, o aumento de glutamina ocorre durante a primeira hora de exercício prolongado (de intensidade moderada ou mais intenso), diminuindo no período seguinte até valores inferiores aos basais de acordo com uma redução da sua síntese muscular (254,256,269).

A concentração plasmática de aminoácidos ramificados mantém-se relativamente estável durante os primeiros 90 minutos de exercício prolongado, diminuindo até 40% no período seguinte, o que estaria de acordo com sua participação na síntese da glutamina, sendo os respectivos cetoácidos encaminhados para oxidação pelo ciclo de Krebs (254,269).

Entretanto, a quantidade de amoníaco produzido pelo músculo esquelético aumenta proporcionalmente ao esforço realizado (267,270), em associação com a produção de lactato (270,271). No exercício intenso, em que a quantidade de ATP utilizado pelo músculo tende a exceder a da sua formação, o ADP acumulado (por acção da miocinase) participa na regeneração de quantidades suplementares de ATP, junto com a acumulação de AMP. A desaminação deste nucleótido, que ocorre rapidamente nas fibras musculares do tipo II (mas não nas de tipo I) (272), não só assegura a continuidade de acção da miocinase como, indirectamente, contribui para a regulação da glicólise e glicogenólise através da relação ATP/ADP (267). Deste modo, a desaminação do AMP é a origem imediata do amoníaco (148,270), particularmente durante o exercício intenso. O processo é revertido no período de recuperação do esforço pela reaminação do IMP, com recurso aos grupos aminados de moléculas de aspartato (148). A evolução é diferente no exercício prolongado de intensidade moderada, em que a quantidade de amoníaco produzido, muito superior à que derivaria da desaminação do AMP, provém essencialmente da desaminação de aminoácidos (273).

A ureia plasmática não é alterada pelo esforço intenso e breve, mas aumenta no exercício de intensidade moderada com duração superior a 1 hora (254,255,262,273). O aumento da produção de ureia poderá confirmar o incremento da oxidação de aminoácidos como compensação parcial do custo energético da actividade física e ou da gliconeogénese. Aparentemente, níveis baixos de glicogénio muscular (p.ex. no jejum) associam-se a uma maior degradação dos aminoácidos (273). Por si, a oxidação dos aminoácidos parece ser o mecanismo determinante no controlo da reserva corporal de aminoácidos.

SUMMARY

This work includes two aspects. The first concerns the metabolic pathways and key regulatory factors involved in the oxidation of key nutrients consumed by skeletal muscle. In the second part is included the metabolic response to exercise.

We review the main intermediates and enzymatic steps of glycolysis (aerobically and anaerobically) and glycogen metabolism. The following is the analysis of the formation and oxidation of acetyl-CoA, which includes the Krebs cycle and mitochondrial oxidative phosphorylation. This process, which is part of cellular

respiration and depends on the oxygen consumption, is also shared by the oxidation of amino acids and fatty acids. It is highlighted the origin of free fatty acids (from alimentary digestion, reserves of adipose tissue or from muscle tissue itself), the blood transport mechanisms, transmembrane uptake, intracellular transport and metabolic utilization (regeneration of triacylglycerol deposits or oxidation). The main intermediates and enzymatic steps of β -oxidation, ketogenesis and hepatic consumption of ketone bodies and their intervention in the generation of ATP by the muscle are focused. We review the origin (digested food or other tissues) of blood amino acids obtained by myocytes, the importance of renewal of protein and essential enzymatic conversion steps (oxidative deamination and transamination) in the degradation of amino acids, protein synthesis and or nitrogen products derived from amino acids. It addressed the origin and destination of the amino groups of amino acids removed, either for the generation of different amino acids or to be removed after conversion to ammonia and urea. It is focused on the use of ketoacids as precursors of glucose and glycogen by gluconeogenesis.

The type of contraction and movement produced depend largely on the structure and metabolic capacity of skeletal muscles involved, while a continuing effort, based on red muscle fibers, requires constant energy obtained preferably under aerobic conditions. Abrupt changes in activity which are based on contractility of white fibers use energy immediately available, under the form of phosphocreatine and ATP, either pre-existing or from anaerobic glycolysis. It appears that the type of nutrients most used by skeletal muscle to obtain the total energy required depends on several factors, especially the intensity and duration of exercise, and the morphological characteristics and muscle fiber composition. Carbohydrates are the most energetic material consumed in all types of physical activity, especially during moderate and intense exercise, while lipids (fatty acids and ketone bodies), used by skeletal muscle and other tissues are crucial in the effort of resistance. Adaptation of skeletal muscle to the effort is based on changes in metabolic activity, induced by hormonal and allosteric modulators, which tend to revert to baseline after a period of inactivity. It referred to the importance of glycogen for continued physical effort. Under normal conditions, the liver glycogen (a large part formed from gluconeogenic precursors) ensures the required supply of glucose required for skeletal muscle, being modified by the conditions and diet. In muscles recovering from exertion, lactate can be consumed as energy and material, to a lesser extent in gluconeogenesis. The lactatemia, increased during exercise, decreases in the subsequent rest period, particularly if it includes some exercise. It is assumed that the sharp drop in intramuscular pH, resulting from the accumulation of lactate in muscle during intense exercise contribute to the development of fatigue and reduced physical performance. Consumption of fatty acids by skeletal muscle depends on the intensity of physical effort, the existing training and diet. About half of FFA oxidation during moderate exercise and prolonged is a fraction captured from blood, the rest being derived from the reserves of triacylglycerol lipolysis in muscle. Physical training increases the capacity of utilization of ketone bodies by myocytes. The prolonged exercise tends to lead to increased proteolysis (body and muscle) increased efflux of amino acids into the plasma (which reverts to normal during the recovery period, coupled with the reduction of protein synthesis). Some of the natural amino acids

(alanine, aspartate, glutamate and glutamine) have particular involvement in the stages of muscular exercise and rest, while the branched amino acids (valine, leucine and isoleucine) are a major supplier of chemical energy during periods of prolonged activity. This type of consumption results in increased ammonia and urea, together with the reuse of ketoacids by gluconeogenesis.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Emília Alves o apoio de secretariado concedido a este trabalho.

BIBLIOGRAFIA 2

1. Ohta M, Jarrett RJ, Field JB. Measurement of ATP in tissues with the use of C14-O2 production from glucose-1-C14. *J Lab Clin Med.* 1966;67:1013-1024.
2. Spriet LL, Söderlund K, Bergström M, Hultman E. Anaerobic energy release in skeletal muscle during electrical stimulation in men. *J Appl Physiol.* 1987;62:611-615.
3. Anundi I, de Groot H. Hypoxic liver cell death: critical PO2 and dependence of viability on glycolysis. *Am J Physiol.* 1989;257(1Pt 1):G58-64.
4. Penney DG, Cascarano J. Anaerobic rat heart. Effects of glucose and tricarboxylic acid-cycle metabolites on metabolism and physiological performance. *Biochem J.* 1970;118:221-227.
5. Harris K, Walker PM, Mickle DA, Harding R, Gatley R, Wilson GJ, Kuzon B, McKee N, Romaschin AD. Metabolic response of skeletal muscle to ischemia. *Am J Physiol.* 1986;250:H213-220.
6. Edström L, Hultman E, Sahlin K, Sjöholm H. The contents of high-energy phosphates in different fibre types in skeletal muscles from rat, guinea-pig and man. *J Physiol.* 1982;332:47-58.
7. Berger M, Hagg SA, Goodman MN, Ruderman NB. Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. Effects of starvation, diabetes, fatty acids, acetoacetate, insulin and exercise on glucose uptake and disposition. *Biochem J.* 1976;158: 191-202.
8. Klip A, Pâquet MR. Glucose transport and glucose transporters in muscle and their metabolic regulation. *Diabetes Care.* 1990;13:228-243.
9. Reimer F, Löffler G, Hennig G, Wieland OH. The influence of insulin on glucose and fatty acid metabolism in the isolated perfused rat hind quarter. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1975;356:1055-1066.
10. Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J.* 1964;93:652-665.
11. Brzezińska Z, Kobryń A. Liver and muscle glycogen content after glucose infusion in dogs. *Acta Physiol Pol.* 1978;29:443-449.
12. Hers HG. The control of glycogen metabolism in the liver. *Annu Rev Biochem.* 1976;45:167-189.
13. Ozand P, Narahara HT. Regulation of glycolysis in muscle. 3. influence of insulin, epinephrine, and contraction on phosphofructokinase activity in frog skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1964;239:3246-3252.

14. Hirose K, Watanabe J, Kanamura S, Tokunaga H, Ogawa R. Significance of the increase in glucose 6-phosphatase activity in skeletal muscle cells of the mouse by starvation. *Anat Rec.* 1986;216:133-138.
15. Weber G. Study and evaluation of regulation of enzyme activity and synthesis in mammalian liver. *Adv Enzyme Regul.* 1963;1:1-35.
16. Marrack D. Regulation of glycogen metabolism in man. *Am J Clin Pathol.* 1968;50:12-19.
17. Conlee RK, Rennie MJ, Winder WW. Skeletal muscle glycogen content: diurnal variation and effects of fasting. *Am J Physiol.* 1976;231:614-618.
18. Brown DH, Gordon RB, Brown BI. Studies on the structure and mechanism of action of the glycogen debranching enzymes of muscle and liver. *Ann N Y Acad Sci.* 1973 Feb 9;210:238-253.
19. Toews CJ, Ward GR, Leveille R, Sutton JR, Jones NL. Regulation of glycogenolysis and pyruvate oxidation in human skeletal muscle in vivo. *Diabetes.* 1979;28, Suppl 1:100-102.
20. Barford D, Hu SH, Johnson LN. Structural mechanism for glycogen phosphorylase control by phosphorylation and AMP. *J Mol Biol.* 1991;218:233-60.
21. Cohen P. Molecular mechanisms involved in the control of glycogenolysis in skeletal muscle by calcium ions and cyclic AMP. *Biochem Soc Trans.* 1987;15:999-1001.
22. Hargreaves M, Richter EA. Regulation of skeletal muscle glycogenolysis during exercise. *Can J Sport Sci.* 1988 ;13:197-203.
23. Tate CA, Hyek MF, Taffet GE. The role of calcium in the energetics of contracting skeletal muscle. *Sports Med.* 1991;12:208-217.
24. Sutherland EW, Robison GA. The role of cyclic AMP in the control of carbohydrate metabolism. *Diabetes.* 1969;18:797-819.
25. Walsh DA, Brostrom CO, Brostrom MA, Chen L, Corbin JD, Reimann E, Soderling TR, Krebs EG. Cyclic AMP-dependent protein kinases from skeletal muscle and liver. *Adv Cyclic Nucleotide Res.* 1972;1:33-45.
26. Liddle GW, Hardman JG. Cyclic adenosine monophosphate as a mediator of hormone action. *N Engl J Med.* 1971;285:560-566.
27. Fell RD, McLane JA, Winder WW, Holloszy JO. Preferential resynthesis of muscle glycogen in fasting rats after exhausting exercise. *Am J Physiol.* 1980;238:R328-332.
28. Lee EY, Silberman SR, Ganapathi MK, Petrović S, Paris H. The phosphoprotein phosphatases: properties of the enzymes involved in the regulation of glycogen metabolism. *Adv Cyclic Nucleotide Res.* 1980;13:95-131.
29. Cohen P, Nimmo HG, Proud CG. How does insulin stimulate glycogen synthesis? *Biochem Soc Symp.* 1978;43:69-95.
30. Kruszynska YT, Home PD, Alberti KG. In vivo regulation of liver and skeletal muscle glycogen synthase activity by glucose and insulin. *Diabetes.* 1986;35:662-667.
31. Danforth WH, Helmreich E. Regulation of glycolysis in muscle. I. The conversion of phosphorylase beta to phosphorylase alpha in frog sartorius muscle. *J Biol Chem.* 1964 ;239:3133-3138.
32. Hudson JW, Golding GB, Crerar MM. Evolution of allosteric control in glycogen phosphorylase. *J Mol Biol.* 1993;234:700-721.
33. Ramaiah A. Regulation of glycolysis in skeletal muscle. *Life Sci.* 1976;19: 455-465.
34. Hess B, Boiteux A, Krüger J. Cooperation of glycolytic enzymes. *Adv Enzyme Regul.* 1969;7:149-167.

35. Boiteux A, Hess B. Design of glycolysis. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 1981;293:5-22.
36. Burton PM, Waley SG. The active centre of triose phosphate isomerase. *Biochem J.* 1966;100:702-710.
37. Orosz F, Ovádi J. A simple approach to identify the mechanism of intermediate transfer: enzyme system related to triose phosphate metabolism. *Biochim Biophys Acta.* 1987;915:53-59.
38. Weber JP, Bernhard SA. Transfer of 1,3-diphosphoglycerate between glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase and 3-phosphoglycerate kinase via an enzyme-substrate-enzyme complex. *Biochemistry.* 1982;21:4189-4194.
39. Kaplan NO. The role of pyridine nucleotides in regulating cellular metabolism. *Curr Top Cell Regul.* 1985;26:371-381.
40. Pette D, Spamer C. Metabolic properties of muscle fibers. *Fed Proc.* 1986;45:2910-2914.
41. Sahlin K, Katz A, Henriksson J. Redox state and lactate accumulation in human skeletal muscle during dynamic exercise. *Biochem J.* 1987;245:551-556.
42. Ui M. A role of phosphofructokinase in pH-dependent regulation of glycolysis. *Biochim Biophys Acta.* 1966; 124: 310-322.
43. Behal RH, Buxton DB, Robertson JG, Olson MS. Regulation of the pyruvate dehydrogenase multienzyme complex. *Annu Rev Nutr.* 1993;13:497-520.
44. Lee SH, Davis EJ. Carboxylation and decarboxylation reactions. Anaplerotic flux and removal of citrate cycle intermediates in skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1979;254:420-430.
45. Wikström M, Babcock GT. Cell respiration. Catalytic intermediates. *Nature.* 1990;348:16-17.
46. Sánchez-Jiménez F, Martínez P, Núñez de Castro I, Olavarría JS. The function of redox shuttles during aerobic glycolysis in two strains of Ehrlich ascites tumor cells. *Biochimie.* 1985;67:259-264.
47. Bookelman H, Trijbels JM, Sengers RC, Janssen AJ, Veerkamp JH, Stadhouders AM. Reconstitution of malate-aspartate and alpha-glycerophosphate shuttle activity in rat skeletal muscle mitochondria. *Int J Biochem.* 1979;10:411-414.
48. Randle PJ, England PJ, Denton RM. Control of the tricarboxylate cycle and its interactions with glycolysis during acetate utilization in rat heart. *Biochem J.* 1970;117: 677-695.
49. Ochoa S. Enzymic mechanisms in the citric acid cycle. *Adv Enzymol Relat Subj Biochem.* 1954;15: 183-270.
50. Hansford RG. The control of tricarboxylate-cycle oxidations in blowfly flight muscle. The oxidized and reduced nicotinamide-adenine dinucleotide content of flight muscle and isolated mitochondria, the adenosine triphosphate and adenosine diphosphate content of mitochondria, and the energy status of the mitochondria during controlled respiration. *Biochem J.* 1975;146:537-547.
51. Mitchell P. Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences. *Science* 1979;206:1148-1159.
52. Brand MD, Murphy MP. Control of electron flux through the respiratory chain in mitochondria and cells. *Biol Rev Camb Philos Soc.* 1987;62:141-193.
53. Kohen E, Kohen C, Hirschberg JG, Wouters AW, Thorell B, Westerhoff HV, Charyulu KK. Metabolic control and compartmentation in single living cells. *Cell Biochem Funct.* 1983 ;1:3-16.

54. Atkinson DE. Citrate and the citrate cycle in the regulation of energy metabolism. *Biochem Soc Symp.* 1968;27:23-40.
55. Williamson JR, Cooper RH. Regulation of the citric acid cycle in mammalian systems. *FEBS Lett.* 1980;117 Suppl:K73-85.
56. Denton RM, Rutter GA, Midgley PJ, McCormack JG. Effects of Ca²⁺ on the activities of the calcium-sensitive dehydrogenases within the mitochondria of mammalian tissues. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1988;12 Suppl 5:S69-72.
57. Lawrence JC Jr, Salsgiver WJ. Levels of enzymes of energy metabolism are controlled by activity of cultured rat myotubes. *Am J Physiol.* 1983;244:C348-355.
58. Keul J, Doll E, Keppler D. The substrate supply of the human skeletal muscle at rest, during and after work. *Experientia.* 1967; 15;23):974-979.
59. Wertheimer E, Ben-Tor V. Fat utilization by muscle. *Biochem J.* 1952;50:573-576.
60. Spitzer JJ, Gold M. Free fatty acid metabolism by skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1964;206:159-164.
61. Hagenfeldt L, Wahren J, Pernow B, Räf L. Uptake of individual free fatty acids by skeletal muscle and liver in man. *J Clin Invest.* 1972;51:2324-2330.
62. Scow RO, Hamosh M, Blanchette-Mackie EJ, Evans AJ. Uptake of blood triglyceride by various tissues. *Lipids.* 1972;7:497-505.
63. Olivecrona T, Hernell O, Egelrud T. Lipoprotein lipase. *Adv Exp Med Biol.* 1975;52:269-279.
64. Bickerstaffe R, Annison EF. Lipid metabolism in the perfused chicken liver. The uptake and metabolism of oleic acid, elaidic acid, cis-vaccenic acid, trans-vaccenic acid and stearic acid. *Biochem J.* 1970;118:433-442.
65. Gollnick PD. Free fatty acid turnover and the availability of substrates as a limiting factor in prolonged exercise. *Ann N Y Acad Sci.* 1977;301:64-71.
66. Rennie MJ, Winder WW, Holloszy JO. A sparing effect of increased plasma fatty acids on muscle and liver glycogen content in the exercising rat. *Biochem J.* 1976;156:647-655.
67. Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. 8. Effects of fatty acids, ketone bodies and pyruvate, and of alloxan-diabetes and starvation, on the uptake and metabolic fate of glucose in rat heart and diaphragm muscles. *Biochem J.* 1964;93:652-665.
68. Blanchette-Mackie EJ, Scow RO. Effects of lipoprotein lipase on the structure of chylomicrons. *J Cell Biol.* 1973;58:689-708.
69. Ockner RK, Manning JA. Fatty acid-binding protein in small intestine. Identification, isolation, and evidence for its role in cellular fatty acid transport. *J Clin Invest.* 1974;54:326-338.
70. Dunn GD, Wilcox HG, Heimberg M. Temporal relationships between dietary, plasma, hepatic, and adipose tissue lipids after short-term feeding of safflower oil to rats. *J Lab Clin Med.* 1975 ;86:369-377.
71. Mahley RW, Hui DY, Innerarity TL, Beisiegel U. Chylomicron remnant metabolism. Role of hepatic lipoprotein receptors in mediating uptake. *Arteriosclerosis.* 1989;9(1 Suppl):I14-18.
72. Ide T, Sugano M. Oxidation and esterification of cis- and trans-isomers of octadecenoic and octadecadienoic acids in isolated rat liver. *Biochim Biophys Acta.* 1984;794:281-291.
73. Robinson DS. The clearing factor lipase and its action in the transport of fatty acids between the blood and tissues. *Adv Lipid Res.* 1963;1:133-182.

74. Seidel D. Advances in lipoprotein research. Biochemical and clinical aspects. *Nutr Metab.* 1973;15:9-16.
75. Ball EG. Regulation of fatty acid synthesis in adipose tissue. *Adv Enzyme Regul.* 1966;4:3-18.
76. Lehninger AL. The oxidation of higher fatty acids in heart muscle suspensions. *J Biol Chem.* 1946;165:131-145.
77. Fritz IB, Davis DG, Holtrop RH, Dundee H. Fatty acid oxidation by skeletal muscle during rest and activity. *Am J Physiol.* 1958;194:379-386.
78. Lindsay DB. Fatty acids as energy sources. *Proc Nutr Soc.* 1975;34:241-248.
79. Lehninger AL. Fatty acid oxidation and the Krebs tricarboxylic acid cycle. *J Biol Chem.* 1945;161:413.
80. Kennedy EP, Lehninger AL. Activation of fatty acid oxidation by dihydrodiphosphopyridine nucleotide. *J Biol Chem.* 1951;190:361-368.
81. Stumpf PK. Metabolism of fatty acids. *Annu Rev Biochem.* 1969;38:159-212.
82. Greville GD, Tubbs PK. The catabolism of long chain fatty acids in mammalian tissues. *Essays Biochem.* 1968;4:155-212.
83. Mahler HR, Wakil SJ, Bock RM. Studies on fatty acid oxidation. I. Enzymatic activation of fatty acids. *J Biol Chem.* 1953;204:453-68.
84. Fritz IB, Marquis NR. The role of acylcarnitine esters and carnitine palmityltransferase in the transport of fatty acyl groups across mitochondrial membranes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1965;54:1226-1233.
85. Trevisan C, DiMauro S. Activation of free fatty acids in subcellular fractions of human skeletal muscle. *Neurochem Res.* 1983;8:551-561.
86. Bremer J. Carnitine--metabolism and functions. *Physiol Rev.* 1983;63:1420-1480.
87. Ramsay RR, Arduini A. The carnitine acyltransferases and their role in modulating acyl-CoA pools. *Arch Biochem Biophys.* 1993;302:307-314.
88. McGarry JD, Foster DW. Regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketone body production. *Ann Rev Biochem.* 1980;49:395-420.
89. Havel RJ, Naimark A, Borchgrevink CF. Turnover rate and oxidation of free fatty acids of blood plasma in man during exercise: studies during continuous infusion of palmitate-1-C14. *J Clin Invest.* 1963;42:1054-1063.
90. Foster DW. Studies in the ketosis of fasting. *J Clin Invest.* 1967;4:1283-1296.
91. Witters LA, Trasko CS. Regulation of hepatic free fatty acid metabolism by glucagon and insulin. *Am J Physiol.* 1979;237:E23-29.
92. Williamson JR, Olson MS, Browning ET. Control of citrate formation in rat liver by the nicotinamide-adenine dinucleotide redox state. *Biochem J.* 1967;104:45P-46P.
93. Krebs HA. The regulation of the release of ketone bodies by the liver. *Adv Enzyme Regul.* 1966;4:339-354.
94. Krebs HA, Wallace PG, Hems R, Freedland RA. Rates of ketone-body formation in the perfused rat liver. *Biochem J.* 1969;112:595-600.
95. Krebs HA, Hems R. Fatty acid metabolism in the perfused rat liver. *Biochem J.* 1970;119:525-533.
96. Scholz R, Schwabe U, Soboll S. Influence of fatty acids on energy metabolism. 1. Stimulation of oxygen consumption, ketogenesis and CO₂ production following addition of octanoate and oleate in perfused rat liver. *Eur J Biochem.* 1984;141:223-230.

97. Page MA, Williamson DH. Enzymes of ketone-body utilisation in human brain. *Lancet*. 1971;2:66-68.
98. Beis A, Zammit VA, Newsholme EA. Activities of 3-hydroxybutyrate dehydrogenase, 3-oxoacid CoA-transferase and acetoacetyl-CoA thiolase in relation to ketone-body utilisation in muscles from vertebrates and invertebrates. *Eur J Biochem*. 1980;104:209-215.
99. Arnal M, Obled C, Attaix D, Patureau-Mirand P, Bonin D. Dietary control of protein turnover. *Diabete Metab*. 1987;13:630-642.
100. Munro HN. Second Boyd Orr Memorial Lecture. Regulation of body protein metabolism in relation to diet. *Proc Nutr Soc*. 1976;35:297-308.
101. Brooks GA. Anaerobic threshold: review of the concept and directions for future research. *Med Sci Sports Exerc*. 1985;17:22-34.
102. Palmer TN, Caldecourt MA, Snell K, Sugden MC. Alanine and inter-organ relationships in branched-chain amino and 2-oxo acid metabolism. *Biosci Rep*. 1985;5:1015-1033.
103. Mortimore GE, Pösö AR. Intracellular protein catabolism and its control during nutrient deprivation and supply. *Ann Rev Nutr*. 1987;7:539-564.
104. Waterlow JC, Jackson AA. Nutrition and protein turnover in man. *Br Med bull* 1981; 37:5-10.
105. Yuile CL, Lucas FV, Olson JP, Shapiro AB. Plasma protein turnover and tissue exchange; influence of dietary protein and protein depletion. *J Exp Med*. 1959;109:173-186.
106. Sandow A. Skeletal muscle. *Ann Rev Physiol*. 1970;32:87-138.
107. Millward DJ, Bates PC, Brown JG, Rosochacki SR, Rennie MJ. Protein degradation and the regulation of protein balance in muscle. *Ciba Found Symp*. 1979;75:307-329.
108. Owen OE, Reichard GA Jr, Patel MS, Boden G. Energy metabolism in feasting and fasting. *Adv Exp Med Biol*. 1979;111:169-188.
109. Sakami W, Harrington H. Amino acid metabolism. *Ann Rev Biochem*. 1963;32:355-398.
110. Dunathan HC. Mechanism and stereochemistry of transamination. *Vitam Horm*. 1970;28:399-414.
111. Krebs HA. Metabolism of amino-acids: Deamination of amino-acids. *Biochem J*. 1935;29:1620-1644.
112. Lowenstein JM. Ammonia production in muscle and other tissues: the purine nucleotide cycle. *Physiol Rev*. 1972;52:382-414.
113. Umbarger HE. Regulation of amino acid metabolism. *Annu Rev Biochem*. 1969;38:323-370.
114. Shambaugh GE 3rd. Urea biosynthesis I. The urea cycle and relationships to the citric acid cycle. *Am J Clin Nutr*. 1977;30:2083-2087.
115. Goldberg AL, Chang TW. Regulation and significance of amino acid metabolism in skeletal muscle. *Fed Proc*. 1978 ;37:2301-2307.
116. Odessey R, Khairallah EA, Goldberg AL. Origin and possible significance of alanine production by skeletal muscle. *J Biol Chem*. 1974;249:7623-7629.
117. Ruderman NB. Muscle amino acid metabolism and gluconeogenesis. *Ann Rev Med*. 1975;26:245-258.
118. Molé PA, Baldwin KM, Terjung RL, Holloszy JO. Enzymatic pathways of pyruvate metabolism in skeletal muscle: adaptations to exercise. *Am J Physiol*. 1973;224:50-54.
119. Ruderman NB, Berger M. The formation of glutamine and alanine in skeletal muscle. *J Biol Chem*. 1974;249:5500-5506.

120. Garber AJ, Karl IE, Kipnis DM. Alanine and glutamine synthesis and release from skeletal muscle. I. Glycolysis and amino acid release. *J Biol Chem.* 1976;251:826-835.
121. Felig P. The glucose-alanine cycle. *Metabolism.* 1973;22:179-207.
122. Snell K. Muscle alanine synthesis and hepatic gluconeogenesis. *Biochem Soc Trans.* 1980;8:205-213.
123. Dunn A, Chenoweth M, Schaeffer LD. Estimation of glucose turnover and the Cori cycle using glucose-6-t-14C. *Biochemistry.* 1967;6:6-11.
124. Waterhouse C, Keilson J. Cori cycle activity in man. *J Clin Invest.* 1969;48:2359-2366.
125. Felig P, Marliss E, Owen OE, Cahill GF Jr. Blood glucose and gluconeogenesis in fasting man. *Arch Intern Med.* 1969;123:293-298.
126. Exton JH. Gluconeogenesis. *Metabolism.* 1972;21:945-990.
127. Felig P, Wahren J. Protein turnover and amino acid metabolism in the regulation of gluconeogenesis. *Fed Proc.* 1974;33:1092-1097.
128. Felig P. Amino acid metabolism in man. *Ann Rev Biochem.* 1975;44:933-955.
129. Newsholme EA. Carbohydrate metabolism in vivo: regulation of the blood glucose level. *Clin Endocrinol Metab.* 1976;5:543-578.
130. Gollnick PD, Riedy M, Quintinskie JJ, Bertocci LA. Differences in metabolic potential of skeletal muscle fibres and their significance for metabolic control. *J Exp Biol.* 1985;115:191-199.
131. Tesch PA, Karlsson J. Muscle fiber types and size in trained and untrained muscles of elite athletes. *J Appl Physiol.* 1985;59:1716-20.
132. Edström L, Grimby L. Effect of exercise on the motor unit. *Muscle Nerve.* 1986;9:104-126.
133. Yarasheski KE, Lemon PW, Gilloteaux J. Effect of heavy-resistance exercise training on muscle fiber composition in young rats. *J Appl Physiol.* 1990;69:434-437
134. McDonagh MJ, Davies CT. Adaptive response of mammalian skeletal muscle to exercise with high loads. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1984;52:139-155.
135. Larsson L, Ansved T. Effects of long-term physical training and detraining on enzyme histochemical and functional skeletal muscle characteristic in man. *Muscle Nerve.* 1985;8:714-722.
136. Baldwin KM, Fitts RH, Booth FW, Winder WW, Holloszy JO. Depletion of muscle and liver glycogen during exercise. Protective effect of training. *Pflugers Arch.* 1975;354:203-312.
137. Garthwaite SM, Cheng H, Bryan JE, Craig BW, Holloszy JO. Ageing, exercise and food restriction: effects on body composition. *Mech Ageing Dev.* 1986;36:187-196.
138. Gollnick PD, Riedy M, Quintinskie JJ, Bertocci LA. Differences in metabolic potential of skeletal muscle fibres and their significance for metabolic control. *J Exp Biol.* 1985;115:191-199.
139. Sahlin K, Katz A, Henriksson J. Redox state and lactate accumulation in human skeletal muscle during dynamic exercise. *Biochem J.* 1987;245:551-556.
140. Broberg S, Sahlin K. Adenine nucleotide degradation in human skeletal muscle during prolonged exercise. *J Appl Physiol.* 1989;67:116-122.
141. Söderlund K, Hultman E. ATP content in single fibres from human skeletal muscle after electrical stimulation and during recovery. *Acta Physiol Scand.* 1990;139:459-466.
142. Meyer RA. A linear model of muscle respiration explains monoexponential phosphocreatine changes. *Am J Physiol.* 1988;254(4 Pt 1):C548-553.

143. Harris RC, Edwards RH, Hultman E, Nordesjö LO, Nylind B, Sahlin K. The time course of phosphorylcreatine resynthesis during recovery of the quadriceps muscle in man. *Pflugers Arch.* 1976;367:137-142.
144. Hultman E, Sjöholm H. Substrate availability. In: "Biochemistry of Exercise", HG Knuttgen, JA Vogel, J Poortmans (Eds). *Human Kinetics: Champaign*, 1983, pp 63-75.
145. Hultman E, Sjöholm H. Energy metabolism and contraction force of human skeletal muscle in situ during electrical stimulation. *J Physiol.* 1983;345:525-532.
146. Andersen P, Saltin B. Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* 1968;243:1337-1343.
147. Essen B, Jansson E, Henriksson J, Taylor AW, Saltin B. Metabolic characteristics of fiber types in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 1975; 95: 153-165.
148. Meyer RA, Terjung RL. AMP deamination and IMP reamination in working skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1980;239:C32-38.
149. Dudley GA, Terjung RL. Influence of aerobic metabolism on IMP accumulation in fast-twitch muscle. *Am J Physiol.* 1985;248(1 Pt 1):C37-42.
150. Sahlin K, Harris RC, Hultman E. Creatine kinase equilibrium and lactate content compared with muscle pH in tissue samples obtained after isometric exercise. *Biochem J.* 1975;152:173-180.
151. Sahlin K, Katz A. Hypoxaemia increases the accumulation of inosine monophosphate (IMP) in human skeletal muscle during submaximal exercise. *Acta Physiol Scand.* 1989;136:199-203.
152. Bergstrom J, Harris RC, Hultman E, Nordesjo L-O. Energy rich phosphagens in dynamic and static work. In: "Muscle Metabolism during Exercise". B Pernow, B Saltin (Eds). New York: Plenum Press, 1971,pp 341-355.
153. Bergström J, Hultman E. A study of the glycogen metabolism during exercise in man. *Scand J Clin Lab Invest.* 1967;19:218-228.
154. Coyle EF, Coggan AR, Hemmert MK, Ivy JL. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol.* 1986;61:165-172.
155. Pernow B, Saltin B. Availability of substrates and capacity for prolonged heavy exercise in man. *J Appl Physiol.* 1971;31:416-422.
156. Fox EL. "Sports Physiology". Philadelphia: CS College Publishing/Saunders, 1984.
157. Holloszy JO, Booth FW. Biochemical adaptations to endurance exercise in muscle. *Ann Rev Physiol.* 1976;38:273-291.
158. Wibom R, Hultman E. ATP production rate in mitochondria isolated from microsamples of human muscle. *Am J Physiol.* 1990;259(2 Pt 1):E204-209.
159. Paul P. Effects of long lasting physical exercise and training on lipid metabolism. In: "Metabolic Adaptation to Prolonged Exercise", H. Howald, JR Poortmans (Eds). Basel: Birkhäuser, 107, pp 156-193.
160. Baldwin KM, Winder WW, Terjung RL, Holloszy JO. Glycolytic enzymes in different types of skeletal muscle: adaptation to exercise. *Am J Physiol.* 1973;225:962-966.
161. Blomstrand E, Ekblom B, Newsholme EA. Maximum activities of key glycolytic and oxidative enzymes in human muscle from differently trained individuals. *J Physiol.* 1986;381:111-118.
162. Hurley BF, Hagberg JM, Allen WK, Seals DR, Young JC, Cuddihee RW, Holloszy JO. Effect of training on blood lactate levels during submaximal exercise. *J Appl Physiol.* 1984;56:1260-1264.

163. Hermansen L, Hultman E, Saltin B. Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiol Scand.* 1967;71:129-139
164. Sahlin B, Karlsson J. Muscle glycogen utilization during work of different intensities. In: "Muscle Metabolism during Exercise". B Pernow, B Saltin (Eds). New York: Plenum Press, 1971, pp29-299.
165. Holloszy JO, Dalsky GP, Nemeth PM, Hurley BF, Martin WH III, Hagberg JM. Utilization of fat as substrate during exercise: effect of training. In: *Biochemistry of Exercise* vol 6, No 16. B Saltin (Ed), Champaign: Human Kinetics 1986, pp 183-190.
166. Karlsson J, Nordesjö LO, Jorfeldt L, Saltin B. Muscle lactate, ATP, and CP levels during exercise after physical training in man. *J Appl Physiol.* 1972;33:199-203.
167. Eriksson BO, Gollnick PD, Saltin B. Muscle metabolism and enzyme activities after training in boys 11-13 years old. *Acta Physiol Scand.* 1973;87:485-497.
168. Nevill ME, Boobis LH, Brooks S, Williams C. Effect of training on muscle metabolism during treadmill sprinting. *J Appl Physiol.* 1989;67:2376-2382.
169. Thorstensson A, Sjödén B, Karlsson J. Enzyme activities and muscle strength after "sprint training" in man. *Acta Physiol Scand.* 1975;94:313-318.
170. Costill DL, Daniels J, Evans W, Fink W, Krahenbuhl G, Saltin B. Skeletal muscle enzymes and fiber composition in male and female track athletes. *J Appl Physiol.* 1976;40:149-154.
171. Sharp RL, Costill DL, Fink WJ, King DS. Effects of eight weeks of bicycle ergometer sprint training on human muscle buffer capacity. *Int J Sports Med.* 1986;7:13-17.
172. Nilsson LH, Fürst P, Hultman E. Carbohydrate metabolism of the liver in normal man under varying dietary conditions. *Scand J Clin Lab Invest.* 1973;32:331-337.
173. Rothman DL, Magnusson I, Katz LD, Shulman RG, Shulman GI. Quantitation of hepatic glycogenolysis and gluconeogenesis in fasting humans with ¹³C NMR. *Science.* 1991;254:573-576.
174. Nilsson LH, Hultman E. Liver glycogen in man--the effect of total starvation or a carbohydrate-poor diet followed by carbohydrate refeeding. *Scand J Clin Lab Invest.* 1973;32:325-330.
175. Nilsson LH, Hultman E. Liver and muscle glycogen in man after glucose and fructose infusion. *Scand J Clin Lab Invest.* 1974;33:5-10.
176. McLane JA, Holloszy JO. Glycogen synthesis from lactate in the three types of skeletal muscle. *J Biol Chem.* 1979;254:6548-6553.
177. Wilson JR, McCully KK, Mancini DM, Boden B, Chance B. Relationship of muscular fatigue to pH and diprotonated Pi in humans: a ³¹P-NMR study. *J Appl Physiol.* 1988;64:2333-2339.
178. Bergström J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B. Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiol Scand.* 1967;71:140-150.
179. Loy SF, Conlee RK, Winder WW, Nelson AG, Arnall DA, Fisher AG. Effects of 24-hour fast on cycling endurance time at two different intensities. *J Appl Physiol.* 1986;61:654-659.
180. Hultman E, Sjöholm H. Biochemical causes of fatigue. In: "Human Muscle Power", N Jones, N McCartney, AJ Comas (Eds). Champaign: Human Kinetics, 1986, pp 215-238.
181. Ahlborg G, Felig P. Influence of glucose ingestion on fuel-hormone response during prolonged exercise. *J Appl Physiol.* 1976;41(5 Pt. 1):683-688.
182. Hultman E. Studies on muscle e of glycogen and active phosphate in man with special reference to exercise and diet. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 1967;94:1-63.

183. Wahren J, Felig P, Ahlborg G, Jorfeldt L. Glucose metabolism during leg exercise in man. *J Clin Invest.* 1971;50:2715-2725.
184. Newsholme EA. The control of fuel utilization by muscle during exercise and starvation. *Diabetes.* 1979;28 Suppl 1:1-7.
185. Dohm GL, Beeker RT, Israel RG, Tapscott EB. Metabolic responses to exercise after fasting. *J Appl Physiol.* 1986;61:1363-1368.
186. Hultman E, Bergström J. Muscle glycogen synthesis in relation to diet studied in normal subjects. *Acta Med Scand.* 1967;182:109-117.
187. Bergström J, Hultman E. Muscle glycogen synthesis after exercise: an enhancing factor localized to the muscle cells in man. *Nature.* 1966;210:309-310.
188. Chasiotis D, Sahlin K, Hultman E. Regulation of glycogenolysis in human muscle at rest and during exercise. *J Appl Physiol.* 1982;53:708-715.
189. Bonen A, McDermott JC, Hutber CA. Carbohydrate metabolism in skeletal muscle: an update of current concepts. *Int J Sports Med.* 1989;10:385-401.
190. Gleeson M, Maughan RJ, Greenhaff PL. Comparison of the effects of pre-exercise feeding of glucose, glycerol and placebo on endurance and fuel homeostasis in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1986;55:645-653.
191. Kowalchuk JM, Heigenhauser GJ, Lindinger MI, Sutton JR, Jones NL. Factors influencing hydrogen ion concentration in muscle after intense exercise. *J Appl Physiol.* 1988; 65: 2080-2089.
192. Hermansen L, Vaage O. Lactate disappearance and glycogen synthesis in human muscle after maximal exercise. *Am J Physiol.* 1977;233:E422-429.
193. Gaesser GA, Brooks GA. Metabolic bases of excess post-exercise oxygen consumption: a review. *Med Sci Sports Exerc.* 1984;16:29-43.
194. Brooks GA, Brauner KE, Cassens RG. Glycogen synthesis and metabolism of lactic acid after exercise. *Am J Physiol.* 1973;224:1162-1166.
195. Gaesser GA, Brooks GA. Glycogen repletion following continuous and intermittent exercise to exhaustion. *J Appl Physiol.* 1980;49(4):722-728.
196. Peters Futre EM, Noakes TD, Raine RI, Terblanche SE. Muscle glycogen repletion during active postexercise recovery. *Am J Physiol.* 1987;253(3 Pt 1):E305-311.
197. Pagliassotti MJ, Donovan CM. Role of cell type in net lactate removal by skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1990;258(4 Pt 1):E635-642.
198. Gladden LB. Lactate uptake by skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev.* 1989;17:115-155.
199. Stevenson RW, Mitchell DR, Hendrick GK, Rainey R, Cherrington AD, Frizzell RT. Lactate as substrate for glycogen resynthesis after exercise. *J Appl Physiol.* 1987;62:2237-2240.
200. Nordheim K, Vøllestad NK. Glycogen and lactate metabolism during low-intensity exercise in man. *Acta Physiol Scand.* 1990;139:475-484.
201. Astrand PO, Hultman E, Juhlin-Dannfelt A, Reynolds G. Disposal of lactate during and after strenuous exercise in humans. *J Appl Physiol.* 1986;61:338-343.
202. Brooks GA, Gaesser GA. End points of lactate and glucose metabolism after exhausting exercise. *J Appl Physiol.* 1980;49:1057-1069.
203. Sahlin K, Harris RC, Ny Lind B, Hultman E. Lactate content and pH in muscle obtained after dynamic exercise. *Pflugers Arch.* 1976;367:143-149.
204. Yates JW, Gladden LB, Cresanta MK. Effects of prior dynamic leg exercise on static effort of the elbow flexors. *J Appl Physiol.* 1983;55:891-896.

205. Gladden LB, Yates JW, Stremel RW, Stamford BA. Gas exchange and lactate anaerobic thresholds: inter- and intraevaluator agreement. *J Appl Physiol*. 1985;58:2082-2089.
206. Brooks GA. Lactate production under fully aerobic conditions: the lactate shuttle during rest and exercise. *Fed Proc*. 1986;45:2924-2929.
207. Wasserman K, Whipp BJ, Koysl SN, Beaver WL. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol*. 1973;35:236-243.
208. Connett RJ, Gayeski TE, Honig CR. Lactate production in a pure red muscle in absence of anoxia: mechanisms and significance. *Adv Exp Med Biol*. 1983;159:327-335.
209. Connett RJ, Gayeski TE, Honig CR. Lactate efflux is unrelated to intracellular PO₂ in a working red muscle in situ. *J Appl Physiol*. 1986;61:402-408.
210. Richter EA, Kiens B, Saltin B, Christensen NJ, Savard G. Skeletal muscle glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass. *Am J Physiol*. 1988;254(5 Pt 1):E555-561.
211. Baldwin KM, Campbell PJ, Cooke DA. Glycogen, lactate, and alanine changes in muscle fiber types during graded exercise. *J Appl Physiol*. 1977;43:288-291.
212. Welch HG, Stainsby WN. Oxygen debt in contracting dog skeletal muscle in situ. *Respir Physiol*. 1967;3:229-242.
213. Stanley WC, Wisneski JA, Gertz EW, Neese RA, Brooks GA. Glucose and lactate interrelations during moderate-intensity exercise in humans. *Metabolism*. 1988;37:850-858.
214. Gertz EW, Wisneski JA, Neese R, Bristow JD, Searle GL, Hanlon JT. Myocardial lactate metabolism: evidence of lactate release during net chemical extraction in man. *Circulation*. 1981;63:1273-1279.
215. Gertz EW, Wisneski JA, Stanley WC, Neese RA. Myocardial substrate utilization during exercise in humans. Dual carbon-labeled carbohydrate isotope experiments. *J Clin Invest*. 1988;82:2017-2025.
216. Gordon RS Jr, Cherkes A. Unesterified fatty acid in human blood plasma. *J Clin Invest*. 1956;35:206-212.
217. Dole VP. A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose. *J Clin Invest*. 1956;35:150-154.
218. Hagenfeldt L. Metabolism of free fatty acids and ketone bodies during exercise in normal and diabetic man. *Diabetes*. 1979;28 Suppl 1:66-70.
219. Rennie MJ, Park DM, Sulaiman WR. Uptake and release of hormones and metabolites by tissues of exercising leg in man. *Am J Physiol*. 1976;231:967-973.
220. Sahlin K. Muscle fiber recruitment and metabolism in prolonged dynamic exercise. *Ciba Found Symp* 1982; 82 :41-58.
221. Costill DL, Coyle E, Dalsky G, Evans W, Fink W, Hoopes D. Effects of elevated plasma FFA and insulin on muscle glycogen usage during exercise. *J Appl Physiol*. 1977;43:695-699.
222. Rennie MJ, Winder WW, Holloszy JO. A sparing effect of increased plasma fatty acids on muscle and liver glycogen content in the exercising rat. *Biochem J*. 1976;15;156:647-655.
223. Galbo H, Holst JJ, Christensen NJ. The effect of different diets and of insulin on the hormonal response to prolonged exercise. *Acta Physiol Scand*. 1979;107:19-32.
224. Ahlborg G, Felig P, Hagenfeldt L, Hendler R, Wahren J. Substrate turnover during prolonged exercise in man. Splanchnic and leg metabolism of glucose, free fatty acids, and amino acids. *J Clin Invest*. 1974;53:1080-90.

225. Bülow J. Subcutaneous adipose tissue blood flow and triacylglycerol-mobilization during prolonged exercise in dogs. *Pflugers Arch.* 1982 ;392:230-234.
226. Shaw WA, Issekutz TB, Issekutz B Jr. Interrelationship of FFA and glycerol turnovers in resting and exercising dogs. *J Appl Physiol.* 1975;3:30-36.
227. Kather H, Simon B. Catecholamine-sensitive adenylate cyclase of human fat cell ghosts: a comparative study using different beta-adrenergic agents. *Metabolism.* 1977;26:1179-1184.
228. Kather H, Pries J, Schrader V, Simon B. Inhibition of human fat cell adenylate cyclase mediated via alpha-adrenoceptors. *Eur J Clin Invest.* 1980;10:345-348.
229. Bülow J, Madsen J. Influence of blood flow on fatty acid mobilization from lipolytically active adipose tissue. *Pflugers Arch.* 1981;390:169-174.
230. Bülow J, Tøndevold E. Blood flow in different adipose tissue depots during prolonged exercise in dogs. *Pflugers Arch.* 1982;392:235-238.
231. Larsen T, Myhre K, Vik-Mo H, Mjøs OD. Adipose tissue perfusion and fatty acid release in exercising rats. *Acta Physiol Scand.* 1981;113:111-116.
232. Bülow J, Madsen J. Adipose tissue blood flow during prolonged, heavy exercise. *Pflugers Arch.* 1976;363:231-234.
233. Wolfe RR, Klein S, Carraro F, Weber JM. Role of triglyceride-fatty acid cycle in controlling fat metabolism in humans during and after exercise. *Am J Physiol.* 1990;258(2 Pt 1):E382-389.
234. Winder WW, Hickson RC, Hagberg JM, Ehsani AA, McLane JA. Training-induced changes in hormonal and metabolic responses to submaximal exercise. *J Appl Physiol.* 1979;46:766-771.
235. Björntorp P, De Jonge K, Sjöström L, Sullivan L. The effect of physical training on insulin production in obesity. *Metabolism.* 1970;19:631-638.
236. Gyntelberg F, Rennie MJ, Hickson RC, Holloszy JO. Effect of training on the response of plasma glucagon to exercise. *J Appl Physiol.* 1977;43:302-305.
237. Bukowiecki L, Lupien J, Follea N, Paradis A, Richard D, LeBlanc J. Mechanism of enhanced lipolysis in adipose tissue of exercise-trained rats. *Am J Physiol.* 1980;239:E422-429.
238. Després JP, Bouchard C, Savard R, Tremblay A, Marcotte M, Thériault G. The effect of a 20-week endurance training program on adipose-tissue morphology and lipolysis in men and women. *Metabolism.* 1984;33:235-239.
239. Williams RS, Bishop T. Enhanced receptor-cyclase coupling and augmented catecholamine-stimulated lipolysis in exercising rats. *Am J Physiol.* 1982;243:E345-351.
240. Krotkiewski M, Mandroukas K, Morgan L, William-Olsson T, Feurle GE, von Schenck H, Björntorp P, Sjöström L, Smith U. Effects of physical training on adrenergic sensitivity in obesity. *J Appl Physiol.* 1983;55:1811-1817.
241. Martin WH III, Coyle EF, Joyner M, Santeusano D, Ehsani AA, Holloszy JO. Effects of stopping exercise training on epinephrine-induced lipolysis in humans. *J Appl Physiol.* 1984;56:845-848.
242. Borensztajn J, Robinson DS. The effect of fasting on the utilization of chylomicron triglyceride fatty acids in relation to clearing factor lipase (lipoprotein lipase) releasable by heparin in the perfused rat heart. *J Lipid Res.* 1970;11:111-117.
243. Oscai LB. Role of lipoprotein lipase in regulating endogenous triacylglycerols in rat heart. *Biochem Biophys Res Commun.* 1979;91:227-232.

244. Thompson PD, Cullinane E, Henderson LO, Herbert PN. Acute effects of prolonged exercise on serum lipids. *Metabolism*. 1980;29:662-665.
245. Taskinen MR, Nikkilä EA. Effect of acute vigorous exercise on lipoprotein lipase activity of adipose tissue and skeletal muscle in physically active men. *Artery*. 1980;6:471-483.
246. Marniemi J, Peltonen P, Vuori I, Hietanen E. Lipoprotein lipase of human postheparin plasma and adipose tissue in relation to physical training. *Acta Physiol Scand*. 1980;110:131-135.
247. Potter BJ, Sorrentino D, Berk PD. Mechanisms of cellular uptake of free fatty acids. *Annu Rev Nutr*. 1989;9:253-270.
248. Essén B. Intramuscular substrate utilization during prolonged exercise. *Ann N Y Acad Sci*. 1977;301:30-44.
249. Spriet LL, Heigenhauser GJ, Jones NL. Endogenous triacylglycerol utilization by rat skeletal muscle during tetanic stimulation. *J Appl Physiol*. 1986;60:410-415.
250. Górski J, Kiryluk T. The post-exercise recovery of triglycerides in rat tissues. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1980;45:33-41.
251. Staron RS, Hikida RS, Murray TF, Hagerman FC, Hagerman MT. Lipid depletion and repletion in skeletal muscle following a marathon. *J Neurol Sci*. 1989;94:29-40.
252. Askew EW, Dohm GL, Huston RL. Fatty acid and ketone body metabolism in the rat: response to diet and exercise. *J Nutr*. 1975;105:1422-1432.
253. Winder WW, Baldwin KM, Holloszy JO. Exercise-induced increase in the capacity of rat skeletal muscle to oxidize ketones. *Can J Physiol Pharmacol*. 1975;53:86-91.
254. Décombaz J, Reinhardt P, Anantharaman K, von Glutz G, Poortmans JR. Biochemical changes in a 100 km run: free amino acids, urea, and creatinine. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1979;41:61-72.
255. Haralambie G, Berg A. Serum urea and amino nitrogen changes with exercise duration. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1976;36:39-48.
256. Rennie MJ, Edwards RH, Krywawych S, Davies CT, Halliday D, Waterlow JC, Millward DJ. Effect of exercise on protein turnover in man. *Clin Sci*. 1981;61:627-639.
257. Goldberg AL, Jablecki C, Li JB. Trophic functions of the neuron. 3. Mechanisms of neurotrophic interactions. Effects of use and disuse on amino acid transport and protein turnover in muscle. *Ann N Y Acad Sci*. 1974;228:190-201.
258. Dohm GL, Kasperek GJ, Tapscott EB, Beecher GR. Effect of exercise on synthesis and degradation of muscle protein. *Biochem J*. 1980;18:255-262.
259. Wenger HA, Wilkinson JG, Dallaire J, Nihei T. Uptake of 3H-leucine into different fractions of rat skeletal muscle following acute endurance and sprint exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1981;47:83-92.
260. Babij P, Matthews SM, Rennie MJ. Changes in blood ammonia, lactate and amino acids in relation to workload during bicycle ergometer exercise in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1983;50:405-411.
261. Katz A, Broberg S, Sahlin K, Wahren J. Muscle ammonia and amino acid metabolism during dynamic exercise in man. *Clin Physiol*. 1986;6:365-379.
262. Refsum HE, Strömme SB. Urea and creatinine production and excretion in urine during and after prolonged heavy exercise. *Scand J Clin Lab Invest*. 1974;33:247-254.
263. Felig P, Wahren J. Amino acid metabolism in exercising man. *J Clin Invest*. 1971;50:2703-2714.

264. Felig P, Pozefski T, Marliss E, Cahill, GFJ. Alanine, key role in gluconeogenesis. *Science* 1970, 167: 1003-1004.
265. Goldstein L, Newsholme EA. The formation of alanine from amino acids in diaphragm muscle of the rat. *Biochem J.* 1976;154:555-558.
266. Wahren J, Felig P, Hendler R, Ahlborg G. Glucose and amino acid metabolism during recovery after exercise. *J Appl Physiol.* 1973 Jun;34(6):838-845.
267. Eriksson LS, Broberg S, Björkman O, Wahren J. Ammonia metabolism during exercise in man. *Clin Physiol.* 1985;5:325-336.
268. Bergström J, Fürst P, Hultman E. Free amino acids in muscle tissue and plasma during exercise in man. *Clin Physiol.* 1985;5:155-160.
269. Blomstrand E, Celsing F, Newsholme EA. Changes in plasma concentrations of aromatic and branched-chain amino acids during sustained exercise in man and their possible role in fatigue. *Acta Physiol Scand.* 1988;133:115-121.
270. Lowenstein JM, Goodman MN. The purine nucleotide cycle in skeletal muscle. *Fed Proc.* 1978;37:2308-2312.
271. Wilkerson JE, Batterton DL, Horvath SM. Exercise-induced changes in blood ammonia levels in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1977;37:255-263.
272. Meyer RA, Dudley GA, Terjung RL. Ammonia and IMP in different skeletal muscle fibers after exercise in rats. *J Appl Physiol.* 1980;49:1037-1041.
273. Dolny DG, Lemon PW. Effect of ambient temperature on protein breakdown during prolonged exercise. *J Appl Physiol.* 1988;64:550-555.
274. Lemon PW, Mullin JP. Effect of initial muscle glycogen levels on protein catabolism during exercise. *J Appl Physiol.* 1980;48:624-629.