

Correlazioni fra attività enzimatica mitocondriale, composizione muscolare in fibre, comportamento eritrocitario e piastrinico e livelli di metaboliti plasmatici nel maratoneta

Gian Giacomo Corbucci, Giuseppe Montanari, Aldo Bettelli, Teseo Lazzarini

Parole chiave: Maratoneta, Metaboliti ematici, Fibre muscolari, Enzimi e substrati mitocondriali.

G. G. Corbucci

Responsabile Ricerca Centro Biomedico F.I.D.A.L. di Gubbio

G. Montanari

Direttore Centro Biomedico F.I.D.A.L. di Gubbio

A. Bettelli

Centro Biomedico F.I.D.A.L. di Gubbio

T. Lazzarini

Centro Biomedico F.I.D.A.L. di Gubbio

Premesse

Le modificazioni che l'allenamento produce a livello muscolare vengono studiate ormai da numerosi anni in maniera diretta.

La tecnica del prelievo agobiopsico di frammenti muscolari nell'atleta, sviluppata nei paesi scandinavi (Bergström '62-'75; Hermansen '75; Hultman '67; Björntrop '70; Edström '70; Karlsson '71; Saltin '71) fra gli anni '60 e '70 e rapidamente diffusasi ai paesi anglosassoni (Eldridge '67; Holloszy '70; Edwards '71-'77; Gollnick '72-'74; Costill '76, ecc.), e dell'est europeo (Bass '75) continua tuttora a essere il metodo di scelta per l'indagine muscolare poiché, come conclude anche Armstrong ('82), rappresenta il solo metodo capace di fornire indicazioni dirette su: morfologia, fisiologia, biochimica e biomeccanica del muscolo.

L'agobiopsia costituisce pertanto, a tutt'oggi, il metodo di scelta per una valida conoscenza del rapporto esistente tra allenamento → modificazioni metaboliche muscolari → prestazioni atletiche.

Questa attualità è confermata da una copiosa letteratura internazionale (Henriksson '76; Komi '77-'82; Thorstensson '77; Saltin '77; Edwards '78-'80; Bolstad

'78; Häggmark '79; Ingjer '79; Spryna-rova '80; Costill '82; Eller '82; Gollnick '82; Jacobs '82; Lortie '82; Mackova '82; Reddanna '82; Seene '82) degli ultimi anni e di quello in corso.

Condividendo l'orientamento enunciato, il nostro Centro si interessa di agobiopsia muscolare e, primo in Italia, la pratica ormai da due anni negli atleti.

Gli studi tessutali hanno ampiamente dimostrato come le possibilità dell'atleta di produrre risultati validi dipendano, in gran parte, dalla sua capacità di assumere, trasportare e cedere ossigeno ai muscoli in attività (Holloszy '70; Var-nauskas et al. '70).

Vari tests fisiologici, fra i quali il più usato è la determinazione della VO_{2max} , vengono comunemente usati come criterio di valutazione della capacità atletica in rapporto alla assunzione e al consumo di O_2 (Saltin e Astrand '67; Saltin '71-'73). L'associazione delle due metodiche (agobiopsia e determinazione della VO_{2max}) ha portato alla individuazione di alcune caratteristiche fondamentali del corridore di fondo, quali: ottima capacità aerobica (Costill '76b), prevalenza di STF ed alta attività ossidativa enzimatica a livello di muscoli scheletrici (Costill '76b). Nel muscolo di ratto è stato inoltre individuato un aumento del citocromo C, correlato a variazione delle pO_2 tessutali, in diretto rapporto con l'intensità di allenamento (Benzi '75). Varie osservazioni sono state inoltre attuate nell'uomo sull'adattamento eritocitario e piastrinico allo sforzo muscolare e sui sistemi ematici di trasporto dell' O_2 (Rowell '64, Faulkner '70); purtroppo l'insufficienza e la contraddittorietà dei risultati non permettono di trarre conclusioni valide dalle stesse.

Scopo della ricerca

Sulla scorta di queste premesse abbiamo istituito la presente ricerca con la finalità di verificare:

— l'influenza dello sforzo atletico di lunga durata sui sistemi enzimatici di trasporto dell' O_2 ;

— le alterazioni, eventuali, dei sistemi emocoagulativi piastrinici riscontrabili durante l'esercizio fisico di durata;

— la correlazione fra la composizione

muscolare in fibre e l'attività ossidativa mitocondriale, nei maratoneti in osservazione;

— il comportamento dei substrati del ciclo di Krebs, come funzione delle attività enzimatiche prima e dopo lo sforzo;

— le differenze qualitative e quantitative della capacità ossidativa mitocondriale, eventualmente esistenti fra maratoneti di alto livello e soggetti normali non allenati.

L'insieme di queste finalità di ricerca è teso a definire la capacità dei sistemi di trasporto e il metabolismo cellulare dell' O_2 , da parte dell'atleta di durata.

Soggetti e metodi

Sono stati esaminati 9 maratoneti della squadra nazionale italiana, aventi età media di 28,4 anni, altezza media di 173 cm, peso medio di 59,2 kg. La scelta degli atleti è stata compiuta sulla base delle prestazioni personali nelle gare di maratona (tempi compresi fra 2h12'11" e 2h20'14"), della regolarità di allenamento e delle buone condizioni generali del momento.

Dopo un periodo di acclimatazione alle condizioni ambientali, gli atleti sono stati sottoposti a sforzo, consistente in una corsa di km 30,2 a m 480 sul livello del mare.

Tutti i partecipanti allo studio hanno rilasciato consenso scritto per la esecuzione delle tecniche di ricerca.

Metodi - Due giorni prima della corsa è stato registrato il peso degli atleti; sono stati raccolti i campioni basali di sangue ed urine e quelli muscolari (mg 60); questi ultimi sono stati prelevati con agobiopsia praticata sul vasto laterale, con ago UHC, secondo la tecnica di Edwards (Edwards, '80).

La corsa su strada (km 30,2), sostenuta ad una velocità compresa fra 18 e 19,2 km/h, ha avuto termine all'ingresso del nostro laboratorio in modo che, entro 2-5 minuti dal termine dello sforzo, è stato possibile raccogliere i campioni ematici e biotici e, subito dopo, quello urinario. Dal campione muscolare sono stati subito asportati: un frammento per la istochimica quantita-

tiva (Round '82) e uno per la microscopia elettronica. Il restante tessuto (40 mg circa) è stato usato per testare la capacità ossidativa mitocondriale su diversi substrati, con il metodo spettrofotometrico di Gohil (Gohil '81a), valido per la misurazione dei livelli di ossidazione e riduzione del citocromo C aggiunto. Sempre a livello muscolare, in estratti neutralizzati con acido perclorico, sono stati dosati inoltre: lattato, piruvato e 2-idrossibutirrato. Gli acidi organici plasmatici sono stati dosati con GLC (Chalmers Watts '72).

I campioni ematici sono stati frazionati per le determinazioni di:

- Hb, met-Hb e corpi di Heinz, con la metodica di Beutler ('75b);
- livelli di mioglobina, con il metodo di Kagen (Kagen '66);
- parametri quantitativi e qualitativi inerenti agli eritrociti, con Coulter Counter;
- 2,3difosfoglicerato (DPG), con il metodo di Lowry (Lowry '64);
- contenuto di acido sialico, a livello

di membrana cellulare eritrocitaria, con il metodo di Warren (Warren '60);

— livelli di glutatione, con il metodo di Beutler (Beutler '74a);

— malonil-dialdeide (MDA) plasmatica, con la metodica di Smith (Smith '78), come indicatore del metabolismo degli endoperossidi prostaglandinici a livello di membrana piastrinica.

Di tutte le variabili ottenute, prima e dopo la corsa, abbiamo determinato la media e l'errore standard (SEM); è stato inoltre calcolato il t-test sul confronto fra valori assoluti delle variabili, prima e dopo lo sforzo. Le variazioni dei parametri sono state confrontate usando una matrice di correlazione standard e considerando significative solo quelle con $p < 0.05$.

Nella stesura, i dati sono riportati depurati dall'errore medio standard.

Risultati

I risultati delle presenti ricerche sono riportati nelle Tabelle 1-7 e nelle Figure 1-3.

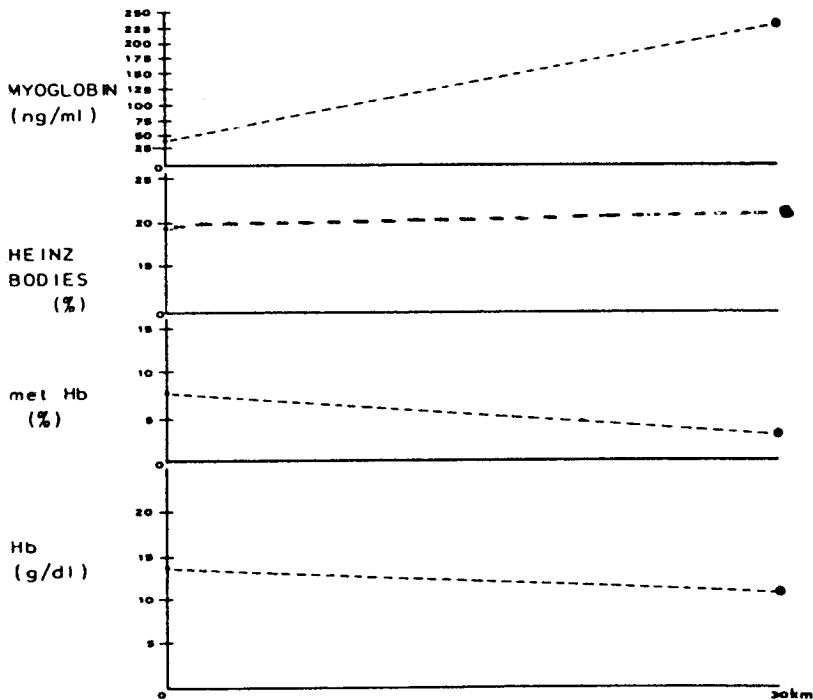


Tabella 1 - Comportamento di: Emoglobina, Metaemoglobina, Mioglobina e Corpi di Heinz prima e dopo lo sforzo.

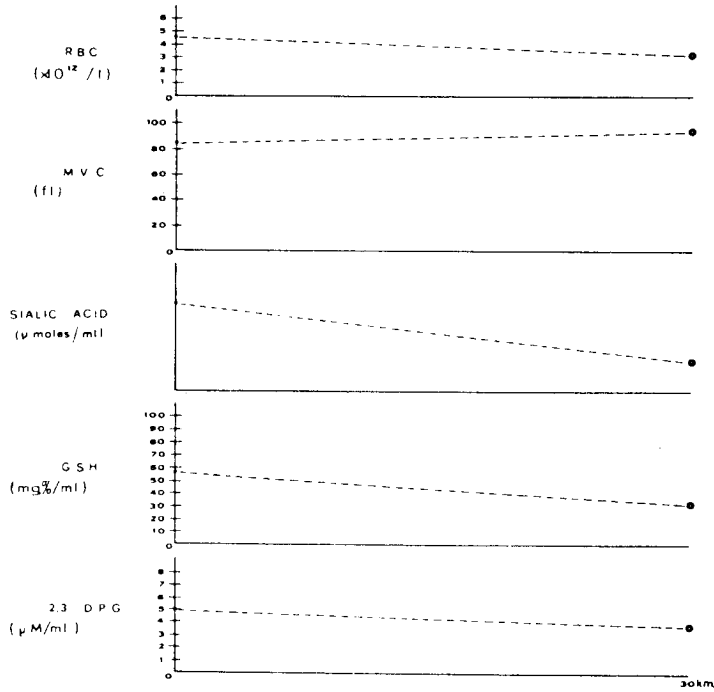


Tabella 2 - Influenza della corsa di lunga distanza sui parametri eritrocitari.

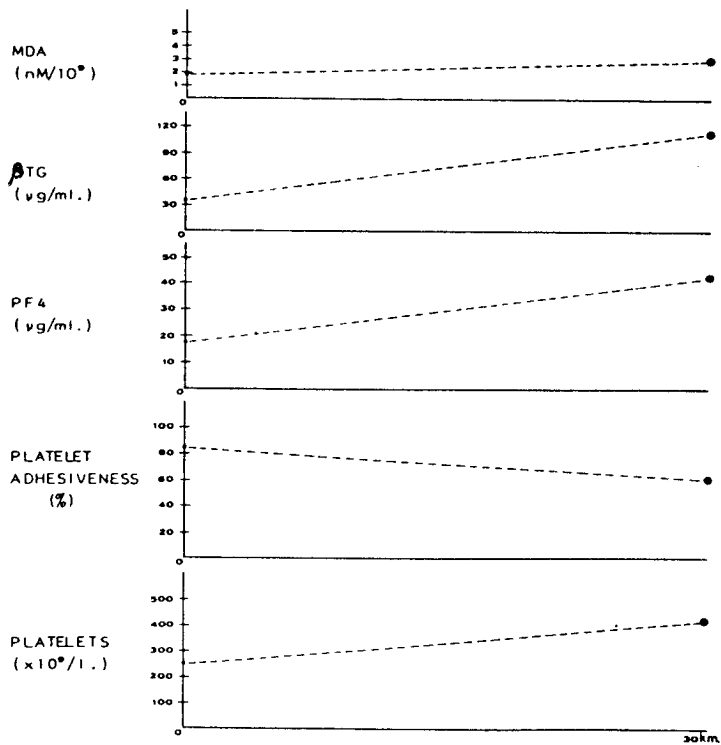


Tabella 3 - Attivazione piastrinica durante lo sforzo muscolare di durata.

SUBJECT	% TYPE I 1.st BIOPSY	FIBRES 2.nd B.	*PYRUNATE+MALATE CYT.C REDUCTASE	*SUCCINATE CYT.C REDUCTASE	*CYT.C OXIDASE
1	75	76	0.7	1.5	11.8
2	74	77	4.5	1.8	36.3
3	100	98	3.1	3.8	24.1
4	88	85	3.0	2.4	20.4
5	91	90	1.6	2.0	14.7
6	68	64	1.20	1.6	20.3
7	81	78	2.9	1.1	19.2
8	94	96	1.4	1.3	20.0
9	78	81	2.1	2.9	20.6
UNTRAINED NORMAL SUBJECTS	35	-	0.18	-	6.21
	46	-	0.46	-	7.0
	33	-	0.21	-	6.5
	34	-	0.38	-	7.1

Tabella 4 - Composizione muscolare in fibre e attività di ossidazione dei substrati mitocondriali nel normale e nel maratoneta.

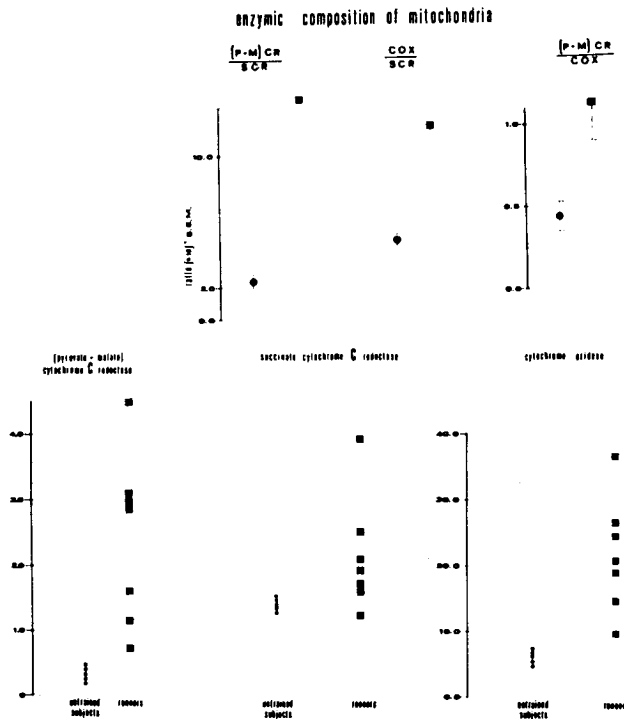


Tabella 5 - Assetto enzimatico mitocondriale in maratoneti e in soggetti normali non allenati.

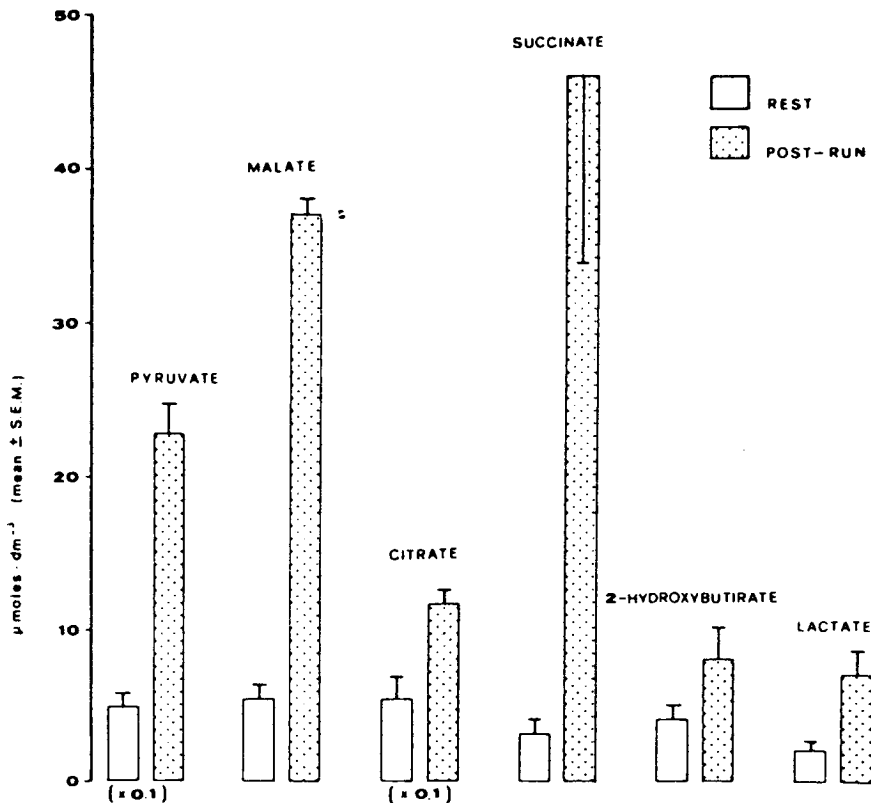


Tabella 6 - Metaboliti muscolari nei maratoneti prima e dopo sforzo.

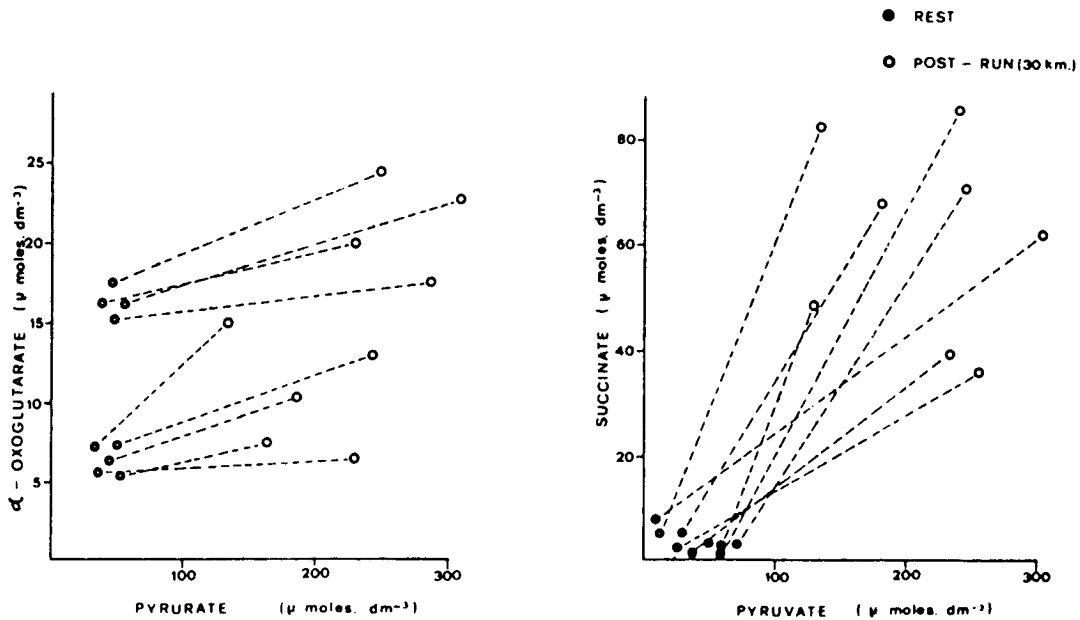


Tabella 7 - Correlazioni fra piruvato e intermedi del ciclo di Krebs nel muscolo di maratoneta.

Discussione

I risultati ottenuti offrono diverse possibilità di risposta ai quesiti proposti in premessa e alcuni spunti atti a chiarire aspetti piuttosto oscuri del quadro premessa ed alcuni spunti atti a chiarire protratto. L'adattamento all'allenamento implica, come è noto, degli adattamenti non soltanto d'organo o apparato, ma soprattutto cellulari e metabolici, come è ampiamente testimoniato dalla letteratura internazionale (Beutler '75, Costill '76b, Bergström '77).

Scopo del nostro lavoro è, come dichiarato, la verifica di quegli adattamenti che più da vicino interessano il trasporto e il metabolismo dell'ossigeno, nel suo « viaggio » dal carrier emoglobinico alla cellula muscolare dell'atleta. Orbene, il sistema ossiforico emoglobinico non sembra essere danneggiato e nemmeno alterato dallo sforzo atletico di durata; infatti, le variazioni dei livelli di met-Hb e corpi di Heinz (Tab. 1) non depongono per la formazione di emoglobine instabili o per la presenza di ossigeno attivato. L'osservazione che i corpi di Heinz tendono ad aumentare dopo lo sforzo, può essere correlata al fatto che questi precipitati rappresentano varie combinazioni di globina denaturata e proteine di membrana eritrocitaria. A carico di quest'ultima struttura appunto si nota una significativa diminuzione di acido sialico, dopo sforzo; diminuzione che depone per un processo di destabilizzazione elettroionica della « surface » eritrocitaria, come testimonia la perdita delle sue cariche negative. Se la membrana del GR dell'atleta viene alterata da condizioni chimico-fisiche anormali del mezzo extra-cellulare, non altrettanto sembra avvenire a carico del metabolismo glicidico dell'eritrocita stesso. Infatti, i valori di glutazione (GSH), da noi rilevati (Tab. 2) prima e dopo sforzo, confermano, se pure indirettamente, un adattamento metabolico tale da mantenere in termini fisiologici la capacità ossido/riduttiva dell'eritrocita, capacità sufficiente a non permettere un innesco glicolitico francamente anaerobico.

Giova anche ricordare che il rapporto GSH/GSSG, mantenuto nei limiti della norma, svolge un'importante azione protettiva a carico dei ponti di solfuro e quindi preserva la stabile configurazione della struttura polipeptidica di membrana.

Ciò suggerisce che la caduta delle cariche negative (acido sialico) di superficie non giochi un ruolo di grande rilevanza nell'atleta.

Oggetto del nostro studio è stata anche l'attivazione emocoagulativa piastrinica, eventualmente legata allo sforzo muscolare protratto; questo settore non è correlato strettamente ai sistemi di trasporto e di metabolizzazione dell'ossigeno ma, indirettamente, anche la membrana piastrinica può essere influenzata da una condizione di ipossia relativa. I valori di betaTG, PF₄ e adesività piastrinica (Tab. 3) mostrano, dopo sforzo, un andamento del tutto fisiologico, se valutati nel contesto di un metabolismo fortemente accelerato. Egualmente si comportano i livelli di malonildialdeide (MDA), assunta quale parametro indiretto del « turnover » fosfolipidico di membrana. L'andamento della MDA rilevato (Tab. 3) conferma che lo sforzo muscolare protratto non attiva, se non in maniera limitata, i meccanismi lipoperossidativi a radicali liberi dell'ossigeno. Quest'ultimo dato si correla al biochimismo dell'emoglobina e del glutatione eritrocitario.

Un incremento molto significativo, dopo sforzo, si nota invece a carico dei livelli mioglobinici, anche se questi non raggiungono valori patologici ma dimostrano piuttosto la fondamentale funzione di fornitrice di ossigeno svolta dalla mioglobina.

L'insieme dei parametri esposti, riguardanti elementi cellulari circolanti, conferma che il sistema ossiforico non può essere considerato quale fattore limitante la prestazione atletica, almeno nel maratoneta; l'allenamento infatti esalta, in questo atleta, tutta una serie di adattamenti metabolici di compenso.

Pertanto, la nostra ricerca ha puntato al chiarimento dei sistemi di utilizzazione e metabolismo cellulare dell'O₂, par-

tendo dal presupposto che le caratteristiche peculiari del corridore di fondo possano essere individuate a questo livello, e che tali caratteristiche vadano studiate, corrette e adattate al soggetto, mediante un allenamento specifico e mirato.

E' ben nota la relazione tra attività enzimatica e disponibilità di substrati nel maratoneta (Morgan '71, Costil '76b) e anche come l'utilizzazione di substrati specifici sia legata alla specialità atletica del soggetto (Varnauskas '70, Sorbini '81). Sulla base di queste conoscenze e di personali convincimenti, abbiamo studiato la morfologia mitocondriale del maratoneta, comparandola con quella di soggetti normali non allenati, valutando parallelamente i rispettivi corredi enzimatici.

La risposta ottenuta con la microscopia elettronica a trasmissione è visualizzata nella Figura 3. Lo studio dell'attività enzimatica mitocondriale e del metabolismo dei substrati del ciclo di Krebs, correlato all'analisi della funzionalità della catena respiratoria (ETC), dimostra come nel maratoneta sia esaltata la capacità ossido/riduttiva rispetto al soggetto normale (Tab. 5).

Ciò che più sorprende, però, è la discrepanza fra capacità ossido/riduttiva (Tab. 4 e 5) e tipo di fibre muscolari nel maratoneta (Fig. 1 e Tab. 4), notevolmente differenziata dallo stretto rapporto trovato da altri A.A. (Costill '76b, Gollnick '82). E' da notare, inoltre, come la esaltata capacità di utilizzazione dei substrati sia legata a modificazioni qualitative di alcuni (Tab. 5 e 7) componenti della via ossidativa e, precisamente, di quelli più strettamente connessi alla ETC. Lo stimolo prodotto dall'allenamento sembra, quindi, indurre un aumento specifico della capacità ossidativa del piruvato e del citocromo C, in contrasto con quella del succinato; ciò suggerisce che gli enzimi chiave, regolatori della via ossidativa, possono trovarsi sia all'inizio sia alla fine della via ossidativa stessa. Abbiamo osservato come la capacità di ossidare il piruvato e il citocromo C sia da 3 a 6 volte più alta nell'atleta che nel normale, mentre la proporzione di fibre muscolari di I tipo è soltanto

doppia, sempre rispetto al normale. L'analisi della capacità ossidativa dei singoli componenti il ciclo di Krebs e la ETC, quando espressa come « ratio », rafforza il precedente riscontro, di una prevalenza ossidoriduttiva del piruvato, (Tab. 5, in alto a sn.) e quindi la specificità dell'adattamento metabolico in rapporto alla qualità dell'allenamento del corridore di durata.

Allo studio della funzionalità mitocondriale del maratoneta si collega l'analisi del comportamento dei metaboliti plasmatici e tissutali, prodotti durante lo sforzo muscolare (Tab. 6). Ci sembra interessante indicare l'aumento (2 volte circa) dell'idossibutirrato (Tab. 6); tale dato sottolinea, infatti, l'importanza del metabolismo epatico dei trigliceridi, durante lo sforzo muscolare prolungato (Karlsson '74).

La elevata capacità ossido-riduttiva del maratoneta è confermata anche dal modesto incremento del lattato plasmatico dopo sforzo. Molto alta appare, invece, sempre a livello plasmatico, la concentrazione del piruvato (oltre 6 volte rispetto ai valori basali) unitamente a quelle di malato e citrato. La interpretazione corretta di questi dati non è semplice; noi riteniamo che il comportamento del piruvato plasmatico, analizzato parallelamente alla già descritta elevazione della capacità ossido/riduttiva a livello del ciclo di Krebs suggerisca, nel maratoneta, delle modificazioni di talune vie metaboliche che apportano substrati specifici ai mitocondri e un parallelo potenziamento di corredi enzimatici ossidativi del ciclo dell'acido citrico.

Conclusioni

I dati ottenuti durante la ricerca e la loro analisi interpretativa conducono, secondo le nostre vedute, a una ulteriore puntualizzazione della strettissima relazione intercorrente fra qualità dell'allenamento e specializzazione metabolica dell'atleta.

Pertanto, pur riconoscendo utilità ai tests indiretti di valutazione della forma atletica, riteniamo che il modo più

valido di studiare con esattezza le possibilità applicative e i limiti del training atletico sia quello diretto, portato cioè

sull'analisi delle modificazioni indotte dall'allenamento direttamente nel metabolismo muscolare dello sportivo.

Indirizzo degli Autori:

Centro Biomedico F.I.D.A.L.
di Gubbio
Via Sperelli, 6
0624 Gubbio (Perugia)

BIBLIOGRAFIA

Armstrong R.B., Laughlin M.H., Schwane J.A. and Taylor C.R.: Differential inter and intra-responses to exercise: considerations in use of the biopsy technique, 1982. 5th International Symposium on the Biochemistry of Exercise - Boston, June 1-5, Abstract.

Bass A., Vondra K., Rath R., Vitek V.: M. quadriceps femoris of man, a muscle with an unusual enzyme activity pattern of energy supplying metabolism in mammals. *Pflügers Arch.*, 354, 249, 1975.

Benzi G., Panceri P., De Bernardi M., Villa R., Arcelli E., D'Angelo L., Arrigoni E., Benté F.: Mitochondrial enzymatic adaptation of skeletal muscle to endurance training. *Journal of Appl. Physiol.* 4, 565-569, 1975.

Bergström J.: Muscle electrolytes in man determined by neutron activation analysis on needle biopsy specimens: a study in normal subjects, kidney patients and patients with chronic diarrhoea. *Scand. J. Clin. Lab. Invest., Suppl.* 68, 1.

Bergström J., Hermansen L., Hultman E., Saltin B.: Diet, muscle glycogen and physical performance; *Acta physiol. Scand.* 71, 172-179, 1967.

Bergström J.: Percutaneous needle biopsy of skeletal muscle in physiological and chemical research, 1975.

Beutler E.: GPI deficiency; *GPI Elyria. Ann. inter. Med.*, 80, 730, 1974a.

Beutler E. (ed.): *Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods.* 2nd edn., New York, Grune and Stratton, p. 112, 1975.

Björntrop P., Fahlén M., Holm J., Scherstén T., Szostak V.: Determination of succinic oxydase activity in human skeletal muscle. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 26, 145, 1970.

Bolstad G., Erslund A.: Energy metabolism in different human skeletal muscles during voluntary isometric contractions. *Eur. J. App. Physiol.*, 38, 171, 1978.

Bylung-Fellenius A.C., Walker P.M., Elander A., Holm S., Holm J., Schersten T.: Energy metabolism in relation to oxygen partial pressure

in human skeletal muscle during exercise. *Biochem. J.*, 200, 247-255, 1981.

Chalmers R.A., Watts R.W.E.: Quantitative extraction and gas liquid chromatographic determination of organic acids. *Analyst*, 97, 958-967, 1972.

Charache S. (ed.): *Pathophysiology of Hemolysis due to unstable hemoglobins*, in W.S. Caughey (eds.): *Biochemical and Clinical Aspects of Oxygen*, New York, Academic Press, 19-28, 1979.

Corbucci G.G., Montanari G., Cozzi M.: Proposta di valutazione del rendimento atletico basato sulla risposta piastrinica allo sforzo protatto. *Giornale Italiano di Medicina dello Sport*, 35, 5, 303, 1982.

Costill D.L., Craig B., Fink W.J., Katz A.: Muscle and liver glycogen resynthesis following oral glucose and fructose feedings in rats, 1982. 5th International Symposium on the Biochemistry of Exercise, Boston, June 1-5, Abstract.

Costill D.L., Fink W.L., Pollock M.L.: Muscle fiber composition and enzyme activity of elite distance runners. *Med. Sci. Sport* 8, 96-100, 1976b.

Edström L.: Selective atrophy of red muscle fibers in the quadriceps in long-standing knee-joint dysfunction, injuries to the anterior cruciate ligament. *J. Neurol. Sci.*, 11, 551, 1970.

Edwards R.H.T.: Percutaneous needle-biopsy of skeletal muscle in diagnosis and research. *Lancet*, 2, 593, 1971.

Edwards R.H.T., Maunder C.A.: Muscle biopsy. *Hosp. Update*, 3, 569, 1977.

Edwards R.H.T., Hill D.R., Jones D.A.: Heat production and chemical changes during isometric contractions of the human quadriceps muscle. *J. Physiol. (Londn)*, 251, 303, 1978.

Edwards R.H.T., Renne N., Jones D.: Needle-biopsy of skeletal muscle in the diagnosis of myopathy and the clinical study of muscle function and repair. *New Eng. J. Med.*, 302, 261-271, 1980.

Eldridge R., Wilson E.F.: Needle-biopsy for muscle histology. *Clin. Res.*, 15, 268 (abstract), 1967.

- Eller A., Virn A.: Free amino acids contenting skeletal muscle during prolonged exercise. 5th International Symposium on the Biochemistry of exercise, Boston, June 1-5, Abstract, 1982.
- Faulkner J.A., Brewer G.J., Eaton J.W.: Adaptation of red blood cell to muscular exercise, in Faulkner J.A. (eds.): Red Cell Metabolism and Function, Plenum Press New York, 213-227, 1970.
- Gohil K., Jones D., Edwards R.H.T.: Analysis of muscle mitochondrial functions with techniques applicable to needle-biopsy samples. Clin. Physiol., 1(2), 195-207, 1981a.
- Gollnick P.D., Armstrong R.B., Saubert C.W. IV, Piehl K., Saltin B.: Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained and trained men. J. Appl. Physiol., 33, 312, 1972.
- Gollnick P.D., Piehl K., Saltin B.: Selective glyco-gen deflection pattern in human muscle fibers after exercise of varying intensity and at varying pedalling rates. J. Physiol. (Lond.), 241, 45, 1974.
- Gollnick P.D., Saltin B.: Significance of skeletal muscle oxidative enzyme enhancement with endurance training. Clin. Physiol., 2, 1-12, 1982.
- Hägglmark T., Eriksson E.: Cylinder or mobile cast brace after knee ligament surgery: a clinical analysis and morphologic and enzymatic studies of changes in the quadriceps muscle. Am. J. Sports Med., 7, 48, 1979.
- Henriksson J., Reitman J.S.: Quantitative measures of enzyme activities in type I and type II muscle fibres of man after training. Acta Physiol. Scand. 100, 385, 1976.
- Hermansen L., Hultman E., Saltin B.: Muscle glycogen during prolonged severe exercise. Acta Physiol. Scand., 71, 129, 1967.
- Holloszy J.O., Oscai L.B., Don I.J., Molé P.A.: Mitochondrial citric acid cycle and related enzymes: adaptive response to exercise. Biochem. Biophys. Res. Comm., 40, 1368, 1970.
- Hultman E.: Studies of muscle metabolism of glycogen and active phosphate in man with special reference to exercise and diet. Scand. J. Clin. Lab. Invest., Suppl. 94, 1, 1967.
- Karlsson J.: Lactate and phosphagen concentration in working muscle of man. Acta Physiol. Scand. (Suppl.), 358, 1, 1971.
- Komi P.V., Viitasalo J.H.T., Havu M., Thorstenson A., Sjödin B., Karlsson J.: Skeletal muscle fibres and muscle enzyme activities in monozygous and dizygous twins of both sexes. Acta Physiol. Scand., 100, 385, 1977.
- Ingjer F.: Effects of endurance training on muscle fibre ATPase activity, capillary and mitochondrial content in man. J. Physiol. (Lond.), 294, 419, 1979.
- Jacobs I., Bar-Or O., Dotan R., Imbar O.: Changes in muscle ATP, CP, glycogen and lactate after performance of the Wingate anaerobic test. 5th Intern. Symp. of the Biochem. of Exercise, Boston, June 1-5, Abstract, 1982.
- Lawrie R.A.: Effect on enforced exercise on myoglobin concentration in muscle. Nature London, 171, 1069-1070, 1953.
- Lortie G., Bouchard C., Simoneau G. A., Leblanc C., Theriault G.: Relationship between fiber type, enzyme activities, anaerobic capacity and human muscle fatigue. 5th Intern. Symp. on the Biochem. of Exercise, Boston, June 1-5, Abstract, 1982.
- Lowry O., Rosebrough N.: Effect of ischemia on known substrates and cofactors of glycolytic pathway in brain. J. Biol. Chem., 239, 18, 1964.
- Macktová E.V., Bass A., Sprinarová S., Teisinger J., Vondra K., Bojanovsky I.: Enzyme activity patterns of energy metabolism in skiers of different performance levels. Eur. J. Appl. Physiol., 48, 315, 1982.
- Morgan T.E. et al.: Effects of long-term exercise on human mitochondria in: B. Pernow and B. Saltin (eds.): Muscle Metabolism during Exercise, New York, Plenum Press, 87-95, 1971.
- Reddanna P., Narasimha Murthy, Gavindappa S.: Kinetic potential of succinate dehydrogenase during localized muscular exercise and training. 5th Intern. Symp. on the Biochem. of Exercise, Boston, June 1-5, Abstract, 1982.
- Round J.M., Jones D., Renne M., Edwards R.H.T.: Flexible microprocessor system in small cell size. J. Clin. Path. (in press), 1982.
- Rowell L.B. et al.: J. Appl. Physiol., 19, 284, 1964.
- Saltin B., Astrand P.O.: Maximal oxygen uptake in athletes. J. Appl. Physiol., 23, 353, 1967.
- Saltin B.: Oxygen transport by the circulatory system during exercise in man. In: Keul J. (ed.) « Limiting factors of physical performance », Thieme, Stuttgart, p. 235, 1971.
- Saltin B., Karlsson J.: Muscle glycogen utilization during work of different intensities. In: Pernow B., Saltin B. eds. « Muscle metabolism during exercise ». Plenum Press, N.Y., p. 289, 1971.
- Saltin B.: Metabolic fundamentals in exercise. Med. Sci. Sports, 5, 137, 1973.
- Saltin B., Henriksson J., Nygaard E., Andersen P., Jansson E.: Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. Ann. N.Y. Acad. Sci., 301, 3, 1977.
- Seene T.: The catabolic effect of exhaustive exercise on contractile proteins. 5th Intern. Symp. on the Biochem. of Exercise, Boston, June 1-5, Abstract, 1982.
- Smith S. et al.: Smokers polycythemia. New Eng. J. Med., 298, 6, 1978.
- Sorbini C.A., Grassi V., Montanari G., Corbucci G.G., Tantucci C.: Breathing pattern during exercise in runners. Pharmacological Research Communications, Vol. 13, 3, 287, 1981.
- Thorstenson A., Sjödin B., Tesch P., Karlsson J.: Actomyosin ATPase myokinase, CPK and LDH in human fast and slow twitch muscle fibers. Acta Physiol. Scand., 99, 225, 1977.
- Varnauskas E. et al.: Effects of physical training on exercise blood flow and enzymatic activity in skeletal muscle. Cardiovascular Res., 4, 418-422, 1970.
- Warren J.: Nature London, 186, 237, 1960.
- Karlsson J. et al.: Muscle glycogen utilization during exercise after physical training. Acta Physiol. Scand., 90, 210-217, 1974.
- Kagen L.J.: Immunologic measurements of myoglobin in human adult and fetal skeletal muscle. Ann. J. Physiol., 11, 656, 1960.