

INVITED REVIEW

MECANISMOS MOLECULARES DA FADIGA

MOLECULAR MECHANISMS OF FATIGUE

Vinícius L. Duarte, Decivaldo S. Dias & Hugo Christiano S. Melo

Universidade Federal de Uberlândia – Instituto de Genética e Bioquímica

Address for correspondence:

Hugo Christiano S. Melo

Universidade Federal de Uberlândia – Instituto de Genética e Bioquímica

Avenida Pará, 1720 – Campus Umuarama – Bloco 2E – Sala 39b

Uberlândia – MG – CEP 38405-320

Endereço eletrônico: hugo@ufu.br

Submitted for publication: november 2007

Accepted for publication: january 2008

Resumo

DUARTE, V. L.; DIAS, D. S.; MELO, H. C. S. Mecanismos moleculares da Fadiga. Brazilian Journal of Biomotricity, v. 2, n. 1, p. 3-38, 2008. A fadiga após exercício físico tem sido alvo de estudo contínuo, porém suas causas e efeitos ainda não estão propriamente elucidados, embora já se saiba que suas causas podem ser periféricas (musculares), neuromusculares (junção neuromuscular) e centrais (neurológicas). Neste trabalho revisamos possíveis causas e mecanismos moleculares da fadiga, a nível central, metabólico e muscular. Existem evidências da participação do triptofano, hiperamonemia e concentração de citocinas na fadiga central, enquanto que será dado enfoque na participação das ATPases de músculo esquelético na fadiga periférica, estando envolvidas as três principais: $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ e miosina II. Além disso, diversos fatores metabólicos como a depleção de substratos e o acúmulo de seus subprodutos serão abordados nesta revisão. Os dados aqui reunidos visam mostrar indicações de diversas vias relacionadas com o processo da fadiga, e apontar caminhos para a prevenção deste processo, ainda que seja necessária cautela na observação e reunião de dados para postular o mapa bioquímico da fadiga. Podemos concluir que, ainda que consigamos identificar efeitos da fadiga em diversas proteínas isoladas, esta deve ser resultante de uma extensa cascata bioquímica multifatorial que age nas principais proteínas relacionadas com a contração muscular, bem como importantes componentes do sistema nervoso central.

Palavras chave: bioquímica, fadiga, exercício

Abstract

DUARTE, V. L.; DIAS, D. S.; MELO, H. C. S. Molecular mechanisms of fatigue Brazilian Journal of Biomotricity, v. 2, n. 1, p. 3-38, 2008. The fatigue after exercise has been objective of continuous study, however its causes and effects still not properly elucidated, although it is already known that their causes can be peripheral (muscular), neuromuscular (neuromuscular junction) and central (neurological). In this work we revised possible causes and molecular mechanisms of the fatigue, at central level, metabolic and muscular. There is evidence of the participation of tryptophan, hyperammonemia and cytokines concentration in the central fatigue, while focus will be given in the participation of ATPases from skeletal muscle in the peripheral fatigue, being involved the main three: $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ and myosin II. Besides, several metabolic factors as the substrate depletion and the accumulation of their by-products will be approached in this revision. The data here gathered will show indications of several paths related with the process of fatigue, and to point ways for the prevention of this process, although it is necessary caution in the observation and analyzing of data to postulate the biochemical map of the fatigue. We can conclude that, although we are able to identify the main effects of the fatigue in several isolated proteins, the entire process should be the result of an extensive biochemical cascade that acts in the main proteins related with the muscular contraction, as well as important components of the central nervous system.

Keywords: biochemistry, fatigue, exercise

Introdução

Músculos esqueléticos são motores impressionantes que respondem rapidamente e precisamente a comandos vindos do sistema neuromuscular. As células do músculo esquelético podem aumentar sua produção de força até 40 N/cm^2 em menos de 100 ms. Quando descarregados eles podem encurtar a uma taxa de até dez comprimentos (músculo) por segundo. Entretanto, a ativação repetida das células do músculo leva a um decréscimo da produção de força e torna lentas as contrações, levando ao desenvolvimento da fadiga (WESTERBLAD e ALLEN, 2002). Dentre os diversos conceitos de fadiga muscular, ainda que muito discutidos, podemos inicialmente definir a fadiga como o conjunto de manifestações produzidas por trabalho, ou exercício, prolongado tendo como conseqüência a diminuição da capacidade funcional de manter, ou continuar, o rendimento esperado (ROSSI e TIRAPEGUI, 1999). É importante para os envolvidos em desempenho físico estarem particularizados com a variedade de mecanismos que levam a fadiga, lembrando que freqüentemente a fadiga é um antecedente a algum tipo de injúria relacionada ao esporte.

A fadiga foi por muito tempo descrita como a reação do músculo ao ácido láctico produzido, formulou-se a hipótese de que uma quantidade fixa de lactato resultaria em uma redução fixa da tensão (HILL e KUPALOV, 1929). No entanto, sabe-se atualmente que existem várias causas bioquímicas e um caráter multifatorial na fadiga, incluindo uma divisão funcional da mesma em fadiga central e fadiga periférica, que leva em consideração fatores bioquímicos

que ocorrem nos músculos (fadiga periférica) e no sistema nervoso central (fadiga central). Dentro da fadiga periférica diversos trabalhos têm apontado as ATPases como participantes ativas, uma vez que diversos indícios apontam para alterações na atividade dessas enzimas durante o exercício intenso e fadiga (WILLIAMS et al., 1998; FAVERO, 1999; LEPIK et al., 2004). A importância relativa da fadiga periférica versus fadiga central depende do tipo de atividade física. Para uso clínico, a fadiga central é definida como a dificuldade na iniciação, ou na habilidade de manter, atividades voluntárias (CHAUDHURI e BEHAN, 2004), em contraste com a fadiga neuromuscular ou periférica, representando uma falha para completar tarefas físicas e mentais que requerem auto-motivação ou sugestão, na ausência de cognição da fadiga normal (fisiológica) induzida por falhas ou fraqueza motora (CHAUDHURI e BEHAN, 2000). Neste artigo, enfocaremos aspectos atuais sobre a fadiga, divididas em três grupos funcionais: a fadiga central relacionada a aspectos neuromusculares, a fadiga metabólica baseada no acúmulo de metabólitos e/ou extinção de combustíveis e a fadiga periférica relacionada ao aparato contrátil.

- FADIGA CENTRAL

Durante o exercício de alta intensidade e longa duração, embora não estejam totalmente esclarecidos, vários são os fenômenos bioquímicos que contribuem para o processo de fadiga do sistema nervoso central. Sabe-se atualmente que durante e após o exercício prolongado, as baixas nas concentrações de glicose sanguínea devido à depleção do glicogênio muscular e cerebral, o aumento da síntese de alguns neurotransmissores, bem como de seus precursores, são responsáveis por acarretar uma diminuição da ativação motoneural e impossibilidade de manter o esforço durante o exercício. O aumento na razão triptofano/ACR (aminoácidos de cadeia ramificada) e conseqüentemente aumento na síntese de 5-hidroxitriptamina (ou 5-HT, serotonina), além da dopamina, o aumento na concentração de amônia, bem como outros fatores como aumento na temperatura do cérebro são características bioquímicas importantes que serão abordadas posteriormente. Na figura 1 temos um resumo de algumas condições que podem induzir o processo de fadiga central.

- Captação de BCAA pelo músculo
- Ácidos Graxos plasmáticos
- Triptofano plasmático livre
- Taxa de Trp/BCAA livre plasmática
- Trp cerebral
- 5-HT cerebral → Fadiga

Figura 1 - Mudanças durante o exercício que podem levar à fadiga central. Modificado de Newshome e Blomstrand (2006).

- Aminoácidos e Fadiga Central

A contribuição dos aminoácidos na condução da fadiga central durante o exercício tem sido foco de pesquisas desde a década de 80. Mudanças nas concentrações de aminoácidos plasmáticos podem desempenhar um papel fundamental durante o processo de fadiga central. A síntese, concentração e liberação de serotonina no cérebro (5-hidroxitriptamina, ou 5-HT) está estritamente relacionada com alterações nas concentrações desses aminoácidos (NEWSHOLME, 1986). A 5-HT presente no cérebro está envolvida na regulação dos estágios de vigília, sonolência, humor, estando ligada também à fadiga durante e após exercício vigoroso prolongado. Já é conhecido o fato de que, no exercício físico intenso, a síntese e o metabolismo da 5-HT é aumentada, afetando dessa forma o desempenho (CHAOULOFF, 1989). Mas como evitar que esse processo ocorra e que, de alguma forma, a fadiga central seja retardada? Estudos enfocando suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA) mostraram que ocorreram diminuições do grau de fadiga mental em atletas submetidos a exercício intenso e prolongado, quando comparados com aqueles que receberam o placebo (BLOMSTRAND et al., 1997). A figura 2 mostra exemplo de aumento da concentração de triptofano e serotonina em diferentes regiões do cérebro durante exercício intenso. No exercício de curto tempo, porém, nenhum efeito foi encontrado sobre a performance física (WAGENMARKERS, 1992; VARNIER et al., 1994), embora já seja conhecido que grandes quantidades de BCAA possam ter efeitos negativos na performance, provavelmente devido ao aumento na produção de amônia pelos músculos, o que leva ao seu aumento também no sangue.

Suplementação com aminoácidos de cadeia ramificada associada à suplementação com carboidratos também está sob investigação, já que é sabido que a ingestão de carboidratos durante o exercício prolongado pode retardar a fadiga, o que é freqüentemente associado à manutenção dos níveis de glicose sanguínea e o suprimento de energia quando os níveis de glicogênio estão baixos. Os carboidratos podem também ter efeito sobre a fadiga central por adiar o aumento da concentração plasmática de triptofano livre. Ingestão de carboidratos antes ou durante o exercício proporciona redução do aumento da concentração de ácidos graxos livres no plasma, provavelmente por estimular a secreção de insulina e inibir a lipólise (WRIGHT et al., 1991; WIDRICK et al., 1993; MCCONELL et al., 1999), além de retardar também o aumento da concentração de triptofano livre durante o exercício prolongado. (DAVIS et al., 1992).

Triptofano livre compete com BCAA pela entrada através dos sistemas L de transporte da barreira hematoencefálica (sistema de transportadores específicos de aminoácidos neutros que transportam, além do triptofano, outros cinco aminoácidos: tirosina, fenilalanina e os aminoácidos de cadeia ramificada leucina, isoleucina e valina através da barreira hematoencefálica). Já é descrito que durante a recuperação pós-operatória em pacientes ocorre um aumento na razão triptofano/BCAA (YAMAMOTO et al., 1997), fato também observado em

animais com quadro de fadiga após exercício (BLOMSTRAND et al., 1989). O alto nível de triptofano plasmático livre em comparação com BCAAs pode resultar em aumento da entrada de triptofano no cérebro em várias regiões além de sinaptossomos estriatais (YAMAMOTO et al., 1997). Uma vez que o triptofano é o precursor para 5-HT, isto poderia resultar em um aumento dos níveis de 5-HT no cérebro, conseqüentemente, podendo levar ao quadro de fadiga, o que causa um decréscimo na força muscular.

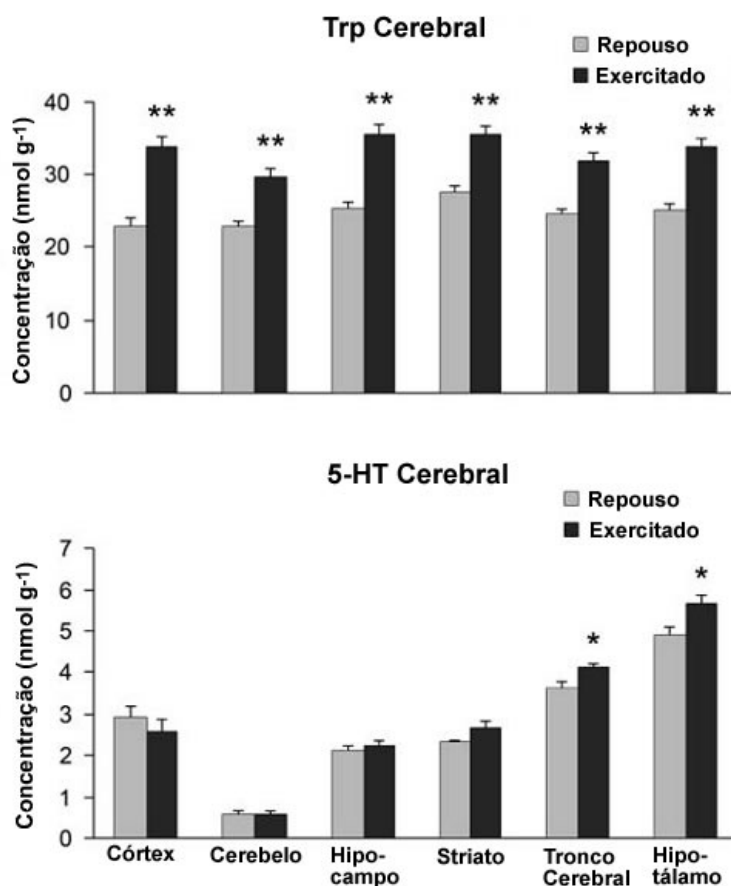


Figura 2 - Efeito de corrida prolongada nas concentrações de Trp e 5-HT em diferentes regiões cerebrais em ratos. * $P < 0,01$ para repouso vs. exercício, respectivamente. Modificado de Blomstrand et al., 1989)

A concentração plasmática de triptofano livre é controlada pela ligação da albumina ao triptofano, que por sua vez, é modulada pela troca pela ligação pelos ácidos graxos. Dessa forma, o aumento da concentração plasmática de ácidos graxos devido à, por exemplo, exercício exaustivo, contribui para aumentar a quantidade de triptofano disponível. Em idosos em recuperação pós-operatória ocorre uma diminuição da afinidade do triptofano pela albumina e aumento de triptofano livre (YAMAMOTO et al., 1997). O fornecimento de albumina, conseqüentemente, pode inibir a captação de triptofano livre no cérebro.

Outros experimentos forneceram as primeiras evidências que interligam a inibição dos sistemas L de transporte com a diminuição de captação de triptofano e produção de 5-HT no nervo terminal. O transporte é regulado por

competição, e a afinidade do transportador pelo aminoácido é determinada pelas concentrações relativas dos demais aminoácidos. A inibição dos transportadores L leva a uma melhora no desempenho de endurance na medida em que diminui a fadiga central. O controle periférico de transporte de triptofano para o cérebro se dá devido a mudanças na afinidade de ligação do triptofano à albumina e pela competição entre BCAAs plasmáticos e triptofano via transporte pelo sistema L para a entrada no cérebro. Desta forma, aumento na concentração de albumina e BCAAs por administração exógena pode regular a captação e transporte de triptofano. (YAMAMOTO e NEWSHOLME, 2000).

- Fadiga central e hiperamonemia

Durante o exercício intenso e prolongado, sob condições de depleção do glicogênio e indisponibilidade de níveis de glicose suficiente para o suprimento energético no músculo, o organismo passa então a utilizar-se das proteínas musculares para que a oferta de energia se mantenha. Com isso, durante o processo de gliconeogênese, há um quadro de hiperamonemia, devido à degradação protéica e liberação de amônia da estrutura dos aminoácidos. Esta relação direta entre degradação protéica e aumento da concentração de amônia ainda é amplamente discutida. Este quadro caracterizado por altas taxas de amônia plasmática também tem efeito direto sobre a condição de fadiga do sistema nervoso central. O efeito da suplementação através de BCAA e sua influência na produção de amônia pelo músculo e conseqüente efeito sobre a performance física ainda está em discussão. Estudos evidenciaram que existe uma relação entre administração de BCAA e amonemia (MACLEAN e GRAHAN, 1993; VANHALL et al., 1995; MACLEAN et al., 1994) enquanto outros autores (VARNIER et al., 1994, BLOMSTRAND et al., 1997; MITTLEMAN et al.; 1998) defendem a não-relação. A importância da quantidade total de BCAA ingerida e o período de tempo na liberação de amônia pelo músculo esquelético ainda é alvo de discussão. Quando BCAA é ingerido repetidamente durante o exercício, quantidades pequenas de BCAA produzem um aumento na concentração plasmática suficiente para igualar o aumento da concentração de triptofano livre durante e depois do exercício, e que não há razão para acreditar que isto irá causar fadiga precoce devido aos elevados níveis de amônia no sangue.

- Fadiga central e outros fatores

Além da relação já discutida envolvendo aumento da concentração de aminoácidos na maior produção de serotonina e quadro de hiperamonemia em indivíduos submetidos a exercícios intensos, a hipertermia e suas relações com a fadiga central também têm sido alvo de pesquisas (NYBO e NIELSEN, 2001a, 2001b), apesar dos mecanismos neurobiológicos que fundamentam este tipo de fadiga ainda sejam desconhecidos. Influência de outros neurotransmissores na fadiga também foram propostos, e a dopamina é importante pelo seu envolvimento na iniciação e controle do movimento (CHAOULOFF et al., 1987, FREED e YAMAMOTO, 1985). Estudos com ratos e gatos indicaram que a síntese e metabolismo de dopamina cerebral regional é aumentada durante o exercício (MEEUSEN e De MEIRLEIR, 1995) e que seu

transporte através da barreira hematoencefálica é limitado (BEN-JONATHAN e HNASKO, 2001; HARDEBO e OWMAN, 1980). A dopamina derivada da região do hipotálamo é liberada na circulação porta-hipofisária (FREEMAN et al., 2000) e o aumento na atividade dopaminérgica poderia resultar em dopamina excedente pelo cérebro. Observações patofisiológicas indicam que o sistema dopaminérgico é de extrema importância para a ativação neuromotora, e os níveis de dopamina podem mudar durante exercício prolongado. Entretanto, evidências experimentais para estabelecer uma relação entre fadiga e deficiência de dopamina em cérebros humanos saudáveis durante exercício ainda é carente de mais estudos, e posteriores descobertas sobre a atividade dopaminérgica durante exercício intenso são necessárias antes de reais conclusões sobre a real relevância desse neurotransmissor (NYBO e SECHER, 2004).

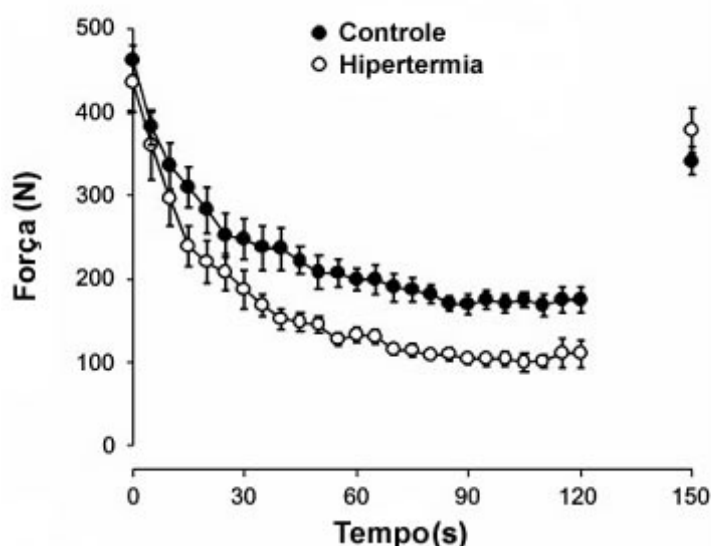


Figura 3 - Mudanças na força durante 2 minutos de contração *handgrip* com ou sem exercício induzido por hipertermia. Dados relativos a 8 indivíduos. Modificado de Nybo e Nielsen 2001.

Até hoje, vários estudos foram incapazes de demonstrar que a fadiga central é realmente induzida por hipertermia durante exercícios prolongados no calor. Apesar disso, estudos têm investigado se o desenvolvimento de hipertermia durante o exercício poderia afetar a ativação neuromuscular ao final de uma sessão de exercício intenso (Fig. 3). Nybo e Nielsen (2001) demonstraram que a habilidade em gerar força durante contrações voluntárias máximas é atenuada com hipertermia e que o desempenho está associado com a redução da porcentagem de ativação voluntária. A força muscular total durante contrações voluntárias máximas não foi afetada, concluindo que a capacidade dos músculos esqueléticos de gerar força não é afetada pela hipertermia. Embora esta resulte em redução da ativação central durante contrações isométricas prolongadas, fica a questão se a fadiga central é realmente induzida pela hipertermia que se desenvolve durante exercícios dinâmicos

prolongados no calor.

Somado às alterações das concentrações de neurotransmissores, a depleção do glicogênio cerebral também pode estar associada ao quadro de fadiga central (DALSGAARD et al., 2002, IDE et al., 2000). Esta hipótese é baseada na observação de que a taxa de captação de O₂/carboidratos no cérebro torna-se lenta, devido às baixas concentrações de glicose durante o exercício intenso.

Nybo et al (2003) mostraram que a captação de triptofano não foi afetada pela hipertermia, e a hipótese da fadiga central por serotonina não pôde explicar a fadiga que desenvolve durante exercício com hipertermia. O balanço de tirosina através do cérebro mudou de uma liberação pequena no descanso para uma captação pequena durante o exercício, mas a captação de tirosina, assim como o balanço de dopamina cerebral não foi diferente durante o exercício, tanto em elevação de temperatura central quanto em temperaturas normais. O aumento da captação de glicose pelo cérebro e a baixa na taxa de captação de O₂/carboidratos durante a recuperação no exercício com hipertermia, mas não após o controle, dão apoio à idéia de que a fadiga central pode correlacionar-se com depleção de glicogênio cerebral.

- Interleucina-6

Além dos fatores anteriormente discutidos, o aumento da concentração de interleucina (IL-6) também ocorre em resposta ao exercício intenso. Centralmente, IL-6 desempenha papéis importantes na regulação do apetite, gasto de energia e composição corpórea. Foi demonstrado que camundongos deficientes na produção de IL-6 aumentaram sua ingestão de alimentos e desenvolveram início de obesidade adulta, enquanto administrações intracerebroventriculares de IL-6 em ratos induziram o aumento agudo do consumo de oxigênio corpóreo (WALLENUS et al., 2002). Suspeita-se que a captação de IL-6 pelo cérebro durante o exercício e a grande liberação de IL-6 pelos músculos esqueléticos durante exercício poderiam atuar como mecanismo de "feedback" contribuindo para o desenvolvimento do quadro de fadiga central. Alternativamente, IL-6 poderia ser liberada pelo cérebro como estímulo para o aumento do limiar hepático para glicose, comparável ao observado em músculos esqueléticos, ou então ser liberada durante o exercício como consequência do aumento de produção em regiões do cérebro ativadas durante o exercício. Em estudos envolvendo a liberação de citocinas durante o exercício, Nybo e Nielsen (2002) concluíram que há liberação de IL-6 pelo cérebro durante exercício prolongado em humanos e que esta liberação aparentemente está influenciada pela duração do exercício e não pelo aumento da temperatura. Estes resultados não foram suficientes para conhecer o papel exercido pela IL-6 na fadiga central e que sua liberação é similar durante a normotermia e hipertermia embora esta última esteja associada à fadiga central.

- A FADIGA PERIFÉRICA E O APARATO CONTRÁTIL

As fibras musculares são compostas de unidades funcionais chamadas sarcômeros. Em cada sarcômero estão as miosinas (filamento grosso) e actina (filamento fino). Quando o músculo recebe um estímulo na forma de potencial de ação, Ca^{2+} é liberado do retículo sarcoplasmático e liga-se à troponina, permitindo assim a formação do complexo tropomiosina, expondo, por sua vez, na actina o sítio de ligação para a cabeça da miosina. Na presença de ATP, a cabeça da miosina desligada da actina, utiliza a energia da hidrólise do ATP para se mover, se ligando em seguida à actina e empurrando o filamento fino ao longo do filamento grosso, fazendo com que o sarcômero se encurte e assim promovendo a contração muscular (SCOTT et al., 2001). Há também a Ca^{2+} -ATPase (SERCA) que é responsável pelo transporte dos íons Ca^{2+} de volta para o lúmen do retículo sarcoplasmático após a contração muscular, garantindo dessa forma a manutenção de um gradiente transmembrana de íons Ca^{2+} e o relaxamento muscular (CLAPHAM, 1995; CARAFOLI, 2002) e também a Na^+ - K^+ -ATPase cuja função é restabelecer rapidamente o nível de Na^+ e K^+ intracelular e extracelular após a chegada do potencial de ação, mantendo assim a excitabilidade da membrana e a capacidade de contração do músculo (BLANCO e MERCER, 1998). Juntas, a Miosina II muscular, a Na^+ - K^+ -ATPase e a SERCA compreendem as ATPases mais importantes do músculo esquelético.

- Na^+ - K^+ -ATPase

A Na^+ - K^+ -ATPase é uma proteína integral de membrana que mantém o gradiente iônico no sarcolema bombeando 3 íons Na^+ para fora e 2 íons K^+ para dentro da célula (FOWLES et al., 2002) e assim é conhecida como bomba de Na^+ e K^+ . Em músculo esquelético, a atividade basal (repouso) da Na^+ - K^+ -ATPase depende primariamente da distribuição de Na^+ e K^+ de cada lado da membrana plasmática, e utiliza apenas de 2 a 8 % da capacidade máxima in vivo. Durante o trabalho contrátil, o transporte de Na^+ e K^+ recupera rapidamente o gradiente iônico após um potencial elétrico excitatório, uma vez que apenas a abertura dos canais voltagem-dependentes e o influxo passivo de Na^+ e efluxo de K^+ estimulam em cerca de 20 vezes a atividade da Na^+ - K^+ -ATPase (FOWLES et al., 2002b). Apesar desta estimulação, evidências acumuladas sugerem que um desacoplamento entre a excitação e contração pode ser a fonte primária da fadiga severa, ocorrendo através da redução do gradiente normal de Na^+ e K^+ durante o exercício, e conseqüente redução do potencial iônico da membrana e decréscimo da amplitude e área do potencial de ação muscular (M wave) e força (FOWLES et al., 2002a). Para isto, um importante achado é o fato de que a atividade da Na^+ - K^+ -ATPase diminui ($P < 0.05$) cerca de 12% após corrida até a fadiga (168 ± 7 e 149 ± 7 nmol/mg proteína/hora, para o controle e para o grupo de corrida até a fadiga respectivamente), não dependendo do tipo de fibra muscular (FOWLES et al., 2002b). Fraser et al (2002) encontraram também uma queda na atividade específica máxima da Na^+ - K^+ -ATPase (atividade 3-O-MFPase) entre o repouso e a fadiga de 141 ± 26 , 115 ± 93 e 159 ± 88 pmol/min/mg de proteína, para ratos não treinados, treinados para resistência e treinados para "endurance"

respectivamente. Outro dado importante é o aumento da concentração de K^+ no plasma sanguíneo no decorrer do exercício, com a concentração máxima ($4,81 \pm 0,17$ mmol/L) sendo atingida na fadiga e com conseqüente recuperação da concentração basal nos tempos subseqüentes ao exercício (Figura 4). Este mesmo perfil foi encontrado para indivíduos treinados e não treinados (FRASER et al., 2002). Sabe-se ainda, que a inibição da $Na^+-K^+-ATPase$ é fortemente aumentada por hipóxia (SANDIFORD et al., 2004).

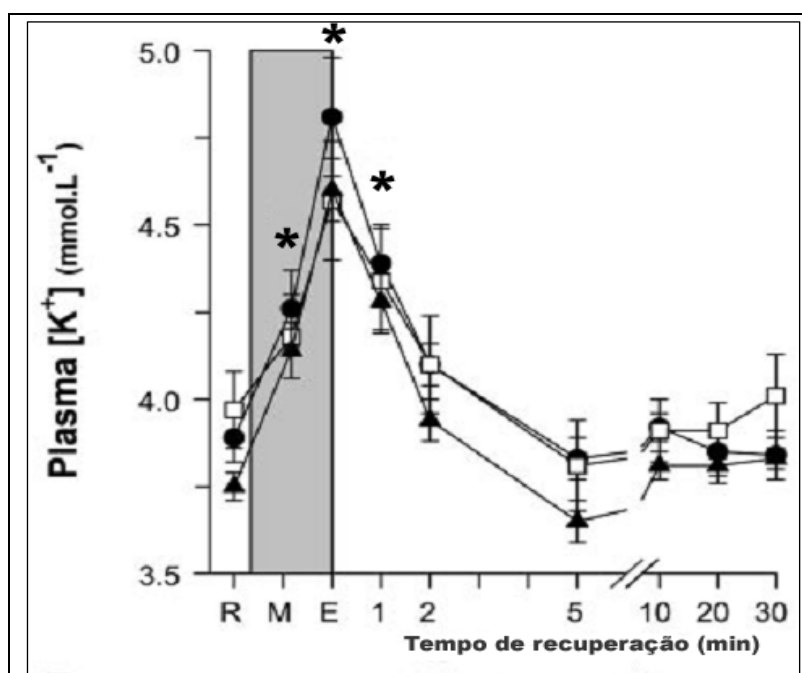


Figura 4 - Concentração de K^+ em plasma de veia arterializada em indivíduos não treinados (●), treinados para corrida (□) e treinados para endurance (▲) durante teste muscular de fadiga. A concentração plasmática de K^+ está mostrada no repouso (R), médio-exercício (M) e exercício final (E), e nos tempos de recuperação após exercício. * $[K^+] >$ repouso ($P < 0,05$). Os dados correspondem a médias \pm SE; $n = 8$ para ● e ▲ e $n = 7$ para □. (Modificado de FRASER et al., 2002).

A $Na^+-K^+-ATPase$ é composta de um $\alpha\beta$ heterodímero. Apesar de nem a hidrólise de ATP nem o transporte de íons ter sido demonstrado por uma das subunidades isolada, a subunidade α tem sido considerada a subunidade catalítica por possuir o sítio de ligação para o ATP. A subunidade β está relacionada com a maturação e translocação da proteína do retículo sarcoplasmático para a membrana plasmática (JEISSER et al., 1994). Durante o exercício há um aumento do número de $Na^+-K^+-ATPase$ no sarcolema, devido a translocação de subunidades de sítios intracelulares para a membrana muscular, com função de aumentar a capacidade de transporte e assim manter o gradiente de íons (FOWLES et al., 2002b). Juel et al (2000) demonstrou com técnicas de 'immunoblotting' que há um aumento ($P < 0.05$) significativo das subunidades da $Na^+-K^+-ATPase$, α_2 - ($70 \pm 29\%$) α_{total} ($35 \pm 10\%$) e β_1 ($26 \pm 5\%$) em membrana vesicular (vesícula sarcolema gigante) e α_1 ($102 \pm 4\%$), α_2 ($102 \pm 5\%$), α_{total} ($96 \pm 9\%$) e β_1 ($99 \pm 12\%$) em homogeneizado.

Tem-se conhecimento da reversibilidade deste processo, com os níveis das subunidades da $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ voltando aos níveis normais por volta de 3 horas após exercício físico conforme pode ser observado na figura 5 (JUDEL et al., 2001). Entretanto, Mackenna et al (2003) questionam a relação entre os dados de translocação de subunidades com um aumento da quantidade da bomba de $\text{Na}^+\text{-K}^+$ em si, uma vez que seus dados não apontam mudanças significativas na contagem de ligação de oubaína, um ligante específico de $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, em músculo sóleo de rato no repouso e após estimulação elétrica por 120 segundos a 120 hertz.

- $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ de retículo sarcoplasmático (SERCA)

A contração muscular é regulada principalmente pela a concentração de cálcio livre no citoplasma, que por sua vez é controlada por um sistema de membranas presente entre a membrana plasmática (sarcolema) e o aparato contrátil, conhecida como retículo sarcoplasmático (STOKES e WAGENKNECHT, 2000). Essa liberação de cálcio é papel do canal de liberação de Ca^{2+} , ou RyR como é chamado devido à ligação específica do alcalóide de planta “*ryanodine*” (BERCHTOLD et al., 2000). A $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ de retículo sarcoplasmático (SERCA) é responsável pela recaptação desse Ca^{2+} livre no citoplasma de volta ao retículo sarcoplasmático, e possui seqüência e estrutura de aminoácidos conhecidas (997 resíduos), e duas isoformas: SERCA1 e SERCA2 (WU et al., 1995). A isoforma SERCA1 está presente exclusivamente em músculo esquelético de contração rápida, enquanto a isoforma SERCA2 é encontrada em todos tecidos e é mais abundante em tecidos musculares de contração lenta (WUYTACK et al., 1992). Recentes pesquisas revelaram a existência de uma terceira isoforma (SERCA3) presente em plaquetas, células linfóides, células endoteliais, timo, intestino e cerebelo, onde também tem um papel importante na regulação de processos fisiológicos onde o Ca^{2+} possui papel fundamental (MARTIN et al., 2002).

A SERCA possui duas funções críticas em músculo esquelético, dependentes da sua capacidade de enviar 2 moles de Ca^{2+} para o lúmen do retículo sarcoplasmático (contra o gradiente de concentração) à custa de 1 mol de ATP. No músculo em repouso, a SERCA mantém a concentração de Ca^{2+} livre no citoplasma por volta de 100 nM. Durante a contração, a SERCA seqüestra rapidamente grandes quantidades de Ca^{2+} do citoplasma para o lúmen do retículo sarcoplasmático, induzindo o relaxamento muscular e recuperando as concentrações normais de Ca^{2+} (STOKES e WAGENKNECHT, 2000).

Diversos trabalhos têm mostrado uma relação entre a perda da regulação da concentração de Ca^{2+} livre na célula e a fadiga, mais particularmente com perda da atividade da SERCA. Green em 1998 reuniu em sua revisão dados que incluem a perda de até 79% da atividade da $\text{Ca}^{2+}\text{-ATPase}$ em ratos após corrida, e queda na taxa de captação de Ca^{2+} de até 35%. Em outro estudo com homogenatos de biópsias de vasto lateral humano após exercício prolongado até à exaustão observaram inibição de 17 e 21 % da captação de cálcio e da atividade ATPásica, mudanças essas que permanecem por até 60 minutos após o termino do exercício. Porém não se observam lentificação do tempo de relaxamento ($\text{RT}1/2$) em contrações evocadas eletricamente por

abalo isolado, ou por contrações tetânicas ou por contrações isométricas máximas voluntárias após exaustão, quando comparado aos controles no repouso (BOOTH et al., 1997).

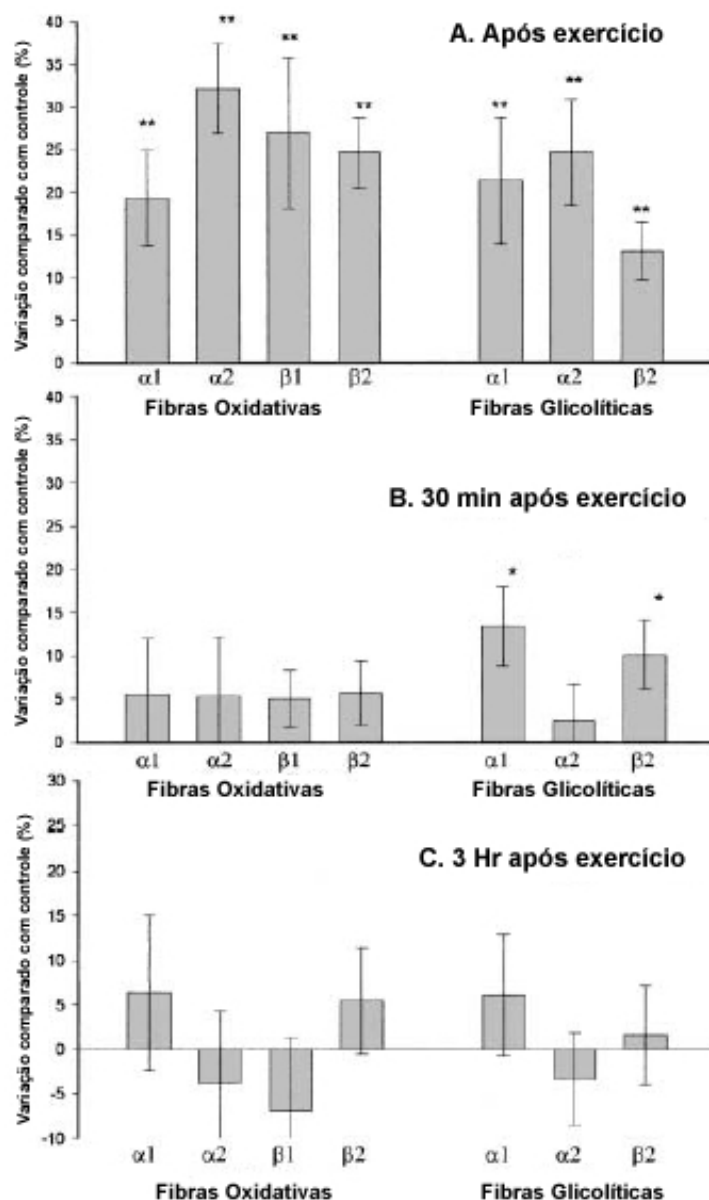


Figura 5 - Translocação de subunidades de Na⁺-K⁺-ATPase para a membrana sarcoplasmática induzidas por exercício e o curso do tempo de desaparecimento. A. Aumento das subunidades da bomba nas vesículas sarcoplasmáticas obtidas logo após o exercício. O conteúdo de subunidades nas membranas de fibras oxidativas e glicolíticas foi obtido por *Western Blotting* e comparadas com os ratos do grupo controle. B. Conteúdo de subunidades comparado com controle em membranas vesiculares obtidas em 30 minutos após o exercício. C. Conteúdo de subunidades em membranas vesiculares obtidas 3 horas após o exercício. * Significativamente diferente do controle (P<0.01). ** Significativamente diferente do controle (P<0.05). Valores correspondem a média ± SE (Erro Padrão) de 9-12 animais experimentais e controle em A, 7 animais experimentais e controle em B e 6-7 animais experimentais e controle em C. (Modificado de JUEL et al., 2001)

Em um outro artigo utilizando homogenatos de músculo sóleo (onde predominam fibras de contração lenta) de ratos submetidos a corrida exaustiva de média a alta intensidade, foi descrito que, além da diminuição da atividade catalítica, haveria um aumento da afinidade da SERCA pelo Ca^{2+} e pelo ATP (YASUDA et al., 1999). Os autores discutem que o aumento de afinidade seria um mecanismo inicial para tentar responder ao exercício intenso, mas que acabaria sendo sobreposto e descompensado por outras alterações subseqüentes. Em trabalho mais recente deste grupo de pesquisadores, foi investigado o efeito do treinamento sobre esta inibição da atividade da SERCA observada em situação de fadiga, comparando-se músculo composto predominantemente por fibras de contração rápida (plantaris) com músculo composto predominantemente por fibras de contração lenta (sóleo) de ratos. A figura abaixo (Figura 6) mostra que o treinamento leva a uma pequena diminuição da capacidade de captar cálcio em homogenatos de músculo plantaris, mas observaram que a queda desta atividade era abolida pelo treinamento, o que não era observado para o músculo sóleo. (INASHIMA et al., 2003).

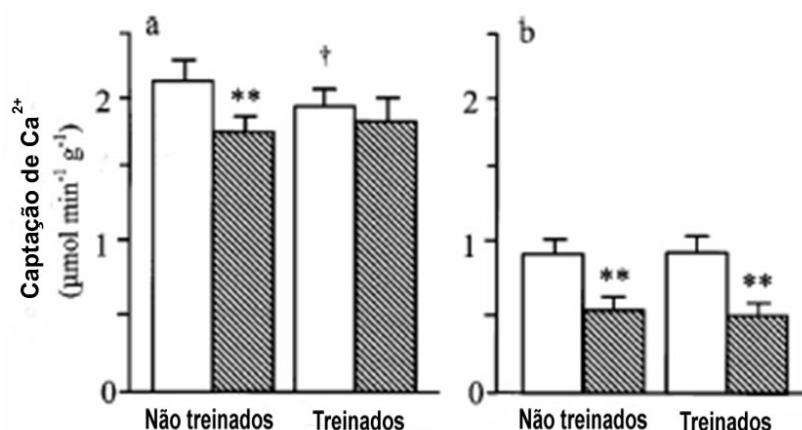


Figura 6 - Taxa de captação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático (SR) em músculo plantaris (a) e sóleo (b) em ratos não treinados e treinados. Ambos os ratos, treinados e não treinados, foram divididos em dois grupos: repouso (barras claras) e exercitados (barras escuras). Valores correspondem ao desvio padrão (SD). ** $P < 0,01$ do repouso vs exercitados. † $P < 0,05$ treinados vs não treinados (Modificado de Inashima et al., 2003).

Apesar do mecanismo de inibição da função do retículo sarcoplasmático não ser completamente entendido, as espécies reativas de oxigênio e/ou nitrogênio (ERONs) têm atraído atenção, pois a capacidade do retículo sarcoplasmático de regular a concentração de Ca^{2+} mostra alta sensibilidade redox (CASTILHO et al., 1996), e tem sido bem caracterizado que a atividade muscular prolongada aumenta a produção destes agentes com conseqüentes mudanças na atividade biológica das células (DAVIES et al., 1982; GOHIL et al., 1988). Neste sentido, Matsunaga et al (2003) observaram redução de ambas a atividade ATPásica e a captação de Ca^{2+} (16% e 34% respectivamente) em frações de retículo sarcoplasmático obtidas de músculo gastrocnêmio e vasto lateral de ratos exercitados até a exaustão em esteiras (no limite de VO_2max). Quantificaram ainda os grupos SH (sulfidrilas não oxidadas) presentes na

SERCA e não encontrou, entretanto, nenhuma diferença entre os grupos controle e exercitado, nem conseguiu reverter a inibição induzida pelo exercício pela adição de DTT (um poderoso agente que mantém grupos SH no estado reduzido). Já através da análise por “immunoblotting” (técnica que utiliza anticorpos monoclonais específicos contra determinados grupos químicos), procederam à semi-quantificação de grupos carbonila formados por modificações oxidativas nos resíduos de aminoácidos da SERCA 1, após reação com DNPH – 2,4-dinitrofenilhidrazina, (um reagente específico para carbonilas). Seus resultados indicaram um aumento de duas vezes no número de grupos carbonila em SERCA1 entre ratos controle e exercitados (Figura 7). Concluíram portanto que as inibições observadas das atividades deveriam ser devidas, pelo menos em parte, à oxidação de resíduos de aminoácidos da SERCA1 diferentes de cisteínas (que contem grupamentos SH), devido ao exercício.

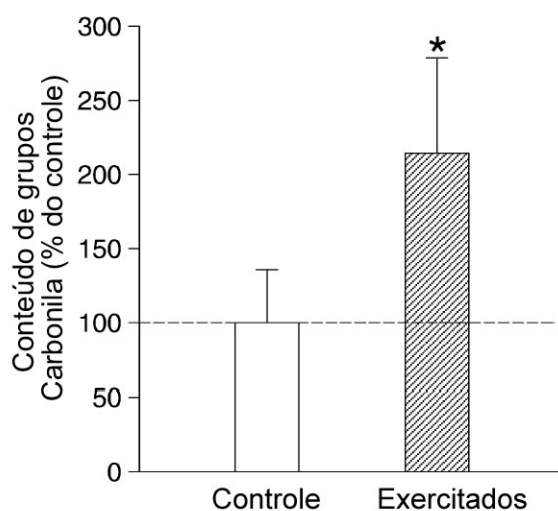


Figura 7 - Avaliação densitométrica do conteúdo de grupos carbonila em Ca^{2+} -ATPase de retículo sarcoplasmático das porções superficiais dos músculos gastrocnêmio e vasto lateral de ratos controle e exercitados. Os resultados foram expressos como porcentagem dos valores controle. Média \pm SE. * $P < 0.05$ vs controle. (Modificado de MATSUNAGA et al., 2003).

Em outro experimento, a oxidação de grupamentos SH de SERCA1 foi testada diante de uma hipertermia do músculo induzida por exercício, que chega a 41 °C contra os 37 °C do repouso. A incubação *in vitro* de homogeneizado de músculo gastrocnêmio de rato a uma temperatura indicativa de hipertermia (41°C), por 60 minutos, resulta em uma ampla redução na captação de Ca^{2+} pela Ca^{2+} -ATPase e apenas uma modesta perda de atividade Ca^{2+} -ATPásica. Mais ainda, esta inativação da captação de Ca^{2+} não parece ser devido à oxidação de sulfidrilas, ou mesmo a alterações na atividade do canal de liberação de Ca^{2+} , mas sim devido a uma significativa redução da integridade da membrana e permeabilidade ao Ca^{2+} . Já a inibição da atividade Ca^{2+} -ATPásica após estresse por calor (41 °C), que foi revertida pela presença de DTT, indicando que, já no caso da hipertermia, a oxidação de sulfidrilas leva à inibição da atividade ATPásica (SCHERTZER, 2002).

Por outro lado, curiosamente, Ferrington et al (1996) já haviam observado um efeito controverso do exercício prolongado sobre a atividade de SERCA. Mostraram em ratos que, após o exercício moderado prolongado, a atividade da SERCA1 sofre um aumento significativo de sua velocidade enzimática 2.7 horas após o exercício, e não uma inibição, restabelecendo níveis normais em 48 horas. Os autores interpretaram este efeito como consequência do aumento de unidades funcionais de SERCA na membrana do retículo sarcoplasmático, uma vez que observaram um aumento do nível de enzima auto-fosforilada por ATP (E-P), que é um intermediário obrigatório do ciclo catalítico, com o uso de ATP[γ - 32 P] (ATP contendo fósforo radioativo na posição gama terminal); e também pelo fato de não observarem alterações na fluidez da membrana ou no estado de agregação da SERCA, com o uso de sondas de ressonância paramagnética de spin eletrônico. Interpretaram este efeito como uma tentativa do músculo de restabelecer os níveis normais de Ca^{2+} durante o exercício, quando é desafiado por altos níveis citoplasmáticos deste íon por período prolongado.

Para melhor compreender este efeito ativador, Schertzer et al (2003) investigaram se ocorre algum tipo de modificação estrutural na Ca^{2+} -ATPase de gastrocnêmio de ratos, em um modelo de corrida prolongada seguida de 45 minutos de repouso ativo ou passivo. Utilizando os marcadores fluorescentes FITC e NCD-4, usados para analisar alterações na estrutura do sítio de ligação de nucleotídeo e no sítio de ligação do Ca^{2+} respectivamente, não encontraram, porém nenhuma modificação. Ao utilizar técnicas de western blotting (com anti-corpos anti-nitrotirosina e anti-fosfoserina, para verificar a presença de SERCAs nitrosiladas ou fosforiladas respectivamente), não encontraram novamente nenhuma mudança significativa. Tão pouco observaram mudanças nas expressões de isoformas de SERCA1 e SERCA2. Observaram porém um aumento do nível de E-P proporcional ao aumento de atividade ATPásica, como visto anteriormente por Ferrington et al (1996). Em um outro artigo mais recente, fazendo medidas em homogenatos de músculo em vez de membranas isoladas, verificaram o mesmo efeito (SCHERTZER et al., 2004). Neste artigo, os autores discutem diversos mecanismos para explicar este fenômeno de ativação, inclusive aumento da fluidez da membrana do retículo sarcoplasmático, e uma possível ativação mediada por uma cinase dependente de cálcio e Calmodulina (Ca-CaM-Kinase). Comentam que este mecanismo tem sido descrito para SERCA de músculo cardíaco e em menor grau em isoformas SERCA 2a, a isoforma predominante em músculos de contração lenta com fibras do tipo I (SIMMERMAN e JONES, 1998). Como estes estudos descritos acima têm sido feitos com músculos de contração rápida, com predominância de SERCA 1, este mecanismo deve dificilmente ser a causa da ativação observada (SCHERTZER et al., 2004). Discutem ainda que, devido ao fato da ativação ser devida a um aumento de unidades ativas e não da velocidade de catálise, uma possível mudança no estado de agregação e/ou do estado conformacional de enovelamento podem estar envolvidas, conforme descrito por outros autores para explicar regulação destas ATPase em outros tecidos (MARTONOSI, 1996; FROEMMING e OHLENDIECK, 1998). Além disso, este efeito também foi descrito em músculos de diferentes composições de ambos os tipos de fibras I e II e de variados potenciais

oxidativos, em experimentos testando o efeito de exercícios de curta duração (GREEN et al., 1996b) ou por isquemia (GREEN et al., 1996a). Como em seus experimentos este aumento transitório da atividade da Ca^{2+} -ATPase após exercício foi mais pronunciado quando o período de recuperação foi passivo, Schertzer et al (2004) sugerem que haveria um impedimento do recrutamento de enzimas inativas durante o período de recuperação ativa (feito com atividade de baixa intensidade ao invés do repouso completo). As possíveis causas seriam devidas ou à atividade contrátil, ou à manutenção da reciclagem de cálcio pelo retículo, ou ao acúmulo de algum metabólito (como o fosfato) ou ainda à alta temperatura.

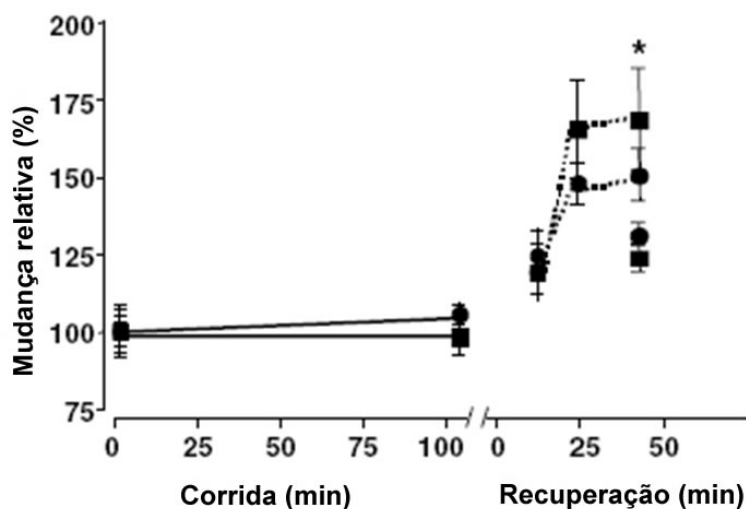


Figura 8 - Resumo dos efeitos do exercício e de recuperação ativa (linha contínua) e passiva (linha pontilhada) na função do retículo sarcoplasmático em homogeneizado de músculo de ratos. Mudanças relativas na V_{\max} da Ca^{2+} -ATPase de retículo sarcoplasmático (■) e na captação de Ca^{2+} (●) foram mostradas. Mudanças relativas baseadas em valores controle de 100%. Os valores correspondem às médias \pm SE (erro padrão); $n = 8-11$. * Valores significantes na recuperação passiva quando comparado com a recuperação ativa. (Modificado de Schertzer et al., 2004).

Ainda na tentativa de esclarecer se a atividade da SERCA estaria aumentada ou diminuída em situação de exercício intermitente de alta intensidade, Tupling et al (2003) realizaram estudo com biópsias de vasto lateral de humanos submetidos a 16 sessões de ciclismo por 6 minutos a 90% da $\text{Vo}_{2\text{pico}}$. Os resultados sugeriram que a resposta da captação de Ca^{2+} em função do teste de exercício prolongado dependeria de um estado anterior, de tal forma que músculos em repouso exibiriam uma diminuição, enquanto músculos previamente exercitados exibiriam um aumento. Mais ainda, mostraram que o conteúdo de isoformas de SERCA se modifica em resposta às sessões mantidas de exercício intermitente, com uma ligeira queda na expressão de SERCA 2a e um ligeiro aumento na expressão de SERCA1, verificado por técnica de western blotting com anticorpos específicos.

- Acto-miosina

As miosinas foram descobertas como uma única proteína de músculo, chamada na época de globulina de músculo (EDSALL, 1930). As miosinas do tipo II foram definidas como convencionais (miosina de classe II), enquanto que os outros tipos são coletivamente referidos como miosinas não-convencionais, diferenciadas por estudos genéticos e de biologia molecular como uma diversa família de miosinas que possuem um domínio motor comum (KRENDEL e MOOSEKER, 2005; FOTH et al., 2006). A miosina II possui duas cadeias pesadas de cerca de 240 kDa cada, e quatro cadeias leves de 20 kDa (MARUTA e KORN, 1977). No músculo, moléculas monoméricas de actina (G-actina), de massa molecular de 42 kDa, se associam para formar um longo polímero chamado F-actina, juntamente com moléculas de troponina e tropomiosina (filamento fino), constituindo o suporte pelo qual a miosina II realiza a contração muscular.

São conhecidos diversos fatores capazes de inibir a atividade ATPásica da miosina II, porém ainda é um desafio relacionar qualquer perda de função da miosina II com a fadiga. Williams et al (1998) em seu estudo sobre a fadiga muscular, expõe uma perda da atividade ATPásica da actomiosina de cerca de 20% na fadiga. Neste contexto Zolkiewski et al (1995) estudou as modificações ao nível de enovelamento da miosina muscular sob uma possível hipertermia induzida por exercício, usando a técnica de “*differential scanning calorimetry*” (DSC), que fornece um meio de monitorar mudanças conformacionais de macromoléculas induzidas por calor e obter parâmetros diretos da termodinâmica do desenovelamento. Seus resultados, expostos na figura 8, mostram que há uma perda progressiva da estrutura da miosina de músculo esquelético de coelho a partir da temperatura de 41 °C, chegando ao pico em 46 °C onde grande parte da proteína se desenovela, porém quando o sítio catalítico tem AMP-PNP (um análogo não hidrolisável do ATP) ligado, essa temperatura sobe para cerca de 51°C, indicando que a presença de nucleotídeo no sítio catalítico traz uma estabilidade maior para a proteína.

Conforme visto anteriormente, o tecido muscular sofre várias mudanças na concentração se seus principais metabólitos (HOCHACHKA et al., 1991), incluindo principalmente a concentração de fosfato inorgânico ou Pi (de 14,10 ± 0,28 para 19,47 ± 0,92 no exercício) e pH (de 6,92 para 6,62 no exercício). Para analisar quais seriam os efeitos dessas mudanças na atividade ATPásica de actomiosina e na força muscular, Stienen et al., 1999 estudaram os efeitos de 30 mM de Pi e pH 6,2, para simular os efeitos da fadiga muscular severa. Foi observada uma perda marcante da força com relação ao controle (63%), e uma perda significativa da atividade ATPásica, tanto de actomiosina quanto total (tabela I). Danos à atividade de actomiosina por oxidação também têm sido estudados, uma vez que já se demonstrou que músculo esquelético possui isoformas da óxido nítrico sintase neuronal e endotelial (KOBZIK et al., 1995), e ainda especula-se sobre a sua função nesse tecido. Óxido nítrico é um soluto relativamente não-polar que está implicado em uma variedade de funções em diferentes tecidos, incluindo relaxamento de músculo liso. Perkins et al (1997) determinou os efeitos diretos de um doador de NO (nitroprussiato de sódio ou SNP) em fibras de músculo esquelético. Houve uma relação entre aumento da

concentração de SNP e decréscimo da força máxima, seguido de uma queda de 35% da atividade de actomiosina quando esta é exposta a uma concentração de 5 mM de SNP, onde suas comparações com os efeitos do agente redutor específico N-etilmaleimida (NEM) e do antioxidante DTT concluiu que o doador de NO SNP inibe a função contrátil por oxidar de forma reversível os grupos tiol da molécula.

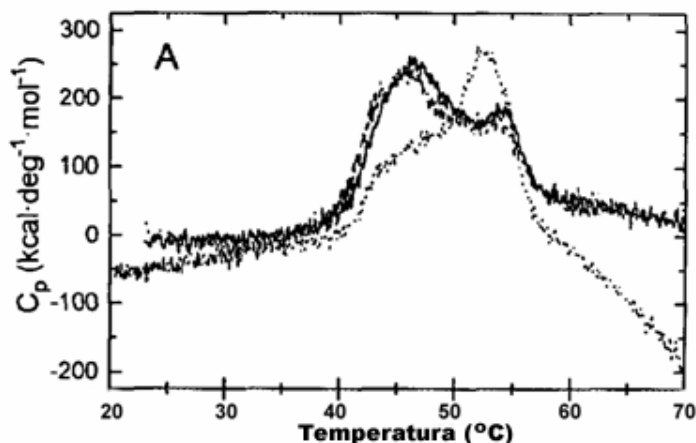


Figura 9 - DSC (*differential scanning calorimetry*) para miosina de músculo esquelético de coelho (470.000 Mr). Scan com DSC foi obtido usando a concentração de proteína de 1.0 mg/mL e taxa de varredura de 60°C/h (linha escura), e 90°C/h na presença de 5 mM de Mg-AMP-PNP (linha pontilhada). Os dados foram corrigidos com a linha base do instrumento e normalizado para a concentração de miosina. (modificado de ZOLKIEWSKI et al., 1995).

Tabela I - Resumo dos efeitos de Pi e pH na atividade ATPásica e desenvolvimento da força.

	Controle 0 Pi pH 7,1 (%)	pH 6,2 (%)	30 mM Pi (%)	30 mM Pi pH 6,2 (%)	Mudança relativa (30 mM Pi e pH 6,2) (%)
Atividade ATPásica Total	100	72 ± 2	82 ± 3	47 ± 2	-53 ± 2*
Atividade ATPásica de Actomiosina	59 ± 2	59 ± 4	46 ± 3	40 ± 3	-32 ± 7*
Força	100	79 ± 5	38 ± 2	37 ± 3	-63 ± 3*

As médias dos valores da atividade ATPásica total pelo volume, e da força por área de secção foram, respectivamente, $0,26 \pm 0,01 \text{ mM}\cdot\text{s}^{-1}$ e $59 \pm 3 \text{ kN}\cdot\text{m}^{-2}$ ($n = 44$). A atividade ATPásica de actomiosina foi expressa relativa à atividade ATPásica total. Valores correspondem à média \pm S.E.M de 10 (30 mM Pi), 6 (pH 6,2) e 8 (30 mM Pi e pH 6,2) preparações diferentes. * $P < 0,05$ comparado com controle.

- FADIGA METABÓLICA

A fonte imediata de energia para a contração muscular é a molécula de ATP (adenosina trifosfato). Esta molécula deve ser constantemente regenerada, pois os estoques intracelulares são limitados, portanto a sua contínua regeneração é fundamental para a manutenção da força muscular durante o exercício físico. Durante os processos de produção de muita energia, como nos exercícios de alta intensidade, isso é obtido pela produção não oxidativa de ATP (processo denominado anaeróbio), prevalecendo nesse sentido a via glicolítica a partir da quebra do glicogênio muscular para a degradação em lactato e pelo sistema de regeneração da ATP, creatinafosfato. Destarte, quando há uma baixa produção de energia, como no caso de exercícios prolongados de baixa intensidade, todo o ATP é fornecido pela degradação oxidativa de substratos metabólicos como o glicogênio muscular, a glicose sérica, os ácidos graxos livres oriundos dos músculos ou do tecido adiposo. Esses processos metabólicos são de suma importância durante a realização de exercício físico (COYLE et al., 1986; KATZ et al., 1991). Muitos pesquisadores têm voltado suas atenções para os processos metabólicos que desencadeiam a fadiga, o que leva a perda de força ou energia muscular. Nesse sentido tem-se dado atenção para as alterações metabólicas que possam contribuir para o processo de desenvolvimento da fadiga. A depleção de substratos utilizados na produção de energia e o acúmulo de derivados metabólicos são fatores que podem contribuir para o desenvolvimento da fadiga.

- Depleção do substrato

Durante a realização de exercícios físicos prolongados, os níveis séricos de glicose declinam progressivamente, bem como uma diminuição dos níveis hepáticos de glicogênio (COYLE et al., 1986). A oxidação de glicose é considerada como fonte preferencial de energia pelo cérebro e um sistema contínuo de fornecimento é essencial, uma vez que o estoque neuronal de glicose (glicogênio) é limitado (IBRAHIM, 1975; PELLEGRINI et al., 1996). Uma reduzida disponibilidade de glicose sérica está associada a uma reduzida taxa de oxidação de carboidratos e fadiga (COYLE et al., 1983; COYLE et al., 1986). Como a glicose é o principal combustível metabólico para o cérebro, um quadro de hipoglicemia pode reduzir a captação de glicose pelo cérebro e contribuir para o quadro de fadiga central (NYBO e SECHER, 2004). A ingestão de glicose por meio de suplementação com carboidratos leva a uma melhora no desempenho de exercício de longa duração (COYLE et al., 1983; COYLE et al., 1986), possivelmente devido a uma maior disponibilidade desse substrato e uma maior oxidação pelo tecido muscular (McCONNELL et al., 1994; SPENCER et al., 1991; KATZ et al., 1991), bem como um aumento no equilíbrio energético muscular (Spencer et al., 1991). Contudo isso não parece estar relacionado a uma redução da utilização do glicogênio muscular (COYLE et al., 1986). A melhora observada pela ingestão de carboidratos durante a realização de exercícios físicos prolongados pode ser decorrente de uma melhora no balanço energético cerebral e da manutenção do papel do sistema nervoso central. É observado, também, uma melhora no desempenho do esforço físico pela ingestão de carboidratos, em exercícios intermitentes como nos de

revesamento (WELSH et al., 2002; WINNICK et al., 2005).

A importância do glicogênio muscular em exercícios de endurance tem sido reconhecido desde a década de 60 (HERMANSEN, 1967; BERGSTROM et al., 1967). Demonstra-se que as alterações nos níveis dos estoques musculares de glicogênio, durante a realização de exercícios de longa duração, tem seus efeitos na troca de utilização de substratos pelo músculo (PERNOW e SALTIN, 1971). Mudanças que podem ter seus efeitos secundários na manutenção dos níveis plasmáticos de substratos e hormônios, bem como em fatores intracelulares relacionados com o metabolismo muscular do glicogênio (STEENBERG et al., 2002). A alta disponibilidade de glicogênio antes do exercício parece resultar num aumento da glicogenólise durante o exercício (GOLLNICK et al., 1972; HARGREAVES et al., 1995). Observa-se uma relação linear na mudança dos níveis musculares de glicogênio no pré-exercício e sua subsequente utilização durante o exercício (HARGREAVES et al., 1995). Sabe-se que o glicogênio pode ligar-se à glicogênio fosforilase e aumentar a atividade dessa enzima, o que pode explicar o aumento da glicogenólise durante o exercício, quando se tem níveis elevados de glicogênio (SHEARER et al., 2001). Uma hipótese tem sido apresentada de que a depleção dos níveis de glicogênio muscular possa estar relacionada com a fadiga, o que resultaria de uma incapacidade de manutenção de uma taxa suficiente de resíntese de ATP, como resultado secundário da disponibilidade reduzida de piruvato e de intermediários metabólicos (SAHLIN et al., 1990). Contudo, estudo posterior mostrou que ocorre pouca alteração nos níveis musculares de ATP, PCr, ou intermediários metabólicos após exercício até causar fadiga, mesmo com diferentes níveis de glicogênio muscular antes do exercício (BALDWIN et al., 2003). A possível relação entre a depleção desse substrato e a fadiga permanece impreciso, no entanto não se pode desprezar a sua participação no desencadeamento da fadiga, o que pode ocorrer por via indireta, pois a depleção do glicogênio muscular pode comprometer o acoplamento excitação-contracção (CHIN e ALLEN, 1997; STEPHENSON et al., 1999).

A concentração citoplasmática de ATP em todas as células é muito importante, pois a sua hidrólise provê a energia necessária para processos celulares vitais, bem como atua como uma molécula regulatória. Em uma fibra muscular em repouso a concentração citoplasmática de ATP é de ~7-8 mM, embora haja variações nessa concentração de acordo com o tipo de fibra muscular (KARATZAFERI et al., 2001). Esse nível é mantido em muitas circunstâncias pela glicólise aeróbia ou anaeróbia e, por um menor período, pela reação da creatina cinase as expensas da utilização dos altos níveis de creatina fosfato, que em condições normais tem uma concentração de ~40 mM (FITTS, 1994; ALLEN et al., 1995). A molécula de ATP tem seus níveis intracelulares reduzidos durante a realização de exercício intenso, com uma queda na concentração de ~35%, isso observado para fibras mistas; contudo em fibras musculares do tipo II os níveis de ATP podem cair significativamente durante o exercício intenso, a ponto de limitar a capacidade dessas fibras em contribuir para a produção de energia (CASEY et al., 1996). A redução temporal e espacial na disponibilidade dessa biomolécula no meio intracelular pode comprometer as funções de enzimas importantes no processo de contracção

muscular (FITTS, 1994; ALLEN et al., 1995). Essa diminuição nos níveis de ATP pode contribuir para o processo de fadiga, uma vez que ela é o principal substrato energético para processos enzimáticos importantes durante o exercício (FITTS, 1994; ALLEN et al., 1995; DUTKA e LAMB, 2004). O acoplamento do processo fisiológico de excitação-contração e a produção de força em fibras musculares tem sido alterado pela diminuição dos níveis de ATP (DUTKA e LAMB, 2004). Em seres humanos, durante exercícios de alta intensidade e de curta duração, ou nos últimos estágios de exercícios de longa duração, tem-se observado um aumento nos subprodutos gerados pela quebra da ATP, o que sugere que as taxas de utilização de ATP sejam superiores as taxas de ressíntese de ATP (SAHLIN et al., 1998). Seja pela vias oxidativas, ou pelo sistema da fosfocreatina, que após o exercício máximo, também se encontra quase totalmente depletado (BOGDANIS et al., 1995; CASEY et al., 1996).

- Acúmulo de derivados metabólicos

Durante a atividade física, o músculo esquelético e o tecido sanguíneo experimentam mudanças tanto na concentração de lactato quanto na variação do pH, que em ambos os tecidos tem sido relacionado com a produção de ácido láctico. Interpretações tradicionais assumem que, devido ao baixo pKa (pH – 3,87) do grupo funcional carboxila do ácido láctico, possa ocorrer uma ionização através da mudança do pH celular do músculo esquelético (~6,2-7,0), o que é conhecida como acidose láctica (HAGBERG, 1985; SAHLIN et al., 1981; SAHLIN e HENRIKSSON, 1984; SAHLIN et al., 1998). A rápida quebra de glicose e glicogênio no músculo durante o exercício de alta intensidade leva a um aumento na produção de lactato (FITTS e HOLLOSZY, 1976; BANGSBO et al., 1996). Entretanto, o íon lactato parece não exercer qualquer função negativa significativa na capacidade de geração de força pelo músculo esquelético (BANGSBO et al., 1990, HARMER et al., 2000). Uma consequência importante do metabolismo é o aumento da concentração de íons H⁺ (acidose) como resultado da alta taxa de hidrólise de ATP, da produção não-oxidativa de ATP e do transporte de íons K⁺ através da membrana celular do músculo (BANGSBO et al., 1996; NILESEN et al., 2001). O processo de excitação-contração pode ser um dos eventos prejudicados devido ao aumento da concentração de íons H⁺ e, assim, interferir na produção de força nos miofilamentos, pois o aumento intracelular de H⁺ pode estar associado com a inibição dos sítios de ligação de Ca²⁺ da troponina C, (o que impediria a interação actina-miosina), diminuição da atividade da Ca-ATPase sarcoplasmática e do sarcolema responsáveis pela manutenção da concentração mioplasmática de Ca²⁺, contribuindo assim para o desenvolvimento da fadiga periférica (ALLEN et al., 1989; DUTKA e LAMB, 2004; LINDINGER, 2005; BANGSBO et al., 1996). Observações experimentais mostram que a força isométrica máxima e a energia dinâmica se recuperam rapidamente após o exercício, mesmo em pH constantemente baixo (SAHLIN e REN, 1989; BOGDANIS et al., 1995). No entanto, a capacidade em manter a força isométrica e a produção de energia em humanos é comprometida pela acidose, o que pode ocorrer devido uma regeneração reduzida de ATP (SAHLIN e REN, 1989). No músculo esquelético humano a acidose pode inibir

a quebra do glicogênio (SPRIET et al., 1989) e a produção oxidativa de ATP (JUBRIAS et al., 2003). Observa-se que adaptações ao treinamento podem refletir numa maior capacidade tamponante do músculo esquelético (WESTON et al., 1997). Alguns estudos, baseados na noção de que a acidose intracelular seja a causa principal da fadiga, têm estudado os efeitos do sal de bicarbonato na melhora do desempenho físico em humanos. Tem-se observado uma melhora na capacidade tamponante do pH, tanto intra como extracelular, o que reflete em um efeito ergogênico do sal de bicarbonato (ALLEN et al., 1995; GALLOWAY e MAUGHAN, 1996; NIELSEN et al., 1996; BROCH-LIPS et al., 2007). Sabemos que a atividade muscular pode levar a mudanças no pH intracelular, contudo parece que a acumulação de lactato não seja um dos fatores responsáveis pela perda de força muscular (NIELSEN et al., 2001).

Alguns produtos metabólicos são conhecidos por afetar a capacidade contrátil do músculo esquelético como ADP, Mg^{2+} e P_i (NAGESSESSER et al., 1992; STIENEN et al., 1999). É conhecido que durante o exercício físico intenso a taxa de utilização de ATP excede a produção e a capacidade tamponante de PCr é insuficiente, o que resulta num aumento da concentração de produtos como ADP, Mg^{2+} e P_i . Nas células musculares o aumento da concentração de Mg^{2+} inibe a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, que em associação com o baixo nível na concentração de ATP, compromete a geração de força pelo músculo esquelético (DUTKA e LAMB, 2004). Um aumento na concentração de P_i em associação com uma diminuição do pH reduz a força contrátil e a liberação de Ca^{2+} do retículo sarcoplasmático, o que possivelmente ocorra devido a uma precipitação de fosfato de cálcio (STIENEN et al., 1999; WESTERBLAD e ALLEN, 1996; FYER et al., 1995). No músculo esquelético, concentrações elevadas de ADP retardam a força contrátil e o relaxamento muscular, o que prejudica os miofilamentos e a captação de Ca^{2+} no retículo sarcoplasmático (MACDONALD e STEPHENSON, 2004). Em conjunto esses produtos do metabolismo parecem ser contribuintes para o desenvolvimento da fadiga.

O exercício de alta intensidade ocasiona uma maior utilização energética, provocando consideráveis perturbações metabólicas no tecido muscular, o que resulta no acúmulo de produtos do metabolismo que podem contribuir para a perda da força muscular (HARGREAVES et al., 1998; DUTKA e LAMB, 2004; STIENEN et al., 1999; WESTERBLAD e ALLEN, 1996). Durante o exercício, podem ser produzidos espécies reativas do oxigênio como peróxido de hidrogênio e ânions superóxido, como resultado do metabolismo oxidativo e de outras vias metabólicas. Quando em baixas concentrações esses radicais livres podem ter efeito importante na regulação da função do músculo esquelético, contudo o acúmulo em níveis elevados pode contribuir para o desenvolvimento da fadiga (BARCLAY e HANSEL, 1991; MOOPANAR e ALLEN, 2005). Os miofilamentos são sensíveis às modificações redox, sendo que fibras musculares têm suas funções alteradas quando expostas a espécies reativas do oxigênio (PERKINS et al., 1997; ANDRADE et al., 1998), pois as espécies reativas do oxigênio podem ter um efeito regulatório sobre algumas enzimas (CROWDER e COOKE, 1984).

A amônia é um produto metabólico que pode ser produzida pelo músculo

esquelético como um derivado da hidrólise de ATP ou aminoácidos. Durante o exercício prolongado a concentração plasmática de amônia pode tornar-se marcadamente elevada, o que depende da intensidade e duração do exercício (ERIKSSON et al., 1985; LO e DUDLEY, 1987; AMENT et al., 1997; SNOW et al., 2000). O aumento da produção de amônia é visto como um efeito da desaminação de nucleotídeos e do catabolismo de aminoácidos nas miofibrilas e, embora, alguma quantidade de amônia permaneça no músculo esquelético, a maior parte é liberada na circulação sanguínea. A amônia é capaz de atravessar facilmente a barreira hematoencefálica (BACHMANN, 2002) e, os altos níveis sistêmicos de amônia, pode eventualmente acumular nos espaços intra e extracelular do sistema nervoso central, com potencial efeito na neurotransmissão, no metabolismo cerebral e na circulação (BANISTER e CAMERON, 1990). O sistema nervoso central é dependente da síntese de glutamina, a partir do glutamato, para a remoção do excesso de amônia (SUAREZ et al., 2000). A eliminação de amônia não somente pode reduzir os níveis de glutamato, que é um neurotransmissor excitatório, como também os do ácido γ -aminobutírico, para o qual o glutamato é um precursor. Esse distúrbio na homeostase dos neurotransmissores cerebrais, associados com a hiperamonemia, podem contribuir para um efeito negativo nas funções do corpo durante o exercício (BUTTERWORTH et al., 1988; DAVIS e BAILEY, 1997).

Outro aspecto da influência dos níveis de amônia durante o exercício prolongado é que o aumento da concentração plasmática de amônia pode provocar perturbações cerebrais, que podem influenciar no desenvolvimento da fadiga central (BANISTER e CAMERON, 1990; DAVIS e BAILEY, 1997). Isto é suportado por observações em rato de um acúmulo de amônia cerebral e de mudanças induzidas pelo exercício nos níveis de glutamato, glutamina e GABA (GUEZENEC et al., 1997). Entretanto, em humanos durante exercício de baixa intensidade nenhuma mudança nos níveis de amônia no fluido cerebrospinal foi encontrada, sugerindo que o cérebro possui capacidade suficiente para eliminação da amônia durante o exercício. Contudo, durante o exercício prolongado o aumento contínuo dos níveis da amônia pode ultrapassar o limite cerebral de eliminação da amônia (NYBO et al., 2005). Uma redução nos níveis plasmáticos de amônia durante o exercício pode aumentar a capacidade individual para a exaustão durante o exercício (YUAN et al., 2002; NYBO et al., 2005). Espécies reativas do oxigênio e amônia são alguns dos fatores que pode contribuir para a fadiga, seja ela central ou periférica, sendo que a fadiga pode ser considerada um processo multifatorial que leva a redução do desempenho, quer na realização de exercícios ou na prática de esportes.

Discussão e Perspectivas

Notamos que a força científica está geralmente dividindo suas pesquisas nos estudos da fadiga central, ou na fadiga periférica ou ainda na fadiga metabólica, tentando relacionar a causa ou, o que é mais provável, as causas da fadiga do músculo esquelético, pois parece muito improvável que o estado fisiológico da fadiga tenha apenas uma causa dentre tantas que foram aqui

apontadas. No entanto, a parte mais lúcida das pesquisas tenta relacionar a fadiga não apenas como um fator, ou uma regulação regional, mas sim uma soma de fatores e circunstâncias que em seu conjunto se caracterizam como a fadiga.

As pesquisas nesta área, principalmente nas quatro classes de ATPases discutidas nesse artigo, se direcionam no estudo dos efeitos oxidativos na inibição da função motora e conseqüente promoção da fadiga, fazendo deste, um provável ponto de concentração futuro dos estudos nesta área. Considerando a ampla rede de modificações na célula durante o exercício e mais propriamente na fadiga, podemos postular que o processo da fadiga se dá não apenas pela inativação de um componente muscular ou neurológico (ou ainda neuromuscular), mas sim devido a uma cascata de inativação que provavelmente inclui todos os componentes principais da contração muscular, dentre os quais estão as ATPases, bem como também componentes essenciais do sistema nervoso central.

Ao analisar o contexto da fadiga, fica claro que é injusto apontá-la como uma conseqüência, mas talvez devamos considerá-la como um estado fisiológico temporário cujo objetivo é evitar danos irreversíveis ao tecido em questão. Ainda, é unânime entre os pesquisadores a idéia de que nessa área, deve-se ter muito cuidado ao reunir as informações sobre um determinado aspecto da fadiga, sabendo que existem grandes divergências entre as técnicas usadas para se atingir a fadiga, as técnicas de análise e sua caracterização, bem como na maneira de se reunir os dados. Deve-se considerar também, a utilização do método estatístico adequado, pois este é importantíssimo na exposição dos dados práticos obtidos, podendo facilmente divergir da realidade caso mal utilizado.

Dessa forma, somos levados a concluir que ainda que possuamos uma imensa quantidade de dados sobre os diversos aspectos da fadiga, não há uma definição fatídica sobre as reais causas da fadiga. As informações nessa área estão surgindo exponencialmente na medida em que há um esforço geral para a clarificação desse estado muscular, o que nos deixa confortados com o fato de que em breve teremos mais informações e dados para reunirmos. Uma nova abordagem metodológica tem sido usada nos últimos anos para se identificar modificações na expressão gênica em diferentes estados fisiológicos e/ou patológicos, a análise da expressão de mRNA (RNA mensageiro produzido pela transcrição de determinados genes) por técnica de "c-DNA microarray". Em interessante e pioneiro trabalho, Mahoney et al (2005) identificaram uma série de genes que teriam suas transcrições em mRNA modificadas (aumentada ou inibida), após uma série de exercício de ciclismo à exaustão (75 minutos em alta intensidade), em jovens do sexo masculino saudáveis, através de biopsias de músculo vasto lateral. Em amostras retiradas após 3 horas, 118 genes aumentaram enquanto 8 diminuíram significativamente sua transcrição. Já 48 horas após o evento, foram 29 os genes com transcrição aumentada e 5 diminuída. Entre eles encontram-se genes relacionados com metabolismo e biogênese mitocondrial e também genes relacionados ao transporte de eletrólitos através das membranas (Na^+ - K^+ -ATPase ($\beta 3$), SERCA3, canal de cloreto 4). A análise destes resultados

pode revelar novos genes envolvidos com a recuperação e a adaptação ao exercício de *endurance*, além de alterações relacionadas ao estado de fadiga local.

A formação de imagens por espectroscopia de ressonância magnética é outra metodologia que pode ser muito útil para a compreensão dos mecanismos envolvidos na gênese da fadiga local. Esta técnica não é invasiva, não necessitando da coleta de biópsias, e pode visualizar certas alterações em tempo real, principalmente dos compostos contendo fósforo na sua estrutura (BENDAHAN et al., 2004).

Referências

ALLARD, B.; LAZDUNSKI, M.; ROUGIER, O. Activation of ATP-dependent K⁺ channels by metabolic poisoning in adult mouse skeletal muscle: role of intracellular Mg⁽²⁺⁾ and pH. *J Physiol*. v. 485, n. 1, p. 283-296, 1995.

ALLEN, D. G.; LANNERGREN, J.; WESTERBLAD, H. Muscle cell function during prolonged activity: cellular mechanisms of fatigue. *Exp Physiol*, v. 80, n. 4, p. 497-527, 1995.

ALLEN, D. G.; LEE, J. A.; WESTERBLAD, H. Intracellular calcium and tension during fatigue in isolated single muscle fibres from *Xenopus laevis*. *J Physiol*. v. 415, p. 433-458, 1989. Erratum in: *J Physiol (Lond)*, v. 424, p. 563, 1990.

AMENT, W.; HUIZENGA, J. R.; MOOK, G. A.; GIPS, C. H.; VERKERKE, G. J. Lactate and ammonia concentration in blood and sweat during incremental cycle ergometer exercise. *Int J Sports Med*. v. 18, n. 1, p. 35-39, 1997.

ANDRADE, F. H.; REID, M. B.; ALLEN, D. G.; WESTERBLAD, H. Effect of nitric oxide on single skeletal muscle fibres from the mouse. *J Physiol*. v. 509, n. 1, p. 577-586, 1998.

BACHMANN C. Mechanisms of hyperammonemia. *Clin Chem Lab Med*. v. 40, n. 7, p. 653-662, 2002.

BALDWIN J, SNOW RJ, GIBALA MJ, GARNHAM A, HOWARTH K, FEBBRAIO MA. Glycogen availability does not affect the TCA cycle or TAN pools during prolonged fatiguing exercise. *J Appl Physiol*. v. 94, n. 4, p. 2181-2187, 2003.

BANGSBO, J.; GOLLNICK, P. D.; GRAHAM, T. E.; JUEL, C.; KIENS, B.; MIZUNO, M.; SALTIN, B. Anaerobic energy production and O₂ deficit-debt relationship during exhaustive exercise in humans. *J Physiol*. v. 422, p. 539-359, 1990.

BANGSBO, J.; MADSEN, K.; KIENS, B.; RICHTER, E. A. Effect of muscle acidity on muscle metabolism and fatigue during intense exercise in man. *J Physiol*. v. 495, n. 1, p. 587-596, 1996.

BANISTER E. E CAMERON B. Exercise-induced hyperammonemia: peripheral and central effects. *Int J Sports Med*. v. 11, p. 129-142, 1990.

BARCLAY J. K. E HANSEL M. Free radicals may contribute to oxidative skeletal muscle fatigue. *Can J Physiol Pharmacol.* v. 69, n. 2, p. 279-284, 1991.

BENDAHAN, D.; GIANNESINI, B.; COZZONE, P.J. Functional investigations of exercising muscle: a noninvasive magnetic resonance spectroscopy-magnetic resonance imaging approach. *Cell Mol Life Sci.* v. 61, n. 9, p. 1001-1015, 2004.

BEN-JONATHAN, N. E HNASKO R. Dopamine as a prolactin (PRL) inhibitor. *Endocr Rev,* v. 22, p. 724-763, 2001.

BERCHTOLD, M.; BRINKMEIER, H.; MUNTENER, M. Calcium Ion in Skeletal Muscle: Its Crucial Role for Muscle Function, Plasticity, and Disease. *Physiological Reviews,* v. 80, p. 1215-1265, 2000.

BERGSTROM, J.; HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiol Scand,* v. 71, n. 2, p. 140-150, 1967.

BLANCO, G.; MERCER, R. W. Isozymes of the Na-K-ATPase: heterogeneity in structure, diversity in function. *The American Physiological Society,* v. 275, p. 633-650, 1998.

BLOMSTRAND E. Amino acids and central fatigue. *Amino Acids.* v. 20, p. 25-34, 2001.

BLOMSTRAND, E.; HASSMÉN, P.; EK, S.; EKBLUM, B.; NEWSHOLME, E. A. Influence of ingesting a solution of branched-chain amino acids on perceived exertion during exercise. *Acta Physiol Scand* v. 159, p. 41-49, 1997.

BLOMSTRAND, E.; PERRETT, D.; PARRY-BILLINGS, M.; NEWSHOLME, E.A. Effect of sustained exercise on plasma amino acid concentrations and 5-hydroxytryptamine metabolism in six different brain regions of the rat. *Acta Physiol Scand,* v. 136, p. 473-481, 1989.

BOGDANIS, G. C.; NEVILL, M. E.; BOOBIS, L. H.; LAKOMY, H. K.; NEVILL, A. M. Recovery of power output and muscle metabolites following 30s of maximal sprint cycling in man. *J Physiol.* v. 482, n. 15, p. 467-480, 1995.

BOOTH, J.; MCKENNA, M. J.; RUELL, P. A.; GWINN, T. H.; DAVIS, G. M.; THOMPSON, M. W.; HARMER, A. L.; HUNTER, S. K.; SUTTON, J. Impaired calcium pump function does not slow relaxation in human skeletal muscle after prolonged exercise. *J. Appl. Physiol,* v. 83, n. 2, p. 511-521, 1997.

BUTTERWORTH, R.; GIRARD, G.; GIGUERE, J. Regional differences in the capacity for ammonia removal by brain following portocaval anastomosis. *J Neurochem,* v. 51, n. 2, p. 489-490, 1988.

CARAFOLI, E. Calcium signaling: A tale for all seasons. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* v. 99, n. 3, p. 1115-1122, 2002.

CASEY, A.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; HOWELL, S.; HULTMAN, E.; GREENHAFF, P. L. Metabolic response of type I and II muscle fibers during repeated bouts of maximal exercise in humans. *Am J Physiol.* v. 271, n. 1, p. E38-43, 1996.

CASTILHO, R.; CARVALHO-ALVES, P.C.; VERGESI, A.E.; FERREIRA, S. Oxidative damage to sarcoplasmic reticulum Ca(2+)-pump induced by Fe2+/H2O2/ascorbate is not mediated by lipid peroxidation or thiol oxidation and leads to protein fragmentation. *Mol Cell Biochem.* v. 159, n. 2, p. 105-114, 1996.

CHAOULOFF F. Physical exercise and brain monoamines: a review. *Acta Physiol Scand* v. 137, p. 1-13, 1989.

CHAOULOFF, F.; LAUDE, D.; MERINO, D. Amphetamine and alfa-methyl-p-tyrosine affect the exercise induced imbalance between the availability of tryptophan and synthesis of serotonin in the brain of the rat. *Neuropharmacology* v. 26, p. 1099-1106, 1987.

CHAUDHURI, A.; BEHAN, P. O. Fatigue and basal ganglia. *J Neurol Sci.* v. 179, p. 34-42, 2000.

CHAUDHURI, A.; BEHAN, P. O. Fatigue in neurological disorders. *Lancet.* v. 363, p. 978-988, 2004.

CHIN E. R.; ALLEN D. G. Effects of reduced muscle glycogen concentration on force, Ca²⁺ release and contractile protein function in intact mouse skeletal muscle. *J Physiol.* v. 498, p. 17-29, 1997.

CLAPHAM, D. Calcium signaling. *Cell.* v. 80, p. 259-268, 1995.

COYLE, E. F.; COGGAN, A. R.; HEMMERT, M. K.; IVY, J. L. Muscle glycogen utilization during prolonged strenuous exercise when fed carbohydrate. *J Appl Physiol.* v. 61, n. 1, p. 165-172, 1986.

COYLE, E. F.; HAGBERG, J. M.; HURLEY, B. F.; MARTIN, W. H.; EHSANI, A. A., HOLLOSZY, J. O. Carbohydrate feeding during prolonged strenuous exercise can delay fatigue. *J Appl Physiol.* v. 55, p. 230-235, 1983.

CROWDER M. S.; COOKE R. The effect of myosin sulphhydryl modification on the mechanics of fibre contraction. *J Muscle Res Cell Motil.* v. 5, n. 2, p. 131-146, 1984.

DALSGAARD, M.; IDE, K.; CAI, Y.; QUISTORFF, B.; SECHER, N. H. The intent to exercise influences the cerebral O₂/carbohydrate uptake ratio in humans. *J Physiol* v. 540, p. 681-689, 2002.

DAVIES, K.; QUINTANILHA, A. T.; BROOKS, G. A.; PACKER, L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun.* v. 107, p. 1198-1205, 1982.

DAVIS J. M.; BAILEY S. P. Possible mechanisms of central nervous system fatigue during exercise. *Med Sci Sports Exerc.* v. 29, n. 1, p. 45-57, 1997.

DAVIS, J. M.; BAILEY, S. P.; WOODS, J. A.; GALIANO, F. J.; HAMILTON, M.; BARTOLI, W. P. Effects of carbohydrate feedings on plasma free-tryptophan and branched-chain amino acids during prolonged cycling. *Eur J Appl Physiol.* v. 65, p. 513-519, 1992.

EDSALL, J. T. Studies in the physical chemistry of muscle globulin. II. On some physicochemical properties of muscle globulin (myosin). *J. Biol. Chem.* v. 89, n. 1, p. 289-313, 1930.

ERIKSSON, L.; BROBERG, S.; BJORKMAN, O.; WAHREN, J. Ammonia metabolism during exercise in man. *Clin Physiol.* v. 5, n. 4, p. 325-336, 1985.

FAVERO, T. Sarcoplasmic reticulum Ca release and muscle fatigue. *J Appl Physiol.* v. 87, p. 471-483, 1999.

FERNSTROM, J. D. Dietary amino acids and brain function. *Journal of American Dietetic Association.* v. 94, p. 71-77, 1994.

FERRINGTON, D. A.; REIJNEVELD, J. C.; BAR, P. R.; BIGELOW, D. J. Activation of the sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase induced by exercise. *Biochimica et Biophysica Acta.* v. 1279, p. 203-213, 1996.

FITTS, R. H.; HOLLOSZY J. O. Lactate and contractile force in frog muscle during development of fatigue and recovery. *Am J Physiol.* v. 231, n. 2, p. 430-433, 1976.

FITTS, R. H. Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiol Rev.* v. 74, n. 1, p. 49-94, 1994.

FOTH, B. J.; GOEDECKE, M. C.; SOLDATI, D. New insights into myosin evolution and classification. *PNAS.* V. 103, P. 3681-3686, 2006.

FOWLES, J. R.; GREEN, H. J.; SCHERTZER, J. D.; TUPLING, A. R. Reduced activity of muscle Na-K-ATPase after prolonged running in rats. *Journal of Applied Physiology.* v. 93, p. 1703-1708, 2002.

FOWLES, J. R.; GREEN, H. J.; TUPLING, R.; O'BRIEN, S.; ROY, B. D. Human neuromuscular fatigue is associated with altered Na-K-ATPase activity following isometric exercise. *Journal of Applied Physiology.* v. 92, p. 1585-1593, 2002.

FRASER, S. F.; LI, J. L.; CAREY, M. F.; WANG, X. N.; SANGKABUTRA, T.; SOSTARIC, S.; SELIG, S. E.; KJELDSSEN, K.; MCKENNA, M. J. Fatigue depress maximal in vitro skeletal muscle Na-K-ATPase activity in untrained and trained individuals. *Journal of Applied Physiology.* v. 93, p. 1650-1659, 2002.

FREED, C.; YAMAMOTO, B. Regional brain dopamine metabolism: a marker for the speed, direction and posture of moving animals. *Science*. v. 229, p. 62-65, 1985.

FREEMAN, M.; KANYICSKA, B.; LERANT, A.; NAGY, G. Prolactin: structure, function and regulation of secretion. *Physiol Rev*. v. 80, p. 1523-1631, 2000.

FROEMMING, G. R.; OHLENDIECK, K. Oligomerisation of Ca^{2+} -regulatory membrane components involved in the excitation-contraction-relaxation cycle during postnatal development of rabbit skeletal muscle. *Biochim Biophys Acta*. v. 1387, p. 226-238, 1998.

FRYER, M. W.; OWEN, V. J.; LAMB, G. D.; STEPHENSON, D. G. Effects of creatine phosphate and $P_{(i)}$ on Ca^{2+} movements and tension development in rat skinned skeletal muscle fibres. *J Physiol*. v. 482, n. 1, p. 123-140, 1995.

GALLOWAY, S. D.; MAUGHAN, R. J. The effects of induced alkalosis on the metabolic response to prolonged exercise in humans. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. v. 74, n. 4, p. 384-389, 1996.

GOHIL, K.; VIGUIE, C.; STANLEY, W. C.; BROOKS, G. A.; PACKER, L. Blood glutathione oxidation during human exercise. *Journal of Applied Physiology*. v. 64, p. 115-119, 1988.

GREEN, H.; MCKEE, N. H.; CARVALHO, A. J.; DOSSETT-MERCER, J. Ischemia induced alterations in sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase activity in rat soleus and EDL. *Am J Physiol*. v. 271, p. 1942-1948, 1996.

GREEN, H.; VARSHNEY, R.; PHILLIPS, S.; DOSSETT-MERCER, J. Increases in sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase in rat red muscles with intense exercise. *Med Sci Sports Exerc*. v. 28, n. 5(Suppl122), 1996.

GREEN, H. J. Cation pumps in skeletal muscle: potential role in muscle fatigue. *Acta Physiol Scand*. V. 162, n. 3, p. 201-213, 1998.

GUEZENNEC, C.; ABDELMALKI, A.; SERRURIER, B.; MERINO, D.; BIGARD, X.; BERTHELOT, M.; PIERARD, C.; PERES, M. Effects of prolonged exercise on brain ammonia and amino acids. *Int J Sports Med*. v. 19, n. 5, p. 323-327, 1998.

HAGBERG, H. Intracellular pH during ischemia in skeletal muscle: relationship to membrane potential, extracellular pH, tissue lactic acid and ATP. *Pflugers Arch*. v. 404, n. 4, p. 342-347, 1985.

HARDEBO, J.; OWMAN C. Barrier mechanisms for neuro-transmitter monoamines and their precursors at the blood-brain interface. *Ann Neurol*. v. 8, p. 1-31, 1980.

HARGREAVES, M.; MCCONELL, G.; PROIETTO, J. Influence of muscle glycogen on glycogenolysis and glucose uptake during exercise in humans. *J*

Appl Physiol. v. 78, n. 1, p. 288-292, 1995.

HARGREAVES, M.; MCKENNA, M. J.; JENKINS, D. G.; WARMINGTON, S. A.; LI, J. L.; SNOW, R. J.; FEBBRAIO, M. A. Muscle metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. *J Appl Physiol.* v. 84, n. 5, p. 1687-1691, 1998.

HARMER, A. R.; MCKENNA, M. J.; SUTTON, J. R.; SNOW, R. J.; RUELL, P. A.; BOOTH, J.; THOMPSON, M. W.; MACKAY, N. A.; STATHIS, C. G.; CRAMERI, R. M.; CAREY, M. F.; EAGER, D. M. Skeletal muscle metabolic and ionic adaptations during intense exercise following sprint training in humans. *J Appl Physiol.* v. 89, n. 5, p. 1793-1803, 2000.

HERMANSEN, L.; HULTMAN, E.; SALTIN, B. Muscle glycogen during prolonged severe exercise. *Acta Physiol Scand.* v. 71, n. 2, p. 129-139, 1967.

HILL, A. V.; KUPALOV, P. Anaerobic and Aerobic Activity in Isolated Muscle. *Proc. R. Soc.* v. 105, n. 737, p. 313-328, 1929.

HOCHACHKA, P. W.; BIANCONCINI, M. S. C.; PARKHOUSE, W. S.; DOBSON, G. P. On the role of actomyosin ATPases in regulation of ATP turnover rates during intense exercise. *Proc. Natl. Acad. Sci.* v. 88, p. 5764-5768, 1991.

IBRAHIM, M. Z. Glycogen and its related enzymes of metabolism in the central nervous system. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* v. 52, n. 1, p. 3-89, 1975.

IDE, K.; SCHUMALBRUCH, I. K.; QUISTORFF, B.; HORN, A.; SECHER, N. H. Lactate, glucose and O₂ uptake in human brain during recovery from maximal exercise. *J Physiol.* v. 522, p. 159-164, 2000.

INASHIMA, S.; MATSUNAGA, S.; YASUDA, T.; WADA, M. Effect of endurance training and acute exercise on sarcoplasmic reticulum function in rat fast- and slow-twitch skeletal muscles. *Eur J Appl Physiol.* v. 89, n. 2, p. 142-149, 2003.

JUEL, C.; GRUNNET, L.; HOLSE, M. Reversibility of exercise-induced translocation of Na-K pump subunits to the plasma membrane in rat skeletal muscle. *European Journal of Physiology.* v. 443, p. 212-217, 2001.

JUEL, C.; NIELSEN, J. J.; BANGSBO, J. Exercise-induced translocation of Na-K pump subunits to the plasma membrane in human skeletal muscle. *American J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol.* v. 278, p. 1107-1110, 2000.

KARATZAFERI, C.; DE HAAN, A.; FERGUSON, R. A.; VAN MECHELEN, W.; SARGEANT, A. J. Phosphocreatine and ATP content in human single muscle fibres before and after maximum dynamic exercise. *Pflugers Arch.* v. 442, n. 3, p. 467-474, 2001. Erratum in: *Pflugers Arch.* v. 442, n. 3, p. 475, 2001.

KATZ, A.; RAZ, I.; SPENCER, M. K.; RISING, R.; MOTT, D. M. Hyperglycemia induces accumulation of glucose in human skeletal muscle. *Am J Physiol.* v.

260, n. 4, p. R698-703, 1991.

KRENDEL, M.; MOOSEKER, M. Myosins: Tails (and heads) of functional diversity. *Physiology*. v. 20, p. 239-251, 2005.

LEPPIK, J.; AUGHEY, R.; MEDVED, I.; FAIRWEATHER, I.; CAREY, M.; MCKENNA, M. Prolonged exercise to fatigue in humans impairs skeletal muscle Na^+ - K^+ -ATPase activity, sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} release, and Ca^{2+} uptake. *Journal of Applied Physiology*. v. 97, p. 1414-1423, 2004.

LINDINGER M. I. Intracellular $[\text{H}^+]$: a determinant of cell volume in skeletal muscle. *J Physiol*. v. 563, n. 15, p. 643, 2005.

LO, P. Y.; DUDLEY, G. A. Endurance training reduces the magnitude of exercise-induced hyperammonemia in humans. *J Appl Physiol*. v. 62, n. 3, p. 1227-1230, 1987.

MACDONALD, W. A.; STEPHENSON D. G. Effects of ADP on action potential-induced force responses in mechanically skinned rat fast-twitch fibres. *J Physiol*. v. 559, p. 433-447, 2004.

MACLEAN D. A.; GRAHAM, T. E. Branched-chain amino acid supplementation augments plasma ammonia responses during exercise in humans. *J Appl Physiol* v. 74, p. 2711-2717, 1993.

MACLEAN, D. A.; GRAHAM, T. E.; SALTIN, B. Branched-chain amino acids augment ammonia metabolism while attenuating protein breakdown. *Am J Physiol*. v. 267, p. E1010-E1022, 1994.

MAHONEY, D. J.; PARISE, G.; MELOV, S.; SAFDAR, A.; TARNOPOLSKY, M. A. Analysis of global mRNA expression in human skeletal muscle during recovery from endurance exercise. *FASEB J*. v. 19, p. 1498-1500, 2005.

MARTONOSI, A. N. Structure-function relationships in the $\text{Ca}^{(2+)}$ -ATPase of sarcoplasmic reticulum: facts, speculations and questions for the future. *Biochim Biophys Acta*. v. 1275, p. 111-117, 1996

MATSUNAGA, S.; INASHIMA, S.; YAMADA, T.; WATANABE, H.; HAZAMA, T.; WADA, M. Oxidation of sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase induced by high-intensity exercise. *European Journal of Physiology*. v. 446, p. 394-399, 2003.

MCCONELL, G.; FABRIS, S.; PROIETTO, J.; HARGREAVES, M. Effect of carbohydrate ingestion on glucose kinetics during exercise. *J Appl Physiol*. v. 77, p. 1537-1541, 1994.

MCCONELL, G.; MCCOY, M.; PROIETTO, J.; HARGREAVES, M. Skeletal muscle GLUT-4 and glucose uptake during exercise in humans. *J Appl Physiol*. v. 77, p. 1565-1568, 1994.

MCCONELL, G.; SNOW, R. J.; PROIETTO, J.; HARGREAVES, M. Muscle

metabolism during prolonged exercise in humans: influence of carbohydrate availability. *J Appl Physiol.* v. 87, p. 1083-1086, 1999.

MCKENNA, M. J.; GISSEL, H.; CLAUSEN, T. Effects of electrical stimulation and insulin on Na-K-ATPase ([H]ouabain binding) in rat skeletal muscle. *Journal of Physiology.* v. 547, p. 567-580, 2003.

MEEUSEN, R.; DE MEIRLEIR, K. Exercise and brain neurotransmission. *Sports Med.* v. 20, p. 160-188, 1995.

MITTLEMAN, K. D.; RICCI, M. R.; BAILEY, S. P. Branched-chain amino acids prolong exercise during heat stress in men and women. *Med Sci Sports Exerc.* v. 30, p. 83-91, 1998.

MOOPANAR, T. R.; ALLEN, D. G. Reactive oxygen species reduce myofibrillar Ca^{2+} sensitivity in fatiguing mouse skeletal muscle at 37 degrees C. *J Physiol.* v. 564, p. 189-199, 2005.

NAGESSER, A. S.; VAN DER LAARSE, W. J.; ELZINGA, G. Metabolic changes with fatigue in different types of single muscle fibres of *Xenopus laevis*. *J Physiol.* v. 448, p. 511-523, 1992.

NEWSHOLME, E. A. Application of knowledge of metabolic integration to the problem of metabolic limitations in middle distance and marathon running. *Acta Physiol Scand.* v. 128, p. 93-97, 1996.

NIELSEN, H. B.; BREDMOSE, P. P.; STROMSTAD, M.; VOLIANITIS, S.; QUISTORFF, B.; SECHER, N. H. Bicarbonate attenuates arterial desaturation during maximal exercise in humans. *J Appl Physiol.* v. 93, p. 724-731, 2002.

NIELSEN, O. B.; DE PAOLI, F.; OVERGAARD, K. Protective effects of lactic acid on force production in rat skeletal muscle. *J Physiol.* v. 536, n. 161-166, 2001.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Perceived exertion during prolonged exercise with progressive hyperthermia is associated with an altered electrical activity of the brain. *J Appl Physiol.* v. 91, p. 2017-2023. 2001.

NYBO, L.; NIELSEN, B. Hipertermia and central fatigue during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol.* v. 91, p. 1055-1060, 2001.

NYBO, L.; SECHER, N. H. Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. *Prog Neurobiol.* v. 72, p. 223-261, 2004.

NYBO, L.; DALSGAARD, M. K.; STEENSBERG, A.; MØLLER, K.; SECHER, N. H. Cerebral ammonia uptake and accumulation during prolonged exercise in humans. *J Physiol.* v. 563, p. 285-290, 2005.

NYBO, L.; NIELSEN, B.; BLOMSTRAND, E.; MØLLER, K.; SECHER, N. Neurohumoral responses during prolonged exercise in humans. *J Appl Physiol.*

v. 95, p. 1125-1131, 2003.

PELLEGRI, G.; ROSSIER, C.; MAGISTRETTI, P. J.; MARTIN, J. L. Cloning, Localization And Induction Of Mouse Brain Glycogen Synthase. *Brain Res Mol Brain Res*. v. 38, p. 191-199, 1996.

PERKINS, W. J.; HAN, Y.; SIECK, G. C. Skeletal muscle force and actomyosin ATPase activity reduced by nitric oxide donor. *J. Appl. Physiol*. v. 83, p. 1226-1332, 1997.

PERNOW, B.; SALTIN, B. Availability of substrates and capacity for prolonged heavy exercise in man. *J App Physiol*. v. 31, p. 416-422, 1971.

ROSSI, L.; TIRAPEGUI, J. Aspectos atuais sobre exercício físico, fadiga e nutrição. *Rev. Paul. Educ. Fís*. v. 13, p. 67-82, 1999.

SAHLIN, K.; HENRIKSSON, J. Buffer capacity and lactate accumulation in skeletal muscle of trained and untrained men. *Acta Physiol Scand*. v. 122, p. 331-339, 1984.

SAHLIN, K.; REN, J. M. Relationship of contraction capacity to metabolic changes during recovery from a fatiguing contraction. *J Appl Physiol*, v. 67, p. 648, 1989.

SAHLIN, K.; EDSTROM, L.; SJOHOLM, H.; HULTMAN, E. Effects of lactic acid accumulation and ATP decrease on muscle tension and relaxation. *Am J Physiol*. v. 240, p. C121-126, 1981.

SAHLIN, K.; FERNSTRÖM, M.; SVENSSON, M.; TONKONOJI, M. No evidence of an intracellular lactate shuttle in rat skeletal muscle. *J Physiol*. v. 541, p. 569-574, 2002.

SAHLIN, K.; TONKONOJI, M.; SODERLUND, K. Energy supply and muscle fatigue in humans. *Acta Physiol Scand*. v. 162, p. 261-266, 1998.

SANDIFORD, S.; GREEN, H.; DUHAMEL, T.; PERCO, J.; SCHERTZER, J.; OUYANG, J. Inactivation of human muscle Na⁺-K⁺-ATPase in vitro during prolonged exercise is increased with hypoxia. *Journal of Applied Physiology*. v. 96, p. 1767-1775, 2004.

SCHERTZER, J. D.; GREEN, H. J.; DUHAMEL, T. A.; TUPLING, A. R. Mechanisms underlying increases in SR Ca-ATPase activity after exercise in rat skeletal muscle. *American Journal of Physiology Endocrinol. Metab*. v. 284, p. 597-610, 2003.

SCHERTZER, J. D.; GREEN, H. J.; FOWLES, J. R.; DUHAMEL, T. A.; TUPLING, A. R. Effects of prolonged exercise and recovery on sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ cycling properties in rat muscle homogenates. *Acta Physiol Scand*. v. 180, p. 195-208, 2004.

SCHERTZER, J. D.; GREEN, H. J.; TUPLING, A. R. Thermal instability of rat muscle sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase function. *American Journal of Physiol. Endocrinol. Metab.* v. 283, p. 722-728, 2002.

SCOTT, W.; STEVENS, J.; BINDER-MACLEOD, S. Human Skeletal Muscle Fiber Type Human Skeletal Muscle Fiber Type Classifications. *Physical Therapy.* v. 81, p. 1810-1816, 2001.

SHEARER, J.; MARCHAND, I.; TARNOPOLSKY, M. A.; DYCK, D. J.; GRAHAM, T. E. Pro and macroglycogenolysis during repeated exercise: roles of glycogen content and phosphorylase activation. *J Appl Physiol.* v. 90, p. 880-888, 2001.

SIMMERMAN, H. K.; JONES, L. R. Phospholamban: protein structure, mechanism of action, and role in cardiac function. *Physiol Rev.* v. 78, p. 921-947, 1998.

SNOW, R.; CAREY, M.; STATHIS, C.; FEBBRAIO, M.; HARGREAVES M. Effect of carbohydrate ingestion on ammonia metabolism during exercise in humans. *J Appl Physiol.* v. 88, p. 1576-1580, 2000.

SPENCER, M. K.; KATZ, A. Role of glycogen in control of glycolysis and IMP formation in human muscle during exercise. *Am J Physiol.* v. 260, p. E859-864, 1991.

SPRIET, L. L.; LINDINGER, M. I.; MCKELVIE, R. S.; HEIGENHAUSER, G. J.; JONES, N. L. Muscle glycogenolysis and H⁺ concentration during maximal intermittent cycling. *J Appl Physiol.* v. 66, p. 8-13, 1989.

STEPHENSON, D. G.; NGUYEN, L. T.; STEPHENSON, G. M. Glycogen content and excitation-contraction coupling in mechanically skinned muscle fibres of the cane toad. *J Physiol.* v. 519, n. 177-187, 1999.

STIENEN, G. J. M.; PAPP, Z.; ZAREMBA, R. Influence of inorganic phosphate and pH on Sarcoplasmic reticular ATPase in skinned muscle fibres of *Xenopus laevis*. *Journal of Physiology.* v. 518, p. 735-744, 1999.

STOKES, D. L.; WAGENKNECHT, T. Calcium transport across the sarcoplasmic reticulum: Structure and function of Ca²⁺-ATPase and the ryanodine receptor. *Eur. J. Biochem.* v. 267, p. 5274-5279, 2000.

TUPLING, A. R.; GREEN, H. J.; ROY, B. D.; GRANT, S.; OUYANG, J. Paradoxical effects of prior activity on human sarcoplasmic reticulum Ca-ATPase response to exercise. *Journal of Applied Physiological.* v. 95, p. 138-144, 2003.

VANHALL, G.; RAAYMAKERS, J. S. H.; SARIS, W. H. M.; WAGENMAKERS, A. J. M. Ingestion of branched-chain amino acids and tryptophan during sustained exercise in man: failure to affect performance. *J Physiol.* v. 486, p. 789-794, 1995.

VARNIER, M.; SARTO, P.; MARTINES, D.; LORA, L.; CARMIGNOTO, F.; LEESE, G. P.; NACCARATO, R. Effect of infusing branched-chain amino acid during incremental exercise with reduced muscle glycogen content. *Eur J Appl Physiol* v. 69, p. 26-31, 1994.

WALLENIIUS, V.; WALLENIIUS, K.; AHRÉN, B.; RUDLING, M.; CARLSTEN, H.; DICKSON, S. L.; OHLSSON, C.; JANSON, J. O. Interleukin-6 deficient mice develop mature-onset obesity. *Nature Medicine* v. 8, p. 75-79, 2002.

WELSH, R. S.; DAVIS, J. M.; BURKE, J. R.; WILLIAMS, H. G. Carbohydrates and physical/mental performance during intermittent exercise to fatigue. *Med Sci Sports Exerc.* v. 34, p. 723-731, 2002.

WESTERBLAD H.; ALLEN, D. G. The effects of intracellular injections of phosphate on intracellular calcium and force in single fibres of mouse skeletal muscle. *Pflugers Arch.* v. 431, p. 964-970, 1996.

WESTERBLAD, H.; ALLEN, D.G. Recent Advances in the Understanding of Skeletal Muscle Fatigue. *Curr Opin Rheumatol.* v. 14, p. 648-652, 2002.

WESTON, A. R.; MYBURGH, K. H.; LINDSAY, F. H.; DENNIS, S. C.; NOAKES, T. D.; HAWLEY, J. A. Skeletal muscle buffering capacity and endurance performance after high-intensity interval training by well-trained cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* v. 75, p. 7-13, 1997.

WIDRICK, J. J.; COSTILL, D. L.; FINK, W. J.; HICKEY, M. S.; MCCONELL, G. K.; TANAKA, H. Carbohydrate feedings and exercise performance: effect of initial muscle glycogen concentration. *J Appl Physiol.* v. 74, p. 2998-3005, 1993.

WILLIAMS, J.; WARD, C.; SPANGENBURG, E.; NELSON, R. M. Functional aspects of skeletal muscle contractile apparatus and sarcoplasmic reticulum after fatigue. *The American Physiological Society.* v. 85, p. 619-626, 1998.

WINNICK, J. J.; DAVIS, J. M.; WELSH, R. S.; CARMICHAEL, M. D.; MURPHY, E. A.; BLACKMON, J. A. Carbohydrate feedings during team sport exercise preserve physical and CNS function. *Med Sci Sports Exerc.* v. 37, p. 306-315, 2005.

WRIGHT, D. A.; SHERMAN, W. M.; DERNBACH, A. R. Carbohydrate feedings before, during or in combination improve cycling endurance performance. *J Appl Physiol.* v. 7, p. 1082-1088, 1991.

WU, K. D.; LEE, W. S.; WEY, J.; BUNGARD, D.; LYTTON, J. Localization and quantification of endoplasmic reticulum Ca⁽²⁺⁾-ATPase isoform transcripts. *Am J Physiol Cell Physiol.* v. 269, p. 775-784, 1995.

WUYTACK, F.; RAEYMAEKERS, L.; DE SMEDT, H.; EGGERMONT, J. A.; MISSIAEN, L.; VAN DEN BOSCH, L.; DE JAEGERE, S.; VERBOOMEN, H.; PLESSERS, L.; CASTEELS, R. Ca⁽²⁺⁾-transport ATPases and their regulation in muscle and brain. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* v. 671, p. 82-91, 1992.

YAMAMOTO, T.; NEWSHOLME, E. Diminished central fatigue by inhibition of the L-system transporter for the uptake of tryptophan. *Brain Research Bulletin*. v. 52, p. 35-38, 2000.

YAMAMOTO, T.; CASTELL, L. M.; BOTELLA, J.; POWELL, H.; HALL, M.; YOUNG, A.; NEWSHOLME, E. A. Changes in the albumin binding tryptophan during post-operative recovery: A possible link with central fatigue? *Brain Res. Bull.* v. 43, p. 43-46, 1997.

YASUDA, T.; INASHIMA, S.; SASAKI, S.; KIKUCHI, K.; NIIHATA, S.; WADA, M.; KATSUTA, S. Effects of exhaustive exercise on biochemical characteristics of sarcoplasmic reticulum from rat soleus muscle. *Acta Physiol Scand.* v. 165, p. 45-50, 1999.

YUAN, Y.; SO, R.; WONG, S.; CHAN, K. M. Ammonia threshold- comparasion to lactate threshold, correlation to other physiological parameters and response to training. *Scand J Med Sci Sports.* v. 12, p. 358-364, 2002.

ZOLKIEWSKI, M.; REDOWICZ, M. J.; KORN, E. D.; GINSBURG, A. Thermally induced unfolding of Acanthamoeba myosin II and skeletal muscle myosin: nucleotide effects. *Arch Biochem Biophys.* v. 318, p. 207-214, 1995.