

異なる脂質含量の食餌がラットの骨格筋ミトコンドリア酵素活性および 持久性運動パフォーマンスに及ぼす影響

Effects of difference of dietary fat contents on muscle mitochondrial enzyme activities
and endurance exercise performance in rats.

東田一彦^{1, 3)}, 園生智広²⁾, 藤本恵理¹⁾, 樋口満^{1, 3)}

¹⁾早稲田大学スポーツ科学学術院

²⁾和歌山県立医科大学

³⁾早稲田大学重点領域研究機構アクティブ・エイジング研究所

Kazuhiko Higashida^{1), 3)}, Tomohiro Sonou²⁾, Eri Fujimoto¹⁾, Mitsuru Higuchi^{1), 3)}

¹⁾ Faculty of Sport Sciences, Waseda University

²⁾ Department of Internal Medicine, Wakayama Medical University

³⁾ Institute of Advanced Active Aging Research, Waseda University

キーワード: 高脂肪食, ラット, 骨格筋, ミトコンドリア, 持久性運動パフォーマンス

Key words: high-fat diet, rat, skeletal muscle, mitochondria, endurance performance

Abstract

The purpose of this study was to determine the effect of different dietary fat contents on muscle mitochondrial enzyme activities and endurance performance in rats. Four-week-old male Wistar rats were fed either normal fat diet (12.5% of energy from fat, CON) group, or moderate fat diet (40% of energy from fat, MF) group or high fat diet (60% of energy from fat, HF) group for 4 weeks. After the 4-week diet intervention, rats performed endurance exercise test by treadmill. Three days after exercise test, plantaris muscles were dissected out for measurements of mitochondrial enzyme activities and glycogen concentration. Although the body weight was not significantly different among the three groups, relative intra-abdominal fat mass was higher in HF group than CON and MF groups. Beta-hydroxacyl-CoA dehydrogenase (β -HAD) activity in plantaris muscle was significantly higher in MF and HF groups than CON group. Muscle citrate synthase activity and glycogen concentration were not significantly different among the three groups. Endurance running performance in MF and HF groups were significantly higher compared with CON group. These results suggested that 4-wk moderate high fat diet (40% of energy from fat) improves muscle fatty acid oxidative enzyme activity and endurance performance without an increase in intra-abdominal fat mass in rats.

スポーツ科学研究, 12, 137-144, 2015年, 受付日:2015年6月4日, 受理日:2015年10月14日

連絡先: 東田一彦. 滋賀県立大学人間文化学部〒522-8533 彦根市八坂町 2500

TEL:0749-28-8258, higashida.k@shc.usp.ac.jp

I. 緒言

持久性な運動トレーニングを行うことで, 骨格筋のミトコンドリアが増加し, 酸化系酵素の活性が高まる. これにより運動時の脂質酸化が亢進し,

筋グリコーゲンを節約することで持久性運動パフォーマンスの改善につながると考えられている (Holloszy et al. 1998). 一方, 高脂肪食を数週間摂取することによっても, 持久性運動トレーニング

と同様に骨格筋内のミトコンドリア脂肪酸酸化能力を向上させることが先行研究により報告されている。Miller et al.(1984)は、ラットを用いて 5 週間、高脂肪食を摂取させた場合、筋グリコーゲン濃度が低下するにも関わらず、持久性運動パフォーマンスが有意に増加することを報告している。これは、長期間の高脂肪食摂取により、運動時の脂質代謝が促進することによって、筋グリコーゲンの利用が節約されたためだと考えられている。したがって、これらの研究結果は、高脂肪食による食事介入が持久性競技の運動パフォーマンスを向上させるために有用である可能性を示唆するものである。

しかし、長期に高脂肪食を摂取した場合、骨格筋のミトコンドリア酵素活性や持久性運動パフォーマンスを高める一方で、著しい体重や内臓脂肪量の増加が認められる(Miller et al., 1984, 東田ら, 2008)。内臓脂肪の蓄積は、インスリン抵抗性をはじめとする生活習慣病の発症を引き起こすことから、実際に運動選手が長期にわたり高脂肪食を摂取することは難しい。そのため、内臓脂肪の増加を伴わず、ミトコンドリア酵素活性を高める食事介入法の開発が必要である。

動物実験で用いられる通常飼料の脂質エネルギー比は、12.5~15%ほどであるのに対し、高脂肪食摂取による骨格筋のミトコンドリア酵素活性の亢進を報告している多くの先行研究では、高脂肪食はエネルギー比で 60~90%以上の脂質含む食餌を用いている(Miller et al. 1984, Simi et al. 1991, Lee et al. 2001)。一方、骨格筋のミトコンドリア酵素活性や持久性運動パフォーマンスの亢進を引き起こす、最低量の脂質摂取量はこれまで検討されていない。内臓脂肪の蓄積を伴わずに、骨格筋のミトコンドリア酵素活性を高めることが可能となる食餌中の脂質含量が明らかになれば、生活習慣病発症のリスクを伴わずに持久性運動パフォーマンスを向上させることが可能となるかもしれない。

そこで本研究では、3 種類の異なる脂肪含量の食餌を用い、比較的中等度の脂肪食(脂質エネルギー比 40%)が、内臓脂肪の蓄積を伴わずに骨格筋のミトコンドリア酸化系酵素活性を高め、持久性運動パフォーマンスを亢進させることができるかを検討した。その際、動物性脂肪と比較して内臓脂肪の蓄積が少ないことが報告されているオリーブ油による高脂肪食を用いて検討した。

II. 方法

1. 実験動物および飼育条件

本実験では、体重が 90~110 g の 4 週齢 Wistar 系雄ラット(日本クレア)を用いた。ラットは、室温 23°C、湿度 30%、午後 9 時~午前 9 時を暗期に設定した飼育室において、ステンレス製ケージを使用し、2~3 匹ずつ飼育した。予備飼育期間には、飼料として市販の粉末飼料(CE-2:日本クレア社)と飲料として水道水を自由摂取させた。

予備飼育終了後、ラットを 1)普通食群(Control; CON, n=6), 2)中等度高脂肪食群(Moderate fat diet; MF, n=6), 3)高脂肪食群(HF, n=6)の 3 群に分けた。CON 群, MF 群および HF 群には、エネルギー比で脂質の割合がそれぞれ 12.5%, 40%および 60%となるように設定し、オリーブ油(味の素)、スクロース(三井製糖)、カゼイン(日本クレア)、ビタミン Mix (AIN-93 Mix, 日本クレア)、ミネラル Mix(AIN-93G Mix, 日本クレア)、メチオニン(和光純薬工業)を混合したものを 4 週間摂取させた。我々の先行研究より、オリーブ油を用いた高脂肪食を摂取させた場合、動物性脂肪であるラードからなる高脂肪食を摂取させた場合よりも内臓脂肪量が少なく、3-HAD 酵素活性が亢進することが明らかとなっている(東田ら, 2008)。そのため、本研究ではオリーブ油を用いて食餌を調整した。試験食組成を Table 1 に示した。なお、本実験は、早稲田大学スポーツ科学部動物実験倫理委員会の承認を得て行われた。

Table 1. Diet composition

(g/kg)	CON	MF	HF
Sucrose	571	419	264
Olive oil	53	205	360
Casein	303	303	303
Vitamin mix	22	22	22
Mineral mix	51	51	51
Methionine	4.4	4.4	4.4
Energy (Kcal/g)	3.97	4.73	5.51
CON; Control diet, MF; Moderate fat diet, HF; High fat diet.			

2. 組織の摘出および保存

4 週間の食餌介入終了後、摂食状態において、体重当 100gあたり 5 mg のペントバルビタールナトリウムを腹腔内に投与し、完全麻酔下にて解剖を行い、足底筋および腹腔内脂肪を摘出した。副睾丸脂肪、腹膜後方脂肪および腸間膜脂肪を摘出し、3 つの合計重量を電子天秤で測定し、腹腔内脂肪量とした。骨格筋サンプルは、液体窒素中で凍結し、分析まで -80°C の冷凍庫中で保存した。

3. 持久性運動パフォーマンステスト

持久性運動パフォーマンスを評価するために、上述した方法で、CON 群(n=10)、MF 群(n=12)、HF 群(n=7)のラットを新たに飼育した。持久性運動パフォーマンステストは、Fitts et al. (1975)の方法を用いた。すべてのラットをトレッドミルに慣れさせるため、パフォーマンステストの 2 日前および前日に 15 m/min, 5%傾斜で 10 分間の走行運動を行わせた。パフォーマンステストの初めの 10 分間は 30 m/min, 15%傾斜で走行させ、10 分目以降は疲労困憊に至るまで 40 m/min, 15%傾斜で走行させた。1 分間以上走行スピードを維持できない場合に疲労困憊とした。

4. 骨格筋ミトコンドリア酵素活性

氷水中に浸したガラス製ホモジナイザーに骨格

筋サンプル(足底筋)と 9 倍量のホモジナイズバッファー(175mM KCl; 10mM Glutathione (GSH); 2mM EDTA; pH 7.4)を入れ、ホモジナイズした後、凍結・溶解を 2 度繰り返した。クエン酸合成酵素(CS)活性測定には、ホモジネートをそのまま使用し、 β -hydroxyacyl-CoA dehydrogenase(β -HAD)活性の測定には、ホモジネートを 700xg で 10 分間遠心して得られた上清を用いた。ミトコンドリア酸化系酵素の指標として CS 活性を, Sere の方法(1969)に従い測定した。また、ミトコンドリア β 酸化系酵素の指標として β -HAD 活性を Bass et al.(1968)の方法に基づいて測定した。

5. 筋グリコーゲン濃度

安静時のラットから摘出した骨格筋サンプル(足底筋)を冷却したガラス製ホモジナイザーに入れ、0.3M の過塩素酸でホモジナイズした。筋グリコーゲン濃度を Lowry & Passoneau(1972)の方法により測定した。

6. 統計処理

データは全て平均値 \pm 標準誤差で表した。3 群間の比較には、一元配置の分散分析を用い、多重比較には Tukey 法を用いた。統計学的有意水準は危険率 5%未満とした。

Ⅲ. 結果

1. 体重および腹腔内脂肪量

体重および腹腔内脂肪量の結果を Table 2 に示した. 4 週間の実験期間終了後, 体重には 3 群

間で有意な差は認められなかった.

体重 100 g 当たりの相対的な腹腔内脂肪量は, CON 群と比較して, HF 群において有意に高い値を示した($p < 0.01$).

Table 2. Effects of different dietary fat contents on body weight and abdominal fat mass in rats

	CON	MF	HF
Body Weight (g)	313±18	337±8	332±9
Abdominal fat mass (g)	12.4±1.8	15.6±1.0	18.6±0.7 *
Abdominal fat mass (g/100g BW)	3.9±0.4	4.6±0.2	5.6±0.2 *

Means±SEM. *indicates significant differences at a level of $p < 0.05$ CON; Control diet, MF; Moderate fat diet, HF; High fat diet. BW; body weight.

2. 骨格筋ミトコンドリア酵素活性

Figure 1 に足底筋の CS 活性および β -HAD 活性の結果を示した. 3 群間において CS 活性の有意な差は認められなかった (Figure 1A). 一方, MF 群および HF 群の β -HAD 活性は, CON 群

と比較して有意に高い値を示した (CON 群 vs. MF 群: $p < 0.05$, CON 群 vs. HF 群: $p < 0.01$, Figure 1B). MF 群と HF 群との間には有意な差は認められなかった.

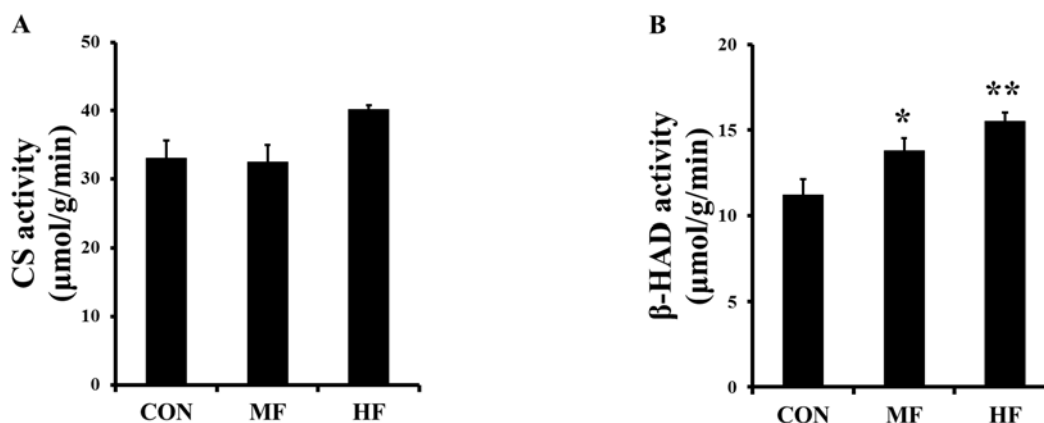


Figure 1. Effects of different dietary fat contents on mitochondrial enzyme activities in rat plantaris muscle. (A) Citrate synthase activity, (B) Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase activity. Values are means±SEM. * and ** indicate significant differences at levels of $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively. CON: control diet, MF: moderate fat diet, HF: high fat diet.

3. 筋グリコーゲン濃度

筋グリコーゲン濃度の結果を Figure 2 に示した。

足底筋の筋グリコーゲン濃度は、3 群間において有意な差が認められなかった。

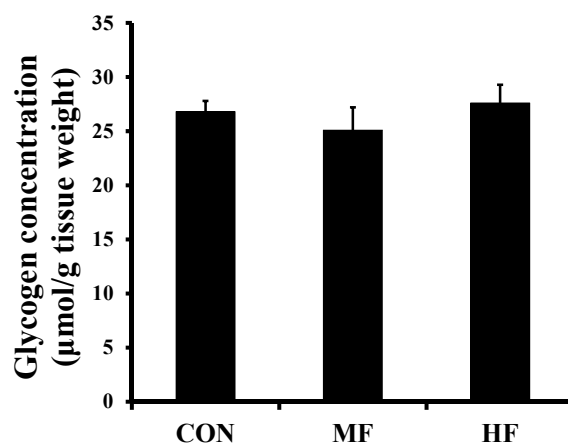


Figure 2. Effect of different dietary fat contents on muscle glycogen content at rest. Values are means±SEM. CON: control diet, MF: moderate fat diet, HF: high fat diet.

4. 持久性運動パフォーマンステスト

持久性運動パフォーマンステストの結果を Figure 3 に示した。MF 群および HF 群の走行運動時間は、CON 群と比較して有意に高い値を示

した(CON 群 vs. MF 群: $p < 0.01$, CON 群 vs. HF 群: $p < 0.01$)。MF 群と HF 群の間には有意な差は認められなかった。

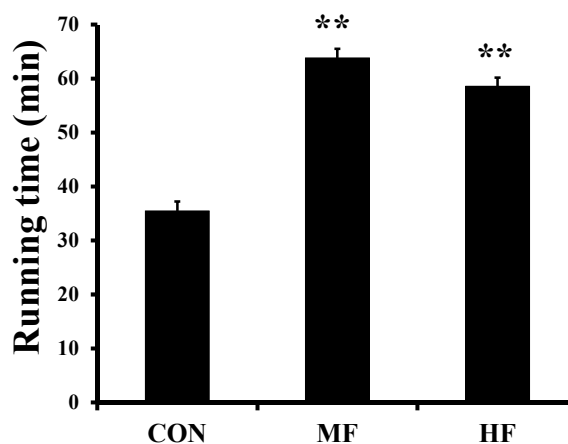


Figure 3. Effect of different dietary fat contents on endurance performance in rats. Values are means±SEM. *** indicates significant difference at a levels of $p < 0.01$. CON: control diet, MF: moderate fat diet, HF: high fat diet.

IV. 議論

本研究の新たな知見は、1)エネルギー比で40%の脂質を含む食餌を4週間摂取した場合、顕著な内臓脂肪の蓄積は認められない、2)持久性運動パフォーマンスに及ぼす影響は脂質エネ

ルギー比が40%と60%の食餌では同程度である、という2点である。

多くの先行研究が報告しているように、長期間の高脂肪食摂取は骨格筋のミトコンドリア酵素活性を亢進することで持久性運動パフォーマンスを

高めることから (Miller et al. 1984, Simi et al. 1991), 運動選手の競技力向上において脂質の摂取量は重要な役割を果たすと考えられる。一方, 長期間の高脂肪食摂取は内臓脂肪の蓄積をはじめとする生活習慣病を引き起こす。本研究においても, 4 週間の食餌介入終了後, HF 群の持久性運動パフォーマンスは CON 群と比較して高かったものの (Fig. 3), HF 群の内臓脂肪重量は CON 群と比較して有意に高値であった (Table 2)。そこで本研究では, 4 週間の比較的中程度の高脂肪食 (脂質エネルギー比が 40%; MF) 摂取が, 内臓脂肪の蓄積と持久性運動パフォーマンスに及ぼす影響を検討した。その結果, MF 群の内臓脂肪量は, CON 群と比較して有意な差は認められなかったが (Table 2), 持久性運動パフォーマンスは HF 群と同程度であった (Fig. 3)。したがって, 脂質エネルギー比が 40% の食餌を 4 週間摂取した場合, 著しい内臓脂肪の蓄積を引き起こさずに持久性運動パフォーマンスを向上させることができる可能性が示唆された。

高脂肪食を摂取することで, 脂肪酸の β 酸化に関わる Carnitine Palmitoyltransferase 1 (CPT-1) や long-chain fatty acid dehydrogenase などの発現量が上昇することが先行研究で報告されている (Power GW et al. 1997, Fillmore et al. 2010)。骨格筋においてミトコンドリアの脂肪酸酸化に関わる酵素の発現は, Peroxisome Proliferator Activated Receptor (PPAR) δ によって調節されているが (Grimaldi PA. 2007, Garcia-Roves et al. 2007), 本研究では β 酸化に関わる β -HAD 活性が CON 群と比較して MF および HF 群において有意に高値であった (Figure 1B)。 β -HAD も PPAR δ の標的遺伝子の一つと考えられていることから (Marcus et al. 1993), MF および HF に対する骨格筋の適応は PPAR δ の活性化によって引き起こされた可能性が示唆される。一方, ミトコンドリアの酸化系酵素である CS 活性は, 3 群間に有意な差は認められなかった (Figure 1A)。先行研究では, TCA サイクルの酵素の一つである CS も β -HAD と同様に高脂肪食摂取により増加することが報告されている一方で, いくつかの先行研究においては変化が認められなかった

ことが報告されている (Nemeth et al. 1992, Helge and Keins 1997)。これらの結果の違いを説明することは困難であるが, 一つの可能性として, ミトコンドリアタンパク質の種類により, 高脂肪食摂取に対する反応速度が異なることが考えられる。実際, Miller et al. (1984) の研究では, 高脂肪食摂取の開始から 1 週間目に β -HAD 活性が増加したが, CS 活性は 1 週目では亢進が認められず, 5 週目において CS 活性が亢進したことが報告されている (Miller et al. 1984)。したがって, PPAR δ により発現調節される脂肪酸酸化酵素は早期に適応し, 異なる転写因子により制御されている CS は適応速度が遅い可能性が考えられる。また, 本研究では速筋線維が優位な足底筋を分析に用いたが, 先行研究では高脂肪食摂取に対する適応反応は筋線維タイプより異なることが指摘されている。Simi et al. は高脂肪食摂取により外側広筋の赤筋部では β -HAD および CS が顕著に増加するものの, ヒラメ筋においては CS 活性の増加が認められなかったと報告している (Simi et al. 1991)。さらに近年では Fillmore et al. は, 高脂肪食摂取によるシトクロム C や長鎖脂肪酸脱水素酵素タンパク質量の増加は, 外側広筋白筋部でのみ認められ, 外側広筋赤筋部やヒラメ筋では観察されなかったことを報告している (Fillmore et al. 2010)。したがって, 今後の研究では, 高脂肪食摂取により引き起こされる骨格筋のミトコンドリア酵素の適応反応を, タンパク質ごとや筋線維タイプの違いに着目して検討する必要があるだろう。

筋グリコーゲンが枯渇すると運動を継続することが困難となるため, 筋グリコーゲン濃度は持久性運動パフォーマンスを規定する重要な因子の一つと考えられている (Bergstrom et al. 1967)。本研究では, 4 週間の食餌介入終了後において 3 群間で筋グリコーゲン濃度に有意な差は認められなかった (Figure 2)。したがって, 3 群間で観察された持久性運動パフォーマンスの違いは, 運動開始前の筋グリコーゲン濃度以外の要因によって引き起こされたと考えられる。Miller et al. は安静時および持久性運動パフォーマンステスト直後の骨格筋グリコーゲン濃度を測定している。その

結果, 安静時の外側広筋赤筋部およびヒラメ筋のグリコーゲン濃度は, 普通食群で高脂肪食群と比較して有意に高値であったにもかかわらず, パフォーマンステスト終了直後では両群間に有意な差は認められなかった. したがって, 高脂肪食群では運動中の脂肪酸酸化によるエネルギー供給が高まった結果, より少ないグリコーゲンを利用したと考えられる. 本研究では安静時の筋グリコーゲン濃度を測定しており, 持久性運動パフォーマンステスト終了直後の筋グリコーゲン濃度の測定は行っていないが, Miller et al.の研究結果と同様に MF および HF 群では β -HAD 活性が亢進したことで脂肪酸酸化によるエネルギー合成が高まり, 運動時の筋グリコーゲン利用が抑制された結果, 持久性運動パフォーマンスが向上した可能性が考えられる.

高脂肪食をラットに与えた場合, 普通食と比較して摂取エネルギーが多くなるため体重や内臓脂肪の増加につながると考えられる. 本研究では 3 群間に体重の差は認められなかったが, CON 群の内臓脂肪重量は HF 群と比較して有意に低い値であった(Table 2). 本研究では厳密な摂食量の測定を行わなかったが, CON の質量あたりのエネルギーが HF に比べ低かったため, 4 週間の飼育期間中に HF 群の内臓脂肪重量の著しい増加が認められたと考えられる. 一方, MF 群は質量あたりのエネルギーが CON と比較して高い食餌を摂取したにもかかわらず, 内臓脂肪重量は CON 群と比較して有意な差は認められなかった. さらに長期の食餌介入を行った場合, MF 群の内臓脂肪重量が増加する可能性も考えられるため, MF による骨格筋の適応と内臓脂肪の蓄積の経時的变化を観察する必要があると考えられる.

先行研究では, 長期間の高脂肪食摂取がヒトの骨格筋の酵素活性および持久性運動パフォーマンスに及ぼす影響を検討している. げっ歯類を用いた研究と同様に, 長期間の高脂肪食摂取は, ヒトにおいても脂肪酸酸化に関わる β -HAD や CPT-1 活性が亢進することが報告されている (Fisher et al. 1983, Helge et al. 1997). 一方, 持久性運動パフォーマンスを検討した研究では, 対照群である高糖質食摂取試行との差は認められ

なかった(Phinney et al. 1983). この結果は, げっ歯類とは異なり, 長期の高脂肪食摂取はヒトの持久性パフォーマンスを向上させない可能性を示唆するものである. しかしながら, Phinney et al. (1983) の研究においては, 脂質エネルギー比が 83%という極端な高脂肪食を摂取させている. そのため, 今後は本研究で用いたような適度に糖質を含む中程度の高脂肪食を同様の期間摂取させた場合, ヒトの骨格筋ミトコンドリア酵素活性や持久性運動パフォーマンスに及ぼす影響を検討する必要があるであろう.

以上, 本研究をまとめると, 中程度の高脂肪食(脂質エネルギー比が 40%;MF)を 4 週間摂取することで, 脂質エネルギー比が 60%の高脂肪食(HF)を摂取した場合と同程度に骨格筋におけるミトコンドリアの脂質酸化酵素活性が亢進し, 内臓脂肪の蓄積を伴わずに持久性運動パフォーマンスが向上する可能性が明らかとなった.

謝辞

本研究の一部は, 笹川科学研究助成によるものである.

引用文献

- Bass A, Brdiczka D, Eyer P, Hofer S, Pette D (1968) Metabolic differentiation of distinct muscle types at the level of enzymatic organization. *Eur J Biochem*, 10(2), 198-206.
- Bergström J, Hermansen L, Hultman E, Saltin B (1967) Diet, muscle glycogen and physical performance. *Acta Physiol Scand*, 71(2), 140-150.
- Fillmore N, Jacobs DL, Mills DB, Winder WW, Hancock CR (2010) Chronic AMP-activated protein kinase activation and a high-fat diet have an additive effect on mitochondria in rat skeletal muscle. *J Appl Physiol*, 109(2), 511-520.
- Fisher EC, Evans WJ, Phinney SD, Blackburn GL, Bistrian BR, Young VR (1983) Changes in skeletal muscle metabolism induced by a eucaloric ketogenic diet. In: Knuttgen HG, Vogel

- JA, Portman J, editors. *Biochemistry of Exercise*, Champaign IL, USA: Human Kinetics pp. 497-501.
- Fitts RH, Booth FW, Winder WW, Holloszy JO (1975) Skeletal muscle respiratory capacity, endurance, and glycogen utilization. *Am J Physiol*, 228(4), 1029-1033.
 - Garcia-Roves P, Huss JM, Han DH, Hancock CR, Iglesias-Gutierrez E, Chen M, Holloszy JO (2007) Raising plasma fatty acid concentration induces increased biogenesis of mitochondria in skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(25), 10709-10713
 - Grimaldi PA (2007) Peroxisome proliferator-activated receptors as sensors of fatty acids and derivatives. *Cell Mol Life Sci*, 64 (19-20), 2459-2464.
 - Helge JW, Kiens B (1997) Muscle enzyme activity in humans: role of substrate availability and training. *Am J Physiol*, 272(5), R1620-1624.
 - 東田一彦, 三上恵里, 園生智広, 樋口 満, 寺田 新 (2008) 異なる脂肪酸組成の高脂肪食摂取がラット骨格筋のミトコンドリア酵素活性および PGC-1 α 蛋白含量に及ぼす影響. *日本運動生理学雑誌*, 15(2), 45-51.
 - Holloszy JO, Kohrt WM, Hansen PA (1998) The regulation of carbohydrate and fat metabolism during and after exercise. *Front Biosci*, 3, D1011-D1027.
 - Jones TE, Baar K, Ojuka E, Chen M, Holloszy JO (2003) Exercise induces an increase in muscle UCP3 as a component of the increase in mitochondrial biogenesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 284(1), E96-101.
 - Lee JS, Bruce CR, Spriet LL, Hawley JA (2001) Interaction of diet and training on endurance performance in rats. *Experimental Physiology*, 86 (4), 499-508.
 - Lowry OH, Passoneau JV (1972) *A Flexible System of Enzymatic Analysis*, New York, Academic, 25(9), 322.
 - Marcus SL, Miyata KS, Zhang B, Subramani S, Rachubinski R, Capone JP (1993) Diverse peroxisome proliferator-activated receptors bind to the peroxisome proliferator-responsive elements of the rat hydratase/dehydrogenase and fattyacyl-CoA oxidase genes but differentially induce expression. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90(12), 5723-5727.
 - Miller WC, Bryce GR, Conlee RK (1984) Adaptations to a high-fat diet that increase exercise endurance in male rats. *J Appl Physiol*, 56(1), 78-83.
 - Nemeth PM, Rosser BW, Choksi RM, Norris BJ, Baker KM (1992) Metabolic response to a high-fat diet in neonatal and adult rat muscle. *Am J Physiol*, 262(2), C282-286.
 - Phinney SD, Bistrian BR, Evans WJ, Gervino E, Blackburn GL (1983) The human metabolic response to chronic ketosis without caloric restriction: preservation of submaximal exercise capability with reduced carbohydrate oxidation. *Metabolism*, 32(8), 769-776.
 - Power GW, Newsholme EA (1997) Dietary fatty acids influence the activity and metabolic control of mitochondrial carnitine palmitoyltransferase I in rat heart and skeletal muscle. *J Nutr*, 127(11), 2142-2150.
 - Simi B, Sempore B, Mayet MH, Favier RJ (1991) Additive effects of training and high-fat diet on energy metabolism during exercise. *J Appl Physiol*, 71(1), 197-203.
 - Srere PA (1969) Citrate synthase. *Methods Enzymol*, 13, 3-5.