

## **Resumen Ponencia**

**Alejandro Lucía**

**Sevilla 29 de Marzo del 2008**

La genética del rendimiento deportivo es una disciplina relativamente reciente pues pese a que numerosos laboratorios de todo el mundo disponen de técnicas de secuenciación de ADN, el número de grupos de investigación dedicados específicamente a esta parcela de la genética es muy reducido en comparación con otros campos de esta ciencia.

La identificación de aquellos factores genéticos (y de la interacción entre los mismos) que determinan el rendimiento deportivo es de gran interés i) en el ámbito del alto rendimiento, entre otras razones para ayudar a seguir consiguiendo mejoras en las marcas de los deportistas sin recurrir a métodos de dopaje, y ii) en el de la salud, para identificar aquellas personas no deportistas (sanas o enfermas) con mayor o menor potencial para mejorar su rendimiento físico con un programa de entrenamiento determinado.

Parece que, a pesar de los innegables progresos en los métodos de entrenamiento, de equipamiento deportivo o de nutrición deportiva, los seres humanos nos estamos acercando a nuestro límite de rendimiento físico como especie (Berthelot *et al.* *PloSONE*

2008;3:e1552). Además, todo apunta a que algunos récords (sobre todo en categoría femenina y en pruebas de velocidad/explosividad) han sido manipulados artificialmente por dopaje y no reflejan por tanto nuestra capacidad real como especie. De todos modos, no es menos cierto que sólo una proporción muy escasa de los habitantes de nuestro planeta tienen la posibilidad de entrenarse y de emerger de ese proceso de selección genética que es el paso desde las categorías inferiores al estatus de deportista profesional. Millones de personas, de muy diversos orígenes étnicos, quedan involuntariamente al margen de este proceso de selección.

Hasta la fecha, aunque se ha estudiado la posible influencia de decenas de polimorfismos en la capacidad física de los humanos (y podría existir una cierta asociación genotipo-fenotipo para algunos genes candidatos como el gen del enzima convertidora de angiotensina (*ECA*)), sólo se ha demostrado una clara asociación genotipo-fenotipo entre el polimorfismo R577X del gen *ACTN3* (que codifica para la síntesis de la proteína  $\alpha$ -actinina-3, la cual sólo se expresa en las fibras musculares rápidas), y el alto rendimiento deportivo en pruebas de velocidad/explosividad (pruebas de velocidad, lanzamientos y saltos en atletismo o ciclismo en pista). La deficiencia de expresión de  $\alpha$ -actinina-3 en las fibras musculares (en aquellos individuos con el genotipo 'nulo' XX para el citado gen) parece excluir la posibilidad de rendimiento en este tipo de pruebas,

al menos en el sexo femenino.

De todos modos, quedan muchas cuestiones por resolver pues hasta ahora los estudios con *ACTN3* y otros genes se han centrado en comparar las frecuencia alélicas y/o genotípicas de grupos más o menos reducidos de deportistas (especialistas en pruebas de velocidad/explosividad o fondistas) y controles sanos. Esta aproximación no está exenta de potenciales errores pues los colectivos de deportistas de élite ya han pasado por un riguroso proceso de selección genética y posiblemente muchos otros genes y muchas otras combinaciones genéticas favorables para su rendimiento deportivo independientes del gen *ACTN3* estén implicados en su privilegiado status deportivo.

Por otra parte, aunque la capacidad oxidativa mitocondrial tiene gran importancia para el rendimiento en pruebas de fondo, parece que son más importantes genes nucleares (*TFAM*, *PPARGC1A* *NFR-1*, etc) que codifican para factores que luego viajan a las mitocondrias y modulan su función que los propios (y muy escasos en número) genes mitocondriales.

## **Bibliografía recomendada**

1. Jones A, Montgomery HE, Woods DR. Human performance: a role for the ACE genotype? *Exerc Sport Sci Rev* 2002; 30: 184-190
2. Jones A, Woods DR. Skeletal muscle RAS and exercise performance. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35: 855-866
3. Lucia A, Gómez-Gallego F, Chicharro JL, [Hoyos J](#), [Celaya K](#), [Córdova A](#), [Villa G](#), [Alonso JM](#), [Barriopedro M](#), [Pérez M](#), [Earnest CP](#). Is there an association between ACE and CKMM polymorphisms and cycling performance status during 3-week races? *Int J Sports Med* 2005; 26: 442 - 447
4. Lucia A, Gomez-Gallego F, Santiago C, [Bandrés F](#), [Earnest C](#), [Rabadán M](#), [Alonso JM](#), [Hoyos J](#), [Córdova A](#), [Villa G](#), [Foster C](#). ACTN3 genotype in professional endurance cyclists. *Int J Sports Med* 2006; 27: 880 - 884
5. MacArthur DG, North KN. ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance. *Exerc Sport Sci Rev* 2007; 35: 30 -34
6. Mills M, Tang R, Weinberger R, [Vander Woude DL](#), [Beggs AH](#), [Easteal S](#), [North K](#). Differential expression of the actin-binding proteins,  $\alpha$ -actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy. *Hum Mol Gen* 2001; 10: 1335 – 1346

7. [Rankinen T](#), [Bray MS](#), [Hagberg JM](#), [Pérusse L](#), [Roth SM](#), [Wolfarth B](#), [Bouchard C](#). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2005 update. [Med Sci Sports Exerc](#) 2006; 38: 1863- 1888
8. Rankinen T, Wolfarth B, Simoneau J-A, [Maier-Lenz D](#), [Rauramaa R](#), [Rivera MA](#), [Boulay MR](#), [Chagnon YC](#), [Pérusse L](#), [Keul J](#), [Bouchard C](#). No association between the angiotensin-converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status. *J Appl Physiol* 2000; 88: 1571 - 1575
9. Squire JM. Architecture and function in the muscle sarcomere. *Curr Opin Struct Biol* 1997; 7: 247 - 257
10. [Van den Eede E](#), [Van Leemputte M](#), [Hespel PJ](#), [Thomis M](#). The ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution. [Physiol Genomics](#) 2007; 19; 32: 58 - 63
11. Williams AG, Rayson MP, Jubb M, [World M](#), [Woods DR](#), [Hayward M](#), [Martin J](#), [Humphries SE](#), [Montgomery HE](#) The ACE gene and muscle performance. *Nature* 2000; 403: 614
12. Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, [Hahn AG](#), [Beggs AH](#), [Easteal S](#), [North K](#) ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 627 - 631

## ***Modulation of AMPK signaling by sprint exercise in human skeletal muscle.***

Borja Guerra PhD

Laboratorio de Rendimiento Humano. Dpto. de Educación Física.

Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte.

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

AMP-activated protein kinase (AMPK) is a heterotrimeric enzyme comprising a catalytic subunit ( $\alpha$ ) and two regulatory subunits ( $\beta$ ,  $\gamma$ ) (1, 2), whose expression are modulated by different genes encoding each of the subunits ( $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ 1,  $\beta$ 2,  $\beta$ 3). Subunits have tissue specific expression and activity (3). AMPK is activated by cellular stress associated with ATP depletion cellular stress, together with a concomitant rise in AMP-ATP ratio (4, 5). In skeletal muscle, the activity of AMPK is dependent on the Thr<sup>172</sup> phosphorylation in the activation loop of the  $\alpha$ -subunit by the upstream kinase LKB1 (6). AMPK is likely to be one of several critical regulators of metabolic events in response to exercise in skeletal muscle (7). Numerous studies have shown that exercise (muscle contraction) stimulates the activation of AMPK in human skeletal muscle, but only when the intensity is higher than 50% of VO<sub>2</sub>max (8, 9). AMPK activity is an important regulator of fatty acid (FA) metabolism in skeletal muscle during exercise, because AMPK activation stimulates FA oxidation by phosphorylation and inhibition of acetyl-CoA carboxylase (ACC) leading to reduced malonyl-CoA and increased carnitine palmitoyltransferase-1 activity and mitochondrial fatty acid flux (10, 11). In recent years, there has been an increasing interest has focused on the role of AMPK on intracellular fatty acid (FA) oxidation and insulin sensitivity.

There are few data regarding the possible modulation of  $\alpha$ -AMPK, ACC and ERK1/2 phosphorylation after a short duration exhaustive sprint exercise (*Wingate test*) in human skeletal muscle, which is the major site of insulin-dependent glucose disposal. Therefore we conducted a study to 1) determine if a short duration exhaustive sprint exercise (Wingate test) elicits phosphorylation of  $\alpha$ -AMPK, ACC and ERK1/2 in human skeletal muscle, 2) characterize the activation (phosphorylation) degree of these kinases during the recovery period and 3) investigate the potential effect of insulin on the degree of phosphorylation of these kinases immediately after the test and during the recovery period.

In so doing we studied a group of twelve healthy well trained physical education students that were randomly assigned to either a fasted group (CG) (n=6) (mean  $\pm$  SD), age:  $22.8 \pm 1.8$  years; height:  $176.0 \pm 9.9$  cm; body mass:  $77.8 \pm 11.3$  kg and percentage of body fat  $16.8 \pm 6.8\%$ ) or to fed group (FG) (n=6) (75g oral glucose intake 1h before test), age:  $22.8 \pm 2.4$  years; height:  $180.0 \pm 4.5$  cm; body mass:  $74.6 \pm 4.6$  kg and percentage of body fat  $10.13 \pm 4.1\%$ ). Immediately before the start of the Wingate test, at the end of test, and at 30 min, 2h and 4h into the recovery period, muscle biopsies were taken from the middle portion of the musculus vastus lateralis. Biopsies were processed for the assessment of the AMPK $\alpha$ , ACC $\beta$  and ERK1/2 phosphorylation by Western blot. Blood samples were also taken at the same time points and processed for the assessment of insulin serum concentration by electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) and glucose concentration by a spectrophotometric method (hexokinase method). Lean body mass and fat mass were determined by dual energy x-ray absorptiometry (DXA).

We observed an increase in the phosphorylated form of  $\alpha$ -AMPK 30 min after the sprint exercise ( $P < 0.01$  versus rest, Figure 1) in the CG. In addition, we observed a significant phosphorylation increase immediately following ( $P < 0.01$  versus Rest) and 30 minutes after the test ( $P < 0.001$  versus Rest) in the CG. In another set of experiments, we characterized the effect of high insulin levels at the beginning of sprint exercise on  $\alpha$ -AMPK and ACC phosphorylation observed in skeletal muscle after sprint exercise. We observed that increased  $\alpha$ -AMPK phosphorylation 30 min after the Wingate test observed in the CG was sharply suppressed in the FG skeletal muscle ( $P < 0.001$  versus 30 min after the test without glucose). Interestingly, the ACC phosphorylation pattern observed after sprint exercise in the CG was not influenced by high insulin levels at the beginning of the test in despite of  $\alpha$ -AMPK phosphorylation 30 min after the test was certainly affected in the FG. We also observed a significant increase in phosphorylated forms of ERK1/2 was observed 30 min after the sprint exercise ( $P < 0.01$  versus rest) in the CG. This increase of ERK1/2 phosphorylation was certainly reduced in skeletal muscle of the FG.

**Conclusions:** Hyper-insulinemia at the beginning of the test blocked the AMPK $\alpha$  phosphorylation but did not affect the ACC phosphorylation detected immediately and 30 min after the test. These results suggest that ACC $\beta$  phosphorylation (inhibition) is dissociated of AMPK phosphorylation (activation) in response to this supra-maximal exercise. The latter implies that during sprint exercise ACC $\beta$  phosphorylation is achieved by alternative mechanisms.

Supported by grants from Ministerio de Educación y Ciencia, Spain (BFU2006-13784), Gobierno de Canarias, Spain (PI2005/177) and Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Spain (UNI2006/05).

**References:**

1. B. B. Kahn, T. Alquier, D. Carling, D. G. Hardie, *Cell Metab* **1**, 15 (Jan, 2005).
2. S. Uotani, T. Abe, Y. Yamaguchi, *Biochem Biophys Res Commun* **351**, 171 (Dec 8, 2006).
3. M. Mahlapuu *et al.*, *Am J Physiol Endocrinol Metab* **286**, E194 (Feb, 2004).
4. D. Carling, *Trends Biochem Sci* **29**, 18 (Jan, 2004).
5. D. G. Hardie, J. W. Scott, D. A. Pan, E. R. Hudson, *FEBS Lett* **546**, 113 (Jul 3, 2003).
6. K. Sakamoto *et al.*, *Embo J* **24**, 1810 (May 18, 2005).
7. J. Mu, J. T. Brozinick, Jr., O. Valladares, M. Bucan, M. J. Birnbaum, *Mol Cell* **7**, 1085 (May, 2001).
8. N. Fujii *et al.*, *Biochem Biophys Res Commun* **273**, 1150 (Jul 14, 2000).
9. J. F. Wojtaszewski, P. Nielsen, B. F. Hansen, E. A. Richter, B. Kiens, *J Physiol* **528 Pt 1**, 221 (Oct 1, 2000).
10. J. Ha, S. Daniel, S. S. Broyles, K. H. Kim, *J Biol Chem* **269**, 22162 (Sep 2, 1994).
11. N. B. Ruderman, A. K. Saha, D. Vavvas, L. A. Witters, *Am J Physiol* **276**, E1 (Jan, 1999).

Bases fisiológicas del ejercicio intermitente anaeróbico. Aplicación al  
entrenamiento

Esteban Gorostiaga Ayestarán  
Centro de Estudios, Investigación y Medicina del Deporte de Navarra

Sevilla, 29 de marzo de 2008

1. Definición del ejercicio intermitente.

El ejercicio intermitente o fraccionado es el que alterna períodos de ejercicio intenso, intercalados con períodos de recuperación a baja intensidad o en reposo (Daniels y Scardina, 1984). En la mayoría de los casos, este tipo de ejercicio permite entrenar grandes distancias a ritmos de competición o superiores, sin fatigarse en exceso. En la literatura científica se suele denominar al ejercicio intermitente de muchas maneras. Las más frecuentes son: interválico, fraccionado, por repeticiones y por intervalos (Saltin, 1975) (Daniels y Scardina, 1984).

Conviene recordar la terminología empleada por los entrenadores cuando prescriben un ejercicio intermitente. Un ejemplo podría ser:

Correr 2 x 4 x 200 metros en 26 segundos con 2 y 4 minutos de recuperación andando.

Esto quiere decir que el deportista va a correr dos series de cuatro repeticiones de 200 metros en un tiempo de 26 segundos cada repetición. Entre cada cuatro repeticiones de carrera de 200 m, el deportista estará 2 minutos andando, excepto entre la 4ª y la 5ª repetición (final de la primera serie de 4 repeticiones y comienzo de la 1ª repetición de la segunda serie de 4 repeticiones) en el que el tiempo de recuperación será de 4 minutos.

2. Clasificación del ejercicio intermitente.

Existen muchas clasificaciones del ejercicio intermitente. Una clasificación sugerida del ejercicio intermitente puede ser la basada en Fox y Mathews (1974) y en Saltin (1975):

- a) Ejercicio intermitente AERÓBICO
- b) Ejercicio intermitente ANAERÓBICO, que a su vez se subdivide en:
  - a. Ejercicio intermitente anaeróbico de potencia ( o "fosfagénico")
  - b. Ejercicio intermitente anaeróbico de capacidad ( o "láctico")

3. Ejercicio intermitente AERÓBICO

Este tipo de ejercicio se caracteriza porque: 1) la intensidad a la que se realiza cada repetición es aquella que agotaría al sujeto entre 3 y 30 minutos, si la hiciera sin pararse, hasta el agotamiento. Esta intensidad suele corresponder al 90-105% del consumo máximo de oxígeno (VO<sub>2</sub>max)

o al 105-120% de la intensidad del umbral anaeróbico individual (Tesch y col. 1975) (Ettema, 1966), 2) la duración de cada repetición suele estar comprendida entre 10 segundos y 10 minutos (Tesch y col. 1975) (Karlsson y col. 1972), y 3) la recuperación entre repeticiones y series suele ser igual o inferior a la duración de cada repetición y la actividad durante la recuperación es de baja intensidad (50-65% de VO<sub>2</sub>max) o se está parado o andando (Brooks y col. 1996) (Daniels y Scardina, 1984).

Durante la realización de cada repetición del ejercicio intermitente aeróbico, se suele estimular al máximo o casi al máximo (más del 95% de VO<sub>2</sub>max) el sistema de transporte de oxígeno (VO<sub>2</sub>max), y la frecuencia cardiaca, se reclutan fibras musculares rápidas que no se reclutan en ejercicios de menor intensidad y se mejora la economía de carrera a velocidades de competición cuya duración está comprendida entre 3 y 30 minutos. Además, lo característico de este tipo de ejercicio es que permite estimular el sistema cardiorrespiratorio a niveles cercanos al máximo, sin necesidad de producir cantidades excesivas de lactato (concentraciones sanguíneas de lactato inferiores o iguales a 4 – 6 mmol/l) (Essen, 1978) (Gollnick y col. 1973) (Fox y col. 1967) (Saltin y col. 1976) (Billat, 2001).

Los ejercicios intermitentes AERÓBICOS más utilizados y recomendados son los que consisten en realizar repeticiones de 3 a 15 minutos de duración, a intensidades cercanas al 90-100% del VO<sub>2</sub>max, con cerca de 2 minutos de descanso entre repeticiones (Astrand y col. 1960).

Para controlar mejor la intensidad de cada repetición, conviene que la frecuencia cardiaca al finalizar cada repetición esté comprendida entre el 87 y el 93% de la frecuencia cardiaca máxima y que la concentración sanguínea de lactato durante la prueba se mantenga en valores estables y cercanos a 4 – 6 mmol/l. La frecuencia semanal de entrenamiento de este tipo de ejercicio no debería ser mayor de 2 sesiones, separadas de 48 horas, como mínimo. Este tipo de sesión de entrenamiento suele recomendarse a los atletas que compiten en disciplinas iguales o superiores a 400 metros y a los deportistas de deportes de equipo (fútbol, baloncesto, balonmano). Entrenando este tipo de ejercicio intermitente aeróbico se suelen mejorar los valores de consumo máximo de oxígeno, la actividad de los enzimas musculares glucolíticos y de la adenilato kinasa, las reservas musculares de fosfocreatina, y la distancia recorrida a velocidad máxima en un partido de fútbol (Bangsbo, 1994) (Gorostiaga y col. 1991).

#### 4. Ejercicio intermitente ANAERÓBICO.

Este tipo de ejercicio se caracteriza porque: 1) la intensidad a la que se realiza cada repetición es aquella que agotaría al sujeto entre unos pocos segundos y dos minutos, si la hiciera sin pararse, hasta el agotamiento. Esta intensidad suele ser igual o superior al 110% del consumo máximo de oxígeno (VO<sub>2</sub>max) (Edginton y Edgerton, 1976) (Daniels y Scardina, 1984) (Saltin, 1975) (Jensen y Fisher, 1979), de la velocidad a la que se corre un 800 metros 2) la duración de cada repetición suele ser inferior a 1 minuto, y 3) la recuperación entre repeticiones y series suele ser mayor que la duración de cada repetición y la actividad durante la recuperación es de

baja intensidad ( 50-65% de VO<sub>2</sub>max) o se está parado o andando(Brooks y col. 1996) (Daniels y Scardina, 1984).

Esquemáticamente, existen desde el punto de vista del metabolismo energético, dos grandes tipos de ejercicios intermitentes anaeróbicos (Saltin, 1975):

- a) el ejercicio intermitente anaeróbico de potencia, o fosfagénico, que se caracteriza porque la concentración sanguínea de lactato está comprendida entre 8 y 12 mmol/l, aunque permanece estable a esos niveles la mayor parte de la sesión, las reservas musculares de fosfocreatina disminuyen durante cada repetición hasta valores cercanos al 20-30% de las reservas iniciales y se recuperan parcialmente durante la recuperación (alcanzan valores cercanos al 60-70% de las reservas iniciales), las reservas musculares de ATP no disminuyen significativamente y se mantiene la velocidad máxima o la fuerza explosiva a lo largo de las repeticiones.
- b) el ejercicio intermitente anaeróbico de capacidad, o láctico, que se caracteriza porque la concentración sanguínea de lactato suele ser superior a 13-15 mmol/l y aumenta progresivamente a lo largo de las repeticiones, las reservas musculares de fosfocreatina disminuyen progresivamente durante cada repetición hasta poder llegar a agotarse, las reservas musculares de ATP disminuyen significativamente (alcanzan valores cercanos al 40 – 80% de las reservas iniciales) y disminuye la velocidad máxima o la fuerza explosiva a lo largo de las repeticiones. Además, en las últimas repeticiones de este tipo de ejercicio se produce una participación muy importante del metabolismo aeróbico y una participación muy pequeña o casi nula de la glucogenolisis anaeróbica (producción de lactato) y de las reservas de fosfágenos de las fibras rápidas (Casey y col. 1996) (Gaitanos y col. 1993).

Además del estudio por punción biopsia muscular de la evolución de los substratos musculares, caro y difícil de realizar en la práctica diaria del entrenamiento, existen probablemente medios menos cruentos, sencillos y baratos para poder controlar y diferenciar de modo preciso estos dos tipos de entrenamiento intermitente (estudio de la concentración sanguínea de lactato o de amonio, de la capacidad de salto vertical, de la velocidad, de la frecuencia cardiaca al finalizar cada serie, etc.). El estudio de diferentes trabajos de la literatura sobre el tema y algunas experiencias personales, permiten conocer mejor y distinguir estos dos tipos de ejercicio intermitente. Algunos ejemplos de ejercicio intermitente anaeróbico de potencia estudiados en estudiantes de Educación Física y en deportistas de elite son los siguientes (Balsom y col. 1992<sup>a</sup>) (Balsom y col. 1992<sup>b</sup>) (Bogdanis y col. 1995) (Bogdanis y col. 1996) (Casey y col. 1996) (Dawson y col. 1997) (Esbjörnsson-Liljedahl y col. 2002) (Gaitanos y col. 1993)

(Hargreaves y col. 1998) (Mohr y col. 2007) (Ratel y col. 2002) (Stokes y col. 2002):

Estudiantes de Educación Física:

- a) Carrera a pié: 30 repeticiones de 15 metros (2-3") a la máxima velocidad con 30 segundos de recuperación entre repeticiones.
- b) Carrera a pié: 10 repeticiones de 40 metros (5-6") a la máxima velocidad con 2 minutos de recuperación entre repeticiones.
- c) Carrera a pié: 6 repeticiones de 100 metros (12-14") a la máxima velocidad con 5 minutos de recuperación entre repeticiones.
- d) Bicicleta: 2 sprints de 30 segundos a la máxima velocidad posible, con 20 minutos de recuperación entre repeticiones.

Atletas de 400 metros de nivel nacional:

- e) Carrera a pié: 10 repeticiones de 40 metros (cerca de 5 segundos) a la máxima velocidad, con 3-4 minutos segundos de recuperación entre repeticiones.
- f) Carrera a pié: 6 repeticiones de 60 metros (6-7") a la máxima velocidad con 5 minutos de recuperación entre repeticiones.
- g) Carrera a pié: 6 repeticiones de 100 metros al 94% de la marca en 100 metros, con 6 a 8 minutos de recuperación entre repeticiones.
- h) Carrera a pié: 3 repeticiones de 100 metros al 94% de la marca en 100 metros, con 5 minutos de recuperación entre repeticiones.
- i) Carrera a pié: 4 repeticiones de 200 metros al 92-94% de la marca en 400 metros, con 3 minutos de recuperación entre repeticiones.
- j) Carrera a pié: 8 repeticiones de 200 metros al 92-94% de la marca en 400 metros, con 5 a 6 minutos de recuperación entre repeticiones.
- k) Carrera a pié: 3 series de 3 repeticiones de 300 metros al 87% de la marca en 400 metros, con 6 minutos de recuperación entre repeticiones y 8 minutos entre series.
- l) Carrera a pié: 5 repeticiones de 300 metros al 79% de la marca en 400 metros, con 3 minutos de recuperación entre repeticiones.
- m) Carrera a pié: 8 repeticiones de 300 metros al 79% de la marca en 400 metros, con 5 a 6 minutos de recuperación entre repeticiones.

Durante la recuperación entre repeticiones y entre series, los deportistas se mantienen parados o andando. Los ejemplos de ejercicios intermitentes anaeróbicos de capacidad (lácticos) serían los mismos a los mostrados para los ejercicios intermitentes anaeróbicos de potencia, pero

umentando la intensidad de las repeticiones y manteniendo el tiempo de recuperación, o bien manteniendo la intensidad de las repeticiones, pero disminuyendo el tiempo de recuperación entre repeticiones.

Como se ha indicado anteriormente, estos ejemplos deben servir solamente como orientación, porque pueden variar de un sujeto a otro. En general, cuanto más velocista sea un deportista, necesitará más tiempo de recuperación porque producirá más lactato durante cada repetición y necesitará más tiempo de recuperación entre repeticiones debido, entre otros motivos, a la pobre capacidad aeróbica que suelen presentar este tipo de deportistas. Por último se aconseja controlar siempre este tipo de ejercicios tan importantes utilizando una o varias de las variables sencillas, cruentas o incruentas, señaladas anteriormente (estudio de la concentración sanguínea de lactato o de amonio, de la capacidad de salto vertical, de la velocidad, de la frecuencia cardiaca al finalizar cada serie, etc.).

Uno de los mayores problemas del entrenamiento intermitente anaeróbico es que suele ser muy difícil para el entrenador y para el deportista distinguir entre las sesiones de entrenamiento intermitente anaeróbico de potencia y las sesiones de entrenamiento intermitente anaeróbico de capacidad. De hecho, los entrenadores de disciplinas de duración inferior a los 2-3 minutos, suelen tener tendencia a prescribir casi exclusivamente sesiones de entrenamiento de ejercicio intermitente anaeróbico de capacidad o láctico, y muy pocas sesiones de ejercicio intermitente anaeróbico de potencia. Esto es un problema importante porque es muy probable que si se sustituyesen muchas de las sesiones de entrenamiento de capacidad láctica por las de potencia, se podría prevenir mejor el sobreentrenamiento, entrenar en mejores condiciones otras cualidades físicas muy importantes como la fuerza, y conseguir mayores y más progresivas mejoras de la marca deportiva en los ejercicios de corta duración. Sin embargo, este cambio de mentalidad es muy difícil de introducir en los entrenadores, demasiado habituados al "cuanto más, mejor", sin otro límite que la lesión del deportista, el sobreentrenamiento o la retirada.

#### Bibliografía

**Astrand I, Astrand PO, Christensen EH, y col. (1960).** Intermittent muscular work. Acta Physiol Scand , 48:448-53.

**Bangsbo J (1994).** The physiology of soccer – with special reference to intense intermittent exercise. Acta Physiol. Scand. Suppl. 619: 1-155.

**Balsöm PD, Seger JY, Sjodin B, y col. (1992a).** Physiological responses to maximal intensity intermittent exercise. Eur J Appl Physiol, 65:144-9.

**Balsöm PD, Seger JY, Sjodin B, y col. (1992b).** Maximal-intensity intermittent exercise:effect of recovery duration. Int J Sports Med, 13: 528-33.

**Billat V (2001).** Interval Training for performance: A scientific and empirical practice. Special recommendations for Middle- and Long-distance running. Part I: Aerobic interval training. *Sport Medicine*. 31 (1):13-31.

**Bogdanis GC, Nevill ME, Boobis LH, y col. (1995).** Recovery of power output and muscle metabolites following 30s of maximal sprint cycling in man. *J Physiol (Lond)*; 15: 467-80.

**Bogdanis GC, Nevill ME, Boobis LH, y col. (1996).** Contribution of phosphocreatine and aerobic metabolism to energy supply during repeated sprint exercise. *J Appl Physiol*; 80: 876-84.

**Brooks GA, Fahey TD, White TP (1996).** Exercise physiology: human bioenergetics and its application. 2<sup>nd</sup> ed. Mountain View (CA): Mayfield Publishing. 191-5.

**Casey A, Constantin-Teodosiu D, Howell S, Hultman E, Greenhaff PL (1996).** Metabolic response of type I and II muscle fibers during repeated bouts of maximal exercise in humans. *Am. J. Physiol.* 271 (endocrinol. Metab. 34):E38-E43.

**Daniels J, Scardina N (1984).** Interval training and performance. *Sports Medicine* 1:327-34.

**Dawson B, Goodman C, Lawrence S, Preen D, Polglaze T, Fitzsimons M, Fournier P (1997).** Muscle phosphocreatine repletion following single and repeated short sprint efforts. *Scand J Med Sci Sports*, 7:206-213.

**Edington DW and Edgerton VR (1976).** The biology of physical activity, pp. 272-277 (Houghton Mifflin Company, Boston).

**Esbjörnsson-Liljedahl M, Jansson E (2002).** Smaller muscle ATP reduction in women than in men by repeated bouts of sprint exercise. *J Appl Physiol* 93:1075-1083.

**Essen B (1978).** Glycogen depletion of different fibre types in human skeletal muscle during intermittent and continuous exercise. *Acta Physiol Scand*, 103:446-55.

**Ettema JH (1966).** Limits of human performance and energy production. *Int Z Angew Physiol*, 22:45-54.

**Fox EL, Billing CE, Bason R, y col. (1967).** Improvement of physical fitness by interval training.II: required training frequency.

USA: Medical research and development Command, Office of the Surgeon General, US Army. Apr. Report no.: RF 2002-3.

**Fox EL, and Matthews, DK (1974).** Interval Training –Conditionin for Sports and General fitness, pp. 21-30 (W.B. Saunder Company, Philadelphia).

**Gaitanos GC, Williams C, Boobis LH, y col. (1993).** Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. J Appl Physiol; 75:712-9

**Gollnick PD, Armstrong RB, Saubert IV, Sembrowich WL, Shepherd RE, Saltin B (1973).** Glycogen depletion patterns in human skeletal muscle fibres during prolonged work. Pflügers Arch. 344:1-12.

**Gorostiaga EM, Walter CB, Foster C, Hickson RC (1991).** Uniqueness of interval and continuous training at the same maintained exercise intensity. Eur.J.Appl.Physiol. 63(2): 101-107.

**Hargreaves M, McKenna MJ, Jenkins DG, y col. (1998).** Muscles metabolites and performance during high-intensity, intermittent exercise. J Appl Physiol; 84: 1687-91.

**Jensen CR, and Fisher AG (1979).** Scientific Basis of athletic conditioning, 2<sup>nd</sup> ed., p.165 (Lea and Febiger, Philadelphia).

**Karlsson J, Hermansen L, Agnevic G, Saltin B (1972).** L'étude physiologique de la course à pied. Amicale des entraîneurs Francais d'athlétisme. N° 60, Troisieme trimestre, 1978.

**Mohr M, Krustrup P, Nielsen JJ, Nybo L, Rasmussen MK, Juel C, Bangsbo J (2007).** Effects of two different intense training regime on skeletal muscle ion transport protein and fatigue development. Am.J.Physiol. 292: R1594-R1602, 2007.

**Ratel S, Duche P, Hennegrave A, Van Praagh E, y Bedu M (2002).** Acid-base balance during repeated cycling sprints in boys and men. Journal of Applied Physiology 92: 479-485.

**Saltin B (1975).** Intermittent exercise: its physiology and practical Application, pp:1-15. Ball state University. Muncie. Indiana.

**Saltin B, Essen B, Pedersen PK (1976).** Intermittent exercise: its physiology and some practical applications. In: Joeckle E, Anand RL, Stoboy H, editors. Advances in exercise physiology. Medicine sport series. Basel: karger publishers:23-51.

**Stokes KA, Nevill ME, Hall GM, Lakomy HKA (2002).** The time course of the human growth hormone response to a 6 s and a 30 s cycle ergometer sprint. *Journal of Sports Sciences* 20: 487-494.

**Tesch P, Piehl K, Wilson G, Karlsson J (1975).** Kanot, *Idrottsfysiologi rapport nr 13*, pp. 56-61 (Trygg-Hansa, Stockholm).

**Polimorfismos del gen del receptor de andrógenos: impacto sobre la salud y la respuesta al ejercicio.**

F. Germán Rodríguez González.

*Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Fisiología, Genética e Inmunología.  
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.*

Los principales andrógenos son: la dehidroepiandrosterona (DHEA), la dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAs), la androstenediona y la testosterona (T). Por interconversión periférica se obtienen dihidrotestosterona (DHT), androstenediona y androstenediol. Son sintetizados en los testículos, las glándulas suprarrenales y en los ovarios (1).

Los andrógenos ejercen su acción tras unirse al receptor de andrógenos (RA), actuando como factor de transcripción dependiente de ligando. El RA está codificado en el cromosoma Xq11-12, posee 8 exones que codifican para una proteína de 917 aminoácidos. El exón 1 contiene dos regiones polimórficas que flanquean la región transactivadora I (TAF I) (2). El tracto CAGn (poliglutamina), oscila entre 6 y 39 repeticiones, siendo el rango fisiológico entre 18 y 25. Los trectos cortos, incrementan la capacidad transactivadora del RA (3), asociándose con patologías androgenodependientes como: cáncer de próstata, acné, alopecia entre otras (4, 5) Por otro lado, los trectos largos se asocian con una menor capacidad transactivadora del RA y con determinadas patologías como: esterilidad masculina, hipogonadismo, criptorquidia (6).

El tracto GGNn (poliglicina), está codificado por la secuencia (GGT)3GGG(GGT)2(GGC)n. El número de repeticiones oscila entre 10 y 30. Las repeticiones cortas se asocian con la acumulación citosólica de RA, incrementando su capacidad transactivadora (7).

En el hueso, el RA se expresa mayoritariamente en los osteoblastos (8). Haciendo que los andrógenos estimulen la síntesis de proteínas de la matriz extracelular (Colágeno 1 $\alpha$ , osteocalcina, osteonectina) y la expresión de factores de crecimiento (TGF $\beta$ , IGF-I, IGF II), favoreciendo el aumento de la densidad mineral ósea (9). Mujeres con largos del tracto CAG, presentan una menor densidad ósea en el fémur y la espina dorsal que aquellas con alelos cortos (10). Además, existe una correlación inversa entre el número de repeticiones del tracto CAG y el riesgo de fractura en mujeres osteoporóticas (11). En hombres, la pérdida de masa ósea está asociada con los alelos largos del tracto CAG (12).

En el músculo, los andrógenos ejercen un efecto anabólico. Estimulando la síntesis de colágeno y proteínas, aumentando el tamaño muscular, la masa magra y la fuerza (13).

Debido a la escasa información publicada a cerca del papel que ejercen los polimorfismos del RA sobre la condición física, hemos realizado un novedoso estudio donde hemos genotipado una serie de jóvenes adultos pertenecientes a la isla de Gran Canaria. Los resultados obtenidos se correlacionaron con diversas variables medidas, por ejemplo: masa muscular, potencia de salto y consumo de oxígeno, entre otras.

**Bibliografía:**

(1) Mechanism of StAR's regulation of mitochondrial cholesterol import. *Mol Cell Endocrinol.* 2007;265-266:46-50. Review.

(2) Brinkmann AO, Faber PW, van Rooij HC, Kuiper GG, Ris C, Klaassen P, van der Korput JA, Voorhorst MM, van Laar JH, Mulder E. The human androgen receptor: domain structure, genomic organization and regulation of expression. *J Steroid Biochem* 1989;34:307-10.

- (3) Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res* 1994;22:3181-6.
- (4) Giovannucci E, Stampfer MJ, Krithivas K, Brown M, Dahl D, Brufsky A, Talcott J, Hennekens CH, Kantoff PW. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3320-3.
- (5) Androgen receptor polymorphisms (CAG repeat lengths) in androgenetic alopecia, hirsutism, and acne. *J Cutan Med Surg*. 1998;3:9-15
- (6) Yong EL, Lim LS, Wang Q, Mifsud A, Lim J, Ong YC, Sim KS. Androgen receptor polymorphisms and mutations in male infertility. *J Endocrinol Invest*. 2000;23:573-7. Review.
- (7) Ding D, Xu L, Menon M, Reddy GP, Barrack ER. Effect of GGC (glycine) repeat length polymorphism in the human androgen receptor on androgen action. *Prostate* 2005;62:133-9.
- (8) Kasperk C, Helmboldt A, Börcsök I, Heuthe S, Cloos O, Niethard F, Ziegler R. Skeletal site-dependent expression of the androgen receptor in human osteoblastic cell populations. *Calcif Tissue Int*. 1997;6:464-73.
- (9) McKenna NJ, Lanz RB, O'Malley BW. Nuclear receptor coregulators: cellular and molecular biology. *Endocr Rev*. 1999;20:321-44. Review.
- (10) Sowers M, Willing M, Burns T, Deschenes S, Hollis B, Crutchfield M, Jannausch M. Genetic markers, bone mineral density, and serum osteocalcin levels. *J Bone Miner Res*. 1999;14:1411-9.
- (11) Langdahl BL, Stenkjaer L, Carstens M, Tofteng CL, Eriksen EF. A CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene is associated with reduced bone mass and increased risk of osteoporotic fractures. *Calcif Tissue Int*. 2003;73:237-43.
- (12) Zitzmann M, Brune M, Kornmann B, Gromoll J, Junker R, Nieschlag E. The CAG repeat polymorphism in the androgen receptor gene affects bone density and bone metabolism in healthy males. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2001;55:649-57.
- (13) Bhasin S, Woodhouse L, Storer TW. Proof of the effect of testosterone on skeletal muscle. *J Endocrinol*. 2001;170:27-38. Review

**MECANISMOS INFLAMATORIOS EN EL EJERCICIO EXCÉNTRICO AGUDO:  
PROTECCIÓN MEDIANTE EL ENTRENAMIENTO EXCÉNTRICO**  
Javier González Gallego (*jpgonga@unileon.es*)  
*Instituto de Biomedicina Universidad de León*

La actividad física de intensidad moderada se ha recomendado como estrategia eficaz para prevenir enfermedades crónicas asociadas a los estilos de vida, tales como la hipertensión, las enfermedades cardiovasculares, la diabetes, y la obesidad. Sin embargo, está bien documentado que el ejercicio agudo, particularmente de tipo excéntrico, induce cambios en muchos componentes del sistema inmune, incluyendo niveles elevados de interleucina-1, interleucina-6 y factor de necrosis tumoral alfa (Vassilakopoulos et al., 2003). Estas citoquinas están implicadas en la regulación de la respuesta inmune y de la inflamación, pero una producción excesiva puede exacerbar el proceso inflamatorio, causando una respuesta sistémica, así como un daño muscular, en cuya progresión juega un papel el estrés oxidativo (Meksawan et al., 2004).

Aunque diversos estudios han investigado la respuesta inflamatoria al ejercicio excéntrico, se conoce muy poco acerca de sus efectos sobre vías de señalización mediadas por el estrés oxidativo, que juegan un papel en mantener el balance oxidante/antioxidante y median la expresión de genes implicados en la respuesta inflamatoria, tanto local como sistémica. Una de las vías de mayor importancia que pueden activarse durante el ejercicio excéntrico es la relacionada con el factor nuclear kappa-B (NF- $\kappa$ B). Este factor de transcripción nuclear altera la expresión de un gran número de genes, incluyendo los que codifican para diversas citoquinas, mediadores de la apoptosis y de la respuesta de fase aguda o defensas antioxidantes (García-Mediavilla et al., 2005).

Estudios previos han puesto de manifiesto que el ejercicio agudo extenuante incrementa la activación de NF- $\kappa$ B en músculo de rata

(Ji et al., 2004) y nuestro grupo había demostrado que el ejercicio anaeróbico supramáximo produce un efecto similar en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) (Cuevas et al., 2005). La respuesta genómica de las células mononucleares al ejercicio puede constituir un área importante de investigación en la determinación de los mecanismos que unen actividad física y salud (Connolly et al., 2004). Por otra parte, es concebible que la activación de NF- $\kappa$ B en los PBMC, que pueden representar una población de células en tránsito hacia su participación en mecanismos de adaptación tisular (Peake et al., 2005), resulte de estímulos provenientes del músculo dañado. Dado que la biopsia muscular puede contribuir al proceso inflamatorio local (Malm et al., 2000), el estudio de los efectos sobre células mononucleares podría aportar información útil no solo en relación con la respuesta sistémica, sino también local, al ejercicio excéntrico.

Es conocido que los efectos de los suplementos antioxidantes sobre el daño inducido por el ejercicio excéntrico son variables (Sacheck et al., 2003), y los datos disponibles indican que los fármacos antiinflamatorios resultan poco eficaces (Peterson et al., 2003). Se ha demostrado que el entrenamiento induce adaptaciones que aportan una protección adicional durante el estrés físico intenso y atenúa la respuesta oxidativa al ejercicio (Radak et al., 2001). La observación de que el ejercicio regular reduce el estrés oxidativo y la activación de NF- $\kappa$ B en hígado de rata (Radak et al., 2004), sugiere vías de investigación que podrían contribuir a clarificar las bases moleculares de las adaptaciones al ejercicio.

En función de los antecedentes citados, iniciamos una línea de trabajo orientada a analizar los efectos del ejercicio excéntrico agudo y del entrenamiento sobre la vía de señalización celular de NF- $\kappa$ B y su respuesta al entrenamiento excéntrico. En un primer estudio participaron 11 sujetos que realizaron un entrenamiento excéntrico submáximo de 6 semanas de duración. Antes y después del periodo

de entrenamiento se llevó a cabo un ejercicio agudo consistente en la ejecución de 12 series de 10 repeticiones de la fase excéntrica de la media sentadilla, con una carga equivalente al 60% de la fuerza máxima isométrica. Los resultados obtenidos confirmaron que el ejercicio excéntrico agudo producía daño muscular, puesto de manifiesto por dolor referido, pérdida de la fuerza explosiva e incremento en los niveles de creatina quinasa (García-Lopez et al., 2007).

En condiciones de reposo el factor NF- $\kappa$ B, que está constituido por las subunidades p50 y p65, se encuentra inactivo en el citoplasma celular asociado al inhibidor I $\kappa$ B. En respuesta a estímulos diversos, el inhibidor se fosforila, lo que permite la traslocación de NF- $\kappa$ B al núcleo celular, donde tras su fijación a los correspondiente promotores induce cambios en la expresión de genes (Alonso et al., 2006). En nuestro estudio, el daño muscular se acompañó en PBMC de una activación de NF- $\kappa$ B, puesta de manifiesto mediante un ensayo de movilidad electroforética (EMSA), e incremento en la expresión de sus subunidades p65 y p50. La expresión del inhibidor I $\kappa$ B $\alpha$  fosforilado se incrementaba, mientras se reducía la expresión de la forma no fosforilada de I $\kappa$ B $\alpha$ . Estos cambio se atenuaron significativamente tras la realización del programa de entrenamiento excéntrico.

El ejercicio con alto componente excéntrico induce daño muscular, pero si se repite varias semanas después, el daño es mucho menor. Este fenómeno, denominado *repeated bout effect* (efecto por repetición del estímulo) se explica por diversas teorías que proponen un origen neural, mecánico o celular (Mchugh, 2003): En cualquier caso, se traduce en una menor pérdida de fuerza y liberación reducida de proteína muscular a sangre. En nuestro estudio, los efectos beneficioso detectados tras el programa de entrenamiento excéntrico no se debían exclusivamente al "efecto por repetición del estímulo", pues al investigar un segundo grupo de sujetos,

observamos que el daño muscular se reducía de forma marcada mientras la activación de NF- $\kappa$ B seguía estando presente, cuando los dos test de ejercicio agudo se separaban por 6 semanas de reposo (García López et al., 2007).

Algunos estudios han investigado la influencia del proceso de envejecimiento sobre la respuesta sistémica al ejercicio excéntrico, y se ha indicado que la respuesta de leucocitos y citoquinas se reduce (Toft et al., 2002) y que también compromete la traslocación nuclear de NF- $\kappa$ B en linfocitos de personas mayores (Ponnappan, 2002). Hemos investigado también los efectos de ejercicio excéntrico agudo y del entrenamiento en un grupo de sujetos ancianos (66-75 años), comprobando que en éstos el ejercicio agudo produce una activación de NF- $\kappa$ B en PBMC, con reducción en la expresión del inhibidor I $\kappa$ B $\alpha$  fosforilado. Dicho efecto se acompaña de incrementos significativos en el ARNm y la proteína de mediadores de la inflamación tales como óxido nítrico sintetasa (NOS) inducible, ciclooxigenasa-2 (COX-2) e interleucina-6 (IL-6). La respuesta se inhibe tras el entrenamiento excéntrico submáximo (Jiménez et al., 2008). En consecuencia, nuestros datos sugieren que el envejecimiento no se acompaña necesariamente de una inhibición de la respuesta adaptativa al ejercicio excéntrico.

Actualmente estamos profundizando en la respuesta muscular local, tanto al ejercicio excéntrico agudo como al entrenamiento, en animales de laboratorio. Se utilizan ratas que realizan un protocolo agudo intermitente de carrera en un tapiz rodante (inclinación -16% y velocidad 16m/min) consistente en 18 series de 5 min separadas por periodos de reposo de 2 min. El ejercicio excéntrico estimula la activación muscular de NF- $\kappa$ B y la degradación de la proteína inhibidora I $\kappa$ B $\alpha$ . Dichos cambios se acompañan de un aumento en la expresión de las tres isoformas de la NOS en músculo (iNOS, eNOS y nNOS), confirmándose mediante el ensayo de inmunoprecipitación de fragmentos de cromatina (ChIP assay) que

su transcripción está directamente regulada a través de la unión de NF- $\kappa$ B a los respectivos promotores. Un entrenamiento excéntrico de 8 semanas de duración previene dichas alteraciones.

En resumen, nuestros datos en modelos animales y en humanos indican que el entrenamiento excéntrico regular puede ser un método efectivo para prevenir respuestas inflamatorias tanto locales como sistémicas inducidas por el ejercicio excéntrico.

### *Bibliografía*

- Alonso, M., Collado, P.S., González-Gallego, 2006. *J. Pineal Res.* 41, 8-17.
- Connolly, P.H., Caiozzo, V.J., Zaldivar, F., Nemet, D., Larson, J., Hung, S., Heck, J.D., Hatfield, G.W., Cooper, D.M., 2004. *J. Appl. Physiol.* 97, 1461-1469.
- Cuevas, M.J., Almar, M., García-González, J.C., De Paz, J.A., Alvear-Ordenes, I., González-Gallego, J., 2005. *Free Radic. Res.* 39, 431-439.
- García-Lopez, D., Cuevas, M.J., Almar, M., Lima, E., De Paz, J.A., González-Gallego, J., 2007. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39, 653-664.
- García-Mediavilla, M.V., Sánchez-Campos, S., González-Pérez, P., Majano, P.L., López-Cabrera, M., Clemente, G., García-Monzón, C., González-Gallego, J., 2005. *J. Hepatol.* 43, 606-613.
- Ji, L.L., Gómez-Cabrera, M.C., Steinhafel, N., Viña, J., 2004. *FASEB J.* 18, 1499-1506.
- Jiménez, R., Cuevas, M.J., Almar, M., Lima, E., García-López, D., De Paz, J., González-Gallego, 2008. *Mech. Ageing Develop.* doi:10.1016/j.med.2008.02.002.
- Malm, C., Nyberg, P., Engström, M., Sjodin, B., Lenkej, R., Ekblom, B., Lundberg, I.J., 2003. *Physiol.* 529, 243-262.
- McHugh, M.P., 2003. *Scand. J. Med. Sci. Sports* 13, 88-97.
- Meksawan, K., Venkatraman, J.T., Awad, A.B., Pendergast, D.R., 2004. *J. Am. Coll. Nut.* 23, 331-340.
- Peake, J., Nosaka, K., Suzuki, K., 2005. *Exerc. Immunol. Rev.* 11, 64-85.
- Peterson, J.M., Trappe, T.A., Mylona, E., White, F., Lambert, C.P., Evans, W.J., Pizza, F.X., 2003. *Med. Sci. Sports Exerc.* 35, 892-896.
- Ponnappan, U., 2002. *Exp. Gerontol.* 37, 359-367.
- Radak, Z., Chung, H., Naito H., 2004. *FASEB J.* 18, 749-750.
- Radak, Z., Taylor, A.W., Ohno, H., Goto, S., 2001. *Exerc. Immunol. Rev.* 7, 90-107.
- Sacheck, J.M., Milbury, P.E., Cannon, J.G., Roubenoff, R., Blumberg, J.E., 2003. *Free Radic. Biol. Med.* 34, 1575-1588.
- Toft, A.D., Jensen, L. B., Bruunsgaard, H., Ibfelt, T., Halkjær-Kristensen J., Febbraio, M., Pedersen B.K., 2002. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 283, C289-C295.
- Vassilakopoulos, T., Karatza, M., Katsaounou, P., Kollintza, A., Zakynthinos, S., Roussos, C., 2003. *J. Appl. Physiol.* 94, 1025-1032.

## **SIGNIFICADO FISIOLÓGICO Y MECÁNICO DEL CARÁCTER DEL ESFUERZO EN EL ENTRENAMIENTO DE FUERZA**

Juan José González Badillo

El problema objeto de análisis en esta ponencia es la dosificación de la carga de entrenamiento. La solución tradicional ha sido utilizar el porcentaje de 1RM. Pero este procedimiento tiene notables inconvenientes como solución a este problema: el primero es que la RM se modifica rápidamente durante el entrenamiento, el segundo es que la medición de la RM en la mayoría de los casos no se hace con exactitud. La solución a esta problemática está en utilizar de manera correcta la aplicación del carácter del esfuerzo bien medido.

El carácter del esfuerzo (CE) se determina por la relación entre lo realizado y lo realizable. Expresa el grado de esfuerzo. Por tanto, el factor determinante de una mayor precisión de la carga será la mayor precisión en la determinación del CE.

Se mejora la precisión de la carga (CE) si se conocen:

- La *velocidad* de cada porcentaje de 1RM
- Las *repeticiones* que se pueden realizar en función de la velocidad de la primera repetición de una serie
- La *relación* entre el porcentaje de velocidad perdido y el número de repeticiones realizadas dentro de cada serie

### ***Relación entre el CE y el grado de estrés.***

La relación entre lo realizado y lo realizable tiene una correspondencia con el *grado de estrés* provocado, que se podría medir, entre otros indicadores, por:

- El grado de metabolitos producidos
  - Lactato
  - Amonio
- Pérdidas de *velocidad* y *potencia* después de una serie

Estos efectos son expresiones de las características de los distintos *tipos de esfuerzo* que representa cada carácter del esfuerzo.

En un estudio realizado por nosotros para analizar las características del CE se utilizaron 15 entrenamientos con un CE diferente, en dos ejercicios, el press de banca y la sentadilla completa. Los entrenamientos fueron los siguientes:

- **3x6(12); 3x8(12); 3x10(12); 3x12(12)**
- **3x6(10); 3x8(10); 3x10(10)**
- **3x4(8); 3x6(8); 3x8(8)**
- **3x3(6); 3x4(6); 3x6(6)**
- **3x2(4); 3x4(4)**

En total se utilizaron 5 valores de *repeticiones realizables* (12, 10, 8, 6, 4). Y un total son 15 *tipos de esfuerzos*, que son los entrenamientos indicados anteriormente. Se puede observar que cada tipo de esfuerzo máximo (CE<sub>máx</sub>) (cuando se realiza el número máximo de repeticiones realizables) tiene un tipo de esfuerzo mínimo que consiste en realizar el 50% de las repeticiones realizables (CE<sub>50%</sub>), excepto el 3x6(10), y unos valores intermedios entre ambos extremos.

Los resultados indicaron que el lactato acumulado aumentó de manera lineal a medida que aumentaba el número de repeticiones y que con el CE<sub>máx</sub> fue prácticamente el doble que con el CE<sub>50%</sub> en ambos ejercicios. Mientras que el amonio fue similar con el CE<sub>50%</sub> y la diferencia entre el CE mínimo y el máximo aumentó proporcionalmente más a medida que aumentaba el número de repeticiones realizadas con el CE<sub>máx</sub>.

Para analizar el efecto mecánico de cada CE en el press de banca se midió la pérdida de velocidad con la carga que se podía desplazar a 1m/s. La pérdida de velocidad provocada con el esfuerzo máximo de menor número de repeticiones [3x4(4)] fue prácticamente la mitad (0,18m/s) que la pérdida después de hacer el esfuerzo máximo con el mayor número de repeticiones [3x12(12)] (0,33m/s). Y se observó una relación lineal positiva prácticamente perfecta entre el número de repeticiones realizadas con el carácter del esfuerzo máximo y la pérdida de velocidad. La pérdida con el CE<sub>50%</sub> fue muy similar para todos los casos (de 0,04 a 0,07), excepto para 3x6(10), que fue de 0,13. Es decir, hacer una repetición más de la mitad de las realizables, supuso aproximadamente doblar la pérdida de velocidad.

Las pérdidas de velocidad en la sentadilla se midieron a través de la pérdida en la altura del salto vertical después de cada tipo de esfuerzo. Las pérdidas con el CEmáx con 12 repeticiones fue el doble (8cm) que con el CEmáx con 4 repeticiones (4cm). Las pérdidas con el CE<sub>50%</sub> estuvieron entre 2 y 3cm, excepto cuando se hizo 3x6(12), que fue de 4,5cm. La pérdida con la realización de una repetición más de la mitad de las realizables [(3x6(10))] tiende a provocar una pérdida superior (4,55).

Por tanto, podemos concluir que el *grado de esfuerzo* (CE) es mayor a medida que:

- Aumenta el número de repeticiones realizables (hasta 12)
- Disminuye la diferencia entre las repeticiones realizadas y las realizables

Esta afirmación se basa en el hecho de que a medida que aumenta el CE se produce:

- Una mayor acumulación de *lactato* y de *amonio*
- Una mayor pérdida de *velocidad* y *potencia*

Esto indica que el control de estos indicadores metabólicos y mecánicos puede ser muy útil para determinar la carga de entrenamiento.

### ***Número de repeticiones realizables según la velocidad de la 1ª repetición de una serie.***

#### ***Pérdida de velocidad dentro de la serie***

En la figura 1 se presenta la relación entre la velocidad de la repetición inicial con una carga y el número de repeticiones que se realizan con dicha carga. La alta relación entre estas dos variables permite predecir con bastante precisión el número de repeticiones que se pueden hacer una vez medida la velocidad de la primera repetición con cualquier carga. Por tanto, conocida la velocidad de la primera repetición de una serie no sólo se sabe con bastante precisión qué grado de esfuerzo significa esa carga para el sujeto –como veremos más adelante–, sino que también se conoce el número de repeticiones realizables y, por ello, ajustar el CE.

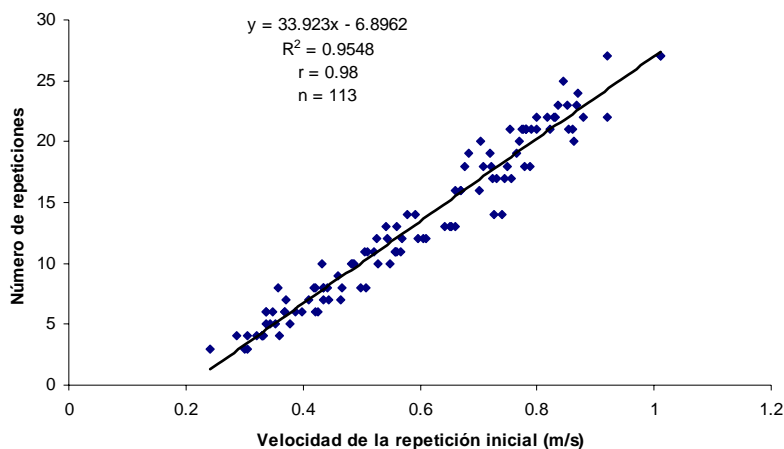


Figura 1. Relación entre la velocidad inicial con cualquier carga y número de repeticiones realizables.

Una vez analizada la pérdida de velocidad en el ejercicio de press de banca a medida que se avanza en el número de repeticiones realizables en una serie, se observa que cuando se ha perdido el 20% de la velocidad inicial, el número de repeticiones realizadas es el 50% de las realizables. Esta relación es independiente del número de repeticiones realizables al menos cuando éstas oscilan entre 4 y 12. Cuando se realizan tres series con estas cargas, se produce una ligera tendencia a aumentar la pérdida de velocidad al realizar el 50% de las repeticiones (19.1 a 22,4%). Esta pérdida de velocidad en el ejercicio de sentadilla es del 15%

Por tanto, el conocimiento de la *velocidad de la 1ª repetición de una serie* permite:

- Determinar el porcentaje de *1RM real* o *grado de esfuerzo* que representa la carga en la primera repetición
- Conocer el número de repeticiones que se puede hacer dentro de la serie
- Disponer de un criterio válido para determinar el carácter del esfuerzo (numero de repeticiones a realizar dentro de la serie) en la propia serie
  - La pérdida de velocidad determina el número de repeticiones realizadas
- Ajustar la carga propuesta a la carga programada (carga real)

### ***Velocidad con cada porcentaje de 1RM***

La *velocidad* sirve como criterio de referencia adecuado para determinar la *intensidad*.

Cada grado de velocidad de ejecución tiene un *efecto* diferenciado para el rendimiento.

El procedimiento para confirmar estas propuestas consiste en medir la velocidad a la que se realiza cada porcentaje de 1RM. La propuesta se justifica porque se parte del *supuesto* de que si bien el valor de 1RM puede cambiar entre los distintos días, la velocidad a la que se realiza cada porcentaje es muy estable. Por tanto, el *control de la velocidad* nos podría informar con más precisión sobre qué porcentaje o qué esfuerzo se está realizando en cada momento.

Estas afirmaciones se basan en el hecho de que el ajuste de la relación entre el porcentaje que representa cada carga y la velocidad correspondiente al mismo es de una  $R^2 > 0,99$  en el 95% de los casos. Estas relaciones son semejantes en los ejercicios de press de banca y de sentadilla, pero la velocidad con cada porcentaje de 1RM es ligeramente superior en la sentadilla. Esta diferencia se debe a que la velocidad propia de una RM verdadera en sentadilla es superior a la del press de banca (0,15 - 0,2m/s en press de banca frente a 0,25 - 0,3m/s en sentadilla). La velocidad con cada porcentaje no se modifica prácticamente aunque el sujeto mejore su RM. Si se da una tendencia a ligeras modificaciones en estos valores comparando los resultados de antes y después de un periodo de entrenamiento, significará que el déficit de fuerza se ha modificado. Una ligera reducción de la velocidad con cada porcentaje después de un periodo de entrenamiento es indicador de que ha aumentado el déficit. Es probable que cada sujeto tenga su propia velocidad máxima con cada porcentaje y, por tanto, su propio déficit mínimo, el cual no pueda reducirse. No obstante, las diferencias en la velocidad con cada porcentaje son muy pequeñas e insignificantes entre los sujetos.

### ***Conclusiones y aplicaciones.***

- Cada porcentaje de 1RM tiene su propia velocidad
- La velocidad de la 1ª repetición de una serie determina el grado de esfuerzo que representa la carga

- La carga (peso) de entrenamiento se determina por la velocidad de la 1ª repetición
- Por tanto, lo que se programa o debe programar no es el porcentaje de 1RM, sino la velocidad de la primera repetición

**Sitios en el SNC donde el entrenamiento puede tener efectos  
Dr. Juan Ribas**

*Localizaciones*

Los movimientos que realizan nuestros músculos esqueléticos pueden ser más o menos automáticos pero, en cualquier caso, es necesaria la voluntad para iniciarlos y controlarlos; de aquí que a los músculos esqueléticos se les llame también "voluntarios". De hecho no hay fibra muscular esquelética en nuestro organismo que no reciba el contacto de una fibra nerviosa. Esta fibra nerviosa es la que, en última instancia, le va a proporcionar la información necesaria para ejecutar la acción motora de los músculos.

Aunque la información nerviosa última procede de las motoneuronas localizadas en el asta anterior de la médula espinal y en el troncoencéfalo, es demasiado simplista atribuir a esta última motoneurona la "voluntad" de la orden motora. En realidad, la información que finalmente sale de la motoneurona hacia el músculo es el resultado de numerosos procesos de excitación y de inhibición que tienen lugar en todo nuestro SNC, además de los que se generan en las neuronas sensoriales que tienen sus terminaciones receptoras en el propio músculo esquelético.

Neuronas de la corteza cerebral frontal y parietal se activan decenas de milisegundos antes de que se inicie una acción muscular concreta. Algo parecido ocurre con neuronas en el cerebelo. Finalmente, el resultado de todas las activaciones neuronales corticales se vuelca a las grandes vías de tránsito de información, como es el caso de la vía piramidal, cortico-espinal y tecto-espinal. La información descendente desde la corteza, mientras recorre la médula espinal, va dando ramificaciones a un gran número de interneuronas cuyos axones terminan confluyendo con otros de orígenes distintos (receptores sensoriales musculares, receptores vestibulares, receptores visuales y otros) en las motoneuronas del asta anterior de la médula espinal.

Todos estos sitios del SNC en los que se genera o procesa información motora son susceptibles de ser entrenados. De hecho una de las características funcionales más poderosas del SNC es su plasticidad, es decir, su capacidad para cambiar las características físicas y computacionales de las conexiones entre sus neuronas mientras se persigue la optimización funcional del sistema.

*Evidencias de respuestas del SNC a actividades fatigantes y al entrenamiento.*

En las primeras décadas del siglo XX Mosso describió la importancia del nivel de excitación del SNC en la respuesta muscular ante una tarea fatigante. Una actividad muscular de la extremidad superior realizada hasta la extenuación con los ojos vendados, era posible reanudarla y mantenerla al nivel del inicio con solo abrir los ojos. Esto fue interpretado como que la visión aumentaba el nivel de excitación cerebral. Por tanto, dado que el músculo podía seguir contrayéndose tras la apertura de los ojos era obvio que no parecía haber ningún impedimento funcional en el propio músculo, más bien había decaído la excitabilidad de origen cortical sobre la motoneuronas, dejando sin señal de activación nerviosa a los músculos. Siendo ésta una de las primeras evidencias de la fatiga a nivel de sistema nervioso central, corroboradas después por otros (Bigland-Ritchie, Gandevia, Burke, etc). No obstante, la evidencia apuntaba al importante papel de la excitabilidad del SNC pero era muy poco concreta respecto a la localización de la pérdida de excitabilidad durante la manifestación de fatiga. No se sabía si era a nivel cortical, mesencefálico, troncoencefálico, propioespinal o de la misma motoneurona final.

Los intentos de determinar si los mecanismos responsable de la fatiga se hayan localizados en el sistema nervioso central (fatiga central) o en el músculo esquelético (fatiga periférica) han venido a complicar un poco más el concepto de fatiga. Estos intentos han traído más confusión porque en realidad no existe un límite claro entre sistema nervioso y músculo esquelético. El músculo posee más del doble de conexiones nerviosas aferentes sensoriales que llevan la información de decenas de receptores intramusculares al SNC, que conexiones nerviosas eferentes motoras que llevan información del SNC al músculo. Es tal la interacción entre los mecanismos centrales (SNC) y los periféricos (musculares) que el tratar de separarlos no resulta fácil ni útil (Nybo y Secher, 2004).

Por estas razones se ha acometido la difícil tarea de tratar de concretar en qué puntos del SNC se producen las pérdidas de excitabilidad durante tareas motoras. Para ello ha habido que ponerse de acuerdo en alguna definición común a cualquier tipo de fatiga, algo que aún hoy se sigue discutiendo (Barry y Enoka, 2008). De las definiciones simples como "la incapacidad para mantener un determinado nivel de fuerza" (Edwards, 1981) o "la reducción en la capacidad del sistema neuromuscular para generar fuerza durante una actividad sostenida" (Bigland-Ritchie y cols., 1983) hasta las más completas como la de Enoka y Stuart (1992) que la definieron como "el deterioro agudo del rendimiento que incluye una incapacidad para mantener el rendimiento y un aumento en el esfuerzo percibido que se necesita para mantener el nivel de rendimiento requerido".

Uno de los puntos más críticos a la hora de definir la fatiga es la relación con la tarea a realizar, de modo que el "punto de fatiga" se ha descrito como la duración a partir de la cuál no se puede mantener una tarea determinada, dando lugar a cierta confusión ya que se pueden detectar procesos que se fatigan bastante antes de que aparezca la incapacidad para mantener la tarea. Bigland-Ritchie y Word (1984) ya advirtieron de la conveniencia de distinguir entre fatiga y fallo para mantener la ejecución de una tarea.

En realidad son cuatro los puntos críticos a los que hay que prestar atención para tratar de obtener un consenso sobre el concepto de fatiga: a) la relación entre la fuerza muscular y el tiempo que ésta se puede mantener, b) la "sabiduría" muscular por la que se entiende la capacidad de entendimiento funcional entre la motoneurona y las fibras musculares inervadas por ésta, c) la dependencia del tipo de tarea muscular a realizar, y d) la percepción del esfuerzo necesario para mantener una actividad objetivo.

El tipo de carga o activación solicitada al músculo afecta al tiempo que es capaz de mantener un nivel de fuerza determinado. Por ejemplo, a un sujeto se le fija el brazo y mano a un soporte rígido equipado con un transductor de fuerza y se le ordena que mantenga, tanto como pueda, un nivel de fuerza equivalente a un nivel del 20% de una contracción voluntaria máxima. El sujeto se realimenta con la señal del 20% mostrada en una pantalla. En otra situación experimental, al sujeto se le deja la extremidad libre pero unida a una carga móvil equivalente al mismo 20% de una contracción voluntaria máxima que se utilizó en el experimento previo, y se le ordena que mantenga, tanto como pueda, un ángulo articular determinado, cuyo valor se le presentó en una pantalla para su realimentación. El sujeto claudicó antes cuando tuvo que sostener la posición contra una carga que cuando tuvo que sostener un nivel de fuerza sin ocuparse de la posición. El mantenimiento de la posición requirió un reclutamiento de unidades motoras más rápido que el sostenimiento de una fuerza isométrica sin necesidad de control articular. De hecho cuando ambos experimentos se realizaron con fuerzas objetivo de más del 60% del máximo (donde se tienen que reclutar un máximo de unidades motoras) no hubo diferencia entre el tiempo hasta la claudicación ni en la rapidez de reclutamiento. Por lo tanto, el tipo de carga, el tipo de control nervioso y el nivel de reclutamiento

son factores que afectan a la manifestación del "punto de fatiga" durante un ejercicio.

Cuando la orden de activación motora va, codificada en frecuencia de potenciales de acción, desde las motoneuronas a las fibras musculares y éstas se contraen repetidamente, hay un acoplamiento entre la frecuencia de descarga de las unidades motoras y los cambios mecánicos que ocurren en las fibras musculares durante el ejercicio. De manera que la frecuencia de potenciales de acción disminuye conforme la respuesta mecánica de las fibras musculares cambia con el trabajo realizado. A este proceso, por el cual las motoneuronas parecen saber de antemano (y de hecho lo saben) en qué situación para responder mecánicamente están las fibras musculares, es lo que ha sido llamado la "sabiduría" muscular, aunque el término muscular en este caso debiera entenderse como unidad motora o en conjunto de motoneurona y todas las fibras musculares inervadas por ella.

Cuando se trata de estimular las fibras musculares para obtener la máxima fuerza, resulta que una estimulación a frecuencia constante produce una caída más rápida de la fuerza muscular que cuando la estimulación se aplica con una disminución gradual. Probablemente, este tipo de estimulación que simula el producido naturalmente por las motoneuronas durante una activación muscular voluntaria, consigue reducir la probabilidad de fallos de activación y optimiza el acoplamiento entre excitación y contracción en el músculo. Por ejemplo, el aumento en la duración y en la relajación de una contracción muscular cuando la fibra se va fatigando, permite que con menor frecuencia de activación (ya que aumenta el periodo que dura una contracción) se pueda conseguir el mismo grado de fusión durante una contracción tetánica. No obstante, la frecuencia de las unidades motoras no siempre disminuyen durante las contracciones, sino que en ocasiones en las que se requiere un aumento del reclutamiento puede aparecer un aumento de la frecuencia de descarga con el objetivo de obtener un nivel de fuerza alto.

Aunque el mecanismo por el cual la motoneurona disminuye su frecuencia de generación de potenciales de acción durante una contracción no se conoce en detalle, es probable que los reflejos originados en los propios músculos, los cambios en la intensidad de la excitación descendente desde el cerebro y los cambios propios en las propiedades electrofisiológicas de las motoneuronas pueden contribuir a explicarlo. Una vez más, la finalidad de la tarea propuesta parece influir decisivamente en la respuesta del SNC.

Las manifestaciones funcionales durante los procesos de fatiga son tan variables como dependientes del tipo de tarea a realizar. De modo que parece más útil preguntarse qué es lo que produce el fallo en la ejecución de una tarea, que qué es lo que causa que se fatigue el músculo. En efecto, las tareas que tratan de mantener una posición articular de un miembro fracasan más pronto que las que sólo tratan de mantener la fuerza. La posición inicial de una extremidad o una de sus partes también puede hacer variar el tiempo hasta el fracaso de la tarea a realizar, probablemente por la participación de los músculos sinergistas y antagonistas en el sostenimiento de una postura determinada. La postura o el mantenimiento de una determinada posición requiere más "computación" por parte del SNC, por lo tanto, mayor número de activaciones sinápticas en el propio SNC y mayor confluencia con la información sensorial procedente de los propios músculos, tendones, cápsulas articulares, piel, etc. apuntando todo ello a un fracaso más precoz o a una aparición de fatiga más temprana cuanto más computación requiera la tarea.

Naturalmente, el tipo de fibra muscular, su metabolismo, estructura y vascularización también influyen en el tipo de respuesta funcional que se le demanda a un grupo muscular. Por ejemplo, se puede sostener un tercio más de tiempo una contracción del 20% del máximo del músculo abductor del dedo índice

que de un músculo flexor del codo. Así mismo, las proyecciones aferentes de tipo III y IV procedentes de los músculos flexores del codo no se distribuyen en el SNC igual que las proyecciones aferentes procedentes de los músculos extensores del codo. Es más, la oclusión del riego sanguíneo a un grupo muscular prolonga la depresión de la excitabilidad de las unidades motoras, probablemente porque las condiciones mecánicas y metabólicas que originaron las activaciones de las aferentes nerviosas tipo III y IV seguían estando presentes, sin posibilidad de aclaramiento sanguíneo, y su efecto depresor de la excitabilidad de las unidades motoras homólogas persistiendo. En consecuencia, cuando un músculo trabaja en isquemia la acumulación de catabolitos aumenta la realimentación originada en las terminaciones nerviosas aferentes tipo III y IV.

De lo anterior es fácil deducir que los procesos que llevan al fracaso de una tarea muscular no son simples y que, en cualquier caso, son muy dependientes del tipo de tarea que se quiera realizar, con qué grupo muscular se pretende realizar y cuál es el grado de adaptación o entrenamiento del conjunto músculo-sistema nervioso para esa tarea.

Por otro lado, es tal el flujo de información desde el músculo al SNC y dentro del SNC que los aspectos de adaptación muscular son, en primera instancia, menos complicados y más tardíos que los que se tienen que producir en el SNC. Sin embargo, a pesar de las dificultades para identificar procesos de adaptación concretos en el SNC como manifestación de la adaptación al entrenamiento deportivo y rehabilitador, cada vez se dispone de más datos respecto a la importancia de la excitabilidad promotora, a nivel de las interneuronas espinales y de las conexiones cortico-espinales evidenciadas por estimulación magnética transcraneal; todas ellas susceptibles de ser entrenadas.

#### *Referencias*

Barry BK, Enoka RM, (2008) The neurobiology of muscle fatigue 15 years later. *Integrative and Comparative Biology* 47(4):465-473

Bigland-Ritchie B, Johansson R, Lippold OCJ, Woods JJ. (1983) Contractile speed and EMG changes during fatigue of sustained maximal voluntary contractions. *J Neurophysiol* 50: 313-324

Bigland-Ritchie B, Wood JJ. (1984) Changes in muscle contractile properties and neural control during human muscular fatigue. *Muscle Nerve* 7:691-9

Edwards RHT (1981) Human muscle function and fatigue. In: Porter R, Whelan J, eds. Human muscle fatigue: physiological mechanisms. London: Pitman Medical Ltd. P 1-8

Enoka RM, Stuart DG, (1992) Neurobiology of muscle fatigue. *J Appl Physiol* 72: 1631-48

Nybo L, Secher NH, (2004) Cerebral perturbations provoked by prolonged exercise. *Prog Neurobiol* 72:223-61

## **Leptina y ejercicio.**

José Antonio López Calbet

Departamento de Educación Física, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

La obesidad y la diabetes tipo 2, son dos de las principales enfermedades que afectan a la población española y canaria (1-6). Este problema afecta a todos los segmentos de la población, desde niños a adultos y ancianos (1-5). En la mayoría de los casos la obesidad se asocia a una falta de actividad física y a un desequilibrio entre la energía consumida y la energía gastada. Para lograr una disminución de la masa grasa corporal es necesario instaurar un balance energético negativo. Para ello es importante, no sólo instaurar una dieta hipocalórica, sino también aumentar la actividad física diaria (7-14). Además, la práctica habitual de actividad física se asocia, independientemente del grado de adiposidad, a una menor mortalidad en la población general (15) y a un menor riesgo cardiovascular (11, 16, 17). La obesidad ocasiona un desequilibrio metabólico que afecta a múltiples órganos, pero en especial al tejido adiposo, el hígado, el páncreas y el músculo esquelético. Buena parte de las alteraciones metabólicas de la obesidad están relacionadas con la resistencia a la insulina y a la leptina (18).

### **1.1. La leptina y su papel en la regulación del peso corporal. Señalización y sensibilidad a la leptina.**

La leptina es una hormona producida por los adipocitos, en proporción directa a la masa grasa, que disminuye el apetito, aumenta el metabolismo basal y la oxidación de grasas (19-23). Los efectos de la leptina en lo que se refiere a la regulación del peso corporal parecen iniciarse por la interacción de esta hormona con su receptor (OB-R) en el hipotálamo (24). Existen múltiples isoformas del OB-R, todas generadas por el procesamiento alternativo de un mismo ARNm (25). De entre todas ellas, la isoforma larga del receptor (OB-Rb) es la única que posee una cola intracelular de unos 300 aminoácidos altamente conservada en muchas especies que es crítica para las acciones de esta hormona (26, 27). El OB-Rb, como otros receptores de citoquinas, no posee actividad enzimática intrínseca, por lo que la señalización a partir del mismo se produce por su interacción no covalente con un miembro de la familia de tirosinquinasa *Janus Kinase*, concretamente con Jak2 (24, 26-28). La unión de la leptina al receptor provoca la activación de Jak2, la cual una vez activa no sólo induce la fosforilación de numerosas proteínas pertenecientes a otras vías de señalización (ERK, IRS y PI3K) (29), sino que además promueve la fosforilación del OB-Rb en los residuos de Tirosina 985 y 1138 lo cual inicia una cascada de señalización que incluye las vías de señalización SHP-2/GRB2/ERK (Tirosina 985) y STAT3 (Tirosina 1138) (30-34). Al menos a nivel hipotalámico, se ha demostrado que la proteína SH2-B actúa amplificando la activación de Jak2 y por tanto es un modulador positivo que aumenta la sensibilidad a la leptina (35). En cambio la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B) (36) y la proteína supresora de la señalización de citoquinas-3 (*Suppressor of Cytokine Signaling-3* (SOC3)) (37, 38), cuya expresión es modulada positivamente por STAT3, disminuyen la sensibilidad a la leptina (25). En los últimos años se ha demostrado la existencia del OB-R en numerosos tejidos periféricos y no sólo en el SNC, incluidos el tejido óseo (los osteoblastos y condrocitos) y el músculo esquelético (39). En cultivos de osteoblastos se ha demostrado que la leptina promueve la activación de estas células (40), por lo que *in vitro* actúa favoreciendo la mineralización ósea, pero sólo a dosis suprafisiológicas (40, 41). No obstante, *in vivo* el aumento de la concentración plasmática de leptina se asocia a aumento de

resorción ósea mediada por un aumento de la actividad simpática (42, 43), aunque este efecto no ha sido aún observado en el humano.

Recientemente nuestro grupo de investigación ha demostrado la existencia de receptores de leptina en el músculo esquelético humano (39). Así mismo, hemos constatado que la expresión de proteína receptora de leptina en músculo esquelético es prácticamente el doble en mujeres que en hombres (Guerra y col., pendiente de enviar). Este dimorfismo sexual en la cantidad de proteína receptora OBR se asocia a un mayor nivel de leptina circulante en las mujeres que en los hombres, incluso cuando los valores de leptina se ajustan en función del índice masa corporal (44) o del porcentaje de grasa corporal (Guerra y col., pendiente de enviar). Por ello es posible que el aumento en la cantidad de proteína receptora de leptina constituya un mecanismo para soslayar cierta resistencia a la acción de la leptina en las mujeres.

### **1.2. Efectos de la leptina en el músculo esquelético**

En el músculo esquelético de ratón la administración de leptina induce la activación rápida del OB-Rb y de varias quinasas: PI3K, akt (or proteína quinasa B), proteína quinasa C, MAPK, la quinasa Jun, ERK y AMPK (45, 46). Se ha sugerido que una de las funciones de la leptina es prevenir la acumulación de lípidos y la consiguiente lipotoxicidad en tejidos periféricos (47, 48). La fosforilación de la AMPK por leptina estimula la oxidación de ácidos grasos en el músculo al fosforilar (i.e., inhibir) a la ACC (Acetil Coenzima-A Carboxilasa) (49, 50). La ACC fosforilada queda inactivada y deja de producir de malonil-CoA. El malonil-CoA es un inhibidor alostérico de la actividad CPTI (carnitina palmitoiltransferasa I), responsable del transporte de ácidos grasos de cadena larga al interior de las mitocondrias (51). En el músculo esquelético predomina la isoforma  $\beta$  (ACC- $\beta$ ) (50). Se ha demostrado que ratones *knockout* para ACC- $\beta$  muestran un incremento en la oxidación de ácidos grasos en el músculo y un nivel de adiposidad reducido (50). La administración crónica de leptina también estimula la oxidación de ácidos grasos y la lipólisis, al tiempo que disminuye la acumulación de ácidos grasos en forma de triglicéridos en las fibras musculares (52, 53). Este efecto se asocia a disminución de las proteínas transportadoras de ácidos grasos FAT/CD36 y FABPpm en el sarcolema (54) y un aumento de la expresión y fosforilación de la AMPK (55).

La leptina es necesaria para el mantenimiento de un metabolismo glucídico normal. Por ejemplo, los ratones *ob/ob* y *db/db*, que carecen de leptina o de sus receptores desarrollan obesidad y resistencia a la insulina. Algo parecido ocurre en ratones con lipoatrofia (56) y en humanos con lipodistrofia (57), que presentan niveles muy bajos de leptina. La administración de leptina a los pacientes con lipodistrofia elimina la resistencia a la insulina y disminuye la concentración muscular de triglicéridos así como la esteatosis hepática (57, 58), mejorando el perfil lipídico (59). Es importante destacar que cuando se administra leptina al ratón *ob/ob*, se normaliza la glucemia incluso antes de que se haya producido corrección de la obesidad (60), pero la leptina no corrige la hiperglicemia en humanos con obesidad (61).

Un aspecto interesante de la respuesta al tratamiento con leptina en los pacientes con lipodistrofia es que a pesar de disminuir su apetito y su porcentaje de grasa corporal, aumenta su masa magra (o sea, su masa muscular) (59) o la mantienen (59).

La activación crónica de la AMPK a través de la inyección regular de AICAR (5-Aminoimidazole-4-Carboxamide-1- $\beta$ -D-Ribofuranoside), el cual se transforma en el interior de la célula en ZMP, que es capaz de unirse la subunidad  $\gamma$  de la AMPK y remedar los efectos del AMP, se asocia a un aumento del contenido de proteína GLUT4 (transportadora de glucosa) de la actividad de hexoquinasa y duplicación del tamaño de los depósitos musculares de glucógeno, cambios similares a los inducidos por el entrenamiento de resistencia (62). El aumento de actividad intrínseca de la subunidad  $\gamma$ 3, debida a una mutación (R225Q) del gen que la

codifica PRKAG3 se asocia a acumulación de glucógeno en el músculo esquelético de cerdos (63). Estos cerdos además presentan de forma natural menos acumulación de grasa en sus músculos, y mayor actividad citrato sintasa e hidroxiacil-CoA deshidrogenasa (64, 65). Estas adaptaciones son muy similares a las que cabe esperar después de un programa de entrenamiento para la mejora de la resistencia aeróbica (similar al que realizan habitualmente los corredores de fondo o los ciclistas) (66). No obstante, la ausencia de subunidad  $\gamma 3$  no influye en la utilización de glucógeno durante el ejercicio. Los ratones que expresan la mutación (R225Q) tienen una regulación bioquímica diferente de la AMPK, que permanece crónicamente activa, lo que parece estar relacionado con la acumulación de glucógeno muscular (67). La resíntesis muscular de glucógeno después del ejercicio es más lenta en ratones que carecen de la subunidad  $\gamma 3$ , lo que sugiere que esta subunidad tiene un papel importante en la resíntesis muscular de glucógeno. De hecho la AMPK fosforila a la glucógeno sintasa (y la inactiva), a la fosforilasa quinasa (la activa) y a la lipasa hormonosensible (la activa) (68). Estos procesos facilitan la glucogenólisis al tiempo que inhiben la glucogenosíntesis.

Por lo tanto, la leptina produce cambios metabólicos en el músculo esquelético que promueven la oxidación de grasas, disminuye la capacidad de transporte de ácidos grasos al interior de la fibra muscular, disminuye la acumulación de triglicéridos en el músculo esquelético, promueve un aumento de la capacidad de transporte de glucosa y de la oxidación de glucosa. Se supone que la mayoría de estos efectos están mediados por la fosforilación y activación de la AMPK. Como consecuencia combinada de estos efectos disminuye la resistencia a la insulina tanto en el músculo esquelético (69-73), como en el hígado (74).

### **1.3. Implicaciones fisiológicas de la interacción entre las vías de señalización activadas por leptina e insulina.**

La leptina regula la sensibilidad a la insulina y la homeostasis de la glucosa a través de múltiples mecanismos: 1) Promueve la oxidación de lípidos lo que a su vez disminuye la concentración intramuscular de triglicéridos, betahidroxibutirato y otros metabolitos del metabolismo de las grasas relacionados con la resistencia a la insulina (75); 2) Ejerce un efecto negativo sobre la acumulación de grasa en el tronco y en el hígado (76); 3) Promueve el transporte y oxidación de glucosa en el músculo esquelético (72) y 4) Aumenta en el músculo esquelético varios componentes de la cascada de señalización de insulina: IRS1, PI3K y Akt (72).

Estudios efectuados con mioblastos murinos L6 indican que la hiperinsulinemia provoca resistencia a la insulina, a través de un aumento en la expresión de SOCS3 (77). La leptina también activa la transcripción y traducción del gen de SOCS3. Se ha observado la co-localización de SOCS3 se con el receptor de insulina, sin que esta interacción provoque resistencia a la insulina (78). *Se desconoce cuáles son los niveles normales de SOCS3 en el músculo esquelético humano. Además, se desconoce cuáles son los niveles de expresión de SOCS3 en músculo esquelético de obesos, qué efectos produce el ejercicio sobre los niveles musculares de SOCS3 en humanos, cuál es el efecto de la leptina sobre la expresión muscular de SOCS3 en humanos sanos y obesos.* La señalización intracelular activada por la leptina es en parte común a la de la insulina (79) y la insulina constituye una de las principales hormonas estimulantes de la síntesis de proteínas en el músculo esquelético (80). Como la leptina es un marcador de la masa grasa total, resulta hasta cierto punto lógico pensar que una hormona que es un marcador de masa (peso corporal) actúe promoviendo adaptaciones fisiológicas que permitan soportar más peso. *Es posible que la leptina actúe facilitando el proceso de hipertrofia muscular estimulando la síntesis de proteínas musculares (y/o atenuación de la velocidad de degradación de estas proteínas), de modo parecido a como actúa la insulina (81).*

Esta hipótesis se basa en que tanto la leptina como la insulina son capaces de activar la PI3K (80, 82), una de las múltiples vías a través de las cuales se

puede activar la síntesis de proteínas en las fibras musculares. De hecho se ha demostrado en mioblastos C2C12 que la leptina de origen porcino inhibe la degradación de proteínas (83). En cultivos de cardiomiocitos humanos pediátricos la leptina produce un aumento de la expresión de ARNm de colágeno III y IV, mientras que disminuye la de colágeno I, al tiempo que también aumenta la expresión de ARNm de metaloproteinasa 2 (MMP-2), sin cambios en la síntesis total de colágeno (84). Además en este mismo tipo celular la exposición a leptina (6 nM, 24 h) produjo aumento del tamaño de los cardiomiocitos en un 60% (hipertrofia), constatada por un aumento de marcadores de hipertrofia (alfa-actinina cardíaca y cadena ligera de la miosina) e incorporación de leucina tritiada. La hipertrofia de cardiomiocitos inducida por leptina depende de p38 MAPK (85, 86), aunque también podría depender de JAK y ERK1/2 (84). En cardiomiocitos neonatales de rata la hipertrofia inducida por leptina se inhibe si se bloquea la translocación al núcleo de p38 MAPK, proceso en el que participan las caveolas (85). De hecho la leptina provoca en los cardiomiocitos un aumento de número de caveolas y de la cantidad de caveolina-3 y aumenta la expresión de receptores de leptina (85). La caveolina-3 co-localiza con el receptor de leptina (isformas cortas de 80 y 130 KDa) (85). Se desconoce si la leptina produce un efecto parecido en el músculo esquelético y cómo la hiperinsulinemia podría influir en este proceso. Se ha propuesto que la p38 MAPK podría ser activada a través de la isoforma corta del receptor de leptina, mientras que las otras dos quinasas serían activadas a través de la isoforma larga del receptor de leptina (85).

#### **1.4. Inflamación y resistencia a la insulina**

Aunque, la resistencia a la insulina es consecuencia de la interacción entre factores genéticos, nutricionales y el estilo de vida (sedentarismo), varias moléculas producidas por las células del sistema inmune y por los adipocitos juegan un papel crucial en la regulación de la sensibilidad a la insulina (87). La resistencia a la insulina se ha asociado frecuentemente a un estado de inflamación crónica de baja intensidad, que a su vez contribuye a la resistencia a la insulina (88, 89). La acción de la insulina depende la activación de una cascada de señalización celular que requiere en un primer paso la fosforilación de tirosina en el sustrato del receptor de insulina (IRS-1). Si la fosforilación se produce en un residuo de serina del IRS-1, entonces se produce resistencia a la insulina (89).

*Citoquinas y quimioquinas implicadas en la resistencia a la insulina.* El factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), que en ocasiones está aumentado en obesos fue la primera citoquina vinculando inflamación y resistencia a la insulina (90). Los modelos transgénicos de obesidad que carecen de TNF $\alpha$  o de su receptor, desarrollan menos resistencia a la insulina (91). También tienen efectos pro-inflamatorios y pueden causar resistencia a la insulina las interleuquinas IL-1 $\alpha$  (92) y IL-1 $\beta$  (93). Aunque niveles elevados de IL-6 predicen un mayor riesgo de desarrollo de diabetes tipo II (94), aún no está claro si realmente la IL-6 provoca resistencia a la insulina (95). Por otro lado, la IL-6 promueve la oxidación de grasas en el músculo esquelético humano (96), por lo que por este mecanismo podría contribuir a disminuir la resistencia a la insulina (18). El factor de crecimiento neurotrófico CNTF es capaz de revertir la resistencia muscular a la insulina a través de la activación de la AMPK (97). La adiponectina disminuye la resistencia a la insulina hasta el extremo que en los ratones *ob/ob* modificados genéticamente para que sobre-expresen adiponectina los niveles de glucosa e insulina son normales, a pesar de ser aún más obesos que los ratones *ob/ob* originales (98).

#### **1.5. Obesidad y resistencia a la leptina**

El tratamiento de la obesidad con leptina ha resultado menos eficaz de lo esperado para disminuir la grasa corporal en obesos. Esto es debido a que en la obesidad aparece resistencia a la leptina tanto a nivel hipotalámico (25) como a nivel periférico (53). Es importante señalar que en ausencia de resistencia a la leptina,

experimentos realizados con fibras musculares de procedencia humana han demostrado que la leptina es capaz de producir, al igual que en los animales de experimentación, un aumento de la oxidación de grasas. Tanto a nivel hipotalámico como periférico, la resistencia a la leptina se ha relacionado con el aumento de SOCS3, que se une al receptor de leptina y a JAK2 activa (fosforilada), lo que impide la unión de STAT3 al receptor de leptina, por lo que STAT3 no es fosforilado (activado). Otro mecanismo por el que se podría producir resistencia a leptina es a través de un aumento de la expresión de la proteína tirosina fosfatasa 1 (PTPB1), tal y como se ha demostrado recientemente en ratones transgénicos (99).

La leptina tiene un efecto inhibitor de la secreción pancreática de insulina (100-102), que posiblemente no funciona correctamente en obesos con resistencia a la leptina. De hecho se ha propuesto que la resistencia a leptina podría ser uno de los mecanismos etiopatogénicos por los cuales se produce hiperinsulinemia y diabetes tipo 2 en la obesidad (100).

La proteína fijadora de retinol 4 (RBP-4) es una adipoquina secretada por los adipocitos que produce resistencia a la insulina y está aumentada en pacientes con diabetes tipo 2 (103). *Se desconoce si esta proteína tiene efectos en el músculo esquelético, ni como influye la leptina o el ejercicio en su actividad.*

La proteína C reactiva (CRP) que está aumentada en la obesidad (104, 105) es capaz de interactuar con la leptina e impedir su unión al receptor de leptina, ocasionando resistencia a la leptina (106).

La leptina induce producción de interleuquina 6 (IL-6) en las células de microglía, a través de la cascada del receptor de leptina (isoforma larga)/IRS-1/PI3K/Akt/NF-kappaB and p300 (107). El músculo esquelético también produce IL-6 durante el ejercicio (108), no obstante *se desconoce si la leptina activa la producción paracrina o autocrina de IL-6 en el músculo esquelético.* La IL-6 juega un papel crucial e imprescindible en el proceso de hipertrofia muscular, ya que promueve el reclutamiento y proliferación de células satélite (109).

La sobre-expresión de leptina en ratones transgénicos ha demostrado que presentan activación crónica de la AMPK en las fibras musculares lentas (49). Estos ratones son delgados y adelgazan más rápidamente que los ratones normales después de haber engordado por haber seguido una dieta hipercalórica. Pero especialmente es importante destacar que a pesar de presentar niveles crónicamente elevados de leptina, no muestran signos de resistencia a la acción de la leptina, contrariamente a lo observado en seres humanos obesos que presentan hiperleptinemia y resistencia a la acción de la leptina.

Koves y colaboradores acaban de presentar un nuevo paradigma para explicar la resistencia a la insulina en el músculo esquelético(110). Según estos investigadores, la resistencia a la insulina en el músculo esquelético se caracteriza por una excesiva betaoxidación que altera el cambio normal hacia la oxidación de glúcidos en la transición del ayuno al estado postabsorptivo, lo que coincide con un descenso de los intermediarios glucolíticos del ciclo oxidativo tricarboxílico (110).

### **1.6. Interacción entre adiponectina y leptina**

La expresión de receptores de adiponectina está disminuida en el ratón transgénico *ob/ob*, que carece de leptina, posiblemente debido a que estos ratones presentan obesidad e hiperinsulinemia [Kadowaki, 2006 #3003]. La respuesta de activación de la AMPK por la adiponectina está disminuida en el ratón *ob/ob*, posiblemente debido a un menor número de receptores de adiponectina [Tsuchida, 2004 #3011]. Por lo tanto, en la obesidad no sólo está disminuida la concentración de adiponectina circulante, sino que además están disminuidos los receptores de adiponectina, lo que provoca una menor sensibilidad a la adiponectina, lo que a su vez causa resistencia a insulina, la cual agrava la hiperinsulinemia, creando un círculo vicioso [Tsuchida, 2004 #3011]. Los receptores de adiponectina también están disminuidos en diabéticos tipo 2 [Civitarese, 2004 #3012]. La sobre-expresión de receptores de adiponectina en el ratón obeso *db/db*, que carece de receptores de leptina

disminuye la resistencia a la insulina por un mecanismo en que interviene un aumento de la actividad AMPK [Yamauchi, 2007 #3013].

### **1.7. Ejercicio físico y resistencia a la leptina.**

La mayoría de los programas de ejercicio para combatir la obesidad se han basado principalmente en la realización de ejercicios aeróbicos (111), es decir ejercicios de intensidad moderada o baja y larga duración. El entrenamiento de resistencia promueve una serie de adaptaciones fisiológicas que facilitan el descenso de la masa grasa corporal y disminuyen el riesgo de eventos cardiovasculares en los participantes. Por ejemplo, el entrenamiento de resistencia se asocia a un descenso de la masa grasa corporal, especialmente de la masa grasa visceral, aumenta la sensibilidad a la insulina, disminuye los niveles basales de glucosa e insulina, y aumenta la expresión de proteínas transportadoras de glucosa y ácidos grasos en las fibras musculares (112-114). *El entrenamiento de resistencia aumenta la sensibilidad del músculo esquelético a la leptina en ratas obesas (115), pero se desconoce si este efecto también se produce en humanos.*

La ingesta energética modula a corto plazo las concentraciones plasmáticas de leptina de tal modo que los niveles de leptina caen drásticamente con el ayuno (en ausencia de pérdida de peso) y se elevan como resultado de un día de sobrealimentación masiva. A pesar de que parece que el ejercicio y el entrenamiento reducen los niveles de leptina a largo plazo, los efectos del ejercicio independientemente de la pérdida de masa grasa, no han sido claramente establecidos a pesar de que algunos estudios parecen indicar que el ejercicio regular podría causar alteraciones en las concentraciones plasmáticas de leptina por mecanismos independientes de la modificación de la masa grasa corporal.

### **1.8 Bibliografía.**

1. J. Aranceta *et al.*, *Eur J Clin Nutr* **55**, 430 (Jun, 2001).
2. J. Aranceta *et al.*, *Med Clin (Barc)* **120**, 608 (May 3, 2003).
3. J. L. Gutierrez-Fisac, E. Lopez, J. R. Banegas, A. Graciani, F. Rodriguez-Artalejo, *Obes Res* **12**, 710 (Apr, 2004).
4. J. L. Gutierrez-Fisac, E. Regidor, J. R. Banegas, F. Rodriguez Artalejo, *Med Clin (Barc)* **124**, 196 (Feb 12, 2005).
5. L. Serra Majem *et al.*, *Med Clin (Barc)* **121**, 725 (Nov 29, 2003).
6. F. J. Basterra-Gortari *et al.*, *Med Clin (Barc)* **129**, 405 (Sep 29, 2007).
7. O. Bar-Or *et al.*, *Med Sci Sports Exerc* **30**, 2 (Jan, 1998).
8. P. J. Villeneuve, H. I. Morrison, C. L. Craig, D. E. Schaubel, *Epidemiology* **9**, 626 (Nov, 1998).
9. I. Ara *et al.*, *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**, 1585 (Dec, 2004).
10. S. N. Blair, T. S. Church, *Jama* **292**, 1232 (Sep 8, 2004).
11. K. Borodulin *et al.*, *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **12**, 126 (Apr, 2005).
12. T. Lobstein, L. Baur, R. Uauy, *Obes Rev* **5 Suppl 1**, 4 (May, 2004).
13. I. Ara *et al.*, *Int J Obes Relat Metab Disord* (Aug 10, 2004).
14. I. Ara *et al.*, *Int J Obes (Lond)* **30**, 1062 (Jul, 2006).
15. F. B. Hu *et al.*, *N Engl J Med* **351**, 2694 (Dec 23, 2004).
16. S. N. Blair, A. S. Jackson, *Med Sci Sports Exerc* **33**, 762 (May, 2001).
17. B. K. Pedersen, *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports* **17**, 196 (Jun, 2007).
18. H. Tilg, A. R. Moschen, *Mol Med* (Jan 31, 2008).
19. J. M. Friedman, J. L. Halaas, *Nature* **395**, 763 (Oct 22, 1998).

20. D. M. Muoio, K. Seefeld, L. A. Witters, R. A. Coleman, *Biochem J* **338** ( Pt 3), 783 (Mar 15, 1999a).
21. D. M. Muoio, G. L. Dohm, E. B. Tapscott, R. A. Coleman, *Am J Physiol* **276**, E913 (May, 1999b).
22. A. G. Dulloo *et al.*, *FEBS Lett* **515**, 109 (Mar 27, 2002).
23. M. Wauters *et al.*, *Obes Res* **10**, 394 (May, 2002).
24. D. W. White, K. K. Kuropatwinski, R. Devos, H. Baumann, L. A. Tartaglia, *J Biol Chem* **272**, 4065 (Feb 14, 1997).
25. M. G. Myers, Jr., *Recent Prog Horm Res* **59**, 287 (2004).
26. S. C. Chua, Jr. *et al.*, *Genomics* **45**, 264 (Oct 15, 1997).
27. L. A. Tartaglia, *J Biol Chem* **272**, 6093 (Mar 7, 1997).
28. S. H. Bates, M. G. Myers, Jr., *Trends Endocrinol Metab* **14**, 447 (Dec, 2003).
29. H. Munzberg, M. G. Myers, Jr., *Nat Neurosci* **8**, 566 (May, 2005).
30. J. B. Carnevali, E. B. Ribeiro, F. Folli, L. A. Velloso, M. J. Saad, *Biol Chem* **384**, 151 (Jan, 2003).
31. C. Duan, M. Li, L. Rui, *J Biol Chem* **279**, 43684 (Oct 15, 2004).
32. M. Kellerer *et al.*, *Diabetologia* **40**, 1358 (Nov, 1997).
33. Y. B. Kim, S. Uotani, D. D. Pierroz, J. S. Flier, B. B. Kahn, *Endocrinology* **141**, 2328 (Jul, 2000).
34. C. Vaisse *et al.*, *Nat Genet* **14**, 95 (Sep, 1996).
35. D. Ren, M. Li, C. Duan, L. Rui, *Cell Metab* **2**, 95 (Aug, 2005).
36. W. Kaszubska *et al.*, *Mol Cell Endocrinol* **195**, 109 (Sep 30, 2002).
37. C. Bjorbaek, K. El-Haschimi, J. D. Frantz, J. S. Flier, *J Biol Chem* **274**, 30059 (Oct 15, 1999).
38. J. K. Howard *et al.*, *Nat Med* **10**, 734 (Jul, 2004).
39. B. Guerra *et al.*, *Journal of Applied Physiology* **102**, 1786 (May, 2007).
40. J. O. Gordeladze, C. A. Drevon, U. Syversen, J. E. Reseland, *J Cell Biochem* **85**, 825 (2002).
41. J. Cornish *et al.*, *J Endocrinol* **175**, 405 (Nov, 2002).
42. G. Karsenty, *Cell Metab* **4**, 341 (Nov, 2006).
43. S. Takeda *et al.*, *Cell* **111**, 305 (2002).
44. S. L. Wong, A. M. DePaoli, J. H. Lee, C. S. Mantzoros, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **89**, 2672 (Jun, 2004).
45. D. M. Muoio, G. Lynis Dohm, *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **16**, 653 (Dec, 2002).
46. G. Sweeney, *Cell Signal* **14**, 655 (Aug, 2002).
47. R. H. Unger, *Endocrinology* **144**, 5159 (Dec, 2003).
48. R. H. Unger, *Annu Rev Physiol* **65**, 333 (2003).
49. T. Tanaka *et al.*, *Diabetes* **54**, 2365 (Aug, 2005).
50. Y. Minokoshi *et al.*, *Nature* **415**, 339 (Jan 17, 2002).
51. N. B. Ruderman, A. K. Saha, D. Vavvas, L. A. Witters, *American Journal of Physiology* **276**, E1 (Jan, 1999).
52. G. R. Steinberg, A. Bonen, D. J. Dyck, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **282**, E593 (Mar, 2002).

53. G. R. Steinberg, M. L. Parolin, G. J. Heigenhauser, D. J. Dyck, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **283**, E187 (Jul, 2002).
54. G. R. Steinberg *et al.*, *J Biol Chem* **277**, 8854 (Mar 15, 2002).
55. G. R. Steinberg, J. W. Rush, D. J. Dyck, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **284**, E648 (Mar, 2003).
56. C. Colombo *et al.*, *Diabetes* **51**, 2727 (Sep, 2002).
57. K. F. Petersen *et al.*, *Journal of Clinical Investigation* **109**, 1345 (May, 2002).
58. E. D. Javor *et al.*, *Hepatology* **41**, 753 (Apr, 2005).
59. J. M. Guettier *et al.*, *Clinical Endocrinology* (Dec 10, 2007).
60. M. A. Pelleymounter *et al.*, *Science* **269**, 540 (Jul 28, 1995).
61. S. B. Heymsfield *et al.*, *JAMA* **282**, 1568 (Oct 27, 1999).
62. B. F. Holmes, E. J. Kurth-Kraczek, W. W. Winder, *Journal of Applied Physiology* **87**, 1990 (Nov, 1999).
63. B. R. Barnes *et al.*, *J Biol Chem* **279**, 38441 (Sep 10, 2004).
64. M. Estrade, S. Ayoub, A. Talmant, G. Monin, *Comp Biochem Physiol Biochem Mol Biol* **108**, 295 (Jul, 1994).
65. B. Lebret *et al.*, *J Anim Sci* **77**, 1482 (Jun, 1999).
66. J. O. Holloszy, L. B. Oscai, P. A. Molé, I. J. Don, in *Muscle Metabolism During Exercise* B. Pernow, B. Saltin, Eds. (Plenum Press, New York, 1971) pp. 51-61.
67. M. Mahlapuu *et al.*, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **286**, E194 (Feb, 2004).
68. D. Carling, D. G. Hardie, *Biochim Biophys Acta* **1012**, 81 (Jun 15, 1989).
69. B. B. Yaspelkis, 3rd, L. Ansari, E. L. Ramey, G. J. Holland, S. F. Loy, *Metabolism* **48**, 671 (May, 1999).
70. B. B. Yaspelkis, 3rd *et al.*, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **280**, E130 (Jan, 2001).
71. B. B. Yaspelkis, 3rd, M. Saberi, M. K. Singh, B. Trevino, T. L. Smith, *Metabolism* **51**, 859 (Jul, 2002).
72. B. B. Yaspelkis, 3rd *et al.*, *Life Sciences* **74**, 1801 (Feb 20, 2004).
73. M. K. Singh, A. D. Krisan, A. M. Crain, D. E. Collins, B. B. Yaspelkis, 3rd, *Metabolism* **52**, 1196 (Sep, 2003).
74. S. Kamohara, R. Burcelin, J. L. Halaas, J. M. Friedman, M. J. Charron, *Nature* **389**, 374 (Sep 25, 1997).
75. D. M. Muoio, T. R. Koves, *Appl Physiol Nutr Metab* **32**, 874 (Oct, 2007).
76. E. A. Oral *et al.*, *New England Journal of Medicine* **346**, 570 (Feb 21, 2002).
77. M. Eguchi *et al.*, *Journal of Endocrinological Investigation* **30**, 192 (Mar, 2007).
78. M. Eguchi *et al.*, *Mol Cell Endocrinol* **267**, 38 (Mar 15, 2007).
79. P. Hekerman *et al.*, *Febs J* **272**, 109 (Jan, 2005).
80. D. R. Bolster, L. S. Jefferson, S. R. Kimball, *Proc Nutr Soc* **63**, 351 (May, 2004).
81. G. Biolo, R. Y. Declan Fleming, R. R. Wolfe, *J Clin Invest* **95**, 811 (Feb, 1995).
82. P. Maroni, P. Bendinelli, R. Piccoletti, *Cell Biol Int* **29**, 542 (Jul, 2005).
83. T. G. Ramsay, *J Anim Sci* **81**, 3046 (Dec, 2003).
84. S. Madani, S. De Girolamo, D. M. Munoz, R. K. Li, G. Sweeney, *Cardiovascular Research* **69**, 716 (Feb 15, 2006).
85. A. Zeidan, S. Javadov, S. Chakrabarti, M. Karmazyn, *Cardiovascular Research* **77**, 64 (Jan 1, 2008).

86. V. Rajapurohitam, X. T. Gan, L. A. Kirshenbaum, M. Karmazyn, *Circulation Research* **93**, 277 (Aug 22, 2003).
87. E. D. Rosen, B. M. Spiegelman, *Nature* **444**, 847 (Dec 14, 2006).
88. G. S. Hotamisligil, *Nature* **444**, 860 (Dec 14, 2006).
89. K. E. Wellen, G. S. Hotamisligil, *Journal of Clinical Investigation* **115**, 1111 (May, 2005).
90. G. S. Hotamisligil, N. S. Shargill, B. M. Spiegelman, *Science* **259**, 87 (Jan 1, 1993).
91. K. T. Uysal, S. M. Wiesbrock, M. W. Marino, G. S. Hotamisligil, *Nature* **389**, 610 (Oct 9, 1997).
92. T. Matsuki, R. Horai, K. Sudo, Y. Iwakura, *J Exp Med* **198**, 877 (Sep 15, 2003).
93. J. Jager, T. Gremeaux, M. Cormont, Y. Le Marchand-Brustel, J. F. Tanti, *Endocrinology* **148**, 241 (Jan, 2007).
94. J. Spranger *et al.*, *Diabetes* **52**, 812 (Mar, 2003).
95. P. J. Klover, A. H. Clementi, R. A. Mooney, *Endocrinology* **146**, 3417 (Aug, 2005).
96. G. van Hall *et al.*, *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **88**, 3005 (Jul, 2003).
97. M. J. Watt *et al.*, *Nat Med* **12**, 541 (May, 2006).
98. J. Y. Kim *et al.*, *Journal of Clinical Investigation* **117**, 2621 (Sep, 2007).
99. N. T. Lam *et al.*, *J Mol Endocrinol* **36**, 163 (Feb, 2006).
100. S. D. Covey *et al.*, *Cell Metab* **4**, 291 (Oct, 2006).
101. J. Seufert, *Diabetes* **53 Suppl 1**, S152 (Feb, 2004).
102. T. J. Kieffer, J. F. Habener, *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism* **278**, E1 (Jan, 2000).
103. T. E. Graham *et al.*, *New England Journal of Medicine* **354**, 2552 (Jun 15, 2006).
104. T. Kazumi, A. Kawaguchi, T. Hirano, G. Yoshino, *Metabolism* **52**, 1113 (Sep, 2003).
105. M. Maachi *et al.*, *Int J Obes Relat Metab Disord* **28**, 993 (Aug, 2004).
106. K. Chen *et al.*, *Nat Med* **12**, 425 (Apr, 2006).
107. C. H. Tang *et al.*, *J Immunol* **179**, 1292 (Jul 15, 2007).
108. A. Steensberg *et al.*, *Journal of Physiology* **529 Pt 1**, 237 (2000).
109. A. L. Serrano, B. Baeza-Raja, E. Perdiguero, M. Jardi, P. Munoz-Canoves, *Cell Metab* **7**, 33 (Jan, 2008).
110. T. R. Koves *et al.*, *Cell Metab* **7**, 45 (Jan, 2008).
111. G. A. Kelley, K. S. Kelley, Z. Vu Tran, *Int J Obes Relat Metab Disord* **29**, 881 (Aug, 2005).
112. M. Dumortier *et al.*, *Diabetes Metab* **29**, 509 (Nov, 2003).
113. V. Rimbart *et al.*, *Faseb J* **18**, 737 (Apr, 2004).
114. C. Roepstorff, J. W. Helge, B. Vistisen, B. Kiens, *Proc Nutr Soc* **63**, 239 (May, 2004).
115. G. R. Steinberg *et al.*, *Am J Physiol Endocrinol Metab* **286**, E57 (Jan, 2004).

**Mimetismo entre restricción calórica y entrenamiento**

**en el rendimiento deportivo**

Plácido Navas, Elisabeth Rodríguez-Bies y Guillermo López-Lluch

Centro Andaluz de Biología del Desarrollo y CIBER de Enfermedades Raras del  
ISCIII, Departamento de Fisiología, Anatomía y Biología Celular, Universidad Pablo  
de Olavide, 41013 Sevilla

El rendimiento en la actividad deportiva se sustenta esencialmente en el rendimiento muscular basado en la coordinación entre la disponibilidad del oxígeno, la maquinaria mecánica de las fibras musculares y la eficacia del metabolismo bioenergético. En los mamíferos la única fuente bioenergética es la alimentación que proporciona la fuente de producción de energía útil en forma de ATP y calor para mantener la temperatura corporal. Desde los años 80 se acepta que una dieta basada en una ingesta de un 40% de calorías de una dieta habitual no sólo aumenta la vida media y longevidad de los mamíferos, sino que además retrasa el declive de las funciones del organismo que se observan durante el envejecimiento (Weindruch et al., 1986). Esta dieta se denomina de restricción calórica ya que reduce la ingesta de azúcares de rápido catabolismo y condiciona al organismo para hacer un uso más eficaz del metabolismo glucídico y aumenta la actividad del metabolismo lipídico. Los animales alimentados en una dieta RC mantienen una homeostasis glucídica en la sangre y disminuyen la concentración de insulina pero con una mayor eficacia en la ruta de señalización insulínica en las células afectadas. Además, la dieta RC induce un aumento de la movilización de la grasa de los adipocitos poniendo a disposición de las células y los tejidos una mayor cantidad de ácidos grasos. Como consecuencia, la restricción calórica hace que los animales sean más delgados, mantengan la actividad sexual más tiempo y mantengan una actividad física y de aprendizaje mucho más prolongada en el tiempo. Este tipo de dieta produce estos efectos positivos entre otros mecanismos a un aumento de la biosíntesis de mitocondrias, bioenergéticamente más eficaces (López-Lluch et al.,

2006). La restricción calórica claramente previene la pérdida muscular que se observa con la progresión de la edad (Hepple et al., 2006). La restricción calórica no sólo condiciona un cambio fisiológico por mejora de las reacciones bioquímicas sino que condiciona una activación genética que impulsa la ruta de biosíntesis mitocondrial a través del co-activador PGC1 $\alpha$  y los factores de transcripción denominados *factores respiratorios nucleares*. Estos resultados derivan directamente en que animales alimentados en estas condiciones mantienen las propiedades de la edad joven y el rendimiento juvenil en sus habilidades mecánicas y en el rendimiento en ejercicios físicos. Además, esta dieta aumenta la movilización de los nutrientes durante el ejercicio favoreciendo su utilización en el catabolismo. Como el mantenimiento de una dieta estricta es difícil para los humanos en la sociedad actual, se siguen buscando alternativas menos difíciles de realizar y por las que se obtengan resultados beneficiosos similares. Entre estas aproximaciones están el uso de resveratrol, que previene los daños patológicos asociados a la obesidad incluidas las habilidades mecánicas y el mantenimiento de la capacidad de ejercicio (Baur et al., 2006). El entrenamiento es otra fórmula que parece inducir en el organismo de los animales unas propiedades similares a las de la restricción calórica. En comparación con la restricción calórica, el entrenamiento induce el mantenimiento de una población mitocondrial eficaz medido por las actividades de los complejos mitocondriales musculares en animales jóvenes. El entrenamiento parece que produce un aumento de la biogénesis mitocondrial aunque no se conocen los mecanismos moleculares de esta actividad aunque parece ser mediada de forma similar a la restricción calórica (Freysenet et al., 1996). Recientemente se ha demostrado que el entrenamiento en una población de humanos aumenta tanto la actividad mitocondrial como la biogénesis de nuevas mitocondrial subsarcolemales (Menshikova, et al., 2006). Estos animales entrenados consiguen mantener un tiempo de carrera superior y recorren una distancia mayor que los equivalentes sin entrenar, aunque estos resultados los obtienen también los animales que sin estar entrenados se mantienen en una dieta

de restricción calórica. Estos resultados se entienden más por un aumento de la capacidad de resistencia que por alcanzar una velocidad máxima significativamente mayor. Proponemos que la dieta en restricción calórica y el entrenamiento activan mecanismos similares para aumentar la eficacia bioenergética que van acompañados de cambios generales en el organismo. Estos cambios bioenergéticos de base genética conducen a mejorar el funcionamiento corporal incluyendo el rendimiento deportivo.

### **Bibliografía**

Freyssenet, D., Berthon, P., & Denis, C. (1996). Mitochondrial biogenesis in skeletal muscle in response to endurance exercises. *Arch Physiol Biochem*, 104(2), 129-41.

Hepple, R.T., Baker, D.J., McConkey, M., Murynka, T., & Norris, R. (2006). Caloric restriction protects mitochondrial function with aging in skeletal and cardiac muscles. *Rejuvenation Res*, 9(2), 219-22.

Lopez-Lluch, G., Hunt, N., Jones, B., Zhu, M., Jamieson, H., Hilmer, S., Cascajo, M.V., Allard, J., Ingram, D.K., Navas, P., & de Cabo, R. (2006). Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103(6), 1768-73.

Menshikova, E.V., Ritov, V.B., Fairfull, L., Ferrell, R.E., Kelley, D.E., & Goodpaster, B.H. (2006). Effects of exercise on mitochondrial content and function in aging human skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 61(6), 534-40.

Weindruch, R., Walford, R. L., Fligiel, S. & Guthrie, D. (1986). The retardation of aging in mice by dietary restriction: longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr* 116(4), 641-54.

Altitude, training and physical performance.

Pr. Jean-Paul Richalet, Laboratoire "réponses cellulaires et fonctionnelles à l'hypoxie", Université Paris 13, Bobigny, France

The increase in oxygen transport elicited by exposure to high altitude is used to increase physical performance when returning to sea level. The rationale is that the greater the oxygen carrying capacity of the blood, the greater the ability of the muscle to consume oxygen and produce energy. However, many studies have shown that aerobic performance may not increase at sea level after a training session at high altitude, due to the initial symptoms of Acute Mountain Sickness, the altitude-induced decrease in maximal oxygen consumption and the individual variability of physiological responses to hypoxia. Moreover, it has been shown that endurance trained athletes show a greater decrease in aerobic performance than sedentary subjects, due to a greater desaturation at exercise in hypoxia. Altitude has been often considered as only useful to stimulate erythropoiesis. In fact, altitude induces many other changes through the activation of various genes such as HIF-1 $\alpha$ , VEGF: hypoxia increases ventilation, dilates vessels, stimulates neovascularization, modifies muscle metabolism or acid-base balance. The athletes are now using more sophisticated methods to improve performance through the effects of hypoxia. The development of the "Living high - training low" methods has open new frontiers in the field of training physiology. Subjects live and sleep in normobaric hypoxic conditions and train in normoxic conditions which may, at least partly, suppress the drawbacks of high altitude training. However, the wide spread of these techniques deserves further investigations and should be looked at with caution from an ethical point of view.

Conferencia **Bengt Saltin: La resistencia**

Sevilla, 28 de marzo de 2008

Versión traducida por Luis Sánchez Medina de la conferencia impartida por Saltin

El trabajo del profesor Saltin durante los últimos 50 años ha girado en torno a la cuestión de conocer cuál es el **potencial y los límites del ser humano para el rendimiento en deportes de resistencia**, es decir: ¿qué es lo que hace a un atleta bueno para la resistencia? y ¿cuáles son los factores que limitan la consecución de un rendimiento máximo?

En su opinión, la potencia aeróbica máxima de un sujeto (consumo máximo de oxígeno o  $VO_2\text{max}$ ) juega un papel fundamental, siendo dicho  $VO_2\text{max}$  el principal limitante del rendimiento en las especialidades deportivas de larga duración. Hay una clara relación entre el  $VO_2\text{max}$  y el rendimiento en deportes tales como el atletismo, el ciclismo, el esquí de fondo y otros de características similares

En la literatura científica de los últimos años ha existido un importante debate acerca de si era el factor central o los factores periféricos los principales limitantes del consumo máximo de oxígeno.

Además del propio  $VO_2\text{max}$  hay dos factores determinantes para el rendimiento de resistencia: uno hace referencia a qué fracción de utilización de ese  $VO_2\text{max}$  se puede mantener en el tiempo; el otro a cuestiones de economía y costo energético.

La capacidad de un deportista de mantener una intensidad sostenida de ejercicio a un elevado porcentaje del  $VO_2\text{max}$  durante bastante tiempo es muy importante, estando relacionada con factores metabólicos a nivel muscular.

No obstante, hay que tener en cuenta que en muchas pruebas de resistencia de larga duración, como en el ciclismo de ruta o el esquí de fondo, se produce una gran oscilación en la intensidad de ejercicio durante la competición debida a la propia orografía del terreno, los ataques y cambios de ritmo provocados por unos u otros deportistas, etc.

Diferentes estudios realizados en los últimos años por el profesor Saltin y sus colaboradores han puesto de manifiesto que el papel que juega el tren superior e

inferior durante el ejercicio es diferente en la mayoría de situaciones, pudiendo esto ayudarnos a comprender mejor cuáles son los factores limitantes del rendimiento en resistencia y el papel que desempeña cada uno.

Estos estudios emplearon un modelo de ejercicio donde se estudia, primero por separado, y luego conjuntamente, la contribución de la musculatura del tren superior (tronco y brazos) o del tren inferior (piernas) al consumo de oxígeno durante el esfuerzo. El esquí de fondo, muy popular en los países escandinavos y del norte de Europa, se ha utilizado frecuentemente como ejemplo.

Se comprobó que usando sólo el tren superior (esquí de fondo, natación, remo, etc.) el consumo de oxígeno podía llegar a alcanzar valores máximos o muy próximos a éstos.

¿Cómo es posible que los mejores atletas de esos deportes, sobre todo a partir de las décadas de 1980 y 1990, hayan sido capaces de alcanzar el  $VO_2$ max a expensas principalmente del trabajo de la parte superior del cuerpo?, ¿cómo se explica que se pueda lograr esto tanto con los brazos como con las piernas por separado?

En su opinión, esto viene a confirmar la teoría de que lo más importante es la capacidad del corazón; que el corazón debe ser el principal factor limitante (limitación central, no periférica). Es decir, llega un momento en el que los músculos demandan más oxígeno del que el corazón es capaz de suministrar.

Se ha comprobado también que cuanto mayor es la cantidad de masa muscular implicada en la realización de un ejercicio físico de resistencia, mayor es la actividad del sistema nervioso simpático para producir norepinefrina con el objeto de provocar una vasoconstricción que reduzca el flujo sanguíneo y mantenga la tensión arterial. El funcionamiento de este mecanismo no está aún del todo claro, aunque parece decisiva la actividad de los barorreceptores.

Cuando se comparan las características del ejercicio máximo en esquí de fondo y ciclismo, se observa algo muy curioso e interesante: en el ciclismo el  $VO_2$ max, una vez alcanzado un pico, cae en los últimos 30-40 segundos previos a la extenuación del individuo; en el esquí de fondo esto no ocurre, el  $VO_2$ max llega incluso a aumentar muy ligeramente.

En el ciclismo se produce un descenso en el volumen sistólico en esos últimos instantes, cosa que no ocurre con el esquí de fondo. También en ciclismo se llega a producir una desaturación en esos momentos, pero en el esquí no. Además, la presión sanguínea es alta y sigue incrementándose en ciclismo, mientras que en el esquí es más baja y constante.

El profesor Saltin comenta que le llama mucho la atención el hecho de que cuando los esquiadores llegan a la meta todos sin excepción se tiran al suelo, tumbándose en la nieve. Dice que si no lo hiciesen así se desmayarían, no podrían mantener la consciencia.

Aunque el aspecto de la economía de esfuerzo es importante, en opinión del profesor Saltin éste es un factor prácticamente imposible de mejorar con el entrenamiento. Depende, sobre todo, de factores genéticos y morfológicos.

La eficiencia mecánica de los mejores ciclistas del Tour de Francia no puede sobrepasar el 22 ó 23%.

Aunque reconoce que no todos estarán de acuerdo con él, en su opinión, la economía de carrera se puede mejorar muy poco con el entrenamiento. Saltin basa esto en estudios realizados con atletas de alto nivel. Siempre se observan diferencias entre la elite mundial (keniatas en el caso de la carrera) y el resto de muy buenos atletas. Es de destacar la importancia que tiene la forma de las piernas de los keniatas (desde la rodilla al tobillo), sumamente delgadas. El volumen de la musculatura de las piernas en el tema de la economía de carrera es muy importante.

La capacidad de un atleta para usar la grasa como combustible es clave para entender cómo de cerca se puede estar del  $VO_2\text{max}$  a la hora de mantener una elevada intensidad de esfuerzo durante un tiempo prolongado. Está muy relacionado con la utilización de los ácidos grasos como combustible y, afortunadamente, es un aspecto muy entrenable.

Tampoco está todavía claro lo que limita la oxidación de las grasas durante el ejercicio. Cuando se han medido las diferentes etapas en la cadena de transporte de los ácidos grasos libres desde el torrente sanguíneo hasta dentro de la mitocondria (donde son oxidados para obtener energía) se ha constatado que hay varios pasos donde el proceso podría mejorarse gracias al entrenamiento. Tanto las

proteínas que transportan las grasas del citosol al interior de la mitocondria, como las propias enzimas mitocondriales son importantes. El profesor Saltin cree que el número y tamaño de las mitocondrias desempeña un rol fundamental. Destaca, además, que no todas las mitocondrias son iguales, unas son mejores que otras a la hora de consumir las grasas.

Con relación a la producción de lactato durante el ejercicio, nunca hay que olvidar que el lactato que medimos en la sangre es el resultado de dos procesos: por una parte está su producción por parte de la masa muscular activa, pero por otra está su eliminación o consumo (*turnover*) por parte de otras fibras musculares y otros órganos (como el propio corazón). Una menor concentración de lactato en sangre puede ser el resultado de una menor producción en los músculos, una mayor eliminación o reciclado del mismo, o ambas cosas a la vez.

Con independencia del papel exacto que juega el lactato durante el ejercicio (que no está todavía del todo claro), de lo que no hay duda es de la utilidad de los tests de lactato con fines de control del entrenamiento, y a la hora incluso de predecir el rendimiento en competición.

Los datos que nos muestra el profesor Saltin nos llevan a pensar que el papel del *turnover* del lactato durante el ejercicio intenso es de gran relevancia; debe existir un elevadísimo consumo de lactato durante el ejercicio. Además, parece claro que la musculatura de las piernas es capaz de consumir mucho más lactato que la de los brazos. Los brazos no son tan buenos consumidores de lactato como las piernas.

Existe, por tanto, una gran capacidad del músculo esquelético para consumir lactato y usarlo como combustible. Este es un importante aspecto que no debemos olvidar.

La mejora en el rendimiento podrá atribuirse a una menor producción de lactato pero, al mismo tiempo, la capacidad para consumir lactato seguramente también será mucho mayor como consecuencia de las adaptaciones producidas por el entrenamiento.

Bengt Saltin concluye resaltando la importancia que tiene la realización de estudios con humanos en fisiología. Como ya indicó A. V. Hill hace muchos años, los

humanos son los mejores animales experimentales para estudiar las causas de la fatiga y los factores limitantes del rendimiento.

**Preguntado por la posibilidad de que se haya alcanzado ya un techo o límite de mejora del  $VO_2\text{max}$ , el profesor Saltin nos comenta...**

Los datos de  $VO_2\text{max}$  de los atletas de hoy día son similares a los que mostraron algunos fisiólogos ya en los años 50, que eran próximos a 82 ml/kg/min. Los mejores corredores keniatas de la actualidad pueden llegar a alcanzar valores del orden de 84-85 ml/kg/min. Hubo un tiempo a final de los años 90 y primeros años del S. XXI que se mostraron datos cerca de 90 ml/kg/min. En su opinión esos datos tan elevados sólo pueden lograrse cuando las concentraciones de hemoglobina son extremadamente elevadas (cosa que sucede en muchos casos relacionados con el dopaje). Él no cree que se pueda subir más arriba de esos 90 ml/kg/min. Pero precisamente ahí es donde tiene gran importancia la utilización fraccional del  $VO_2\text{max}$ .

Con un mejor entrenamiento y nutrición, será posible bajar de 2 horas en maratón en años venideros (seguramente hasta acercarse a 1h y 58' si tenemos en cuenta los mejores datos actuales de  $VO_2\text{max}$ , economía de carrera y utilización fraccional del  $VO_2\text{max}$ ).

**Preguntado por si existe una intensidad "óptima" para trabajar el metabolismo de las grasas ...**

Efectivamente, hay una intensidad relativa a la que la oxidación de las grasas como sustrato energético es máxima. Estaría en torno al 50% del  $VO_2\text{max}$  para personas sedentarias y 65-70% del  $VO_2\text{max}$  para sujetos bien entrenados en resistencia. Puede que realizar una buena parte del entrenamiento de resistencia a estas intensidades sea importante para lograr el estímulo que hace al músculo mejorar su capacidad de utilizar las grasas. No está del todo claro aún cuál es exactamente ese estímulo.

**Preguntado ante la posibilidad de que la función y/o el volumen mitocondrial se deterioren con la edad...**

El profesor Saltin no cree que éste sea el caso, pues la función mitocondrial en personas de 70 y 80 años bien entrenadas en resistencia, que incluso siguen compitiendo a esas edades, parece intacta.

## The influence of anti-inflammatory medication on exercise-induced myogenic precursor cell responses in humans

Abigail L. Mackey,<sup>1</sup> Michael Kjaer,<sup>1</sup> Sune Dandanell,<sup>1</sup> Kristian H. Mikkelsen,<sup>1</sup> Lars Holm,<sup>1</sup> Simon Døssing,<sup>1</sup> Fawzi Kadi,<sup>2</sup> Satu O. Koskinen,<sup>1</sup> Charlotte H. Jensen,<sup>3</sup> Henrik D. Schrøder,<sup>4</sup> and Henning Langberg<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Sports Medicine Copenhagen, Bispebjerg Hospital, Copenhagen, Denmark; <sup>2</sup>Department of Physical Education and Health, Örebro University, Örebro, Sweden; <sup>3</sup>Department of Immunology and Microbiology, University of Southern Denmark, Odense; and <sup>4</sup>Department of Pathology, Odense University Hospital, Odense, Denmark

Submitted 7 February 2007; accepted in final form 20 April 2007

**Mackey AL, Kjaer M, Dandanell S, Mikkelsen KH, Holm L, Døssing S, Kadi F, Koskinen SO, Jensen CH, Schrøder HD, Langberg H.** The influence of anti-inflammatory medication on exercise-induced myogenic precursor cell responses in humans. *J Appl Physiol* 103: 425–431, 2007. First published April 26, 2007; doi:10.1152/jappphysiol.00157.2007.—The consumption of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) is widespread among athletes when faced with muscle soreness or injury, but the effects of NSAIDs on satellite cell activity in humans are unknown. To investigate this, 14 healthy male endurance athletes (mean peak oxygen consumption  $62 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ ) volunteered for the study, which involved running 36 km. They were divided into two groups and received either 100 mg indomethacin per day or placebo. Muscle biopsies collected before the run and on days 1, 3, and 8 afterward were analyzed for satellite cells by immunohistochemistry with the aid of neural cell adhesion molecule (NCAM) and fetal antigen-1 (FA1) antibodies. Muscle biopsies were also collected from untrained individuals for comparison. Compared with preexercise levels, a 27% increase in the number of NCAM+ cells was observed on day 8 postexercise in the placebo group ( $P < 0.05$ ), while levels remained similar at all time points in the NSAID group. No change was seen in the proportion of FA1+ cells, although lower levels were found in the muscle of endurance-trained athletes compared with untrained individuals ( $P < 0.05$ ). These results suggest that ingestion of anti-inflammatory drugs attenuates the exercise-induced increase in satellite cell number, supporting the role of the cyclooxygenase pathway in satellite cell activity.

skeletal muscle; nonsteroidal anti-inflammatory drug; running; neural cell adhesion molecule; fetal antigen-1

SATELLITE CELLS are crucial for skeletal muscle adaptation to exercise. They contribute to hypertrophy by providing new myonuclei and repair damaged segments of mature myofibers for successful regeneration following injury or exercise-induced muscle damage (13–15, 40). While there is ample evidence to show that exercise can stimulate satellite cells to re-enter the cell cycle and proliferate, reviewed by Kadi et al. (20), the mechanisms by which this activation occurs are not yet fully understood (3). It has been reported that cyclooxygenase (COX) is necessary for satellite cell activity (31) and muscle regeneration (2, 4), and furthermore, it has been shown that inhibition of COX activity by ingestion of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) suppresses the increased

mixed muscle protein synthesis rates normally observed following exercise (46). Such an observation is clinically relevant given the widespread consumption of NSAIDs among athletes (27, 48).

There are many reports of the effects of different types of exercise on satellite cells in old and young individuals of different training status (summarized in Table 1). Studies examining the effects of a single bout of exercise involving high force eccentric muscle contractions, for example, have revealed significant increases in the number of satellite cells shortly after exercise (9, 10). Regular repeated training over longer periods has also been investigated and, while similar numbers of satellite cells were reported with 8–16 wk of strength training (16), other studies have found significant increases in satellite cell number in both young and old individuals (6, 21, 26, 35, 38). As can be seen from the summary of these studies in Table 1, a single bout of maximal eccentric contractions on an isokinetic dynamometer induces a much stronger satellite cell response than a period of regular strength training, possibly reflecting the requirement of satellite cell activity in the processes of regeneration and hypertrophy, respectively. There is, however, a lack of information on the effects of a single bout of exercise in well-trained athletes, as all of the previously mentioned studies involved untrained subjects for whom the exercise was unaccustomed. With this in mind, the present study was designed to examine the influence of NSAIDs on satellite cells and their response to exercise in well-trained humans.

A secondary aim of the present study was to compare two markers of satellite cells, as there are many different markers currently in use but no consensus as to which is the most reliable. Neural cell adhesion molecule (NCAM; also known as CD56 or Leu19) has been used in many studies to identify satellite cells (see Table 1). Another potential marker of satellite cells is fetal antigen-1 (FA1), whose larger membrane-associated precursor is known as human delta-like (dlk). FA1 is a member of the growth factor superfamily and believed to be a marker of cells with regenerative potential (12). While increased numbers of FA1+ cells were observed in skeletal muscle biopsies in response to a single bout of high-intensity exercise involving eccentric contractions (9), the significance of FA1 staining of satellite cells remains unclear. To our knowledge there have not yet been any studies investigating

Address for reprint requests and other correspondence: A. Mackey, Institute of Sports Medicine Copenhagen, Bispebjerg Hospital, Bldg. 8, Bispebjerg Bakke 23, 2400 Copenhagen NV, Denmark (e-mail: abigail.mackey@gmail.com).

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. The article must therefore be hereby marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Table 1. Summary of recent human studies investigating the response of satellite cells to exercise

Exercise	Participants	Satellite Cell Identification	Changes in Satellite Cell Number	pRef. No.
Single biopsy	Elite power lifters vs. controls	NCAM	~70% more satellite cells in power lifters than controls	Kadi et al. (23)
Single biopsy	High-level power lifters	NCAM	>100% more satellite cells than reports for untrained	Eriksson et al. (11)
Single bout: eccentric exercise	Untrained young and old men	NCAM	↑ 141% (young), ↑ 51% (old) 24 h postexercise	Dreyer et al. (10)
Single bout: eccentric exercise	Untrained young men	NCAM	↑ 192% 4 days postexercise	Crameri et al. (9)
Single bout: 36-km run	Endurance-trained young men	NCAM	↑ 27% 8 days postexercise	Present study
14-wk Endurance training	Active old men	NCAM	↑ 29%	Charifi et al. (6)
9-wk Strength training	Young and old men and women	EM	↑ 35%	Roth et al. (38)
10-wk Strength training	Young women	NCAM	↑ 46%	Kadi and Thornell (22)
12-wk Strength training	Untrained old men and women	NCAM	↑ 27%	Mackey et al. (26)
14-wk Strength training	Untrained young men	NCAM	↑ 31%	Kadi et al. (21)
16-wk Strength training	Untrained young men	NCAM	↑, further enhanced with creatine supplementation	Olsen et al. (34)
16-wk Strength training	Untrained young and old men and women	NCAM	↑ in young men only	Petrella et al. (35)
8- or 16-wk Strength training	Young and old men	EM	No change	Hikida et al. (16)

Analysis was carried out by immunostaining of muscle biopsy cross sections with an anti-neural cell adhesion molecule (NCAM) antibody or by electron microscopy (EM). Percent changes presented are based on values presented in the original articles, where satellite cell number is expressed relative to fiber number or number of nuclei.

the extent of colocalization of NCAM and FA1, and this study therefore examined the colocalization of these two proteins in muscle biopsies obtained from trained and untrained individuals and also assessed the influence of exercise on this colocalization. We hypothesized that 36-km running in trained individuals would influence the satellite cell pool and that the ingestion of NSAIDs would alter this response. With regard to FA1 and NCAM colocalization, our hypothesis was that trained and untrained individuals would display different staining patterns.

## METHODS

**Volunteers and exercise.** Fourteen endurance-trained athletes [mean age  $25 \pm 3$  (SD) yr; height  $1.83 \pm 0.06$  m; weight  $79 \pm 9$  kg; peak oxygen consumption ( $\dot{V}O_{2\text{ peak}}$ )  $62 \pm 6$  ml·kg<sup>-1</sup>·min<sup>-1</sup>] volunteered for the study, which involved running a 36-km race and the collection of muscle biopsies before the race and on days 1, 3, and 8 afterward. One of the criteria for participation in the study was that the individual had not taken NSAID during the 6 mo before the study. The subjects were randomly assigned to two groups: one group received NSAID (100 mg indomethacin per day) from 4 days before the run until the final biopsy was collected, while the second group received a placebo over the same period. To avoid any effect of NSAID ingestion on baseline measurements, the prebiopsy was collected at least 7 days before the run. Subjects were asked to refrain from physical exercise for 10 days before the run. Muscle biopsies were also collected from a second group of 12 healthy untrained males [mean age  $25 \pm 3$  (SD) yr, height  $1.83 \pm 0.06$  m, and weight  $81 \pm 14$  kg] as a control group for the FA1 staining analysis. All participants gave written informed consent for the study, which was approved by the Ethics Committees of the Municipalities of Copenhagen and Frederiksberg (Ref no. KF 01-164/97) and conformed to the Declaration of Helsinki.

**Muscle biopsies.** Muscle biopsies were obtained from the midportion of vastus lateralis muscle using a standard needle biopsy technique. For the individuals involved in the 36-km run, four biopsies in total were collected from each person. Biopsies were taken from alternate legs, the second biopsy from each leg being taken ~5 cm

away from the incision site of the first biopsy. On extraction, the sample was mounted and frozen by immersion in isopentane precooled to approximately  $-160^{\circ}\text{C}$  by liquid nitrogen. Samples were stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  pending analyses. Serial transverse sections (10  $\mu\text{m}$ ) were cut at  $-24^{\circ}\text{C}$  using a cryostat and mounted on SuperFrost Plus slides (Menzel-Gläser, Braunschweig, Germany).

**Immunohistochemistry.** Satellite cells were visualized by immunohistochemical staining using a mouse anti-human NCAM antibody (CD56, cat. no. 347740; Becton Dickinson, San Jose, CA), following a previously described protocol (6). Counting was carried out on  $842 \pm 396$  fibers (mean  $\pm$  SD), 227 being the minimum number of fibers in any of the biopsies examined. Values were expressed relative to the number of myonuclei [NCAM+ cells/(myonuclei + NCAM+ cells)  $\times$  100].

To examine NCAM/FA1 colocalization, double staining was carried out on two serial transverse sections (10  $\mu\text{m}$ ) from each biopsy. The first section was stained with mouse anti-human NCAM and rabbit anti-human FA1 (developed at University of Southern Denmark, Odense, Denmark) antibodies to examine the extent of colocalization. The second section was stained for merosin (Clone Mer3/22B2; Novocastra, Newcastle upon Tyne, UK) and FA1 to establish the location of the FA1+ cells. Merosin is a muscle-specific laminin located in the basement membrane (41). Double staining with merosin and FA1 allows determination of whether the cells are located within this muscle-defined border or between the fibers in the extracellular matrix (see Fig. 1). The staining protocol was as follows. Sections were incubated overnight at  $4^{\circ}\text{C}$  with the first primary antibody (NCAM or merosin), followed by Alexa Fluor 568 goat anti-mouse secondary antibody (Molecular Probes cat. no. A11031; Invitrogen A/S, Taastrup, Denmark). The second primary antibody (FA1) was then applied overnight at  $4^{\circ}\text{C}$ , followed by incubation with Alexa Fluor 488 goat anti-rabbit secondary antibody (Molecular Probes cat. no. A11034; Invitrogen A/S). Sections were mounted with Molecular Probes ProLong Gold antifade reagent with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (cat. no. P36935; Invitrogen A/S). The number of cells that were positive for both FA1 and NCAM were expressed relative to the total number of NCAM+ cells or relative to myonuclear number.

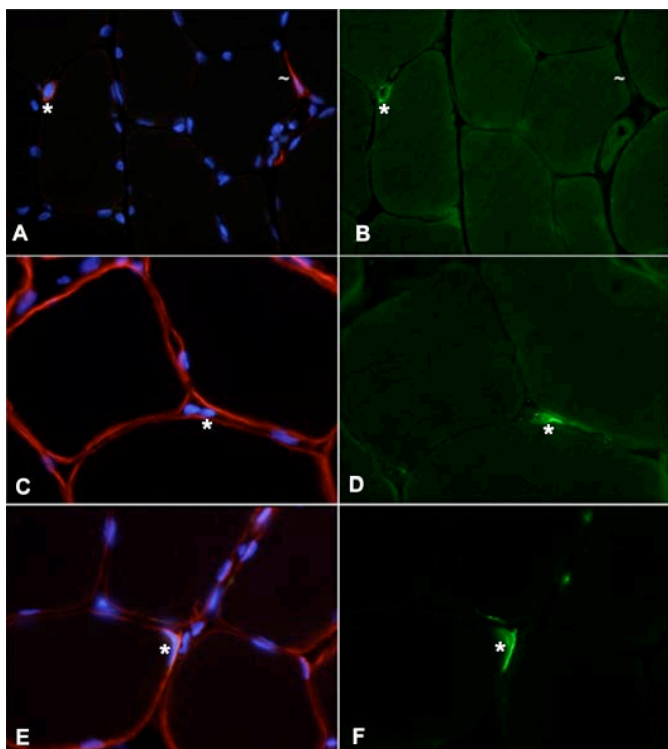


Fig. 1. Pictures taken from 3 different sections. Nuclei are visible by blue 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) staining in A, C, and E. A and B are images from double staining of the same section with neural cell adhesion molecule (NCAM; A) and fetal antigen-1 (FA1; B), showing staining of a cell positive for both NCAM and FA1 (\*), and a likely myotube (~) positive only for NCAM. FA1+ cells were observed both outside (C and D) and inside (E and F) mersin-defined muscle borders (\*), as shown (D and E, mersin + DAPI; E and F, FA1). A and B are  $\times 40$  magnification; and C–F are  $\times 60$  magnification.

Regeneration was investigated with an antibody against embryonic myosin (F1.652, Developmental Studies Hybridoma Bank, Iowa, IA). The same sections were double stained with a polyclonal dystrophin antibody (cat. no. ab15277; Abcam, Cambridge, UK) to visualize fiber borders, following the double-staining protocol as described above. The number of centrally located nuclei was also recorded from these sections.

**Statistics.** Statistical analyses were performed using GraphPad Prism version 4.0c for Macintosh (GraphPad Software, San Diego, CA). Statistical significance was accepted at the 0.05 level. Data were tested for normal distribution with the Kolmogorov-Smirnov normality test. Data were analyzed using a two-way repeated-measures ANOVA. One-way repeated-measures ANOVA was used to determine changes over time for each group, and where an overall significant difference was observed, Dunnett's multiple comparison test was employed to determine which time points differed. Unpaired *t*-tests were used to compare baseline characteristics of the placebo and NSAID groups. Data are presented as means  $\pm$  SD.

## RESULTS

Placebo and NSAID groups were similar with regard to age, height, weight, and  $\dot{V}O_{2\text{peak}}$  and completed the 36-km running in similar times:  $160 \pm 23$  and  $163 \pm 17$  min, respectively. Of the seven subjects in each group, a full set of muscle biopsies (preexercise, 24 h, 3 day, and 8 day) was analyzed for six subjects in the placebo group and five subjects in the NSAID group. The exclusion of three subjects was due to either a subject missing a biopsy time point or poor quality of one or more of the biopsies obtained from a subject.

### Satellite cells

Satellite cell data expressed relative to myonuclear number are displayed in Table 2. Statistical analysis of these data using the Kolmogorov-Smirnov normality test revealed nonnormal distribution of total NCAM+ data for the 8-day time point in the NSAID group. To conform the data to a Gaussian distribution, the values were expressed relative to preexercise values, which passed the normality test. These adjusted data are presented in Fig. 2. Two-way repeated-measures ANOVA analysis of the adjusted data revealed no interaction between the placebo and NSAID groups but an overall significance for time ( $P = 0.016$ ). One-way repeated-measures ANOVA analysis showed a significant difference in the placebo group ( $P = 0.014$ ), while no change was observed in the NSAID group ( $P = 0.384$ ). Post hoc testing of the placebo group data identified *day 8* as being significantly different from preexercise values ( $P < 0.05$ ), increasing by 27% from  $4.10 \pm 0.86$  to  $5.14 \pm 1.08$  on *day 8*. Repeated-measures ANOVA analysis of

Table 2. Satellite cell counts from vastus lateralis muscle obtained before and 24 h, 3 days, and 8 days after a 36-km run from individuals who either consumed placebo or NSAID

	Preexercise	24 h	3 Day	8 Day
Total NCAM+				
Placebo	$4.10 \pm 0.86$	$4.14 \pm 0.32$	$4.97 \pm 1.21$	$5.14 \pm 1.08^*$
NSAID	$4.21 \pm 0.97$	$3.84 \pm 0.62$	$4.49 \pm 0.74$	$4.07 \pm 0.86$
FA1+ and NCAM+				
Placebo	$2.31 \pm 1.73$	$2.68 \pm 1.69$	$2.37 \pm 1.30$	$2.85 \pm 1.96$
NSAID	$2.89 \pm 0.96$	$2.51 \pm 1.27$	$3.31 \pm 2.11$	$2.03 \pm 1.39$
Central nuclei fibers, %				
Placebo	$0.51 \pm 0.27$	$1.05 \pm 0.78$	$1.35 \pm 2.18$	$1.69 \pm 1.88$
NSAID	$1.04 \pm 1.12$	$1.24 \pm 0.69$	$1.06 \pm 0.74$	$1.37 \pm 1.60$
Embryonic myosin+ fibers, %				
Placebo	$0.00 \pm 0.00$	$0.00 \pm 0.00$	$0.03 \pm 0.05$	$0.17 \pm 0.22$
NSAID	$0.01 \pm 0.02$	$0.07 \pm 0.12$	$0.01 \pm 0.04$	$0.02 \pm 0.04$

Values are means  $\pm$  SD;  $n = 5$  subjects who consumed placebo and 5 subjects who consumed nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Satellite cell values are presented in 2 ways: as the number of NCAM+ cells (total NCAM+) and as the number of cells positive for both NCAM and fetal antigen-1 (FA1+ and NCAM+), both expressed relative to myonuclear number. The percentage of fibers that contained centrally located nuclei or cytoplasmic staining for embryonic myosin is also included. Values are means  $\pm$  SD. \*Significantly different from preexercise values,  $P < 0.05$ .

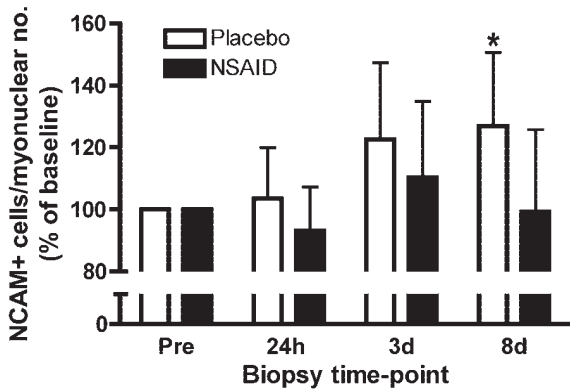


Fig. 2. Numbers of satellite cells, as identified by NCAM, following a 36-km run. Groups either consumed nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAID) ( $n = 5$ ) or placebo ( $n = 6$ ). Values are means  $\pm$  SD and are expressed relative to myonuclear number and as a percentage of preexercise (Pre) values. \*Significantly different from preexercise values,  $P < 0.05$ .

the numbers of NCAM+ and FA1+ cells presented in Table 2 showed similar levels at each time point.

**FA1 staining.** The FA1 staining pattern was a fine delineation of the cell border, similar to NCAM staining, and from the NCAM/FA1 double staining, it was apparent that the staining patterns of these two antibodies were almost identical: differences could only be observed at  $\times 60$  magnification or higher. Some cells stained very intensely, but these were rare. Figure 1 shows staining images from double staining with NCAM and FA1, and merosin and FA1. On analysis of the relative proportion of FA1+ cells with the 36-km run, no effect was observed over time (see Table 2). Figure 3 displays the proportion of NCAM+ cells stained by FA1, showing clearly that untrained individuals have a higher proportion than endurance-trained individuals ( $73 \pm 12\%$  compared with  $48 \pm 18\%$ , respectively). Of all cells counted (either positive for NCAM alone, FA1 alone, or both),  $19 \pm 15\%$  were positive for FA1 only. This value was identical for both trained and untrained groups. To find out more about these cells, double staining for merosin and FA1 was carried out, and this allowed us to

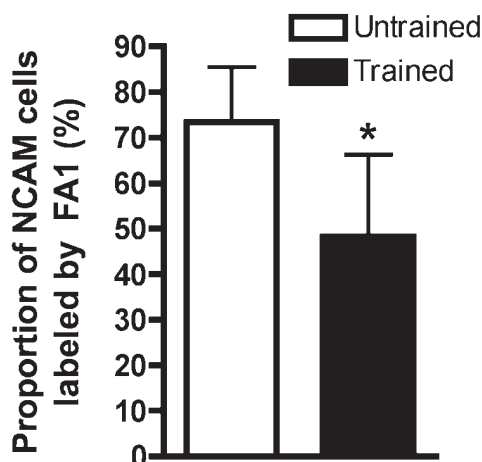


Fig. 3. Proportion of FA1+ cells from vastus lateralis muscle of untrained ( $n = 12$ ) and endurance-trained ( $n = 11$ ) healthy individuals. Values are expressed relative to the number of NCAM+ cells. \* $P = 0.0007$ . [Data for the trained group are combined preexercise values from NSAID ( $n = 5$ ) and placebo ( $n = 6$ ) groups.]

determine the proportion of FA1+ cells located inside or outside the basement membrane. In the untrained group,  $26 \pm 21\%$  of all FA1 cells were found to be located outside the merosin-defined muscle borders compared with  $35 \pm 22\%$  in the trained group (not significant). Correlations between the location of FA1+ cells and the NCAM/FA1 double-staining results are presented in Fig. 4 and show a strong positive relationship between FA1+ cells that are located outside merosin-defined muscle borders and cells that are positive for FA1 but negative for NCAM. Similarly, those cells that are positive for both NCAM and FA1 demonstrate a strong positive relationship with the FA1+ cells located inside merosin-defined muscle borders.

**Regeneration.** The number of fibers positive for embryonic myosin was assessed for each section, and the result is expressed as a percentage of the total number of fibers in the section. The results are presented in Table 2, and the values ranged from 0 to 0.52%. Of the total of 16 embryonic+ fibers observed from all the sections studied, 5 of those demonstrated normal dystrophin staining, while the dystrophin staining around the other 11 fibers was either very faint or completely absent. The number of fibers with centrally located nuclei (see Table 2) ranged from 0 to 6%. There was no significant change with time or interaction between the placebo and NSAID

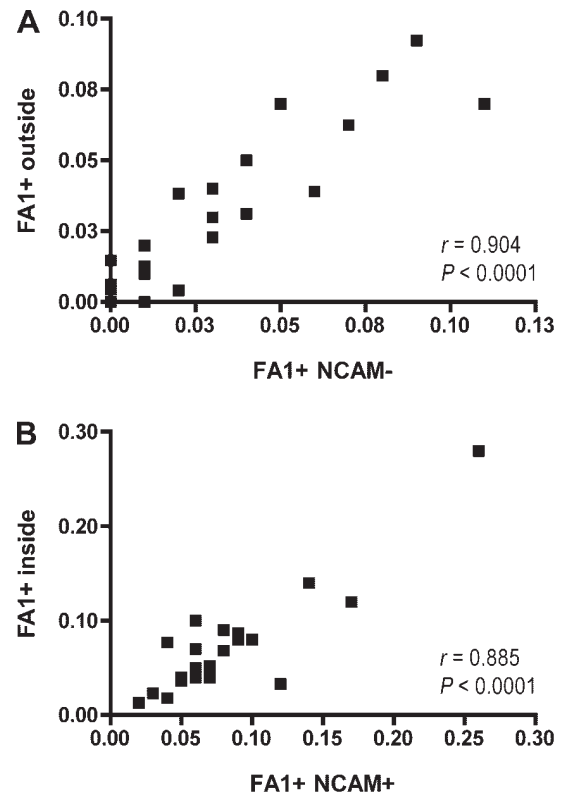


Fig. 4. Pearson's correlations from 2 sets of double staining: merosin + FA1, and NCAM + FA1. All data are numbers of cells expressed relative to fiber number. The graphs show the relationship between the number of FA1+ cells located outside (A) or inside (B) merosin-stained muscle borders, and the number of FA1+ NCAM- cells (A) or FA1+ NCAM+ cells (B). Data are from resting biopsies obtained from young healthy males;  $n = 23$ . Note: removal of the single data point with highest values in B changes  $r$  value to 0.717,  $P = 0.0002$ .

groups for either the percentage of embryonic+ fibers or the percentage of fibers with central nuclei.

## DISCUSSION

The new findings presented in this study reveal increased numbers of NCAM-stained cells in response to a 36-km run, suggesting that satellite cells were activated to reenter the cell cycle and proliferate with the exercise. While enhancement of the satellite cell pool has been demonstrated in several previous studies, this is, to our knowledge, the first study to show a response in individuals who are highly trained and accustomed to the exercise intervention. We also report here, for the first time, data suggesting that ingestion of NSAIDs may attenuate this response (Fig. 2), providing *in vivo* support for a role for the COX pathway in satellite cell activity in humans. While some authors have reported no effect of NSAIDs on satellite cell activity or muscle regeneration (45), several studies have demonstrated a negative effect of NSAID administration on various stages of myogenesis and regeneration (2, 4, 31, 33, 49, 50). The results of those experiments are supported by the present study, where no increase in the number of satellite cells, as assessed by NCAM staining, was observed in response to exercise in individuals who consumed NSAIDs.

*The role of NSAIDs in satellite cell activity.* Evidence for inflammation as a catalyst for activation of satellite cells comes from the many studies that have investigated the effects of blocking inflammation, directly on satellite cells *in vitro*, and also in animal models *in vivo*. Several other factors have also been shown to be capable of activating satellite cells, including hepatocyte growth factor (HGF) (1), nitric oxide synthase (43), and the insulin-like growth factor-1 (IGF-1) isoform known as mechanogrowth factor (17), while the IGF-1 isoform IGF-IEa, along with other growth factors, acts to enhance proliferation (36). The precise mechanisms by which these agents activate satellite cells are not fully understood, but there is evidence for some specific interactions. For example, it is known that HGF acts on satellite cells via c-met, the HGF receptor expressed on quiescent satellite cells (8). Similarly, the role for inflammatory cells in satellite cell activation comes from the observation that quiescent murine satellite cells also express VCAM-1, whose coreceptor is found on infiltrating leukocytes (19). The influence of COX activity on myoblasts is through the conversion of arachidonic acid to prostaglandins (PGs), which have been shown to be important in muscle development (30), the different PG subtypes being implicated in the different stages of myoblast fusion (18). In the present study, COX-blocking NSAIDs were given in amounts known to block PG synthesis, and it has previously been demonstrated with the use of microdialysis that NSAID administration resulted in a complete drop in PGE<sub>2</sub> interstitial tissue concentration (25). Thus the present data support the view that COX-induced PG synthesis is important for satellite cell activity.

PGs serve many physiological functions in skeletal muscle, such as contributing to the regulation of blood flow (5, 32), and it is possible that this effect in itself prevented satellite cells from responding to the stimulus in the NSAID group, since this would reduce the transport of other signaling agents to and from the muscle. Although blood flow was not monitored in the present study, and it is difficult to comment on the extent of this effect, other data have shown that PG alone did not

influence blood flow in skeletal muscle during exercise (24). While the likely function of NSAIDs is in the prevention of PG synthesis through COX inhibition, it is also known that different NSAIDs can act by various COX-independent mechanisms, inhibiting some pathways and activating others (44). We can therefore not rule out the possibility that pathways other than the COX/PG pathway have contributed to the attenuating effect of NSAIDs on satellite cell activity observed in the present study. However, the lack of any increase in satellite cell number with NSAIDs suggests that the presence of PG is important for this response.

*FA1 staining.* Another finding of the present study was that FA1 stained 25% more satellite cells (NCAM+) in healthy untrained individuals compared with trained individuals (Fig. 3). This is, to our knowledge, the first study that has quantitatively investigated the colocalization of FA1 and NCAM. It has been suggested that FA1 is a marker of cells with regenerative potential (12). With this in mind, together with the theory that adult skeletal muscle might contain different subpopulations of myogenic precursor cells, it is plausible that FA1 identifies a subpopulation of myogenic precursor cells in human skeletal muscle. This theory is supported by the fact that some of these cells were observed to occupy the classic satellite cell position under the basal lamina, whereas others were located outside the muscle fiber. While the majority of FA1+ cells were also NCAM+, 19% of all cells counted were FA1+ NCAM-, and strong correlations between these data and the merosin/FA1 staining data suggest that the FA1+ NCAM- cells were located outside the fibers (see Fig. 4). At this point of the discussion it should be remembered that markers for identification of myogenic precursor cells continue to be explored and validated, in particular in adult human skeletal muscle during events induced by exercise. Furthermore, it is possible that expression of NCAM on myogenic precursor cells may not be constant but could for example be conditional on their location or activation status. While we cannot rule out the possibility that FA1 is expressed in other cell types such as fibroblasts and inflammatory cells, it is possible that these FA1+ NCAM- cells are a myogenic precursor cell subpopulation that is either 1) migrating into the muscle fiber or 2) leaving it. In addition, although it is not possible to determine the exact origin and destination of these cells at this point, the presence of FA1+ cells inside and outside the muscle cell is an interesting finding, and that regular training influences the proportion of NCAM+ FA1+ cells supports the theory that FA1 labels a subpopulation of myogenic precursor cells. With regard to why trained athletes have a lower proportion of these cells compared with untrained individuals, it is tempting to speculate that this is indicative of a lower remaining regenerative potential in the trained muscle. The basis for this speculation is that it has been suggested that FA1 is present in cells with regenerative potential (12), and furthermore that it appears the proliferative potential of satellite cells is limited (39); thus the many cycles of damage and repair induced over many years of training would result in a lower remaining capacity for cell division. However, as the significance of FA1 staining remains to be clarified, it is not possible to comment conclusively on these findings at this time.

*Satellite cells and exercise.* This is the first study we are aware of that has examined the influence of a single bout of endurance running on satellite cells in trained individuals. The

numbers of satellite cells at baseline were similar to those in our untrained group and agree with satellite cell numbers in young men at rest reported in some studies (21, 23, 34, 35), although others have reported lower resting values (9, 10, 16, 37, 47). In some cases this discrepancy is likely to be due to the different methods of detection used, i.e., electron microscopy vs. immunohistochemistry, or the use of different antibodies, e.g., Pax7 vs. NCAM. It would not be unexpected to find higher numbers of satellite cells in endurance-trained individuals, since Charifi et al. (6) reported increased satellite cell numbers following a period of endurance training. However, based on the similar levels of satellite cells (using an NCAM antibody) observed in the untrained subjects in the present study and elsewhere (21, 23, 34, 35), it appears that long-term endurance training (~5 yr) results in levels of satellite cells comparable to untrained active individuals.

The unchanged levels of the proportion of FA1+ cells with 36-km running in the present study are in contrast to the results reported by Cramer et al. (9), where significantly higher levels of FA1+ cells were observed on *days 4* and *8* postexercise. The two major differences between these two studies were the training status of the participants and the exercise interventions employed. The subjects in the present study were well-trained endurance runners who completed a single bout of exercise to which they were already accustomed, whereas the untrained volunteers in the study by Cramer et al. (9) performed one bout of high-intensity eccentric exercise, which is likely to have resulted in a much greater insult to the muscle. These differences may also explain the difference between the two studies in the magnitude of response of NCAM+ cells. Cramer et al. (9) reported an increase of almost 200% in the number of NCAM+ cells on *day 4* postexercise, an increase that was still evident by *day 8*. In the present study, the modest 27% increase in the placebo group was not observed until *day 8* postexercise and is more in line with previous studies involving periods of training lasting several months (6, 21, 26, 38). One obvious question concerns the purpose of the new satellite cells reported in such studies. In adult muscle, one of the main functions of satellite cells is to provide new myonuclei for maintenance and growth. No increased numbers of myonuclei were observed in the present study, however, and it is unlikely that enhancement of the satellite cell pool following a single bout of exercise can be explained by replacing existing myonuclei, since this occurs at a very low rate (42). Another function of satellite cells is to produce new myofibers to fuse with existing fibers to repair areas of damage induced by injury or exercise. Healthy skeletal muscle can regenerate fully following exercise-induced damage, and this process would be a reason for activation of satellite cells. Altered patterns of regeneration, as assessed by embryonic myosin staining, have been reported with NSAID administration following contraction-induced injury in rabbit skeletal muscle (33). Regeneration was therefore also investigated in the present study, and while some embryonic myosin-positive and dystrophin-negative fibers, as well as central nuclei, were observed, no statistically significant effect of either exercise or NSAID ingestion could be detected for these parameters. Furthermore, no sign of muscle damage in the form of necrotic muscle fibers was observed. It is likely that this is because the exercise was something the subjects were accustomed to. While some studies have reported no increase in inflammation in skeletal

muscle with exercise (29), or increased inflammation following multiple biopsies alone (28), there is evidence for acute and chronic inflammatory responses in human skeletal muscle following certain types of exercise, especially where eccentric contractions are involved [reviewed by Clarkson and Hubal (7)]. Despite the unaccustomed high-force muscle contractions performed in the study by Cramer et al. (9), evidence of necrosis was only observed in one of eight subjects, which taken together with the results of the present study suggests that satellite cells do not require muscle damage (as evidenced by visible signs of necrosis at the light microscopy level) to be stimulated to proliferate. Furthermore, it appears that the extent of proliferation is influenced by the type of exercise and how well the subjects are accustomed to it, a factor that is affected by the prior training status of the individual. While the purpose of the new satellite cells remains to be determined, it is possible that they simply return to a quiescent state in the absence of subsequent stimuli.

In conclusion, given the vital role satellite cells play in skeletal muscle maintenance and regeneration, any factors that interfere with their activity could negate the anabolic effects exerted by exercise, and while the precise mechanism by which the COX pathway acts on satellite cells and the ensuing events in the repair or hypertrophy process remains unclear, there is mounting evidence for a positive regulatory effect on satellite cell activity. This is relevant for the vast number of athletes who consume NSAIDs to continue training when faced with muscle soreness or injury, and also for the various disease conditions, such as osteoarthritis, where NSAIDs are prescribed. In conclusion, the data from this study suggest a negative regulatory effect of NSAIDs on the number of NCAM+ cells in human muscle, supporting the view that the COX pathway is important for normal satellite cell activity.

#### ACKNOWLEDGMENTS

The polyclonal rabbit anti-human FA1 antibody was developed and obtained from Børge Teisner at the University of Southern Denmark. We express our thanks to Susanne Germann Petersen, Søren Reitelsheder, and Troels Gravers Pedersen for valuable help with this project. The F1.652 antibody developed by Helen M. Blau was obtained from the Developmental Studies Hybridoma Bank developed under the auspices of the National Institute of Child Health and Human Development and maintained by The University of Iowa, Department of Biological Sciences, Iowa City, IA.

#### GRANTS

Financial support was provided by the Danish National Research Foundation, Danish Health Science Research Board, Danish Rheumatism Foundation, Lundbeck Foundation, and Novo Nordisk Foundation.

#### REFERENCES

1. Allen RE, Sheehan SM, Taylor RG, Kendall TL, Rice GM. Hepatocyte growth factor activates quiescent skeletal muscle satellite cells in vitro. *J Cell Physiol* 165: 307–312, 1995.
2. Almekinders LC, Gilbert JA. Healing of experimental muscle strains and the effects of nonsteroidal anti-inflammatory medication. *Am J Sports Med* 14: 303–308, 1986.
3. Anderson JE, Wozniak AC. Satellite cell activation on fibers: modeling events in vivo—an invited review. *Can J Physiol Pharmacol* 82: 300–310, 2004.
4. Bondesen BA, Mills ST, Kegley KM, Pavlath GK. The COX-2 pathway is essential during early stages of skeletal muscle regeneration. *Am J Physiol Cell Physiol* 287: C475–C483, 2004.
5. Boushel R, Langberg H, Risum N, Kjaer M. Regulation of blood flow by prostaglandins. *Curr Vasc Pharmacol* 2: 191–197, 2004.

6. Charifi N, Kadi F, Feasson L, Denis C. Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle Nerve* 28: 87–92, 2003.
7. Clarkson PM, Hubal MJ. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil* 81: S52–S69, 2002.
8. Cornelison DD, Wold BJ. Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. *Dev Biol* 191: 270–283, 1997.
9. Cramer RM, Langberg H, Magnusson P, Jensen CH, Schroder HD, Olesen JL, Suetta C, Teisner B, Kjaer M. Changes in satellite cells in human skeletal muscle after a single bout of high intensity exercise. *J Physiol* 558: 333–340, 2004.
10. Dreyer HC, Blanco CE, Sattler FR, Schroeder ET, Wiswell RA. Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle Nerve* 33: 242–253, 2006.
11. Eriksson A, Kadi F, Malm C, Thornell LE. Skeletal muscle morphology in power-lifters with and without anabolic steroids. *Histochem Cell Biol* 124: 167–175, 2005.
12. Floridon C, Jensen CH, Thorsen P, Nielsen O, Sunde L, Westergaard JG, Thomsen SG, Teisner B. Does fetal antigen 1 (FA1) identify cells with regenerative, endocrine and neuroendocrine potentials? A study of FA1 in embryonic, fetal, and placental tissue and in maternal circulation. *Differentiation* 66: 49–59, 2000.
13. Grounds MD, White JD, Rosenthal N, Bogoyevitch MA. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. *J Histochem Cytochem* 50: 589–610, 2002.
14. Hawke TJ. Muscle stem cells and exercise training. *Exerc Sport Sci Rev* 33: 63–68, 2005.
15. Hawke TJ, Garry DJ. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J Appl Physiol* 91: 534–551, 2001.
16. Hikida RS, Walsh S, Barylski N, Campos G, Hagerman FC, Staron RS. Is hypertrophy limited in elderly muscle fibers? A comparison of elderly and young strength-trained men. *Basic Appl Myol* 8: 419–427, 1998.
17. Hill M, Goldspink G. Expression and splicing of the insulin-like growth factor gene in rodent muscle is associated with muscle satellite (stem) cell activation following local tissue damage. *J Physiol* 549: 409–418, 2003.
18. Horsley V, Pavlath GK. Forming a multinucleated cell: molecules that regulate myoblast fusion. *Cells Tissues Organs* 176: 67–78, 2004.
19. Jesse TL, LaChance R, Iademarco MF, Dean DC. Interferon regulatory factor-2 is a transcriptional activator in muscle where it regulates expression of vascular cell adhesion molecule-1. *J Cell Biol* 140: 1265–1276, 1998.
20. Kadi F, Charifi N, Denis C, Lexell J, Andersen JL, Schjerling P, Olsen S, Kjaer M. The behaviour of satellite cells in response to exercise: what have we learned from human studies? *Pflügers Arch* 451: 319–327, 2005.
21. Kadi F, Schjerling P, Andersen LL, Charifi N, Madsen JL, Christensen LR, Andersen JL. The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *J Physiol* 558: 1005–1012, 2004.
22. Kadi F, Thornell LE. Concomitant increases in myonuclear and satellite cell content in female trapezius muscle following strength training. *Histochem Cell Biol* 113: 99–103, 2000.
23. Kadi F, Eriksson A, Holmner S, Butler-Browne GS, Thornell LE. Cellular adaptation of the trapezius muscle in strength-trained athletes. *Histochem Cell Biol* 111: 189–195, 1999.
24. Kalliokoski KK, Langberg H, Ryberg AK, Scheede-Bergdahl C, Doessing S, Kjaer A, Kjaer M, Boushel R. Nitric oxide and prostaglandins influence local skeletal muscle blood flow during exercise in humans: coupling between local substrate uptake and blood flow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 291: R803–R809, 2006.
25. Langberg H, Boushel R, Skovgaard D, Risum N, Kjaer M. Cyclooxygenase-2 mediated prostaglandin release regulates blood flow in connective tissue during mechanical loading in humans. *J Physiol* 551: 683–689, 2003.
26. Mackey AL, Esmarck B, Kadi F, Koskinen SOA, Kongsgaard M, Sylvestersen A, Hansen JJ, Larsen G, Kjaer M. Enhanced satellite cell proliferation with resistance training in elderly men and women. *Scand J Med Sci Sports* 17: 34–42, 2007.
27. Mahler N. [Misuse of drugs in recreational sports] Medikamentenmissbrauch im Breitensport. *Ther Umsch* 58: 226–231, 2001.
28. Malm C, Nyberg P, Engstrom M, Sjodin B, Lenkei R, Ekblom B, Lundberg I. Immunological changes in human skeletal muscle and blood after eccentric exercise and multiple biopsies. *J Physiol* 529: 243–262, 2000.
29. Malm C, Sjodin TL, Sjoberg B, Lenkei R, Renstrom P, Lundberg IE, Ekblom B. Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *J Physiol* 556: 983–1000, 2004.
30. McLennan IS. Hormonal regulation of myoblast proliferation and myotube production in vivo: influence of prostaglandins. *J Exp Zool* 241: 237–245, 1987.
31. Mendias CL, Tatsumi R, Allen RE. Role of cyclooxygenase-1 and -2 in satellite cell proliferation, differentiation, and fusion. *Muscle Nerve* 30: 497–500, 2004.
32. Messina EJ, Weiner R, Kaley G. Inhibition of bradykinin vasodilation and potentiation of norepinephrine and angiotensin vasoconstriction by inhibitors of prostaglandin synthesis in skeletal muscle of the rat. *Circ Res* 37: 430–437, 1975.
33. Mishra DK, Friden J, Schmitz MC, Lieber RL. Anti-inflammatory medication after muscle injury. A treatment resulting in short-term improvement but subsequent loss of muscle function. *J Bone Joint Surg Am* 77: 1510–1519, 1995.
34. Olsen S, Aagaard P, Kadi F, Tufekovic G, Verney J, Olesen JL, Suetta C, Kjaer M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *J Physiol* 573: 525–534, 2006.
35. Petrella JK, Kim JS, Cross JM, Kosek DJ, Bamman MM. Efficacy of myonuclear addition may explain differential myofiber growth among resistance-trained young and older men and women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 291: E937–E946, 2006.
36. Rabinovsky ED, Gelir E, Gelir S, Lui H, Kattash M, DeMayo FJ, Shenaq SM, Schwartz RJ. Targeted expression of IGF-1 transgene to skeletal muscle accelerates muscle and motor neuron regeneration. *FASEB J* 17: 53–55, 2003.
37. Roth SM, Martel GF, Ivey FM, Lemmer JT, Metter EJ, Hurley BF, Rogers MA. Skeletal muscle satellite cell populations in healthy young and older men and women. *Anat Rec* 260: 351–358, 2000.
38. Roth SM, Martel GF, Ivey FM, Lemmer JT, Tracy BL, Metter EJ, Hurley BF, Rogers MA. Skeletal muscle satellite cell characteristics in young and older men and women after heavy resistance strength training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 56: B240–B247, 2001.
39. Schultz E, Jarzysak DL. Effects of skeletal muscle regeneration on the proliferation potential of satellite cells. *Mech Ageing Dev* 30: 63–72, 1985.
40. Schultz E, McCormick KM. Skeletal muscle satellite cells. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 123: 213–257, 1994.
41. Shibuya S, Wakayama Y, Inoue M, Kojima H, Oniki H. Merosin (laminin-2) localization in basal lamina of normal skeletal muscle fibers and changes in plasma membrane of merosin-deficient skeletal muscle fibers. *Med Electron Microsc* 36: 213–220, 2003.
42. Spalding KL, Bhardwaj RD, Buchholz BA, Druid H, Frisen J. Retrospective birth dating of cells in humans. *Cell* 122: 133–143, 2005.
43. Tatsumi R, Liu X, Pulido A, Morales M, Sakata T, Dial S, Hattori A, Ikeuchi Y, Allen RE. Satellite cell activation in stretched skeletal muscle and the role of nitric oxide and hepatocyte growth factor. *Am J Physiol Cell Physiol* 290: C1487–C1494, 2006.
44. Tegeder I, Pfeilschifter J, Geisslinger G. Cyclooxygenase-independent actions of cyclooxygenase inhibitors. *FASEB J* 15: 2057–2072, 2001.
45. Thorsson O, Rantanen J, Hurme T, Kalimo H. Effects of nonsteroidal antiinflammatory medication on satellite cell proliferation during muscle regeneration. *Am J Sports Med* 26: 172–176, 1998.
46. Trappe TA, White F, Lambert CP, Cesar D, Hellerstein M, Evans WJ. Effect of ibuprofen and acetaminophen on postexercise muscle protein synthesis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 282: E551–E556, 2002.
47. Verdijk LB, Koopman R, Schaart G, Meijer K, Savelberg HH, van Loon LJ. Satellite cell content is specifically reduced in type II skeletal muscle fibers in the elderly. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 292: E151–E157, 2007.
48. Warner DC, Schnepf G, Barrett MS, Dian D, Swigonski NL. Prevalence, attitudes, and behaviors related to the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) in student athletes. *J Adolesc Health* 30: 150–153, 2002.
49. Zalin RJ. Prostaglandins and myoblast fusion. *Dev Biol* 59: 241–248, 1977.
50. Zalin RJ. The role of hormones and prostanoids in the in vitro proliferation and differentiation of human myoblasts. *Exp Cell Res* 172: 265–281, 1987.

## FATIGUE AND STRENGTH TRAINING: ¿HOW MUCH IS NECESSARY?

Mikel Izquierdo PhD.

(Research, Studies and Sport Medicine Center, Gobierno de Navarra, España) [mikel.izquierdo@ceimd.org](mailto:mikel.izquierdo@ceimd.org)

Coaches and researchers in the field of resistance training attempt to identify the proper handling of training variables to determine the training stimulus that maximizes performance enhancement. One variable that is less considered when designing programs to optimize athletic performance is movement velocity. Classically, the choice of the load should impact the velocity of the movement but most of the data examining this phenomenon have been obtained with isokinetic exercise (Kraemer and Ratamess 2004). The velocity of movement will impact the training stimulus and subsequent the adaptations to training. It has been suggested, therefore, that athletes should try to perform exercises “explosively” at a velocity allowed by the resistance used in a volitional manner. Training at a specific velocity improves the application of force and maximum rate of force development mainly at that velocity, so that less effective training effect will occur if training velocity deviates from the specific trained velocity (Behm and Sale 1993; Cronin et al. 2001; 2002; Kanehisa and Myashita, 1983; Wilson et al 1993). Greater average and peak velocity, average force, and average power output have been recorded by using training stimulus aiming at decreasing the deceleration phase by allowing the load to be projected as in a throw or a jump. [Cronin et al. 2001; 2002; Newton et al 1996). Velocity and acceleration profiles will be also differ according to different loading regimens for overall set performance and velocity. However, the impact of loading on repetition and set velocity is unclear. Previous studies reported that maximal shortening velocity decline due to fatigue is likely to be caused by the accumulation of metabolic factors such as ADP and H<sup>+</sup> that may slow the actin-myosin interaction and cross-bridge cycling rate (Bergström & Hultman, 1991; Cheng & Rice, 2005, Vøllestad *et al.* 1997), especially of type IIA and IIX muscle fibers (Andersen & Aagaard, 2000). In support, Cheng and Rice (2005) found a 19% decrease in low-frequency fatigue (10 to 50 Hz ratio at 10 min) after isotonic task failure and a strong negative relationship between changes in velocity and half relaxation time after fatigue and during recovery. Thus, one may speculate that the substantial reduction but faster recovery of muscle power after an acute heavy-resistance exercise protocol (e.g. 5 sets of 10 repetition maximum), may be greatly related to metabolic factors, that impair cross-bridge dissociation (Bergström & Hultman, 1991; Cheng & Rice, 2005, Vøllestad *et al.* 1997). However, the extent to which the exercise-induced decline and recovery in muscle power output may be associated with changes at cellular level such as metabolite depletion or accumulation, alterations in the sodium potassium pump, or a combination of these processes (Allen *et al.* 1992; Sahlin, 1992) remains inconclusive and needs further attention.

In a recent study (Izquierdo et al. 2007), we showed a consistent and similar pattern of decline in repetition speed during a set of repetitions performed at maximal intentional speed with all percentages of 1RM tested in both upper and lower extremity muscle actions. For all intensities tested, the decrease in the speed of movement in bench press action was significant when the number of repetitions was over one third (34%) of the total number of repetitions performed, whereas in half squat it was nearly one half (48%). It was concluded that, for the range of intensities tested, in order to guarantee a maximal training velocity and to avoid a decline in the repetition speed, the number of repetitions performed in a set should not exceed one third and one half of the performed maximum number of repetitions to failure respectively in bench press and parallel squat actions. This maximal velocity threshold corresponds to an approximate 13% and 8% decrease of the velocity achieved during the first repetition for bench press

and half squat muscle actions respectively. The present results may be of use in evaluating the optimal training number of repetitions required to ensure optimal maintenance of the maximal performance velocity with different percentages of maximum strength (Izquierdo *et al.* 2007, Izquierdo 2008).

A typical response to strength training is a reduction of the amount of muscle mass needed to perform a given dynamic task, as demonstrated using NMR and EMG measurements (Lewis *et al.* 1984; Ploutz *et al.* 1994). Thus, following training the same amount of strength and power can be developed using fewer muscle fibers with lesser accumulation of fatigue. These two effects can only be explained by changes in neural activity combined with local muscular functional and structural changes. It is a common finding that, strength training leads to improvements in neuromuscular efficiency (i.e. relationship between the EMG and the mechanical power output) (Behm & St-Pierre, 1998), muscle mass (Aagaard *et al.* 2001, Häkkinen *et al.* 1985) and selective hypertrophy of IIA muscle fibers (Staron *et al.* 1994). Some studies have also demonstrated that a period of high-intensity training is associated with up-regulation of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumps, increased activity of creatine kinase (CK), glycolytic enzymes, e.g., phosphofructokinase (PFK), decrease in lactate accumulation and increase in muscle buffering capacity (Costill *et al.* 1979; Hellsten *et al.* 1996, Holloszy, 1973; McKenna *et al.* 1993; 1996; Mohr *et al.* 2007; Sahlin & Henriksson, 1984). Changes of this nature may contribute to explain the reduced fatigability during the exercise with the same absolute load as in pretraining.

Strikingly, in a recent study we showed that the subjects endured more fatigue accumulation after training when exercising at the same relative intensity. This finding indicates that the subjects were able to perform each set more intensively after training, with an increasing degree of failure and ATP turnover. This is supported by the higher accumulation of blood lactate and ammonia concentration after training and coincides with certain sprint training studies that show increased capacity for using muscle glycogen after training (Green, 1987; MacDougall *et al.* 1998; Saltin & Essen, 1971; Thorstensson *et al.* 1975). Thus, a greater accumulation of metabolites without failure after training may be possible due to up-regulation of the Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> pumps, increased CK and glycolytic enzymes activity, and H<sup>+</sup> ion *in vivo* buffering capacity (increased metabolic buffering capacity due to, for example, higher NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, increased muscle protein content due to muscle hypertrophy and increased lactate transport capacity) (Costill *et al.* 1979; Hellsten *et al.* 1996, Holloszy, 1973; McKenna *et al.* 1993; 1996; Mohr *et al.* 2007; Sahlin & Henriksson, 1984). Our finding could also indicate that fatigue eliciting sensory feedback from the fatigued muscles after training is either reduced or processed centrally in a different way, such that the muscle is pushed further and the relative loss of performance is higher. It cannot be ruled out, however, that other factors at the molecular level could also have contributed to the present findings, such as a change in myosin heavy chain composition, with a reduction in the type I/type II MHC ratio in amount of protein and therefore a shift toward faster MHC phenotypes (Andersen & Aagaard, 2000; Perez-Gomez *et al.* 2008; Staron *et al.* 2004). Glycolytic fibers are able to produce higher peak specific tension and power output than type I. In addition, type II has greater glycolytic power. Thus the higher lactate accumulated in blood after training will also be compatible with this kind of adaptation.

In addition, a remarkable finding of our recent study was that the magnitude of the acute neuromuscular fatigue produced by the loading was similar before and after the short-strength training period, when the relative intensity of the loading was kept the same. Thus we may assume a similar pattern of motor unit recruitment at fatigue in both pre- and post-training. This also indicates that the mechanisms eliciting fatigue were also

similar pre- and post-training when exercising with the same relative load, suggesting that an increased capacity to perform more exercise and endure a greater loss of strength during the AHREP<sub>Rel</sub> protocols was mainly due to peripheral adaptations.

Taken together our findings indicate that after a short-term strength training period, the main mechanisms responsible for the increased capacity to work with the same relative intensity are mainly of peripheral nature, since similar neural adjustments, but higher accumulated fatigue and metabolic demand (i.e., blood lactate and ammonia accumulation) were observed after multiple sets of dynamic fatiguing high-power contractions with the same relative load as in pretraining. This study therefore supports the notion that similar changes are observable in the EMG signal pre- and post-training at fatigue when exercising with the same relative load. However, after training the muscle is able to work relatively more and accumulate more metabolites before task failure. This result may indicate that task failure occurred with a greater loss of functional capacity (power and MVC) in the trained state despite using the same relative intensity. The fact that the same relative loading leads to increased accumulation of fatigue after training has important practical implications. This may suggest that despite the enhanced ability to produce maximal strength and muscle power after a strength training program, when prescribing training programs a similar relative load as in pretraining could lead to a greater rate of fatigue and therefore might induce different training effects.

Acknowledgments: This study was supported by the Ministry of Education (National Plan of I+D+i 2004-2007. Key Action "Sport and Physical Activity" DEP2006-56076).

## References

1. Aagaard P, Andersen JL, Dyhre-Poulsen P, Leffers AM, Wagner A, Magnusson SP, Halkjaer-Kristensen J & Simonsen EB (2001). A mechanism for increased contractile strength of human pennate muscle in response to strength training: changes in muscle architecture. *J Physiol*. 15 (534):613-23.
2. Andersen JL & Aagaard P (2000). Myosin heavy chain IIX overshoot in human skeletal muscle. *Muscle Nerve*. 23(7):1095-104.
3. Behm DG & St-Pierre DM (1998). The effects of strength training and disuse on the mechanisms of fatigue. *Sports Med*. 25(3):173-89.
4. Behm DG and Sale DG. Velocity specificity of resistance training. *Sports Med* 1993; 15:374-388
5. Bergström M & Hultman E (1991). Relaxation and force during fatigue and recovery of the human quadriceps muscle: relations to metabolite changes. *Pflugers Arch*. 418 (1-2):153-60.
6. Cheng AJ & Rice CL (2005). Fatigue and recovery of power and isometric torque following isotonic knee extensions. *J Appl Physiol*. 99(4):1446-52.
7. Costill DL, Coyle EF, Fink WF, Lesmes GR & Witzmann FA (1979). Adaptations in skeletal muscle following strength training. *J Appl Physiol* 46: 96–99.
8. Cronin J, McNair PJ, Marshall RN. Velocity specificity, combination training and sport specific tasks. *J Sci Med Sport* 2001; 4:168-78
9. Cronin JB, McNair PJ, Marshall RN. Is velocity-specific strength training important in improving functional performance? *J Sports Med Phys Fitness* 2002; 42(3):267-73
10. Green HJ (1987). Glycogen depletion patterns during continuous and intermittent ice skating. *Med Sci Sports Exerc*. 10:183-187.
11. Häkkinen K, Alén M & Komi PV (1985). Changes in isometric force- and relaxation-time, electromyographic and muscle fibre characteristics of human skeletal muscle during strength training and detraining. *Acta Physiol Scand*. 125(4):573-585.
12. Hellsten Y, Apple FS & Sjodin B (1996). Effect of sprint cycle training on activities of antioxidant enzymes in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 81: 1484–1487.
13. Holloszy JO (1973). Biochemical adaptations to exercise: aerobic metabolism. *Exerc Sport Sci Rev*.1:45-71.

14. Izquierdo M. *Biomecánica y Sistema Neuromuscular en la Actividad Física y el deporte*. Editorial Médica Panamericana. Madrid. 2008
15. Izquierdo M, Ibañez J, González-Badillo JJ, Häkkinen K, Ratamess NA, Kraemer WJ, French DN, Eslava J, Altadill A, Asiain X & Gorostiaga EM (2006). Differential effects of strength training leading to failure versus not to failure on hormonal responses, strength, and muscle power gains. *J Appl Physiol*. 100(5):1647-56.
16. Izquierdo M, González-Badillo JJ, Häkkinen K, Ibañez J, Kraemer WJ, Altadill A, Eslava J, Gorostiaga EM. Effect of loading on unintentional lifting velocity declines during single sets of repetitions to failure during upper and lower extremity muscle actions. *Int J Sports Med*. 27:718-724
17. Kanehisa H, Miyashita M. Specificity of velocity in strength training. *J Appl Physiol* 1983; 52: 104-106
18. Kraemer WJ, Ratamess NA. Fundamentals of resistance training: Progression and exercise prescription *Med Sci Sports Exerc* 2004; 4:674-688.
19. Lewis S, Nygaard E, Sanchez J, Egeblad H & Saltin B (1984). Static contraction of the quadriceps muscle in man: cardiovascular control and responses to one-legged strength training. *Acta Physiol Scand*. 122(3):341-53.
20. MacDougall JD, Hicks AL, MacDonald JR, McKelvie RS, Green HJ & Smith KM (1998). Muscle performance and enzymatic adaptations to sprint interval training. *J Appl Physiol*. 84(6):2138-42.
21. McKenna MJ, Schmidt TA, Hargreaves M, Cameron L, Skinner SL, Kjeldsen K & Heigenhauser GJ (1993). Sprint training increases human skeletal muscle Na<sub>2</sub>-K<sub>2</sub>-ATPase concentration and improves K<sub>2</sub> regulation. *J Appl Physiol* 75: 173–180.
22. McKenna MJ, Harmer AR, Fraser SF & Li JL (1996). Effects of training on potassium, calcium and hydrogen ion regulation in skeletal muscle and blood during exercise. *Acta Physiol Scand*. 156(3):335-46.
23. Mohr M, Krstrup P, Nielsen JJ, Nybo L, Rasmussen MK, Juel C & Bangsbo J (2007). Effect of two different intense training regimens on skeletal muscle ion transport proteins and fatigue development. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 292(4):R1594-602.
24. Newton RU, Kraemer WJ, Häkkinen K, Humphries BJ, Murphy AJ. Kinematics, kinetics and muscle activation during explosive upper body movements. *J Appl Biomech* 1996; 12:31-43
25. Perez-Gomez J, Olmedillas H, Delgado-Guerra S, Ara I, Vicente-Rodriguez G, Arteaga R, Chavarren J & Calbet JAL (2008). Effects of weight lifting training combined with plyometric exercises on physical fitness, body composition and knee extension velocity during kicking in football. *Appl Physiol Nutri Metab*. In press.
26. Ploutz LL, Tesch PA, Biro RL & Dudley GA (1994). Effect of resistance training on muscle use during exercise. *J Appl Physiol*. 76(4):1675-81.
27. Sahlin K & Henriksson J (1984). Buffer capacity and lactate accumulation in skeletal muscle of trained and untrained men. *Acta Physiol Scand*. 122(3):331-9
28. Saltin B & Essen B (1971). Muscle glycogen, lactate, ATP, and CP in intermittent exercise. In: *Muscle Metabolism During Exercise*, Pernow and Saltin (Eds.). New York: Plenum Publishing; 419-424
29. Staron RS, Karapondo DL, Kraemer WJ, Fry AC, Gordon SE, Falkel JE, Hagerman FC & Hikida RS (1994). Skeletal muscle adaptations during early phase of heavy-resistance training in men and women. *J Appl Physiol*. 76(3):1247-55
30. Thorstensson A, Sjödin B & Karlsson J (1975). Enzyme activities and muscle strength after "sprint training" in man. *Acta Physiol Scand*. 94(3):313-8.
31. Wilson GJ, Newton RU, Murphy AJ, Humphries BJ. The optimal training load for the development of dynamic athletic performance. *Med Sci Sports Exerc* 1993; 25(11): 1279-1286
32. Vøllestad NK, Sejersted I & Saugen E (1997). Mechanical behavior of skeletal muscle during intermittent voluntary isometric contractions in humans. *J Appl Physiol*. 83(5):1557-65.