

LACTATO: DE INDESEABLE A VALIOSO METABOLITO EL PAPEL DE LA PRODUCCIÓN DE LACTATO EN LA REGULACIÓN DE LA EXCITABILIDAD DURANTE ALTAS DEMANDAS DE POTENCIA EN LAS FIBRAS MUSCULARES

LACTATE: FROM UNDESIRABLE TO VALUABLE METABOLITE THE ROLE OF LACTATE PRODUCTION IN THE REGULATION OF THE EXCITABILITY DURING HIGH POWER REQUIREMENT IN MUSCLE FIBRES

PREÁMBULO

Corría el otoño de 1992 cuando por primera vez me atreví a exponer en público mi concepción del papel del lactato en el metabolismo muscular, algo que yo había venido configurando desde principio de 1986 a partir de los trabajos propios realizados con ergometrías a deportistas y experimentos con neuronas en el sistema nervioso central. Los únicos que atendieron y entendieron algo del meollo de esa conferencia fueron cardiólogos que, por aquellas fechas, ya tenían algunos datos de que la acumulación de lactato y el nivel de acidosis no iban parejos en problemas de isquemia cardiaca. El resto de la audiencia, interpreto yo, me miraba con escepticismo o desaprobación por lo anatemizante del asunto para la fisiología del deporte de aquellos tiempos. Curiosamente, no hubo manifestaciones cuestionando la hipótesis expuesta por mí.

Otras muchas veces he mostrado en público cómo el origen del manoseado asunto del “umbral de lactato” era el sistema nervioso central y no la hipoxia. Otro aspecto anatemizante sobre los conceptos al uso en fisiología del deporte. Finalmente en el 2002 me atreví a publicar lo concerniente al papel del sistema nervioso y del lactato en algunos aspectos de la fisiología

muscular (González Badillo y Ribas Serna, 2002)¹. La realidad es que en este como en otros aspectos del entendimiento e interpretación de los resultados en ciencia hay inercia (gregarismo), intereses de política científica e intereses de política económica, cuando no orgullo, falta de humildad y falta de autocritica. En descarga, aunque no justificación de lo anterior, valga la corriente mundial de la necesidad de publicar para poder subsistir en el ámbito de la investigación científica. Justamente, las prisas por publicar actuales van en contra del tiempo para reflexionar, cada vez más necesario. Lo cual lleva también a otro problema propio de la producción científica internacional que es la producción de “ruido” o publicaciones que más que aportar visiones críticas o hipótesis novedosas, lo que hacen es introducir pequeñas modificaciones sobre el criterio genérico que terminan por aumentar la confusión.

Es mi intención ahora el mostrar aquí mi concepción actual del papel del lactato en la fisiología muscular, ahora con soporte científico relevante, tal y como lo vengo exponiendo en reuniones científicas y a mis alumnos de distintos bagajes. De este modo, intentaré redimir al lactato de tantos “crímenes” metabólicos que tan injustamente le han sido adjudicados.

Juan Ribas

Departamento
de Fisiología
Médica y Biofísica.
Facultad de
medicina
Universidad
de Sevilla

CORRESPONDENCIA:

Juan Ribas
E-mail: jribas@us.es

Aceptado: 14.04.2010 / Revisión nº 222

BREVE HISTORIA DEL LACTATO EN LA FISIOLÓGÍA

Orígenes

En principio su propio nombre tiene que ver con las circunstancias de su descubrimiento. Hacia el final del siglo XVIII, Scheele en 1780² encontró un ácido en muestras de leche agria, de la que lo aisló con otras impurezas. Debido a sus impurezas, al principio se pensó que era ácido acético impuro mezclado con la leche, sin embargo se pudo comprobar que en realidad era el ácido 2-hidroxipropanoico, de modo que se le siguió llamando “láctico” por su aparición en la leche agria. Posteriormente, a principios del siglo XIX, apareció “láctico” en la leche fresca, en la carne, en la sangre y en una amplia variedad de tejidos orgánicos y en distintos procesos de fermentación. En 1869² ya se determinó la fórmula química y se pudo aislar en muestras puras. Desde entonces se conoce la existencia de dos isómeros ópticos la forma D y la L, de las cuales la última es la que tiene actividad biológica en la mayoría de los tejidos. Al principio la investigación química sobre el ácido láctico no fue fácil debido a su tendencia a formar ésteres que daban lugar a estructuras de polilactato o de ácido lactoláctico, que en determinadas condiciones, pero nunca en las condiciones tisulares habituales, podía llegar a cristalizar. Por el contrario, soluciones de más de 10.000 mM de ácido láctico puro se

mantienen en el laboratorio sin cristalización alguna. Resulta llamativo que por esa referencia a la posibilidad de cristalización de formas intermoleculares, sin más comprobación y por pura especulación, fuese “la formación de cristales de ácido láctico” una de las causas propuesta y más extendida de las agujetas musculares durante décadas. Algo absolutamente insostenible actualmente. No fue hasta 1960, cuando se pudo trabajar con muestras purificadas aceptables de ácido láctico. Sus características estructurales y físicas se representan en la Figura 1.

Además de su extenso papel en la investigación bioquímica y fisiológica durante la mayor parte del siglo XX, el ácido láctico ha tenido múltiples usos en la industria alimentaria que no procede detallar aquí.

“Acidosis láctica”

La aparición y aceptación generalizada del término “acidosis láctica” procede de una interpretación libre (y no muy afortunada) de los magníficos trabajos sobre la energética de los carbohidratos realizados por Meyerhoff, que demostró la producción de ácido láctico como un producto colateral de la glucólisis en ausencia de oxígeno; y Hill, que cuantificó la energía liberada durante la conversión de glucosa a ácido láctico en condiciones de poca disponibilidad de oxígeno y, lo que es más importante, *cuando un músculo demandaba energía por encima de la que le podía suministrar la oxidación de substratos en presencia de oxígeno* (léase la fosforilación oxidativa mitocondrial), la conversión de glucosa a láctico podía suministrar una alta cantidad de energía en poco tiempo para la contracción muscular. Por estos trabajos, los dos, O. Meyerhoff y A.V. Hill recibieron conjuntamente el premio Nobel en 1922^{3,4}. Conviene recordar aquí que A.V. Hill nunca propuso la condición de hipoxia como una causa para la producción de lactato, simplemente constató que el músculo se podía contraer y desarrollar gran cantidad de potencia sin la necesidad de oxígeno.

La estrecha relación entre la concentración de lactato y el pH en sangre fue determinada en-

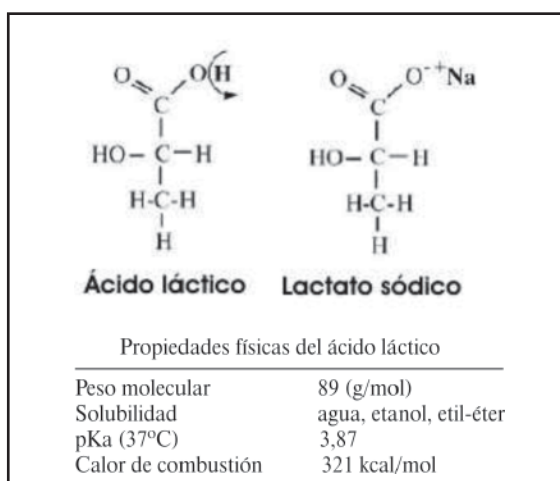


FIGURA 1.

tre otros por Margaria y colaboradores⁵ y por Sahlin y colaboradores⁶ y ha sido interpretada como una relación causa-efecto (Figura 2). No obstante, correlación no necesariamente implica una relación causa-efecto. En este sentido Robergs y colaboradores⁷ postularon en 2004 que la creencia de que la producción de lactato liberaba un protón y causaba acidosis era un constructo (una interpretación de un hecho no probado que erróneamente lleva a que sea aceptado como un hecho). A su favor están las aportaciones de fisiólogos cardiacos que en la década de los 80 cuestionaron la creencia común de que la producción de ácido láctico fuera la fuente de protones durante la isquemia cardiaca⁸⁻¹¹. De hecho la fuente principal de protones es la hidrólisis de ATP acoplada a la glucólisis. Además Taffaletti¹² propuso que la producción de lactato, en realidad, consume protones y que de cualquier modo el aumento en la producción de lactato está separado de la liberación de protones y de la acidosis. Más interesante aún es el efecto de la reacción catalizada por la lactato deshidrogenada (LDH), en la cual por cada molécula de piruvato que pasa a lactato se consume un protón, actuando por tanto como buffer de la acidosis intracelular^{7,9,13-15}. Más adelante veremos otras importantes acciones de la LDH.

Lactatemia y consumo de oxígeno

La relación entre la concentración de lactato en sangre y el consumo de oxígeno está fuera de toda duda (para una revisión más extensa del tema véase Hale T. 2008¹⁶). El grupo de Wasserman¹⁷⁻²⁰ demostró la relación del incremento abrupto de la lactatemia cuando se sobrepasaba un determinado nivel de consumo de oxígeno (“*umbral anaeróbico*”), algunas de sus apreciaciones más robustas se exponen en la Tabla 1. De la mano de Wasserman y su grupo nos

quedaron algunas concepciones, a mi juicio, erróneas (debería decir: “generadoras de confusión”), no por los datos experimentales sino por la interpretación de éstos, por las que el lactato era considerado un producto de desecho debido a la hipoxia, el causante del exceso de consumo de oxígeno en el post-ejercicio inmediato, uno de los causantes principales de la fatiga muscular y un agente clave en el daño tisular inducido por la acidosis.

De aquellos primeros trabajos, más la pléyade que le siguieron, nos quedó esa concepción negativa del papel del lactato que casi 60 años después sigue predominando en los círculos menos formados y que personalmente pretendo redimir desde un punto de vista fisiológico e integrativo.

Sin embargo, otros trabajos, anteriores y posteriores a las contribuciones de Wasserman, han demostrado la falta de relación del aumento de concentración de lactato en sangre con la concentración de oxígeno²¹⁻²⁹ cuyos principales argumentos se muestran en la Tabla 2. Para una revisión más extensa véase Brooks, *et al.*³⁰ y Gladden^{31,32}.

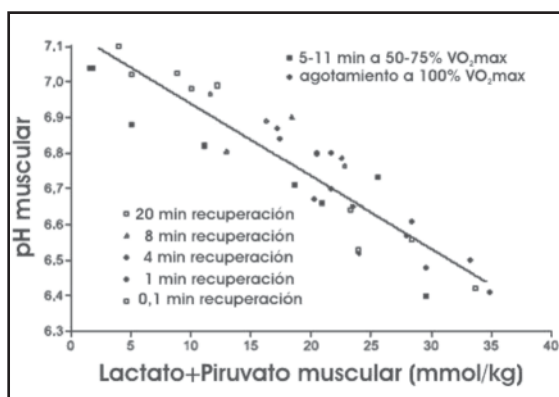


FIGURA 2. Relación entre la suma de lactato y piruvato muscular con la caída del pH en el músculo. (Modificado de Sahlin³⁷)

Cambios fisiológicos que acompañan al aumento de lactatemia durante el ejercicio

- Acidosis metabólica
- Aumento de la ventilación pulmonar
- Cambio en la cinética del consumo de oxígeno
- Disminución de la resistencia al ejercicio

TABLA 1.

Aumento de la acumulación de lactato en ausencia de limitación de oxígeno

- La producción de lactato depende de la competición por piruvato y NADH entre la LDH, las lanzaderas de NADH (malato-aspartato y glicerol-fosfato) y el transportador MCT (para piruvato).
- La alta actividad de la LDH y la constante de equilibrio de la reacción piruvato-lactato garantiza el aumento de producción de lactato cuando aumenta el ritmo de la glucólisis.
- La fosforilasa se activa con el aumento de trabajo muscular, probablemente debido al $\uparrow [Ca^{2+}]$, $\uparrow [Pi]$ y $\uparrow [AMP]$; esto aumenta la velocidad de la glucólisis y la producción de lactato.
- Cuando aumenta la intensidad de ejercicio, $\downarrow [ATP]$, $\uparrow [ADP]$, $\uparrow [Pi]$ y $\uparrow [NH_3]$ todo ello aumenta la actividad de la fosfofructokinasa (PFK) y la producción de lactato.
- El $\uparrow [Ca^{2+}]$, puede actuar como un realimentador positivo y activar la fosforilasa y la PFK independientemente de la realimentación por otros metabolitos.
- El aumento de la actividad simpato-adrenal con la intensidad del ejercicio, también activa la fosforilasa y, por tanto, la glucólisis y la producción de lactato.
- El aumento de la actividad simpato-adrenal con la intensidad del ejercicio, también produce vasoconstricción en hígado, riñones y músculos inactivos disminuyendo el reciclado de lactato.
- El aumento de catecolaminas al comienzo de un ejercicio intenso aumenta la velocidad de trabajo de las bombas $Na^+ - K^+$, las cuales parecen estar unidas a enzimas glucolíticas (LDH) y todo ello aumenta la producción de lactato.
- Con intensidades de ejercicio superiores al 60% VO_{2max} , la disponibilidad de oxígeno intramuscular cae y la fosforilación oxidativa, que es dependiente de oxígeno, pero no limitada por deficiencia de oxígeno, cae y requiere de aumento del cociente $[ADP][Pi]/[ATP]$ como estímulo para acelerar la producción de ATP, este mismo estímulo acelera la glucólisis y aumenta la producción de lactato.
- El reclutamiento de fibras rápidas aumenta la producción de lactato.
- Cuando la producción de lactato excede al reciclado, aumenta la lactatemia.

TABLA 2.

EL LACTATO Y EL METABOLISMO CELULAR

A pesar de las recientes controversias respecto a la bioquímica de la producción de lactato y su grado de contribución a la acidosis celular durante el ejercicio intenso^{7,31-33}, yo creo que merece la pena centrarse en los aspectos originales que determinan la puesta en marcha de la producción acelerada de lactato. Principalmente, *la relación entre la producción de lactato y la demanda de potencia en la célula muscular*. La relación del consumo de oxígeno con la potencia sostenible es bien conocida y está extensamente tratada en la literatura, por lo tanto no la trataremos aquí de manera específica, al igual que la relación de la lactatemia con el consumo de oxígeno.

Antes de proseguir, parece conveniente puntualizar algunos aspectos del metabolismo celular que pueden ayudar a aclarar por qué la lactatemia se comporta así durante el ejercicio intenso.

- El metabolismo de sustratos por *vía mitocondrial* es más económico que por *vía no mitocondrial* (dejemos aparte, por el momento, la cuestión del oxígeno). De hecho, una molécula de glucosa puede llegar a dar hasta 36 moléculas de ATP por la vía mitocondrial. Aún más económica resulta la metabolización de una molécula de lípido, que puede llegar a dar hasta 416 moléculas de ATP, cuando se utiliza la maquinaria mitocondrial.

Ciertamente la glucólisis “anaeróbica”, no mitocondrial, produce dos ATP netos por molécula de glucosa. Por esta razón se infiere que la glucólisis no mitocondrial, la que se realiza en el sarcoplasma, es poco económica cuando se compara con la vía mitocondrial. Sin embargo, ateniéndose al verdadero concepto de eficiencia económica y siguiendo a Brooks³³, sí se tiene en cuenta que el intercambio de energía en el proceso de degradación de la molécula de glucosa a la molécula de lactato es de $-47 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$; y si cada molécula de ATP forma-

da consume unas $-11 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$; entonces la eficiencia es $2(-11)/-47=46,8$. Esta eficiencia no está tan lejos del 65% que se le asume a la glucólisis oxidativa o mitocondrial. En este mismo sentido, el grupo de Bangsbo³⁵ ha podido medir la eficiencia de la resíntesis de ATP en sujetos humanos durante ejercicios dinámicos intensos, siendo ésta más alta cuando se utiliza la vía “anaeróbica” o no mitocondrial.

– No obstante, las cosas cambian cuando se miden *respecto al tiempo*. Es decir, cuando se trata de medir la velocidad de producción de ATP. Aquí la mayor velocidad de producción se da cuando se metabolizan los sustratos, en este caso glucosa y glucógeno fundamentalmente, por vía metabólica sarcoplásmica. La conocida como vía “anaeróbica” de la glucólisis. En este caso la velocidad de producción es del orden de $1,3 \text{ mmol de ATP por segundo}$; mientras que por la vía mitocondrial, en condiciones de reposo, se producirían aproximadamente $0,3 \text{ mmol de ATP por segundo}$ (Tabla 3). Por tanto, la vía “anaeróbica” de la glucólisis es una 4 veces más rápida o potente que la vía mitocondrial, también conocida como vía glucolítica “aeróbica”. Como suele ocurrir en la naturaleza, la velocidad es cara, poco económica, y eso es lo que le ocurre a la célula muscular cuando metaboliza sustrato u obtiene energía a través de la glucólisis no mitocondrial, que se hace menos económica^{36,37}.

– Cuando se analiza el papel del *oxígeno* en el funcionamiento mitocondrial se observa que, en realidad, interviene al final de la cadena de óxido-reducción, acoplado los electrones libres a moléculas de hidrógeno o conformando moléculas de CO_2 con restos carboxilos procedentes del metabolismo mitocondrial; de aquí procede el agua y el CO_2 generados por el metabolismo mitocondrial, moléculas muy manejables, de fácil intercambio por los sistemas de regulación del medio intracelular y extracelular, y con el medio ambiente. Es decir, el oxígeno es necesario al final del proceso de fosforilación oxidativa, pero no parece que su presencia actúe sobre enzimas

críticas para la velocidad de trabajo de la maquinaria mitocondrial.

– Distinto es el caso de los *hidrogeniones*. La mitocondria se comporta como un sumidero de hidrogeniones. Éstos son producidos por numerosos procesos metabólicos en el citoplasma y tras su entrada en la mitocondria actúan como aceptores de electrones, hasta que finalmente son incorporados a moléculas de agua, anulando parcialmente su efecto sobre el equilibrio ácido-base celular en condiciones normales. A diferencia del oxígeno, mientras mayor es la corriente de entrada de hidrogeniones a la mitocondria mayor es la velocidad de trabajo de la fosforilación oxidativa, o sea, la producción de ATP, en la que intervienen directamente³⁴.

En resumen, en condiciones normales la disponibilidad de oxígeno en la célula es mayor que el oxígeno que se necesita como neutralizador de hidrogeniones al final de la cadena de fosforilación oxidativa en la mitocondria; sin embargo, la velocidad de trabajo de la cadena oxidativa parece verse aumentada conforme aumenta la entrada de hidrogeniones a la mitocondria. De esta forma los *hidrogeniones* pueden actuar como *cebadores del ritmo de trabajo de la mitocondria* que naturalmente tiene un límite, y una vez sobrepasado, ocasionara una acumulación de hidrogeniones en el citoplasma, alterando el equilibrio ácido-base y acidificando el medio intracelular³⁴.

El entendimiento de los procesos fisiológicos se complica cuando se introduce el factor tiempo, en cuyo caso hay que recurrir a ecuaciones diferen-

Velocidad de regeneración de ATP en el músculo esquelético	
Vía energética	Tasa máxima de regeneración de ATP mmol ATP/s/kg
	Sarcoplásmica
Fosfágenos	2,4
Glucolítica	1,3
	Mitocondrial
Oxidación CHO	0,7
Oxidación grasas	0,3

TABLA 3. Diferencias en la velocidad de regeneración de ATP en las vías metabólicas mitocondriales y no mitocondriales (sarcoplásmicas) en el caso de las células musculares. (Modificado de Sahlin³⁷)

ciales. Las células en nuestro organismo manejan el tiempo mediante referencias a osciladores de distintos tipos, pero todas están capacitadas para manejar funciones derivadas e integrales. La derivada es una función que tiene la capacidad de predecir el futuro para una reacción o evento fisiológico y las células las utilizan para adelantarse a lo que se les viene encima unos minutos más tarde. Por ejemplo la derivada del trabajo es una magnitud que conocemos como potencia.

Por otro lado, es bien conocido que el trabajo se puede medir en las mismas unidades que la energía, de ahí la relación entre la disponibilidad de energía lista para el consumo y la capacidad de realizar trabajo de la célula. Así la derivada del consumo energético y la derivada del trabajo suelen llevar caminos paralelos. A nadie se le escapa que el aumento del consumo de oxígeno durante el ejercicio está íntimamente ligado al consumo energético necesario para realizar el trabajo, aunque no explique el total de energía consumido. En realidad es el ritmo al que hay que realizar el trabajo (la derivada del trabajo) el que condiciona la magnitud del consumo de oxígeno. Es decir, la potencia requerida por el sistema es uno de los componentes fundamentales para recabar un consumo de oxígeno determinado. Para ser más precisos habría que añadir excepto al principio y al final del ejercicio, siempre que esté sea de una intensidad por encima de un nivel crítico y de carácter progresivo. Por ejemplo, uno se puede llevar horas trabajando a baja intensidad, por debajo del nivel crítico, sin que

aumente el consumo de oxígeno medido durante los primeros minutos; por el contrario cuando la demanda de trabajo es supra-crítica (supra-umbral) los valores de consumo de oxígeno suben exponencialmente hasta estabilizarse a un nivel equivalente a la intensidad de trabajo sostenible.

En casos de comienzos bruscos de ejercicios con grandes demandas de trabajo en la unidad de tiempo, es decir, grandes demandas de potencia, el aumento del consumo de oxígeno es más lento e insuficiente para proporcionar la energía necesaria para la alta demanda de potencia, dando lugar a lo que se ha conocido como déficit de oxígeno. En mi concepción de la situación metabólica, no hay tal "déficit" de oxígeno. En realidad el oxígeno disponible en el territorio muscular suele ser suficiente para abastecer a la maquinaria mitocondrial. Lo que hay es un *cambio de estrategia en el abastecimiento energético por parte de la célula muscular, necesario para adecuarse a la demanda de potencia*. En resumen, los aumentos en los consumos de oxígeno suelen estar bien relacionados con la potencia sostenible del ejercicio a realizar, y mal relacionados con la demanda inicial de potencia, al comienzo del ejercicio, especialmente si éste es de comienzo brusco e intenso. Un último aspecto que conviene precisar es que mientras más alta y brusca es la demanda de potencia al comienzo del ejercicio, más inclinada es la pendiente del aumento del consumo de oxígeno (o sea, la derivada del consumo). Otro aspecto funcional interesante es que los ejercicios que demandan alta potencia en su ejecución, requieren de alta velocidad de contracciones y relajaciones, lo que provoca otro reto a los sistemas de regulación celular, esta vez afectando a los gradientes electrolíticos y a la excitabilidad eléctrica de la célula muscular. Algo que vamos a abordar un poco más adelante.

Razones no anaeróbicas para la rápida producción de lactato

El músculo esquelético es un importante productor de lactato y de hidrogeniones en condiciones de ejercicio intenso (Figura 3). El músculo esquelético es conocido también como volun-

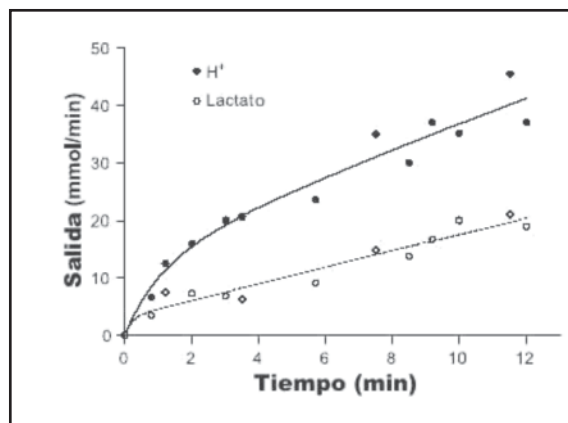


FIGURA 3. Flujo de salida de lactato e hidrogeniones en función del tiempo de trabajo intenso en un músculo (Adaptado de Robergs, et al.)

tario, justamente porque la gran mayoría de los músculos esqueléticos se pueden contraer voluntariamente. Como ejemplo especial se puede recurrir al diafragma, éste durante el sueño se contrae involuntariamente, pero cuando estamos despiertos lo activamos voluntariamente para hablar, soplar o defecar. En efecto, son las órdenes procedentes del sistema nervioso central las que van a producir la activación muscular. Esta activación tiene lugar cuando una lluvia de neurotransmisores, procedentes de la terminal sináptica de los axones motores, llegan a la placa motora (parte post-sináptica de la unión o sinápsis neuromuscular) y produce la despolarización de la célula muscular. Esta despolarización tendrá una magnitud que dependerá básicamente de la cuantía de moléculas neurotransmisoras que alcancen la placa motora y del tiempo que dure. Cuando la despolarización sobrepasa un valor crítico (umbral para la producción de un potencial de acción) se genera un potencial de acción en la membrana de la célula muscular. Este potencial viaja por todo el sarcolema, se introduce por los túbulos en T (aproximadamente el 80% de la superficie de la célula muscular corresponde a los túbulos en T) y termina activando canales catiónicos y desencadenando la apertura de canales de calcio con receptor de ryanodina de la membrana del retículo sarcoplásmico (donde se almacena el calcio iónico intracelular). Esta apertura da lugar a la salida de cierta cantidad de calcio iónico al sarcoplasma. La presencia de calcio iónico en el sarcoplasma da lugar a la activación de la maquinaria contráctil en el músculo; de manera que cuanto mayor es el aumento de concentración de calcio en el sarcoplasma, mayor será la activación muscular. Después veremos la relación del calcio iónico intracelular con el lactato.

Cuando la excitación procedente de nuestro sistema nervioso central llega a la célula muscular, su intensidad y duración se traduce en incrementos proporcionales de la concentración de calcio iónico en el sarcoplasma. Este calcio iónico es captado por proteínas intracelulares con afinidad para él, por ejemplo troponina C, calcineurina, calmodulina, y enzimas como la ATPasa cálcica o la fosforilasa b. Cuando el calcio se une a estas

proteínas se activan una serie de procesos de manera simultánea. Cuando se une a la troponina C, se pone en marcha la activación de la ATPasa miofibrilar necesaria para el desplazamiento de los puentes cruzados mediante la energía obtenida por la hidrólisis de ATP. Es decir la cantidad de ATP que va a consumir la célula muscular está predeterminada por la cantidad de calcio iónico que aparezca en el sarcoplasma tras la excitación neural. Por tanto, es la magnitud de la orden o excitación que proporciona el sistema nervioso la que determina la cantidad de ATP a consumir. El ATP a consumir puede proceder de los reservorios inmediatos, de la regeneración por la creatinquinasa, de la producción glucolítica y de la producción mitocondrial.

Por otro lado, la unión del calcio iónico a la fosforilasa b, inactiva; hace que pase a la isoforma b, activa, que es la que disocia moléculas de glucosa del glucógeno almacenado, proporcionando así sustrato a la glucólisis. Nótese, que es el mismo calcio iónico el que activa a la troponina C y a la fosforilasa b, por lo tanto la activación de ambas proteínas va a ir en paralelo.

También sabemos que la generación de moléculas de ATP por la mitocondria en condiciones de reposo es lenta, inferior a $0,3 \text{ mmol ATP} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{kg}^{-1}$, y que en caso de producirse un alto consumo de ATP en la sarcómera la mitocondria no podría abastecerlo adecuadamente, por lo que habría que recurrir a otros reservorios o fuentes de regeneración más rápidas.

Ante una alta demanda de potencia, la sarcómera consumiría más ATP en la unidad de tiempo que el que se le puede ir abasteciendo de las fuentes celulares; como consecuencia los productos de la hidrólisis de ATP se irían acumulando en el sarcoplasma a más velocidad que su consumo para la regeneración: Estos productos, ADP, AMP, Pi, no son inocuos en el citoplasma. Por ejemplo, la acumulación de cualquiera de ellos o de los tres, como el NH_4^+ , o H^+ , son buenos activadores de la fosfofructokinasa, una enzima clave en la velocidad de trabajo de la glucólisis. Sin embargo, experimentos *in vitro* en los que se mantenía artificialmente altas las concentraciones de ADP

y Pi, incluso en condiciones de hipoxia, no era suficiente para aumentar el ritmo de la glucólisis “anaeróbica”. Lo que sugiere que otros estímulos adicionales (por ej.: catecolaminas) son necesarios para acelerar la glucólisis en el sarcoplasma³⁸.

Como se puede observar, hasta ahora no ha habido ninguna intervención del oxígeno. De hecho los capilares sanguíneos siguen suministrando una cantidad más que suficiente para abastecer la vía de salida del metabolismo mitocondrial. Metabolismo mitocondrial que, dada su complejidad, le cuesta cambiar de ritmo de trabajo y hace que su producción de ATP, al menos de manera transitoria, sea insuficiente para abastecer el alto consumo demandado en la sarcómera. El consumo demandado ha sido determinado por la rápida inundación de calcio iónico en el sarcoplasma y no por la falta de oxígeno. Desafortunadamente este calcio iónico no parece tener ningún efecto positivo directo sobre el ritmo de trabajo regenerador de ATP en la mitocondria. No obstante, se sabe que la mitocondria es un sumidero de iones de calcio y no se conoce muy bien qué hace la mitocondria con ese calcio, pero bien podría contribuir a cambiar la SID (*strong ion difference*), una variable importante en el equilibrio ácido-base.

La situación visualizada por un “observador externo virtual” sería la siguiente. Ante una alta demanda de potencia a la célula muscular, el controlador, léase el sistema nervioso central, “sabe” que el abastecimiento mitocondrial de ATP es insuficiente y que los depósitos de ATP se agotarán rápidamente, dando lugar a una situación intracelular de inundación de productos derivados de la hidrólisis rápida de ATP por unidad de tiempo, esto es ADP, AMP, Pi, H⁺, y NH₄⁺. Pero también “sabe” que estos productos actuarán como aceleradores de la glucólisis sarcoplásmica (la conocida como glucólisis “anaeróbica”, por no ser necesaria la presencia de oxígeno para su realización, a lo cual se le puede añadir, ni falta que le hace); de modo que a la vez que se da la señal (presencia de altas concentraciones de calcio iónico en el sarcoplasma) para la gran activación y consumo de ATP sarcomérico, esta misma señal activa la salida rápida de moléculas de glucosa del almacén glu-

cogénico, mediante la activación de la fosforilasa *b*, asegurando así la provisión de sustrato para la vía glucolítica. Con ello se pone en marcha una vía rápida de regeneración de ATP, la glucólisis sarcoplásmica. La velocidad de generación de ATP no debe confundirse con la economía de producción; la velocidad de generación de ATP por glucólisis sarcoplásmica está alrededor de 1,3 mmol ATP•s⁻¹•kg⁻¹ de músculo hidratado, aproximadamente cuatro veces más rápida que la generación mitocondrial. Ciertamente, esta vía metabólica produce dos moléculas netas de ATP por molécula de glucosa hidrolizada, pero la velocidad de consumo es lo suficientemente rápida para abastecer 1,3 mmol ATP por kilo de músculo en un segundo.

Adicionalmente hay un mecanismo de enlace entre las ráfagas de potenciales de acción que se producen en la membrana de la célula muscular, como consecuencia de la estimulación nerviosa, y la aceleración de la glucólisis. En esencia el mecanismo consiste en lo siguiente: la rápida sucesión de potenciales de acción provoca un aumento de la concentración de iones de sodio (Na⁺) en el espacio intracelular y una acumulación de iones de potasio (K⁺) en el espacio extracelular, dos efectos que tiende a acelerar el ritmo de trabajo de la ATPasa Na⁺-K⁺. La bomba o ATPasa Na⁺-K⁺ consume rápidamente ATP del reservorio subsarcolémico, aumentando las concentraciones de ADP, AMP y Pi, entre otros metabolitos. Todos los metabolitos producto de la hidrólisis de ATP actúan como estímulos para acelerar la glucólisis y restituir las necesidades de ATP.

Además, cuando la velocidad de trabajo de esta vía es muy rápida, se acumula ácido pirúvico por insuficiencia de consumo por la mitocondria, lo que haría que se detuviese la glucólisis por falta de reducción y generación de nucleótidos (NAD⁺, principalmente) necesarios para el conjunto de reacciones glucolíticas. Esta situación se solventa con la conversión de pirúvico a ácido láctico. El ácido láctico (cuyo pK es 3,8) está casi totalmente dissociado a pH intracelular normal (entre 6,9 y 7,1), lo que proporciona los hidrogeniones necesarios para la reducción de nucleótidos. El

exceso de hidrogeniones pasa a la mitocondria donde actúa como cebador de la tasa de trabajo mitocondrial, acelerando la producción de ATP. Cuando el exceso de hidrogeniones es mayor que los consumos de la propia glucólisis y de la mitocondria, se almacena en el sarcoplasma induciendo la acidosis intracelular. Los hidrogeniones intracelulares en exceso se transportan al exterior celular mediante algunos transportadores de membrana, de los que el más potente parece ser el intercambiador $\text{Na}^+\text{-H}^+$, que extrae hidrogeniones intercambiándolos con los iones de sodio, cuya fuerza de gradiente favorable aprovecha para no tener que consumir energía.

Resumiendo, una señal de alta excitación proporcionada por el sistema nervioso central, provoca una liberación masiva de iones de calcio en el sarcoplasma, además de un cambio en los gradientes intra-extracelulares de Na^+ y K^+ que actúan como aceleradores de las bombas $\text{Na}^+\text{-K}^+$, acrecentando el consumo de ATP. Este aumento de la concentración de calcio provoca dos efectos iniciales en paralelo: la unión a un alto número de moléculas de troponina C y el subsiguiente consumo masivo de ATP, y la activación de la fosforilasa b, necesaria para un rápido abastecimiento de sustrato (glucosa) a la vía glucolítica. Posteriormente, los productos de la hidrólisis masiva de ATP, realimentan la aceleración de la vía glucolítica mediante su acción sobre enzimas clave como la fosfofructokinasa. Todo ello lleva a una acumulación de piruvato en corto tiempo, cuya solución, su transformación en lactato, conlleva dos efectos beneficiosos en el metabolismo intracelular: permitir la regeneración de nucleótidos necesarios para la glucólisis y cebar a la mitocondria para que trabaje más rápido (Figura 4).

Como se puede apreciar en todo este entramado no aparece el oxígeno como agente metabólico de importancia. Por lo tanto las razones para que una célula en condiciones fisiológicas produzca lactato no tienen nada que ver con la presencia o no de oxígeno, por lo cual no se le debería de llamar “anaeróbica” a la hidrólisis de glucosa sarcoplásmica, a menos que se quiera remarcar con ello que no hace falta oxígeno para su funcionamiento. Lamentablemente, el criterio al uso

es que la glucólisis se le denomina “anaeróbica” porque se pone en marcha cuando no hay suficiente oxígeno para abastecer a la mitocondria. Nada más lejos de la realidad en condiciones fisiológicas. Al contrario, la puesta en marcha de la glucólisis sarcoplásmica contribuye a que la mitocondria trabaje más rápido y consuma más oxígeno. De hecho, cuanto mayor es la demanda de potencia en el músculo, mayor es la pendiente de subida del consumo de oxígeno, lo que concuerda con el efecto cebador de los hidrogeniones procedentes de la glucólisis, proporcional a la demanda de potencia y, por ende, al consumo de ATP en la unidad de tiempo.

Ciertamente, en algunas circunstancias patológicas, por ejemplo en caso de hipoxia o isquemia tisular, las células hipóxicas utilizarán todas las vías metabólicas a su alcance, incluyendo la glucólisis citoplásmica, aunque ello termine acidificando la célula o con su propia muerte. Es aquí, en estas circunstancias, cuando el lactato se

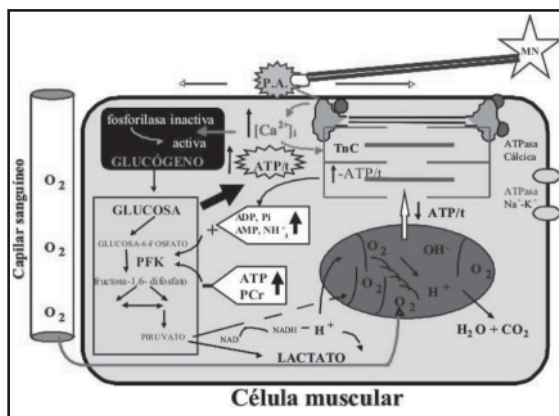


FIGURA 5. Esquema general del encendido de la vía glucolítica “anaeróbica” debido a los cambios en la concentración de calcio iónico intracelular y no por motivos hipóxicos. Ante la llegada de una fuerte excitación en forma de potenciales de acción, las mitocondrias en la célula muscular esquelética estaría produciendo ATP a un ritmo bajo. Ante el aumento rápido de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, por un lado, se encienden los motores sarcoméricos y el trabajo de la ATPasa miofibrilar en los puentes cruzados consume mucho ATP en la unidad de tiempo; por otro lado, la propia excitación provoca aumento de Na^+ en el espacio intracelular y de K^+ en el espacio extracelular, lo que hace trabajar, y consumir más ATP, a las bombas de sodio que en esta situación suelen estar siendo estimuladas por las catecolaminas. Además el mismo aumento de $[\text{Ca}^{2+}]_i$ activa proporcionalmente a la fosforilasa del glucógeno. Toda esta situación lleva a aumentos de ADP, AMP, Pi, etc. que aceleran el trabajo de la vía glucolítica actuando principalmente sobre la fosfofructokinasa (PFK) en el sarcoplasma. Aunque la disponibilidad de oxígeno es buena, el bajo ritmo de trabajo de las mitocondrias hace insuficiente la degradación de piruvato por vía mitocondrial, de modo que éste se acumula. Esto detendría la glucólisis si no fuera por la transformación en lactato por la M-LDH. La glucólisis acelerada satisface la alta demanda de ATP en la unidad de tiempo, genera lactato que garantiza la excitabilidad de la membrana y mantiene la fuente de nucleótidos para la glucólisis; además genera hidrogeniones que ceban a las mitocondrias para que aumenten su ritmo de trabajo

podría considerar un metabolito “anaeróbico”; pero como veremos más tarde, incluso en estas circunstancias parece actuar como un protector celular de la hipoxia.

Otro de los aspectos negativos achacados a las vías “anaeróbicas” procede de informaciones distorsionadas. Por ejemplo y por desgracia, la mala interpretación de los experimentos de Pasteur sobre el metabolismo de bacterias anaeróbicas ha llevado a creencias lejanas a las observaciones originales; las cuales subrayaban la gran eficiencia de algunas bacterias anaeróbicas para obtener ATP a partir de la glucosa, sin que hubiera oxígeno en el medio, de ahí su apellido “anaeróbica”.

LACTATO EXTRACELULAR Y COMPAÑÍA; SU PAPEL BENEFICIOSO DURANTE EL EJERCICIO INTENSO

Otra generalidad de los sistemas de regulación en nuestro organismo es que los productos finales de numerosas reacciones son aprovechados al máximo como reguladores de otros procesos. Por esta razón conviene poner en escena la confluencia de algunas variables que cambian de manera manifiesta durante el ejercicio. Entre ellas nos vamos a centrar en la adrenalina y noradrenalina (catecolaminas), la concentración de potasio en el medio extracelular y la concentración de lactato en el medio extracelular.

Las catecolaminas aumentan su presencia en sangre momentos antes de empezar un ejercicio y durante el mismo. Estas hormonas tienen múltiples efectos sobre distintos órganos y tejidos. Por ejemplo, aumentan la frecuencia y la fuerza de contracción del corazón, reducen la resistencia periférica a la circulación de la sangre, con lo que contribuye a elevar el flujo sanguíneo en el sistema vascular baja los umbrales de excitabilidad nerviosa, aumenta la presencia de glucosa en sangre, favorece los procesos de coagulación y aumenta la activación de receptores adrenérgicos en el músculo esquelético, lo que contribuye a aumentar la fuerza de contracción. Además, las

catecolaminas activan el trabajo de las bombas $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ayudando así a la recaptación de potasio por las propias células musculares y a la restitución de los gradientes iónicos a ambos lados del sarcolema. Por el contrario, su efecto sobre la excitabilidad cardiaca provoca alteraciones anómalas del ritmo cardiaco (arritmias).

El papel del potasio en el medio extracelular merece atención aparte. Aunque parezca fuera de contexto, es necesario para entender la conexión de la glucólisis “anaeróbica” con la excitabilidad de la membrana plasmática de la célula muscular.

La excitabilidad necesaria para la fuerza muscular y el potasio

Los efectos de los gradientes iónicos sobre el potencial de membrana (V_m) de la célula y, por ende, de la capacidad de respuesta excitadora (producción de potenciales de acción) de ésta son bien conocidos. Dada la permeabilidad de la membrana para los iones de potasio (K^+), éste está sujeto a las fuerzas químicas, representadas por los gradientes de concentración a ambos lados de la membrana, y a las fuerzas eléctricas, representadas por los campos o gradientes eléctricos a ambos lados de la membrana plasmática. Ambos gradientes, químicos y eléctricos, constituyen las fuerzas de empuje que llevan al K^+ hacia el exterior o el interior de la célula. En condiciones de reposo normales, la concentración de K^+ en el líquido extracelular ($[\text{K}^+]_e$) está entre 4 y 5 mmol/L; mientras que en el interior celular ($[\text{K}^+]_i$) es del orden de 140 mmol/L, manteniéndose en equilibrio debido a la tendencia a salir potasio del interior al exterior (gradiente químico) y, en sentido contrario, la tendencia a entrar en la célula por la atracción del potencial negativo en el interior celular (gradiente eléctrico). De modo que cuando aumenta ligeramente la $[\text{K}^+]_e$, los iones de potasio permean con relativa facilidad la membrana celular y tienden a penetrar en el interior de la célula, esto hace que la diferencia de potencial a ambos lados de la membrana cambie y se haga menos negativa en el interior de la célula, lo que se conoce como despolarización del potencial de membrana. El aumento ligero del número de cargas eléctricas positivas en el espacio intracelular (naturalmente

sí el interior es negativo en condiciones de reposo, la entrada de cargas positivas lo hace menos negativo) hace más positivo el V_m . Sin embargo sí se aumenta considerablemente la $[K^+]_e$, la entrada de cargas positivas es capaz de producir una despolarización supra-umbral y generar así un potencial de acción. Es así como se producen contracturas musculares (contracción mantenida sin relajación rápida) por aumento de la $[K^+]_e$.

No obstante, el K^+ tiene otra función importante que es devolver el V_m a sus valores de reposo después de la gran despolarización provocada por la inundación de iones de sodio que se produce durante el potencial de acción, tras superar el umbral crítico de despolarización. El sodio que en condiciones de reposo tiene muy baja permeabilidad a través de la membrana plasmática, cuando se supera el umbral crítico, encuentra un gran número de proteínas canales abiertas y es empujado por las fuerzas químicas y eléctricas hacia el interior de la célula, en esto consiste la excitación que es la señal electroquímica para poner en marcha una pléyade de respuestas celulares en formas de reacciones químicas y mecánicas, como es el caso de la contracción muscular. Esta señal tiene una amplitud de 0,1 voltio aproximadamente y una duración de 1 a 2 milisegundos; pero para que se pueda producir otra señal excitadora unos milisegundos después es mandatario que el V_m vuelva a los valores de reposo. De esta tarea se encargan los iones de K^+ que cuando el interior de la célula se vuelve positivo durante el potencial de acción (señal excitadora) es empujado por gradiente de concentración y por gradiente eléctrico desde el interior de la célula al exterior. Este movimiento de K^+ de dentro a fuera es posible por la relativamente alta permeabilidad de la membrana para este ión que es aumentada por el propio proceso de despolarización. Como se puede entrever la salida de K^+ reduce el número de cargas positiva en el interior celular y restituye el V_m a valores negativos, típicos del estado de reposo, y condición necesaria para que se pueda producir una nueva excitación o potencial de acción.

Es fácil intuir que si no hay salida de iones de K^+ , el potencial de membrana no se negativiza (re-

lariza) de nuevo y no es posible otra excitación. Además cuando los canales de sodio se abren tras la superación del umbral crítico de despolarización, ellos solos pasan de una configuración de “abiertos” a “inactivados” en un corto tiempo, una condición que impide el paso de más iones de sodio, aunque la membrana siga despolarizada; esta condición de inactivación permanecerá así mientras que la célula esté despolarizada y los canales de sodio no volverán a la condición de cerrados hasta que no se vuelva a una situación de potencial negativo en el interior de la célula. Los iones de sodio, una vez que entran en la célula, no pueden salir por los canales por los que entraron; de hacerlo lo tienen que hacer por medio de las bombas Na^+-K^+ que trabajan en contra del gradiente de concentración del sodio. Dado que la célula en esta situación no puede producir otro potencial de acción, es decir, no se puede volver a excitar, a esta situación se le conoce como “periodo refractario”. Es por esto que la salida de potasio tras el inicio del potencial de acción es totalmente imprescindible para que se repolarice (o negativice) el V_m y se puedan producir nuevos potenciales de acción.

En otras palabras si no hay salida de potasio, se podrá producir una primera señal excitadora pero ninguna más, al menos hasta que no se vuelva a un V_m negativo. Es oportuno recordar que la mayoría de las contracciones musculares que se producen durante el ejercicio físico requieren de ráfagas de potenciales de acción o señales excitadoras que hacen que se vayan sumando temporalmente las fuerzas de cada una de las excitaciones llegando a mantener el músculo en un estado de contracción sostenida, lo que se conoce como contracción tetánica. Por lo tanto resulta fundamental mantener un tránsito adecuado de iones a través de la membrana plasmática y un gradiente, tanto químico como eléctrico, entre el espacio intracelular y el extracelular que no impida los flujos de iones, especialmente el del ión potasio. El exceso de potasio en el medio extracelular del tejido muscular, debe ser eliminado por la circulación sanguínea y por las bombas sodio-potasio que lo introducen en la célula en contra de su gradiente de concentración. De otra forma, se producirán contracturas musculares e

incapacidad para relajar los músculos antes de someterlos a nuevas excitaciones; lo que suele ocurrir cuando se rozan los límites de la fatiga durante la realización de ejercicio intenso y duradero.

En resumen, el mayor depósito de potasio en nuestro organismo está dentro de las células musculares. Cuando las células musculares se activan de manera intensa y repetida, es requisito indispensable que salga K^+ de la célula, aumentando así la $[K^+]_e$ lo que pone en peligro la capacidad de repolarizarse de la propia célula muscular. Si la célula no se repolariza adecuadamente, la excitación reduce su amplitud y la célula muscular su fuerza (Figura 5).

FIGURA 5. Esquema en el que se representa la relación entre el potasio extracelular, la excitabilidad del sarcolema y el acoplamiento con la ATPasa Na^+-K^+ y la glucólisis. Se destaca el papel de las catecolaminas sobre la recaptación de K^+ y el efecto del entrenamiento sobre los receptores adrenérgicos y las bombas iónicas. Obsérvese que uno de los canales de potasio en el sarcolema es el canal de K^+ dependiente de ATP. Para más información, véase el texto

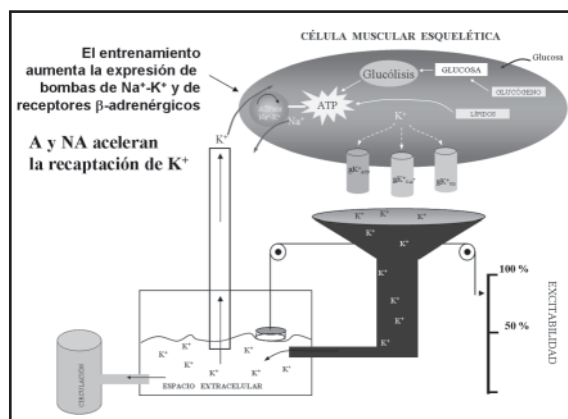
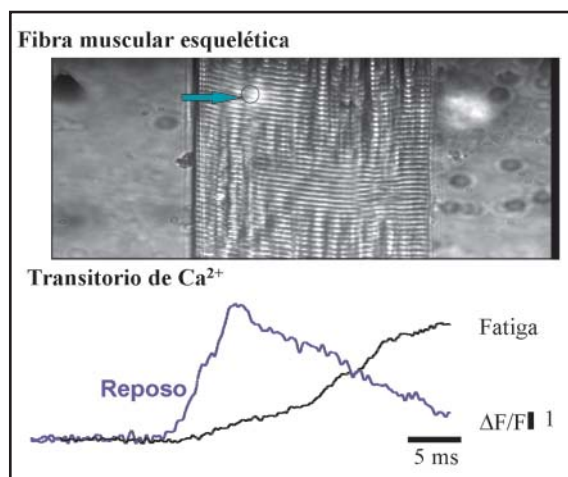


FIGURA 6. Cambio en el aumento de $[Ca^{2+}]_i$ en una fibra muscular esquelética aislada, tras la estimulación eléctrica fatigante, en la que aumenta el K^+ en el espacio extracelular de los túbulos en T. Obsérvese como el aumento transitorio de la concentración de calcio en condiciones de reposo es mucho más rápido que en fatiga. Los registros de la $[Ca^{2+}]_i$ se obtuvieron mediante la excitación luminosa del fluoróforo FLUO-3. (J. Ribas y A. Escobar datos inéditos)



Una de las razones de peso por la que la célula muscular débilmente excitada disminuye su fuerza es la disminución de la liberación de calcio del retículo sarcoplásmico. Esta liberación depende en gran parte de la excitación eléctrica de los túbulos en T, y como nosotros hemos demostrado en fibras aisladas (Figura 6), la disminución de la excitación en los túbulos en T por acumulación de potasio (y probable disminución de sodio) lleva a una menor y más lenta subida de la concentración de calcio iónico en el sarcoplasma de la célula muscular. Como es bien sabido, la magnitud de la fuerza de contracción es dependiente del aumento de la concentración de calcio iónico intracelular, si éste es pequeño, la fuerza generada es pequeña también.

Es conveniente subrayar aquí que cuando 30 o 40 kilos de masa muscular se activan intensa y repetidamente, es normal que grandes cantidades de potasio aparezcan en el medio extracelular, cuyo volumen es considerablemente menor que el intracelular en el territorio muscular. Este exceso de potasio debe ser retirado del espacio extracelular si se quiere continuar con el nivel de ejercicio físico. Las dos formas de retirar el $[K^+]_e$ son mediante su reincorporación a la célula muscular por medio de las bombas sodio-potasio y por medio de su drenaje de la circulación muscular. Es por esto que aumenta la potasemia durante el ejercicio. Sin embargo, un aumento ligero de la potasemia es deseable porque contrarresta el efecto arritmogénico de las catecolaminas sobre el corazón. También es por esto que aumenta la concentración de potasio en el sudor producido durante el ejercicio, algo que ha sido interpretado como "pérdida..." de potasio durante el ejercicio "...que hay que reponer" so pena de caer en pérdidas de electrolitos. Nada más contradictorio con la situación real de la fisiología del ejercicio. Probablemente, esta mala interpretación de cambios en una variable deriva de un conocimiento de otras patologías en las que una caída en la potasemia lleva apareada una debilidad muscular considerable, algo que no se da en condiciones fisiológicas durante el ejercicio. Obviamente, las causas y condiciones son totalmente distintas. En definitiva, sí hay que reponer algún electrolito durante o con posterioridad a la realización de ejercicio, ese no es el potasio.

¿Cómo consigue nuestro sistema lidiar las condiciones de reto que impone la realización de ejercicio intenso? Como se ha demostrado en células musculares aisladas y en músculos de animales experimentales³⁹⁻⁴¹, la fuerza de contracción muscular y la amplitud de los potenciales de acción en la célula muscular decaen exponencialmente cuando la $[K^+]_e$ se mantiene a 11 mM de potasio y la concentración de lactato extracelular por debajo de 2 mM. Interesantemente, en estas circunstancias el aumento de la concentración de lactato a 20 mM restituye la fuerza al nivel inicial. Es más, aumentos de la $[K^+]_e$ de 11 mM no tienen efecto negativo sobre la generación de fuerza de contracción en presencia de 20 mM de lactato. El mecanismo por el cual la presencia de lactato en el medio extracelular resulta tan beneficiosa para mantener la fuerza de la contracción y anular los efectos de la hiperpotasemia extracelular, no están bien dilucidados. Actualmente, se discute si este mecanismo puede estar mediado por un efecto del lactato sobre los canales de sodio o es debido a la ligera acidosis celular por los protones disociados del lactato⁴¹, o a otros efectos sobre la membrana (Figura 7).

Las vías metabólicas “anaeróbicas” están asociadas al control de la excitabilidad de la membrana y especialmente a la protección de la célula muscular ante circunstancias de estimulación intensa e isquemia.

El intrigante papel del canal de potasio dependiente de ATP

Cuando en 1983, Noma⁴² identificó el canal de potasio dependiente de ATP (K_{ATP}) se abrieron muchas expectativas acerca de su papel como enlace entre el metabolismo y la excitabilidad del sarcolema. Lo que no se podía anticipar era hasta qué punto este canal era parte de enzimas claves en el metabolismo “anaeróbico” de la célula. En efecto su descubrimiento en células musculares cardíacas rápidamente le adjudicó un papel de protección celular ante situaciones de estrés, como la isquemia, el daño celular o la hipoxia severa. Todo ello se basaba en que este

canal de potasio se abría cuando las concentraciones de ATP intracelular caían por debajo de 1 mM, y cuando aumentaba la concentración de ADP intracelular. Posteriormente se evidenció que los mecanismos de control de este canal eran más sofisticados, como veremos un poco más adelante. Así mismo se identificó este canal de potasio en la membrana de las células musculares esqueléticas⁴³.

El lactato y la LDH músculo-esquelética controlan el canal K_{ATP}

El canal K_{ATP} consta en su estructura de dos subunidades bien identificadas: la subunidad Kir6.2 que es la base del comportamiento “inward rectifier” del canal y la subunidad SUR2A (con receptor de sulfonil-urea) la parte dependiente de ligando químico que controla la apertura y cierre del canal. En 2002, el grupo de Jovanovic⁴⁴ demostró que la forma musculoesquelética de la lactato deshidrogenasa (M-LDH) y no la forma cardíaca (H-LDH) está unida físicamente a las dos subunidades del canal K_{ATP} y que su presencia es necesaria para la apertura de este canal, aunque las concentraciones de ATP intracelular sean normales. Es decir, la actividad catalítica de la M-LDH era suficiente para abrir los canales K_{ATP} en presencia de ATP, sugiriendo un efecto protector ante situaciones de fuerte estrés para la célula como alta demanda metabólica, altas concentraciones de calcio intracelular (el calcio intracelular aunque necesario y fundamental para activar la contracción muscular, en altas concentraciones mantenidas en el tiempo es un

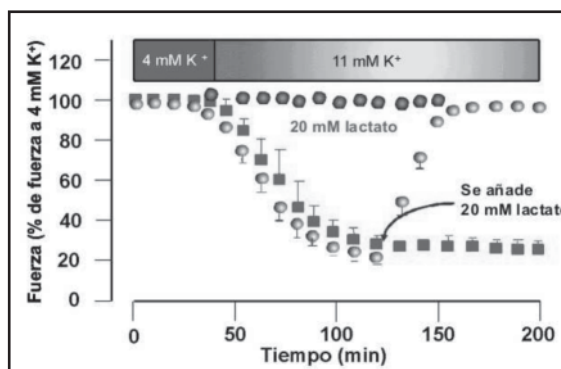


FIGURA 7. Disminución de la fuerza de contracción muscular cuando se aumenta la concentración de K^+ extracelular. La adición de lactato al medio extracelular evita o recupera la pérdida de fuerza producida por el aumento de la $[K^+]_e$. Símbolos: Cuadrados, caída de la fuerza de contracción cuando aumenta la $[K^+]_e$ de 4 a 11 mM; esferas gris claro, lo mismo excepto que aumenta la fuerza cuando se añaden 20 mM de lactato; esferas gris oscuro, en presencia de 20 mM de lactato no decae la fuerza de contracción aunque aumente el potasio extracelular a 11 mM. (Modificado de Nielsen, et al.³⁹).

grave riesgo para la supervivencia de la célula; la concentración de calcio iónico intracelular se puede contemplar como el fuego, cuando se utiliza de manera controlada es muy útil, de manera descontrolada puede ser mortal y devastador), o situaciones de isquemia.

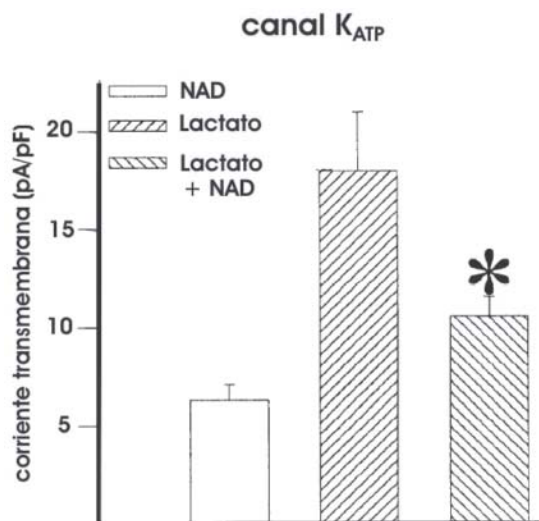


FIGURA 8. Corriente de K⁺ transmembrana a través de los canales de K⁺ dependientes de ATP. NAD: 20 mM; Lactato: 20 mM. Obsérvese que aun que en condiciones normales de disponibilidad de ATP intracelular el canal debería de estar cerrado, y por lo tanto haber poca o ninguna corriente de K⁺ transmembrana, la presencia de lactato abre el canal y aumenta la corriente hasta 17 pA/pF. Una muestra del efecto del lactato sobre el comportamiento de los canales K⁺ATP, favoreciendo la repolarización celular. (modificado de⁴⁴).

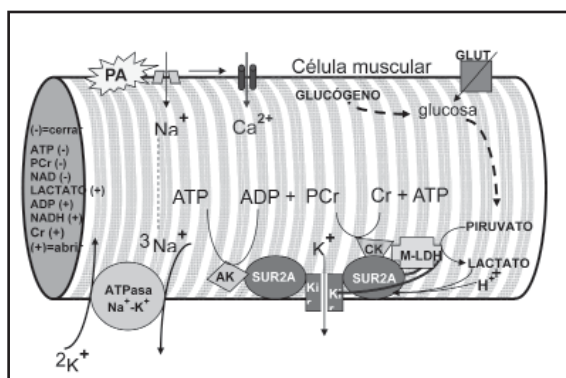


FIGURA 9. Esquema de la regulación del canal K⁺ATP por enzimas y metabolitos de las vías de regeneración de ATP "anaeróbicas" para un manejo del K⁺ compatible con el mantenimiento de la excitabilidad celular ante demandas intensas de potencia a la célula muscular esquelética. Obsérvese como el Na⁺ que entra durante el potencial de acción tiene que ser extrusionado por la bomba Na⁺-K⁺, que a su vez se ve influenciada por el K⁺ extracelular que sale del espacio intracelular a través de los canales K⁺ATP, entre otros, y entra en el mismo espacio por el trabajo de las bombas Na⁺-K⁺ consumidoras de ATP; Si el flujo de salida es mayor que el flujo a través de las bombas, el K⁺ se acumula en el exterior celular. El signo negativo (-) sobre un metabolito (a la izquierda de la imagen) significa que cierra el canal K⁺ATP; El signo positivo (+) que lo abre. Nótese que la creatinquinasa (CK), la adenilquinasa (AK) al igual que el lactato y los hidrogeniones (H⁺) se unen al dominio SUR2A del canal, mientras que la lactato deshidrogenasa (M-LDH) se une al dominio SUR2A y al dominio Kir del canal. GLUT: transportador de glucosa en el sarcolema. Para más información ver texto

Curiosamente, las condiciones expresadas en el párrafo anterior pueden darse al comienzo de contracciones musculares intensas y rápidas, durante las cuales se demanda una alta producción de potencia, se producen altas concentraciones de calcio iónico intracelular y, debido al propio efecto tisular (aumento de presión intersticial, y compresión vascular) de la contracción muscular, se producen situaciones de isquemias transitorias.

Por otro lado, la propia estructura del canal K⁺ATP parece tener un sitio activo para ligar lactato. Ante la presencia de lactato estos canales se abren, dando lugar a una corriente de salida de iones de potasio. Hay que subrayar que este efecto del lactato es significativo para potenciales de membrana más positivos de -70mV (Figura 8). Esta salida de potasio es fundamental para asegurar el proceso de repolarización del potencial de membrana, evitar la despolarización mantenida y reducir la exposición a altas concentraciones de calcio iónico durante un tiempo excesivo. Todo ello sin necesidad de caídas significativas en la concentración de ATP intracelular.

Este canal K⁺ATP que es regulado también por otros metabolitos intracelulares como el adenilato ciclasa, la creatin quinasa, los hidrogeniones intracelulares, el fosfoinositol 4,5 bifosfato, la proteína quinasa C, la actina del citoesqueleto, es también modulado por nucleótidos como el NAD y el NADH. En efecto cuando hay alta concentración de piruvato y de NADH en el interior celular los canales K⁺ATP se abren; por el contrario, la presencia de altas concentraciones de NAD es capaz de inhibir la apertura de estos canales, impidiendo así la salida de potasio y anulando el efecto citoprotector (Figura 8). De aquí la importancia del reciclado de nucleótidos que se produce como consecuencia de la activación de la LDH durante la glucólisis extramitocondrial. Esto hace aún más interesante el papel del lactato asociado al mantenimiento de la glucólisis "anaeróbica"⁴⁴.

Por lo tanto, en condiciones "anaeróbicas", se provoca una acumulación de piruvato, de hidrogeniones y de NAD que al no poder metabolizarse por su vía normal (mitocondrial) lleva a la producción de lactato catalizada por la M-LDH. El lactato abre

los canales K_{ATP} , a pesar de haber cantidades milimolares de ATP en la célula, y protege a la célula de una sobrecarga de Ca^{2+} y de la muerte.

Otros reguladores metabólicos del canal K_{ATP}

Otras dos enzimas relacionadas con el control de la disponibilidad de fosfágenos, la adenilato kinasa (AK) y la creatin kinasa (CK) han sido físicamente relacionadas con la subunidad SUR2A del canal K_{ATP} ⁴⁵. La AK que cataliza la reacción $AMP + ATP \rightleftharpoons 2ADP$ actúa como contrapunto de la CK que cataliza la reacción $ADP + \text{fosfocreatina} \rightleftharpoons ATP + \text{creatina}$. Ambas enzimas regulan la disponibilidad de una adecuada razón ATP/ADP en el citoplasma. Esta razón ATP/ADP parece ser uno de los factores más importante en la regulación de los canales K_{ATP} de modo que el ATP actuaría como bloqueante endógeno del canal, mientras que el ADP abriría el canal K_{ATP} . Sin embargo las cosas no parecen ser tan fáciles o directas. Por ejemplo, en una situación de predominio de ADP, la adición de fosfocreatina hace que se cierre el canal K_{ATP} . Por el contrario, en una situación de predominio de ATP, la adición de creatina fue suficiente para abrir los canales. Todo ello apunta a la existencia de un sofisticado control de la apertura o cierre del canal no sólo por ATP y ADP sino por los sustratos y productos de las reacciones enzimáticas implicadas en el mantenimiento de un nivel adecuado de fosfágenos en el espacio intracelular. Todo ello evidencia un importante enlace entre el metabolismo de los fosfágenos y las corrientes transmembrana que regulan la excitabilidad de la membrana celular (Figura 9).

Por último, el papel del pH intracelular también está en entredicho debido a que actualmente se piensa que una ligera acidosis al principio del ejercicio puede ser beneficiosa para el mantenimiento de la excitabilidad del sarcolema y para que la activación de otras vías metabólicas, como la propia glucólisis “anaeróbica”. La bajada del pH intracelular de 7,2 a 6,3 produjo una reducción del efecto inhibitor del ATP sobre el canal K_{ATP} . Además, el efecto parece ser dependiente de la competencia de los protones por el sitio de unión de las moléculas de ATP⁴⁶.

Otras funciones menos conocidas del lactato

El lactato es un importante intermediario en el proceso de cicatrización de heridas y regeneración tisular. Durante la cicatrización de las heridas el lactato aparece en el área en concentraciones del orden de 10-15 mM y esta acumulación no depende de la concentración de oxígeno en la herida^{47,48}. Es más, desde 1964 se sabe que la síntesis de colágeno producida en los fibroblastos se multiplica por dos en presencia de 15 mM de lactato⁴⁹. En efecto, el lactato parece ser que actúa aumentando la actividad promotora de colágeno, dando lugar a una mayor producción de RNAm de procolágeno. Por otro lado, el lactato, independientemente de su efecto sobre la transcripción de colágeno, activa la prolil-hidroxilasa que se encarga de la conversión de prolina a hidroxiprolina, un péptido importante en la estructura del colágeno.

El mecanismo por el cuál el lactato actúa sobre estos procesos parece ser la inhibición del proceso de ribosilación de ADP. La ribosilación es una modificación post-translacional de proteínas. La fuente de adenosin-difosfato-ribosa (ADPR) es el NAD. Cuando restos de ADPR se unen a residuos de aminoácidos forman poliADPR que inhiben la transcripción de colágeno en el núcleo e inhiben la prolil-hidroxilasa en el citoplasma. El aumento de la concentración de lactato inhibe la poliribosilación mediante la desviación de la reacción catalizada por la LDH hacia la producción de piruvato y NADH. Esta reacción produce dos efectos: uno, disminuir la disponibilidad de NAD, fuente de la ADPR y, dos, acumular NADH que no sirve como sustrato para las enzimas de la ribosilación. De esta forma, se inhibe la poliribosilación y se promueve la síntesis y deposición del colágeno^{47,50}.

Otro efecto producido por la acumulación de lactato en las heridas es la estimulación de la angiogénesis. El mecanismo por el cuál se aumenta la producción de factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (VEGF) es similar al descrito para el colágeno. Normalmente, la producción de VEGF es inhibida por poliADPR, la inhibición de este proceso de poliribosilación por

el lactato, como se ha descrito antes, promovería el aumento en la producción de VEGF, necesario para la angiogénesis^{47,50}.

Por si esto no fuera suficiente, el lactato mejora el flujo sanguíneo y, por tanto, el abastecimiento de oxígeno a los tejidos en cicatrización, por su papel como vasodilatador independiente de pH^{47,51}. Este papel del lactato puede ser relevante no sólo para la cicatrización de heridas sino para los procesos de regeneración y revascularización de territorios musculares sometidos a ejercicio intenso. Es más, a través de este papel, el lactato participaría en la reparación de los daños tisulares asociados a las “agujetas”.

Desde un punto de vista clínico, la hiperlactatemia que se produce en caso de sepsis o lesiones severas acompañadas de hemorragias ha sido clásicamente explicada por la deficiencia de oxígeno tisular y la consiguiente activación de la glucólisis anaeróbica⁵². Sin embargo, James y colaboradores⁵³⁻⁵⁵ han evidenciado que la hiperlactatemia asociada a lesiones o sepsis era disparada por la presencia de adrenalina en plasma, la cual activa la ATPasa Na⁺-K⁺ y acopla la glucólisis “aeróbica”, ya que la hemodinámica en estos sujetos estaba estabilizada y por lo tanto el abastecimiento de oxígeno, produciendo la acumulación de lactato. El mecanismo por el cual la adrenalina dispararía la producción glucolítica de lactato sería el siguiente: la adrenalina se une al receptor beta², esto activaría a la adenilato ciclasa que convertiría ATP en AMPc. El AMPc activaría a la proteína-kinasa A que es la que provocaría el cambio conformacional en la ATPasa Na⁺-K⁺ y su aumento de actividad. Dado la estrecha relación entre la glucólisis (fuente inmediata de aporte de ATP) y la actividad de la ATPasa Na⁺-K⁺, se activaría la glucólisis a más velocidad que la velocidad de la mitocondria para metabolizar piruvato, con lo que se acumularía lactato⁵⁶. Curiosamente, la utilización de beta-bloqueantes disminuye o anula la hiperlactatemia en estas circunstancias, mientras que la hiperoxia no le afecta.

Finalmente, se han constatado la participación del lactato en otros procesos clínicos como por ejemplo la paradoja de la glucosa en la isquemia

cerebral. El argumento para esta paradoja era simple: la isquemia lleva a un déficit de oxígeno, éste dispara la glucólisis anaeróbica y la acumulación de lactato y acidosis, induciendo el daño cerebral. La paradoja consistía en que aumentando la disponibilidad de glucosa (perfundiendo glucosa anterior a la isquemia), las lesiones post-isquemia eran mayores. Actualmente hay evidencias de que en realidad la glucosa y el lactato actúan como protectores contra la hipoxia neuronal. Ambos son sustratos para el metabolismo cerebral. Las lesiones estarían asociadas a la presencia de corticosterona que puede ser aumentada en condiciones de hiperglucemia, ya que la administración de un inhibidor de la síntesis de corticosterona reduce las lesiones cerebrales post-isquemia tanto en los sujetos normoglucémicos como en los hiperglucémicos⁵⁷⁻⁵⁹.

Otro proceso en el que participa el lactato es en el efecto Walburg, en el que las células que se reproducen rápidamente producen una gran cantidad de lactato, algo que aún no está bien explicado. Sería interesante poder demostrar una relación entre la activación de la glucólisis “anaeróbica” y la generación de nuevas células o crecimiento de las existentes; en este caso el lactato podría ser un marcador de la hipertrofia o de la regeneración muscular.

CONCLUSIÓN

Si al panorama anterior le añadimos la capacidad que tienen nuestros órganos y tejidos (hígado, corazón, cerebro, músculos) de consumir lactato como sustrato metabólico, habrá que manifestar que el papel del lactato en la fisiología es beneficioso por múltiples razones. Además, esta nueva concepción del papel del lactato en el ejercicio no está reñida con el uso que se le viene dando dentro de la fisiología del ejercicio. Normalmente, se suele utilizar para determinar el “umbral de lactato” que correspondería con el llamado “umbral anaeróbico”. No habría inconveniente en seguir utilizándolo como indicador de un cambio metabólico o de estrategia metabólica. En definitiva, lo que va a indicar un aumento de la lactatemia, es una demanda de potencia por encima de un nivel crítico, entendiendo por éste el nivel por encima

del cual no se puede mantener indefinidamente la intensidad del ejercicio. Lo que sí deberíamos de erradicar es la etiqueta de “enemigo” metabólico o de sustancia indeseable. El lactato, como hemos visto, contribuye al aumento de la capacidad contráctil de la célula muscular, permite la prolongación del tiempo de trabajo por encima de un nivel crítico y contribuye a la rápida instauración de un nivel de consumo de oxígeno más adecuado para la demanda de potencia.

RESUMEN

El propósito de este trabajo no ha sido hacer una revisión exhaustiva del papel del lactato en la Fisiología, ni acumular los miles de citas existentes sobre la materia. Por el contrario, el objetivo ha sido el llamar la atención sobre aquellos aspectos del papel fisiológico del lactato que están bien contrastados en la literatura y que suponen una versión mucho más positiva y realista de este metabolito durante el ejercicio.

Desde su descubrimiento, el lactato fue asociado a situaciones en las que se vislumbraba una falta de oxígeno. De hecho su relación con situaciones hipóxicas llevó al constructo de que era la hipoxia la causante de los aumentos de lactatemia; cuando sólo en condiciones extremas la aparición de lactato se debe a esta causa. A pesar de las controversias continuadas respecto a su relación con la hipoxia, poco a poco se han ido incorporando datos que adscriben funciones valiosas a la aparición de altas concentraciones de lactato en el espacio extracelular. Entre éstas cabe destacar su papel en la mejora de la fuerza muscular durante ejercicios intensos y duraderos, el mantenimiento de la excitabilidad celular, su acción sobre la conductancia del canal de potasio dependiente de ATP, su papel como metabolito necesario para el sostenimiento de la glucólisis, su efecto parcial como tamponador de radicales ácidos o su papel como cebador del ritmo de trabajo de la fosforilación oxidativa en la mitocondria. Por si estas funciones no fueran suficiente para redimirlo de su papel de “culpable metabólico” de la fatiga inducida por el ejercicio, el lactato

también actúa sobre la síntesis de colágeno, ayudando a la cicatrización de heridas o de estructuras afectadas o como protector de lesiones cerebrales post-isquemias transitorias.

Sin invalidar el uso más frecuente que se hace del lactato, la determinación del umbral “anaeróbico”, el objetivo de este trabajo ha sido el sacar a la luz las distintas funciones fisiológicas del lactato que hacen de él un metabolito valioso tanto desde un punto de vista energético como regulador de la excitabilidad o de la expresión genética.

Palabras clave: Lactato. Glucólisis. Excitabilidad del sarcolema. Hipoxia. Umbral anaeróbico. Funciones no energéticas del lactato.

SUMMARY

The purpose of this work has not been to exhaustively review the physiological role of lactate, neither list the thousands of references on the subject. Contrariwise, the aim has been to highlight those features of lactate physiology that, being well settled in the scientific literature, provide a more positive and realistic version of this metabolite.

From its discovery, lactate was associated to metabolic functions characterized by a lack of oxygen. In fact, this hypoxic relationship led to the construct by which the tissue hypoxia was the cause of the excess of lactate production; something only occurring in extreme conditions. Despite controversy about the hypoxia and lactate relationship, progressively addition of data has proven that high concentrations of lactate in the extracellular space induced valuable functions. Among them, improvement of muscle strength during intensive and hold exercise, maintaining muscle cell excitability, regulation of the conductance of the ATP-dependent potassium channel, its role as key metabolite to turnover of glycolysis, the effect like partial buffer during glycolysis or its action as proton supplier for stimulation of the oxidative phosphorylation rate in the mitochondrion are highlighted. If above were not suffice to redeem lactate as a “metabolic culprit”, it also

acts on the collagen synthesis, helping to the healing of wounds or regenerating tissue, or as a protector of brain injuries after transient ischemia.

Without invalidating the most familiar use of lactate measurement during exercise, the determination of the “anaerobic threshold”, the main aim of this review has been to throw light upon the

physiological roles of lactate that confer to it as a valuable metabolite from an energetic view and like an important regulator of plasma membrane excitability and the gene expression.

Key words: Lactate. Glycolysis. Sarcolemma excitability. Hypoxia. Anaerobic threshold. Non energetic function of lactate.

B I B L I O G R A F Í A

- González-Badillo JJ, Ribas Serna J.** *Bases de la programación del entrenamiento de fuerza.* Barcelona: INDE ed., 2002.
- Holten CH, Muller A, Rehbinder D.** *Lactic Acid: Property and Chemistry of Lactic Acid and Derivatives.* Germany: Verlag Chemie, 1971.
- Raju TN.** The Nobel Chronicles. 1922: Archibald Vivian Hill (1886–1977), Otto Fritz Meyerhoff (1884–1951). *Lancet* 1998;352:1396.
- Shampo MA, Kyle RA.** Otto Meyerhoff—Nobel Prize for studies of muscle metabolism. *Mayo Clin Proc* 1999;74:67.
- Margarita R, Edwards HT, Dill DB.** The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction. *Am J Physiol* 1933;106:689-715.
- Sahlin K, Harris RC, Nylin B, Hultman E.** Lactate content and pH in muscle samples obtained after dynamic exercise. *Pflügers Arch* 1976;367:143-9.
- Roberts RA, Ghiasvand F, Parker D.** Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287:R502-R516.
- Busa WB, Nuccitelli R.** Metabolic regulation via intracellular pH. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1984;246:R409-R438.
- Dennis SC, Gevers W, Opie LH.** Protons in ischemia: where do they come from; where do they go to? *J Mol Cell Cardiol* 1991;23:1077-86.
- Tafaletti JG.** Blood lactate: biochemistry, laboratory methods and clinical interpretation. *CRC Crit Rev Clin Lab Sci* 1991;28:253-68.
- Wilkie DR.** Generation of protons by metabolic processes other than glycolysis in muscle cells: a critical view. *J Mol Cell Cardiol* 1979;11:325-30.
- Zilva JF.** The origin of the acidosis in hyperlactataemia. *Ann Clin Biochem* 1978;15:40-3.
- Gevers W.** Generation of protons by metabolic processes in heart cells. *J Mol Cell Cardiol* 1977;9:867-74.
- Gevers W.** Generation of protons by metabolic processes other than glycolysis in muscle cells: a critical view [letter to the editor]. *J Mol Cell Cardiol* 1979;11:328.
- Hochachka PW, Mommson TP.** Protons and anaerobiosis. *Science* 1933;219:1391-7.
- Hale T.** History of developments in sport and exercise physiology: A.V. Hill, maximal oxygen uptake, and oxygen debt. *J Sport Sci* 2008;26(4):365-400.
- Wasserman K, McIlroy MB.** Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *Am J Cardiology* 1964;14:844-52.
- Wasserman K, Whipp BJ, Koyal SN, Beaver WL.** Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* 1973;35:236-43.
- Wasserman K.** Misconceptions and missed perceptions of the anaerobic threshold. *J appl Physiol* 1983;54:853-4.
- Wasserman K, Koike A.** Is the anaerobic threshold truly anaerobic? *Chest* 1992;101(5):211s-218s.
- Carlson LA, Pernow B.** Studies on the peripheral circulation and metabolism in man. I. Oxygen utilization and lactate-pyruvate formation in the legs at rest and during exercise in healthy subjects. *Acta Physiol Scand* 1961;52:328-42.
- Carlson LA, Pernow B.** Studies on the peripheral circulation and metabolism in man. II. Oxygen utilization and lactate-pyruvate formation in the legs at rest and during exercise in patients

- with arteriosclerosis obliterans. *Acta Med Scand* 1962;171:311-23.
23. **Jöbsis FF, Stainsby WN.** Oxidation of NADH during contractions of circulated mammalian skeletal muscle. *Respir. Physiol.* 1968;4:292-300.
 24. **Gayeski TE, Honig CR.** O₂ gradients from sarcolemma to cell interior in red muscle at maximal VO₂. *Am J Physiol* 1986;251(4):H789-799.
 25. **Connett RT, Gayeski TEJ, Honig CR.** Minimum intracellular PO₂ for maximum cytochrome turnover in red muscle in situ. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol* 1987;252(5):H906-915.
 26. **Connett RT, Gayeski TEJ, Honig CR.** Lactate efflux is unrelated to intracellular PO₂ in a working red muscle in situ.. *J Appl Physiol* 1986;61:402-8.
 27. **Richardson RS, Noyszewski EA, Leigh JS, Wagner PD.** Lactate efflux from exercising human skeletal muscle: role of intracellular PO₂. *J. Appl. Physiol.* 1998;85:627-34.
 28. **Kemper WF, Lindstedt SL, Hartzler LK, Hicks JW, Conley KE.** Shaking up glycolysis: Sustained, high lactate flux during aerobic rattling. *Proc. Natl. Acad. Sci* 2001;98:723-8.
 29. **van Hall G, Calbet JAL, Søndergaard H, Saltin B.** The re-establishment of the normal blood lactate response to exercise in humans after prolonged acclimatization to altitude. *Journal of Physiology*, 2001;536(3):963-75.
 30. **Brooks GA, Gladden LB.** The metabolic systems: anaerobic metabolism (glycolytic and phosphagen). En: Tipton CM (ed). *Exercise Physiology. People and Ideas.* New York: Oxford University Press 2003:322-60.
 31. **Gladden LB.** Lactic acid: new roles in a new millennium. *Proc Natl Acad Sci*, 2001;98:395-7.
 32. **Gladden LB.** Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 2001;558(1):5-30.
 33. **Boning D, Maassen N.** Point:Counterpoint: Lactic acid is/is not the only physicochemical contributor to the acidosis of exercise. *J Appl Physiol* 2008;105(1):358-9.
 34. **Brooks GA, Fahey TD.** *Exercise physiology.* New York: Macmillan Publishing Ed. 1985.
 35. **Krustrup P, Ferguson RA, Kjaer M, Bangsbo J.** ATP and heat production in human skeletal muscle during dynamic exercise: higher efficiency of anaerobic than aerobic ATP resynthesis. *J physiol* 2003;549:255-69.
 36. **Sahlin K, Tonkonogi M, Soderlund K.** Energy supply and muscle fatigue in humans. *Acta Physiol Scand* 1998;162:261-6.
 37. **Sahlin K.** Metabolic changes limiting muscle performance. En: Saltin B (ed). *Biochemistry of Exercise.* Champaign, IL: Human Kinetics 1986;323-44.
 38. **Gladden LB.** Lactate transport and exchange during exercise. En: Rowell LB, Shepherd JT (ed). *Handbook of Physiology.* New York: Oxford University Press 1996;614-48.
 39. **Nielsen OB, de Paoli F, Overgaard K.** Protective effects of lactic acid on force production in rat skeletal muscle. *J Physiol* 2001;536(1):161-6.
 40. **Pedersen TH, Calusen T, Nielsen OB.** Loss of force induced by high extracellular [K⁺] in rat muscle: effect of temperature, lactic acid and beta2-agonist. *J physiol* 2003;551(1):277-86.
 41. **de Paoli FV, Overgaard K, Pedersen TH, Nielsen OB.** Additive protective effects of the addition of lactic acid and adrenaline on excitability and force in isolated rat skeletal muscle depressed by elevated extracellular K⁺. *J Physiol* 2007;581(2):829-39.
 42. **Noma A.** ATP-regulated K⁺ channels in cardiac muscle. *Nature* 1983;305:147-8.
 43. **Tanemoto M, Fujita A, Karachi Y.** Inwardly-rectifying K⁺ channels in the heart. En: Sperelakis N, Karachi Y, Terzic A, Cohen M (ed). *Heart Physiology and Pathophysiology.* San Diego: Academic Press 2001;281-308.
 44. **Crawford RM, Budas GR, Jovanovic S, Ranki HJ, Wilson TJ, Davies AM, Jovanovic A.** M-LDH serve as a sarcolemmal Katp channel subunit essential for cell protection against ischemia. *The Embo Journal* 2002;21(15):3936-48.
 45. **Crawford RM, Ranki HJ, Botting CH, Budas GR, Jovanovic A.** Creatine kinase is physically associated with the cardiac ATPsensitive K⁺ channel in vivo. *FASEB J.* 2002;16(1):102-4.
 46. **Davies NW.** Modulation of ATP-sensitive K₁ channels in skeletal muscle by intracellular protons. *Nature* 1990;343:375-7.
 47. **Trabold O, Wagner S, Wicke C, Scheuenstuhl H, Hussain MZ, Rosen N, Seremetiev A, Becker HD, Hunt TK.** Lactate and oxygen constitute a fundamental regulatory mechanism in wound healing. *Wound Repair Regen* 2003;11:504-9.
 48. **Sheikh AY, Gibson JJ, Rollins MD, Hopf HW, Hussain Z, Hunt TK.** Effect of hyperoxia on

- vascular endothelial growth factor levels in a wound model. *Arch Surg* 2000;135:1293-7.
49. **Green H, Golberg B.** Collagen and cell protein synthesis by established mammalian fibroblast line. *Nature* 1964;204:347-9.
50. **Ghani QP, Wagner S y Hussain MZ.** Role of ADP-ribosylation in wound repair. The contributions of Thomas K Hunt MD. *Wound Repair Regen* 2003;11:439-44.
51. **Mori K, Nakaya Y, Sakamoto S, Hayabuchi Y, Matsuoka S, Kuroda Y.** Lactate-induced vascular relaxation in porcine coronary arteries is mediated by Ca^{2+} -activated K^+ channels. *J Mol Cell Cardiol* 1998;30:349-56.
52. **Mizock BA, Falk JL.** Lactic acidosis in critical illness. *Crit Care Med* 1992;20:80-93.
53. **James JH, Fang C-H, Schrantz SJ, Hasselgen P-O, Paul RJ, Fischer JE.** Linkage of aerobic glycolysis to sodium-potassium transport in rat skeletal muscle. *J Clin Invest* 1996;98:2388-97.
54. **James JH, Luchette FA, McCarter FD, Fischer JE.** Lactate is an unreliable indicator of tissue hypoxia in injury or sepsis. *Lancet* 1999a;354:505-8.
55. **James JH, Wagner KR, King J-K, Leffler RE, Upputuri RK, Ambikaipakan B, Friend LA, Shelly DA, Paul RJ, Fischer JE.** Stimulation of both aerobic glycolysis and Na^+ - K^+ ATPase activity in skeletal muscle by epinephrine or amylin. *Am J Physiol* 1999b;277:E176-E186.
56. **Clausen T.** Na^+ - K^+ pump regulation and skeletal muscle contractility. *Physiol Rev* 2003;83:1269-324.
57. **Schurr A, Payne RS, Miller JJ, Tseng MT, Rigor BM.** Blockade of lactate transport exacerbates delayed neuronal damage in a rat model of cerebral ischemia. *Brain Res* 2001;895:268-72.
58. **Schurr A.** Lactate, glucose and energy metabolism in the ischemic brain (Review). *Int J Mol Med* 2002;10:131-6.
59. **Payne RS, Tseng MT, Scurr A.** The glucose paradox of cerebral ischemia: evidence for corticosterone involvement. *Brain Res* 2003;971:9-17.