UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

ACLARAMIENTO DEL LACTATO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA Y PASIVA. PAPEL DEL TRANSPORTADOR DE LACTATO MCT1.

TESIS DOCTORAL

RAÚL PÉREZ PRIETO

Licenciado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte.

Abril, 2014

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS

FACULTAD DE MEDICINA

ACLARAMIENTO DEL LACTATO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA Y PASIVA. PAPEL DEL TRANSPORTADOR DE LACTATO MCT1.

Raúl Pérez Prieto.

Licenciado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte

Directores:

Prof. D. Domingo González-Lamuño Leguina, Doctor en Medicina y Cirugía.

Dra. Dña. Rocío Cupeiro Coto, Doctora en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte.

Santander, abril 2014.

D. Domingo González-Lamuño Leguina, Profesor Titular de la Universidad de Cantabria y Dña. Rocío Cupeiro Coto, Profesora Ayudante Doctor de la Universidad Francisco de Vitoria

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo titulado "ACLARAMIENTO DEL LACTATO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA Y PASIVA. PAPEL DEL TRANSPORTADOR DE LACTATO MCT1" que presenta D. Raúl Pérez Prieto, ha sido realizado bajo nuestra dirección y reúne a nuestro juicio las condiciones requeridas para optar al Grado de Doctor por la Universidad de Cantabria.

Y para que conste a los efectos oportunos firman el presente documento en Santander a fecha catorce de abril de 2014.

Firmado.

Domingo González-Lamuño Leguina

Firmado.

Rocío Cupeiro Coto

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, a la Facultad de Medicina en general y al Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas en particular, por permitirme acceder a su programa de Doctorado siendo Licenciado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte.

Al Dr. Miguel García Fuentes, por acogerme como uno más dentro del fantástico equipo del Área de Pediatría.

A mis directores de Tesis, Domingo González-Lamuño y Rocío Cupeiro, gracias por haberme aceptado como Doctorando y contribuir en mi formación. Domingo, utilizando la jerga deportiva siempre te consideraré un "*crack*" y desde el ámbito científico una "*eminencia*", me siento afortunado por haberte conocido. Aparte de la gran profesionalidad que día a día te acompaña, eres una gran persona. Rocío, es un privilegio haber podido contar como directora de mi tesis con la "*referente*" del MCT1, agradecerte todo el tiempo que me has dedicado y todo lo que me has enseñado. Espero que este vínculo creado no finalice aquí, y podamos seguir trabajando juntos en un futuro.

A los sujetos voluntarios que han participado en este estudio, vuestra predisposición y colaboración ha sido fundamental para la realización de esta Tesis.

A Teresa Amigo, la gran Técnico del Laboratorio de Pediatría. Creo que voy a patentar el eslogan "*Pon a Tere en tú vida*", en una palabra "*espectacular*". Tere, que afortunado es el Laboratorio de Pediatría de tener una profesional así, trabajadora, inteligente, competente, etc. Siempre serás extraoficialmente mi tercera directora de Tesis.

A Flori, enfermera del Hospital Marqués de Valdecilla, por la ayuda técnica prestada en la extracción de sangre, y por las continuas palabras de ánimo para la realización de este trabajo.

A los administrativos del Departamento, Ana y Fernando, por vuestra amabilidad y simpatía, por haberme hecho fácil todas las gestiones burocráticas.

A mis padres, Ángel y Manoli, por la educación que me habéis dado y los valores que me habéis transmitido, soy lo que soy gracias a vosotros.

A mi mujer Elena, por su apoyo y cariño. Sin su insistencia diaria este trabajo no se hubiera podido finalizar. A mis hijas, Martina y Jimena, porque sois la luz que me ilumina cada día, espero que con esta modesta aportación, algún día os podáis sentir un poco orgullosas de vuestro padre.

A todos, GRACIAS.

ÍNDICE.

Índice de Tablas I

Índice de Figuras II

Índice de Gráficas III

RESUMEN IV

1.- MARCO TEÓRICO 1

1.1.- INTRODUCCIÓN 2

1.2.- METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE EL EJERCICIO. GLUCOLISIS ANAERÓBICA 5

1.3.- METABOLISMO DEL LACTATO 9

1.3.1.- CAUSAS QUE PROVOCAN EL INCREMENTO DE LA PRODUCCIÓN DE LACTATO 9

1.3.2.- FUNCIÓN DEL LACTATO EN EL ORGANISMO 11

1.3.2.1.- Función del lactato como sustrato energético para las células altamente oxidativas y como precursor de la gluconeogénesis 12

1.3.2.2.- Otras funciones del lactato 14

1.3.3.- El ACLARAMIENTO DEL LACTATO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA Y PASIVA 15

1.4.- LANZADERAS DE LACTATO 18

1.5.- LOS TRANSPORTADORES DE MONOCARBOXILATOS EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO (MCTs) 20

1.5.1.- MCT1. ISOFORMA 1 DEL TRANSPORTADOR DE MONOCARBOXILATOS 23

1.5.1.1.- Distribución y funcionalidad del MCT1 24

1.5.1.2.- Factores determinantes de la expresión y de la funcionalidad del MCT1 26

1.6.- POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y ACTIVIDAD FÍSICO – DEPORTIVA 30

1.6.1.- POLIMORFISMO T1470A DEL GEN PARA MCT1 31

2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS 34

2.1.- HIPÓTESIS 35

2.2.- OBJETIVOS 35

2.2.1.- OBJETIVO GENERAL 35

2.2.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS 36

3.- POBLACIÓN Y MÉTODOS 37

3.1.- POBLACIÓN 38

3.2.- PRUEBAS DE CAMPO 38

3.3- ESTUDIO GENÉTICO 39

3.4.- ANÁLISIS DE LOS DATOS 41

3.4.1.- CALCULO DE LAS VARIABLES INDIRECTAS DEL LACTATO 41

3.4.2.- PROCESAMIENTO DE LOS DATOS DE FRECUENCIA CARDIACA 42

3.4.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO 42

4.- RESULTADOS 44

4.1.- CINÉTICA DEL LACTATO CAPILAR DURANTE LAS RECUPERACIONES ACTIVA Y PASIVA 49

4.2.- PATRÓN DE ACLARAMIENTO DE LACTATO SEGÚN GENOTIPOS 51

5.- DISCUSIÓN 54

6.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO 66

7.- FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN 70

8.- CONCLUSIONES 72

9.- BIBLIOGRAFIA 75

10.- ANEXOS 99

10.1.- MODELO DE RECOGIDA DE DATOS 100

10.2.- VALORES DE LACTATO Y CANTIDAD DE LACTATO ACLARADO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA 101

10.3.- VALORES DE LACTATO Y CANTIDAD DE LACTATO ACLARADO DURANTE LA RECUPERACIÓN PASIVA 102

10.4.- PORCENTAJES DE FRECUENCIA CARDIACA MÁXIMA TEÓRICA DURANTE LOS DISTINTOS PERIODOS DE LA RECUPERACIÓN ACTIVA 103

10.5.- PORCENTAJES DE FRECUENCIA CARDIACA MÁXIMA TEÓRICA DURANTE LOS DISTINTOS PERIODOS DE LA RECUPERACIÓN PASIVA 104

10.6.- PUBLICACIÓN DERIVADA DE ESTA TESIS DOCTORAL 105

ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1. Variables descriptivas de los sujetos de cada uno de los grupos genéticos (TT, TA y AA)

Tabla 2. Valores obtenidos en el test previo a la recuperación activa para los grupos genéticos (TT, TA y AA)

Tabla 3. Valores obtenidos en el test previo a la recuperación pasiva para los grupos genéticos (TT, TA y AA).

Tabla 4. Porcentaje de lactato aclarado en cada uno de los intervalos durante ambas recuperaciones.

Tabla 5. Porcentaje de lactato aclarado en función del genotipo en cada uno de los intervalos durante la recuperación activa.

Tabla 6. Porcentaje de lactato aclarado en función del genotipo en cada uno de los intervalos durante la recuperación pasiva.

ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Sistema de producción de ATP en el músculo esquelético.

Figura 2. Contribución de los diferentes sistemas energéticos.

Figura 3. Ruta de la glucolisis.

Figura 4. Esquema del transporte y metabolismo del lactato en el organismo humano

Figura 5. Lanzadera de lactato intracelular.

Figura 6. Topología propuesta para la familia de los MCTs.

Figura 7. Secuencias de los tres genotipos posibles para el polimorfismo T1470A (rs1049434).

ÍNDICE DE GRÁFICAS.

Gráfica 1. Valores medios de porcentaje de Frecuencia Cardiaca Máxima Teórica en función del genotipo del MCT1 a lo largo de la recuperación activa.

Gráfica 2. Valores medios de porcentaje de Frecuencia Cardiaca Máxima Teórica en función del genotipo del MCT1 a lo largo de la recuperación pasiva.

Gráfica 3. Concentraciones medias de lactato a lo largo de las pruebas con recuperación activa y pasiva

Gráfica 4. Cantidad de lactato aclarado durante cada periodo de las recuperaciones activas y pasivas

Gráfica 5. Diferencias en la cantidad de lactato aclarado entre los distintos genotipos para el MCT1 durante los intervalos en la recuperación activa.

Gráfica 6. Diferencias en la cantidad de lactato aclarado entre los distintos genotipos para el MCT1 durante los intervalos en la recuperación pasiva.

RESUMEN.

El aclaramiento del lactato plasmático generado en actividades anaeróbicas se favorece con la recuperación activa de moderada intensidad, gracias a los procesos metabólicos implicados en la oxidación de la célula muscular. La eficiencia de este proceso depende de la actividad de los transportadores de monocarboxilatos (MCTs) que facilitan la difusión del lactato a través de la membrana del sarcolema y de la mitocondria de la célula. La isoforma MCT1, expresada fundamentalmente en el músculo estriado, es un transportador especializado en introducir el lactato en la célula muscular, por lo que su función es determinante en la capacidad oxidativa del músculo. En los últimos años se han identificado diferentes variantes polimórficas del gen para MCT1 asociadas a posibles diferencias de funcionalidad en el transporte de lactato.

Considerando que el transportador MCT1 es determinante en la movilización del lactato por parte de la fibra muscular, el objetivo principal de este estudio es analizar el papel que juega dicho transportador en la velocidad de aclaramiento del lactato durante las diferentes fases de la recuperación tanto activa como pasiva, analizando posibles diferencias funcionales asociadas a las variantes polimórficas T1470A de MCT1.

Población y Métodos: A partir de una muestra inicial de 24 sujetos, se seleccionó un grupo homogéneo de estudio que incluye 16 jugadores de hockey masculino de alto nivel nacional y con un mismo programa de entrenamiento. En dos días consecutivos y con un periodo de descanso de al menos 24 horas, los deportistas realizaron un ejercicio de alta intensidad que consistió en una carrera de 400 metros lisos, seguido durante el primer día de una recuperación activa en carrera con intensidad entre el 65% y el 75% de la frecuencia cardiaca máxima teórica para cada sujeto, y durante el segundo día de una recuperación pasiva permaneciendo sentados. Se determinó el lactato capilar al final de cada prueba y a los 10, 20, 30 y 40 minutos de iniciado el proceso de recuperación activa y pasiva, calculándose el aclaramiento del

lactato para cada uno de los diferentes intervalos. La frecuencia cardiaca de todos los participantes se registró mediante pulsómetro durante todo el tiempo de realización de las pruebas. Todos los sujetos fueron genotipados para la variante polimórfica T1470A del gen MCT1, con el fin de identificar posibles diferencias en la funcionalidad del transportador de monocarboxilatos MCT1.

Resultados: Como era esperable, el comportamiento del aclaramiento del lactato plasmático difiere significativamente durante la recuperación activa y pasiva, siendo éste mucho más favorable durante los primeros 20 minutos de la recuperación activa. Comparando el comportamiento del lactato entre los sujetos en función del genotipo para MCT1-T1470A para cada uno de los intervalos, se observan diferencias significativas en la cantidad de lactato aclarado entre el minuto 10 y el minuto 20 de iniciada la recuperación activa entre los sujetos de los grupos AA y TT ($p=0,018$). No existen diferencias significativas entre los grupos para el resto de los intervalos de la recuperación activa, ni durante la recuperación pasiva.

Conclusiones: Los mecanismos de aclaramiento de lactato son mucho más eficaces durante la recuperación activa que durante la recuperación pasiva gracias a los procesos de oxidación muscular, atribuyéndose un protagonismo significativo de los transportadores de monocarboxilatos (MCTs) durante este tipo de recuperación. Nuestro estudio demuestra que el transportador de lactato MCT1 es determinante en la movilización del lactato sanguíneo en los periodos de máxima velocidad de aclaramiento. Los sujetos con la variante AA para MCT1-T1470A, tienen un aclaramiento de lactato significativamente superior a los sujetos con la variante TT, por lo que pueden atribuirse diferencias en la eficacia de transporte del lactato en función del residuo presente en la posición 490 del transportador MCT1.

1.- MARCO TEÓRICO.

1.1.- INTRODUCCIÓN.

El lactato generado en situaciones anaeróbicas, reconocido como el marcador biológico más significativo del metabolismo celular en ausencia de oxígeno, es a su vez un potencial sustrato energético y una indiscutible fuente de energía para la propia célula o de otros órganos (Brooks, 1991). Aunque clínicamente se ha utilizado para identificar el grado de hipoxia o daño tisular en pacientes con shock, y en fisiología deportiva como marcador de fatiga, son varias las funciones que se adscriben a la aparición de altas concentraciones de lactato en el espacio extracelular. En la revisión realizada por Ribas en el año 2010 sobre el papel energético de este metabolito, se recoge el papel del lactato en la mejora de la actividad muscular durante ejercicios intensos y duraderos. Además se reconocen múltiples acciones específicas del lactato a nivel celular: favorece el mantenimiento de su excitabilidad; interviene en la conductancia del canal de potasio dependiente de ATP; es un metabolito necesario en el sostenimiento de la glucólisis; tiene un efecto parcial como tamponador de radicales ácidos; y es un cebador en la fosforilación oxidativa en la mitocondria. Por otro lado, actúa sobre la síntesis de colágeno ayudando a la cicatrización de las heridas y como protector de lesiones cerebrales post-isquémicas transitorias (Ribas, 2010). Estas funciones fisiológicas atribuyen un apreciado papel al lactato, otorgándole un protagonismo especial en el metabolismo intermediario de los diferentes tejidos, en la señalización entre células y en la misma célula.

Clásicamente, tras la realización de ejercicios de alta intensidad, el lactato plasmático ha sido considerado un marcador de fatiga, y su rápido aclaramiento un objetivo de los diferentes programas de recuperación pasiva (en reposo) o activa (con actividad muscular significativa) (Masi y col., 2007). En este sentido, la recuperación activa manteniendo una actividad muscular de baja intensidad, parece ser la estrategia más eficaz para mejorar la velocidad de aclaramiento de lactato sanguíneo (Hermansen y Stensvold,

1972; Belcastro y Bonen, 1975). Diferentes estudios han demostrado que las fibras musculares oxidativas consumen el lactato durante los ejercicios de baja o moderada intensidad (Gladden, 2004), siendo la principal función del lactato durante el ejercicio la de actuar como fuente de energía a través de la oxidación y la gluconeogénesis por parte del músculo (Stanley y col., 1988; Bergman y col., 1999).

Tras un esfuerzo de alta intensidad, los valores pico de lactato se alcanzan entre los 3 y los 8 minutos (Pérez y col., 1986; Ästrand y col., 1986; Scott y col., 1991; Meshil y col., 1992; Öztürk y col., 1998), equilibrándose las concentraciones entre el músculo y la sangre entre 5 y los 10 minutos después de finalizado el ejercicio (Gollnick y Hermansen, 1973). Tras un ejercicio de este tipo y manteniendo una recuperación activa, la mayor parte del lactato sanguíneo acumulado en sangre se aclara en los primeros 20 minutos del proceso de recuperación (Baldari y col., 2004). Durante todo este tiempo de actividad muscular el lactato se moviliza de forma continua desde el músculo hacia el torrente sanguíneo y desde aquí de nuevo a los músculos, hígado o riñones para ser oxidado o metabolizado.

Todo este proceso de rápida movilización de lactato a través de las membranas plasmáticas se realiza gracias a la existencia de lanzaderas específicas en las que se integran los denominados transportadores de monocarboxilatos (MCTs) (García y col., 1994a; Price y col., 1998; Dubouchaud y col., 2000; Brooks, 2000; Bonen, 2001; Gladden, 2004; Brooks, 2009). Los genes que codifican para estos transportadores se agrupan dentro de la familia SLC16A de transportadores de monocarboxilatos (*monocarboxylate transporter solute carrier family 16*) que codifican para transportadores específicos de tejido. Cada MCT tiene diferencias no solo en la cinética sino también en el grado de afinidad por los sustratos e inhibidores, dependiendo de los requerimientos metabólicos de los tejidos en los que se expresan (Price y cols., 1998).

En el músculo humano, se han descrito diferentes isoformas entre las que destaca MCT1 (OMIM 600682), codificado por el gen *SLC16A1* localizado en el cromosoma 1, y MCT4 (OMIM 603877) codificado por el gen *SLC16A3* localizado en el cromosoma 17, con diferentes propiedades cinéticas (Wilson y col., 1998). Ambas isoformas se co-expresan tanto en la membrana de las mitocondrias como en el sarcolema (Dubouchaud y col., 2000; Benton y col., 2004). Aunque hay indicios para suponer la existencia de una movilización bidireccional de lactato facilitada por MCT1 (Manning Fox y col., 2000, Cuperio y col., 2012), su mayor presencia en la fibras oxidativas hace que se relacione con la capacidad oxidativa del músculo, y presumiblemente está más especializado en introducir el lactato en la célula (McCullagh y col., 1996; Pilegaard y col., 1999b; Manning Fox y col., 2000; Fishbein y col., 2002). Por otro lado, diferentes estudios han demostrado que el entrenamiento de resistencia y de alta intensidad incrementa la expresión de MCT1 en el músculo esquelético humano. De forma paralela a la mayor capacidad de transporte de lactato se produce un aumento de la capacidad oxidativa de las fibras musculares (Bonen y col., 1998; Pilegaard y col., 1999a; Dubouchaud y col., 2000; Green y col., 2002; Juel y col., 2004a; Thomas y col., 2005). En el estudio realizado por Thomas y colaboradores, se ha relacionado de forma experimental la expresión y la actividad del transportador MCT1 con la velocidad de aclaramiento neto de lactato sanguíneo después de ejercicios de alta intensidad (Thomas y col., 2005).

A lo largo de la última década, se han identificado diferentes variantes polimórficas del gen para MCT1, que pueden explicar algunas diferencias individuales en el comportamiento del lactato plasmático (Merezhinskaya y col., 2000). En esta línea, nuestro grupo de trabajo ha contribuido a reconocer el papel que juega una de las variantes polimórficas del transportador del lactato MCT1 en las concentraciones plasmáticas de lactato en sujetos sometidos a ejercicios controlados de carga (Cupeiro y col., 2010, 2012). Estas investigaciones concluyen que el polimorfismo T1470A condiciona diferencias significativas en la actividad de MCT1, asociando una mayor actividad para la

variante A que para la variante T. Además y en la misma línea, el estudio de Fedotovskaya y colaboradores han observado que la concentración media de lactato sanguíneo es distinta en remeros en función del genotipo para dicho polimorfismo (Fedotovskaya y col., 2013).

Basándonos en esta diferente actividad de MCT1 asociada al polimorfismo T1470A (Cupeiro y col., 2010; 2012; Fedotovskaya y col., 2013), esta tesis doctoral pretende ampliar el conocimiento sobre el papel de este transportador en la movilización del lactato durante la recuperación tras el ejercicio. Consideramos que con el modelo de estudio que proponemos, es posible analizar el papel que desempeña el transportador MCT1 sobre el aclaramiento del lactato durante la recuperación activa y pasiva tras un ejercicio físico de alta intensidad. Si el transportador MCT1 es determinante en el aclaramiento de lactato sanguíneo durante el proceso de recuperación del ejercicio, esta actividad debería ser diferente en función de la variante genética presente. De forma opuesta, en las fases de recuperación en las que la cinética del transportador MCT1 juegue un papel menos determinante, la diferencia en el comportamiento del lactato entre las poblaciones con cada una de las variantes polimórficas no debería ser significativa.

1.2.- METABOLISMO ENERGÉTICO DURANTE EL EJERCICIO. GLUCOLISIS ANAERÓBICA

La contracción muscular y, por lo tanto todos los ejercicios físicos son dependientes de la liberación de energía libre derivada de la ruptura del adenosín-trifosfato (ATP) (ecuación 1). Esta energía que se libera se acopla a los requerimientos energéticos del trabajo celular, como por ejemplo la contracción muscular.

Ecuación 1. Ruptura del ATP para la contracción muscular.

ATP ----$_{ATPasa}$----> ADP + Pi + energía ----> contracción muscular.

Habida cuenta la gran cantidad de energía necesaria para las actividades musculares, podría pensarse que el músculo dispone de un gran almacén de ATP desde el que suministra energía para el trabajo celular. Sin embargo este no es el caso, siendo la cantidad total de ATP almacenada dentro de la célula muscular muy pequeña (Gastin, 2001). Por este motivo, las células disponen de otros mecanismos para provisionar ATP a partir de moléculas más complejas que provienen de la dieta (hidratos de carbono, grasas y proteínas) (Glaister, 2005). La demanda de ATP por parte del músculo se incrementa con el ejercicio en comparación con la situación de reposo, para cubrirla, el músculo dispone de tres mecanismos o fuentes diferentes de síntesis de ATP. Una primera fuente de energía deriva de la ruptura de la fosfocreatina; una segunda fuente de energía es la producción de ATP a partir de la glucolisis anaeróbica; y finalmente, la tercera fuente consiste en obtener energía de forma aeróbica a través de la fosforilación oxidativa en la mitocondria (Moxnes y col., 2012). En la figura 1 se esquematizan las tres fuentes de síntesis de ATP durante la contracción muscular (Figura 1):

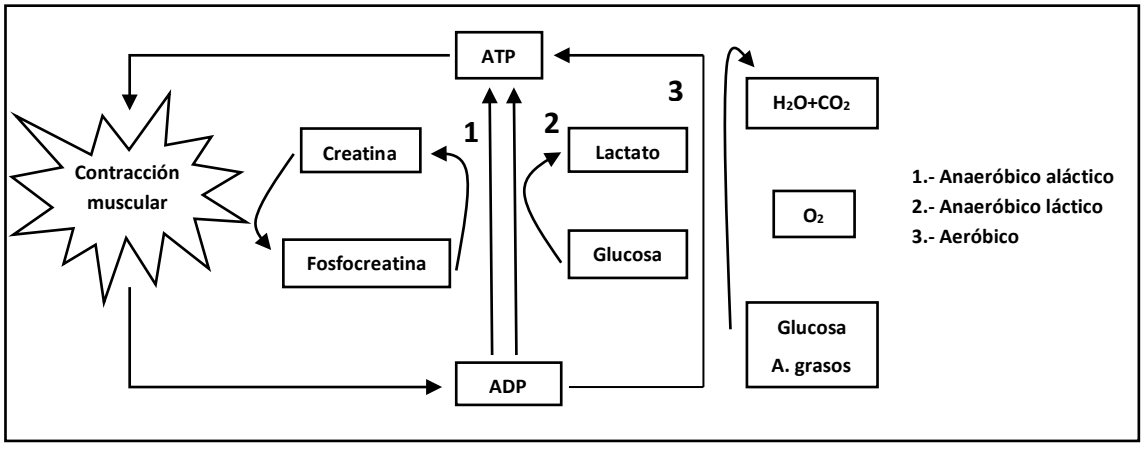


Figura 1. *Sistema de producción de ATP en el músculo esquelético. (Modificado de López Chicharro J., Fernández Vaquero A., 2006, página 186).*

La reposición de ATP durante el ejercicio es el resultado de una respuesta metabólica coordinada en la que los tres sistemas energéticos contribuyen en diferentes porcentajes. Cada sistema contribuirá en mayor o

menor medida en función de la interacción de dos variables como son intensidad y duración del ejercicio (Baker y col., 2010). Es decir, el metabolismo que se produce durante la actividad física es mixto. En la figura 2 se esquematiza la contribución de los tres sistemas energéticos (Figura 2):

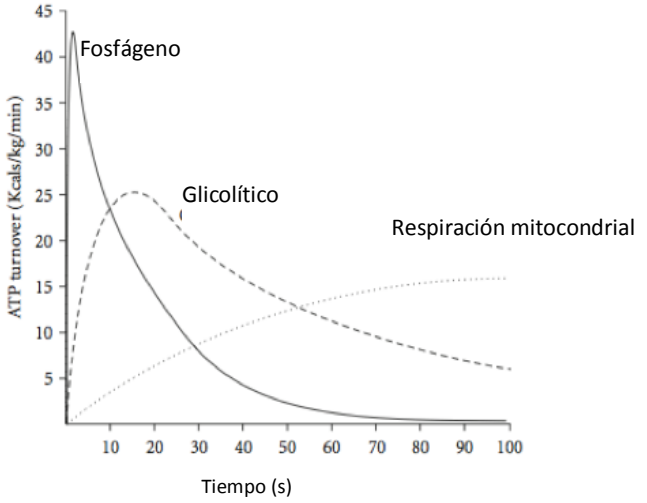


Figura 2. *Contribución de los diferentes sistemas energéticos. (Tomado de Gastin PB, 2001).*

De forma resumida podemos decir que dependiendo de la demanda de energía, el organismo dispone de diferentes sistemas de respuesta. Por un lado dispone de un sistema de energía aeróbico o mitocondrial, que suministra energía de forma continuada en las actividades de moderada o baja intensidad, y por otro un sistema anaeróbico (no mitocondrial), capaz de responder inmediatamente a altas demandas de energía. Este último sistema, cuya capacidad es limitada, es el que se utiliza en actividades de fuerza y potencia (Baker y col., 2010).

Debido a que el objetivo del presente trabajo se centra en el metabolismo anaeróbico láctico, explicaremos a continuación con más detalle

la síntesis de ATP a través de la vía glucolítica anaeróbica, ya que es la ruta que compone dicho metabolismo.

La glucosa, obtenida tanto de los carbohidratos de la dieta como de las reservas de glucógeno, es el único nutriente que puede ser usado por la vía de la glucolisis para generar ATP (Balsom y col., 1994).

En esta vía formada por una secuencia de reacciones, el punto final es la creación de dos moléculas de piruvato que pueden seguir dos vías diferentes (Figura 3). La primera opción es oxidarse, con pérdida de su grupo carboxilo en forma de CO_2, dando el grupo acetilo del acetil-coenzima A, que es oxidado seguidamente de manera completa en la mitocondria. La segunda ruta o destino del piruvato es su reducción a lactato vía fermentación del ácido láctico, reacción catalizada por el enzima lactato deshidrogenasa. El piruvato se reduce a lactato, aceptando los electrones del NADH y regenerando NAD^+ necesario para la continuación de la glucolisis, como se refleja en la siguiente ecuación:

Ecuación 2. Balance global de la degradación de glucosa a lactato.

$$\text{Glucosa} + 2\ ADP + 2\ NAD^+ + 2\ P_i \text{ -------> } 2\ \text{Lactato} + 2\ ATP + 2\ H^+$$

El pK (constante de disociación) del ácido láctico, producto final de la glucólisis es 3.8, por lo tanto, debido a los valores del pH fisiológico, el ácido láctico se disociará en un protón (H^+) y un anión lactato ($C_3H_5O_3^-$) (Brooks, 1991; McDermott y Bonen, 1994; Halestrap y Price, 1999). Es por ello, que desde el punto de vista químico y biológico es más correcto utilizar el término lactato.

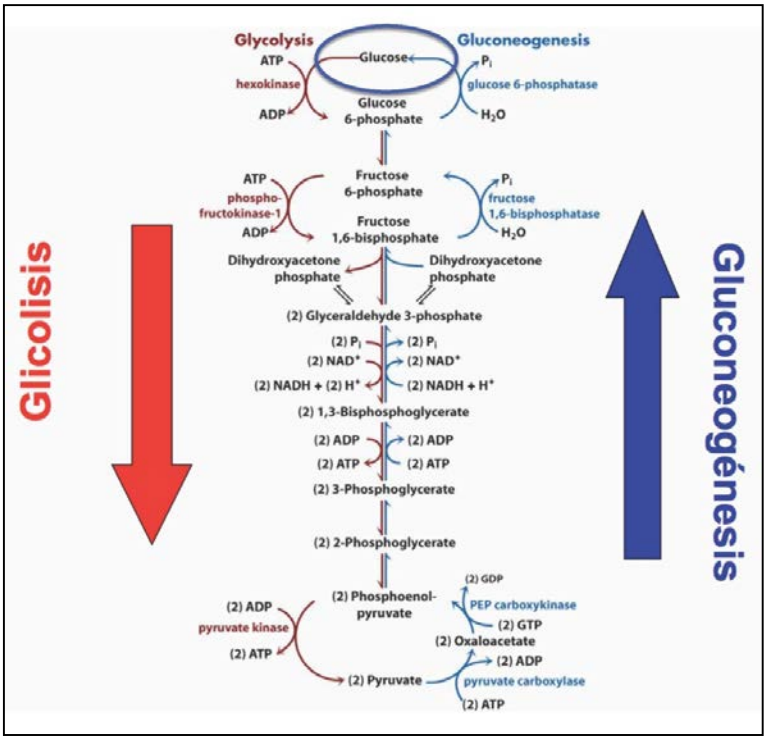


Figura 3. *Ruta de la glucolisis y gluconeogénesis.*

1.3.- METABOLISMO DEL LACTATO DURANTE EL EJERCICIO.

Una vez descrito el origen del lactato generado durante la actividad física, vamos a analizar aspectos sobre su metabolismo en relación con el ejercicio físico. Analizaremos las diversas e importantes funciones que tiene en el organismo, al igual que aspectos relacionados con la producción, acumulación y aclaramiento.

1.3.1.- CAUSAS QUE PROVOCAN EL INCREMENTO DE LA PRODUCCIÓN DE LACTATO.

Hay que remontarse a las primeras décadas del siglo XX para encontrar los primeros estudios sobre la producción del ácido láctico (lactato) durante el ejercicio y su efecto sobre el organismo. Son los trabajos sobre la energética de los carbohidratos realizado por Meyerhof y Hill (Ribas, 2010). El primero,

demostró la producción de ácido láctico como un producto colateral de la glucolisis. El segundo, cuantificó la energía liberada durante la conversión de glucosa a ácido láctico en condiciones de poca disponibilidad de oxígeno. Observó que cuando un músculo demandaba energía por encima de la que le podía suministrar la oxidación de substratos en presencia de oxígeno, la conversión de glucosa a lactato podía suministrar una alta cantidad de energía en poco tiempo para la contracción muscular (Hill y col., 1924). De esta relación entre la concentración de lactato y consumo de oxígeno, surge en 1964 la hipótesis del denominado umbral anaeróbico. Wasserman y colaboradores, definieron este concepto como la intensidad de ejercicio o de trabajo físico por encima del cual empieza a aumentar de forma progresiva la concentración de lactato en sangre, al mismo tiempo que la frecuencia respiratoria y la ventilación se intensifica de manera desproporcionada con respecto al oxígeno consumido. De forma simplificada, demostraron la existencia de un incremento abrupto de la lactatemia cuando se sobrepasaba un determinado nivel de consumo de oxígeno (Wasserman y col., 1964).

A partir de estas primeras descripciones del umbral anaeróbico, diferentes estudios analizaron los cambios en la concentración plasmática de lactato y el consumo de oxígeno, demostrándose una ausencia en la relación absoluta entre el incremento de concentración del lactato y el consumo de oxígeno (Connett y col., 1986; Richardson y col., 1998; Van Hall y col., 2001). Fruto de estas investigaciones nace una nueva hipótesis en la que se argumenta que cuando el aporte de oxígeno al músculo es suficiente para la adecuada función mitocondrial, la producción de lactato puede verse incrementada por la propia regulación de los enzimas que participan en la formación del ácido láctico, por la actividad simpático-adrenal relacionada con el ejercicio físico, y por el equilibrio que se establece entre la producción y la eliminación-oxidación del lactato (Gladden, 1996). Además pueden existir otros factores ligados a la secuencia u orden de reclutamiento de los diferentes tipos de fibras musculares. Es por ello, que la disponibilidad de oxígeno sería solo uno de los diferentes factores que interactúan en el

aumento de concentración de lactato muscular y sanguíneo en intensidades submáximas de actividad física. La combinación de estos factores, parece explicar hoy en día, las causas del aumento de lactato con el incremento de la intensidad del ejercicio (Gladden, 2003; 2004).

1.3.2.- FUNCIÓN DEL LACTATO EN EL ORGANISMO.

Otro aspecto que ha ido evolucionando a lo largo de los años, y que ha revolucionado el campo de la fisiología del ejercicio, es el papel que juega el lactato en el organismo. En este proceso evolutivo, el lactato ha sido considerado el responsable del exceso de consumo de oxígeno en el post-ejercicio inmediato (Margaria y col., 1933), uno de los causantes principales de la fatiga muscular (Hermansen, 1981), y un producto de desecho de la glucolisis debido a la hipoxia (Wasserman, 1984).

Dentro de estas consideraciones, la relación entre el lactato y la fatiga, y su implicación en el mundo del deporte, genera múltiples controversias. Existe una clara asociación entre lactacidemia y acidosis pero no son sinónimos, y por tanto pueden incorporar elementos de confusión cuando se habla de fatiga. Hay trabajos que desligan la lactacidosis de la fatiga, considerándola fundamentalmente asociada a la falta de disponibilidad de fosforo inorgánico y/o calcio por parte del músculo (Westerblad y Allen, 2002; Westerblad y col., 2002). En cambio, otras investigaciones sugieren no desestimar todavía la acumulación de protones en el origen de la fatiga muscular (Boning y col., 2005; Philp y col., 2005). Hoy en día, se apunta hacia una causa multifactorial en el origen de la fatiga, en lugar de establecer un único mecanismo desencadenante (Gladden, 2004). Durante los últimos años, debido a que la función del lactato en el organismo ha sido generador de debate, se han llevado a cabo diferentes investigaciones que han atribuido a este metabolito otras funciones en el organismo. Dentro de estas funciones, destacamos en el presente trabajo dos: por un lado, el papel que tiene el

lactato como sustrato energético para las células altamente oxidativas, y por otro, el de servir como precursor de la gluconeogénesis.

1.3.2.1.- Función del lactato como sustrato energético para las células altamente oxidativas y como precursor de la gluconeogénesis.

Para poder entender el papel del lactato como sustrato energético tenemos que remontarnos a la hipótesis de la lanzadera de lactato. Aunque fue iniciada anteriormente, fue definida por Brooks en 1985 (Brooks, 1986; Brooks, 1991). Estudios realizados por Brooks, observaron que durante el ejercicio de moderada intensidad el flujo sanguíneo de lactato era superior al flujo de glucosa lo que reveló su importancia como sustrato energético (Brooks, 1991). Posteriormente, los trabajos realizados por Miller confirmaron dicho papel demostrando la competencia existente entre el lactato y la glucosa como fuente de energía, lo que permite reservar dicha glucosa para su uso por otros tejidos, como el cerebro, o bien para un uso posterior en pruebas de larga duración y mayor intensidad (Miller y col., 2002a; Miller y col., 2002b).

De estas observaciones se desprende que la mayor parte del lactato tomado por los músculos es transformado por la vía oxidativa (Stanley y col., 1986; Mazzeo y col., 1986; Stanley, 1988; Bergman y col., 2000; Kelley y col., 2002), y que el lactato es un importante precursor gluconeogénico, tanto en intensidades bajas como moderadas (Gladden, 2000; Miller y col., 2002a; Miller y col., 2002b; Roef y col., 2003).

Sin embargo, debemos considerar que durante el periodo de recuperación después del ejercicio de alta intensidad, no sólo el músculo esquelético interviene en este esquema metabólico del lactato (oxidación y gluconeogénesis), el miocardio, cuyas células son altamente oxidativas, lo oxida en reposo y durante el ejercicio (Stanley, 1991). También el hígado interviene al captar el lactato para la gluconeogénesis y la glucogenogénesis

(Gladden, 1996), e incluso el cerebro utiliza esta molécula como sustrato, aunque a niveles despreciables en comparación con el músculo (Gladden, 2004).

Con respecto al porcentaje del lactato que se aclara mediante su oxidación, todas las investigaciones realizadas, tanto en ratas (Depocas y col., 1969; Brooks y Donovan, 1983), en perros (Issekutz y col., 1976), caballos (Weber y col., 1987), como en humanos (Stanley y col., 1986; Mazzeo y col., 1986; Bergman y col., 1999; Bergman y col., 2000) hablan de porcentajes similares. En condiciones de reposo, la cantidad de lactato que se aclara mediante oxidación constituye el 50% del lactato liberado a la sangre, mientras que durante el ejercicio, la fracción de lactato que se aclara mediante oxidación aumenta hasta un 75% - 80% (Brooks, 2002).

Con todos los datos de los que disponemos en la actualidad, el principal órgano o sistema implicado en el metabolismo del lactato sería el músculo esquelético, actuando de forma simultánea tanto como productor principal como consumidor (Gladden, 2004; Philp y col., 2005) (Figura 4).

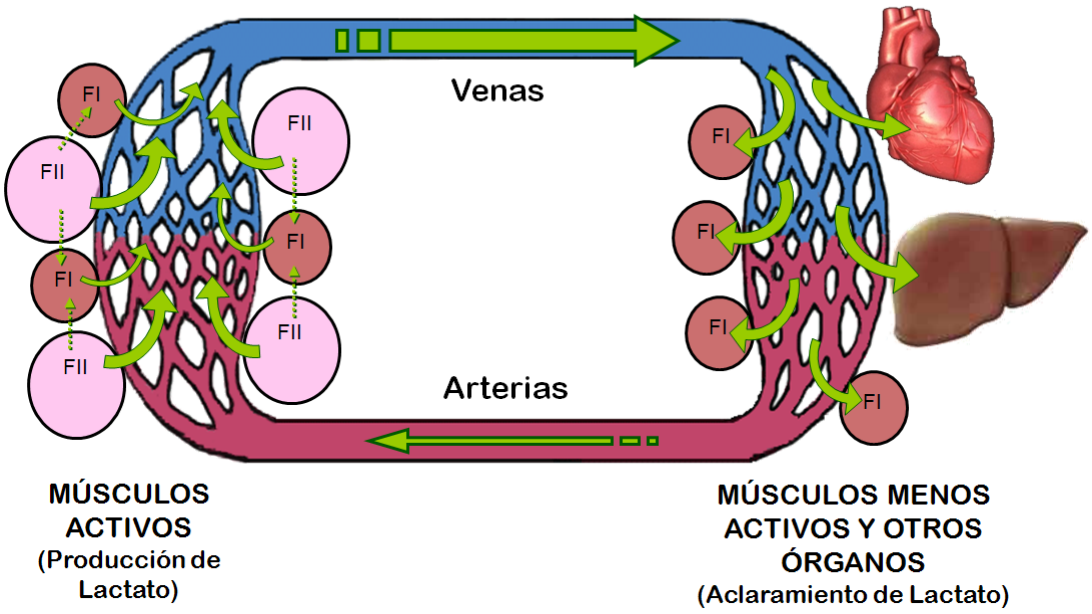


Figura 4. *Esquema del transporte y metabolismo del lactato en el organismo humano (Modificado de Gladden, 2008). FI=Fibras de tipo I. FII=Fibras de tipo II. El grosor de las flechas indica el grado en el que se da el transporte de lactato (Tomado de Cupeiro, tesis doctoral).*

En la revisión realizada por Marín y colaboradores (2007), se muestran estudios que relacionan la intensidad del ejercicio con la producción de lactato en el músculo esquelético, y encontramos que:

1.- Durante el ejercicio intenso y corto, el músculo produce rápidamente lactato. Al aumentar éste a nivel intramuscular se produce la salida del mismo hacia la sangre. Posteriormente durante la recuperación, hay una absorción de lactato desde la sangre por los músculos en reposo o por otros que trabajan a menor intensidad (Richter y col., 1988; Brooks, 2000; Gladden, 2000; Gladden, 2004).

2.- Durante el ejercicio de moderada intensidad, las fibras musculares glucolíticas producen y liberan lactato. Una parte de este lactato pasa a la circulación y otra se difunde a las fibras musculares oxidativas vecinas que lo oxidan (Baldwin y col., 1977; Stanley y col., 1986; Brooks, 2000; Gladden, 2004).

3.- Durante el ejercicio de baja intensidad, los músculos que al principio liberaron lactato hacia la sangre, podrían invertir este sentido y posteriormente pasar a consumir lactato (Stainsby y Welch, 1966; Gladden 2000).

Por otro lado, en reposo, el flujo neto de lactato muscular se da hacia la liberación en sangre, aunque a veces esta dirección puede invertirse (Gladden, 2004).

1.3.2.2.- Otras funciones del lactato.

Estudios realizados han demostrado que el lactato además de tener un papel relevante durante el ejercicio físico tiene otras funciones.

Se ha observado que actúa como facilitador en los procesos de cicatrización, ya que concentraciones de 10-15 mM de lactato en las heridas duplican la capacidad de síntesis de colágenos de los fibroblastos (Green H y

Golberg B., 1964). Por otra parte, dicha acumulación de lactato estimula la angiogénesis (Trabold y col., 2003), y mejora el flujo sanguíneo abasteciendo de oxígeno a los tejidos en cicatrización (Mori y col., 1998; Trabold y col., 2003).

Parece que el lactato tiene relación con la glucosa plasmática y con su regulación. El Sistema Nervioso Central, al detectar la activación del metabolismo láctico en el hipotálamo, desencadena una disminución de la producción de glucosa sin necesidad de la insulina (Chari y col., 2008). Se ha demostrado que, el lactato, sólo o combinado con otras sustancias, promueven la secreción de insulina por parte de las células INS-1 y de los islotes pancreáticos (MacDonald y col., 2008). Por otro lado, el lactato interviene en la regulación del catabolismo de la glucosa (Sola-Penna, 2008), dado que se ha descrito cómo su concentración intracelular inhibe el enzima fosfofructoquinasa en el músculo (Costa Leite y col., 2007).

Aunque se requiere más investigación al respecto debido a las discrepancias en los diversos estudios, la acumulación de lactato, parece tener un efecto protector contra la fatiga muscular durante el ejercicio, y un papel protector de la excitabilidad muscular para la contracción durante el esfuerzo (Nielsen y col., 2001; Pedersen y col., 2003; Hansen y col., 2005). En un estudio posterior, Kristensen y colaboradores, ponen en duda dicho efecto protector del ácido láctico en los músculos activos (Kristensen y col., 2005).

1.3.3.- EL ACLARAMIENTO DEL LACTATO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA Y PASIVA.

Desde la identificación del ácido láctico como producto de la actividad muscular (Fletcher, 1907) y hasta la actualidad, los conocimientos relativos al aclaramiento del lactato con el ejercicio han ido creciendo (Van Hall y col., 2002). Durante todos estos años, los investigadores de las Ciencias del Deporte se han centrado en determinar cuáles son las estrategias de

recuperación más adecuadas para el aclaramiento del lactato en la sangre después del ejercicio de alta intensidad. Dentro de estos métodos de recuperación, se ha estudiado tanto la recuperación activa como pasiva (Masi y col., 2007).

En los diferentes estudios de comparación realizados entre la recuperación activa y pasiva, se ha observado que el ejercicio continuo a baja intensidad facilita un mayor aclaramiento de lactato (Hermansen y Stensvold, 1972; Belcastro y Bonen, 1975; Bangsbo y col., 1994; Monedero y Donne, 2000; Franchini y col., 2003; McAinch y col., 2004; Siegler y col., 2006; Greenwood y col., 2008; Menzies y col., 2010). Durante la recuperación pasiva, el lactato circulante se aclara lentamente mediante la gluconeogénesis y oxidación, sin embargo, durante la recuperación activa, se produce una redistribución del lactato gracias al incremento del flujo sanguíneo, lo que favorece una mayor velocidad de aclaramiento por oxidación en los músculos que trabajan a una menor intensidad (Gladden, 2004), concretamente en las fibras musculares tipo I (Brooks, 1991),

Uno de los factores que puede influir en la tasa de aclaramiento de lactato, es la intensidad del ejercicio durante la recuperación (Bonen y col., 1979). Sin embargo, todavía no hay un acuerdo común sobre la intensidad óptima de recuperación activa para aclarar el lactato acumulado. Algunas investigaciones emplean la intensidad de la recuperación en función de un porcentaje del consumo máximo de oxígeno, dichos estudios sugieren una intensidad en la recuperación activa entre 25-63% del consumo de oxígeno máximo (Hermansen y Stensvold, 1972; Bonen y Belcastro 1976; Boileau y col., 1983; Dodd y col., 1984), pero en función de este parámetro fisiológico, la producción de lactato tiene una relación no lineal a la carga de trabajo. Investigaciones más recientes han relacionado la intensidad de la recuperación activa con el umbral de lactato (Baldari y col., 2004; Baldari y 2005; Greenwood y col., 2008) lo cual podría de manera más directa vincularlo a la carga de trabajo en la que la producción excede a la eliminación. Y por último, se emplea como estrategia el control voluntario de

la persona, sin establecer una intensidad fija en función de ningún parámetro fisiológico (Bonen y Belcastro, 1976; Menzies y col., 2010). Cuando el sujeto controla de manera voluntaria la intensidad, se produce un aclaramiento del lactato durante la recuperación activa con la misma eficacia que utilizando una recuperación con intensidades relativas al umbral de lactato, ya que el sistema de feedback biológico, permite a los sujetos el elegir la mejor intensidad de aclaramiento de lactato durante la recuperación (Menzies y col., 2010).

Por otro lado, el ejercicio físico provoca adaptaciones cardiovasculares, entre las que se incluye el aumento del gasto cardiaco, valorable como volumen minuto cardiaco, a expensas de una mayor frecuencia cardiaca y de un aumento del volumen de expulsión de sangre por el corazón o volumen de expulsión sistólica. Durante la recuperación pasiva, la frecuencia cardiaca disminuye progresivamente hasta alcanzar nuevamente los valores de reposo. Este descenso, es primero de forma rápida y brusca (fase de recuperación rápida), y luego de forma más lenta y paulatina (fase de recuperación lenta). El tiempo preciso para alcanzar nuevamente las cifras de reposo varía según la intensidad y duración del ejercicio realizado. En cambio, durante el ejercicio continuo de baja intensidad (recuperación activa), la frecuencia cardiaca será directamente proporcional a las variaciones de intensidad durante ese esfuerzo (Barbany, 1990). Como la frecuencia cardiaca es fácilmente valorable por pulsómetros, con su utilización podremos realizar un seguimiento continuado de las modificaciones de la misma.

Independientemente de la estrategia y la intensidad de la recuperación activa, varias investigaciones señalan, que durante la recuperación del ejercicio tras un esfuerzo de alta intensidad, los valores pico de lactato se alcanzan entre los 3 y los 8 minutos (Pérez y col., 1986; Ästrand y col., 1986; Scott y col., 1991; Meshil y col., 1992; Öztürk y col., 1998), siendo los valores generalmente más bajos en la sangre que en el músculo (Tesch, 1978), y alcanzándose el equilibrio entre ambos alrededor de los 5 -10 minutos después del ejercicio (Gollnick y Hermansen, 1973). En el estudio

realizado por Baldari y colaboradores en jugadores de futbol sometidos a varios protocolos de recuperación activa y pasiva tras un ejercicio de alta intensidad, observaron que en la recuperación activa la mayor parte del lactato, aproximadamente el 90%, es aclarado en los primeros 20 minutos (Baldari y col., 2004).

1.4.- LANZADERAS DE LACTATO.

El intercambio del lactato es un proceso dinámico tanto en reposo como durante el ejercicio (Jorfeldt, 1970; Stanley y col., 1986; Van Hall y col., 2003), y requiere de un transporte rápido entre los distintos tejidos y órganos para el cumplimiento de sus funciones.

Hasta hace muy poco numerosos fisiólogos del ejercicio asumían que el lactato atravesaba la membrana del sarcolema por difusión simple (Gladden, 1996; Bonen, 2006), a pesar de que ya desde la década de los setenta había evidencias de que el desplazamiento del lactato estaba relacionado con un mecanismo de transporte específico (Halestrap y Denton, 1974), hecho que se confirmó posteriormente con la existencia de un transportador implicado en el movimiento del lactato a través de la membrana plasmática (Juel, 1988; Juel y Wibrand, 1989). Gladden, en su revisión de 1996, enumera los medios que utiliza el lactato para atravesar el sarcolema (Gladden, 1996):

1.- Por difusión facilitada con ayuda de los transportadores de lactato, que se ocupan de aproximadamente el 70-90% del transporte.

2.- Un cantidad ínfima se mueve a través del intercambio de aniones inorgánicos (CT o HCO_3^-).

3.- Por difusión simple.

Aunque iniciada en 1984, Brooks, en 1985 estableció la hipótesis de una lanzadera de lactato intercelular, siendo el principal mecanismo de coordinación para que se realice el metabolismo intermediario entre los diferentes tejidos, y la sangre el medio que permite la conexión de célula a célula. El lactato funcionaría como un metabolito intermediario entre los carbohidratos y los productos finales del metabolismo, dióxido de carbono y agua (Brooks, 1986; Brooks, 1991). Ampliando su primera hipótesis, Brooks en 1998, mencionaba la existencia de una lanzadera de lactato intracelular, en la que se afirma que el lactato penetra en la mitocondria mediante los transportadores de monocarboxilatos (MCTs) para ser oxidado (Brooks, 2000; Brooks, 2009) (Figura 5).

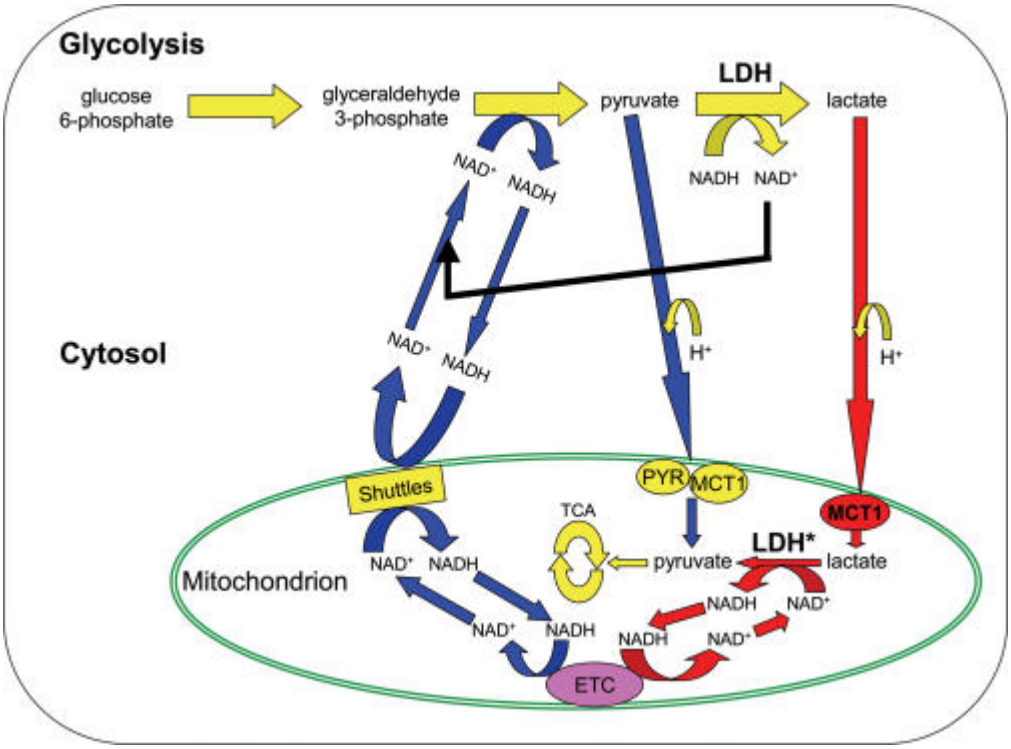


***Figura 5**. Lanzadera de lactato intracelular. Tomado de Gladden, 2004.*

Por tanto, en la movilización del lactato los principales componentes de la vía de transporte son el propio torrente sanguíneo y unas lanzaderas

específicas presentes en las membranas celulares en las que se integran los denominados transportadores de monocarboxilatos (MCTs) (García y col., 1994; Price y col., 1998; Dubouchaud y col., 2000; Brooks, 2000; Bonen, 2001; Gladden, 2004; Brooks, 2009).

1.5.- LOS TRANSPORTADORES DE MONOCARBOXILATOS EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO (MCTs).

Partiendo de la hipótesis de Brooks, podemos deducir, que los transportadores de la membrana celular son piezas fundamentales en el metabolismo, ya que permiten el movimiento rápido de lactato entre células y tejidos (Brooks, 2000; Brooks, 2009). Tanto durante la actividad muscular intensa como durante el periodo de recuperación, la salida de lactato y H^+ está mediada por los transportadores de monocarboxilatos (MCTs) (Poole y Halestrap, 1993; Juel, 1997, Juel, 1998). Por lo tanto, estos transportadores juegan un papel relevante no solo en la regulación del pH de la célula muscular y del organismo, sino también en la capacidad de incorporar lactato por parte de los músculos menos activos y de otros tejidos (Gladden, 1996; Juel, 1997).

Aunque el lactato es el monocarboxilato que tiene cuantitativamente el mayor peso en el transporte a través de los MCTs, estos también son esenciales para el transporte de membrana de muchos otros monocarboxilatos metabólicamente importantes como es el piruvato (Halestrap y Price, 1999).

Las características de este sistema de transporte específico, a través del cual el lactato atraviesa el sarcolema, puede sintetizarse en los siguientes cinco puntos (Bonen, 2006):

1.- El transporte de este metabolito monocarboxilado se realiza en forma de anión lactato; el ácido láctico, debido a su constante de disociación, a pH fisiológico se encuentra en forma de lactato.

2.- El sistema es estereoselectivo, solo se transporta la isoforma L-lactato y no la isoforma D-lactato.

3.- El sistema funciona como un co-transportador en el que los iones lactato y los protones son transportados por gradiente electroquímico, es decir, que el sistema muestra un emparejamiento obligatorio entre el lactato y el protón: por cada anión se transporta también un protón (Juel y Halestrap, 1999).

4.- El transporte de lactato aumenta cuando se eleva de forma crónica la actividad muscular, bien mediante el entrenamiento o bien mediante estimulación crónica (en animales de experimentación mediante electroestimulación muscular).

5.- El transporte de lactato disminuye con la inactividad muscular, como se ha visto que ocurre cuando existe denervación o no utilización de las extremidades.

Aunque bioquímicamente, los transportadores de lactato, y más concretamente, los transportadores de monocarboxilatos (MCTs) se han estudiado de forma intensiva con anterioridad (Enerson y Drewes, 2003), no se habían caracterizado a nivel molecular hasta hace pocos años. Desde el punto de vista molecular se han caracterizado 14 proteínas distintas (Bonen, 2006) codificadas por la familia genética humana denominada SLC16 (Halestrap y Meredith, 2004). Los genes que codifican para los transportadores de monocarboxilatos (MCTs), se agrupan dentro de la familia SLC16A de transportadores de monocarboxilatos (*monocarboxylate transporter solute carrier family 16*) que codifican para transportadores específicos de tejido. Cada MCT tiene diferencias no solo en la cinética sino también en el grado de afinidad por los sustratos e inhibidores, dependiendo

de los requerimientos metabólicos de los tejidos en los que se expresan (Price y cols., 1998).

Las isoformas MCT1 y MCT4 son las más expresadas en el músculo esquelético (Halestrap y Price, 1999; Juel y Halestrap, 1999; Bonen, 2001; Juel, 2001; Fishbein y col., 2002; Halestrap y Meredith, 2004; Bonen, 2006). La isoforma MCT1 (OMIM 600682) está codificada por el gen *SLC16A1* localizado en el cromosoma 1, y la isoforma MCT4 (OMIM 603877) está codificada por el gen *SLC16A3* localizado en el cromosoma 17. Ambas isoformas se co-expresan tanto en la membrana de las mitocondrias como en el sarcolema (Dubouchaud y col., 2000; Benton y col., 2004) y tienen diferentes propiedades cinéticas (Wilson y col., 1998). Hoy en día hay indicios para suponer la existencia de una movilización bidireccional de lactato facilitada por MCT1 (Manning Fox y cols., 2000, Cuperio y cols., 2012), pero más especializado en el transporte del lactato hacia el interior de la célula muscular (McCullagh y col., 1996; Manning Fox y col., 2000) y por tanto en su aclaramiento, mientras que el MCT4 estaría más especializado en el transporte hacia el torrente sanguíneo (Wilson y col., 1998).

Por otro lado, diferentes estudios han demostrado que el entrenamiento de resistencia y de alta intensidad incrementa la expresión de MCT1 en el músculo esquelético humano. De forma paralela a la mayor capacidad de transporte de lactato se produce un aumento de la capacidad oxidativa de las fibras musculares (Bonen y col., 1998; Pilegaard y col., 1999a; Dubouchaud y col., 2000; Green y col., 2002; Juel y col., 2004a; Thomas y col., 2005). En el estudio realizado por Thomas y colaboradores, se ha relacionado de forma experimental la expresión y la actividad del transportador MCT1 con la velocidad de aclaramiento neto de lactato sanguíneo después de ejercicios de alta intensidad (Thomas y col., 2005).

1.5.1.- MCT1. ISOFORMA 1 DEL TRANSPORTADOR DE MONOCARBOXILATOS.

En los estudios realizados por García y colaboradores, se detalla la evolución de la caracterización molecular del MCT1. En primer lugar expresaron la proteína no mutada en células cancerígenas, demostrando que catalizaba el transporte de monocarboxilatos, siendo sensible a inhibidores (García y col., 1994a), y posteriormente clonaron el transportador humano localizándolo en la banda cromosómica 1p13.2-p12 (García y col., 1994b). La proteína está formada por 494 aminoácidos con un peso Molecular de 53,180 Da. Su estructura terciaria presenta 12 dominios transmembrana hidrófobos, seis en el extremo N-terminal y seis en el extremo C-terminal, y un bucle intracelular e hidrófilo de 30 residuos sin estructura que une ambos dominios (Wilson y col., 2009). Los miembros de esta familia de transportadores presentan una mayor conservación de la secuencia en los dominios transmenbrana siendo menor en la región hidrófila (Halestrap y Price, 1999; Juel y Halestrap, 1999; Enerson y Drewes, 2003) (Figura 6).

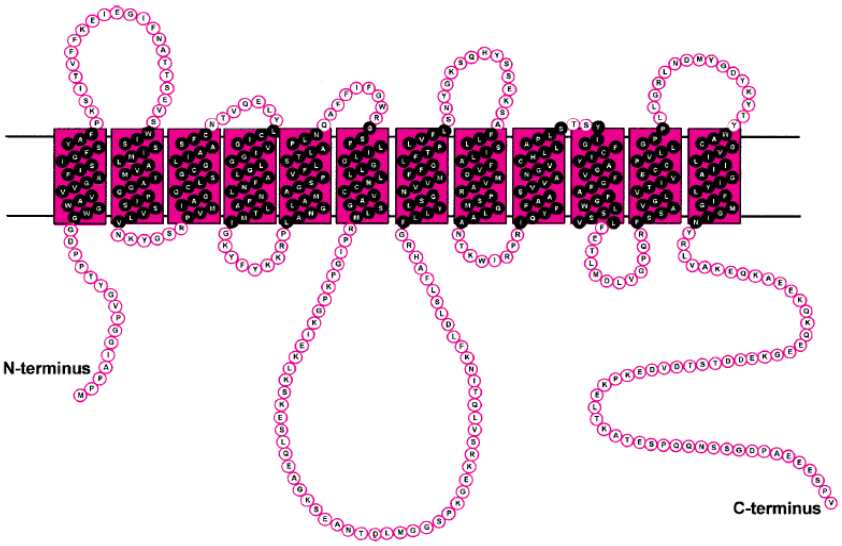


Figura 6. *Topología propuesta para la familia de los MCTs. La secuencia mostrada es la correspondiente al MCT1 humano (Tomado de Halestrap y Price, 1999).*

El mecanismo para el trasporte de lactato y el protón en el MCT1, se realiza inicialmente en el espacio extracelular con la unión del protón con el transportador, seguido por la unión del anión lactato, transportándose ambos iones a través de la membrana, y finalizando con liberación de esta secuencia en el espacio intracelular, primero el lactato y luego el protón. En la revisión realizada por Juel y Halestrap, se observa que este transporte no se produce en una sola dirección, sino que es un proceso reversible, alcanzando el equilibrio cuando el valor de la concentración de lactato a un lado de la membrana (dentro de la célula) entre la concentración de lactato al otro lado (fuera de la célula), es igual al valor de la concentración de protones en el exterior entre la concentración de protones en el interior (Juel y Halestrap, 1999), siendo el paso limitante en el transporte neto de lactato el retorno del transportador libre a través de la membrana, necesario para completar el ciclo de transporte (Halestrap y Price, 1999). El transportador es sensible al gradiente de pH estimulándose el transporte del lactato debido a la diferencia de pH entre los dos medios separados por la membrana, y en todo este proceso, la única energía necesaria para el transporte es la proporcionada por los gradientes de concentración del lactato y los protones (Poole y Halestrap, 1993).

Posteriormente, Wilson y colaboradores, han propuesto un ciclo de translocación más detallado, indicándose los aminoácidos (lisinas) a los cuales se unen el protón y el anión lactato, (Wilson y col., 2009).

1.5.1.1.- Distribución y funcionalidad del MCT1.

Para poder entender mejor la función de los transportadores de lactato, expondremos y compararemos los datos relativos a las dos principales isoformas, MCT1 y MCT4, que se expresan en el músculo humano.

Pilegaard y colaboradores, observaron que el MCT1 estaba presente tanto en fibras tipo I como en fibras tipo II, aunque con una densidad un tanto

mayor en fibras de tipo I. En un músculo dado, el contenido de MCT1 se correlacionó con el porcentaje de fibras tipo I (r=0,66), y negativamente con el porcentaje de fibras tipo IIb, sin darse ninguna correlación con las fibras de tipo IIa. En cambio, se observó una mayor cantidad de MCT4 en las membranas de las fibras tipo II, que en las fibras tipo I, y el porcentaje de MCT4 no se correlacionó con el porcentaje de ningún tipo de fibra (Pilegaard y col., 1999b). En otro trabajo, que también estudió la distribución de estos transportadores en el músculo esquelético, tal y como sucedía en el estudio anterior la isoforma MCT1 se expresaba sobre todo en fibras tipo I, pero en este caso existía una mínima expresión en las fibras tipo IIb. Por otro lado, la isoforma MCT4 se expresaba fundamentalmente en las fibras tipo IIb, y en la mayoría de las fibras tipo IIa, mientras que apenas se detectaba en las fibras tipo I. Sugieren que la expresión de MCT1 absoluta puede ser de 5 a 10 veces mayor que para otros transportadores musculares, como el MCT4 (Fishbein y col., 2002).

De estos estudios también se desprende que el contenido de MCT1 o MCT4 en un tipo de fibra dado puede ser diferente en función de su localización muscular. Fibras del mismo tipo localizadas en músculos diferentes no tienen por qué presentar la misma cantidad de transportadores MCT1 o MCT4 (Pilegaard y col., 1999b; Fishbein y col., 2002).

Estas diferencias entre ambas isoformas no se dan sólo en su distribución según el tipo de fibra muscular, sino que también se producen en su capacidad de transporte de lactato. Pilegaard y colaboradores, relacionaron en humanos, la capacidad de transporte de lactato con el tipo de fibra muscular, constatando que ésta es dependiente del tipo de fibra, siendo la capacidad de transporte de un músculo sin fibras tipo I aproximadamente el 45% de la capacidad de un músculo formado únicamente por fibras tipo I (Pilegaard y col., 1994). Posteriormente en otro estudio con ratas, se ha demostrado que la capacidad del transporte del lactato y protones en fibras lentas es aproximadamente el doble de la capacidad de transporte en fibras rápidas glucolíticas (Juel, 2001).

El MCT1 está más presente en las fibras oxidativas, lo que puede explicar su especialización en el transporte de lactato hacia el interior de la célula muscular para su oxidación (McCullagh y col., 1996), apoyado también por los niveles elevados de MCT1 observados en los miocitos cardiacos, células oxidativas por excelencia (Juel y Halestrap, 1999). En cambio, el MCT4 está más presente en las fibras glucolíticas, por lo que se le sugiere una especialización en el transporte de lactato desde la célula muscular hacia el torrente sanguíneo (Wilson y col., 1998), apoyado también por el hecho de que los leucocitos solo expresan MCT4, que son células altamente glucolíticas (Juel y Halestrap, 1999).

No obstante, como hemos comentado con anterioridad, hay indicios para suponer la existencia de una movilización bidireccional de lactato facilitada por MCT1, con una funcionalidad tanto de salida como de entrada de lactato a la célula, en el que la dirección del mismo dependería del equilibrio necesario entre el metabolismo oxidativo y la glucolisis (Manning Fox y col., 2000; Cupeiro y col., 2012). En varias investigaciones se ha descrito el movimiento del lactato en ambos sentidos facilitado por el MCT1 (Carpenter y Halestrap, 1994; Becker y Deitmer, 2008), o la correlación entre el contenido de MCT1 en el sarcolema y la liberación de lactato durante el ejercicio (Bonen y col., 1998; Dubouchaud y col., 2000; Evertsen y col., 2001).

Esta función de la isoforma MCT1 de entrada de lactato a la célula para su oxidación durante el ejercicio y la recuperación es la que da significación y peso a esta tesis doctoral.

1.5.1.2.- Factores determinantes de la expresión y de la funcionalidad del MCT1.

La expresión y la funcionalidad de los MCTs musculares, y más concretamente del MCT1, dependen de varios factores: el ejercicio físico y el entrenamiento y, la acción de factores reguladores o moduladores.

El ejercicio físico y el entrenamiento.

Los diferentes estudios realizados constatan la influencia que tienen el ejercicio físico y el entrenamiento sobre la expresión del MCT1 en el músculo esquelético, y como veremos a continuación, en su expresión influyen tanto el tipo de ejercicio, como su volumen e intensidad.

En los estudios realizados sobre modelos animales durante los últimos años se han observado cambios en la membrana del sarcolema, incrementándose la expresión de MCT1 en todo tipo de músculos, independientemente de su composición de fibras (McCullagh y col., 1997; Baker y col., 1998; Coles y col., 2004; Yoshida y col., 2004). En un estudio reciente, realizado en ratas, se ha observado que el entrenamiento de resistencia incrementa la expresión del MCT1 tanto en la membrana del sarcolema como en la membrana mitocondrial (Nikooie y col., 2013).

Por otro lado, los resultados de los estudios realizados en humanos varían en función del tipo de ejercicio físico o del protocolo desarrollado. El entrenamiento de fuerza – resistencia e hipertrofia, aumenta la expresión del MCT1 entre el 48 y el 138% (Pilegaard y col., 1999a; Juel y col., 2004a; Juel y col., 2004b). Cuando el entrenamiento es de alta intensidad tanto en carrera como en bicicleta, los incrementos en la expresión de este transportador varían entre el 28 y el 130% (Bickham y col., 2006; Burgomaster y col., 2007; Mohr y col., 2007). En cambio, esos mismo ejercicios pero con un entrenamiento de intensidad submáxima, los resultados son contradictorios, algunos estudios otorgan un aumento en la expresión del MCT1 entre el 18 y el 90% (Bonen y col., 1998; Dubouchaud y col., 2000), y otros no detectan cambios o reflejan un descenso en su expresión (Evertsen y col., 2001), por lo que se requiere más estudios sobre este tipo de entrenamiento. En un estudio más reciente, se relaciona el incremento del 9% en la expresión de este transportador con un entrenamiento de resistencia a la velocidad (Gunnarsson y col., 2012).

Varios estudios han relacionado los incrementos en la expresión del MCT1 derivados del entrenamiento con un mayor transporte de lactato (Bonen y col., 1998; Pilegaard y col., 1999a; Dubouchaud y col., 2000; Green y col., 2002; Thomas y col., 2005). Con respecto a la relación entre la mayor capacidad de transporte y el aclaramiento del lactato, Green y colaboradores, investigaron los efectos de una sola sesión de entrenamiento en las adaptaciones metabólicas del músculo vasto lateral, aplicando un entrenamiento submáximo de 5-6 horas de ciclismo, observando una reducción del lactato muscular post-ejercicio comparándolo con los datos pre-ejercicio. Durante los 6 días siguientes de recuperación los niveles de lactato, aunque aumentaron algo, continuaron por debajo de los valores pre-ejercicio. También, de esta sesión, resultaron aumentados los MCT1 y MCT4 durante los 6 días siguientes. Por lo que estos autores proponen que la menor acumulación de lactato no es el resultado de la producción de lactato, sino del incremento de su aclaramiento que dependen, entre otros factores, del aumento de los niveles de MCTs (Green y col., 2002). Posteriormente, Thomas y colaboradores, partiendo de la relación que existe entre el contenido de MCT1 con la capacidad oxidativa del músculo, en su trabajo plantean la hipótesis, de que entonces el contenido de MCT1 puede también estar asociado con el aclaramiento neto de lactato en sangre. Para verificar su hipótesis, estudiaron la relación entre la expresión de MCT1 en músculo esquelético humano y la velocidad de aclaramiento de lactato en sangre durante la recuperación de un ejercicio supramáximo, y concluyen que la expresión de MCT1 en el músculo esquelético está asociada con la velocidad constante de aclaramiento neto de lactato sanguíneo después de un test de un minuto a máxima intensidad, por lo que la expresión de MCT1 puede ser importante para el aclaramiento de lactato sanguíneo después del ejercicio supramáximo (Thomas y col., 2005).

Aunque son necesarios más estudios al respecto, en general, parece que la expresión de los transportadores tiene una respuesta rápida al entrenamiento, aumentando en la mayoría de las ocasiones tras un

entrenamiento e incluso tras una única sesión, aunque no de forma inmediata (Bishop y col., 2007).

La acción de factores reguladores o moduladores.

Estudios realizados han observado que la acción del MCT1 puede ser regulada o modulada por la presencia o la actividad de otras o varias proteínas, entre ellas destacan la basigina, la isoforma II de la anhidrasa carbónica o la testosterona

La basigina, es una proteína auxiliar de los MCTs, que influye en la actividad de estos transportatores. La basigina o CD147, es necesaria para la fijación correcta de los transportadores de membrana celular (Kirk y col., 2000; Philp y col., 2003). El transportador y su proteína auxiliar están estrechamente unidos, pudiendo ser importante esta unión para determinar la actividad y la localización de los transportadores (Kirk y col., 2000). Además, se ha observado que cuando se elimina la interacción entre ambas proteínas se inhibe el transporte de lactato por parte de los MCTs (Wilson y col., 2005). Estudios con inmunoprecipitación han mostrado a la basigina como la proteína que normalmente se asocia al MCT1 en la mayoría de los tejidos (Kirk y col., 2000; Wilson y col., 2005).

Por otro lado, la isoforma II de la anhidrasa carbónica (CAII), también parece influir en el funcionamiento del MCT1. El aumento de la cantidad de este enzima aumenta la actividad del MCT1 (Becker y Deitmer, 2008).

La testosterona, podría influir sobre la cantidad de MCTs presentes en el sarcolema. En un grupo de ratas que recibieron un tratamiento de esta hormona inyectada, y sin realizar ejercicio físico, se observó un aumento en el MCT1 y también en el transporte de lactato (Enoki y col., 2006).

1.6.- POLIMORFISMOS GENÉTICOS Y ACTIVIDAD FÍSICO – DEPORTIVA.

La variación en el desempeño deportivo de los humanos es determinada por un complejo sistema de interacciones de diversos componentes socioculturales, psicológicos y fisiológicos, los cuales a su vez se ven controlados tanto por elementos ambientales como genéticos. Aunque la clásica dicotomía gen-ambiente es una aproximación demasiado simplista para comprender en total las variaciones de los principales determinantes del rendimiento deportivo.

El genoma humano consiste en aproximadamente 20.000-25.000 genes que determinan las características estructurales y funcionales propias de nuestra especie (Stein, 2004). Con el nivel actual de conocimiento se ha determinado que existen pequeñas variaciones a nivel de la secuencia de nucleótidos en cada uno de estos genes, descritas como polimorfismos o variantes genéticas. Tal diversidad genética al interaccionar con condiciones ambientales específicas determina un fenotipo, esto es lo que explica en parte, muchas de las variaciones observadas en el desempeño físico de los humanos (Rankinen y col., 2006; Dias y col., 2007). Por ello, es creciente el interés por el estudio de las influencias de los polimorfismos sobre el fenotipo, y un área en ese campo de estudio son los polimorfismos relacionados con la actividad física y el deporte.

Numerosos estudios han demostrado o sugieren una heredabilidad significativa para caracteres de interés para la fisiología del ejercicio. Estos incluyen estudios de rendimiento aeróbico y respuesta al entrenamiento (Bouchard y col., 2000), rendimiento anaeróbico (Calvo y col., 2002), fuerza muscular y potencia (Tiainen y col., 2005), coordinación neuromuscular (Missitzi y col., 2004), densidad ósea, tamaño y composición corporal (Katzmarzyk y col., 2000; Rice y col., 2002), distribución y tipo de fibra

muscular (Barrey y col., 1999), variables cardiovasculares en las que se incluyen la presión sanguínea, bioquímica de los lípidos en sangre (Beekman y col., 2002), glucosa e insulina en sangre, sensibilidad periférica a la insulina (Freeman y col., 2003), utilización de sustratos y tasa metabólica (Goran, 2005), función pulmonar (Beall, 2000) y hormonas y respuesta hormonal al entrenamiento (Hong y col., 2001). Como resultado del análisis conjunto de estas estrategias, en la actualidad se reconocen cientos de genes con relación al rendimiento deportivo (Rankinen y col., 2006).

Las características asociadas con estos polimorfismos genéticos incluyen: medidas del rendimiento cardiorrespiratorio, función cardíaca, fuerza muscular y respuesta al entrenamiento. Adicionalmente se han descrito cinco genes asociados directamente con atletas de alto rendimiento (Rankinen y col., 2004). La velocidad del descubrimiento de genes de rendimiento parece acelerarse aún más para los próximos años, a medida que se aplican técnicas moleculares y estadísticas más sofisticadas para identificar variaciones genéticas y nuevos genes candidatos sobre cohortes grandes y bien definidas (Brutsaert y Parra., 2006).

1.6.1.- POLIMORFISMO T1470A DEL GEN PARA MCT1.

Para llegar a la descripción de las variantes genéticas de este transportador, debemos remontarnos al estudio de Fishbein, el cual, durante el proceso diagnóstico de un paciente que padecía dolor pectoral, realizó varias pruebas, observando que el transporte de lactato de sus células rojas era deficiente, y que el descenso del lactato muscular tras el ejercicio era más lento de lo normal. Concluyó que los síntomas eran debidos a una deficiencia en el transporte de lactato (Fishbein, 1986a). Posteriormente este grupo de trabajo, identificó más pacientes con sintomatología similar, alguno de los cuales sólo acusaba malestar tras la actividad física. Estos pacientes no presentaban un retraso tan marcado en la eliminación de lactato tras el ejercicio como en el primer caso, y se les suponía la presencia de

transportadores menos eficaces pero funcionales (Merezhinskaya y col., 2000).

La secuenciación del gen del MCT1 en estos sujetos posibilitó la descripción de tres variantes genéticas diferentes. Una de ellas, consistía en la sustitución de una adenina por una timina en la base 1470 (A1470T), convirtiendo un ácido glutámico en un ácido aspártico en la posición 490 de la proteína (Glu490Asp). Dicha mutación apareció también en la mitad de los 79 donantes voluntarios sanos, por lo que fue considerada como un polimorfismo, con una frecuencia alélica (0,30), muy cercana a lo esperado por la ley de Hardy-Weinberg (Merezhinskaya y col., 2000). En este estudio, no se atribuye un efecto significativo patológico asociado a la presencia de este polimorfismo genético, a pesar de que en los sujetos portadores (en los que no se describió ninguna otra mutación) se registró una velocidad de transporte de lactato por debajo del 95% del intervalo de confianza. Los investigadores atribuyeron este bajo transporte a que los sujetos se consideraron variaciones dentro de la normalidad (Merezhinskaya y col., 2000). Esta denominación inicial del polimorfismo MCT1-A1470T, en la nueva nomenclatura ha pasado a denominarse T1470A, aspecto que debe ser tenido en cuenta a la hora de definir la variante “normal” y mutada en las diferentes poblaciones caracterizadas.

Nuestro grupo ha contribuido a reconocer el papel que juegan estas variantes polimórficas del transportador de lactato MCT1 en las concentraciones plasmáticas de lactato en sujetos sometidos a ejercicios controlados de carga (Cupeiro y cols., 2010, 2012). Estas investigaciones concluyen, que los sujetos portadores de la variante A del gen MCT1, tienen un comportamiento diferente de lactato que los portadores de la variante T en la posición 1470 del gen. De acuerdo a nuestros resultados, los transportadores MCT1 con el aminoácido ácido glutámico (Glu) en la posición 490 son más activos que los que tienen el residuo de ácido aspártico (Asp) en la misma posición. En la misma línea concluye el estudio de Fedotovskaya y colaboradores, donde después de un test incremental hasta el máximo en

remoergómetro, la concentración media de lactato sanguíneo fue diferente en función del polimorfismo genético MCT1 (Fedotovskaya y col., 2013).

Resumiendo, con esta tesis doctoral se intentará ampliar el conocimiento respecto al papel del MCT1 en el transporte de lactato. Para ello, analizaremos el comportamiento del lactato durante la recuperación activa y pasiva, en sujetos caracterizados para las variantes genéticas de MCT1, asumiendo que hay diferencias en la funcionalidad del transporte de lactato entre la variante A y T (Cupeiro y col., 2010; 2012; Fedotovskaya y col., 2013). Con ello pretendemos demostrar la importancia del papel que juega el transportador MCT1 durante la fase de máximo aclaramiento de lactato en la recuperación activa tras un ejercicio físico de alta intensidad.

2.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.

El lactato producido durante un ejercicio anaeróbico láctico juega un papel importante en el organismo, y su aclaramiento plasmático es diferente durante los procesos de recuperación activa y pasiva. En el presente trabajo queremos analizar si durante el periodo de máxima velocidad de aclaramiento de lactato en la recuperación activa, la movilización del lactato está determinada por el transportador de monocarboxilatos MCT1. Para ello, analizaremos si las variantes polimórficas de este transportador pueden determinar diferencias durante las diferentes fases de la recuperación activa, pero no durante la recuperación pasiva.

2.1.- HIPÓTESIS.

Existen diferencias significativas en el periodo de máximo aclaramiento de lactato durante la recuperación activa, pero no en la recuperación pasiva, en función de la presencia del polimorfismo T1470A del gen de MCT1.

2.2.- OBJETIVOS.

Para aceptar o rechazar esta hipótesis se plantean los siguientes objetivos:

2.2.1.- OBJETIVO GENERAL.

Analizar los patrones de aclaramiento de lactato de sujetos con diferentes isoformas del Transportador de Monocarboxilatos 1 (MCT1) durante la realización de dos modalidades de recuperación (activa y pasiva), después de un esfuerzo de alta intensidad.

2.2.2.- OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

1.- Estudiar el patrón de aclaramiento del lactato en sangre capilar durante la recuperación activa, en un grupo de sujetos entrenados tras realizar una prueba de campo de alta producción de lactato.

2.- Analizar este mismo patrón de aclaramiento durante la recuperación pasiva, en un grupo de sujetos entrenados tras realizar una prueba de campo de alta producción de lactato.

3.- Comparar el aclaramiento de lactato en cada uno de los periodos de las recuperaciones (activa y pasiva) entre los diferentes grupos genéticos para el polimorfismo T1470A del MCT1.

3.- POBLACIÓN Y MÉTODOS.

3.1.- POBLACIÓN.

A partir de una muestra inicial de 24 sujetos, se seleccionó un grupo homogéneo de estudio que incluye 16 sujetos entrenados, con una media de edad de 21,7 ± 2,7 años (rango 18 – 26 años), una talla de 174,3 ± 5,9 cm (rango 167 – 186,7 cm), peso 70 kg ± 6,3 kg (rango 61 – 83 Kg). Todos ellos pertenecientes a un equipo de hockey hierba de alta competición nacional (División de Honor Masculina), y sometidos al mismo programa de entrenamiento físico.

En todos los casos se obtuvo consentimiento informado de los participantes en el que se informa sobre el carácter experimental del estudio y el uso restringido de la información obtenida en el mismo, siguiendo las directrices de la declaración de Helsinki para la investigación en humanos (World Medical Association, 2004).

3.2.- PRUEBAS DE CAMPO.

Las pruebas de campo realizadas consistieron en dos carreras de 400 metros lisos alrededor de una pista de atletismo a máxima intensidad. Ambas pruebas se realizaron en dos días consecutivos con un periodo de descanso de al menos 24 horas, y únicamente se diferenciaron entre sí por el tipo de recuperación empleada tras finalizar los 400 metros. De forma más detallada, el protocolo que se siguió en las pruebas fue el siguiente:

1º. Realización de un calentamiento que consistió en 10 minutos de carrera continua suave (autorregulada) y 5 minutos de ejercicios de estiramientos.

2º. Carrera de 400 metros lisos a máxima intensidad.

3º. Periodo de recuperación:

a. En la primera prueba se realizó una recuperación activa de 40 minutos de carrera continua a una intensidad entre el 65 y el 75% de la frecuencia cardiaca máxima teórica, calculada como 220-Edad (Fox y col., 1971).
b. En la segunda prueba la recuperación fue pasiva, los sujetos permanecieron sentados y en reposo durante 40 minutos.

En ambas pruebas se midieron los niveles de lactato en sangre capilar extraída de la yema del dedo. Para ello se utilizó el analizador portátil Accusport® y las tiras de análisis BM-Lactato (Boehringer Mannheim, Alemania), validado y aprobado para su uso en Medicina del Deporte (Bishop, 2001; Pinnington y Dawson, 2001). Antes de cada sesión de medición se calibró el analizador según las instrucciones del fabricante. Además de la muestra de reposo previa a la realización de los 400 metros, en ambas pruebas se extrajo también sangre nada más finalizar el esfuerzo (minuto 0), y en los minutos 10, 20, 30 y 40 de las recuperaciones, tanto activa como pasiva. Además, la frecuencia cardiaca de los sujetos fue registrada en todo momento con un pulsómetro Polar Accurex Plus®.

Los sujetos fueron informados previamente para que no realizasen ninguna actividad físico-deportiva intensa durante las 24 horas previas al test.

3.3.- ESTUDIO GENÉTICO.

Las muestras de ADN se han almacenado de acuerdo a la normativa sobre Biobancos RD 1716/2011 del 18 de noviembre de 2011.

Mediante venopunción se obtuvieron 5 mililitros de sangre total en EDTA, y se procedió a la extracción de DNA utilizando el protocolo descrito por Higuchi (1989).

El estudio del polimorfismo MCT1-T1470A (rs1049434) se realizó mediante secuenciación enzimática, siguiendo el protocolo descrito por

Merezhinskaya y colaboradores con ligeras modificaciones (Merezhinskaya y col., 2000).

Se procedió a amplificar un fragmento del exón 5 del gen SLC16A1 mediante la técnica de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) utilizando los siguientes oligonucleótidos: *Upstream*: 5' ACA CAT ACT GGG CAT GT G GC 3'; *Downstream*: 5' AAA TCC CAT CAA TGA ACA ACT GGT ATG ATT TCC AC 3'. La amplificación se realizó en un termociclador automático GeneAmp PCR System 2400® (Perkin Elmer, Applied Biosystems Division, Foster City, California, Estados Unidos), según el siguiente programa de ciclado: un paso inicial de desnaturalización a 95 ºC durante 5 min, a continuación 40 ciclos compuestos por 1 min a 95 ºC, 1 min a 53 ºC y 1 min y 30 seg a 72 ºC, y una fase de extensión final de 10 min a 72º C.

Al finalizar la PCR se realizó una electroforesis del producto obtenido en un gel de agarosa al 1,5 % en TBE 1x (tampón Tris-Borato-EDTA: 0.09 M Tris-Borato, 0.002 M EDTA) con Bromuro de Etidio (10 mg/ml) a 100 voltios durante 30 minutos, visualizándose en un transiluminador de luz ultravioleta para comprobar si se ha producido la amplificación correctamente.

El fragmento resultante de 350 pares de bases (bp) se purificó mediante el kit "*QIAquick PCR Purification*" de QIAGEN (Hilden, Alemania).

Por último se llevó a cabo la secuenciación de la región estudiada mediante una reacción cíclica utilizando el kit "*dRhodamine Terminador Cycle Sequencing Ready Reaction*" de Applied Biosystems (Foster City, Estados Unidos). Los productos resultantes de esta reacción se precipitaron con etanol/cloruro de magnesio, se resuspendieron en formamida desionizada y se analizaron mediante electroforesis capilar, en un secuenciador automático ABI-PRISM 310 de Applied Biosystems (Foster City, Estados Unidos). Las lecturas para los tres perfiles genéticos posibles se muestran en la figura (Figura 7).

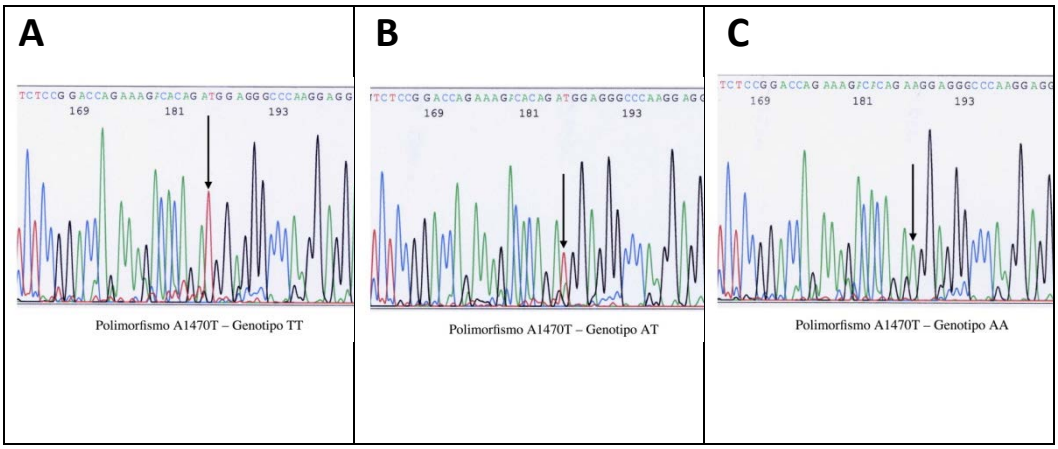


Figura 7. *Secuencias de los tres genotipos posibles para el polimorfismo T1470A (rs1049434). A. Genotipo TT; B. Genotipo TA; C. Genotipo AA*

3.4.- ANÁLISIS DE LOS DATOS

3.4.1.- CÁLCULO DE LAS VARIABLES INDIRECTAS DE LACTATO

La medición de las concentraciones de lactato se realizó cada 10 minutos con el fin de establecer fases en la curva de aclaramiento durante las recuperaciones. Para cada una de estas fases se calculó el valor absoluto de lactato aclarado (mM/L). Estos valores de lactato aclarado se calcularon restando, al valor obtenido en cada muestra, el valor obtenido en la muestra inmediata posterior. Todas ellas son reflejo de la velocidad de aclaramiento de lactato, puesto que están referidas a intervalos de tiempo de 10 minutos:

- $\Delta_{0\text{-}10}$= Cantidad de lactato aclarado entre los minutos 0 y 10. Se calculó restando el valor de lactato nada más terminar la carrera (minuto 0) menos el valor obtenido a los 10 minutos de recuperación.
- $\Delta_{10\text{-}20}$= Lactato aclarado entre los minutos 10 y 20. Valor de lactato a los 10 minutos menos el valor a los 20 minutos.
- $\Delta_{20\text{-}30}$= Lactato aclarado entre los minutos 20 y 30, por tanto es el valor registrado en la medición de los 20 minutos menos el valor a los 30 minutos.

- Δ_{30-40}= Lactato aclarado entre los minutos 30 y 40. Se obtuvo restando el valor registrado a los 30 minutos menos el valor a los 40 minutos.

3.4.2.- PROCESAMIENTO DE LOS DATOS DE FRECUENCIA CARDIACA.

Para el análisis de datos se consideró la moda como el estadístico representativo de los valores de frecuencia cardiaca durante cada una de las fases de las recuperaciones. Además, los valores de frecuencia cardiaca se consideraron en todo momento como porcentaje de la frecuencia cardiaca máxima teórica, calculada según la edad de cada participante.

3.4.3.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se presentan como media ± desviación estándar.

Para comprobar si la distribución genotípica de la muestra seguía el equilibrio de Hardy-Weinberg se empleó un test Chi-cuadrado. Para determinar la distribución de probabilidades se utilizó una test de Shapiro-Wilk, además de comprobarse la asimetría y la curtosis. Una vez realizadas estas pruebas se decidió emplear estadística no paramétrica dada la distribución de las variables y el tamaño muestral.

Con el fin de comprobar que las dos pruebas de 400 m se realizaron al mismo nivel de rendimiento y bajo condiciones similares, y que además sus recuperaciones fueron diferentes entre sí, se compararon los datos registrados en ambas con un test de Wilcoxon. Las variables comparadas fueron los tiempos empleados en completar los 400 m, los datos de frecuencia cardiaca durante las pruebas y sus recuperaciones, y los niveles de lactato en valores absolutos.

Por otro lado, se analizó la cinética del lactato a lo largo de las recuperaciones, comparando todas las variables relacionadas con el lactato (valores absolutos y cantidades aclaradas en los distintos periodos) de la

recuperación activa frente a la pasiva, y dentro de cada una de ellas, comparando los diferentes momentos entre sí. Para ello, se empleó el ANOVA de Friedman como análisis de medidas repetidas y el test de Wilcoxon como post-hoc.

Por último, se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis con la U de Mann-Whiteney como post-hoc, para comparar las siguientes variables entre los 3 genotipos (TT, TA y AA):

1º: Variables descriptivas: Edad, talla y peso.

2º: Parámetros registrados durante las pruebas de 400 m, con el fin de comprobar que el rendimiento en las mismas fue igual en los tres grupos: tiempos empleados en completar los 400 m, datos de frecuencia cardiaca durante las pruebas y sus recuperaciones, y los niveles de lactato antes e inmediatamente después de las pruebas.

3º: La cantidad de lactato aclarado en cada periodo ($\Delta_{0\text{-}10}$, $\Delta_{10\text{-}20}$, $\Delta_{20\text{-}30}$, $\Delta_{30\text{-}40}$) en valores absolutos.

En los casos en los que se requirió, el valor de significación obtenido con la U de Mann Whitney se ajustó según el método de Bonferroni-Holm.

4.- RESULTADOS.

La distribución de los genotipos para el polimorfismo T1470A del gen para MCT1 entre los 16 sujetos estudiados (TT, n= 4; TA, n= 6; AA, n= 6) cumple el equilibrio de Hardy-Weinberg (test de χ^2 = 0,907; p = 0,341). En este grupo de estudio, la frecuencia alélica para la variante T de 0,44 y para la variante A es 0,56.

El test de Kruskal-Wallis indicó que los grupos genéticos (TT, TA y AA) no se diferenciaban entre sí para ninguna variable descriptiva (edad, talla, peso y IMC) (Tabla 1).

Tabla 1. *Variables descriptivas de cada uno de los grupos genéticos (TT, TA y AA)* (media ± DE)

	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Edad (años)	21,69 ± 2,73	21,50 ± 4,04	20,83 ± 1,17	22,67 ± 3,01
Talla (cm)	174,29 ± 5,93	173,50 ± 3,70	175,45 ± 8,23	173,67 ± 5,20
Peso (kg)	70,00 ± 6,28	69,00 ± 2,00	72,00 ± 9,92	68,67 ± 3,12
IMC (kg/cm^2)	23,01 ± 1,00	22,95 ± 0,33	23,27 ± 1,47	22,80 ± 0,81

Las condiciones en las que se realizaron los dos test de campo fueron similares no observándose diferencias significativas entre la prueba activa y la pasiva para los parámetros de tiempo de realización, frecuencia cardiaca, lactato basal y lactato tras los 400 m (minuto 0). Tampoco hubo diferencias según genotipo para estas mismas variables (Tablas 2 y 3).

Tabla 2. *Valores obtenidos en el test previo a la recuperación activa para los grupos genéticos (TT, TA y AA)* (media ± DE)

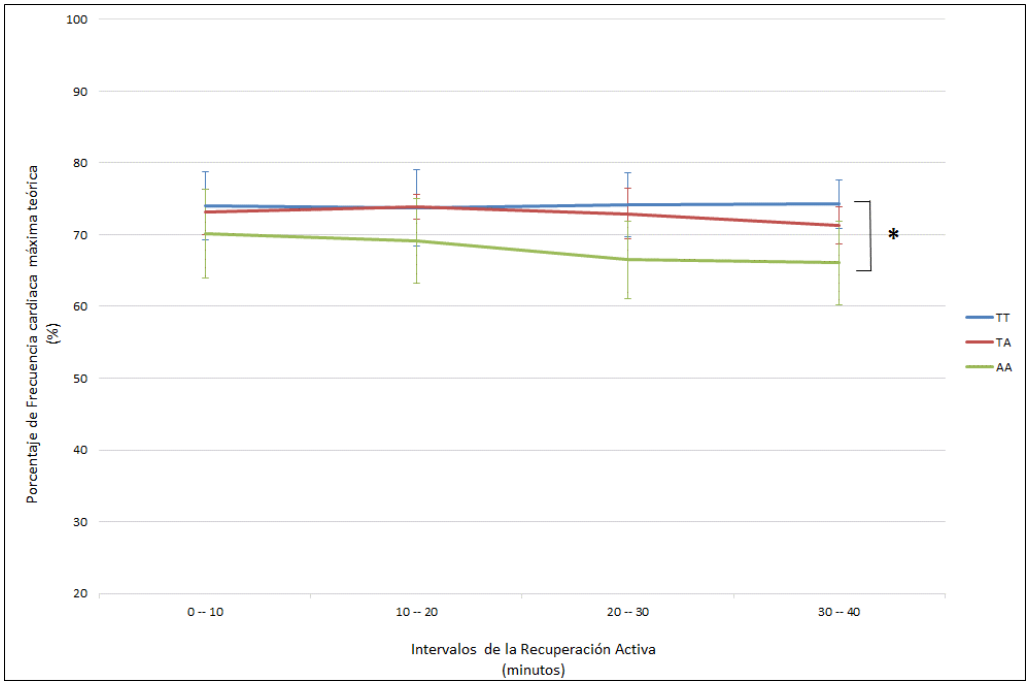
	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Tiempo en la prueba (s)	65,32 ± 4,13	62,94 ± 2,80	65,14 ± 4,89	67,09 ± 3,76
Pulsaciones al finalizar el ejercicio (ppm)	185,87 ± 7,86	180,25 ± 7,14	187,67 ± 8,38	187,83 ± 7,11
Lactato basal (mM/L)	1,39 ± 0,37	1,75 ± 0,42	1,30 ± 0,17	1,23 ± 0,37
Lactato al finalizar el ejercicio (mM/L)	11,24 ± 2,48	10,62 ± 1,51	10,60 ± 2,13	12,28 ± 3,24

Tabla 3. *Valores obtenidos en el test previo a la recuperación pasiva para los grupos genéticos (TT, TA y AA)* (media ± DE)

	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Tiempo en la prueba (s)	65,22 ± 4,05	64,13 ± 1,72	65,13 ± 4,79	66,03 ± 4,76
Pulsaciones al finalizar el ejercicio (ppm)	183,71 ± 7,67	181,00 ± 7,83	185,00 ± 8,94	184,60 ± 7,40
Lactato basal (mM/L)	1,39 ± 0,30	1,65 ± 0,30	1,32 ± 0,17	1,28 ± 0,34
Lactato al finalizar el ejercicio (mM/L)	10,97 ± 2,16	10,77 ± 2,33	11,50 ± 2,43	10,58 ± 2,07

El análisis estadístico del porcentaje de frecuencia cardiaca máxima teórica durante la recuperación activa no mostró diferencias entre los sujetos a lo largo del periodo completo de recuperación. Sin embargo, al estudiar los distintos intervalos se observó una tendencia a la significación en el último periodo: entre el minuto 30 y 40, que se mantuvo al analizar dicho datos en función del grupo genético, siendo los valores de porcentaje de frecuencia cardiaca menores en el grupo AA en comparación con el grupo TT (p=0,07) (Gráfica 1).

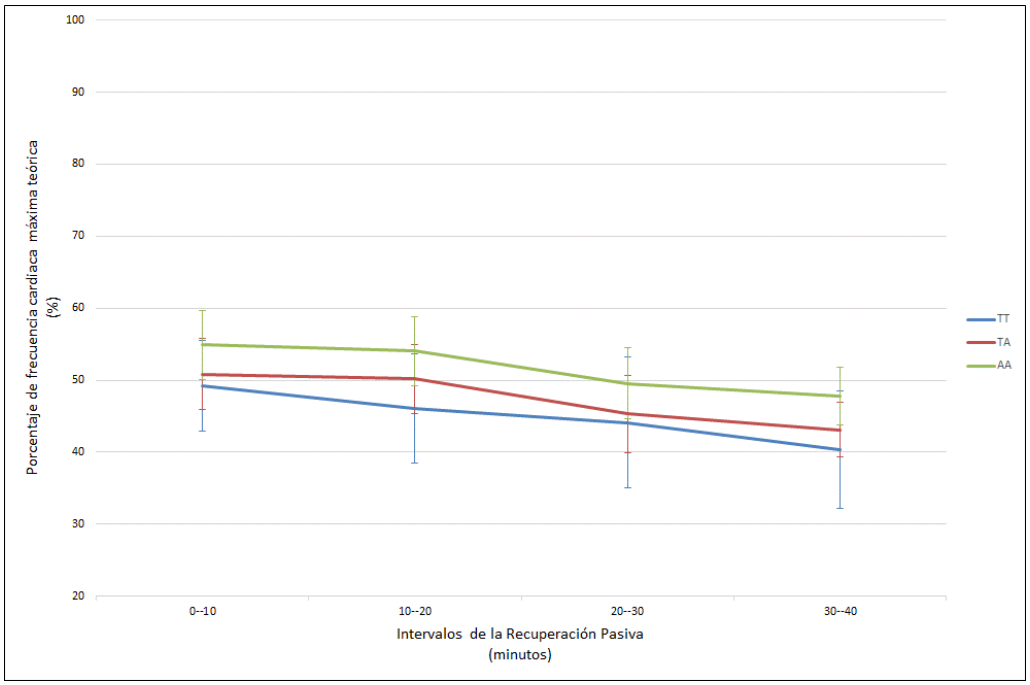
Gráfica 1: *Valores medios del porcentaje de Frecuencia cardiaca teórica máxima durante los distintos intervalos de la recuperación activa distribuidos por grupos genéticos.*



* Tendencia a la significación entre genotipos TT y AA en el intervalo comprendido entre los minutos 30 y 40 de la recuperación activa (p=0,07)

Por otro lado, el análisis estadístico del porcentaje de frecuencia cardiaca máxima teórica durante la recuperación pasiva no mostró diferencias entre los sujetos a lo largo de los intervalos, ni en función de los grupos genéticos (Gráfica 2).

Gráfica 2: *Valores medios del porcentaje de Frecuencia cardiaca teórica máxima durante los distintos intervalos de la recuperación pasiva distribuidos por grupos genéticos.*

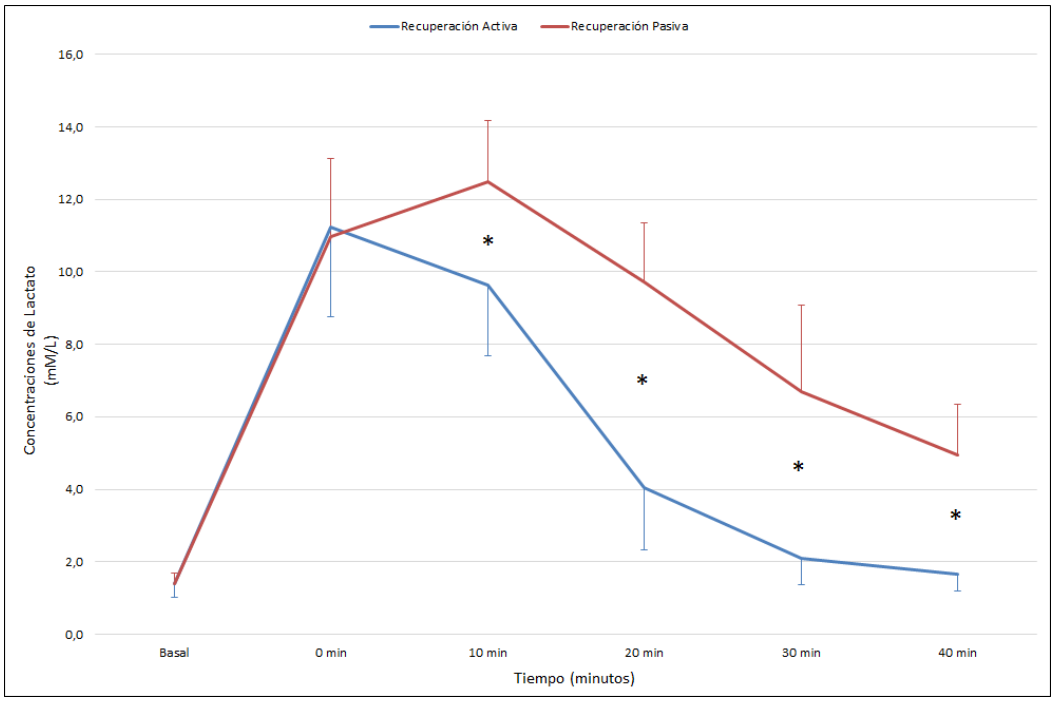


A pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas en el análisis de la frecuencia cardiaca, se observa un comportamiento diferente entre los sujetos de cada grupo definido según el genotipo de MCT1-T1470A. A pesar de que la recuperación activa se realiza con una frecuencia cardiaca controlada entre un 65 y un 75% de la frecuencia cardiaca máxima teórica, durante todo el proceso de recuperación activa la frecuencia cardiaca es mayor en los sujetos TT, mientras que durante la recuperación pasiva es mayor en los sujetos AA.

4.1.- CINÉTICA DEL LACTATO CAPILAR DURANTE LAS RECUPERACIONES ACTIVA Y PASIVA

En la gráfica 3 se muestran las concentraciones de lactato capilar obtenidas en cada punto de medición a lo largo de los dos test de campo.

Gráfica 3: *Concentraciones medias de lactato a lo largo de las pruebas con recuperación activa y pasiva*



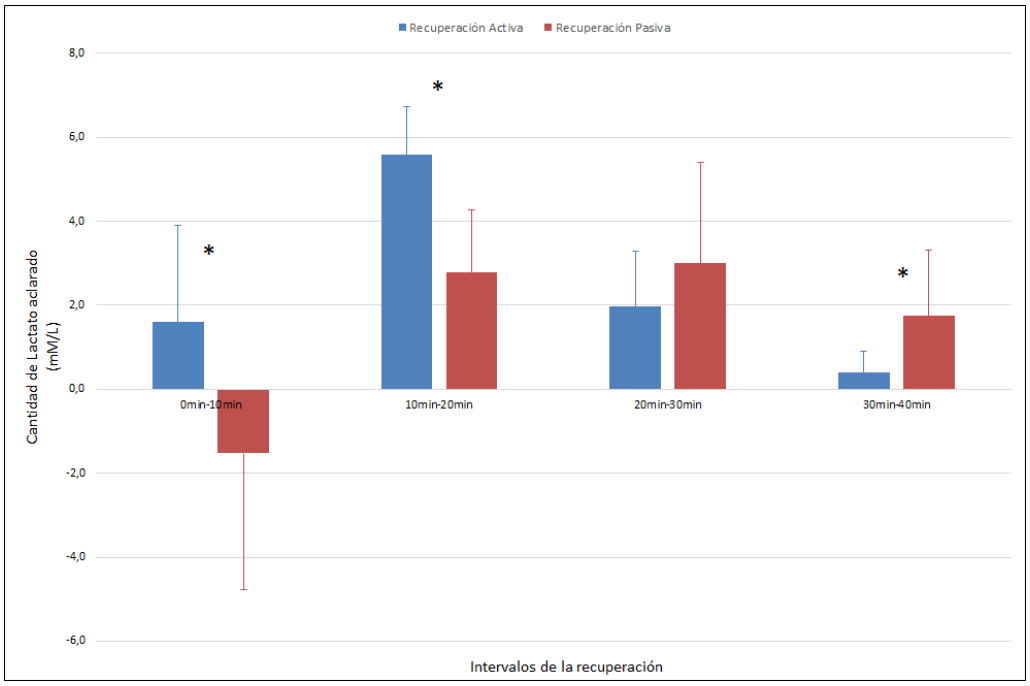
* Diferencias significativas (p≤0,005) entre los valores de lactado medidos en activa y pasiva en las distintas medidas realizadas

La prueba de Friedman indicó la existencia de diferencias entre la recuperación activa y la recuperación pasiva (p<0,001). Con el test de Wilcoxon observamos que estas diferencias se dieron entre todas las concentraciones de lactato medidas en la prueba activa frente a las medidas en pasiva (p≤0,005), salvo en la toma basal y la toma nada más terminar los 400 m (minuto 0). Además, observamos que el lactato disminuyó significativamente a lo largo de toda la recuperación activa (p≤0,016), llegando a valores basales al finalizar la misma en el minuto 40 (Gráfica 3). Sin embargo, en la recuperación pasiva las concentraciones de lactato se

mantienen elevadas hasta el minuto 10, disminuyendo significativamente en las siguientes tomas (p≤0,002) pero sin llegar a niveles basales al final de la recuperación (p<0,001).

En la gráfica 4 se representan los valores de lactato aclarado durante los distintos periodos de ambas recuperaciones (activa y pasiva).

Gráfica 4: *Cantidad de lactato aclarado durante cada periodo de las recuperaciones activas y pasivas*



* Diferencias significativas (p≤0,007) entre la cantidad de lactado aclarada en activa y pasiva en los distintos periodos.

El análisis estadístico mostró que la cantidad de lactato aclarada en los periodos de la recuperación activa fue mayor en comparación con los periodos de la recuperación pasiva (p≤0,007) excepto entre los minutos 20 y 30. Los resultados indican que, dentro de la recuperación activa, la cantidad de lactato aclarado es diferente en todos los periodos de la recuperación, excepto entre $\Delta_{0\text{-}10}$ y $\Delta_{20\text{-}30}$, y entre $\Delta_{0\text{-}10}$ y $\Delta_{30\text{-}40}$ (Gráfica 3). Como se comentó anteriormente, durante los primeros 10 minutos de la recuperación pasiva los niveles de lactato no varían significativamente, por lo que este periodo se diferencia con el resto de periodos cuando los comparamos en función de la

cantidad de lactato aclarado (p≤0,003). Sin embargo, a partir del minuto 10 en esta recuperación observamos una velocidad de aclaramiento constante, ya que no existen diferencias en la cantidad de lactato aclarado entre los tres últimos periodos ($\Delta_{10\text{-}20}$, $\Delta_{20\text{-}30}$, y $\Delta_{30\text{-}40}$).

Cuando calculamos el porcentaje de lactato aclarado en cada uno de los distintos intervalos de las recuperaciones, observamos que el mayor porcentaje se aclara en el periodo entre los minutos 10 y 20 de la recuperación activa, alcanzando alrededor del 50% del lactato máximo acumulado después del esfuerzo máximo (tabla 4).

Tabla 4. *Porcentaje de lactato aclarado en cada uno de los intervalos durante ambas recuperaciones*

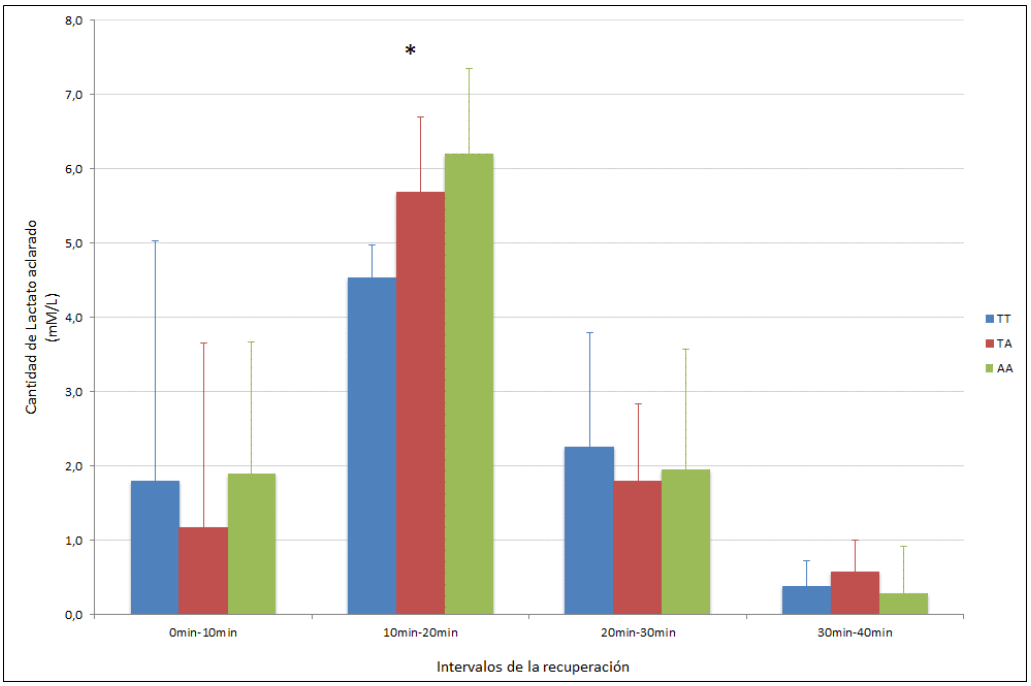
	0-10 min.	**10-20 min.**	**20-30 min.**	**30-40 min.**
Recuperación Activa	12,36 ± 19,82	48,84 ± 10,35	16,83 ± 10,51	3,51 ± 3,81
Recuperación Pasiva	-10,65 ± 22,98	21,33 ± 11,28	22,60 ± 18,79	13,61 ± 11,94

4.2.- PATRÓN DE ACLARAMIENTO DE LACTATO SEGÚN GENOTIPOS.

La prueba de Kruskal-Wallis realizada para comparar la cantidad de lactato aclarada por periodos durante la recuperación activa, únicamente mostró diferencias significativas entre grupos genéticos para el periodo entre el minuto 10 y el 20 (p=0,03). El test de Mann-Whitney posterior indicó que estas diferencias correspondían a la comparación entre los genotipos TT y AA (p=0,018) (Gráfica 5).

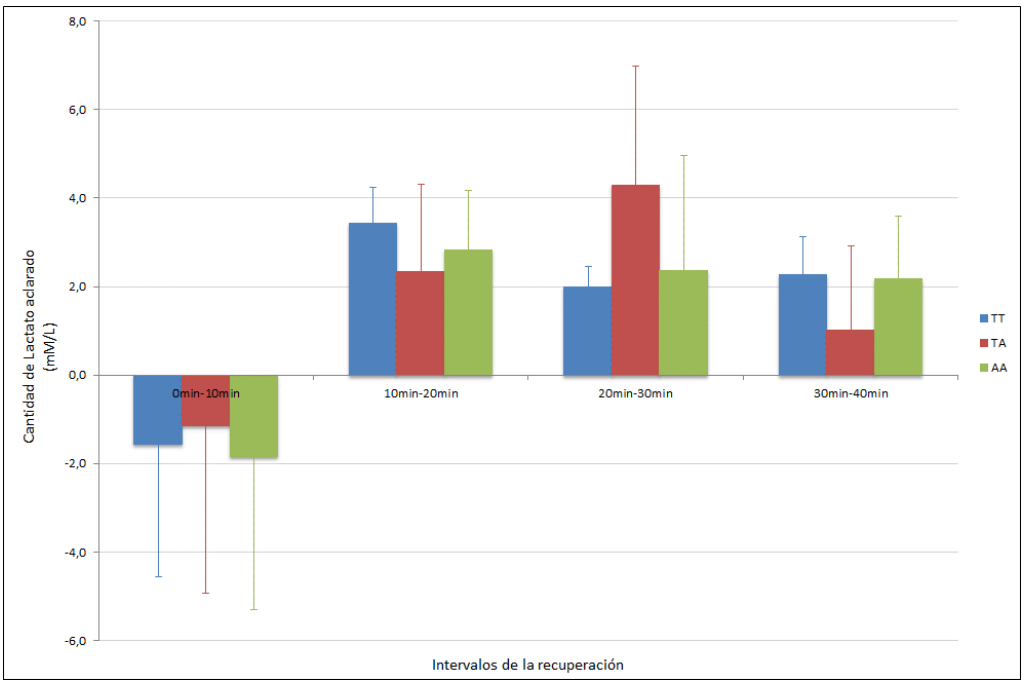
Con respecto a la recuperación pasiva el lactato aclarado en cada uno de los periodos fue similar entre todos los grupos genéticos, sin encontrarse diferencias significativas (Gráfica 6).

Gráfica 5: *Diferencias en la cantidad de lactato aclarado entre los distintos genotipos para el MCT1 durante los intervalos en la recuperación activa.*



* Diferencia significativa (p=0,018) entre la cantidad de lactado aclarada en activa entre los genotipos TT y AA.

Gráfica 6: *Diferencias en la cantidad de lactato aclarado entre los distintos genotipos para el MCT1 durante los intervalos en la recuperación pasiva.*



Cuando calculamos el porcentaje de lactato aclarado en función del genotipo de MCT1 en cada uno de los distintos intervalos de las recuperaciones, observamos que los sujetos con genotipo AA aclaran el mayor porcentaje de lactato entre los minutos 10 y 20 de la recuperación activa. Mientras que en la recuperación pasiva son los sujetos TT los que aclaran más porcentaje de lactato en dicho periodo (tabla 5 y 6).

Tabla 5.- *Porcentaje de lactato aclarado en función del genotipo en cada uno de los intervalos durante la recuperación activa.*

	0-10 min.	**10-20 min.**	**20-30 min.**	**30-40 min.**
TT	16,62 ± 27,34	40,06 ± 3,94	19,59 ± 12,53	3,11 ± 2,80
TA	8,33 ± 21,38	51,73 ± 8,66	17,46 ± 10,96	5,15 ± 3,71
AA	13,57 ± 16,94	51,79 ± 13,85	14,35 ± 11,15	2,13 ± 4,87

Tabla 6.- *Porcentaje de lactato aclarado en función del genotipo en cada uno de los intervalos durante la recuperación pasiva.*

	0-10 min.	**10-20 min.**	**20-30 min.**	**30-40 min.**
TT	-12,43 ± 21,45	26,74 ± 7,47	15,58 ± 3,98	17,34 ± 5,35
TA	-7,48 ± 26,66	17,05 ± 14,35	32,28 ± 20,28	7,68 ± 14,33
AA	-12,64 ± 23,37	22,01 ± 10,92	17,59 ± 5,07	17,06 ± 9,32

5.- DISCUSIÓN.

Este estudio es el primer trabajo que analiza el papel del transportador MCT1 durante diferentes tipos de recuperación tras un ejercicio físico de alta intensidad. Los resultados del mismo ponen de manifiesto que la mayor actividad del MCT1 se da entre los minutos 10 y 20 de la recuperación activa. Estudios previos de nuestro grupo mostraron cómo la presencia del polimorfismo del MCT1 establecía un transporte diferente de lactato desde las células musculares al torrente sanguíneo (Cupeiro y col., 2010; 2012). Esta diferencia de funcionalidad del MCT1 según el genotipo, nos ha permitido analizar su implicación en el transporte de lactato tanto en diferentes recuperaciones, activa y pasiva, como en los distintos periodos de dichas recuperaciones.

Según los datos disponibles hasta el momento, se supone que la salida de lactato desde los músculos productores hacia el torrente sanguíneo se lleva a cabo fundamentalmente gracias a los MCT4, debido a su mayor presencia en las fibras glucolíticas (Pilegaard, Terzis y col., 1999; Fishbein y col., 2002; Wilson y col., 1998). Por otro lado, se presume que el transportador MCT1 jugaría un papel más importante en la entrada de lactato en los músculos, ya que es más abundante en fibras oxidativas, y por ello supuestamente más especializado en introducir el lactato en la célula (McCullagh y col., 1996). Basándonos en estas premisas, nuestro trabajo analiza las posibles diferencias en la velocidad de aclaramiento plasmático de lactato durante un proceso de recuperación activa, en la que el lactato se utilizaría como sustrato energético con la participación del transportador MCT1, y durante un proceso de recuperación pasiva, en la que la actividad muscular es escasa con un menor flujo sanguíneo y un menor consumo de lactato por parte de los músculos.

En trabajos previos de nuestro grupo hemos demostrado que el polimorfismo T1470A del gen para MCT1 (rs1049434) determina en parte la cantidad de lactato presente en el torrente circulatorio durante sesiones de

circuitos de fuerza (Cupeiro y col., 2010; 2012). Los resultados de estos estudios indican que en los sujetos varones TT, el transporte de lactato a través del sarcolema parece ser menos eficiente que en los varones AA y TA (Cupeiro y col., 2010; 2012). Este hecho ha sido corroborado también por estudios posteriores (Fedotovskaya y col., 2013). Nuestro trabajo utiliza esas diferencias de funcionalidad del MCT1, para estudiar el papel que juega dicho trasportador durante la recuperación, tanto activa como pasiva, tras un ejercicio de alta intensidad.

Por otra parte, los resultados de esta investigación se han obtenido a partir de una población muy homogénea. Los sujetos estudiados tienen una historia deportiva similar, pertenecen a un mismo equipo deportivo de alta competición, y durante varios años han seguido un mismo protocolo de entrenamiento, tanto en volumen como en intensidad, lo que permite eliminar muchos factores de confusión. El diseño del estudio y la ausencia de diferencias en las variables antropométricas (edad, talla, peso e índice de masa corporal), fisiológicas (frecuencia cardiaca y lactato) y de rendimiento (tiempos en las dos pruebas de 400 metros) garantizan la comparación entre sujetos y entre ambas pruebas, lo que posibilita obtener datos objetivos atribuibles en gran medida a las diferentes isoformas de MCT1.

La actividad física elegida para generar gran cantidad de lactato plasmático correspondió a la realización de una carrera de 400 metros lisos a máxima intensidad, en la que los participantes de nuestro estudio emplearon entre 64 y 66 segundos para completar la prueba. Este diseño es muy similar al de estudios previos que analizaron la cinética del lactato tras esfuerzos muy intensos (Thomas y col., 2004; 2005; Parouty y col., 2010).

De acuerdo a estas premisas, nuestro estudio analiza el papel del MCT1 en la movilización de lactato desde el plasma al músculo durante el proceso de recuperación tras un ejercicio de alta intensidad. El diseño de nuestro trabajo evita posibles factores de confusión derivados de las

diferencias en la producción y acúmulo de lactato en plasma permitiendo iniciar el proceso de recuperación de manera homogénea.

Al comparar las curvas de lactato de ambas recuperaciones (activa y pasiva), nuestros resultados muestran que la recuperación activa es más eficiente que la pasiva para aclarar el lactato acumulado después del ejercicio de alta intensidad. Por tanto, nuestras observaciones refuerzan investigaciones previas, donde se comparaba la recuperación activa y pasiva, y que establecieron que la recuperación activa era el medio más eficaz para el aclaramiento del lactato (Gisolfi y col., 1966; Hermansen y Stensvold, 1972; Belcastro y Bonen, 1975; Stamford y col., 1981; Dodd y col., 1984; Peters y col., 1987; Bangsbo y col., 1994; Monedero y Donne, 2000; Franchini y col., 2003; McAinch y col., 2004; Siegler y col., 2006; Greenwood y col., 2008; Menzies y col., 2010).

Durante la recuperación activa existen diferencias significativas entre los valores absolutos de lactato en todas las tomas de medición, aclarándose lactato hasta los 40 minutos de la recuperación en que se alcanzan niveles equivalentes al lactato inicial. Martin y col. (1998) obtiene resultados similares, encontrando diferencias significativas en los valores absolutos de lactato durante la recuperación activa. Por otro lado, cuando analizamos la recuperación pasiva, observamos diferencias significativas en el aclaramiento del lactato a partir del minuto 10 y se mantiene durante todo el periodo observado (40 minutos). La falta de significación en las cantidades de lactato durante las primeras etapas de la recuperación pasiva puede atribuirse a que hasta el minuto 10 de iniciada la recuperación los cambios en los niveles de lactato dependen de múltiples factores bioquímicos, de adaptación cardiovascular y de salida del lactato desde el músculo al torrente circulatorio (Oyono-Enguelle y col., 1990), es decir, el lactato tiene un comportamiento variable. A partir de ese periodo es cuando el lactato plasmático se encuentra en equilibrio con el lactato de los músculos que han participado en el ejercicio (Gollnick y col., 1973). Nuestros resultados muestran esta circunstancia, sobre todo en la recuperación pasiva, en donde algunos sujetos acumulan, otros

mantienen y otros disminuyen el lactato durante los primeros diez minutos, y a partir de ese momento, se observa un aclaramiento de lactato más homogéneo. Estos datos coinciden con la interpretación de los resultados en estudios previos (Thomas y col., 2004; 2005). Finalmente cuando comparamos los datos absolutos en ambas recuperaciones existen diferencias significativas en todas las tomas de lactato, excepto en el inicio de la recuperación (a los 0 minutos). Este resultado nos confirma que el esfuerzo realizado en ambas pruebas por los sujetos estudiados fue similar y las diferencias encontradas en el resto de las tomas de lactato se deben al tipo de recuperación realizada.

Por otro lado, nuestros resultados muestran cómo el tipo de recuperación, activa o pasiva, influye en el momento en el cual los sujetos alcanzan el pico máximo de lactato. Realizando una recuperación activa, el 75% de los sujetos alcanzan el pico máximo de lactato en la medición realizada nada más finalizar el ejercicio. Cuando estos mismos sujetos realizan una recuperación pasiva, sólo el 30% de ellos alcanzan su pico máximo de lactato en dicha medición, mientras que el 70% lo alcanzan a los 10 minutos de iniciada la recuperación. El análisis de investigaciones previas muestra coincidencia con nuestros resultados, observándose, durante la recuperación pasiva, un aumento en los valores absolutos de lactato en los primeros minutos de iniciado el periodo de recuperación (Martin y col., 1998; Baker y col., 1991; Thomas y col., 2004; 2005). Suponemos que estas diferencias entre ambos tipos de recuperación se deban al inicio del aclaramiento de lactato en la activa, y están condicionadas entre otros factores, por el transporte del MCT1, facilitando la entrada del lactato al sarcoplasma y aclarándolo mediante oxidación. No obstante, aunque el papel del MCT1 tenga influencia en todo el proceso de recuperación activa, consideramos que las posibles diferencias en la eficacia de MCT1 pueden ser más determinantes a partir de los 10 minutos, momento del equilibrio entre el lactato muscular y sanguíneo (Gollnick y col., 1973).

Por otro lado, la mayor cantidad de lactato aclarado en los distintos intervalos de la recuperación activa se da entre los minutos 10 y 20 de la

misma, aclarándose alrededor del 50% de todo el lactato acumulado durante el ejercicio. Este resultado es similar al que se obtiene en otros estudios que demuestran que el mayor porcentaje de lactato aclarado se produce en este periodo (Baker y col., 1991; Micklewright y col., 2006). Analizando la cantidad de lactato aclarado en los dos primeros intervalos de iniciado el proceso de recuperación activa, observamos que los sujetos han aclarado más de un 60% del valor de lactato máximo registrado tras el ejercicio. Nuestros datos también son concordante con estudios previos donde se demuestra que la mayor parte del lactato se aclara en los primeros veinte minutos (Baldari y col., 2004; 2005). Durante este periodo de la recuperación activa (entre el minuto 0 y el minuto 20), el principal destino del lactato que se aclara es la oxidación por parte de las fibras musculares que participan en ese proceso.

A partir del minuto 20 de recuperación, además de la oxidación muscular cobrarían importancia otros procesos como la gluconeogénesis, y otros órganos, como el miocardio, el hígado o los riñones (Gladden, 2000, 2004). En nuestro estudio, encontramos diferencias significativas en el lactato aclarado entre los dos últimos periodos (entre el minuto 20 y el 40), siendo las cantidades aclaradas sensiblemente inferiores, solamente el 20% del lactato máximo.

En cambio, en la recuperación pasiva, sólo se encuentran diferencias en la cantidad de lactato aclarado durante el intervalos 0-10 con el resto de los periodos, ya que durante dicho intervalo se produjo un aumento del lactato plasmático. Sin embargo, en el resto de los periodos la cantidad de lactato aclarado es similar. Por otro lado, el lactato aclarado al final de los 20 minutos de esta recuperación alcanzó únicamente el 21,3%. Similares resultados obtuvieron Micklewright y col. (2006), donde el 23,4% de lactato se había aclarado a los 20 minutos de la recuperación pasiva.

Finalmente cuando comparamos la cantidad de lactato aclarado en ambas recuperaciones observamos que existen diferencias significativas en todos los intervalos, excepto en el periodo 20-30. Esta circunstancia se debe a

que durante la recuperación activa, la mayor cantidad de lactato aclarado en los intervalos previos provoca que durante este intervalo se hayan alcanzado valores de lactato cercanos a los obtenidos al inicio de la prueba. De tal manera, que al finalizar la recuperación activa, se ha aclarado el 82% del lactato máximo acumulado tras la prueba, mientras que en la recuperación pasiva sólo se aclaró el 58%.

Uno de los factores que puede influir en la tasa de aclaramiento de lactato, es la intensidad del ejercicio durante la recuperación activa (Bonen y col., 1979). En estudios previos se emplean diferentes parámetros fisiológicos para establecer la intensidad óptima de la recuperación activa en el aclaramiento del lactato plasmático después del ejercicio intenso (Hermansen y Stensvold, 1972; Bonen y Belcastro 1976; Boileau y col., 1983; Dodd y col., 1984; Baldari y col., 2004; Baldari y 2005; Menzies y col., 2010). Varias investigaciones recomiendan utilizar entre el 25-63% del consumo máximo de oxígeno como la intensidad óptima para el aclaramiento del lactato plasmático (Hermansen y Stensvold, 1972; Bonen y Belcastro 1976; Boileau y col., 1983). Desde el punto de vista fisiológico, existe una correlación entre el consumo máximo de oxígeno y el porcentaje de frecuencia cardíaca máxima (Keytel y col., 2005; Cunha y col., 2010), por lo que podríamos definir los intervalos de frecuencia cardiaca máxima que equivalen a dicho rango de consumo máximo de oxígeno. Keytel y col., establecen que el 35% del consumo máximo de oxígeno equivale al 57% de la frecuencia cardiaca máxima, y un 62% del consumo máximo de oxígeno se relaciona con un 77% de la frecuencia cardiaca máxima. De acuerdo con esta correlación, en nuestro estudio todos los sujetos emplearon una intensidad de recuperación activa entre el 66 y 74% de la frecuencia cardiaca máxima, encontrándose en el rango del consumo máximo de oxigeno recomendado.

Analizando el aclaramiento neto de lactato en cada uno de los intervalos de 10 minutos de las recuperaciones, vemos cómo durante la recuperación activa la cantidad de lactato aclarado por los sujetos AA es significativamente mayor que la que aclara el grupo TT.

Desde los trabajos de McCullagh y colaboradores se conoce el protagonismo que tiene el MCT1 en el transporte de lactato (McCullagh y col., 1996). Los datos de nuestro estudio añaden que el papel de este transportador cobra más importancia durante un periodo concreto de una recuperación activa, siendo el transporte mayor en los portadores del alelo A. Esta isoforma es la que trabajos previos definieron como la relacionada con una mayor actividad del transportador (Cupeiro y col., 2010; 2012; Fedotovskaya y col., 2013). Los resultados obtenidos sugieren que el MCT1 juega un papel determinante en el aclaramiento de lactato por parte del músculo, durante los minutos 10 y 20 de una recuperación activa. No parece que en otros periodos de la recuperación activa, ni durante la recuperación pasiva, el transportador de MCT1 tenga un papel determinante, o al menos no estaría influido por la variante polimórfica.

En todos los genotipos (TT, TA y AA), el porcentaje de aclaramiento a los 20 minutos supera el 56% durante la recuperación activa (TT 57%, TA 60% y AA 65%), mientras que durante la recuperación pasiva el porcentaje de lactato neto aclarado es menor, sin superar en ninguno de los grupos el 28% (TT 27%, TA 17%, AA 22%). Lo mismo sucede a los 40 minutos, superando el 79% durante la recuperación activa (TT 80%, TA 83%, AA 82%) y sin alcanzar el 61% durante la recuperación pasiva (TT 60%, TA 57%, AA 57%). Con este análisis podemos sugerir que, a pesar de la menor función atribuida a MCT1 en los sujetos TT, este transportador sigue siendo importante en la movilización de lactato. No suponemos que los sujetos TT hubiesen desarrollado otros mecanismos de compensación para llevar a cabo este transporte de lactato.

Analizando el comportamiento de la frecuencia cardiaca de los participantes en el estudio, se aprecia un comportamiento diferente en el porcentaje de frecuencia cardiaca máxima teórica durante la recuperación activa entre los sujetos del grupo AA y los sujetos del grupo TT. Observamos que los porcentajes de frecuencia cardiaca son menores en los sujetos AA que en los sujetos TT en todos los intervalos de la recuperación, existiendo una

tendencia a la significación en el intervalo entre los minutos 30 y 40. Esto se puede deber al uso del lactato como sustrato energético por parte del miocardio, siendo el corazón de los sujetos AA más eficiente durante el proceso de recuperación activa. En cambio, durante la recuperación pasiva, el comportamiento se invierte siendo los valores del porcentaje de la frecuencia cardiaca en los sujetos TT menores que en los sujetos AA. Aunque se requieren estudios que expliquen esta circunstancia, suponemos que es debido a que los sujetos TT pudieran tener una mayor masa miocárdica que justifique una mayor fracción de eyección y por tanto presentan una menor frecuencia cardiaca para un mismo gasto cardiaco.

Aunque con nuestros resultados no podemos asociar un efecto al alelo T, estudios recientes indican una mayor prevalencia del alelo T en deportistas de velocidad/potencia respecto a deportistas de resistencia y voluntarios sedentarios (Fedotowskaya y col., 2013; Sawczuk y col., 2014). Además, se ha observado que altos niveles de lactato pueden inducir la expresión de genes asociados con la hipertrofia muscular (Madarame y col., 2010). Tomando estos datos en conjunto, y la interpretación de la menor frecuencia cardiaca en los sujetos TT durante la recuperación pasiva de nuestros resultados, se podría sugerir que los sujetos con la variante T podrían tener potenciados tanto la síntesis de glucógeno intramuscular como el efecto trófico del lactato intracelular. Estos sujetos podrían tener mayor rendimiento en actividades de potencia, explosivas o que requiriesen una activación de grupos musculares de forma analítica. Por lo tanto, la variante T no tendría por qué suponer una desventaja, tal y como sugerían estudios previos (Cupeiro 2010, 2012).

Así pues, vemos que la presencia de uno u otro alelo del polimorfismo T1470A del *MCT1* pudieran conllevar ventajas diferentes a la hora de realizar ejercicios físicos. De esta forma, y con los datos disponibles hasta el momento, la presencia de una u otra variante podría determinar en parte el rendimiento de un deportista, condicionado también por otros factores como su historial de entrenamiento deportivo, su alimentación, el tipo de fibras musculares que posee, etc.

En las investigaciones donde se ha estudiado la prevalencia de este polimorfismo en la población general, se ha observado un alta presencia del alelo A con una frecuencia alélica entre el 60-70%, y de la variante T entre el 30-40% (Merezhinskaya, 2000; Lean, 2009; Fedotovskaya y col., 2013; Sawczuk, 2014). Sin embargo, en estudios realizados en población deportistas, las frecuencias alélicas para ambas variantes se distribuyen de forma más equilibrada 50-55% del alelo A y el 45-50% del alelo T (Cupeiro y col., 2010; 2012; Sawczuk, 2014). Los resultados de nuestro estudio son similares a los realizados en estos últimos trabajos. Presumiblemente lo que condiciona que en unas poblaciones se haya seleccionado la presencia de una u otra forma polimórfica es el tipo de actividad física y el rendimiento que precise. Probablemente, en aquellas poblaciones, en las que sea relevante una alta utilización de lactato como sustrato energético existirá una presión positiva que favorece la presencia de la variante A. En cambio, en aquellas poblaciones, en las que el tipo de actividad física o bien sea menos demandante desde el punto de vista energético, o bien implique la utilización de grupos musculares específicos, existiría un mayor beneficio asociado a un menor reparto del lactato producido, seleccionándose de forma preferente los sujetos portadores de la variante T. Respecto a la distribución de las variantes alélicas es interesante destacar la variabilidad que se describe en función del tipo de actividad de la población deportista estudiada (Fedotovskaya y col., 2013)

Por otro lado, queremos señalar que en este estudio se analiza el comportamiento en función de la variante polimórfica del transportador MCT1, y no se han controlado variables como la expresión de dicho gen o el tipo de fibra muscular, por lo que no podemos concluir que el efecto del polimorfismo sea directamente sobre la eficiencia del transportador. Desde un punto de vista biológico con este estudio podemos establecer de forma concordante con otros estudios, que el polimorfismo MCT1-T1470A condiciona o está claramente asociado con diferencias funcionales en la actividad del transportador (Cupeiro y col., 2010; 2012; Fedotovskaya y col.,

2013). Como hemos comentado, desconocemos si esta variación funcional asociada al polimorfismo tiene un efecto sobre la calidad y cantidad de la proteína transportadora. En cualquier caso, nuestros resultados sugieren que los sujetos con genotipo AA movilizan una cantidad neta de lactato significativamente superior a los sujetos con genotipo TT en un periodo concreto de una recuperación activa.

De forma muy general, y teniendo en cuenta todos los resultados referentes al MCT1 y el polimorfismo descrito aquí, los sujetos podrían ser caracterizados como “buenos aclaradores” / “buenos utilizadores” de lactato, o “malos aclaradores” / “malos utilizadores” de lactato. Dicho de otro modo, sujetos con alta capacidad de aclaramiento o alta disponibilidad energética dependiente del lactato, y sujetos con baja capacidad de aclaramiento o baja disponibilidad energética dependiente del lactato. Esta circunstancia, junto con el análisis de otros factores (nivel de entrenamiento, sexo, historial deportivo, etc.) nos permitiría reconocer a los sujetos y poder dar indicaciones más individualizadas y específicas a su programa de entrenamiento. Es por ello que, a la hora de tomar decisiones derivadas de la determinación aislada del lactato circulante como indicador de intensidad o esfuerzo realizado, se deberían tener también en cuenta factores ligados a la eficiencia de su transporte.

Aunque son muchos los factores que pueden intervenir en el aclaramiento plasmático y muscular del lactato, nuestro trabajo demuestra que el transportador de monocarboxilatos 1 (MCT1) es crítico durante el periodo de recuperación activa en el que se aclara más lactato y a mayor velocidad (del minuto 10 al 20 de la recuperación). Pequeñas variaciones funcionales de MCT1 relacionadas con la presencia del polimorfismo T1470A, condicionan cambios significativos en su capacidad de transporte. Estos resultados tienen una potencial aplicación en el diseño de programas de entrenamiento, al igual que en la orientación deportiva de actividades dependientes de la capacidad de movilización del lactato.

Desde un punto de vista práctico, el análisis genético para este SNP podría tener las siguientes implicaciones en la planificación de los programas entrenamiento y competición:

1.- *Disponibilidad energética*. Durante la actividad física, la utilización del lactato como sustrato energético por parte del músculo, ahorraría glucógeno durante la propia actividad. Este glucógeno se reservaría por tanto para momentos más decisivos e intensos dentro de la competición (Miller y col., 2002a; Miller y col., 2002b). Según la bibliografía, así como nuestros propios resultados, esta situación es la que tendrían los sujetos portadores de la variante A. La oxidación del lactato como fuente de energía proporcionaría un apoyo a la oxidación de carbohidratos en actividades con intensidades menores al VO_2 máximo, como una maratón (Brooks, 2007).

2.- *Acidosis metabólica.* Puesto que el transporte de lactato a través de los MCTs va unido al transporte de protones en una relación 1:1 (Juel y Halestrap, 1999), los resultados del presente trabajo también pueden tener implicaciones sobre la denominada acidosis metabólica. Desde este punto de vista, eliminar el lactato y los protones del torrente sanguíneo con una recuperación activa podría ser determinante en actividades deportivas donde se realizan varias competiciones en una misma mañana o un mismo día, si el periodo de tiempo entre ambas es pequeño (atletismo, natación, judo, etc.). Además, un mayor transporte de lactato por parte de los MCT1 implicaría una mayor eliminación de los protones del torrente sanguíneo. Esto permitiría una mayor difusión de protones desde los miocitos activos hacia la sangre, puesto que su transporte está determinado por gradiente de concentración (Juel y Halestrap, 1999).

6.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO.

Tras el análisis y la discusión de los resultados, podemos tener una visión crítica del trabajo, de la cual se desprenden las principales limitaciones, que enunciamos a continuación:

1.- *Derivados del tamaño muestral*. El grupo inicial de sujetos reclutados era de 24 jugadores, descartándose 8 sujetos que no cumplían los criterios básicos de control ni de rendimiento durante los entrenamientos. Los 16 sujetos incluidos en este estudio han sido jugadores de alto rendimiento, con un programa de entrenamiento homogéneo y excelente cumplimiento de los objetivos planteados en los protocolos de entrenamiento. Se ha buscado la máxima homogeneidad entre los sujetos participantes en el estudio con el fin de minimizar el efecto del entrenamiento sobre la producción y aclaramiento de lactato. Los 16 jugadores incluidos en el estudio han sido constantes y controlados, tienen un rendimiento deportivo similar durante los entrenamientos.

2.- *Derivados de la toma de lactato*. La determinación de lactato mediante un aparato portátil y tiras reactivas puede estar sometida a variaciones derivadas de la técnica. Dado que el estudio no se ha realizado en un laboratorio, sino que es un trabajo de campo, es obligado utilizar este tipo de técnicas. No obstante, el hecho de que todas las determinaciones la realizase la misma persona, en las mismas condiciones y con el mismo equipo de uso exclusivo para este estudio, minimiza este tipo de errores. Las determinaciones obtenidas para cada sujeto son múltiples y secuenciales, lo cual permite establecer un control de calidad. Los resultados que hemos obtenido son equivalentes a otros estudios de laboratorio y/o de campo e incluso más consistentes.

3.- *Derivados de la intensidad de actividad durante la recuperación activa.* No se pueden extraer conclusiones definitivas sobre la relación

que pudiera existir entre la frecuencia cardiaca registrada y la intensidad de la recuperación durante la recuperación activa. En el diseño del estudio optamos por utilizar el porcentaje de la frecuencia cardiaca máxima teórica. Tratándose de sujetos entrenados, la frecuencia cardiaca máxima sobre la que se hace el cálculo puede no corresponderse con la frecuencia cardiaca máxima real de algunos sujetos.

4.- *Derivados de la estimación de la actividad proteica de MCT1 en función del polimorfismo genético.* Aún no se dispone de una proteína cristalizada ni se han realizado estudios de mutagénesis dirigida que permitan definir de forma absoluta el papel del polimorfismo en la actividad de MCT1. Las conclusiones que extraemos de nuestro estudio y que atribuyen un papel funcional al polimorfismo genético T1470A, se basan en estudios previos. Por tanto, como no se dispone de estudios funcionales, no podemos descartar que realmente el papel asignado al polimorfismo se deba a una asociación indirecta basada en un ligamiento en desequilibrio. Sin embargo, de acuerdo a los resultados de nuestro estudio, no existe ninguna duda, de que la caracterización para este polimorfismo genético permite identificar dos poblaciones de sujetos con un diferente comportamiento del lactato durante la recuperación. Por tanto, este polimorfismo de MCT1 puede estar relacionado con el rendimiento deportivo, ya que tiene una influencia sobre un metabolito crítico (el lactato).

5.- *Selección de la muestra.* No podemos considerar que la población estudiada sea representativa de la población general. Se trata de un grupo de deportistas de alto rendimiento, con un programa de entrenamiento específico y controlado, pero que además debido al origen de la muestra (club social) tiene un alto grado de parentesco. Esta circunstancia más que una limitación lo podemos considerar una fortaleza, ya que esta circunstancia implica que la muestra sea más homogénea, teniendo además suficientemente representados los tres

genotipos. Por tanto, no podemos extrapolar los resultados de frecuencia a la población general, pero sí podemos extrapolar los resultados del impacto del transportador MCT 1.

6.- *Derivado del estado nutricional de los sujetos.* Aunque en todos los sujetos se ha controlado el entrenamiento, el momento de realización de las pruebas, el periodo de descanso entre pruebas, etc., la dieta ha sido estándar, no controlada. Son sujetos que durante el periodo de realización del estudio seguían una dieta normal, propia de un sujeto sano, deportista, pero no ha existido un control ni registro dietético al no considerarse que fuese un factor crítico relevante para los objetivos planteados en este estudio.

7.- FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN.

Del desarrollo del presente trabajo han surgido nuevas ideas y líneas de investigación para evaluar el impacto del lactato como sustrato energético, su potencial valor como metabolito trófico y su aspecto de biomarcador de hipoxia y/o fatiga, en relación con la mayor o menor eficacia de los transportadores de lactato.

En el futuro trasladaremos nuestras observaciones al ámbito clínico, para estudiar el posible impacto de las variantes polimórficas del gen del MCT1 sobre el miocardio y su impacto en situaciones de lactacidemia. Considerando el papel que demostramos juega MCT1 en la disponibilidad de sustratos oxidativos del músculo, el próximo estudio sería analizar el impacto que tiene la presencia del MCT1 en el músculo miocárdico, el músculo oxidativo por excelencia.

Además, en este estudio hemos observado la posible influencia en la frecuencia cardiaca en función de la variante polimórfica tanto durante el periodo de recuperación pasiva como activa. Un futuro trabajo podría ir encaminado a correlacionar el papel del transportador MCT1 con el gasto cardiaco y a analizar la utilización del lactato por parte del corazón como sustrato energético durante los periodos de recuperación.

8.- CONCLUSIONES.

1.- Tras un ejercicio anaeróbico intenso, manteniendo una actividad muscular de baja-moderada intensidad (recuperación activa), se aclara un mayor porcentaje de lactato sanguíneo que durante un proceso de recuperación pasiva. Se atribuye un mayor protagonismo a los transportadores de lactato durante la recuperación activa.

2.- Una vez alcanzado el equilibrio entre el lactato intracelular y plasmático (primeros 10 minutos), en el intervalo comprendido entre el minuto 10 y el minuto 20 de la recuperación activa se produce una mayor tasa de aclaramiento de lactato plasmático, aclarándose alrededor del 50% de todo el lactato acumulado tras el ejercicio.

3.- Para este mismo periodo de tiempo de la recuperación activa, los sujetos AA para el polimorfismo T1470A de MCT1 tienen un aclaramiento de lactato significativamente superior a los sujetos TT, lo cual puede ser atribuido a un transporte más eficaz de lactato a través de la fibra muscular en los sujetos con el alelo A.

5.- Durante la recuperación pasiva, no existen diferencias significativas en el aclaramiento de lactato para cada grupo genético en ninguno de los intervalos de tiempo estudiados.

6.- El comportamiento de la frecuencia cardiaca durante la recuperación es diferente entre los sujetos de cada grupo definido según el genotipo de MCT1-T1470A. Durante todo el proceso de recuperación activa la frecuencia cardiaca es mayor en los sujetos TT mientras que durante la recuperación pasiva es mayor en los sujetos AA.

Aunque son muchos los factores que pueden intervenir en el aclaramiento plasmático y muscular del lactato, nuestro trabajo demuestra que el transportador de monocarboxilatos 1 (MCT1) es crítico durante el periodo de recuperación activa en el que se aclara más lactato y a mayor velocidad. Estos resultados tienen una potencial aplicación en el diseño de programas de entrenamiento, al igual que en la orientación deportiva de actividades dependientes de la capacidad de movilización del lactato.

9.- BIBLIOGRAFÍA.

Ästrand, P. O., Hultman, E., Juhlin-Danfelt, A. & Reynolds, G. (1986). Disposal of lactate during and after strenuous exercise in humans. *Journal of Applied Physiology, 61,* 338-343.

Baker, J. S., McCormick, M. C. & Robergs, R. A. (2010). Interaction among skeletal muscle metabolic energy systems during intense exercise. *Journal of Nutrition and Metabolism, 2010,* 905612.

Baker, S. J. & King, N. (1991). Lactic acid recovery profiles following exhaustive arm exercise on a canoeing ergometer. *British Journal of Sports Medicine, 25,* 165-167.

Baker, S. K., McCullagh, K. J. & Bonen, A. (1998). Training intensity-dependent and tissue-specific increases in lactate uptake and MCT-1 in heart and muscle. *Journal of Applied Physiology, 84,* 987-994.

Baldari, C., Videira, M., Madeira, F., Sergio, J. & Guidetti, L. (2004). Lactate removal during active recovery related to the individual anaerobic and ventilatory thresholds in soccer players. *European Journal of Applied Physiology, 93,* 224-230.

Baldari, C., Videira, M., Madeira, F., Sergio, J. & Guidetti, L. (2005). Blood lactate removal during recovery at various intensities below the individual anaerobic threshold in triathletes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, 45,* 460-466.

Baldwin, K. M., Campbell, P. J. & Cooke, D. A. (1977). Glycogen, lactate, and alanine changes in muscle fiber types during graded exercise. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology, 43,* 288-291.

Balsom, P. D., Gaitanos, G. C., Ekblom, B. & Sjodin, B. (1994). Reduced oxygen availability during high intensity intermittent exercise impairs performance. *Acta Physiologica Scandinavica, 152,* 279-285.

Bangsbo, J., Graham, T., Johansen, L. & Saltin, B. (1994). Muscle lactate metabolism in recovery from intense exhaustive exercise: impact of light exercise. *Journal of Applied Physiology, 77,* 1890-1895.

Barbany, J. R. (1990). Adaptaciones cardiovasculares al ejercicio físico. En J. R. Barbany, (Eds.), *Fundamentos de fisiología del ejercicio y del entrenamiento* (pp. 161-188) (1ª edición). Barcelona: Editorial Barcanova.

Barrey, E., Valette, J. P., Jouglin, M., Blouin, C. & Langlois, B. (1999). Heritability of percentage of fast myosin heavy chains in skeletal muscles and relationship with performance. *Equine Veterinary Journal. Supplement, 30,* 289-292.

Beall, C. M. (2000). Tibetan and Andean patterns of adaptation to high-altitude hypoxia. *Human Biology, 72,* 201-228.

Becker, H. M. & Deitmer, J. W. (2008). Nonenzymatic proton handling by carbonic anhydrase II during H+-lactate cotransport via monocarboxylate transporter 1. *Journal of Biological Chemistry, 283,* 21655-21667.

Beekman, M., Heijmans, B. T., Martin, N. G., Pedersen, N. L., Whitfield, J. B., DeFaire, U., et al. (2002) Heritabilities of apolipoprotein and lipid levels in three countries. *Twin Research, 5,* 87-97.

Belcastro, A. N. & Bonen, A. (1975). Lactic acid removal rates during controlled and uncontrolled recovery exercise. *Journal of Applied Physiology, 39,* 932-936.

Benton, C. R., Campbell, S. E., Tonouchi, M., Hatta, H. & Bonen, A. (2004). Monocarboxylate transporters in subsarcolemmal and intermyofibrillar mitochondria. *Biochemical and Biophysical Research Communications, 323,* 249-253.

Bergman, B. C., Wolfel, E. E., Butterfield, G. E., Lopaschuk, G. D., Casazza, G. A., Horning, M. A., et al. (1999). Active muscle and whole body lactate kinetics after endurance training in men. *Journal of Applied Physiology, 87,* 1684-1696.

Bergman, B. C., Horning, M. A., Casazza, G. A., Wolfel, E. E., Butterfield, G. E. & Brooks, G. A. (2000). Endurance training increases gluconeogenesis during rest and exercise in men. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 278,* E244-E251.

Bickham, D. C., Bentley, D. J., Le Rossignol, P. F. & Cameron-Smith, D. (2006). The effects of short-term sprint training on MCT expression in moderately endurance-trained runners. *European Journal of Applied Physiology, 96,* 636-643.

Bishop, D. (2001). Evaluation of the Accusport lactate analyser. *International Journal of Sports Medicine, 22,* 525-530.

Bishop, D., Edge, J., Thomas, C. & Mercier, J. (2007). High-intensity exercise acutely decreases the membrane content of MCT1 and MCT4 and buffer capacity in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology, 102*, 616-621.

Boileau, R. A., Misner, J. E., Dykstra, G. L. & Spitzer, T. A. (1983). Blood lactic acid removal during treadmill and bicycle exercise at various intensities. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, 23,* 159-167.

Bonen, A. (2001). The expression of lactate transporters (MCT1 and MCT4) in heart and muscle. *European Journal of Applied Physiology, 86,* 6-11.

Bonen, A. (2006). Skeletal Muscle Lactate Transport and Transporters. En M. Hargreaves, & L. Spriet, (Eds), *Exercise Metabolism* (pp. 71-73) (2ª edition). Champaign (Illinois, USA): Human Kinetics.

Bonen, A. & Belcastro, A. N. (1976). Comparison of self-selected recovery methods on lactic acid removal rates. *Medicine and Science in Sports, 8,* 176-178.

Bonen, A., Campbell, C. J., Kirby, R. L. & Belcastro, A. N. (1979). Multiple regression model for blood lactate removal in man. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology, 380,* 205-210.

Bonen, A., McCullagh, K. J., Putman, C. T., Hultman, E., Jones, N. L. & Heigenhauser, G. J. (1998). Short-term training increases human muscle MCT1 and femoral venous lactate in relation to muscle lactate. *American Journal of Physiology, 274,* E102-E107.

Böning, D., Strobel, G., Beneke, R. & Maassen, N. (2005). Lactic acid still remains the real cause of exercise-induced metabolic acidosis. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 289,* R902-903; author reply R904-910.

Bouchard, C., Rankinen, T., Chagnon, Y. C., Rice, T., Pérusse, L., Gagnon, J., et al. (2000). Genomic scan for maximal oxygen uptake and its response to training in the HERITAGE Family Study. *Journal of Applied Physiology, 88,* 551–559.

Brooks, G. A. (1986). The lactate shuttle during exercise and recovery. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 18,* 360-368.

Brooks, G. A. (1991) Current concepts in lactate exchange. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 23,* 895-906.

Brooks, G. A. (2000). Intra- and extra-cellular lactate shuttles. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 32,* 790-799.

Brooks, G. A. (2002). Lactate shuttles in nature. *Biochemical Society transactions, 30,* 258-264.

Brooks, G. A. (2007). Lactate: link between glycolytic and oxidative metabolism. *Sports Medicine, 37,* 341-343.

Brooks, G. A. (2009). Cell-cell and intracellular lactate shuttles. *Journal of Physiology, 587,* 5591-5600.

Brooks, G. A. & Donovan, C. M. (1983). Effect of endurance training on glucose kinetics during exercise. *American Journal of Physiology, 244,* E505-E512.

Brutsaert, T. D. & Parra, E. J. (2006). What makes a champion? Explaining variation in human athletic performance. *Respiratory Physiology & Neurobiology, 151,* 109-123.

Burgomaster, K. A., Cermak, N. M., Phillips, S. M., Benton, C. R., Bonen, A. & Gibala, M. J. (2007). Divergent response of metabolite transport proteins in human skeletal muscle after sprint interval training and detraining. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 292,* R1970-R1976.

Calvo, M., Rodas, G., Vallejo, M., Estruch, A., Arcas, A., Javierre, C., et al. (2002). Heritability of explosive power and anaerobic capacity in humans. *European Journal of Applied Physiology,* 86, 218-225.

Carpenter, L. & Halestrap, A. P. (1994). The kinetics, substrate and inhibitor specificity of the lactate transporter of Ehrlich-Lettre tumour cells studied with the intracellular pH indicator BCECF. *Biochemical Journal, 304,* 751-760.

Chari, M., Lam, C. K., Wang, P. Y. & Lam, T. K. (2008). Activation of central lactate metabolism lowers glucose production in uncontrolled diabetes and diet-induced insulin resistance. *Diabetes, 57,* 836-840.

Coles, L., Litt, J., Hatta, H. & Bonen, A. (2004). Exercise rapidly increases expression of the monocarboxylate transporters MCT1 and MCT4 in rat muscle. *Journal of Physiology, 561,* 253-261.

Connett, R. J., Gayeski, T. E. & Honig, C. R. (1986). Lactate efflux is unrelated to intracellular PO_2 in a working red muscle in situ. *Journal of Applied Physiology, 61,* 402-408.

Costa Leite, T., Da Silva, D., Guimarães Coelho, R., Zancan, P. & Sola-Penna, M. (2007). Lactate favours the dissociation of skeletal muscle 6-phosphofructo-1-kinase tetramers down-regulating the enzyme and muscle glycolysis. *Biochemical Journal, 408,* 123-130.

Cunha, F. A., Midgley, A. W., Monteiro, W. D. & Farinatti, P. T. (2010). Influence of cardiopulmonary exercise testing protocol and resting VO_2 assessment on %HR max, %HRR, %VO_2 max and % VO_2R relationships. *International Journal of Sports Medicine, 31,* 319-326.

Cupeiro, R. (2011). *Influencia de varios polimorfismos en los genes MCT1 y CPT2 sobre el metabolismo energético durante el ejercicio.* Tesis doctoral. Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte – INEF, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid, España.

Cupeiro, R., Benito, P. J., Maffulli, N., Calderon, F. J. & Gonzalez-Lamuño, D. (2010). MCT1 genetic polymorphism influence in high intensity circuit training: a pilot study. *Journal of Science and Medicine in Sport, 13,* 526-530.

Cupeiro, R., González-Lamuño, D., Amigo, T., Peinado, A. B., Ruiz, J. R., Ortega, F. B., et al. (2012). Influence of the MCT1-T1470A polymorphism (rs1049434) on blood lactate accumulation during different circuit weight trainings in men and women. *Journal of Science and Medicine in Sport, 15,* 541-547.

Depocas, F., Minaire, Y. & Chatonnet, J. (1969). Rates of formation and oxidation of lactic acid in dogs at rest and during moderate exercise. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 47,* 603-610.

Dias, R. G., Pereira, A. C., Negrão, C. E. & Krieger, J. E. (2007). Genetic polymorphisms determining of the physical performance in elite athletes. *Revista Brasileira de Medicina do Esporte, 13,* 186e-192e.

Dodd, S., Powers, S. K., Callender, T. & Brooks, E. (1984). Blood lactate disappearance at various intensities of recovery exercise. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology, 57,* 1462-1465.

Dubouchaud, H., Butterfield, G. E., Wolfel, E. E., Bergman, B. C. & Brooks, G. A. (2000). Endurance training, expression, and physiology of LDH, MCT1, and MCT4 in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 278,* E571-E579.

Enerson, B. E. & Drewes, L. R. (2003). Molecular features, regulation, and function of monocarboxylate transporters: implications for drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences, 92,* 1531-1544.

Enoki, T., Yoshida, Y., Lally, J., Hatta, H. & Bonen, A. (2006). Testosterone increases lactate transport, monocarboxylate transporter (MCT) 1 and MCT4 in rat skeletal muscle. *Journal of Physiology, 577,* 433-443.

Evertsen, F., Medbø, J. I. & Bonen, A. (2001). Effect of training intensity on muscle lactate transporters and lactate threshold of cross-country skiers. *Acta Physiologica Scandinavica, 173,* 195-205.

Fedotovskaya, O. N., Mustafina, L. J., Popov, D., Vinogradova, O. L. & Ahmetov, I. I. (2014). A common polymorphism of the MCT1 gene and athletic performance. *International Journal of Sports Physiology and Performance, 9,* 173-180.

Fernández, A. (2006). Sistemas energéticos en el ejercicio. En J. L. Chicharro, & A. Fernández, (Eds.), *Fisiología del ejercicio* (pp. 183-221) (3ª edición). Madrid: Editorial Panamericana.

Fishbein, W. N. (1986). Lactate transporter defect: a new disease of muscle. *Science, 234,* 1254-1256.

Fishbein, W. N., Merezhinskaya, N. & Foellmer, J. W. (2002). Relative distribution of three major lactate transporters in frozen human tissues and their localization in unfixed skeletal muscle. *Muscle & Nerve, 26,* 101-112.

Fletcher, W. M. (1907). Lactic acid in amphibian muscle. *Journal of Physiology, 35,* 247-309.

Fox, S. M. 3rd., Naughton, J. P. & Haskell, W. L. (1971). Physical activity and the prevention of coronary heart disease. *Annals of Clinical Research, 3,* 404-432.

Franchini, E., Yuri Takito, M., Yuzo Nakamura, F., Ayumi Matsushique, K., Peduti Dal'Molin Kiss M. A. (2003). Effects of recovery type after a judo combat on blood lactate removal and on performance in an intermittent anaerobic task. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness, 43,* 424-431.

Freeman, M. S., Mansfield, M. W., Barrett, J. H. & Grant, P. J. (2003). Insulin resistance: an atherothrombotic syndrome. The Leeds family study. *Thrombosis & Haemostasis, 89,* 161-168.

Garcia, C. K., Goldstein, J. L., Pathak, R. K., Anderson, R. G. & Brown, M. S. (1994a). Molecular characterization of a membrane transporter for lactate, pyruvate, and other monocarboxylates: implications for the Cori cycle. *Cell, 76,* 865-873.

Garcia, C. K., Li, X., Luna, J. & Francke, U. (1994b). cDNA cloning of the human monocarboxylate transporter 1 and chromosomal localization of the SLC16A1 locus to 1p13.2-p12. *Genomics, 23,* 500-503.

Gastin, P. B. (2001). Energy system interaction and relative contribution during maximal exercise. *Sports Medicine, 31,* 725-741.

Gisolfi, C., Robinson, S. & Turrell, E. S. (1966). Effects of aerobic work performed during recovery from exhausting work. *Journal of Applied Physiology, 21,* 1767-1772.

Gladden, L. B. (1996). Lactate transport and exchange during exercise. En L. B. Rowell, & J. T. Shepherd, (Eds.), *Handbook of Physiology. Exercise: regulation and integration of multiple systems* (pp. 614-648) (1ª edition). New York: Oxford University Press.

Gladden, L. B. (2000). Muscle as a consumer of lactate. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 32,* 764-771.

Gladden, L. B. (2003). Lactate metabolism during exercise. En J. R. Portmans, (Eds.), *Principles of Exercise Biochemistry* (pp. 152-196) (3ª edition). Basel: Karger.

Gladden, L. B. (2004). Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *Journal of Physiology, 558,* 5-30.

Gladden, L. B. (2008). A lactatic perspective on metabolism. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 40,* 477-485.

Glaister, M. (2005). Multiple sprint work: physiological responses, mechanisms of fatigue and the influence of aerobic fitness. *Sports Medicine, 35,* 757-777.

Gollnick, P. D. & Hermansen, L. (1973). Biochemical adaptations to exercise: anaerobic metabolism. *Exercise and Sport Sciences Reviews, 1,* 1-43.

Goran, M. I. (2005). Estimating energy requirements: regression based prediction equations or multiples of resting metabolic rate. *Public Health Nutrition, 8,* 1184-1186.

Green, H. & Golberg, B. (1964). Collagen and cell protein synthesis by established mammalian fibroblast line. *Nature, 204,* 347-349.

Green, H., Halestrap, A., Mockett, C., O'Toole, D., Grant, S. & Ouyang, J. (2002). Increases in muscle MCT are associated with reductions in muscle lactate after a single exercise session in humans. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 282,* E154-E160.

Greenwood, J. D., Moses, G. E., Bernardino, F. M., Gaesser, G. A. & Weltman, A. (2008). Intensity of exercise recovery, blood lactate disappearance, and subsequent swimming performance. *Journal of Sports Sciences, 26,* 29-34.

Gunnarsson, T. P., Christensen, P. M., Holse, K., Christiansen, D. & Bangsbo, J. (2012). Effect of additional speed endurance training on performance and muscle adaptations. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 44,* 1942-1948.

Halestrap, A. P. & Denton, R. M. (1974). Specific inhibition of pyruvate transport in rat liver mitochondria and human erythrocytes by ∞-cyano-4-hydroxycinnamate. *Biochemical Journal, 138,* 313-316.

Halestrap, A. P. & Price, N. T. (1999). The proton-linked monocarboxylate transporter (MCT) family: structure, function and regulation. *Biochemical Journal, 343,* 281-299.

Halestrap, A. P., Meredith, D. (2004). The SLC16 gene family-from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology, 447,* 619-628.

Hansen, A. K., Clausen, T. & Nielsen, O. B. (2005). Effects of lactic acid and catecholamines on contractility in fast-twitch muscles exposed to hyperkalemia. *American Journal of Physiology. Cell Physiology, 289*, C104-C112.

Hermansen, L. (1981). Effect of metabolic changes on force generation in skeletal muscle during maximal exercise. *Ciba Foundation Symposium, 82,* 75-88.

Hermansen, L. & Stensvold, I. (1972). Production and removal of lactate during exercise in man. *Acta Physiologica Scandinavica, 86,* 191-201.

Higuchi, R. (1989). Simple and rapid preparation of samples for PCR. En H. A. Erlich, (Ed.), *PCR Technology: principles and applications for DNA amplification* (pp. 31-37). New York: Stockton Press.

Hill, A. V., Long, C. N. H. & Lupton, H. (1924a). Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilisation of oxygen. Pt I-III. *Proceedings of the Royal Society B, 96,* 438-475.

Hill, A. V., Long, C. N. H. & Lupton, H. (1924b). Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilisation of oxygen. Pt IV-VI. *Proceedings of the Royal Society B, 97,* 84-138.

Hill, A. V., Long, C. N. H. & Lupton, H. (1924c). Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilization of oxygen. Pt VII-VIII. *Proceedings of the Royal Society B, 97,* 155-176.

Hong, Y., Weisnagel, S. J., Rice, T., Sun, G., Mandel, S. A., Gu, C., et al., & HERITAGE Family Study. (2001). Familial resemblance for glucose and insulin metabolism indices derived from an intravenous glucose tolerance test in blacks and whites of the HERITAGE Family Study. *Clinical Genetics, 60,* 22-30.

Issekutz, B. Jr., Shaw, W. A. & Issekutz, A. C. (1976). Lactate metabolism in resting and exercising dogs. *Journal of Applied Physiology, 40,* 312-319.

Jorfeldt, L. (1970). Metabolism of L(+)-lactate in human skeletal muscle during exercise. *Acta Physiologica Scandinavica. Supplementum, 338,* 1-67.

Juel, C. (1988). Intracellular pH recovery and lactate efflux in mouse soleus muscles stimulated in vitro: the involvement of sodium/proton exchange and a lactate carrier. *Acta Physiologica Scandinavica, 132,* 363-371.

Juel, C. (1997). Lactate-proton cotransport in skeletal muscle. *Physiological Reviews, 77,* 321-358.

Juel, C. (1998). Muscle pH regulation: role of training. *Acta Physiologica Scandinavica, 162,* 359-366.

Juel, C. (2001). Current aspects of lactate exchange: lactate/H+ transport in human skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology, 86,* 12-16.

Juel, C. & Wibrand, F. (1989). Lactate transport in isolated mouse muscles studied with a tracer technique--kinetics, stereospecificity, pH dependency and maximal capacity. *Acta Physiologica Scandinavica, 137,* 33-39.

Juel, C. & Halestrap, A. P. (1999). Lactate transport in skeletal muscle - role and regulation of the monocarboxylate transporter. *Journal of Physiology, 517,* 633-642.

Juel, C., Holten, M. K. & Dela, F. (2004a). Effects of strength training on muscle lactate release and MCT1 and MCT4 content in healthy and type 2 diabetic humans. *Journal of Physiology, 556,* 297-304.

Juel, C., Klarskov, C., Nielsen, J. J., Krustrup, P., Mohr, M. & Bangsbo, J. (2004b). Effect of high-intensity intermittent training on lactate and H+ release from human skeletal muscle. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 286,* E245-E251.

Katzmarzyk, P. T., Gledhill, N., Pérusse, L. & Bouchard, C. (2001). Familial aggregation of 7-year changes in musculoskeletal fitness. *Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences, 56,* B497-B502.

Kelley, K. M., Hamann, J. J., Navarre, C. & Gladden, L. B. (2002). Lactate metabolism in resting and contracting canine skeletal muscle with elevated lactate concentration. *Journal of Applied Physiology, 93,* 865-872.

Keytel, L. R., Goedecke, J. H., Noakes, T. D., Hiiloskorpi, H., Laukkanen, R., Van der Merwe, L., et al. (2005). Prediction of energy expenditure from heart rate monitoring during submaximal exercise. *Journal of Sports Sciences 23,* 289-297.

Kirk, P., Wilson, M. C., Heddle, C., Brown, M. H., Barclay, A. N. & Halestrap, A. P. (2000). CD147 is tightly associated with lactate transporters MCT1 and MCT4 and facilitates their cell surface expression. *EMBO Journal, 19,* 3896-3904.

Kristensen, M., Albertsen, J., Rentsch, M. & Juel, C. (2005). Lactate and force production in skeletal muscle. *Journal of Physiology, 562,* 521-526.

Lean, C. B. & Lee, E. J. (2009). Genetic variations in the MCT1 (SLC16A1) gene in the Chinese population of Singapore. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 24,* 469-474.

MacDonald, M. J., Longacre, M. J., Stoker, S. W., Brown, L. J., Hasan, N. M. & Kendrick, M. A. (2008). Acetoacetate and beta-hydroxybutyrate in combination with other metabolites release insulin from INS-1 cells and provide clues about pathways in insulin secretion. *American Journal of Physiology. Cell Physiology, 294,* C442-C450.

Madarame, H., Sasaki, K. & Ishii, N. (2010). Endocrine responses to upper- and lower-limb resistance exercises with blood flow restriction. *Acta Physiologica Hungarica, 97,* 192-200.

Maehlum, S., Gradmontagne, M., Newsholme, E. & Sejersted, O. M. (1986). Magnitude and duration of excess postexercise oxygen consumption in healthy young subjects. *Metabolism: Clinical and Experimental, 35,* 425-429.

Mainwood, G. W. & Renaud, J. M. (1985). The effect of acid-base on fatigue of skeletal muscle. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 63,* 403-416.

Manning Fox, J. E., Meredith, D. & Halestrap, A. P. (2000). Characterization of human monocarboxylate transporter 4 substantiates its role in lactic acid efflux from skeletal muscle. *Journal of Physiology, 529,* 285-293.

Margaria, R., Edwards, H. T. & Dill, D. B. (1933). The possible mechanisms of contracting and paying the oxygen debt and the role of lactic acid in muscular contraction. *American Journal of Physiology, 106,* 689-715.

Marín Morell, A. M., González Millán, C. & Llop, F. (2007). Presente y futuro del ácido láctico. *Archivos de Medicina del Deporte, 24,* 270-284.

Martin, N. A., Zoeller, R. F., Robertson, R. J. & Lephart, S. M. (1998). The comparative effects of sports massage, active recovery, and rest in promoting blood lactate clearance after supramaximal leg exercise. *Journal of Athletic Training, 33,* 30-35.

Masi, F. D., Souza Vale, R. G., Dantas, E. H., Barreto, A. C., Da Silva Novaes, Jda. S. & Reis V. M. (2007). Is blood lactate removal during water immersed cycling faster than during cycling on land? *Journal of Sports Science and Medicine, 6,* 188-192.

Mazzeo, R. S., Brooks, G. A., Schoeller, D. A. & Budinger, T. F. (1986). Disposal of blood [1-13C] lactate in humans during rest and exercise. *Journal of Applied Physiology, 60,* 232-241.

McAinch, A. J., Febbraio, M. A., Parkin, J. M., Zhao, S., Tangalakis, K., Stojanovska, L., et al. (2004). Effect of active versus passive recovery on metabolism and performance during subsequent exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 14,* 185-196.

McCullagh, K. J., Poole, R. C., Halestrap, A. P., O´Brien, M. & Bonen, A. (1996). Role of the lactate transporter (MCT1) in skeletal muscles. *American Journal of Physiology, 271,* E143-E150.

McCullagh, K. J., Poole, R. C., Halestrap, A. P., Tipton, K. F., O'Brien, M. & Bonen, A. (1997). Chronic electrical stimulation increases MCT1 and lactate uptake in red and white skeletal muscle. *American Journal of Physiology, 273,* E239-E246.

McDermott, J. C. & Bonen, A. (1994). Lactate transport in rat sarcolemmal vesicles and intact skeletal muscle, and after muscle contraction. *Acta Physiologica Scandinavica, 151,* 17-28.

Menzies, P., Menzies, C., Mclntyre, L., Paterson, P., Wilson, J. & Kemi, O. J. (2010). Blood lactate clearance during active recovery after an intense running bout depends on the intensity of the active recovery. *Journal of Sports Sciences, 28,* 975-982.

Merezhinskaya, N., Fishbein, W. N., Davis, J. I. & Foellmer, J. W. (2000). Mutations in MCT1 cDNA in patients with symptomatic deficiency in lactate transport. *Muscle & Nerve, 23,* 90-97.

Meshil, J., Wygand, J., Otto, R. M. & Bideaux, A. (1992). Anaerobic power output employing the CybexMet 100 cycle ergometer. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 24 (suppl 5),* S99.

Micklewright, D., Sellens, M., Gladwell, V. & Beneke, R. (2006). Blood lactate removal using combined massage and active recovery. *Biology of Sport, 23,* 315-325.

Miller, B. F., Fattor, J. A., Jacobs, K. A., Horning, M. A., Navazio, F., Lindinger, M. I., et al. (2002a). Lactate and glucose interactions during rest and exercise in men: effect of exogenous lactate infusion. *Journal of Physiology, 544,* 963-975.

Miller, B. F., Fattor, J. A., Jacobs, K. A., Horning, M. A., Suh S. H., Navazio, F., et al. (2002b). Metabolic and cardiorespiratory responses to the lactate clamp. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 283,* E889-E898.

Missitzi, J., Geladas, N. & Klissouras, V. (2004). Heritability in neuromuscular coordination: implications for motor control strategies. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 36,* 233-240.

Mohr, M., Krustrup, P., Nielsen, J. J., Nybo, L., Rasmussen, M. K., Juel, C., et al. (2007). Effect of two different intense training regimens on skeletal muscle ion transport proteins and fatigue development. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 292,* R1594-R1602.

Monedero, J. & Donne, B. (2000). Effect of recovery interventions on lactate removal and subsequent performance. *International Journal of Sports Medicine, 21,* 593-597.

Mori, K., Hakaya, Y., Sakamoto, S., Hayabuchi, Y., Matsuoka, S. & Kuroda, Y. (1998). Lactate-induced vascular relaxation in porcine coronary arteries is mediated by Ca^{2+}-activated K^{+} channels. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology, 30,* 349-356.

Moxnes, J. F. & Sandbakk, Ø. (2012). The kinetics of lactate production and removal during whole-body exercise. *Theoretical Biology and Medical Modelling, 9,* 7.

Nielsen, O. B., de Paoli, F. & Overgaard, K. (2001). Protective effects of lactic acid on force production in rat skeletal muscle. *Journal of Physiology, 536,* 161-166.

Nikooie R., Rajabi H., Gharakhanlu R., Atabi F., Omidfar K., Aveseh M., et al. (2013). Exercise-induced changes of MCT1 in cardiac and skeletal muscles of diabetic rats induced by high-fat diet an STZ. *Journal of Physiology and Biochemistry, 69,* 865-877.

Oyono-Enguelle, S., Marbach, J., Heitz, A., Ott, C., Gartner, M., Pape, A., et al. (1990). Lactate removal ability and graded exercise in humans. *Journal of Applied Physiology, 68,* 905–911.

Öztürk, M., Özer, K. & Gökce, E. (1998). Evaluation of blood lactate in young men after wingate anaerobic power test. *Eastern Journal of Medicine, 3,* 13-16.

Parouty, J., Al Haddad, H., Quod, M., Leprêtre, P. M., Ahmaidi, S. & Buchheit, M. (2010). Effect of cold water immersion on 100-m sprint performance in well-trained swimmers. *European Journal of Applied Physiology, 109,* 483-490.

Pedersen, T. H., Clausen, T. & Nielsen, O. B. (2003). Loss of force induced by high extracellular [K+] in rat muscle: effect of temperature, lactic acid and beta2-agonist. *Journal of Physiology, 551,* 277-286.

Perez, H. R., Wygand, J. W., Kowalski, A., Smith, T. K. & Otto, R. M. (1986). A comparison of the Wingate power test to bicycle time trial performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 18 (suppl 2),* S1.

Peters Futre, E. M., Noakes, T. D., Raine, R. I. & Terblanche, S. E. (1987). Muscle glycogen repletion during active postexercise recovery. *American Journal of Physiology, 253,* E305-E311.

Philp, A., Macdonald, A. L. & Watt, P. W. (2005). Lactate--a signal coordinating cell and systemic function. *Journal of Experimental Biology, 208,* 4561-4575.

Philp, N. J., Ochrietor, J. D., Rudoy, C., Muramatsu, T. & Linser, P. J. (2003). Loss of MCT1, MCT3, and MCT4 expression in the retinal pigment epithelium and neural retina of the 5A11/basigin-null mouse. *Investigative Ophthalmology & Visual Science, 44,* 1305-1311.

Pilegaard, H., Bangsbo, J., Richter, E. A., & Juel, C. (1994). Lactate transport studied in sarcolemmal giant vesicles from human muscle biopsies: relation to training status. *Journal of Applied Physiology, 77,* 1858-1862.

Pilegaard, H., Domino, K., Noland, T., Juel, C., Hellsten, Y., Halestrap, A. P., et al. (1999a). Effect of high-intensity exercise training on lactate/H+ transport capacity in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology, 276,* E255-E261.

Pilegaard, H., Terzis, G., Halestrap, A. & Juel, C. (1999b). Distribution of the lactate/H+ transporter isoforms MCT1 and MCT4 in human skeletal muscle. *American Journal of Physiology, 276,* E843-E848.

Pinnington, H. & Dawson, B. (2001). Examination of the validity and reliability of the Accusport blood lactate analyser. *Journal of Science and Medicine in Sport, 4,* 129-138.

Poole, R. C. & Halestrap, A. P. (1993). Transport of lactate and other monocarboxylates across mammalian plasma membranes. *American Journal of Physiology, 264,* C761-C782.

Price, N. T., Jackson, V. N. & Halestrap, A. P. (1998). Cloning and sequencing of four new mammalian monocarboxylate transporter (MCT) homologues confirms the existence of a transporter family with an ancient past. *Biochemical Journal, 329,* 321-328.

Rankinen, T., Pérusse, L., Rauramaa, R., Rivera, M. A., Wolfarth, B. & Bouchard, C. (2004). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2003 update. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 36,* 1451-1469.

Rankinen, T., Bray, M. S., Hagberg, J. M., Pérusse, L., Roth, S. M., Wolfarth, B., et al. (2006). The human gene map for performance and health-related fitness phenotypes: the 2005 update. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 38,* 1863-1888.

Ribas, J. (2010). Lactato: de indeseable a valioso metabolito. *Archivos de Medicina del Deporte, 27,* 211- 230.

Rice, T., Chagnon, Y. C., Pérusse, L., Borecki, I. B., Ukkola, O., Rankinen, T., et al. (2002). A genome wide linkage scan for abdominal subcutaneous and visceral fat in black and white families: The HERITAGE Family Study. *Diabetes, 51,* 848-855.

Richardson, R. S., Noyszewski, E. A., Leigh, J. S. & Wagner, P. D. (1998). Lactate efflux from exercising human skeletal muscle: role of intracellular PO_2. *Journal of Applied Physiology, 85,* 627-634.

Richter, E. A., Kiens, B., Saltin, B., Christensen, N. J. & Savard, G. (1988). Skeletal muscle glucose uptake during dynamic exercise in humans: role of muscle mass. *American Journal of Physiology, 254,* E555-E561.

Roef, M. J., de Meer, K., Kalhan, S. C., Straver, H., Berger, R. & Reijngoud, D. J. (2003). Gluconeogenesis in humans with hyperlactatemia during low-intensity exercise. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism, 284,* E1162-E1171.

Roth, D. A. & Brooks, G. A. (1990). Lactate and pyruvate transport is dominated by a pH gradient-sensitive carrier in rat skeletal muscle sarcolemmal vesicles. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 279,* 386-394.

Sawczuk, M., Banting, L. K., Cieszczyk, P., Maciejewska-Karlowska, A., Zarebska, A., Leonska-Duniec, A., et al. (2014) MCT1 A1470T: A novel polymorphism for sprint performance? *Journal of Science and Medicine in Sport,* doi: 10.1016/j.jsams.2013.12.008

Scott, C. B., Roby, F. B., Lohman, T. G. & Bunt, J. C. (1991). The maximally accumulated oxygen deficit as an indicator of anaerobic capacity. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 23,* 618-624.

Seip, R. L., Snead, D., Pierce, E. F., Stein, P. & Weltman, A. (1991). Perceptual responses and blood lactate concentration: effect of training state. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 23,* 80-87

Siegler, J. C., Bell-Wilson, J., Mermier, C., Faria, E. & Robergs, R. A. (2006). Active and passive recovery and acid-base kinetics following multiple bouts of intense exercise to exhaustion. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism, 16,* 92-107.

Sola-Penna, M. (2008). Metabolic regulation by lactate. *IUBMB Life, 60,* 605-608.

Stainsby, W. N. & Welch, H. G. (1966). Lactate metabolism of contracting dog skeletal muscle in situ. *American Journal of Physiology, 211,* 177-183.

Stamford, B. A., Weltman, A., Moffatt, R. & Sady, S. (1981). Exercise recovery above and below anaerobic threshold following maximal work. *Journal of Applied Physiology: Respiratory, Environmental and Exercise Physiology, 51,* 840-844.

Stanley, W. C. (1991). Myocardial lactate metabolism during exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 23,* 920-924.

Stanley, W. C., Gertz, E. W., Wisneski, J. A., Neese, R. A., Morris, D. L. & Brooks, G. A. (1986). Lactate extraction during net lactate release in legs of humans during exercise. *Journal of Applied Physiology, 60,* 1116-1120.

Stanley, W. C., Wisneski, J. A., Gertz, E. W., Neese, R. A. & Brooks, G. A. (1988). Glucose and lactate interrelations during moderate-intensity exercise in humans. *Metabolism: Clinical and Experimental, 37,* 850-858.

Stein, L. D. (2004). Human genome: end of the beginning. *Nature, 431,* 915-916.

Tesch, P. (1978). Local lactate and exhaustion. *Acta Physiologica Scandinavica, 104,* 373-374.

Thomas, C., Sirvent, P., Perrey, S., Raynaud, E. & Mercier, J. (2004). Relationships between maximal muscle oxidative capacity and blood lactate removal after supramaximal exercise and fatigue indexes in humans. *Journal of Applied Physiology, 97,* 2132-2138.

Thomas, C., Perrey, S., Lambert, K., Hugon, G., Mornet, D. & Mercier, J. (2005). Monocarboxylate transporters, blood lactate removal after supramaximal exercise, and fatigue indexes in humans. *Journal of Applied Physiology, 98,* 804-809.

Tiainen, K., Sipilä, S., Alén, M., Heikkinen, E., Kaprio, J., Koskenvuo, M., et al. (2005). Shared genetic and environmental effects on strength and power in older female twins. *Medicine and Science in Sports and Exercise, 37,* 72-78.

Trabold, O., Wagner, S., Wicke, C., Scheuenstuhl, H., Hussain, M. Z., Rosen, N., et al. (2003). Lactate and oxygen constitute a fundamental regulatory mechanism in wound healing. *Wound Repair and Regeneration, 11,* 504-509.

Van Hall, G., Calbet, J. A., Søndergaard, H. & Saltin, B. (2001). The re-establishment of the normal blood lactate response to exercise in humans after prolonged acclimatization to altitude. *Journal of Physiology, 536,* 963-975.

Van Hall, G., Calbet, J. A., Sondergaard, H. & Saltin, B. (2002). Similar carbohydrate but enhanced lactate utilization during exercise after 9 wk of acclimatization to 5260 m. *American Journal of Physiology, 283,* E1203-E1213.

Van Hall, G., Jensen-Urstad, M., Rosdahl, H., Holmberg, H.C., Saltin, B. & Calbet, J. A. (2003). Leg and arm lactate and substrate kinetics during exercise. *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism, 284,* E193-E205.

Wasserman, K. (1984). The anaerobic threshold measurement to evaluate exercise performance. *American Review of Respiratory Disease, 129,* S35-S40.

Wasserman, K. & Mcilroy, M. B. (1964). Detecting the threshold of anaerobic metabolism in cardiac patients during exercise. *American Journal of Cardiology, 14,* 844-852.

Weber, J. M., Parkhouse, W. S., Dobson, G. P., Harman, J. C., Snow, D. H. & Hockachka, P. W. (1987). Lactate Kinetics in exercising thoroughbred horses: regulation of turnover rate in plasma. *American Journal of Physiology, 253,* R896-R903.

Westerblad, H. & Allen, D. G. (2002). Recent advances in the understanding of skeletal muscle fatigue. *Current Opinion in Rheumatology, 14,* 648-652.

Westerblad, H., Allen, D. G. & Lannergren, J. (2002). Muscle fatigue: lactic acid or inorganic phosphate the major cause? *News in Physiological Sciences, 17,* 17-21.

Wilson, M. C., Jackson, V. N., Heddle, C., Price, N. T., Pilegaard, H., Juel, C., et al. (1998). Lactic acid efflux from white skeletal muscle is catalyzed by the monocarboxylate transporter isoform MCT3. *Journal of Biological Chemistry, 273,* 15920-15926.

Wilson, M. C., Meredith, D., Fox, J. E., Manoharan, C., Davies, A. J. & Halestrap, A. P. (2005). Basigin (CD147) is the target for organomercurial inhibition of monocarboxylate transporter isoforms 1 and 4: the ancillary protein for the insensitive MCT2 is EMBIGIN (gp70). *Journal of Biological Chemistry, 280,* 27213-27221.

Wilson, M. C., Meredith, D., Bunnun, C., Sessions, R. B. & Halestrap, A. P. (2009). Studies on the DIDS-binding site of monocarboxylate transporter 1 suggest a homology model of the open conformation and a plausible translocation cycle. *Journal of Biological Chemistry, 284,* 20011-20021.

World Medical Association. (2004). World Medical Association Declaration of Helsinki, *http://www.wmw.nwt7e7policy7b3.htm.*

Yoshida, Y., Hatta, H., Kato, M., Enoki, T., Kato, H. & Bonen, A. (2004). Relationship between skeletal muscle MCT1 and accumulated exercise during voluntary wheel running. *Journal of Applied Physiology, 97,* 527-534.

10.- ANEXOS.

10.1.- MODELO DE RECOGIDA DE DATOS.

SUJETO 1.

Identificación:

Genotipo:

Primer Test de campo. Recuperación activa.

Fecha: Hora:

Test de 400 metros lisos:

Lactato basal: _____ mMol. / l.

Tiempo en la prueba: _____ segundos.

F. C. al finalizar el esfuerzo máximo: _____ puls. / min.

Lactato al finalizar el esfuerzo máximo: _____ mMol. / l.

Recuperación activa:

Lactato a los 10 minutos: _____ mMol. / l.

Lactato a los 20 minutos: _____ mMol. / l.

Lactato a los 30 minutos: _____ mMol. / l.

Lactato a los 40 minutos: _____ mMol. / l.

Segundo test de campo. Recuperación pasiva.

Fecha: Hora:

Test de 400 metros lisos:

Lactato basal: _____ mMol. / l.

Tiempo en la prueba: _____ segundos.

F. C. al finalizar el esfuerzo máximo: _____ puls. / min.

Lactato al finalizar el esfuerzo máximo: _____ mMol. / l.

Recuperación pasiva:

Lactato a los 10 minutos: _____ mMol. / l.

Lactato a los 20 minutos: _____ mMol. / l.

Lactato a los 30 minutos: _____ mMol. / l.

Lactato a los 40 minutos: _____ mMol. / l.

10.2.- VALORES DE LACTATO Y CANTIDAD DE LACTATO ACLARADO DURANTE LA RECUPERACIÓN ACTIVA. *(Media ± DE)*

	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Lactato al finalizar la prueba	11,24 ± 2,48	10,62 ± 1,51	10,60 ± 2,12	12,28 ± 3,24
Lactato a los 10 minutos	9,64 ± 1,96	8,82 ± 2,33	9,43 ± 0,93	10,38 ± 2,49
Lactato a los 20 minutos	4,05 ± 1,74	4,30 ± 2,07	3,75 ± 0,79	4,18 ± 2,38
Lactato a los 30 minutos	2,08 ± 0,70	2,05 ± 0,66	1,95 ± 0,65	2,23 ± 0,86
Lactato a los 40 minutos	1,67 ± 0,47	1,67 ± 0,36	1,38 ± 0,43	1,95 ± 0,47
Diferencia de Lactato entre el final de la prueba y los 10 minutos (Δ 0'-10')	1,60 ± 2,31	1,80 ± 3,24	1,17 ± 2,50	1,90 ± 1,77
Diferencia de Lactato entre los 10 y los 20 minutos (Δ 10'-20')	5,59 ± 1,13	4,52 ± 0,46 *	5,68 ± 1,02	6,20 ± 1,15 *
Diferencia de Lactato entre los 20 y los 30 minutos (Δ 20'-30')	1,97 ± 1,32	2,25 ± 1,55	1,80 ± 1,03	1,95 ± 1,62
Diferencia de Lactato entre los 30 y los 40 minutos (Δ 30'-40')	0,41 ± 0,49	0,37 ± 0,35	0,57 ± 0,43	0,28 ± 0,63

10.3.- VALORES DE LACTATO Y CANTIDAD DE LACTATO ACLARADO DURANTE LA RECUPERACIÓN PASIVA. *(Media ± DE)*

	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Lactato al finalizar la prueba	10,97 ± 2,16	10,77 ± 2,33	11,50 ± 2,43	10,58 ± 2,07
Lactato a los 10 minutos	12,49 ± 1,69	12,35 ± 2,00	12,65 ± 1,73	12,43 ± 1,76
Lactato a los 20 minutos	9,71 ± 1,64	8,92 ± 2,00	10,32 ± 1,11	9,62 ± 1,88
Lactato a los 30 minutos	6,71 ± 2,38	6,92 ± 2,03	6,02 ± 2,98	7,25 ± 2,16
Lactato a los 40 minutos	4,94 ± 1,40	4,65 ± 1,24	5,00 ± 1,73	5,08 ± 1,37
Diferencia de Lactato entre el final de la prueba y los 10 minutos (Δ 0'-10')	-1,52 ± 3,26	-1,57 ± 2,99	-1,15 ± 3,77	-1,85 ± 3,46
Diferencia de Lactato entre los 10 y los 20 minutos (Δ 10'-20')	2,79 ± 1,49	3,42 ± 0,82	2,33 ± 1,97	2,82 ± 1,35
Diferencia de Lactato entre los 20 y los 30 minutos (Δ 20'-30')	3,00 ± 2,41	2,00 ± 0,45	4,30 ± 2,69	2,37 ± 2,60
Diferencia de Lactato entre los 30 y los 40 minutos (Δ 30'-40')	1,76 ± 1,54	2,27 ± 0,86	1,02 ± 1,89	2,17 ± 1,42

10.4.- PORCENTAJES DE FRECUENCIA CARDIACA MÁXIMA TEÓRICA DURANTE LOS DISTINTOS PERIODOS DE LA RECUPERACIÓN ACTIVA. *(Media ± DE)*

	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Porcentaje de FC máxima durante toda la recuperación	70,30 ± 5,08	70,01 ± 4,37	71,51 ± 2,92	66,60 ± 5,30
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 0 al 10	72,24 ± 4,88	74,03 ± 4,78	73,18 ± 3,20	70,09 ± 6,18
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 10 al 20	72,11 ± 4,86	73,75 ± 5,27	73,94 ± 1,73	69,18 ± 5,90
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 20 al 30	70,83 ± 5,46	74,14 ± 4,41	72,94 ± 3,52	66,51 ± 5,39
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 30 al 40	70,07 ± 5,23	74,27 ± 3,39	71,26 ± 2,55	66,08 ± 5,81

10.5.- PORCENTAJES DE FRECUENCIA CARDIACA MÁXIMA TEÓRICA DURANTE LOS DISTINTOS PERIODOS DE LA RECUPERACIÓN PASIVA. *(Media ± DE)*

	Todos (n=16)	**TT (n=4)**	**TA (n=6)**	**AA (n=6)**
Porcentaje de FC máxima durante toda la recuperación	50,13 ± 7,09	45,77 ± 9,33	49,74 ± 4,94	53,42 ± 6,75
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 0 al 10	51,96 ± 5,45	49,23 ± 6,28	50,85 ± 4,95	54,87 ± 4,81
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 10 al 20	50,58 ± 6,11	46,02 ± 7,60	50,17 ± 4,83	54,02 ± 4,79
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 20 al 30	46,60 ± 6,34	44,10 ± 9,12	45,30 ± 5,33	49,57 ± 4,97
Porcentaje de FC máxima desde el minuto 30 al 40	44,17 ± 5,74	40,39 ± 8,18	43,08 ± 3,80	47,78 ± 3,96