

## Particularidades del Ejercicio Intermitente. Parte II

Prof. Scarfó, Ricardo L.

Universidad Nacional de La Plata, República Argentina.  
[rikiscarfo@yahoo.com.ar](mailto:rikiscarfo@yahoo.com.ar)

Segunda parte de este artículo que nos brinda características específicas sobre el entrenamiento de modalidad intermitente. En este caso el autor nos explica los factores que inciden en la modificación del flujo sanguíneo muscular y la incidencia de la mioglobina como factor importante en el abastecimiento y reserva de oxígeno en el tejido muscular.

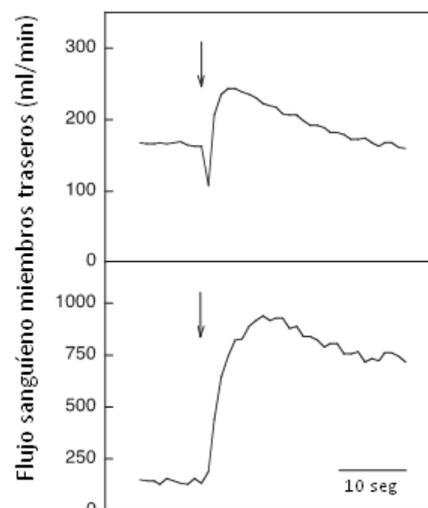
Se detallarán aspectos locales y periféricos del ejercicio intermitente, a partir de la bibliografía científica y relacionada, aunque sea, en forma indirecta con este fenómeno.

### Flujo sanguíneo muscular

El equiparamiento del flujo sanguíneo y el metabolismo es requerido casi para todos los tejidos vivos. Esto es especialmente importante para el músculo esquelético, donde el metabolismo puede variar considerablemente desde períodos de inactividad hasta períodos de contracciones repetidas. Se sabe desde hace mucho tiempo que el flujo sanguíneo muscular aumenta en proporción a las demandas metabólicas del tejido durante el ejercicio dinámico en estado estable (5). Hay una relación directa entre el aumento del flujo sanguíneo muscular y la mayor frecuencia de contracción, mayor velocidad de carrera y mayor consumo de oxígeno muscular. A causa de la relación directa entre el flujo sanguíneo muscular y la actividad metabólica, es lógico pensar que hay algunas sustancias liberadas desde los músculos activos que causan relajación del músculo vascular liso y la consecuente vasodilatación. En ausencia de grandes cambios en la presión de perfusión<sup>1</sup>, el primer controlador del flujo sanguíneo muscular es el tono del músculo vascular liso (5). El sistema nervioso autónomo no parece ser responsable de la vasodilatación, aunque la vasoconstricción restringe el flujo sanguíneo al músculo activo durante el ejercicio. Es decir, la vasodilatación es un fenómeno local.

Un dato llamativo en experimentos *in vivo* (en perros, en este caso) muestran que hay un inmediato (dentro de 1 segundo) aumento en el flujo sanguíneo después de la liberación de una contracción muscular (Ver Figura 1, citado en ref. 5). Por otro lado, algunos estudios reportan cierta latencia para la vasodilatación que varía de 5 a 20

segundos, siendo este retraso proporcional al tamaño del vaso sanguíneo. Otros experimentos, apoyan la idea de que esta vasodilatación es atribuible a la apertura del gradiente de presión arterio-venosa por el bombeo del músculo esquelético. De todas formas, a causa de que los procesos metabólicos son demasiados lentos para dar cuenta de la respuesta inicial del flujo sanguíneo, parece muy probable que el mecanismo o componente vasoactivo que inicia la vasodilatación, es diferente de la que se sostiene.



**Figura 1.** Respuesta del flujo sanguíneo muscular a una contracción tetánica de 1'' (arriba) y a un ejercicio dinámico de moderada intensidad (abajo) en perros. Nótese el incremento inmediato después de una única contracción o iniciación del ejercicio dinámico (ver flechas) (5).

Con lo cual, para explicar la hiperemia<sup>2</sup> durante el ejercicio, tendríamos que hablar de varios componentes vasoactivos y de fuentes celulares de esos componentes en el tejido muscular esquelético: las células musculares forman óxido nítrico (NO), prostaglandinas, adenosina, lactato, y  $K^+$ ; las células endoteliales producen o liberan NO, adenosina,  $K^+$ , ATP y prostaglandinas; y los glóbulos rojos pueden liberar ATP y NO. Además, las terminales nerviosas también liberan vasodilatadores, como por ejemplo el ATP. Todos esos vasodilatadores mencionados son conocidos que aumentan en el fluido extracelular de las células del músculo esquelético en respuesta a la contracción muscular. Y como son potentes

<sup>1</sup> Es el pasaje de un líquido a través de los vasos de un órgano específico.

<sup>2</sup> La hiperemia por ejercicio representa la respuesta coordinada de una red vascular dentro del músculo esquelético.

vasodilatadores ellos pueden ejercer algún efecto sobre las células del músculo vascular liso.

Un ejemplo de esto, es el estudio de **Hellsten Y.** (69), donde se examinó la magnitud que la adenosina y sus precursores ejercían un efecto vasodilatador en el intersticio celular, es decir, sobre el flujo sanguíneo de la pierna. Para ello, se determinaron las concentraciones intersticiales de adenosina (y sus precursores) en el músculo vasto lateral de hombres adultos sanos. Realizaron un ejercicio de extensión de rodillas graduado (aumentando la carga), y, como se puede observar en la Figura 2, la adenosina y sus precursores aumentan en el intersticio del músculo activo, asociado con un aumento de la intensidad y de la magnitud del flujo sanguíneo (69). Sin embargo, es de notar que hay múltiples fuentes celulares para la mayoría de esos componentes vasodilatadores y actúan a través de más de un mecanismo para influenciar la hiperemia durante el ejercicio. Con lo cual, hay una redundancia entre los componentes vasodilatadores. ¿Cómo se adapta el flujo sanguíneo al metabolismo muscular?

Se detalla bien en un artículo de **Ayupov N.S.** (6). La contracción de las arteriolas, estimulada por la contracción muscular, causa una disminución de la presión parcial de oxígeno ( $PaO_2$ ) en las células del músculo liso y una producción de químicos vasodilatadores en esas células, causa una rápida vasodilatación durante la relajación. La vasodilatación y el aumento del gradiente de la  $PaO_2$  entre las células del músculo liso y de la sangre intravascular, provocan un potente aumento de la intensidad del metabolismo durante la relajación. La intensiva difusión del oxígeno en las células del músculo liso, eleva la  $PaO_2$  y reduce la vasodilatación. Los metabolitos, producidos en los músculos, y otros vasodilatadores causan una vasodilatación adicional (la redundancia de efectos de la que mencionamos antes). Por lo tanto, antes de una segunda contracción, las células del músculo liso están más dilatadas que antes de la primera contracción. Así, la segunda contracción causa una mayor disminución de la  $PaO_2$  y una producción de vasodilatadores químicos que causa aumento del ritmo de la vasodilatación durante la relajación. Ese gradiente de presión además es mejorado por una presión venular negativa, inducida por esa relajación muscular por la tirantez abierta de las venas unidas al tejido circundante (7). Así, indirectamente, el bombeo muscular también mejora el retorno venoso promoviendo la propulsión de la sangre afuera del músculo. La magnitud de este bombeo depende de la fuerza, frecuencia y duración de las contracciones musculares. **Radegran y col.** (7) demuestran que a través de distintas intensidades de tensión muscular, el flujo sanguíneo aumenta en forma proporcional. Allí se menciona el carácter fásico (en 3 fases) de este aumento del flujo, lo que demuestra la existencia y el rol de varios factores para elevar el flujo sanguíneo durante el ejercicio submáximo. Así, la elevación del flujo sanguíneo es mucho más rápido durante la primera fase (0.5-5 segundos), inicialmente facilitada por el bombeo muscular.

El componente mecánico es seguido por una segunda y más potente fase vasodilatadora, observada con una latencia de inicio de 4 segundos pero más probablemente iniciada ya durante la segunda a cuarta contracción del estado mecánico muscular de la fase 1. Con una mayor intensidad, una tercera fase es identificada con una latencia de inicio de 30 segundos (7). Por lo tanto, es importante hacer notar que los factores que comienzan la hiperemia de ejercicio pueden diferir de aquellos que la mantienen luego (8).

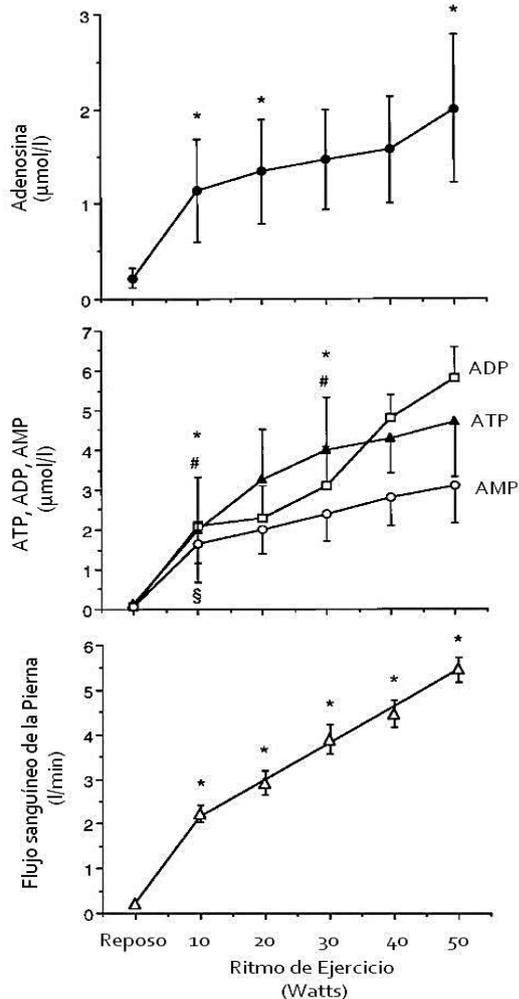
¿Un ejemplo de qué tan rápido el flujo sanguíneo muscular es inmediatamente elevado (en un segundo) después de una contracción breve, se observa en la Figura 3, donde la velocidad sanguínea de la arteria braquial (del antebrazo, en un experimento *in vivo* en humanos) aumentó con el primer latido del corazón después de contracciones musculares al 15% o al 50% de la máxima contracción voluntaria (MCV). Para ambas intensidades, el flujo sanguíneo siguió aumentando hasta que alcanzó el máximo de 3-4 ciclos cardiacos post-contracción muscular. Es decir, el flujo sanguíneo máximo (magnitud del flujo) varía según la intensidad de la contracción (**Tschakovsky M.E., citado en ref. 8**). Así los mecanismos vasodilatadores rápidos son capaces de responder en el músculo que ya se está ejercitando y son veloces y repetidamente reversibles (8).

El control de estos mecanismos, ha estado siempre ligado a la búsqueda de alguna sustancia vasoactiva o sustancias liberadas desde el propio músculo. Esto puede ocurrir en un estado estable de ejercicio. Pero para que una sustancia vasoactiva responda a los ajustes tan rápidos del flujo sanguíneo, sus concentraciones intersticiales tendrían que fluctuar muy rápidamente y en forma repetitiva con la intensidad de la contracción muscular. Y como el tiempo requerido para la producción de una sustancia vasoactiva desde el miocito del músculo esquelético y su posterior difusión al espacio intersticial donde puede actuar con el músculo liso vascular adyacente, parece muy poco probable que así sea (8). De allí, que la vasoregulación rápida en el músculo activo dependerá de otra alternativa para su inicio y no ya de una sustancia que provenga del metabolismo muscular. Tal mecanismo 'mecanosensible' intrínseco es la deformación vascular, que es el resultado de la presión extravascular elevada dentro del músculo activo, causando la dilatación subsecuente (8). En la Figura 4, puede observarse este mecanismo claramente.

Respecto a la magnitud de la dilatación, se sabe que no es afectada al aumentar la duración de la compresión, pero fue mejorada al elevar el número de compresiones (8). Y algo más para agregar a esto, es que el grado de compresión de la vasculatura del músculo esquelético contribuye a la respuesta del flujo sanguíneo a la contracción, donde a mayor intensidad de la contracción, mayor flujo sanguíneo (9), como se observa en la Figura 2.

También, cabe agregar que un estudio de **Wray D.W.** (10) se observó que aún con la reducción del bombeo del músculo esquelético y de las influencias metabólicas, una significativa hiperemia fue vista, lo cual podría ser debida a cambios inducidos mecánicamente en el músculo y

longitud de los vasos y a la 'cardio-aceleración' (taquicardia).



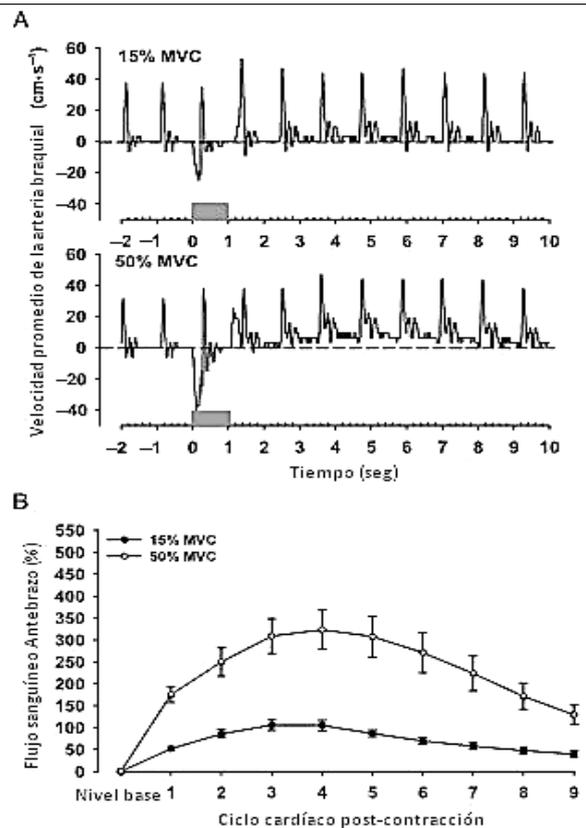
**Figura 2.** Concentración de de adenosina, ATP, ADP y AMP, y flujo sanguíneo arterial femoral en reposo y durante un ejercicio de extensión de piernas graduado. Los datos son  $\pm$  promedios (69).

Referencias: \* # § denotan diferencias significativas entre las cargas de trabajo.

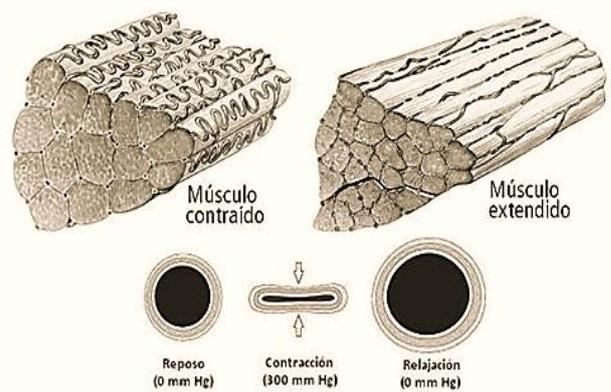
Ellos observaron que el flujo sanguíneo de la pierna aumentaba en una de las piernas que estaba inmóvil durante el movimiento pasivo de la otra pierna. El flujo sanguíneo de la pierna se mantuvo elevado durante el ejercicio voluntario, pero retornó a los valores de base durante el movimiento pasivo.

Con estos datos, las fuerzas mecánicas y la cardio-aceleración aparte del bombeo del músculo esquelético, contribuyen a aumentar el flujo sanguíneo de la pierna al comienzo del ejercicio, seguido por un flujo en estado estable que concuerda con la demanda metabólica muscular.

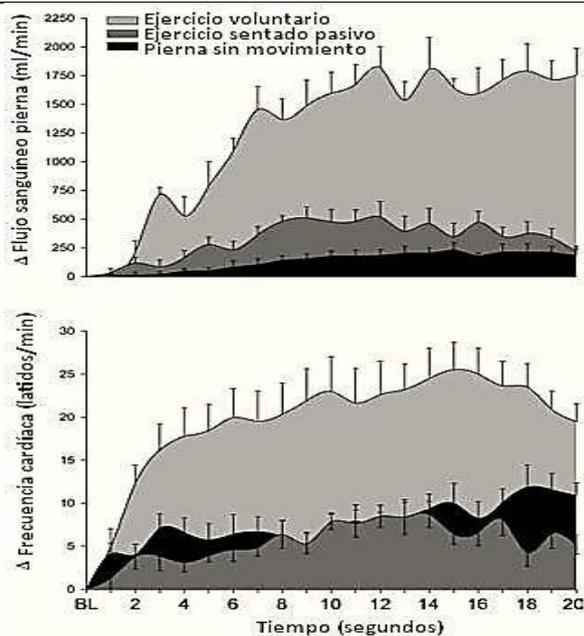
Es decir, el mayor flujo sanguíneo de la pierna visto al comienzo del ejercicio voluntario era sostenido durante el ejercicio estable, pero decaía durante el movimiento pasivo, demostrando una fuerte relación entre la perfusión y el metabolismo muscular en estas condiciones (10). En las Figuras 5,6 y 7, se pueden observar estas conclusiones.



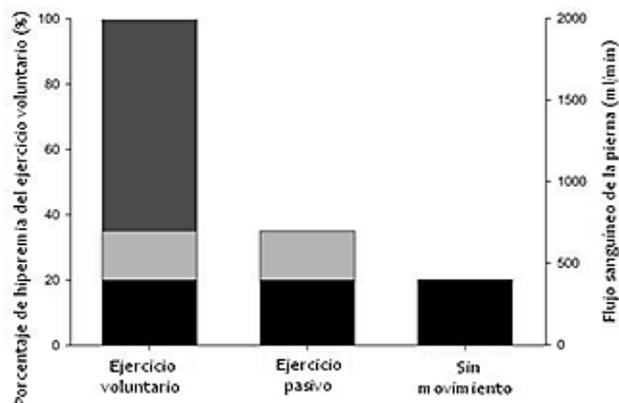
**Figura 3.** Las rápidas alteraciones en el flujo de sangre del antebrazo en respuesta a una contracción isométrica de 1 segundo del músculo del antebrazo. A, velocidad de la sangre de la arteria braquial en forma de onda en respuesta a una única contracción isométrica máxima voluntaria (MVC). El período de la contracción se indica por las barras de color gris. EL diámetro arterial permanece constante dentro de y entre las condiciones de la MVC, de forma que la velocidad sanguínea media sea directamente proporcional al flujo sanguíneo del antebrazo. B, Porcentaje del cambio en el flujo sanguíneo del antebrazo después de contracciones únicas isométricas de 1 segundo del antebrazo al 15% y al 50% de la MVC. (ver ref. 8)



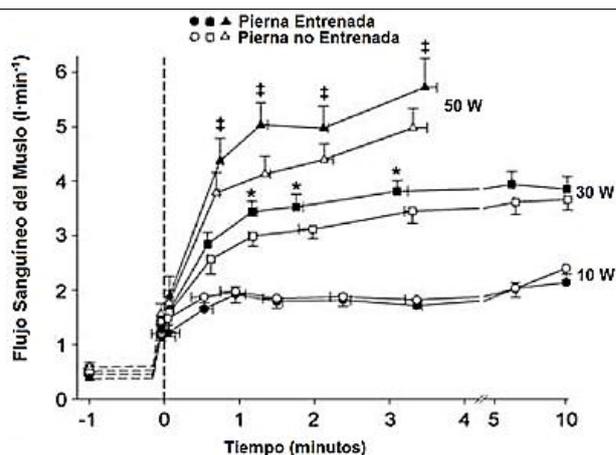
**Figura 4.** Diagrama esquemático que muestra el corte transversal de una arteriola dentro del músculo esquelético; compresión debido a la contracción muscular, y vasodilatación subsiguiente. Los valores en los paréntesis representan las presiones intramusculares típicas en el músculo sóleo humano durante la carrera. Los mecanismos responsables para la dilatación a la compresión extravascular no se han identificado todavía, pero podrían involucrar la activación de canales mecanosensibles de iones o integrinas (receptores) (ref. 8).



**Figura 5.** Cambios dinámicos en el flujo sanguíneo de la pierna y de la frecuencia cardíaca. Ejercicio voluntario: ejercicio de extensión de piernas sentado (10 W); El Ejercicio sentado pasivo y la pierna sin movimiento fueron medidos en la misma postura (ref. 10).



**Figura 6.** Representación gráfica del método experimental 'reduccionista' de Wray. Modalidades separadas de ejercicio fueron utilizadas para evaluar la contribución relativa de factores a la hiperemia de inicio del ejercicio. Las barras indican: los múltiples factores (es decir, vasodilatación mediada por el endotelio, vía NO y por el metabolismo, bombeo del músculo esquelético, comando central) asociados con la hiperemia al comienzo del ejercicio voluntario (color gris oscuro); hiperemia persistente después de remover influencias metabólicas y del bombeo del músculo esquelético, que podrían deberse a la deformación de los vasos y a la cardio-aceleración (color gris claro); y la restante hiperemia, que puede ser atribuida a influencias cardíacas, del endotelio y/o neurales (color negro) (ref. 10)

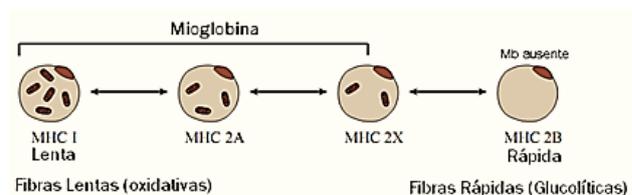


**Figura 7.** Flujo Sanguíneo en el muslo durante distintas cargas de trabajo. A mayor carga, mayor flujo (23).

### Importancia de la Mioglobina (Mb) y dinámica del O<sub>2</sub>.

#### Características.

La Mb es una proteína citoplasmática relativamente pequeña, que consiste de 154 amino-ácidos y cuyo exterior de la molécula está compuesto de residuos hidrófilos, con una mínima interacción friccional, lo cual es una propiedad que favorece la difusión del O<sub>2</sub> facilitada por la Mb dentro del sarcoplasma (15).



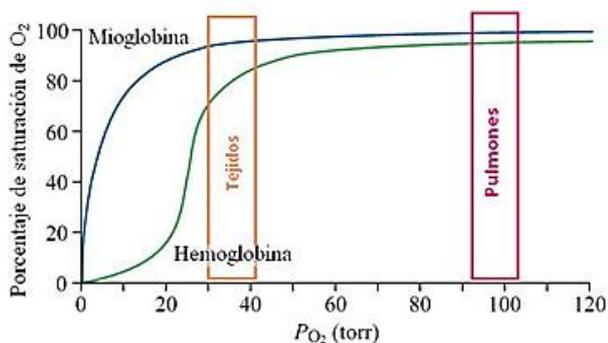
**Figura 8.** La Mb está expresada en las miofibrillas esqueléticas oxidativas. (MHC I) Fibras Tipo I; (MHC IIa) Fibras Tipo IIa; (MHC IIb) Fibras Tipo IIb; (MHC IIx) Fibras Tipo IIx MHC, significa que expresan distintos tipos de isoforma de cadena pesada de miosina (Ref. 11).

Como la hemoglobina (Hb), la mioglobina se une reversiblemente al O<sub>2</sub> y así puede facilitar el transporte de O<sub>2</sub> desde los glóbulos rojos hacia la mitocondria durante períodos de mayor actividad metabólica o sirve también como reservorio de O<sub>2</sub> durante condiciones hipóxicas (poco oxígeno) o anóxicas (sin oxígeno). A diferencia de la Hb, sin embargo, la Mb con un único sitio de vinculación de O<sub>2</sub>, tiene una curva hiperbólica de saturación de O<sub>2</sub>, en vez de una curva de forma sigmoidea vista en la Hb (Figura 9).

Como ocurre con la distribución de las enzimas glucolíticas, la concentración de Mb parece ser más alta en la banda-I que en la banda-A. Esta región del sarcómero también contiene un volumen más grande de densidad mitocondrial. A partir de esto, uno podría especular que las mitocondrias localizadas en la banda-I podrían beneficiarse de la liberación directa de O<sub>2</sub> mediada por la oximioglobina (Mb saturada) para la cadena respiratoria, lo cual ha sido demostrado de ser importante en las fibras musculares cardíacas (15,17). En una variedad de músculos, se demostró que las mitocondrias se distribuyen en un gradiente que es más

alto cerca de los capilares y disminuye con la distancia hacia el centro de la fibra muscular (17). Si la distancia de difusión para el O<sub>2</sub> o cualquier otro sustrato metabólico desde los capilares hacia las mitocondrias fuera un factor crítico en el metabolismo mitocondrial, entonces todas las mitocondrias deberían localizarse cerca de los capilares.

Pero, si la distancia para el intercambio de los componentes de fosfatos de alta energía entre las mitocondrias y las miofibrillas fueran críticas para el ritmo del trabajo muscular, entonces las mitocondrias deberían ser distribuidas uniformemente entre las miofibrillas. La distribución real de las mitocondrias en la mayoría de los músculos es intermedia entre los dos casos. Esto indica un equilibrio entre demandas opuestas (17).



**Figura 9.** La Mb se vincula al O<sub>2</sub> con avidéz. La Mb y la Hb funcionan como transportadores de O<sub>2</sub>. La Mb muestra una curva de vinculación con el oxígeno de forma hiperbólica mientras que la Hb muestra una curva de forma sigmoidea. La liberación de O<sub>2</sub> por la Mioglobina no se inicia hasta que la PO<sub>2</sub> es muy baja, cuando la hemoglobina se halla ya prácticamente disociada por completo y ha cedido casi la totalidad del O<sub>2</sub> que transportaba. (Ref. 11)

Por ejemplo, en músculos entrenados en resistencia aeróbica, hay un aumento en el contenido total de mitocondrias de las fibras musculares, con un contenido mayor relativo a la población del subsarcolema que en la población interfibrilar. Ambos tipos de mitocondrias podrían tener distintos equipamientos enzimáticos (17).

#### Concentración de Mb en el músculo.

La concentración de Mb en las fibras musculares esqueléticas está muy vinculada al requerimiento por el trabajo físico sostenido. En la naturaleza hay claras variaciones en la concentración de la Mb que apoya el rol de la Mb en el flujo de O<sub>2</sub> desde la sangre hacia los músculos aeróbicamente activos: el músculo del pecho de una gallina que no vuela es 'blanco' y le falta esta proteína, mientras que en los patos, que sí pueden volar, el mismo músculo es 'rojo' y rico en Mb (18). El contenido de Mb de los músculos aumenta dramáticamente con el ejercicio y aún aumenta en un músculo predominantemente 'blanco' (fibras rápidas) con inervación 'cruzada' de un músculo de fibras lentas (15). El contenido de Mb de los músculos es proporcional al contenido de la citocromoxidasa (enzima clave en el sistema de la cadena respiratoria en las mitocondrias).

Esencialmente todo el oxígeno consumido por el músculo esquelético y el corazón es tomado por la

citocromoxidasa; así, la Mb está desarrollada en el músculo más o menos en proporción al contenido muscular de esta enzima (15,16). Puesto que la Mb no puede atravesar la membrana exterior mitocondrial, la citocromoxidasa, alojada en la membrana interna mitocondrial en las crestas, debe ser abastecida por el O<sub>2</sub> disuelto que se difunde desde el sarcoplasma. La membrana exterior mitocondrial extremadamente delgada, apenas impedirá la difusión del O<sub>2</sub> (16). La concentración en el músculo esquelético puede ser más alta y está quizás correlacionado con el tamaño celular más grande y capilares más ampliamente espaciados (15). Por ejemplo, la concentración de O<sub>2</sub> unido a la Mb en el sarcolema del músculo esquelético que realiza un trabajo estable sostenido, excede la concentración del O<sub>2</sub> disuelto. La relación del O<sub>2</sub> unido a la Mb/oxígeno libre se aproxima a 30:1 (15).

En cuanto a los niveles de Mb en las fibras musculares en humanos, un estudio de **Nemeth** (12) intentó determinar el contenido de Mb y su relación con enzimas metabólicas musculares. En la Tabla 4 se pueden observar distintos valores de contenidos de Mb.

Músculo	Vasto lateral	Bíceps braquial	Vasto lateral	Vasto lateral	Gemelos
Sujeto	normal	normal	Atleta altamente entrenado	El mismo atleta con 84 días de desentrenamiento	normal
Tipo de fibras					
I	29.25 ± .65	9.20 ± .59	19.02 ± .56	19.89 ± .65	9.76 ± 1.08
II	20.40 ± .65	5.52 ± .50	14.52 ± .86	13.43 ± .51	8.28 ± 1.02
I/II (proporción)	1.43	1.67	1.31	1.48	1.18

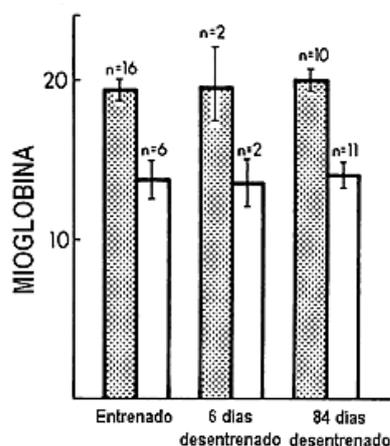
**Tabla 4.** Niveles de mioglobina en las fibras musculares tipo I y II (Ref. 12).

También se concluyó que el desentrenamiento de atletas altamente entrenados resultó en un marcado descenso en las enzimas relacionadas con los procesos energéticos, sin que la Mb fuera afectada en cualquiera de los dos tipos de fibras del músculo vasto lateral por el desentrenamiento (Ver Figuras 10 y 11; Ref. 12). También se evidenció en ese estudio que un cambio en la condición de entrenamiento, que llevó a cambios en las enzimas oxidativas, no afectó los niveles de mioglobina de las mismas células.

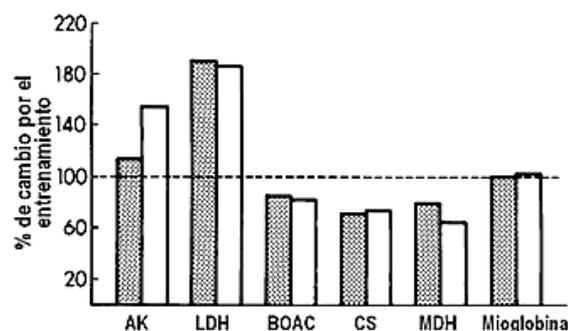
Sin embargo, **Duteil y col.** (19) encontraron que la concentración de Mb era significativamente más alta en los músculos de la pantorrilla de los atletas de resistencia (corredores) que en atletas de sprint (velocistas de 100-200 mts) (Ver Figura 12). Adicionalmente, la concentración de Mb se correlacionó negativamente con el tiempo de llegar a la hiperemia máxima ( $r = 0.58$ ,  $P = 0.008$ ) y se correlacionó positivamente con la producción oxidativa mitocondrial de ATP ( $r = 0.70$ ,  $P = 0.008$ ). También en los atletas de resistencia se correlacionó fuertemente la reoxigenación intracelular y la recuperación metabólica (19).

Por otro lado, en una revisión de **Laursen P.B. y Jenkins D.G.** (27) se menciona que los atletas se tornan hipoxémicos durante el ejercicio de alta intensidad,

aumentando los niveles de mioglobina en respuesta al estrés hipóxico.

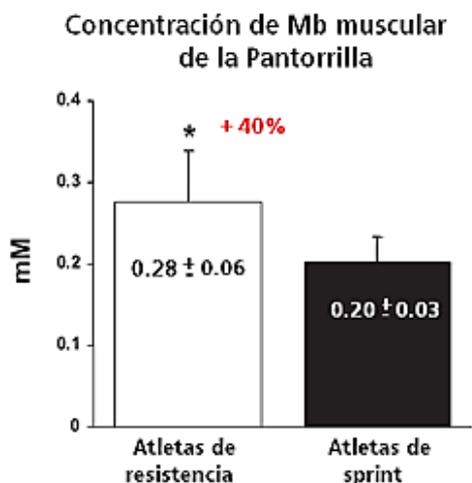


**Figura 10.** Concentración de Mb (mg/kg  $\pm$  SD) en fibras musculares tipo I (columnas rellenas) y tipo II (columnas blancas) de atletas ciclistas entrenados, en su pico de entrenamiento y después de 6 días de desentrenamiento y después de 84 días de desentrenamiento; n número de muestras de fibras (Ref. 12).



**Figura 11.** Porcentaje de cambio en las actividades de las enzimas metabólicas y de la Mioglobina en las mismas fibras tipo I (columnas rellenas) y tipo II (columnas blancas) del músculo vasto lateral de un atleta después de 84 días de desentrenamiento.

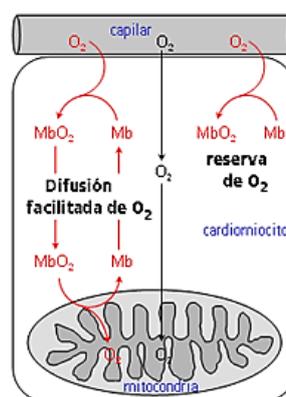
AK: adenilato kinasa; LDH: lactatodeshidrogenasa; BOAC:  $\beta$ -hidroxiacil-coenzima A deshidrogenasa; CS: citrato sintetasa; MDH: malato deshidrogenasa.



**Figura 12.** Concentración de mioglobina en distintos tipos de atletas (ref. 19).

Pero otros autores (**Gödecke**, por ejemplo) descubrieron múltiples mecanismos compensatorios en ratas a las que se les bloqueó la mioglobina, sosteniendo la idea de que la Mb de hecho no tiene un rol en la fisiología del suministro de O<sub>2</sub> y en la producción de energía en los músculos de fibras lentas (14). Ya veremos también que el contenido de Mb es proporcional al déficit en el suministro de O<sub>2</sub> en la demanda máxima de O<sub>2</sub> (20).

Por lo tanto, a lo largo de la literatura científica, se pueden identificar tres roles funcionales potenciales para la Mioglobina en los músculos 'aeróbicos' en animales terrestres: 1) como depósito o reservorio de O<sub>2</sub>; 2) como agente transportador de O<sub>2</sub>, y 3) como un catalizador celular (buffer intracelular). También han surgido otros roles secundarios.



**Figura 13.** Dibujo esquemático que resume las funciones de la Mb en el citosol y mitocondria.

#### Como reservorio de O<sub>2</sub>.

Ya **Christensen** (3) observó que cuando un sujeto se ejercitaba intermitentemente en turnos de 10", hay una dilatación de los vasos sanguíneos que irrigan a los músculos más activos, lo cual asegura un buen aporte de sangre y, en consecuencia, un buen aporte de oxígeno tanto durante el ejercicio como en la pausa. Además, hay una reserva de O<sub>2</sub> en la mioglobina que puede consumirse durante el turno de ejercicio (1). Aunque las reservas de O<sub>2</sub> en la mioglobina son relativamente pequeñas, alrededor de 500 ml por masa muscular, tiene un papel importante en el suministro de energía en el trabajo inicial y de corta duración, de forma que las reservas de O<sub>2</sub> en la mioglobina constituyen un 20% de la energía requerida para un trabajo intensivo de 15 segundos (Ver Figura 4, de la Primera parte de esta serie de publicaciones sobre el Ejercicio Intermitente)(21,22). Durante el siguiente período de descanso, este depósito se rellena fácilmente con O<sub>2</sub>, siendo esta reposición de aproximadamente la mitad de las reservas de O<sub>2</sub> de la mioglobina (20,22,28,29). Así, **Åstrand P-O. y Col.** (4) tenían la hipótesis de que el depósito de O<sub>2</sub> (representado por la mioglobina) era usado en la fase inicial de trabajo antes que la respiración y la circulación sean capaces de alcanzar los valores que corresponden a la demanda real de O<sub>2</sub>. La reserva de O<sub>2</sub> calculada en el experimento de Åstrand P-O., era de alrededor de 0.43 litros (ver Figura 4, Ref. 6). Con el turno de 60 minutos de ejercicio, se calculó que faltaban 1.9 litros de O<sub>2</sub>, y que, en consecuencia, debía haber procesos anaeróbicos que prestaban su constitución (4). Estas fluctuaciones de las

reservas de  $O_2$  estimularían el aumento de la capacidad de la mioglobina. En consecuencia, las duraciones básicas de trabajo para la capacidad de la mioglobina tendrían que ser igual a 10-15 segundos (22). Así, **Åstrand P.-O.** y **Christensen E.H.** explicaron los bajos valores de ácido láctico durante los turnos cortos de ejercicio y descanso, proponiendo que la mioglobina funciona como un depósito de  $O_2$  durante los períodos cortos de trabajo muscular pesado (1,4,6,12,15).

#### Como transportador de $O_2$

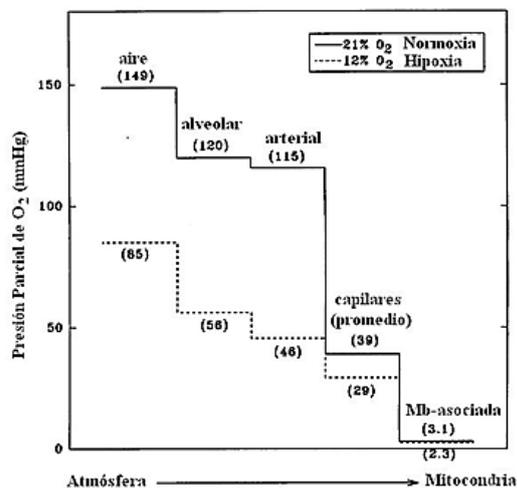
El transporte intracelular de  $O_2$  en las fibras musculares es ampliamente ayudado por la Mb. De acuerdo a Wittenberg, tres condiciones deben encontrarse para la contribución de la difusión facilitada por la Mb al flujo de  $O_2$  que excede a la del  $O_2$  disuelto libre: a) la Mb debe estar presente en concentraciones significativas, b) la Mb debe estar parcialmente desaturada, y c) la Mb debe estar libre para someterse a la difusión translacional (de translación) en el sarcoplasma (17).

Se ha demostrado, ya en 1959 por **Wittenberg**, que la Mb mejora el flujo difusivo del  $O_2$  *in vivo*, y también otros autores demostraron que es precisamente la naturaleza rápida de casi equilibrio de las cinéticas de vinculación de la Mb, junto con su constante de disociación del  $O_2$  cerca de la  $PO_2$  del músculo activo y su alta concentración comparada con la difusión de  $O_2$ , que mejora la mioglobina para la 'difusión facilitada de  $O_2$ ' (13). Experimentos subsecuentes demostraron que la inhibición de la vinculación del oxígeno con la Mb (bloqueo), por ejemplo con  $H_2O_2$  (agua oxigenada), disminuyó el  $VO_{2m\acute{a}x}$  en el músculo aislado, y por los años 1990 la importancia de la Mb para el transporte del  $O_2$  en los músculos 'aeróbicos' fue ampliamente aceptada (13). Con lo cual, el mantenimiento de la función aeróbica a pesar de este bloqueo de la Mb indica que no hay un vínculo obligado entre la Mb y la fosforilación oxidativa (20).

También, hay evidencia de que el trabajo muscular con baja presión de  $O_2$  es dependiente de la Mb funcional, ya que cae la resíntesis de ATP y CP (15). Es interesante observar también en un estudio de **Cole** (15) que durante la función contráctil el flujo de sangre en el músculo se mantuvo sin cambios, y la extracción de  $O_2$  disminuyó, lo cual indica que la 'mioglobina funcional' transporta  $O_2$  a las mitocondrias. Estos resultados establecen inequívocamente que la Mb sostiene la disponibilidad de  $O_2$  en las mitocondrias de los músculos que operan en estados fisiológicamente normales (15).

En el estudio de **Richardson** (18) se estudió si durante el ejercicio, la  $PO_2$  intracelular era mucho menor que la  $PO_2$  capilar, lo cual podría confirmar la importancia de la conductancia de  $O_2$  desde la sangre a la mitocondria en la determinación del  $VO_{2m\acute{a}x}$ . Se comprobó una rápida desaturación de la Mb en un ejercicio submáximo (50% del  $VO_{2m\acute{a}x}$ ), y esta desaturación ocurre muy rápidamente (dentro de un tiempo de 20"). Así, hay evidencia de un gradiente sustancial de  $O_2$  desde la sangre al tejido, indicando una resistencia a la difusión de  $O_2$  entre los glóbulos rojos y el sarcolema, y que esto está presente aún durante el ejercicio submáximo. En tanto la carga de trabajo aumenta y la demanda de  $O_2$  se eleva, el flujo de  $O_2$  puede ser incrementado a pesar de esta limitación de la difusión, presumiblemente aumentando el área disponible

para dicha difusión, elevando tanto el reclutamiento capilar como el flujo sanguíneo (18). En la Figura 15, se puede observar la 'cascada de  $O_2$  desde el aire a los tejidos'. Así, durante el  $VO_{2m\acute{a}x}$  muscular, la conductancia de difusión de  $O_2$  en los tejidos es igual, y significa que la  $PO_2$  capilar, la  $PO_2$  de la Mioglobina y el  $VO_{2m\acute{a}x}$  son cada uno reducidos proporcionalmente en hipoxia, sosteniendo el concepto de que el suministro de  $O_2$  juega un rol clave en la determinación del  $VO_{2m\acute{a}x}$ .



**Figura 14.** La cascada completa de oxígeno desde la atmósfera hasta el tejido muscular durante el ejercicio máximo de extensión de piernas tanto en normoxia como en hipoxia. Nótese los valores de la  $PO_2$  casi similares a nivel mitocondrial, en ambas condiciones atmosféricas (ref. 18)

En el mismo estudio de **Richardson** (18) los datos con NMR (resonancia magnética nuclear) revelaron que la concentración de Mb es mayor en el músculo humano con una alta capacidad oxidativa y una vasculatura altamente sensible de adaptarse, y el ritmo al cual la Mb se resatura (que se vincula al  $O_2$ ) está bien correlacionado con la tasa de refofosforilación de la creatina (formación de CP), que implica un rol fundamental de la Mb en el transporte de  $O_2$  en el músculo esquelético altamente oxidativo (13,18). Así es como la Mb se desatura rápidamente al comienzo de un ejercicio muscular, aumentando el gradiente de  $PO_2$  desde los capilares sanguíneos al citoplasma. Además, la Mb desaturada cerca de la membrana celular, se vincula entonces al  $O_2$  y se 'difunde' a la mitocondria, proporcionando una vía paralela que suplementa la simple difusión del  $O_2$  disuelto (11). Por lo tanto, las propiedades de la Mb hacen que se ajuste a un rol en el transporte de  $O_2$  por su alta concentración, su saturación promedio cerca de la  $PO_2$  *in vivo* y su cinética muy rápida (13).

En una gran revisión de **Conley** (20) se establece que la conductancia, y no la concentración, de la Mb, es importante. El contenido de Mb solamente, es un pobre predictor de su rol en el suministro de  $O_2$ , ya que la concentración sola no determina la conductancia a la Mb, sino que el radio de la fibra muscular es también un factor crítico. Es decir, la conductancia representa solamente la capacidad para el suministro de  $O_2$ , mientras que el flujo real vía difusión de  $O_2$  y  $O_2$  unido a la Mb (oximioglobina) depende de los niveles de  $PO_2$  y gradientes en el músculo.

Se ha encontrado que el contenido más bajo de Mb se observa en aquellas fibras sin una limitación de la difusión. Por lo tanto, se indica que la Mb era necesaria como un suministro de  $O_2$  y que el contenido de Mb aumentaba en proporción al tamaño de la limitación de difusión a las demandas mitocondriales de  $O_2$ . También la concentración de Mb aumenta en ambientes de reducidas demandas máximas de  $O_2$  (20). Otra cuestión es la fuerza de conducción para el suministro de  $O_2$  desde la sangre, que aumenta en tanto el tamaño corporal disminuye. A esto se le suma que también la  $PO_2$  es más alta en pequeños sujetos (20). Así, esto explica la menor concentración de Mb en tanto el tamaño corporal disminuye, ya que es menos necesario el suministro de  $O_2$  suplementario a causa de una mayor capacidad de difusión en sujetos más pequeños.

En esta misma revisión (20), se observó que la desaturación del  $O_2$  de la Mb es clara aún al 50% del  $VO_{2m\acute{a}x}$  (como vimos anteriormente) y esta desaturación ocurre muy rápidamente. Y hay una re-saturación cuando el ejercicio cesa durante al menos 45". Esta rápida desaturación de la Mb al 50-60% (aún en ejercicios submáximos) es indicativo del uso inmediato de al menos la mitad de los depósitos de  $O_2$  de la Mb, como sostenía Åstrand en la década del sesenta.

Así la velocidad y la magnitud de esta respuesta puede tener varias funciones (20): i) la inmediata disponibilidad del 50% del  $O_2$  guardado asociado con la Mb, puede ser una importante fuente de  $O_2$  para el mayor metabolismo oxidativo al comienzo del ejercicio; ii) esta desaturación de la Mb reduce la región depletada por el transportador, maximizando el gradiente de la  $PO_2$  desde la sangre a la célula (ver Figura 15). En consecuencia, el sistema de transporte pasivo responsable para el influjo de  $O_2$  hacia la célula muscular es facilitado por esta rápida desaturación, aún durante el ejercicio liviano. La mayor respuesta de la Mb sin vinculación al  $O_2$  en hipoxia y la elevación concurrente en la conductancia de difusión de  $O_2$  en hipoxia a través del ejercicio submáximo, sostiene estos conceptos.

Por ejemplo, la  $PO_2$  en la sangre durante el ejercicio era 11-12 veces más alto que en el citoplasma en un ritmo de carga submáxima (50% del  $VO_{2m\acute{a}x}$  de una pierna) y se mantenía 8-10 veces más alta aún en cargas máximas de ejercicio. Por lo tanto, hay una desaturación ('vaciamiento de  $O_2$ ') de la Mb constante, a pesar del ejercicio que progresa en forma intensa. Por lo tanto, en el transcurso de ejercicios dinámicos de intensidad moderada o baja no participa el  $O_2$  combinado a la Mb (21).

Otro dato que se puede relacionar con la  $PO_2$  es el lactato. Por ejemplo, se ha reconocido que elevadas concentraciones de lactato sanguíneo deberían ser causados por otros factores que simplemente una tasa de síntesis de ATP mitocondrial limitada por el  $O_2$ . Conley (20) recientemente apoya esta conclusión dando datos *in vivo* en hombres, que indican que el  $PO_2$  intracelular se mantiene por arriba de esos valores aún en ejercicios máximos en hipoxia, con producción de lactato que se eleva rápidamente (ver Figura 16).

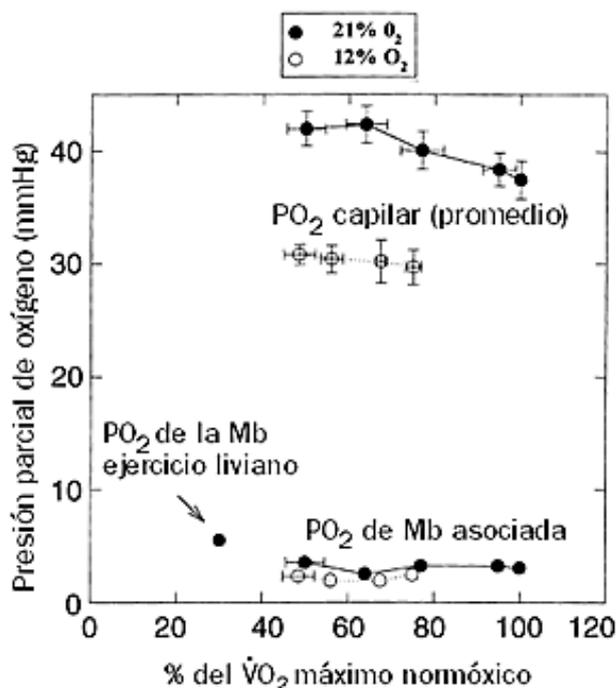


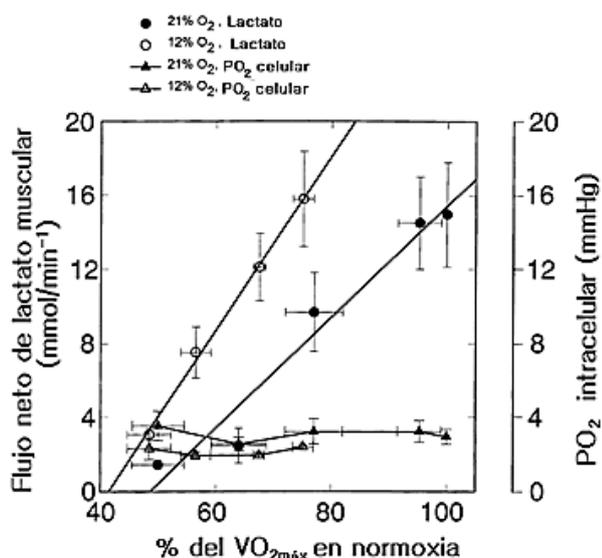
Figura 15.  $PO_2$  promedio capilar y  $PO_2$  celular asociada a la Mb en relación al porcentaje del  $VO_{2m\acute{a}x}$  en normoxia tanto en normoxia (21%  $O_2$ ) como en hipoxia (12%  $O_2$ ). Nótese la gran diferencia entre la  $PO_2$  disponible en los capilares y la  $PO_2$  a nivel celular, aún en ritmos de ejercicio submáximos (Ref. 20).

Con el reconocimiento de que la producción de lactato muscular puede ser el resultado de la hipoxia celular, los datos son sugestivos de un  $PO_2$  'crítico' mucho más alto *in vivo* en el músculo esquelético humano entrenado, ya que el ritmo metabólico mitocondrial máximo parece estar significativamente comprometido cuando el  $PO_2$  intracelular cae desde un nivel de 4 mmHg.

Con respecto al concepto de 'umbral anaeróbico', estos datos demuestran que durante el ejercicio incremental, las células del músculo esquelético no se tornan 'anaeróbicos' en tanto los niveles de lactato suben rápidamente, aún en ejercicios submáximos (ver Figura 15), lo cual no refleja una anoxia celular, sino una alta tasa de flujo glucolítico que es necesaria para sostener la fosforilación oxidativa (20).

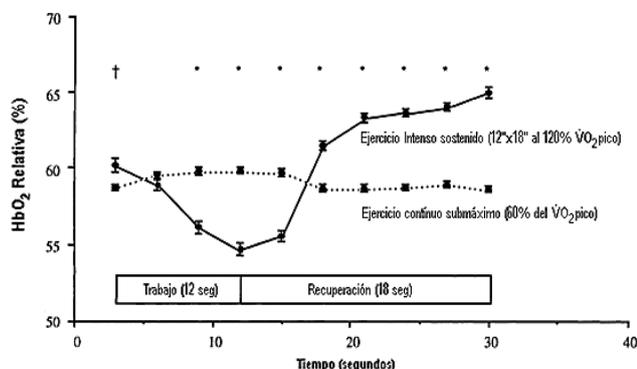
Y con respecto al concepto de 'umbral anaeróbico', estos datos demuestran que durante el ejercicio incremental, las células del músculo esquelético no se tornan 'anaeróbicos' en tanto los niveles de lactato suben rápidamente, aún en ejercicios submáximos (ver Figura 15), lo cual no refleja una anoxia celular, sino una alta tasa de flujo glucolítico que es necesaria para sostener la fosforilación oxidativa (20).

En un estudio de Christmass M.A. y Col. (25), una disminución en la hemoglobina relativa al comienzo de un ejercicio de carrera intermitente intenso (120% del  $VO_{2p\acute{i}c}o$ , 12" de trabajo por 18" de pausa) indicó que los mecanismos de suministros de  $O_2$  no podían igualar inmediatamente la demanda, y por lo tanto, mantener la concentración capilar de  $O_2$  en los valores básicos.



**Figura 16.** Flujo neto de lactato muscular y PO<sub>2</sub> intracelular como una función del consumo de oxígeno en condiciones de normoxia e hipoxia. Obsérvese la constancia de los valores de la PO<sub>2</sub> intracelular a pesar del aumento de lactato (ref. 20).

A través de una espectroscopía cercano infrarrojo (NIRS, *near-infrared spectroscopy*), se pudo observar el nivel de estado estable de la hemoglobina relativa durante el ejercicio intermitente, que era caracterizado por una declinación cíclica en la oxigenación durante los períodos de trabajo, seguido por una re-oxigenación durante la recuperación (Ver Figura 17). Como se puede ver en la figura 17, el punto más bajo alcanzado de la hemoglobina durante el ejercicio intermitente comparado al ejercicio submáximo continuo (60% del VO<sub>2pico</sub>, 0% de inclinación en cinta ergométrica), refleja una discrepancia comparablemente mayor entre la demanda de O<sub>2</sub> y el suministro. En este contexto, recordemos que **Katz y Sahlin** en 1987, definían a la hipoxia del músculo esquelético como una declinación en la disponibilidad del O<sub>2</sub> (suministro) relativa a la tasa de utilización de O<sub>2</sub> (demanda) en el tejido (25). También, en el estudio de **Christmass M.A.** (25) se sostuvo una correlación entre la velocidad de carrera y la declinación en el contenido de O<sub>2</sub> en la hemoglobina a través de los distintos protocolos.

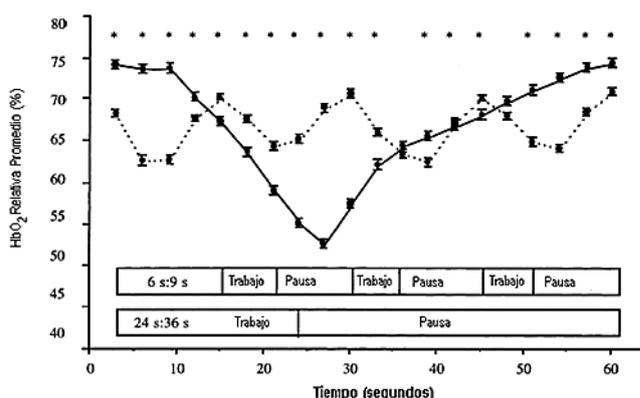


**Figura 17.** Oxigenación relativa del músculo cuádriceps durante el período de análisis (un ciclo de trabajo y pausa) de datos en el ejercicio intermitente sostenido y ejercicio continuo submáximo. † P < 0.05, \* P < 0.001, diferencias significativa entre los protocolos de ejercicio (25).

Otro estudio del mismo autor (25), se observa que en un ejercicio intermitente durante 2 protocolos de 24"x36" y de 6"x9", de trabajo y pausa (igual relación 1:1,5 de trabajo y pausa) a igual intensidad (65 y 71% del VO<sub>2pico</sub> respectivamente) en cinta ergométrica e igual duración total de trabajo (40 minutos), después de una declinación global a través de varios ciclos de trabajo:pausa, la hemoglobina muscular relativa alcanzó un estado estable dinámico en ambos protocolos (Ver Figura 18).

Este dato demuestra nuevamente la discrepancia entre el suministro y la demanda de O<sub>2</sub> requerido durante el ejercicio intermitente. De allí, la importancia del período de recuperación para lograr un estado estable entre la desoxigenación y la re oxigenación para ser alcanzados con estos protocolos (25). En la Figura 18 se puede observar una hipoxia relativa a pesar de una intensidad de ejercicio baja, en donde la declinación en el estado de la hemoglobina es una consecuencia de la duración del período de trabajo (6,25).

También, tengamos en cuenta que durante breves intervalos de recuperación, como ocurre en un trabajo intermitente de alta a moderada intensidad, al menos alguna parte del ATP, PCr y de oximioglobina es restablecida, tomando un tiempo de 10" a 80" la reposición de los depósitos de oxígeno-mioglobina (30).



**Figura 18.** Oxigenación relativa del músculo cuádriceps durante el período de análisis de datos en el ejercicio intermitente largo (24":36", líneas sólidas) y el ejercicio intermitente corto (6":9", líneas punteadas) de similar duración e intensidad global. \* P < 0.001 Diferencia significativa entre los protocolos de ejercicio (25).

### Nuevo rol de la Mioglobina: rol catalítico.

**Maurizio Brunori** en un artículo (29) argumenta que la mioglobina puede también jugar un rol de 'barredor' (*scavenger*) intracelular del óxido nítrico, un inhibidor de la citocromoxidasa-c mitocondrial, protegiendo así la respiración en el músculo cardíaco y corazón.

En humanos, el O<sub>2</sub> guardado por la Mb oxigenada (MbO<sub>2</sub>) es insuficiente para sostener el metabolismo aeróbico del corazón durante más de unos pocos segundos (**Millikan**, en 1937), y así juega un rol solamente entre las contracciones cardíacas. Otra función propuesta para la Mb es la facilitar la difusión de O<sub>2</sub> desde la periferia de las células hasta las mitocondrias (como vimos antes), para sostener la actividad de la cadena respiratoria. Este

proceso, llamado 'difusión facilitada de O<sub>2</sub>' demanda una fracción insignificante de Mb intracelular para estar en el estado desoxigenado y libre para difundirse en el citosol.

Los mecanismos compensatorios que se suceden por la falta de Mioglobina (experimentos realizados en ratones), los cuales provocan un aumento del 30% en la densidad capilar miocárdica que reduce la distancia promedio desde el lecho vascular y la mitocondria, sirven para elevar el gradiente de concentración de O<sub>2</sub> y reducir la distancia de la vía de difusión efectiva y la capilaridad. La citocromoxidasa-C, enzima terminal de la cadena respiratoria, es irreversiblemente inhibida por el NO, y concentraciones submicromolares de NO pueden empeorar la respiración celular. La inhibición claramente implica una competencia entre el O<sub>2</sub> y el NO, ambos gases son conocidos de vincularse a la Mb. El ritmo constante para la vinculación de O<sub>2</sub> es igual o mayor que la del NO. Con todo eso, el NO es un potente inhibidor de la respiración y se ha estimado que cuando la concentración de O<sub>2</sub> es casi de 30 µM a nivel del tejido, la concentración de NO requerida para alcanzar la mitad de inhibición de la respiración es aproximadamente de 0,1 µM. En vista de la competencia entre el O<sub>2</sub> y el NO por la citocromoxidasa-C, el efecto del NO sobre la respiración celular es sensible a la concentración de O<sub>2</sub>. Así, **Brunori** propone que una función importante de la Mb en el miocardio y en el músculo esquelético es actuar como un 'barredor' intracelular del NO, para evitar o reducir la inhibición de la citocromoxidasa-C, y por lo tanto, proteger la maquinaria que produce energía. Esto podría ser ventajoso, especialmente para las células cardíacas, las cuales están rodeadas de mitocondrias que necesitan 'respirar' a máxima velocidad para sostener un gradiente de protones activos y así la resíntesis de ATP. En los músculos esqueléticos 'aeróbicos', la mayoría de la Mb está en estado oxigenado ya que la concentración de O<sub>2</sub> que prevalece en los tejidos es suficiente para saturar a la Mb, dada su alta afinidad al O<sub>2</sub>. Esta reacción de la MbO<sub>2</sub> con el NO, es aún más alta que el vínculo dominante del NO a la Mb oxigenada. La concentración intracelular de la Mb es bastante alta para asegurar que el 'barrido' del NO sea rápido y casi inevitable en los músculos 'aeróbicos'. El NO se vincula a la Mb desoxigenada con alta afinidad, produciendo un estable complejo. La fracción de Mb desoxigenada en los músculos activos es generalmente bastante baja (-10% de la Mb total).

Entonces, la MbO<sub>2</sub> en el corazón y en los músculos esqueléticos es un 'barredor' del NO, y por tanto, protege la cadena respiratoria de ser inhibida.

¿Por qué la Mb no está presente en otros tejidos si protege la respiración celular a partir de la inhibición del NO? El hecho de que la Mb está esencialmente ausente en los músculos lisos parece ser razonable ya que un barrido eficiente podría interferir con el rol crucial del NO como un mensajero en la relajación del músculo liso, lo cual es la base de la vasodilatación de los vasos sanguíneos. Ya que el NO es reportado de funcionar como un mensajero del SNC (Sistema Nervioso Central), la expresión de la Mb en altas concentraciones en neuronas podría ser peligroso. El reciente descubrimiento de la neuroglobina

(**Burmester, 2000**), una globina monomérica presente en el cerebro del ratón y del hombre, podría adquirir significancia fisiológica más para un control regional de los flujos de NO que para mejorar la disponibilidad de O<sub>2</sub> hacia la mitocondria, dado que está solamente expresada en algunas áreas del cerebro y en niveles extremadamente bajos. Por contraste, en los músculos aeróbicos, la función de barrido al NO por parte de la MbO<sub>2</sub> podría tomarse en consideración al describir la fisiología del músculo esquelético y corazón a nivel molecular y su rol en la respiración tendría significación en varios estados patofisiológicos que implican un mayor flujo de NO. Por todo esto, esta información es útil no sólo a nivel del entrenamiento de alto rendimiento sino también a nivel de la salud de los sujetos.

#### *Dinámica del O<sub>2</sub>.*

Y respecto a la dinámica del O<sub>2</sub>, **Bangsbo y Col.** (28,29), afirman que es evidente que el VO<sub>2</sub> muscular comienza dentro de los primeros segundos de ejercicio, y muy probablemente, comience aún antes, ya que hay una posibilidad de utilización significativa del O<sub>2</sub> unido a la Mb en la primera fase del ejercicio (0-20"). Respecto a esto último, se ha observado que la mitad del O<sub>2</sub> guardado y asociado a la Mb, determinado por espectroscopia de resonancia magnética nuclear H<sup>1</sup>, era usado dentro de los 20 segundos de ejercicio dinámico. Es decir, parece ser que después de unos pocos segundos de "retraso" de solamente 3 segundos, hay un pronunciado aumento en la extracción del O<sub>2</sub> desde la hemoglobina por los músculos activos, pero toma algo de 45-50 segundos antes que la extracción sea máxima (28,29). Hay hallazgos que indican que el suministro de O<sub>2</sub> está en exceso con respecto a la demanda en la fase inicial del ejercicio dinámico y que el suministro de O<sub>2</sub> no es limitante para el  $\dot{V}O_2$  de los músculos (28) como tampoco limita la utilización de O<sub>2</sub> durante el ejercicio concéntrico (29). Debe tenerse en cuenta que una extracción de O<sub>2</sub> no máxima de los músculos activos en la fase inicial de ejercicio es debido a una distribución ineficiente (no óptima) del flujo sanguíneo, como ya vimos anteriormente. Son varios los estudios que puntualizan claramente que una limitación local de la utilización del O<sub>2</sub> muscular y la disponibilidad del O<sub>2</sub> hacia los músculos activos no influencia la dinámica del VO<sub>2</sub> al comienzo del ejercicio dinámico. Otras condiciones donde se ve afectada la utilización del O<sub>2</sub> pueden ser el ejercitarse en supino, donde el VO<sub>2</sub> pulmonar y el flujo sanguíneo de las piernas son menores con respecto a una posición de pie (28). También la hipoxia y los β-bloqueantes pueden causar un cambio en el VO<sub>2</sub> pulmonar. Otro factor en la limitación en la utilización máxima del O<sub>2</sub> de los músculos activos en la fase inicial de ejercicio es el rol de la PDH (piruvato deshidrogenasa), provocando una insuficiente provisión de acetil-CoA hacia el ciclo de Krebs, como resultado de un mayor retraso en la actividad de la PDH, en tanto, otros estudios desechan esta posibilidad (27,29). El ejercicio repetitivo produce una elevada tasa de la utilización del O<sub>2</sub>, aunque se desconocen los mecanismos, uno de ellos podría ser un bajo pH muscular causado por el aumento del ácido láctico, pero hacen falta más estudios (27).



## Bibliografía

1. Åstrand P.O. y Shephard R.J. La Resistencia en el Deporte. 2da Edición, Ed. Paidotribo, Barcelona, año 2000, pp. 8-12.
2. Colli R. L'allenamento intermittente: Principi generali e metodologici (2004).
3. Christensen E.H., Hedman R., Saltin B. Intermittent and continuous running. *Acta Physiol Scand* 1960; 50: 269-87.
4. Åstrand L., Åstrand P.O., Christensen E.H.. Intermittent muscular work. *Acta Physiol Scand* 1960; 48: 448-53.
5. Clifford P.S., Hellsten Y. Vasodilatory mechanisms in contracting skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2004;97:393-403.
6. Ayupov N.S., Guseva A.A. Myogenic mechanism of exercise hyperemia. Электронный журнал "Исследований России", (Diario Científico del Instituto Físico-técnico de Moscú) 161e,стр.1501-1508,2006.
7. Rådegran G., Saltin B. Muscle blood flow at onset of dynamic exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 274, H314-H322. (1998).
8. Clifford, P.S.; Tschakovsky, M.E. Rapid Vascular Responses to Muscle Contraction; *Exerc Sport Sci Rev.* 2008 Jan;36(1):25-9.
9. Clifford P.S. Skeletal muscle vasodilatation at the onset of exercise; *J Physiol* 583.3 (2007) pp 825-833.
10. Wray D.W., Donato A.J., Abhimanyu Uberoi J.P. Merlone, Richardson R.S. Onset exercise hyperaemia in humans: partitioning the contributors. *J Physiol* 565.3 (2005) pp 1053-1060.
11. Ordway G.A., Garry D.J. Myoglobin: an essential hemoprotein in striated muscle. *Journal of Experimental Biology* 207: 3441-3446 (2004).
12. Nemeth, P. M., Lowry O.H. Myoglobin levels in individual human skeletal muscle fibers of different types. *J. Histochem. Cytochem.* 32: 1211-1216, 1984.
13. Meyer R.A. Aerobic performance and the function of myoglobin in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284:R1304-R1305. 2004.
14. Brunori M. Nitric oxide, cytochrome-c oxidase and myoglobin, *Trends in Biochemical Sciences*, Volume 26, Issue 1, 1 January 2001, Pages 21-23.
15. Wittenberg B.A., Wittenberg, J.B. Transport of oxygen in muscle. *Ann. Rev. Physiol.* 51,857 -878 (1989).
16. Wittenberg J.B., Wittenberg B.A. Myoglobin function reassessed. *J Exp Biol.* 2003; 206: 2011-2020.
17. Hoppeler, H., Billeter, R. Conditions for oxygen and substrate transport in muscles in exercising mammals. *J. Exp. Biol.* 160,263 -283 (1991).
18. Richardson S.R, Noyszewski E.A., Kendrick K.F., Leigh J.S., Wagner P.D. Myoglobin O<sub>2</sub> desaturation during exercise. Evidence of limited O<sub>2</sub> transport. *J Clin Invest.* 96(4): 1916-1926 (1995).
19. Duteil S., Bourlillon C., Raynaud J.S., Wary C., Richardson R.S., Leroy-Willig A., Jouanin J.C., Guezennec C.Y., Carlier P.G. Metabolic and vascular support for the role of myoglobin in humans: a multiparametric NMR study. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287: R1441-R1449, 2004.
20. Conley, K.E., Ordway, G.A., Richardson, R.S. Deciphering the mysteries of myoglobin in striated muscle. *Acta Physiol Scand.* 168, 623-634 (2000).
21. Barbany Cairó J.R. Fundamentos de fisiología del ejercicio y del entrenamiento. Editorial Barcanova, S.A., España. 1990. ISBN 84-7533-542-X.
22. Navarro Valdivieso F. "La resistencia", Ed. Gymnos, Madrid, 1998.
23. Krstrup P, Hellsten Y, Bangsbo J. Intense interval training enhances human skeletal muscle oxygen uptake in the initial phase of dynamic exercise at high but not at low intensities. *J Physiol.* 2004 Aug 15;559(Pt 1):335-45.
24. Christmass M.A., Dawson B., Passeretto P., Arthur P.G. A comparison of skeletal muscle oxygenation and fuel use in sustained continuous and intermittent exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, Oct 1999; 80(5): 423-35.
25. Christmass M.A., Dawson B., Arthur P.G. Effect of work and recovery duration on skeletal muscle oxygenation and fuel use during sustained intermittent exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, Oct 1999; 80(5): 436-47.
26. Laursen P.B., Jenkins D.G. The scientific basis for high-intensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sports Med*, Jan 2002; 32(1): 53-73.
27. Bangsbo J. Muscle oxygen kinetics at onset of and during intense exercise. *Acta Physiol Scand*, Apr 2000; 168(4): 457-64.
28. Bangsbo J., Krstrup P., González-Alonso J., Boushel R., Saltin B. Muscle oxygen kinetics at onset of intense dynamic exercise in humans. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol*, Sep 2000; 279: 899 - 906.
29. Brunori M. Nitric oxide, cytochrome-c oxidase and myoglobin. *Trends Biochem. Sci.* 26, 21-23 (2001).
30. Tomlin D.L., Wenger H.A. The relationship between aerobic fitness and recovery from high intensity intermittent exercise. *Sports Med* 31(1):1-11 (2001).