

REGULACIÓN Y ADAPTACIÓN GLICOLÍTICA EN LAS PROTEÍNAS DE LOS MIOFILAMENTOS: UNA REVISIÓN DE LITERATURA

Andrade, D. (davidjet6@yahoo.com)

¹Celular Physiology Laboratory, Biomedical Department, Faculty of Health Sciences, Antofagasta University, Chile.

Recibido: junio, 2012; Aceptado: noviembre, 2012.

RESUMEN

El presente trabajo de revisión literaria examina los posibles factores reguladores de la glicólisis en el músculo esquelético humano. La glicólisis es regulada por múltiples factores, entre los cuales está presente el ejercicio físico (intensidad, pausa, etc.). Existiría una retroalimentación negativa, en la cual interactuarían la glicólisis y la oxidación (músculo cardíaco y esquelético). En función del tipo de ejercicio (continuo o intermitente) también habría un flujo glicolítico diferenciado. Además, con la práctica de ejercicio habría un incremento en la expresión de enzimas que participan directamente en la glicólisis. Por ende, al someter a individuos a diferentes tipos de ejercicio se esperarían una serie de adaptaciones fisiológicas, las cuales estarían enfocadas en la producción y utilización de energía por parte de las células, con la intención de disminuir el stress del ejercicio. **PALABRAS CLAVE:** ejercicio físico; glicólisis; ejercicio intermitente.

ABSTRACT

The present review examines possible regulatory factors of the glycolysis in the human skeletal muscle. The glycolysis is regulated for multiple factors among which is present the physical exercise (intensity, rest interval, etc.). There exist negative feedbacks in which the glycolysis and the oxidation (in cardiac muscle and skeletal muscle) process interact. Depending on the exercise type (continuous or intermittent), the flux of glycolysis would varied. Furthermore, with the practice of exercise, the expression of enzymes than are involved directly in the glycolysis would change. Therefore, by expose individuals to different types of exercise, it would be expected a set of physiological adaptations, focused in the energy production and utilization; this adaptations would reduce the stress of exercise. **KEY WORDS:** physical exercise; glycolysis; interval exercise.

REGULACIÓN GLICOLÍTICA

El ejercicio físico intenso se acompaña de una rápida depleción de glicógeno y acumulación de lactato en los músculos activos, indicando un elevado ritmo en la glicólisis (Essén y Kaijser, 1978). Sin embargo, si un trabajo de alta intensidad es realizado como trabajo intermitente, con periodos breves de trabajo (5 – 20 segundos) interrumpidos por breves periodos de descanso (5 – 20 segundos), la disminución de glicógeno es menor y la acumulación de lactato también lo es (Essén y Kaijser, 1978). Además, la proporción de intercambio respiratorio es relativamente baja, sugiriendo una contribución substancial de los lípidos en el metabolismo oxidativo (Christensen y col., 1960). Mas aún, se ha demostrado que la contribución relativa de lípidos y carbohidratos al metabolismo oxidativo de los músculos de las piernas es el mismo, tanto durante 1 hora de ejercicio de intensidad elevada de tipo

intermitente (15 segundos de trabajo – 15 segundos descanso a 300 W), como durante 1 hora de ejercicio continuo realizado a la mitad de la intensidad que en el caso anterior (150 W) (Essén y col., 1977). Por tanto, si se realiza intermitentemente, el trabajo de elevada intensidad puede ser mantenido con un ritmo relativamente bajo de glicólisis, en comparación a la realización de un trabajo a la misma intensidad pero de tipo continuo. Esto sugiere que durante los periodos de descanso en el trabajo de tipo intermitente, ciertos factores reguladores son puestos en juego, retardando el ritmo de la glicólisis e incrementando la contribución de los lípidos al metabolismo oxidativo.

Varios mecanismos de retroalimentación han sido propuestos para explicar la regulación de la glicólisis y ellos podrían afectar la relación entre la utilización de lípidos y carbohidratos. En el corazón de rata profundado y aislado, un incremento en la oxidación de ácidos grasos y cuerpos cetónicos se asocia con una disminución en la utilización de carbohidratos, provocado por un retardo en la glicólisis a nivel de la fosfofructokinasa (PFK) y esto a su vez siendo mediado por un incremento en los niveles de citrato (Essén y Kaijser, 1978). En contraposición a lo ocurrido en el músculo cardíaco, la mayoría de los estudios que utilizaron una preparación de músculo esquelético han fallado en demostrar una disminución en la utilización de carbohidratos y/o un incremento en los niveles de citrato cuando la disponibilidad de ácidos grasos a sido incrementada (Berger y col., 1976). Sin embargo, en músculos esqueléticos “rojos” bien oxigenados se pudo observar que el nivel de citrato se incrementó y la utilización de carbohidratos disminuyó a medida que se incrementó la disponibilidad de ácidos grasos (Essén y Kaijser, 1978), sugiriendo que el citrato podría tener un efecto similar tanto en el músculo esquelético como en el cardíaco.

El presente trabajo de revisión bibliográfica examina los posibles factores reguladores de la glicólisis en el músculo esquelético activo de humano, factores que producen una alterada relación entre la utilización de lípidos y carbohidratos durante el ejercicio de tipo intermitente. La revisión incluye estudios que consideraron las fluctuaciones de los niveles de diversos metabolitos, los cuales podrían ser de importancia en la regulación de la glicólisis entre el periodo de reposo y el trabajo físico de tipo intermitente y, para efectos de comparación, se revisaron también aquellos estudios que consideraron las fluctuaciones del nivel de metabolitos en el periodo de reposo, luego de un ejercicio físico de tipo continuo hasta el agotamiento al mismo nivel elevado de trabajo que en el caso anterior. La mayoría de los estudios recopilados utilizaron a sujetos varones voluntarios, los cuales realizaron ejercicio de tipo intermitente, así como también ejercicio de tipo continuo, en los dos casos utilizando una intensidad similar, pero variando la relación trabajo – descanso. En la mayoría de los estudios recopilados se obtuvieron muestras de biopsias musculares, generalmente de la porción lateral del músculo cuádriceps, tanto antes, como después de los periodos de trabajo. En algunos de los estudios se utilizaron animales de laboratorio para estudiar los efectos de una variación en los niveles de un determinado sustrato o metabolito sobre la regulación del metabolismo energético. También se incluyen en esta revisión una serie de estudios realizados con roedores, que examinaron los efectos de una sobrecarga mecánica sobre las adaptaciones de las proteínas metabólicas involucradas en la glicólisis.

Regulación glicolítica: glicólisis durante ejercicio continuo versus ejercicio intermitente

Durante el ejercicio continuo, frente a una carga que demande el máximo consumo de oxígeno, una rápida depleción de glicógeno y una gran acumulación de glicerol-1-fosfato (GI-1-P), así como también de lactato y malato, metabolitos que están involucrados en la reoxidación del NADH formado en la glicólisis, ocurre en los músculos activos. En contraste, cuando el trabajo, con la misma carga, es realizado intermitentemente, el ritmo de degradación de glicógeno y la acumulación de GI-1-P, lactato y malato es mucho menor. Esto sugiere un menor ritmo de glicólisis durante el ejercicio intermitente en

comparación al continuo, a pesar de una demanda energética similar durante ambos tipos de trabajo. Esto podría deberse a la menor demanda total de sustrato o al incremento en la utilización de otros sustratos que no son glicógeno, notablemente lípidos. Los periodos de descanso durante los ejercicios intermitentes parecen permitir una recarga de las reservas de oxígeno intramuscular, permitiendo así una mayor liberación de energía aeróbica. Como la entrega de energía con la combustión aeróbica del glicógeno es 10 veces mayor que la energía que entrega la formación de lactato, la utilización total de glicógeno para una determinada carga de trabajo debería ser menor. La mayor acumulación de lactato en y la mayor liberación de lactato desde los músculos activos durante el ejercicio de tipo continuo en comparación al trabajo de tipo intermitente, indicaría que este mecanismo es de real importancia (Essén y col., 1977). Mas aun, el metabolismo oxidativo podría ser cubierto en una mayor proporción por los lípidos durante el ejercicio intenso de tipo intermitente en comparación al ejercicio intenso de tipo continuo. La contribución de los lípidos al metabolismo oxidativo durante el ejercicio intermitente frente a una carga de trabajo máxima ha mostrado ser del orden del 40%, lo cual es similar cuando se compara con la realización de un trabajo continuo a la mitad de esa carga de trabajo físico (Essén y col., 1977). A partir de la proporción de intercambio respiratorio (RER) puede ser calculado que la contribución relativa de lípidos al metabolismo disminuye con un incremento en la intensidad del trabajo, al menos estos cálculos pueden ser realizados frente a cargas de trabajo que exijan un 66% del consumo máximo de oxígeno (VO₂máx.) (Essén y Kaijser, 1978). A una mayor carga de trabajo el RER puede no reflejar el metabolismo muscular, debido a la liberación de lactato y la hiperventilación. Más aún, la duración limitada del trabajo continuo e intenso hace difícil la medición del intercambio de sustratos en los músculos activos. Sin embargo, a partir de los datos sobre la depleción de glicógeno, la acumulación de lactato, la liberación de lactato, la toma de glucosa y el consumo de oxígeno (medido en la pierna), una estimación grosera sugiere que el metabolismo oxidativo durante 5 minutos de trabajo continuo a máxima intensidad puede ser cubierto casi enteramente por carbohidratos (Essén y col., 1977). Por tanto, se podría concluir que un cambio hacia una mayor utilización de lípidos también contribuiría a una menor degradación de glicógeno durante el ejercicio intermitente. Tal cambio es probablemente el resultado de factores reguladores que retardan el ritmo de la glicólisis. Ya que la carga durante las rondas de ejercicio fue similar, tanto durante el trabajo continuo como intermitente, los cambios metabólicos responsables de tal cambio deberían ser hallados en los periodos de descanso.

Regulación glicolítica: enzimas

Las actividades de las enzimas hexokinasa, fosforilasa y fosfofructokinasa (PFK) son todas inhibidas por ATP (Essén y Kaijser, 1978). La creatina fosfato (CP) ha mostrado inhibir la PFK y también potenciar su inhibición mediante ATP (Essén y Kaijser, 1978). El citrato ha mostrado ser un potente inhibidor de la PFK (Essén y Kaijser, 1978) así como también de la piruvato deshidrogenasa (Taylor y Halperin, 1973). El efecto inhibidor del citrato sobre la PFK depende de un efecto inhibitorio simultáneo del ATP sobre la PFK (Essén y Kaijser, 1978). Por tanto, el efecto específico del citrato es potenciar la inhibición de la PFK por parte del ATP. Los pasos limitantes del ritmo de la glicólisis se sabe que son estimulados por un incremento en los niveles de otros metabolitos, como el ADP, AMP, fosfato inorgánico y fructosa-1-6-difosfato y estos metabolitos también desinhiben el efecto del citrato y del ATP sobre la PFK (Essén y Kaijser, 1978). Con las contracciones musculares, el ATP y la CP son consumidos, y un incremento ocurre en los niveles de ADP, AMP y fosfato inorgánico (Essén y Kaijser, 1978). La disminución en los niveles de ATP, CP y citrato, que ocurre durante los periodos de trabajo del ejercicio intermitente y durante el periodo de trabajo del ejercicio continuo (en este ultimo caso la disminución de los metabolitos es mas marcada), estimularía la glicólisis, mientras que un incremento en los niveles de estos metabolitos durante los periodos de descanso retardaría la glicólisis. La repetición de los periodos de descanso durante el ejercicio intermitente contribuiría a mantener un nivel relativamente elevado de ATP, CP y citrato y consecuentemente a una inhibición de la glicólisis,

inhibición comparativamente superior a lo que ocurre en el caso del ejercicio de tipo continuo, especialmente durante los momentos previos al comienzo de las rondas de trabajo. La tendencia a una incrementada proporción glucosa-6-fosfato (G-6-P)/ fructosa-1-6-difosfato (F-1-6-P₂) al final de un periodo de descanso, comparado con la proporción existente durante los periodos de trabajo durante el ejercicio de tipo continuo, podría corroborar la asunción de que la inhibición podría ocurrir a nivel del paso PFK (Essén y Kaijser, 1978).

La pronunciada disminución en los niveles de ATP, CP y citrato al final de un ejercicio continuo, en comparación a lo que ocurre al final de un ejercicio intermitente, sugiere una mayor estimulación de la glicólisis durante el trabajo precedente, como también se refleja por la mayor depleción de glicógeno y acumulación de Gl-1-P, así como también de lactato. Esto es confirmado por un incremento en los niveles de Gl-1-P y lactato sobre los primeros 15 - 30 segundos de recuperación, lo cual indicaría que la glicólisis continúa a un ritmo substancial; mas aún, el progresivo retorno del ATP y CP a niveles basales y el incremento en citrato que ocurre luego de 3 minutos de recuperación confirmaría que el ritmo de la glicólisis es solo gradualmente retardado en este tipo de situación. El progresivo incremento en la proporción G-6-P/F-1-6-P₂ que ocurre luego del primer minuto de recuperación es otro indicador que señala como se ve afectado el paso limitante de la PFK (Essén y Kaijser, 1978).

El incremento en los niveles de ATP con los periodos de descanso retarda la glicólisis no solo directamente, si no que además a través de la retardación de la actividad del ciclo del ácido cítrico, al inhibir el paso que involucra a la isocitrato deshidrogenasa (Johnson y Hansford, 1975), por tanto contribuyendo a la producción de un nivel incrementado de citrato. Una producción continua de acetyl-CoA a partir de la oxidación de ácidos grasos podría contribuir al incremento de los niveles de citrato durante los periodos de descanso. Un incremento en los niveles de citrato requiere de un incremento en la disponibilidad de oxaloacetato. Se ha sugerido que este es generado por el transporte de malato hacia la mitocondria (Maizels y col., 1977), lo cual podría estar facilitado por el incrementado nivel de producción de malato en la glicólisis. El oxaloacetato podría ser también generado a partir de aspartato mediante el proceso de transaminación (Bowman, 1966).

Se debe añadir que los niveles elevados de citrato y CP no solo inhiben la PFK, si no que además estimulan la actividad de la fructosa-1-6-difosfatasa (Fu y Kemp, 1973). Consecuentemente, el Gl-1-P que se acumula durante los periodos de trabajo y que desaparece durante los periodos de descanso podría estar siendo utilizado en la resíntesis de glúcógeno, añadiendo así otro efecto ahorrador de glúcógeno durante el ejercicio de modalidad intermitente. Sin embargo, este mecanismo es probablemente de poca importancia, ya que los niveles de CP no retoman su nivel basal en los periodos de reposo (Essén y Kaijser, 1978).

Se ha señalado también, que la captación muscular de glucosa esta disminuida en la fase temprana de un trabajo intenso y que se va incrementando gradualmente en el tiempo (Essén y col., 1977). Esto concuerda con otro estudio que señala un incremento en los niveles de G-6-P durante la fase temprana de un trabajo intenso y su reestablecimiento gradual a niveles basales luego de 60 minutos de ejercicio (Essén y Kaijser, 1978). El elevado nivel de G-6-P (encontrado luego de los periodos de trabajo en el ejercicio de tipo intermitente) podría estar indicando una inhibición de la hexokinasa y de la fosforilación de la glucosa temprano durante el ejercicio. Los niveles elevados de glucosa intramuscular en esta situación confirmarían una limitada fosforilación de la glucosa mediante inhibición de la hexokinasa, lo cual ha sido señalado por otros autores (Crane y Sols, 1953).

ADAPTACION GLICOLITICA

Adaptación glicolítica: tipos de estudios, sus limitaciones y avances

Las adaptaciones de las proteínas metabólicas han sido documentadas mediante el uso de una variedad de modelos experimentales que resultan en un incremento sostenido en la carga mecánica muscular. Estos paradigmas incluyen: a) un modelo de estiramiento *in vitro*, en donde tanto un miocito esquelético o cardíaco es cultivado en un sustrato deformable, que cuando se perturba coloca una carga mecánica incrementada (estiramiento) sobre el miocito (Armstrong y col., 1979), b) sobrecarga de estiramiento inducida por la colocación de un peso al ala de una gallina (Baldwin y col., 1982), c) intervenciones que han sido diseñadas de tal forma que imitan una patología cardiovascular (sobrecarga de volumen o presión) y que resulta ya sea en una hipertrofia atrial o ventricular (Chiu y col., 1988), d) sobrecarga compensatoria, la cual involucra la remoción quirúrgica de un músculo sinergista (Tsika, R.W. y Gao, L., 1996).

Si bien la adaptación de los músculos estriados ha sido caracterizada morfológicamente, funcionalmente y bioquímicamente, la base genética que subyace a esta adaptación continúa incierta. Hasta hace poco, una de las limitaciones principales, dentro del estudio de la genética molecular de las adaptaciones de los músculos estriados, ha sido la falta de un apropiado sistema de modelo genético *in vivo*. Sin embargo, la reciente evolución en la tecnología, que involucra a los roedores transgénicos y su implementación dentro de la biología, ha permitido superar esta limitación, proveyéndonos con un sistema animal intacto con el cual poder estudiar la adaptación biológica y genética. Para poder comprender mejor el o los mecanismo(s) molecular(es) y la o las vía(s) metabólica(s) que subyacen la plasticidad de los músculos estriados en respuesta a una incrementada carga mecánica, se han desarrollado análisis *in vivo* (roedores transgénicos) de los genes de las proteínas metabólicas, usando el modelo de sobrecarga compensatoria. A continuación, se revisarán brevemente algunos estudios que han sido diseñados para caracterizar las adaptaciones inducidas por sobrecarga en los músculos de contracción rápida y lenta de roedores.

Adaptación glicolítica: regulación de la transcripción en músculo esquelético de roedor sobrecargado - adaptaciones metabólicas de la α -Glicerofosfato Deshidrogenasa (GPDH).

En el músculo esquelético, los equivalentes reductores (NADH) producidos en la reacción catalizada por la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH) son transferidos desde el citosol (sarcoplasma) hacia la mitocondria vía un sistema de transporte acoplado (STA). El STA requiere la acción coordinada de las isoformas citosólicas y mitocondriales de la α -Glicerofosfato Deshidrogenasa (GPDH). La isoforma citosólica de la GPDH es una enzima ligada a NAD⁺ que cataliza la transferencia de electrones desde el NADH hacia la dihidroxiacetona fosfato (DAP) para producir glicerol-3-fosfato (G3P). El G3P luego entra en la mitocondria, donde los electrones son transferidos desde el G3P hacia el FAD mediante la isoforma mitocondrial de la GPDH unida a FAD, produciendo FADH₂ y DAP. El DAP regenerado retorna al citosol, en donde esta secuencia de reacciones puede comenzar nuevamente. Estas reacciones secuenciales constituyen el STA del glicerol fosfato y bajo situaciones normales este asegura que el NADH producido por la glicólisis sea reoxidado a NAD⁺, permitiendo que la glicólisis proceda.

En el roedor, la GPDH esta codificada por dos genes distintos, denominados Gdc-1 y Gdc-2 (Tsika, R.W. y Gao, L., 1996). El Gdc-1 esta predominantemente expresado en tejidos adultos, mientras que el Gdc-2 está expresado en tejidos embrionicos. El patrón de expresión de la isoforma adulta de la GPDH esta regulada normalmente con el desarrollo y mediante hormonas (Dobson y col., 1987). Durante la diferenciación de las células musculares, la activación de la transcripción de la GPDH ocurre relativamente tarde en comparación con otras proteínas musculares como la miosina de cadena pesada

(MHC) y la miosina de cadena ligera (MLC). En roedores adultos, la GPDH se expresa en forma variada en los diferentes tipos de tejidos. Algunos tejidos con un elevado nivel de expresión de ARNm y actividad enzimática son: células adiposas, cerebro, hígado y músculo esquelético.

La actividad específica de la GPDH varía de acuerdo al tipo de fibra; esto es, las fibras musculares oxidativas lentas (SO) demuestran una actividad específica baja de GPDH, mientras que las fibras glicolíticas rápidas (FG) poseen una actividad específica elevada (Baldwin y col., 1982; Roy y col., 1985). Cuando el músculo plantar de contracción rápida de roedor es funcionalmente sobrecargado por 9 – 12 semanas, hay una disminución significativa en la actividad específica de la GPDH, así como también se observa una disminución en la intensidad del tinte histoquímico de la GPDH en estos músculos (Baldwin y col., 1982). Basándose en estas observaciones, parece ser que la medición de las alteraciones en los niveles de expresión de la GPDH y de su actividad específica podría servir como un buen indicador de la conversión de los tipos de fibra. Se han medido los niveles de expresión del ARNm de la GPDH endógena en el músculo plantar sobrecargado de roedor. Un análisis Northern muestra que la transcripción de ARNm para GPDH está expresado a un elevado nivel en el músculo gastrocnemius de contracción rápida, mientras que el músculo soleo de contracción lenta contiene niveles bajos. Los niveles de expresión constitutiva de GPDH en el músculo plantar control (CP) son abundantes pero ligeramente menores que aquellos encontrados en el músculo gastrocnemius control (CG) y significativamente mayores que aquellos encontrados en el músculo soleo control (CS). La imposición de un trabajo de sobrecarga sobre el músculo plantar (OP) resulta en una dramática reducción en los niveles de expresión de GPDH luego de 2 días de sobrecarga. La transcripción de GPDH específico permanece a un nivel reducido por 6 semanas y asemeja los niveles de expresión observados en el músculo soleo. Colectivamente, estos datos sugieren que cierto grado de conversión de fibras a ocurrido en el músculo OP y que la regulación de la expresión de GPDH en respuesta a un trabajo de sobrecarga ocurre probablemente al nivel de transcripción. El significado del cambio temprano (2 días) en los niveles de expresión de ARNm de GPDH no se conoce en el presente, pero se ha observado una disminución similar en los niveles de expresión de ARNm en estudios que se han centrado en la expresión genética de creatina kinasa muscular (MCK) y gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (G3PDH) en músculos OP (Tsika y col., 1995). Podría ser que los cambios tempranos en el metabolismo energético citosólico actúen en parte como señales que llevan a una remodelación de las proteínas metabólicas y contráctiles, esto es, llevan a una conversión en los tipos de fibra.

CONCLUSIÓN

Regulación Glicolítica

Un cierto número de dificultades se pueden encontrar en la interpretación de los datos que arrojan las biopsias musculares. Si bien las biopsias generalmente se obtienen luego de unos pocos segundos de haber terminado el ejercicio, los cambios en la concentración de metabolitos podrían ya haber comenzado. Más aún, es posible que en diferentes ocasiones las muestras hayan sido obtenidas de partes del músculo que no han sido involucradas en el trabajo al mismo nivel que las demás y además el músculo contiene una mezcla de tipos de fibras, fibras que poseen diferentes características metabólicas y además la proporción de fibras puede variar entre una muestra y otra. Finalmente, las técnicas de análisis disponibles no permitieron una determinación de la localización subcelular de los metabolitos. Varios de estos están presentes tanto intramitocondrialmente, así como extramitocondrialmente y un metabolito podría tener diferentes efectos en la mitocondria que en el citosol (Essén y Kaijser, 1978).

Si bien la técnica de la biopsia tiene sus limitaciones, se han podido determinar cambios significativos de metabolitos, ocurriendo en periodos cortos de tiempo y la dirección de estos cambios apunta a un rol importante en la regulación de pasos metabólicos específicos (Essén y Kajiser, 1978).

El incremento significativo de citrato, en conjunto con el incremento en el contenido de ATP y CP, que ocurre en cada periodo de ejercicio intermitente, esta en concordancia con la asunción de que la influencia combinada de estos metabolitos es importante para retardar la glicólisis al comienzo de cada nuevo periodo de trabajo y que por tanto es responsable del cambio a una menor contribución de los carbohidratos y una mayor contribución de los lípidos al metabolismo energético durante el ejercicio intermitente en comparación al trabajo físico de estado sostenido efectuado bajo la misma carga de trabajo (intensidad absoluta).

Adaptación Glicolítica

El fenotipo de las fibras musculares esqueléticas adultas no es estático, si no que es marcadamente maleable, como lo demuestra su habilidad para adaptarse a un amplio rango de estímulos fisiológicos y patofisiológicos. En particular, la imposición de un incremento sostenido en la carga mecánica (trabajo de sobrecarga) resulta en un crecimiento cualitativo y cuantitativo en la expresión genética de proteínas metabólicas. Las fibras de tipo lento y rápido responden a una sobrecarga de trabajo con adaptaciones funcionales y bioquímicas que son consistentes con una transición de las propiedades de contracción rápida a lenta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Armstrong, R.B.; Marum, P.; Tullson, P. Acute hipertrophic response of skeletal muscle to the removal of synergists. *J. Appl. Physiol.* 46:835-842; 1979.
2. Baldwin, K.M.; Valdez, V.; Herrick, R.E. Biochemical properties of overloaded fast-twitch skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 52(2):467-472: 1982.
3. Berger, M., Hagg, A.S., Goodman, M.N. and Ruderman, N.B. (1976). Glucose metabolism in perfused skeletal muscle. *Biochem. J.* 158, 191-202.
4. Bowman, R.H. (1966). Effects of diabetes, fatty acids, and ketone bodies on tricarboxylic acid cycle metabolism in the perfused rat heart. *J. Biol. Chem.* 241, 3041-3048.
5. Chiu, R.; Boyle, W.J.; Meek, J. The c-Fos protein interacts with c-Jun/AP-1 to stimulate transcription of AP-1 responsive genes. *Cell* 54:541-552; 1988.
6. Christensen, E.H., Hedman, R. and Saltin, B. (1960). Intermittent and continuous running. *Acta physiol. Scand.* 50, 269-286.
7. Crane, R.K. and Sols, A. (1953). The association of hexokinase with particular fractions of brain and other tissue homogenates. *J. Biol. Chem.* 203, 273-292.
8. Dobson, D.E.; Groves, D.L.; Spiegelman, B.M. Nucleotide sequence and hormonal regulation of mouse glycerophosphate dehydrogenase mRNA during adipocyte and muscle cell differentiation. *J. Biol. Chem.* 262:1804-1809; 1987.

9. Essén, B., Hagenfeldt, L. and Kaijser, L. (1977). Utilization of blood-born and intramuscular substrates during continuous and intermittent exercise in man. *J. Physiol.* 256, 489-506.
10. Essén B. and Kaijser L. (1978). Regulation of Glycolysis in intermittent Exercise in Man. *Acta physiol. scand. Suppl.* 454.
11. Fu, Y.J. and Kemp, R.G. (1973). Activation of muscle fructose 1,6-diphosphatase by creatine phosphate and citrate. *J. Biol. Chem.* 248, 1124-1125.
12. Johnson, R.N. and Hansford, R.G. (1975). The control of tricarboxylate cycle oxidations in blowfly flight muscle. The steady-state concentrations of citrate, isocitrate, 2-oxyglutarate and malate in flight muscle and isolated mitochondria. *Biochem. J.* 146, 527-535.
13. Maizels, E.Z., Ruderman, N.B., Goodman, M.N. and Lau, D. (1977). Effect of acetoacetate on glucose metabolism in the soleus and extensor digitorum longus muscles of the rat. *Biochem. J.* 162, 557-568.
14. Roy, R.R.; Baldwin, F.M.; Martin, T.P. (1985). Biochemical and physiological changes in overloaded rat fast- and slow-twitch ankle extensors. *J. Appl. Physiol.* 59(2):639-646.
15. Taylor, W.M. and Halperin, M.L. (1973). Regulation of pyruvate dehydrogenase in muscle. *J. Biol. Chem.* 248, 6080-6083.
16. Tsika, R.W.; Hauschka, S.; Gao, L. (1995). M-creatine kinase gene expression in mechanically overloaded skeletal muscle of transgenic mice. *Am. J. Physiol.* 269(Cell Physiol. 38):C665-C674.
17. Tsika, R.W. y Gao, L. (1996). Metabolic and Contractile Protein Adaptations in Response to Increased Mechanical Loading. In: Maughan R.J. , editor. *Biochemistry of exercise IX. Editorial Human Kinetics.*