

TESIS DOCTORAL

**Efecto de la suplementación antioxidante en
una población sometida a entrenamiento de
alta intensidad**



DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA
INSTITUTO DE NUTRICIÓN Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS
CENTRO DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

MANUEL ANTONIO ORTIZ FRANCO

Granada, 2018

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Manuel Antonio Ortiz Franco
ISBN: 978-84-9163-910-7
URI: <http://hdl.handle.net/10481/52316>



DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA
FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD DE GRANADA



EFEECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ANTIOXIDANTE EN UNA POBLACIÓN SOMETIDA A ENTRENAMIENTO DE ALTA INTENSIDAD

Memoria que presenta para aspirar al Grado de Doctor con mención Internacional por la Universidad de Granada el Licenciado D. Manuel Antonio Ortiz Franco.

DIRECTORES DE LA TESIS

Elena M. Planells del Pozo
Doctora en Farmacia
Catedrática de Universidad
Universidad de Granada

Jorge Molina López
Doctor en Ciencias del Deporte
Profesor Sustituto Interino
Universidad de Huelva

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

José Manuel García García
Doctor en Ciencias del Deporte
Profesor Titular de Universidad
Universidad de Toledo

José María López Gullón
Doctor en Ciencias del Deporte
Profesor de Universidad
Universidad de Murcia

Raquel Escobar Molina
Doctora en Ciencias del Deporte
Profesora Titular de Universidad
Universidad de Granada

M^a Alba Martínez Burgos
Doctora en Biología
Profesora Titular de Universidad
Universidad de Granada

Daniela Florea
Doctora en Biología
Investigadora Asociada
Moorfields Hospital. NHS, London

Dr^a D^a Elena María Planells del Pozo, Catedrática de Fisiología de la Universidad de Granada,

y Dr D Jorge Molina López, Profesor Sustituto Interino de Educación Física y Deporte de la Universidad de Huelva,

Directores de la Memoria de Tesis Doctoral Internacional de título: “EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ANTIOXIDANTE EN UNA POBLACIÓN SOMETIDA A ENTRENAMIENTO DE ALTA INTENSIDAD”, realizada por el Licenciado D. Manuel Antonio Ortiz Franco, autorizan su presentación ante el tribunal que en su día se designe.

Y para que así conste, y en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firman la presente Tesis Doctoral a 28 de Enero de 2018.

Fdo. Elena M^a Planells del Pozo

Fdo. Jorge Molina López



El trabajo de investigación que constituye esta Tesis Doctoral con mención Internacional titulada “EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN ANTIOXIDANTE EN UNA POBLACIÓN SOMETIDA A ENTRENAMIENTO DE ALTA INTENSIDAD”, ha sido realizado gracias a la concesión de diferentes ayudas del Plan Propio de la Universidad de Granada y proyecto FIS PI/1993 del Instituto de Salud Carlos III. Este proyecto se ha realizado en el en el Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Mataix”, del Centro de Investigación Biomédica, y el Departamento de Fisiología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, en colaboración con la Unidad de Nutrición y Dietética del Hospital Virgen de las Nieves de Granada y la Escuela de Ciencias de la Actividad Física, el Deporte y la Salud, Universidad de Santiago de Chile.

AGRADECIMENTOS

Después del duro trabajo es sana costumbre reflexionar y agradecer a las personas que te han acompañado en el camino. Me gustaría que estas líneas sirvieran para expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización de mi tesis doctoral.

En primer lugar me gustaría agradecer al equipo con el que he trabajado. A la Dra. Elena Planells del Pozo por su orientación, el seguimiento y la supervisión continua del trabajo realizado, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido. A Dr. Jorge Molina López que pasó de ser compañero de Facultad a ser director de este trabajo. Sin la implicación de ambos, sus ideas, sus consejos y su paciencia esta tesis no hubiera sido posible. A la Dra. Laura Sáez Pérez por su fundamental ayuda en el laboratorio.

A mis opositores, ellos fueron la base y parte fundamental del estudio, ha sido un placer ser su entrenador y compartir con ellos sus esfuerzos por conseguir el sueño de ser Policía. Al Gimnasio Club Ortiz lleno de personas increíbles.

Y desde lo más profundo de mi corazón quiero agradecer a mi familia que me han enseñado que los proyectos por muy grandes que sean sólo son una excusa para crecer, superarse y ser mejor persona, espero un día poder acercarme a ser tan especiales como ellos. Mi padre, hombre de principios nobles e inquebrantables, mi madre, con un corazón tan grande que pasaría por lo que fuera por los suyos, a mi hermano con el corazón y la sensibilidad que sólo poseen los artistas. A mis amigos Alberto Caballero, David Lindell, Enrique Pérez, Dante Leiva, Teresa Méndez, José Miguel Granados, Curro Rives, Félix Zurita, Adrian, Alicia, Álvaro, Ismael, Jack, Antonio, Jorge..., tengo la suerte de decir, y muchos más que me han apoyado en mi día a día.

Especialmente a mi Hermana Mari que nos dejó su amor y ejemplo, a pesar de verse en la peor situación que existe luchó hasta el final, nunca perdió la humildad, nunca dejó de pensar en los demás, en especial en nosotros, nunca dejó de tratar a la gente con educación y siempre intento sacar una sonrisa a todo el mundo que paso por su vida. Hermana tu sí que fuiste una campeona, siempre te llevare conmigo.

A todos ellos, muchas gracias.

Los tigres y la fresa sabrosa (cuento zen)

Un hombre que viajaba a través de un campo se encontró con un tigre. Y huyó mientras el tigre lo perseguía. Al llegar a un precipicio, se agarró de la raíz de una liana y saltó al otro lado. El tigre lo olfateaba desde arriba. Temblando, el hombre miraba hacia abajo, donde otro tigre lo esperaba para devorarlo. Sólo la liana lo sostenía.

Dos ratones, uno blanco y otro negro, poco a poco, empezaron a roer la liana. El hombre vio una linda fresa cerca. Agarrándose bien de la liana con una mano, con la otra cogió la fresa. ¡Qué sabrosa estaba!

(*“Nada Sagrado / Textos Zen”*)

ABREVIATURAS

Abreviaturas

ACSM	Colegio Americano de Medicina Deportiva
ADA	Asociación Americana de Dietistas
AFMK	N-Acetil-N-Formil-5-Methoxykynuramine
Ag	Plata
BIA	Análisis de Impedimento Bioeléctrico
Ca	Calcio
Cd	Cadmio
CE	Comunidad Europea
CK	Creatina Quinasa
Cl	Cloruro
COX	Citocromo C Oxidasa
Cp	Ceruloplasmina
DMPO	Dimetilformamida
DMSO	Dimetilsulfóxido
IDR	Ingesta Dietética de Referencia
DXA	Absorciometría de Rayos X de Energía Dual
ECSS	Colegio Europeo de Ciencias del Deporte
EEUU	Estados Unidos
EFSA	Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura
FC máx	Frecuencia Cardíaca Máxima
FFQ	Frecuencia de Consumo Alimentaria
MG	Masa Grasa
GET	Gasto Energético Total
GLUT	Transportadores de Glucosa
GR	Glutación Reductasa
GSH	Glutación Reducido
GSH-Px	Glutación Peroxidasa
GSSG	Glutación Disulfuro Oxidado
HC	Carbohidratos
HDL	Lipoproteínas de Alta Densidad
Hg	Mercurio
HIIT	Entrenamientos de Alta Intensidad
IKK	Quinasa IKB
IMC	Índice De Masa Corporal
ISSN	Sociedad Internacional de Nutrición Deportiva
K	Potasio
LDH	Lactato Deshidrogenasa
LDL	Lipoproteínas de Baja Densidad
MDA	Malondealdehído
MEL	Melatonina
Mg	Magnesio

Mn	Manganeso
MRI	Imágenes de Resonancia Magnética
Na	Sodio
NF-Kappa B	Factor Nuclear Kappa-B
P	Fósforo
Pb	Plomo
RDA	Ingestas Recomendadas
ROS	Especies Reactivas del Oxígeno
RL	Radicales Libres
SCN	Supraquiasmático
Se	Selenio
SENC	Sociedad Española de Nutrición Comunitaria
SH	Sulfhidilo
SOD	Enzima Superóxido Dismutasa
SOD1	Cu/Zn Superóxido Dismutasa
ACT	Agua Corporal Total
TC	Colesterol Total
TG	Triglicéridos
UL	Límites Tolerables
VO2 máx.	Consumo Máximo de Oxígeno
OMS	Organización Mundial de la Salud
Zn	Zinc

ÍNDICE DE TABLAS

Índice de Tablas

Tabla 1.	Características de los minerales atendiendo a su función, ingestas recomendadas, límites tolerables y alimentos ricos en el mineral. _____	67
Tabla 2.	Características de las vitaminas hidrosolubles y liposolubles atendiendo a su función, ingestas recomendadas, límites tolerables y alimentos ricos en estas vitaminas. _____	79
Tabla 3.	Valoración bioquímica del entrenamiento como herramienta para el dietista-nutricionista deportivo. _____	83
Tabla 4.	Contenido de melatonina en algunos alimentos de origen vegetal _____	97
Tabla 5.	Estudios que utilizaron la MEL como suplementación en deporte _____	106
Tabla 6.	Características generales de la muestra. _____	137
Tabla 7.	Estado fisiológico de la muestra. _____	138
Tabla 8.	Nivel de aptitud física en aspirantes a Policía Nacional antes y después de 14 días de intervención de entrenamiento interválico de alta intensidad. _____	139
Tabla 9.	Valoración de la composición corporal y el somatotipo mediante plicometría. _	140
Tabla 10.	Evolución de la composición corporal mediante impedancia bioeléctrica pre y post intervención con HIIT. _____	142
Tabla 11.	Consumo de energía, macronutrientes en comparación con RDA/AI. _____	146
Tabla 12.	Consumo de minerales en comparación con RDA/AI. _____	147
Tabla 13.	Consumo de vitaminas en comparación con RDA/AI. _____	148
Tabla 14.	Frecuencia de consumo de alimentos en los aspirantes a Policía Nacional. ____	150
Tabla 15.	Perfil bioquímico de los opositores a Policía Nacional respecto a los valores de referencia, así como la evolución de éstos a lo largo de la intervención con el HIIT durante los 14 días que duró el programa de intervención. _____	153

Tabla 16.	Características antropométricas de la muestra. _____	155
Tabla 17.	Consumo de energía, macronutrientes y micronutrientes en comparación con los valores de referencia. _____	156
Tabla 18.	Parámetros bioquímicos y hematológicos en los aspirantes a Policía Nacional. _	157

ÍNDICE DE FIGURAS

Índice de Figuras

- Figura 1.** Etapas del uso de macronutrientes en el metabolismo energético. _____ 16
- Figura 2** Métodos indirectos para la valoración de la composición corporal. Clasificación de (98). CAT = Tomografía axial computerizada; RMN = Resonancia magnética nuclear; BIA = Bioimpedancia eléctrica; DXA = Absorciometría dual de rayos X; NAA = Análisis de Activación de Neutrones. _____ 33
- Figura 3.** Modelo teórico sobre el efecto bifásico del estado oxidativo en la producción de fuerza muscular máxima. Adaptada de Reid. A: fuerza isométrica máxima generada por un músculo no fatigado sin el agregado de oxidantes o antioxidantes; B: fuerza máxima alcanzada con un estado redox óptimo, que implica la exposición a un nivel bajo de oxidantes, pero también a compuestos reductivos; C: empeoramiento de la fuerza máxima frente a un nivel excesivo de ROS en el músculo. _____ 85
- Figura 4.** Célula eucariota: Lugar específico de acción de cada antioxidante. _____ 87
- Figura 5.** Efectos de la melatonina en diferentes tejidos y sistemas. CAT: catalasa; ETC: cadena de transporte de electrones; GPx: glutatión peroxidasa; GSH: glutatión; IFN\alpha: interferón alfa; IFN\gamma: interferón gamma; IL: interleucina; iNOS: óxido nítrico sintasa inducible; LOX: lipoxigenasa; ADN mitocondrial; NOS: óxido nítrico sintasa; PLA2: fosfolipasa A2; RNS: especies reactivas del nitrógeno; ROS: especies reactivas del oxígeno; SOD1: superóxido dismutasa uno; Th1: tipo 1 linfocitos T auxiliares; Th2: tipo 2 linfocitos T auxiliares; TNF-\alpha: factor de necrosis tumoral alfa. _____ 96
- Figura 6.** La melatonina y sus metabolitos en la función antioxidante. _____ 99
- Figura 7.** Daño a ADN inducido por el ejercicio (301). O₂⁻, anión superóxido; SOD, superoxididismutasa; H₂O₂, hidroperóxido; Fe²⁺, hierro; OH, hidroxilo; PUFA, ácido graso poliinsaturado; ROO, peroxilo; LOOH, lípidohidroperóxido; RO, alcoxilo. _____ 103
- Figura 8.** Melatonina como antiinflamatorio y protección del ADN.. _____ 105

Figura 9.	Diseño del estudio. HIIT = Entrenamiento de alta intensidad; 1RM = 1 repetición máxima; FCmax = Frecuencia cardíaca máxima; VO2max = Consumo de oxígeno máximo; AS = Estado antioxidante; B = extracción de sangre; CA = Ensayo de cometa; HP = parámetros hematológicos; L = aislamiento de linfocitos; R = Recuperación. _____	110
Figura 10.	Determinación del umbral anaeróbico mediante del test de Conconi. _____	111
Figura 11.	Estimación del 1RM mediante el cálculo indirecto propuesto por Brzycki. ____	112
Figura 12.	Plantilla de entrenamiento que indica las cargas, el ejercicio a realizar y el rango de pulsaciones a las que deberían ir en el caso del HIIT. PPM: pulsaciones por minuto, V: velocidad, T: tiempo. _____	114
Figura 13.	Gráfica de registro de la variación de la FC en relación a la intensidad del ejercicio durante una sesión de entrenamiento de HIIT. _____	115
Figura 14.	Grupo de opositores después de realizar Pruebas de Aptitud Física en el polideportivo municipal Núñez Blanca. _____	116
Figura 15.	Descripción de la prueba de Circuito de Agilidad con las medidas reglamentarias y dirección que debe llevar el opositor. Tabla de tiempos y puntuaciones. _____	117
Figura 16.	Imagen de las fases de la prueba de dominadas mostrando la correcta realización para que la repetición sea válida. Tabla de repeticiones y su respectiva puntuación. _____	118
Figura 17.	Imagen del salto vertical junto a la pizarra que ayuda a la medición del mismo. Tabla de puntuación junto a los centímetros que debe alcanzar en el salto el opositor. _____	119
Figura 18.	Fases de la carrera de 2.000m desde la salida hasta la llegada en la pista de atletismo. Tabla de tiempos con sus respectivas puntuaciones. _____	120
Figura 19.	Informe de análisis de impedancia bioeléctrica multifrecuencia TANITA MC-980. _____	122

- Figura 20.** Hoja de registro antropométrico para el cálculo de los 4 compartimentos corporales y representación del somatotipo. _____ 125
- Figura 21.** Extracción de sangre en el estado basal de los sujetos y posterior tratamiento en el laboratorio. _____ 127
- Figura 22.** Medición de las muestras tratadas en el laboratorio con el programa Comet. ____ 131
- Figura 23.** Correlaciones bivariada de Pearson entre la valoración de la composición corporal y el estado físico antes y después de 14 días de intervención de entrenamiento interválico de alta intensidad. _____ 144
- Figura 24.** Niveles plasmáticos de melatonina pre y post intervención mediante HIIT y suplementación con melatonina. Los valores representan la media y la desviación estándar. * Diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre grupos; † Diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre cada grupo suplementado en la evaluación pre vs post intervención con HIIT. _____ 158
- Figura 25.** Concentraciones plasmáticas de CAT ($\mu\text{mol/L}$) en grupos placebo (PG) y melatonina (MG) medidos al inicio, antes del ejercicio, después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio, sin (pre-entrenamiento) o con tratamiento (post-entrenamiento). Los valores representan la media y la desviación estándar. * Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) atendiendo a la variable ejercicio: pre vs post y pre vs 24 h analizados por la prueba de Wilcoxon; † Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) atendiendo a la intervención con HIIT. _____ 159
- Figura 26.** Actividad enzimática eritrocitarias de GPx (mU/mL) en grupos placebo (PG) y melatonina (MG) medidos al inicio, antes del ejercicio, después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio, sin (pre-entrenamiento) o con tratamiento (post-entrenamiento). Los valores representan la media y la desviación estándar. * Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) atendiendo a la variable ejercicio: pre vs post y pre vs 24 h analizados por la prueba de Wilcoxon; † Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) atendiendo a la intervención con HIIT. _____ 160

- Figura 27.** Actividad plasmática de SOD (U/mL) en grupos placebo (PG) y melatonina (MG) medidos al inicio, antes del ejercicio, después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio, sin (pre-entrenamiento) o con tratamiento (post-entrenamiento). Los valores representan la media y la desviación estándar. _____ 161
- Figura 28.** Electroforesis en gel de célula única (ensayo de cometa) que muestra colas detectables del cometa cuando se visualiza bajo un microscopio de fluorescencia, indicativo de daño en el ADN. Barras de escala: 20 mm. _____ 162
- Figura 29.** Ensayo Comet en los puntos: inicio, después del ejercicio pre-intervención con HIIT y después del ejercicio post-intervención con HIIT. Cuantificación del daño del ADN expresada en porcentaje de intensidad de la cola. * Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el análisis comparativo entre pre vs post. _____ 163
- Figura 30.** Relación entre la capacidad antioxidante total y el daño del ADN después de una intervención con HIIT en opositores a policía nacional tratados y no tratados con melatonina. _____ 164

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Índice de Contenidos

RESUMEN	3
CAPÍTULO 1. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	7
JUSTIFICACIÓN	7
HIPÓTESIS.....	7
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
CAPÍTULO 2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA	11
CAPÍTULO 2.1. EJERCICIO DE ALTA INTENSIDAD Y RESPUESTA FISIOLÓGICA	13
2.1.2. Adaptaciones orgánicas durante el ejercicio de alta intensidad	15
2.1.2.1. Adaptaciones metabólicas	15
2.1.2.2. Adaptaciones cardíacas	19
2.1.2.3. Adaptaciones respiratorias	21
2.1.2.4. Adaptaciones musculo esqueléticas	23
CAPÍTULO 2.2. NUTRICIÓN Y ACTIVIDAD FÍSICA	26
2.2.1. Valoración del estado nutricional en actividad física.....	27
2.2.1.1. Valoración de la composición corporal en actividad física.....	31
2.2.1.2. Valoración de la ingesta y bioquímica nutricional en actividad física.....	39
2.2.1.2.1. Macronutrientes.....	39
Hidratos de carbono	39
Lípidos.....	41

Proteínas	42
2.2.1.2.2. Micronutrientes	44
2.2.1.2.2.1. Minerales.....	44
Calcio	45
Fósforo	47
Magnesio.....	49
Hierro	52
Zinc	55
Cobre.....	57
Selenio.....	59
Manganeso	62
Sodio, Potasio y Cloruro	64
2.2.1.2.2.2. VITAMINAS	69
Complejo B	69
Vitamina C.....	73
Vitamina A.....	74
Vitamina D.....	75
Vitamina E	77
2.2.1.3. Valoración bioquímica clínica en actividad física	81
CAPÍTULO 2.3. ESTRÉS OXIDATIVO Y ACTIVIDAD FÍSICA.....	84
2.3.1. Defensas antioxidantes primarias y secundarias	86
2.3.2. Sistemas antioxidantes en función del mecanismo de acción	86
2.3.2.1. Sistemas antioxidantes endógenos	87
A. Superóxido Dismutasa	87

B.	Catalasa.....	88
C.	Glutación Peroxidasa.....	89
D.	Glutation Reductasa.....	90
2.3.2.2.	Sistemas antioxidantes exógenos.....	90
A.	Tioles.....	91
B.	Glutation reducida.....	91
C.	Ubiquinona (Coenzima Q).....	92
D.	β-Carotenos.....	92
E.	Polifenoles.....	93
F.	Otros antioxidantes.....	94
CAPÍTULO 2.4. MELATONINA Y ACTIVIDAD FÍSICA.....		94
2.4.1.	Melatonina. Generalidades.....	94
2.4.2.	Melatonina como antioxidante.....	97
2.4.3.	Melatonina y actividad física.....	99
CAPÍTULO 2.5. EJERCICIO Y DAÑO EN ADN.....		101
2.5.1.	Melatonina e integridad del ADN.....	104
CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODO.....		109
CAPÍTULO 3.1. SUJETOS DEL ESTUDIO.....		109
3.1.1.	Selección de la muestra.....	109
3.1.2.	Diseño del estudio.....	109

CAPÍTULO 3.2. EVALUACIÓN PREVIA DE LA MUESTRA PARA AJUSTAR LA INTENSIDAD Y LA CARGA DE ENTRENAMIENTO	111
CAPÍTULO 3.3. METODOLOGÍA DE REGISTRO Y CONTROL DEL ENTRENAMIENTO DE ALTA INTENSIDAD	112
3.3.1. Protocolo de entrenamiento de alta intensidad.....	115
3.3.2. Protocolo de entrenamiento de fuerza	115
CAPÍTULO 3.4. PRUEBAS DE APTITUD FÍSICA	116
Circuito de Agilidad.....	117
Dominadas.....	117
Salto Vertical.....	118
2.000 metros lisos.....	119
CAPÍTULO 3.5. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL....	120
3.5.1. Valoración de la composición corporal: Impedancia bioeléctrica	121
3.5.2. Valoración de la composición corporal: Pliegues, perímetros y amplitudes.....	122
3.5.3. Valoración de ingesta.....	126
3.5.4. Valoración bioquímica	126
CAPÍTULO 3.6. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO	127
3.6.1. Protocolo de determinación de la actividad de la Superóxido Dismutasa.....	127
3.6.2. Protocolo de determinación de la actividad de la Glutacion Peroxidasa	128
3.6.3. Protocolo de determinación del estatus antioxidante	129
CAPÍTULO 3.7. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DEL DAÑO EN ADN (COMET)...	130

CAPÍTULO 3.8. DETERMINACIÓN DE PLASMÁTICAS MELATONINA	131
CAPÍTULO 3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS	132
3.9.1. Valoración del estado nutricional de la muestra completa.....	132
3.9.2. Valoración del estatus antioxidante, estrés oxidativo y daño en ADN. Estudio de intervención con melatonina	132
CAPÍTULO 3.10. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	133
CAPITULO 4. RESULTADOS.....	137
CAPÍTULO 4.1. SUJETOS DEL ESTUDIO	137
4.1.1. Selección de la muestra	137
4.1.2. Evaluación del estado fisiológico de la muestra	138
CAPÍTULO 4.2. VALORACIÓN DE LA CONDICIÓN FÍSICA.....	138
CAPÍTULO 4.3. VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL MUESTRA COMPLETA	139
4.3.1. Valoración de la composición corporal.....	139
4.3.1.1. Pliegues cutáneos, perímetros y amplitudes	139
4.3.1.2. Impedancia bioeléctrica.....	141
4.3.1.3. Estudio de correlación antropométrica.....	141
4.3.2. Valoración de ingesta: cualitativa y cuantitativa.....	144
4.3.2.1. Ingesta de energía, macronutrientes y micronutrientes	144

4.3.2.2.Frecuencia de consumo de alimentos.....	149
4.3.3. Valoración bioquímica.....	151
CAPÍTULO 4.4. VALORACIÓN DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE Y DAÑO EN ADN. ESTUDIO DE INTERVENCIÓN CON MELATONINA	155
4.4.1. Valoración de la composición corporal.....	155
4.4.2. Valoración de la ingesta de macronutrientes y micronutrientes.....	156
4.4.3. Valoración bioquímica en grupo placebo y grupo melatonina.....	157
4.4.4. Valoración de los niveles plasmáticos melatonina tras la suplementación.	157
4.4.5. Valoración del estatus antioxidante y el estrés oxidativo.....	158
4.4.6. Valoración del daño en ADN mediante COMET	161
4.4.7. Relación entre el estatus antioxidante y el daño en ADN mediante COMET.....	164
CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	167
CAPÍTULO 5.1. VALORACIÓN DE LA CONDICIÓN FÍSICA	167
5.1.1. Parámetros fisiológicos	168
CAPÍTULO 5.2. VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE MUESTRA COMPLETA	169
5.2.1. Valoración de la composición corporal.....	169
5.2.1.1. Pliegues cutáneos	169
5.2.1.2. Impedancia bioeléctrica.....	170
5.2.2. Valoración de ingesta.	170
5.2.2.1. Ingesta de energía, macronutrientes y micronutrientes	170
MACRONUTRIENTES.....	171

MICRONUTRIENTES	173
5.2.2.2. Frecuencia de consumo de alimentos	176
5.2.3. Parámetros bioquímicos	177
CAPÍTULO 5.3. VALORACIÓN DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE Y DAÑO EN ADN. ESTUDIO DE INTERVENCIÓN CON MELATONINA	178
5.3.1. Valoración del estatus de melatonina	179
5.3.2 Valoración del estatus antioxidante y el estrés oxidativo	179
5.3.3 Valoración del daño en ADN mediante COMET	181
CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES	185
Respecto a la valoración de la condición física	185
Respecto a la valoración del estado nutricional.	185
Respecto a la valoración del estatus antioxidante, estrés oxidativo, y daño en ADN. Estudio de intervención con melatonina.	186
Conclusión final	187
CAPITULO 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	191
CAPITULO 8. ANEXOS	226

RESUMEN

RESUMEN

En base a la literatura científica, el ejercicio de alta intensidad ha sido descrito por ser promotor de daño oxidativo a nivel celular, que podría derivar en un aumento del daño tisular y consecuentemente en una disminución del rendimiento. Esos cambios negativos en los niveles de antioxidantes podrían paliarse con una nutrición adecuada y con moléculas antioxidantes como la melatonina que en sujetos sometidos a entrenamientos de alta intensidad eviten esos efectos colaterales.

Podemos decir que este trabajo es pionero en el estudio de los aspirantes a las fuerzas y cuerpos de seguridad del Estado en especial los opositores a Policía Nacional ya que no se conocen investigaciones que estudien el estatus nutricional y la condición física así como los beneficios de una suplementación con antioxidantes sobre el estrés oxidativo en aspirantes a policía nacional mediante un programa de entrenamiento interválico de alta intensidad junto a uno de fuerza con halteras. De igual modo son interesantes las aplicaciones y hallazgos de este estudio en otro tipo de poblaciones sometidas a entrenamientos intensivos como por ejemplo los deportistas de alto nivel. Por tanto, la hipótesis del presente estudio se basa en que la melatonina puede mejorar el estatus antioxidante de opositores a Policía Nacional sometidos a entrenamiento de alta intensidad, lo que derivará en una mejor respuesta fisiológica al ejercicio y una reducción del daño tisular y de ADN.

La presente Tesis Doctoral ha sido principalmente abordada desde dos diferentes metodologías. En primer lugar, el principal objetivo fue evaluar el estado nutricional de los opositores a Policía Nacional a nivel de composición corporal, la ingesta y la frecuencia de consumo de alimentos a lo largo de 14 días, el perfil bioquímico, así como el nivel de condición física (circuito de agilidad, dominadas, salto vertical y carrera de 2000 metros), todo ello con la finalidad de conocer los hábitos y el estatus nutricional de este colectivo, datos hasta ahora desconocidos.

Tras los resultados obtenidos de la evaluación inicial, en segundo lugar se realizó una intervención mediante la suplementación con melatonina (molécula con importante acción antioxidante) durante el ejercicio de alta intensidad para valorar 1) los cambios en el estatus antioxidante de los individuos en base al ejercicio de alta intensidad 2) valorar el efecto amortiguador de la suplementación con melatonina sobre el aumento del estrés oxidativo en respuesta a la alta intensidad 3) valorar la relación entre el estrés oxidativo producido y el daño en ADN generado, así como la preservación de la integridad del ADN gracias a la

suplementación con melatonina. Se realizó un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo durante 2 semanas con dos grupos. La capacidad antioxidante total, las actividades de la Glutación Peroxidasa, la Superóxido Dismutasa así como el daño en ADN se analizaron mediante muestras de sangre.

Esta investigación acumula evidencias de que la población de opositores a Policía Nacional sometida a entrenamiento de alta intensidad presentó un estado nutricional desequilibrado en la cantidad y calidad del consumo de alimentos. El efecto de la intervención del ejercicio mejora el consumo de energía, la adecuación de nutrientes y la densidad de la dieta lo que sugiere que deben llevarse a cabo programas de educación nutricional para establecer los patrones de alimentación correctos, con el fin de evitar deficiencias y una mala adaptación al ejercicio con su consecuente disminución del rendimiento. Sobre la suplementación con melatonina pudimos observar que el ejercicio de alta intensidad exacerba el estrés oxidativo y daño en ADN y que los sujetos del grupo suplementado en comparación con el grupo placebo mejoran respecto al estado antioxidante y previene el daño inducido por el ejercicio extenuante.

En conclusión, confirmando nuestra hipótesis planteada, nuestro trabajo aporta información valiosa sobre los efectos fisiológicos de un programa de entrenamiento intensivo sistematizado en aspirantes a fuerzas y cuerpos de seguridad del Estado como son los opositores a Policía Nacional, demostrando en el estatus nutricional y antioxidante tras la suplementación con melatonina.

Capítulo 1

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

CAPÍTULO 1. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

JUSTIFICACIÓN

La nutrición deportiva es una rama especializada de la nutrición humana aplicada a las personas que practican deporte de manera regular. Actualmente, la nutrición deportiva tiende a especializarse ya que distintas prácticas deportivas necesitan diferentes requerimientos nutricionales, como consecuencia debemos hacer hincapié en la cantidad y la diversidad de los alimentos. A pesar de los avances registrados en el campo de la nutrición deportiva y la importancia que esta tiene para la salud y el rendimiento del deportista, no se suele incluir una planificación de una dieta óptima dentro de la estrategia global de la preparación para la práctica deportiva.

Los avances en el deporte junto a una mayor calidad de vida nos han llevado a un incremento de la intensidad y volumen de entrenamiento al que se someten los sujetos, por ello cobra una mayor importancia la correcta ingesta de nutrientes ya que si esta es desequilibrada a corto, medio o largo plazo puede llevar a deficiencias de micronutrientes y macronutrientes afectando al rendimiento o lo que es más importante la salud del deportista.

Por esta razón, es necesario establecer unos criterios específicos basados en la evidencia científica que fijen las recomendaciones adecuadas a cada colectivo de deportistas, lo que ayudaría a que los atletas consiguieran mejorar su rendimiento y su calidad de vida ya que el buen rendimiento continuado en el tiempo está impulsado por la salud.

HIPÓTESIS

Los opositores a Policía Nacional presentan ingestas inadecuadas en macro y micronutrientes, que junto con el entrenamiento de alta intensidad que deben realizar para poder superar las pruebas físicas exigidas, experimentan un estatus antioxidante disminuido que si no se previene o corrige podría alterar el rendimiento físico y su calidad de vida.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el estatus nutricional en un grupo de opositores a Policía Nacional con la finalidad de conocer su adecuación de ingesta, sus hábitos alimentarios, y los niveles de antioxidantes, valorando los efectos de una suplementación con melatonina como antioxidante y su repercusión fisiológica sobre el estrés oxidativo y daño en ADN, antes y después de una intervención mediante ejercicio interválico de alta intensidad.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- [1] Evaluar la adecuación de ingesta de nutrientes en una población de opositores a Policía Nacional.
- [2] Evaluar el estatus bioquímico, hematológico y antioxidante en este colectivo en condiciones basales.
- [3] Valorar los efectos de una sesión aguda de entrenamiento de alta intensidad sobre el estatus antioxidante y el daño en ADN.
- [4] Evaluar el efecto de la suplementación con melatonina tras un programa de ejercicio de alta intensidad sobre el estatus antioxidante y el daño en ADN.

Capítulo 2

ESTADO ACTUAL DEL TEMA

CAPÍTULO 2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

En la actualidad en España existen procesos de selección para el acceso a determinados grupos de funcionarios como son las Fuerzas y Cuerpos de Seguridad del Estado, donde además de las pruebas de conocimiento se realizan pruebas de aptitud física para el correcto desempeño de sus labores como agentes.

No debemos olvidar que además del entrenamiento correctamente pautado, la evaluación del estado nutricional es una herramienta eficaz que nos ayuda a identificar los malos hábitos de consumo alimentario que derivan en posibles deficiencias o excesos que impedirán para cubrir correctamente las demandas físicas de esta población.

Una respuesta esperada ante el ejercicio realizado, resulta de la combinación multifactorial de un buen entrenamiento, una composición corporal y un estado nutricional óptimo. La preparación fisiológica para el trabajo de aspirantes a Policía Nacional, donde los sujetos conocen los protocolos de pruebas y, por tanto, generalmente están preparados, se realizan mediante pruebas de laboratorio o de campo en condiciones estandarizadas y controladas (1). Estos protocolos se caracterizan por cubrir una amplia variedad de cualidades físicas, tales como la capacidad aeróbica, la potencia anaeróbica, la fuerza y la resistencia muscular, y una composición corporal determinada (2).

El IMC y la composición corporal a menudo son puntos importantes para los agentes de Policía (3) incluso la falta de adecuación de un IMC saludable es un criterio de exclusión en las pruebas médicas de acceso a estos Cuerpos. Además, las relaciones entre la composición corporal y el rendimiento físico es un factor importante a considerar durante el entrenamiento (4), ya que tanto el peso óptimo como la relación entre peso y fuerza, van a ser determinantes en la realización de las pruebas físicas donde la utilización de implementos no está permitida.

En base a lo anteriormente mencionado, el perfil nutricional merece una especial consideración para la obtención de una respuesta óptima al entrenamiento, siendo el aporte energético, a partir de la ingesta de macronutrientes y de micronutrientes, lo que permitirá una adecuada funcionalidad fisiológica del cuerpo frente a la actividad física (4). Todo ello, a partir de la integración coordinada de sistemas energéticos y vías metabólicas no oxidativas, como los fosfágenos y la vía glucolítica, y aeróbicas, como la oxidación de grasas y los carbohidratos (HC) utilizando sustratos que de origen endógeno y exógeno (5).

A nivel de nutrientes, existe una evidencia significativa de que el rendimiento en entrenamientos de alta intensidad (HIIT) se ve favorecido mediante estrategias de aporte y mantenimiento de una alta disponibilidad de HC, mientras que el agotamiento de este sustrato se asocia con una disminución del rendimiento (4), por ejemplo, el glucógeno, además de su papel como sustrato, juega papeles importantes directos e indirectos en la regulación de la adaptación del músculo al entrenamiento (6). Un aporte adecuado de proteína es importante para el mantenimiento, la reparación y la síntesis proteica en músculo esquelético (7), siendo la grasa un componente igualmente necesario, que además de proporcionar energía y elementos esenciales en las membranas celulares, facilita la absorción de vitaminas liposolubles (5). Así, la ingesta de micronutrientes, vitaminas y minerales, es importante para cubrir las vías metabólicas en respuesta al estrés del ejercicio para construir, reparar y mantener la masa corporal magra en personas físicamente activas (8).

En condiciones normales, se establece un equilibrio entre las demandas de energía y la respuesta fisiológica al ejercicio. Sin embargo, durante el HIIT, la producción elevada de especies reactivas de oxígeno (ROS) puede no ser contrarrestada por los sistemas de defensa antioxidante, lo que provoca estrés oxidativo (9,10). A nivel de actividad física, se ha demostrado que la práctica regular y progresiva supone menor producción de radicales libres y corroboran los beneficios de la actividad física regular ya que esta produce un menor estrés oxidativo, inflamación, y mejora de la función inmunitaria (11–13). Además la actividad física puede proteger contra el daño del ADN (14).

Por otra parte, se han propuesto varios mecanismos para explicar el progresivo daño celular y tisular promovido por el HIIT y el ejercicio prolongado extenuante (15–19). En esta línea, se han propuesto estrategias nutricionales con antioxidantes para proteger al cuerpo contra el estrés oxidativo (20), previniendo el daño a una amplia gama de estructuras celulares, incluidos lípidos, proteínas y ADN (21). No obstante, en la actualidad se precisa de más información que explique los mecanismos de defensa y preservación del tejido sometido en respuesta al ejercicio de HIIT. A continuación, se aportará la información necesaria para aclarar el planteamiento del presente estudio experimental.

CAPÍTULO 2.1. EJERCICIO DE ALTA INTENSIDAD Y RESPUESTA FISIOLÓGICA

Para estudiar las distintas respuestas fisiológicas del organismo sometido a un ejercicio HIIT, antes debemos analizar detalladamente el concepto de “alta intensidad” o también conocido como “ejercicio extenuante”.

Primeramente contextualicemos el concepto de intensidad. La intensidad es uno de los componentes de la magnitud de la carga, definida como el aspecto cuantitativo del estímulo utilizado en el entrenamiento y está determinada por el volumen, la intensidad, la duración, la frecuencia y la densidad del entrenamiento exigidos a los deportistas (22):

- El *Volumen* de la carga de entrenamiento, representa la medida cuantitativa de las cargas de entrenamiento de diferente orientación funcional que se desarrollan en una unidad o ciclo de entrenamiento. Puede ser global, cuando se cuantifica el volumen de todas las cargas de diferente orientación funcional, o parcial, si el volumen de la carga se refiere a un determinado tipo de entrenamiento con una orientación funcional determinada (23).
- La *Intensidad* de la carga se entiende como el aspecto cualitativo de la carga, llevada a cabo en un período determinado de tiempo (23). De este modo, a mayor trabajo realizado por unidad de tiempo, mayor será la intensidad.
- La *Duración* de la carga es el período de influencia de un solo estímulo, o un período más largo en el que se trabaja con cargas de una misma orientación (22).
- La *Densidad* es la relación entre el esfuerzo y el descanso en una unidad temporal en que se organiza el entrenamiento (23).

Uno de los problemas metodológicos que se plantean cuando queremos conocer lo que ocurre en el organismo durante la realización de un ejercicio de una determinada intensidad es el de definir dicha intensidad. Generalmente se suele definir la intensidad de un ejercicio de modos muy diferentes. Los tres modos más utilizados son:

- 1) Definir la intensidad relativa como un porcentaje de la velocidad o potencia del ejercicio (80% de una repetición máxima) a la que un sujeto determinado realiza un esfuerzo a la máxima intensidad posible y de corta duración (unos pocos segundos).
- 2) Definir la intensidad relativa del ejercicio en función de un porcentaje de la mínima velocidad a la que se alcanza el consumo máximo de oxígeno (VO₂max).
- 3) Definir la intensidad relativa de ejercicio en porcentaje de la velocidad o la potencia del umbral anaeróbico individual.

Cuando realizamos un ejercicio continuado o repetido a una intensidad elevada este no se puede mantener durante un periodo prolongado de tiempo, así que el ejercicio de HIIT o extenuante estará condicionado por el tiempo de descanso. Estos pueden clasificarse en descanso activo, reduciendo la actividad realizada como por ejemplo en un Fartlek, o descanso pasivo, cuando el deportista reposa hasta realizar el siguiente esfuerzo, como por ejemplo una sesión de fuerza máxima con halteras.

En la actualidad podemos encontrar gran cantidad de estudios que iremos enumerando a lo largo de esta tesis con entrenamientos que se ajustan a las premisas de intensidad citadas anteriormente, es el denominado HIIT (high-intensity interval training). El objetivo del HIIT es acumular la actividad a una intensidad en la que el atleta no sería capaz de mantener durante periodos prolongados, generalmente de 1 a 4 minutos a una intensidad de 80-95% del consumo máximo de oxígeno (VO₂ máx.) o > 90% de la frecuencia cardíaca máxima (FC máx), por lo tanto, el tiempo de recuperación debe ser suficiente para permitir que el intervalo siguiente que se completará con la intensidad deseada (24).

Existe otra forma de clasificación de HIIT llamada SIT (Sprint Interval Training). Se caracteriza por provocar estímulos de alta intensidad por encima del VO₂ máx. de un individuo. Por ejemplo, un mínimo de 12 repeticiones de sprints a intensidad máxima, es decir, por encima del 100% del VO₂ máx. de corta duración, entre 10-30 segundos y con una recuperación iguales o inferiores a 4 min (25).

Dentro de este campo de investigación la tendencia se basa en la utilización de protocolos de entrenamiento sin una gran complejidad técnica y de fácil realización por los sujetos sometidos al estudio. Además dichos protocolos pueden realizarse de forma aislada en un laboratorio. Por ejemplo, en una revisión realizada por Jelleyman y cols. (26) se utilizaron protocolos de ejercicios como caminar, correr o bicicleta. En otro estudio llevado a cabo por Fex y cols. (27), utilizaron la elíptica para su protocolo de entrenamiento. Actualmente, se están empezando a utilizar otros protocolos como los revisados por Machado y cols. (28) utilizan ejercicios denominados como calistenicos, cuya finalidad es provocar adaptaciones en base al entrenamiento y evaluar en qué medida las distintas intervenciones ha tenido un efecto positivo para el deportista.

Por tanto, existe la necesidad de definir las adaptaciones orgánicas que derivaran del HIIT ejercicio como mecanismo de intervención dentro de la práctica deportiva.

2.1.2. Adaptaciones orgánicas durante el ejercicio de alta intensidad

La inclusión de actividades de alta intensidad como parte de un programa de ejercicios podría ofrecer un enfoque más eficiente en el tiempo para alcanzar metas específicas de salud para algunas personas. A nivel metabólico, el HIIT puede ofrecer beneficios de salud similares en comparación con el ejercicio aeróbico moderado continuo (CME) (29), y puede ser más eficiente en el tiempo para mejorar el VO₂max (30,31). El HIIT ha sido utilizado durante varias décadas por atletas y entrenadores para mejorar el rendimiento del ejercicio (32), aunque su capacidad para mejorar los resultados de salud en los no-atletas ha generado recientemente un nuevo interés. El HIIT se caracteriza por períodos breves de ejercicio aeróbico de alta intensidad (típicamente >90% VO₂max) separados por períodos de recuperación de ejercicio o descanso aeróbico de menor intensidad (33). Los períodos de recuperación permiten períodos breves de ejercicio de alta intensidad que no serían sostenibles durante períodos más largos de ejercicio continuo. Como resultado del HIIT, una duración total más corta de cada sesión de ejercicio es necesaria para completar un volumen igual de trabajo en comparación con CME. Por lo tanto, HIIT puede proporcionar un modo alternativo de ejercicio vigoroso para las personas que no poseen el nivel de condición física necesario para realizar ejercicio de alta intensidad continua.

A continuación enumeraremos las distintas adaptaciones orgánicas del organismo sometido a entrenamiento de alta intensidad.

2.1.2.1. Adaptaciones metabólicas

Todo ser vivo dependen del aporte de energía para poder sobrevivir, y como humanos nosotros deberemos obtenerla a partir de los alimentos, que posteriormente utilizaremos en forma de ATP producido generado mediante el metabolismo celular. A continuación analizaremos los procesos fundamentales para comprender cómo nuestro cuerpo usa los alimentos con el fin de crear energía para el movimiento y por extensión al ejercicio.

La liberación de energía en el catabolismo de los macronutrientes tiene como fin fundamental fosforilar ADP para volver a formar el compuesto rico en energía, el ATP. Podemos destacar tres etapas que al final llevan a la liberación y conservación de energía por la célula para trabajo biológico (34):

- **Etapa 1:** Incluye la digestión, absorción y asimilación de las grandes macromoléculas de alimento en subunidades más pequeñas para el uso en el metabolismo celular.

- **Etapa 2:** Degrada aminoácidos, glucosa, ácidos grasos y unidades de glicerol dentro del citosol en Acetil-coA (formada dentro de la mitocondria) con una producción limitada de ATP y NADH.
- **Etapa 3:** Dentro de la mitocondria, la Acetil-coA se degrada a CO₂ y H₂O con una considerable producción de ATP.

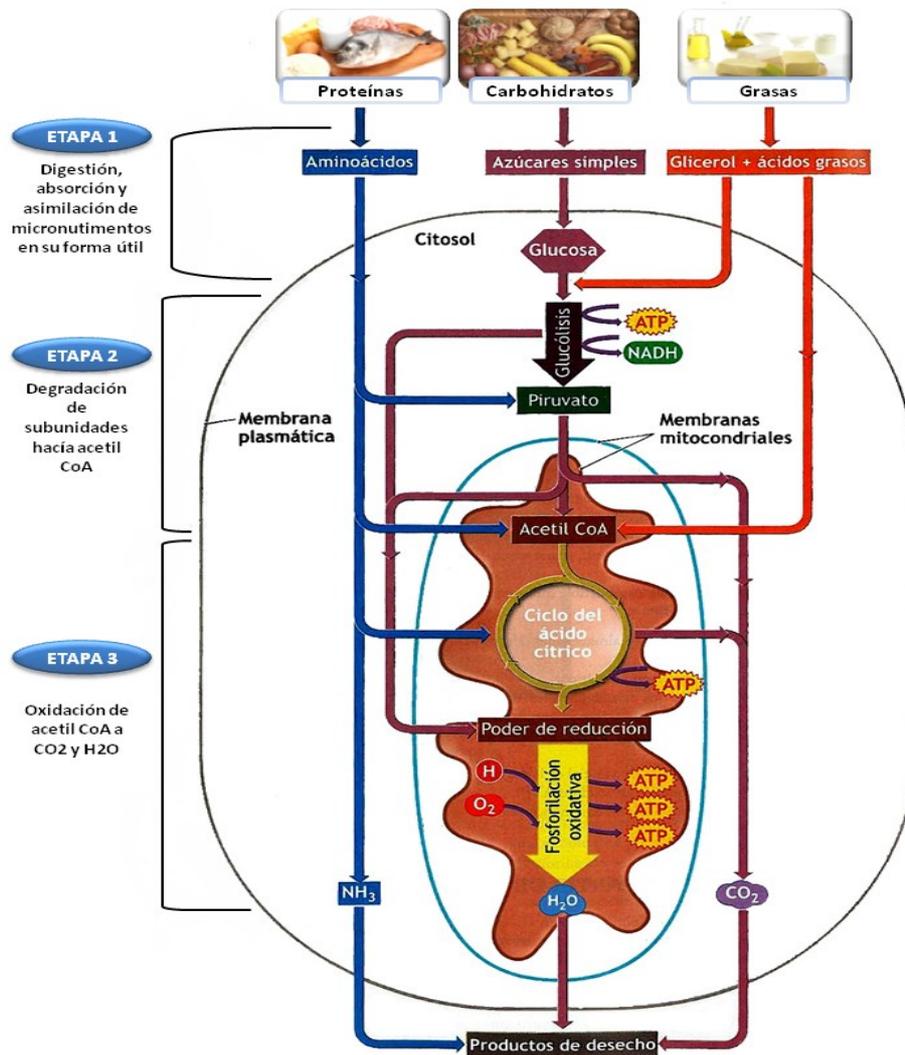


Figura 1. Etapas del uso de macronutrientes en el metabolismo energético (34).

Las vías específicas de degradación difieren dependiendo del sustrato de nutrientes catabolizado, pudiéndose distinguir la resíntesis de ATP a partir de la obtención de energía potencial desde los HC, las grasas y las proteínas. Las seis fuentes de combustible a destacar que suministran el sustrato para la formación de ATP son las siguientes (34):

1. Moléculas de triacilglicerol y glucógeno almacenadas dentro de las células musculares.
2. Glucosa sanguínea (derivada del glucógeno hepático).
3. Ácidos grasos libres (derivados de los triacilgliceroles en el hígado y los adipocitos).
4. Esqueletos de carbono de los aminoácidos intramusculares y derivados del hígado.
5. Reacciones anaeróbicas en el citosol en la fase inicial de la degradación de glucosa o glicógeno (pequeña cantidad de ATP).
6. Fosforilación de ADP por la PCr bajo control enzimático por la CK y la adenilato quinasa.

Durante el ejercicio prolongado, tanto la glucosa como los ácidos grasos libres se utilizan como combustibles (35), lo que resulta en una hipoglucemia significativa y un aumento de los niveles plasmáticos de lactato y β -hidroxibutirato, junto con una reducción significativa del glucógeno en el músculo y el hígado (36). El glucógeno esquelético y hepático puede proporcionar gran parte de los HC requeridos para realizar actividades de resistencia. Sin embargo, cuanto más larga sea la duración del ejercicio, mayor será la contribución de la glucosa hepática derivada de la glucogenolisis y la gluconeogénesis como sustrato energético (37). La capacidad de almacenar y mantener el glucógeno muscular se ha considerado durante mucho tiempo como el factor limitante más importante en el éxito de los eventos de resistencia submáxima (35).

En el HIIT de corta duración, de 10 a 180 segundos, la principal vía de soporte es la glucolítica anaeróbica que metaboliza rápidamente la glucosa y el glucógeno muscular a través de la cascada de la glicólisis. Debido a que ni los fosfágenos ni la vía glucolítica pueden satisfacer la demanda de energía que permita una alta velocidad de contracción de músculos en ejercicios de mayor duración, alrededor de los 2 minutos, las vías oxidativas proporcionaran el combustible necesario. Los principales sustratos son tanto el glucógeno muscular como el hepático, los lípidos intramusculares, los triglicéridos del tejido adiposo, los aminoácidos del músculo. A medida que la disponibilidad del oxígeno es mayor, el cuerpo utiliza las vía oxidativa (aeróbica) y en menor medida la vía anaeróbica (glucolítica y fosfágenos). En el organismo las vías aeróbica/anaeróbica no actúan en exclusiva ni se pasa bruscamente de una a otra. La intensidad, la duración, la frecuencia, el tipo de formación, el sexo y el nivel de entrenamiento del individuo, así como la disponibilidad de nutrientes y la ingesta de sustrato antes del ejercicio, determinarán la contribución relativa de las distintas vías energéticas y el intercambio entre ellas (4).

Con respecto a la respuesta metabólica específicas del HIIT, encontramos una disminución del ATP y de las reservas de PCr, seguida por una disminución de las reservas de

glucógeno a través de la glucólisis anaeróbica (38). En un estudio llevado a cabo en el 1993 por Gaitanos y cols. (39), sugirieron que hacia el final de una sesión de HIIT se puede producir una inhibición de la glucogenólisis anaeróbica, aunque posteriormente no establecieron un patrón claro de la utilización de los distintos substratos en el HIIT (40). En este sentido al final de los periodos de alta intensidad, la resíntesis de ATP puede derivar principalmente de la degradación de PCr y de las reservas de triglicéridos intramusculares.

En referencia a los procesos de recuperación completa dentro del HIIT, los fosfágenos pueden tardar de 3 a 4 minutos, aunque la completa restauración a valores basales del pH y lactato puede tardar horas (41). A nivel muscular el tiempo de recuperación es indeterminado. Observando los factores ya citados que pueden afectar a la recuperación del atleta, podemos distinguir dos fases: una inicial y rápida comprendida entre 10 segundos a unos pocos minutos, seguida de una más lenta que puede ir desde los primeros minutos a horas (41). Si bien estas premisas son ciertas hasta la fecha, numerosos estudios han demostrado el impacto de los distintos protocolos HIIT sobre el control de la glucosa observándose en primer lugar una respuesta aguda y posteriormente una respuesta adaptativa al entrenamiento.

Con respecto a la **respuesta aguda**, se ha podido observar que una sesión aislada de HIIT promueve la disminución gradual de glucosa en sangre en sujetos utilizando el test de medición de la glucosa postprandial, que mide los niveles de glucosa en sangre exactamente dos horas después de comer, (42). La eliminación de glucosa independiente de insulina aumenta durante y 60 minutos aproximadamente después del ejercicio agudo o intenso, de igual modo la eliminación de glucosa dependiente de insulina aumenta durante varias horas hasta los días posteriores a este tipo de ejercicio (43). Estos efectos se localizan, especialmente, en los grupos musculares implicados en el ejercicio, por lo que a mayor número de fibras reclutadas mayores serán estos beneficios pudiendo explicar las mejoras en la regulación de la glucosa (26,42).

Con respecto a las adaptaciones **a largo plazo**, se ha demostrado la mejora de sensibilidad periférica a la insulina en pacientes con deterioro del control metabólico (24,26), lo que se ha asociado con adaptaciones moleculares como son el elevado contenido de GLUT-4, el aumento de la capacidad de las enzimas aeróbicas y la biogénesis mitocondrial (44,45). En la revisión llevada a cabo por Kessler y cols (46) podemos ver como los estudios SIT y/o estudios de menos de 12 semanas de duración no mostraron un cambio en la glucosa en ayunas, mientras que en cambio los resultados de los estudios de al menos 12 semanas de duración sugieren que la alta intensidad puede ser más efectiva que un entrenamiento moderado y continuo para reducir la glucosa en ayunas en adultos jóvenes o de mediana edad respecto a adultos mayores. En resumen las distintas investigaciones sugieren que el HIIT produce una mejora significativa de la sensibilidad de la insulina en diferentes tipos de poblaciones.

A nivel lipídico encontramos dificultades en la obtención de evidencias sobre cómo los entrenamientos HIIT afecta a este sustrato. Si bien en estudios como los revisados por Kessler y cols. (46) podemos observar que los valores de colesterol como las lipoproteínas de alta densidad (HDL) fue la única medida de lípidos séricos que mejoraba en respuesta a estos protocolos de entrenamiento, siempre y cuando, la duración de los mismos fuera de al menos 8 semanas y en ninguno de los estudios revisados mostraban beneficios de otros indicadores lipídicos como son el colesterol total (TC), las lipoproteínas de baja densidad (LDL) o los triglicéridos (TG). Para estos últimos indicadores, parece que la mejora debido al entrenamiento debe de estar acompañada de una pérdida de peso significativa o un cambio de composición corporal (47).

2.1.2.2. Adaptaciones cardiacas

A nivel cardiológico, uno de los fenómenos más evidentes que se produce en las adaptaciones al ejercicio es la FC. La FC normal oscila entre 60 y 100 latidos/min, siendo mayor en las mujeres que en los hombres existiendo una tendencia a que la FC sea más baja en personas que tienen una buena condición física que en las personas no deportistas.

Durante el ejercicio, existe un aumento evidente de la FC dependiendo de la velocidad y duración del mismo, del estado emocional, de la temperatura ambiente, de la humedad y de la capacidad física del individuo. La máxima FC tiene lugar en la fase estable del ejercicio y está relacionada con la cantidad de trabajo realizado, influyendo el tipo de ejercicio sobre el incremento de la FC, y existiendo un mayor aumento en ejercicios de velocidad (carreras) y menor en los de fuerza (lanzamientos) (48).

A nivel epidemiológico encontramos evidencias solidas de que la actividad física regular protege contra los accidentes cardiovasculares (49). Diversos estudios sugieren que el ejercicio realizado a una intensidad moderada es suficiente para reducir el riesgo de enfermedad cardiovascular en mujeres y en hombres mayores, pero hay algunos indicios, especialmente en hombres de mediana edad, que necesitan del ejercicio vigoroso para lograr estos beneficios (50). Por ejemplo, en un estudio llevado a cabo por Tanasescu y cols. (51), se observó que el HIIT se asoció a una reducción de las causas de mortalidad independientemente de la duración de dicho ejercicio. En esta misma línea, según Lee y cols. (52) el aumento de la intensidad del ejercicio en hombres mayores instruidos se asoció con una mayor reducción en el riesgo de enfermedades coronarias.

Los cambios estructurales a nivel cardiaco se pueden apreciar en un aumento de la pared del ventrículo izquierdo, aumento el volumen sistólico así como la tasa de llenado diastólica mejorando su función y disminuyendo la torsión pico (53). Estos resultados corroboran los hallados por Cox y cols. (54) que encontraron cambios adaptativos en las dimensiones del ventrículo izquierdo después de 7 semanas de entrenamiento. Si bien, este último estudio no clarifica qué tipo de entrenamiento es el responsable de los beneficios encontrados ya que alternaba semanas de entrenamiento continuo (40 minutos de cicloergómetro) con entrenamiento de intervalos en carrera (5 series de 5 minutos). En otro estudio, llevado a cabo por Helgerud y cols. (55), se comparó el entrenamiento continuo con dos HIIT (90-95% de la FC max), uno de corta duración (periodos de 15 segundos) y otro de larga duración, periodos de 4 minutos, mostrando mayores beneficios en el volumen sistólico del corazón para los entrenamientos HIIT.

A nivel molecular, la influencia del HIIT ha sido analizada en estudios realizados en animales (24,56), halló mejoras en la contractilidad y la utilización del Ca^{2+} , comparándose el ejercicio de intervalos a diferentes intensidades (85-90% frente al 65-70% $VO_{2m\acute{a}x}$), y dando como resultado mayores beneficios en el HIIT con un aumento del $VO_{2m\acute{a}x}$ en un 71% frente al 28%, lo que se correlacionó significativamente con la hipertrofia en las células implicadas, y con la contractilidad y la relajación vascular. Otros estudios realizados en roedores con diferentes patologías, arrojan resultados similares y apoyan los beneficios del HIIT, como los llevados a cabo por Stølen y cols. (57), que mostraron adaptaciones positivas tras 13 semanas de entrenamiento HIIT en roedores o las adaptaciones similares observadas en otro tipo de patologías como la insuficiencia cardíaca (58).

Según lo anteriormente expuesto la intensidad del entrenamiento sería en un factor a tener en cuenta para la mejora de diversas patologías. En pacientes con insuficiencia cardíaca (59), observaron un aumento relativo de la fracción de eyección y el volumen sistólico, del 35% en sujetos sometidos a HIIT frente al 17% en sujetos sometidos a entrenamiento de menor intensidad, así como un aumento del 22% en la contractibilidad global para los que realizaban el entrenamiento a mayor intensidad después de 12 semanas de entrenamiento.

La torsión cardíaca es un elemento importante en la estructura del corazón y esta descrito por un aumento en el ángulo de rotación desde la base al ápex o terminación a lo largo del eje largo del ventrículo izquierdo durante los ciclos de contracción-relajación. Este factor se eleva en sujetos con enfermedad metabólica, lo que refleja un daño en las fibras endocárdicas (60). Diversos estudios (53,61) observaron una reducción en la torsión cardíaca en comparación con los sujetos control, lo que sugiere una reducción del daño del endocardio tras 12 semanas de HIIT.

Con respecto a la función diastólica, primero señalar que el deterioro de esta es un predictor independiente de la mortalidad (62), lo que nos hace pensar que cualquier mejora de esta función es clínicamente significativa. En el estudio llevado a cabo por Cassidy y cols. (53) así como Hollekim-Strand y cols. (63) demuestran una mejora significativa en la tasa de llenado precoz lo que muestra una mejora en la función diastólica en comparación a los sujetos control sometidos a entrenamientos de menor intensidad.

En resumen, los estudios indican que la alta intensidad puede ser un importante factor de éxito a tener en cuenta a la hora del diseño de programas de ejercicios efectivos, además la alta intensidad puede ser particularmente crítica para mejorar la función cardíaca.

2.1.2.3. Adaptaciones respiratorias

En las adaptaciones respiratorias al ejercicio existen complejos mecanismos neuronales, humorales así como quimiorreceptores, que adaptan de modo preciso la frecuencia y profundidad respiratorias a las necesidades metabólicas corporales. Existen circuitos neurales complejos que retransmiten información desde los centros superiores desde el cerebro y los pulmones, y sensores situados en otras zonas del organismo para coordinar el control de la ventilación. La concentración gaseosa y química de la sangre que riega el bulbo raquídeo y los quimiorreceptores de las arterias aorta y carótida, también median en el control de la ventilación alveolar. En individuos sanos, estos mecanismos de control mantienen relativamente constantes las presiones de gas alveolar y arterial en un amplio intervalo de intensidades de ejercicio.

Durante la actividad física

Los efectos combinados y tal vez simultáneos de diversos estímulos químicos y neuronales inician y modulan la ventilación alveolar en el ejercicio. En el incremento de la ventilación del ejercicio (hiperapnea), podemos distinguir tres fases (34):

- Fase 1: Al principio del ejercicio, los estímulos neurógenos de la corteza cerebral (control central), combinados con retroalimentación de las extremidades activas, estimulan el bulbo raquídeo para que incremente la ventilación de forma abrupta. La información cortical y periférica locomotriz continúa durante todo el período de actividad.
- Fase 2: La elevación exponencial más lenta inicia alrededor de 20 segundos después del inicio del ejercicio. El control central continúa, junto con retroalimentación desde los

músculos activos y el efecto añadido del potencial de corto plazo de las neuronas respiratorias.

- Fase 3: Los mecanismos reguladores principales alcanzan valores estables y el aporte añadido de los quimiorreceptores periféricos da el ajuste fino a la respuesta respiratoria.

Durante la recuperación

La declinación abrupta de la ventilación cuando la actividad física termina, refleja el cese del impulso del control central y la información sensorial derivada de los músculos previamente activos. Es probable que la fase de recuperación más lenta sea resultado de dos factores, la disminución gradual del potencial de corto plazo del centro respiratorio, y el restablecimiento del ambiente corporal metabólico, térmico y químico hacia valores normales.

Durante la Actividad Física Intensa

En estudios recientes (34), se observó que el incremento de la concentración de H^+ por la producción de dióxido de carbono y la formación de lactato durante la actividad física extenuante dificulta progresivamente la regulación del pH. La regulación ácido base se vuelve muy difícil durante episodios repetidos y breves de esfuerzo máximo que elevan los valores de lactato en sangre a 30 mM o más (270 mg de lactato por dL de sangre). La concentración de lactato en sangre en los experimentos realizados varió entre 0.8 mM en reposo (pH 7.43) y 32.1 mM durante el ejercicio extenuante (pH 6.80). En el músculo activo, el pH alcanza valores aún más bajos que en la sangre y desciende a pH 6.40 o menos en el agotamiento. Por esto podemos decir que los humanos toleran temporalmente grandes trastornos en el equilibrio ácido base durante el esfuerzo físico máximo, por lo menos a un pH total sanguíneo hasta de 6.80. Un pH plasmático menor de 7.00 no tiene lugar sin consecuencias, ya que este nivel de acidosis puede producir náuseas, cefalea y mareo, además de incomodidad y dolor que varía de leve a intenso dentro de los músculos activos (34).

En un estudio llevado a cabo por McGinley y Bishop (64) se observó una mejora en cada una de las familias de proteínas de transporte ácido- base en hombres físicamente activos tras 4 semanas de SIT (5 series de 6 segundos a máxima velocidad con 24 segundos de descanso pasivo). Estos datos sugieren que los entrenamientos HIIT pueden ayudar al deportista a la tolerancia de ácido láctico así como a mejorar sus sistemas de amortiguamiento químico como son el tampón del bicarbonato sódico, fosfato y proteína.

2.1.2.4. Adaptaciones musculo esqueléticas

Un factor importante en el rendimiento físico es la capacidad adaptativa del músculo esquelético a diferentes tipos de entrenamiento físico. Los ejercicios realizados a una intensidad moderada con repeticiones continuas o basados en intervalos durante un largo periodo de tiempo, da como resultados un aumento en el número de mitocondrias, en la densidad capilar, así como una mayor capacidad para la oxidación de los HC y los lípidos (65–67), lo que confiere una mayor resistencia a la fatiga muscular. Diversos autores (36) han puesto de manifiesto la capacidad adaptativa del músculo esquelético en lo que se refiere al reordenamiento en el aparato contráctil, el número de mitocondrias, las fibras y otras uniones neuromusculares como resultado de las adaptaciones en respuesta al ejercicio. Por otro lado, el ejercicio de resistencia realizado a alta intensidad en periodos de tiempo más cortos, aumenta el tamaño y la potencia muscular como consecuencia de una mayor síntesis de proteínas estructurales y contráctiles (68). En lo que al HIIT se refiere podemos descartar varias adaptaciones moleculares en el musculo esquelético. A continuación se describen las distintas fases de adaptación:

1. *Mayor reabsorción del Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico aumentando la capacidad de trabajo muscular*

La utilización del Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico juega un papel importante en la fatiga periférica. El aumento de la intensidad del ejercicio disminuye el pH cistólico produciéndose un aumento de la capacidad del retículo sarcoplásmico para retener el Ca^{+} , lo que reduce la estimulación del proceso contráctil (69). En un estudio realizado por Tjønnå y cols. (70) en pacientes afectados con síndrome metabólico, se analizaron los parámetros relacionados con la salud cardiovascular después de una intervención con HIIT (90% de la frecuencia cardiaca máxima) y con entrenamiento de intensidad continua (70% de la frecuencia cardiaca máxima), mostraron un aumento del 50% en la recaptación del Ca^{2+} , lo que mejoró significativamente la capacidad de trabajo del músculo.

2. *Mayor biogénesis mitocondrial aumentando la capacidad oxidativa*

Las mitocondrias tienen la capacidad de oxidar sustratos y producir energía en el ciclo de Krebs y en la cadena de transporte de electrones. Contar con una mayor cantidad de mitocondrias reduce la velocidad de trabajo de cada una de ellas y se optimiza la producción de energía. Es interesante mencionar que a mayor cantidad de mitocondrias se mejorará al ahorro de HC y se oxidará una mayor cantidad de lactato dentro de esta organela, debido a que la lactato deshidrogenasa (LDH) mitocondrial y los transportadores de lactato MCT1 aumentan su

flujo hacia dentro de la mitocondria. Por otro lado contar con más mitocondrias permite disminuir la producción de radicales libres (ROS) y mantener la integridad de las proteínas, lípidos y ADN mitocondrial. Al igual que la síntesis de proteínas contráctiles en el músculo esquelético, la señal para la síntesis de mitocondrias es la contracción muscular.

El receptor activado por proliferadores de peroxisomas y coactivador 1 α (PGC-1 α) juega un papel en la biogénesis mitocondrial. Esta molécula puede unirse a ciertos factores de transcripción encargados de la expresión de proteínas mitocondriales aumentando su actividad y facilitando esta fase molecular, por esa razón se la conoce como regulador maestro de la biogénesis mitocondrial. Algunos ejemplos de estas proteínas pueden ser componentes de la cadena de transporte de electrones, el citocromo C o transportadores de membrana mitocondriales entre otros. En un estudio llevado a cabo por Little y cols. (71) tras 6 sesiones de HIIT observaron aumentos en los niveles de PGC-1 α nucleares, así como incrementos en el contenido vasto lateral en las muestras de biopsia. En la misma línea De Filippis y cols. (72) en una sesión de 4 periodos de 8 minutos y 2 minutos al 70% y al 90% de la FCmax respectivamente hallaron que además de la activación de PGC-1 α fue seguida por el aumento del COX. Además en este estudio encontramos que dichos hallazgos no se encontraron en la población con resistencia a la insulina como son los sujetos con obesidad derivando a una disfunción mitocondrial. En contra de lo expuesto por estos estudios podemos ver que el realizado por Gibala y cols. (73) tras una sesión de 4 series de 30 segundos a la máxima FC con 4 minutos de descanso concluyeron que el contenido proteico de PGC-1 α no cambió después del ejercicio.

En otra línea de protocolos de ejercicios Mathai y cols. (74) encontró un rápido aumento en la proteína PGC-1 α inmediatamente después de una serie aguda de ejercicio moderado al 65% VO₂max hasta el agotamiento (2h aproximadamente), que persistió durante 24 horas en la recuperación. Similares hallazgos encontró Little y cols. (71) utilizando el mismo protocolo de ejercicio biopsiando el vasto lateral antes y justo después de realizar la prueba. Como podemos observar es posible que el aumento agudo en el ARNm de PGC-1 α dependa de protocolos de ejercicio más exigentes y de más duración independientemente de que sea continuo o mediante intervalos, si bien este último tipo de protocolos son de especial interés ya que pueden ser completados por un número mayor de individuos. En un estudio realizado por Gibala y cols. (75) en individuos no entrenados y recreativamente activos, encontraron evidencias de que el HIIT a corto plazo es un estímulo potente para inducir adaptaciones fisiológicas similares al entrenamiento tradicional de resistencia. Un mínimo de 6 sesiones de HIIT durante 14 días, con un total de 15 minutos de ejercicio de ciclo intenso (4-6 periodos de 3

segundos de Wingate con descansos activos) es suficiente para mejorar la capacidad oxidativa del músculo esquelético y la resistencia al ejercicio.

3. *Mayor contenido en GLUT-4 aumentando el transporte de glucosa*

El músculo esquelético es el tejido principal para de retirada o captación de glucosa mediada o no por la insulina, esto último estimulado por la contracción muscular. Por lo tanto, juega un papel importante en la regulación del metabolismo glucídico.

El transporte de glucosa al interior de las células ocurre por medio de un proceso de difusión facilitada que es mediado por una familia de transportadores de glucosa (GLUT), que presentan 12 dominios transmembranales. Cada uno de los miembros de esta familia es expresado en tejidos y células específicas, por lo que difieren en sus características cinéticas de transporte y la activación por la cascada de la insulina. La GLUT-4 es una proteína caracterizada por ser el transportador principal de glucosa en células musculares y adipocitos. Este transportador de glucosa es expresado principalmente en tejidos periféricos como la grasa parda, tejido coronario, el músculo rojo, el músculo blanco y la grasa blanca, aunque también ha sido encontrado en la glándula pituitaria y el hipotálamo. La expresión de GLUT-4 en la superficie de la membrana es altamente sensible a la insulina (76). El entrenamiento interválico de alta intensidad puede aumentar los niveles de esta proteína transportadora de glucosa tal y como se observa en un estudio realizado por Burgomaster y cols. (77) donde los sujetos varones jóvenes físicamente activos realizaron de 4 a 6 periodos de 30 segundos en cicloergómetro con 4 minutos de recuperación durante 6 semanas con una frecuencia de 3 días por semana, hallando mediante biopsias musculares, que el contenido de la proteína GLUT-4 aumentó un 20% en comparación con los valores iniciales, persistiendo incluso tras 6 semanas del cese de la intervención.

En resumen, podemos decir que de forma general las adaptaciones orgánicas al HIIT experimenta un aumento significativo en diferentes parámetros como en el ritmo cardíaco, las catecolaminas, el cortisol, la hormona del crecimiento, el lactato plasmático, así como los niveles de glucosa y glicerol, observándose por otro lado una disminución significativa en la reactivación parasimpática después HIIT, además del agotamiento de ATP, la PCR, y las reservas de glucógeno (40).

CAPÍTULO 2.2. NUTRICIÓN Y ACTIVIDAD FÍSICA

La nutrición desempeña un papel fundamental a lo largo la vida del deportista, siendo importante para el normal crecimiento y desarrollo, y para el mantenimiento de una buena salud ayudando a optimizar tanto la producción de energía, como el control y la eficiencia en el deporte (78).

El rendimiento y la nutrición, están íntimamente relacionados ya que una óptima adaptación a las demandas de sesiones continuas de entrenamiento, requieren de una dieta para mantener las reservas de energía muscular (79). Una alimentación inadecuada podría, por tanto, contribuir a lesiones deportivas (78,80,81). Existen dos métodos empleados con frecuencia para determinar la interacción entre actividad física y dieta. El primero, se basa en administrar diferentes nutrientes en los individuos que realizan actividad física, para monitorizar su respuesta fisiológica y de rendimiento. La otra trata de determinar los efectos que la actividad física sobre dieta (82,83).

La última década se han incrementado el número de publicaciones, temas de investigación, revisiones bibliográficas y declaraciones de consenso de las organizaciones deportivas como la Sociedad Internacional de Nutrición Deportiva (ISSN) o el Colegio Americano de Medicina Deportiva (ACSM) que proporcionan recomendaciones de macronutrientes para promover la salud óptima y el rendimiento deportivo en diferentes escenarios de entrenamiento y deporte competitivo. Esto demuestra que la nutrición deportiva es un área de la ciencia dinámica en continuo crecimiento con evidencias que sustentan y aportan directrices útiles para los deportistas (4). Para que estas directrices sean útiles para el atleta debemos tener en cuenta los objetivos que a continuación se exponen:

1. Los objetivos y requisitos de la nutrición no son estáticos. Los atletas están sometidos a las exigencias de un calendario deportivo y para ello realizan distintos entrenamientos para maximizar su rendimiento, y es por ello que el apoyo nutricional debe realizarse de manera periódica.
2. Los planes nutricionales deben ser personalizados, teniendo en cuenta la especificidad y singularidad del deporte, del deportista y los objetivos del mismo así como los problemas prácticos que puedan surgir, las preferencias alimentarias y las respuestas a las distintas estrategias.
3. Podemos distinguir dos periodos con distintos objetivos, el periodo de entrenamiento cuyo objetivo clave es la adaptación del organismo para el desarrollo de la eficiencia y flexibilidad metabólica, mientras que en el periodo de competición se debe centrar en

proporcionar las reservas de sustratos adecuados para satisfacer las demandas energéticas y apoyar la función cognitiva del deportista.

4. La utilización de la suplementación en el deportista debe estar estrechamente relacionada con la evaluación nutricional cuyo objetivo es contribuir a la salud y al rendimiento del deportista.

La valoración nutricional del deportista precisa de una selección determinada de marcadores bioquímicos, el análisis y control de parámetros antropométricos y la evaluación de adecuación de ingesta de nutrientes, así como el control del estado de hidratación.

2.2.1. Valoración del estado nutricional en actividad física

Los deportistas sometidos a entrenamientos HIIT experimentan un alto gasto calórico afectando a aspectos fisiológicos, metabólicos y de composición corporal lo que da como resultado unos requerimientos nutricionales diferentes al resto de población. Es por ello que en la evaluación del estado nutricional en el deporte debe considerar aspectos específicos como el tipo de actividad, la especialidad o la posición de juego, el programa de entrenamiento y calendario de competición, y la categoría y objetivos específicos. Para la obtención de datos fiables y representativos en una valoración nutricional en deportistas, es esencial combinar el registro de la ingesta de alimentos e hidratación, así como el análisis de composición corporal, y finalmente la evaluación bioquímica (84), lo que nos ayudará a mejorar su rendimiento y preservar su salud. Los objetivos de la valoración nutricional que deben ser considerados se desglosan en (85):

1. Conocer los hábitos alimentarios de la población y los factores que los determinan.
2. Conocer la distribución del consumo de alimentos y las razones que la motivan.
3. Determinar la ingesta energética y nutricional, estableciendo el grado de adecuación a las ingestas recomendadas y requerimientos medios.
4. Identificar aquellos componentes en la dieta que se asocian a riesgo de enfermedad.

Entre los métodos más empleados para determinar la ingesta de nutrientes, podemos destacar los métodos prospectivos (momento actual) como la pesada directa de alimentos, y los métodos de carácter retrospectivo (en el pasado) como la historia dietética, el recordatorio de 24, 48 o 72 horas y el cuestionario de frecuencia de consumo (4,86). A continuación se describen estos de manera más detallada:

1. Método mediante pesada

Este método responde de manera más precisa al término Registro de Alimentos. El fundamento es la de pesar los alimentos mediante una balanza portátil a partir de los ingredientes en crudo, del alimento una vez cocinado, y de los sobrantes o desperdicios. De esta manera se puede conocer la cantidad de alimento crudo ingerido, dado que las tablas de composición de alimentos expresan generalmente el contenido de nutrientes de un alimento en estado crudo (86).

2. Recuerdo de 24 horas

El método consiste en preguntar al individuo entrevistado sobre los alimentos consumidos (incluyendo agua), tanto cualitativa como cuantitativamente, durante un período de 24 horas, que corresponde concretamente al día precedente. No obstante los recuerdos dietéticos pueden abordar periodos más cortos como unas horas o más largos como pueden ser 72 h (3 días, siendo uno de ellos festivo), siete días e incluso más. Si se persigue obtener información sobre hábitos de ingesta, se llevan a cabo al menos seis registros de recordatorio de consumo de alimentos de 24 horas, cada dos meses durante un año (86).

Este método permite varias alternativas de cumplimentación, ya que, se puede realizar mediante entrevista personal con entrevistador, a través de conversación telefónica, o incluso ser realizada por el propio encuestado. Generalmente, se dispone de ayudas con materiales específicos que puedan cuantificar de manera más exacta las porciones de los alimentos ingeridos. Entre estas ayudas se puede disponer de modelos tridimensionales de alimentos, utensilios domésticos de medida, fotografías y/o dibujos de alimentos o platos preparados, etc. (86). En nuestro estudio nos ayudamos del “Manual de Fotografía para Encuestas Alimentarias” (87).

3. Frecuencia de consumo de alimentos

Este método constituye un sistema directo de estimación de la ingesta alimentaria de un individuo a partir de un formato o cuestionario previamente estructurado. El cuestionario generalmente refleja el consumo a largo plazo, habitualmente en el último año. Se compone de dos secciones, la primera es una lista de alimentos en la que se especifican sus correspondientes porciones; la segunda recoge la frecuencia de consumo de cada uno de los alimentos de la lista.

El número de alimentos recogidos puede ser variable, recogiendo la frecuencia de consumo de alimentos de forma semanal, mensual y anual. El formato habitual incluye diferentes categorías, desde “nunca” o “una vez al mes”, hasta “seis o más veces al día”. Haciendo referencia a Mataix y Aranceta (86) podemos distinguir las siguientes partes que constituyen este registro:

- Frecuencia. Los métodos de frecuencia de alimentos que determinan también una alimentación pasada están adquiriendo últimamente una gran importancia, especialmente en estudios epidemiológicos nutricionales, con el fin de poder establecer una posible relación entre dieta y enfermedad. Esto es obvio, puesto que el estudio de la ingesta dietética habitual que cubre un período temporal amplio es más adecuado para establecer la relación nutrición-enfermedad crónica, que cuando se determina la ingesta de un día específico o incluso una semana.
- Período de tiempo estudiado. Los tiempos de estudio pueden variar desde unos pocos días, a una semana, un mes, e incluso desde varios meses hasta un año. Lo que hay que indicar es cuántas veces al día (o a la semana, o al mes, etc.), durante el período total indicado, se ingiere una determinada ración de alimento.
- Cumplimentación del cuestionario. El método de frecuencia de alimentos se lleva a cabo mediante entrevistador o encuestador, en actuación personal, o por medio del teléfono, o incluso por correo, o la puede realizar el propio individuo entrevistado. Existen sistemas informatizados de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos como el software Nutriber[®] de Mataix y García Diz (2007), que permiten una rápida cumplimentación y, sobre todo, una pronta exploración de resultados.
- Cuantificación de las ingestas de alimentos. En cuanto a los alimentos incluidos o a considerar, pueden ser los pertenecientes a todos los grupos de alimentos o los incluidos en uno o más grupos pero no en todos ellos, o los alimentos ricos en algún nutriente concreto como, por ejemplo, se pueden seleccionar nueve alimentos para acercarse con bastante precisión a la ingesta de Ca.

La determinación de nutrientes ingeridos puede también llevarse a cabo de varias maneras, en función de cómo estaba presentada la lista de alimentos. Así, puede calcularse alimento a alimento mediante la tabla de composición, o por el valor nutricional del alimento que predomina en el grupo, o por un valor medio para cada grupo, etc.

4. Historial dietético

El historial dietético se utiliza en un principio para estimar la dieta habitual del pasado reciente durante un período de tiempo definido, en estudios de crecimiento y desarrollo. Con el tiempo el método evolucionó llegando a ser una combinación de los tres métodos anteriormente citados: "registro de alimentos", "recuerdo de 24 horas", y "frecuencia de consumo de alimentos". Haciendo referencia a Mataix y Aranceta (86) podemos distinguir las siguientes partes que constituyen este registro:

- **Período de tiempo estudiado.** La historia dietética suele comprender un período de tiempo variable que puede ir desde una semana o varios meses e incluso hasta un año, pudiendo ofrecer una visión más completa de la ingesta habitual que los otros métodos.
- **Cumplimentación del formulario.** La cumplimentación más deseable es a través de entrevistadores bien entrenados y con buena formación alimentaria y nutricional.
- **Cuantificación de la ingesta de alimentos.** Son válidas las consideraciones indicadas en la descripción del método de frecuencia de consumo. También, como ocurría allí, se puede tener en cuenta desde alimentos de la dieta, a un conjunto de ellos que son ricos en un nutriente en concreto, como era el ejemplo del β -caroteno, Ca, omega-3, etc.

Tiene la ventaja de no basarse en la memoria, entonces la omisión de alimentos es mínima. Pero a veces la exactitud del registro de lo consumido fuera de casa es menor, incluso los hábitos de consumo pueden ser alterados por el registro (85).

Teniendo en cuenta las diferentes metodologías, existen una serie de pautas o estrategias que se llevan a cabo para reducir el error implícito dentro la evaluación nutricional (84).

- Usar una combinación de métodos cuantitativos y cualitativos (historia dietética, recuerdo de 24 horas, cuestionario de frecuencia de consume de alimentos).
- Reforzar métodos y técnicas con la historia dietética, preguntando acerca de aspectos generales que ayuden al atleta a rellenar con más detalle todos los alimentos consumidos en un día para reducir el error (recuerdo de 24 horas de múltiples pasos).
- Usar fotos o modelos de alimentos que puedan ayudar al deportista a estimar la ración de alimentos.

Después de obtener los registros, los datos deben ser transferidos a una base de datos para calcular de manera cuantitativa la energía consumida, así como la ingesta de macronutrientes y micronutrientes con los que comparar con las referencias respecto a la energía, HC, proteínas, lípidos, micronutrientes y agua ingerida. Debido a la heterogeneidad de

los métodos utilizados para evaluar la ingesta de alimentos en los atletas y la población en general, es difícil llevar a cabo un meta-análisis que indique la efectividad de estos métodos de evaluación nutricional (88). Por tanto, la combinación de diferentes metodologías (89) es lo que nos dará una mayor precisión cuando evaluamos la ingesta de alimentos, especialmente cuando se utilizan determinadas herramientas de estimaciones dietéticas online que hoy en día permiten validar la ingesta de nutrientes (90).

2.2.1.1. Valoración de la composición corporal en actividad física

El tamaño, la complexión y la composición corporal de un deportista desempeña un importante papel en la determinación del éxito deportivo siendo muy importante tener información sobre la masa magra y grasa del deportista así como morfología ideal requerida para cada deporte (91). No obstante, el rendimiento deportivo no puede predecirse con exactitud basándose únicamente en el peso y la composición corporal, ya que otros factores que influyen sobre el rendimiento deportivo (4). Mientras que algunos atletas tienen como objetivo ganar tamaño y fuerza absoluta, en otros deportes, en los que el atleta debe mover su propia masa corporal es importante optimizar la fuerza relativa (92).

Antes de delinear los métodos más comunes utilizados en la ciencia y la medicina del deporte, se debe tener en cuenta que hay un continuo de los componentes medidos o estimados. Hace más de 25 años, Wang y cols. (93) propuso un modelo de cinco niveles para organizar la investigación de composición corporal. Cada nivel tiene diferentes componentes, eventualmente considerados compartimentos, y se han sometido a una organización adicional para incluir dos (2C), tres (3C) y cuatro (4C) (Lee and Gallagher 2008) compartimentos:

- Nivel atómico: hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, carbono, sodio, potasio, Cl, fósforo, Ca, magnesio, azufre.
- Nivel molecular: el modelo 4C incluye la masa grasa (MG), agua corporal total (ACT), proteína corporal total y contenido mineral óseo. El modelo 3 compartimentos incluye MG, ACT y sólidos sin grasa. Un modelo 3 compartimentos alternativo incluye MG, mineral óseo y masa residual. El modelo 2 compartimentos incluye MG y MLG.
- Nivel celular: el modelo 3 compartimentos incluye células, fluidos extracelulares y sólidos extracelulares. El modelo 4C incluye masa de células corporales, MG, fluidos extracelulares y sólidos extracelulares.
- Nivel de órgano tisular: tejido adiposo, músculo esquelético, hueso, órganos viscerales y otros tejidos.

- Nivel de todo el cuerpo: cabeza, tronco y apéndices.

El modelo 4 compartimentos tiene el mayor grado de sensibilidad a la variabilidad interindividual de la composición de MLG. Su exhaustividad y precisión han convertido su reputación en el "estándar de oro" con el que se comparan todos los otros modelos, pero se limita al uso ocasional en la investigación primaria debido a sus desafíos logísticos. El modelo 2 compartimentos estima MG y MLG, y opera bajo la suposición de que el contenido de agua, proteína y minerales de MLG es constante. Por lo tanto, el modelo 2 compartimentos es el enfoque más comúnmente utilizado para adultos. Debido a su costo relativamente bajo, a su no invasividad y a su facilidad de operación, los métodos basados en el modelo 2 compartimentos son comunes en la práctica clínica y en las configuraciones de deportes/condición física. Los ejemplos de métodos basados en el modelo 2C incluyen hidrodensitometría (pesaje subacuático), pletismografía por desplazamiento de aire, grosor del pliegue cutáneo y análisis de impedimento bioeléctrico (BIA). La absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) se basa en un modelo de 3 compartimentos que mide el contenido mineral óseo, la masa libre de grasa y la MG, pero aún está sujeto a la confusión por diferencias de inter-evaluación en hidratación, glucógeno y creatina muscular. Niveles, que pueden ser significativos en poblaciones atléticas con distintos ciclos de ejercicio y recuperación (95,96).

Los métodos de composición corporal se han clasificado además como directos, indirectos y criterios (96). Los métodos directos miden el aspecto o proceso específico/específico. Los ejemplos incluyen ACT, dilución de isótopos y activación de neutrones. Los métodos indirectos proporcionan medidas sustitutorias o sustitutos de métodos directos y métodos de criterio. Los ejemplos de métodos directos son antropometría (por ejemplo, pliegues cutáneos) o BIA. Los métodos de criterio miden una propiedad específica del cuerpo, como la densidad o la distribución del músculo esquelético y el tejido adiposo. Los ejemplos incluyen hidrodensitometría, tomografía computarizada, imágenes de resonancia magnética (MRI) y DXA. Cabe señalar que los modelos multicompartimentales han evolucionado para ser considerados métodos de criterio: estándares contra los cuales se juzgan otros métodos.

Los diversos métodos a menudo se clasifican en la literatura como métodos de laboratorio (por ejemplo, DXA) o métodos de campo (por ejemplo, pliegues cutáneos, ultrasonidos, BIA) dependiendo de su uso respectivo en investigación y configuración clínica así como de su portabilidad. Los métodos de laboratorio, incluidos los modelos multicompartimentales, se han visto tradicionalmente como más precisos y válidos. Los métodos por BIA, han evolucionado para incluir múltiples frecuencias, siendo posible estimar de manera más precisa la composición corporal a través de múltiples propiedades eléctricas

dependientes de la frecuencia de los tejidos del cuerpo, a diferencia de los métodos tradicionales de frecuencia única (es decir, BIA o balanzas portátiles). Sin embargo, los niveles más altos de sofisticación con las opciones de frecuencia múltiple a menudo van acompañados de una menor disponibilidad y un mayor costo. Dada la amplia gama de técnicas de medición de la composición corporal y desafíos únicos relacionados con la medición de atletas (ejercicio/agotamiento de glucógeno, hidratación, disponibilidad de tiempo, etc.), no existe un método universalmente superior para la evaluación de la composición corporal en esta población. Una excelente revisión por Wagner y Hayward (97) concluye lo siguiente: "No existe un método único que sea 'el mejor'; más bien, el clínico o investigador debe ponderar las consideraciones prácticas de sus necesidades de evaluación con las limitaciones de los métodos.

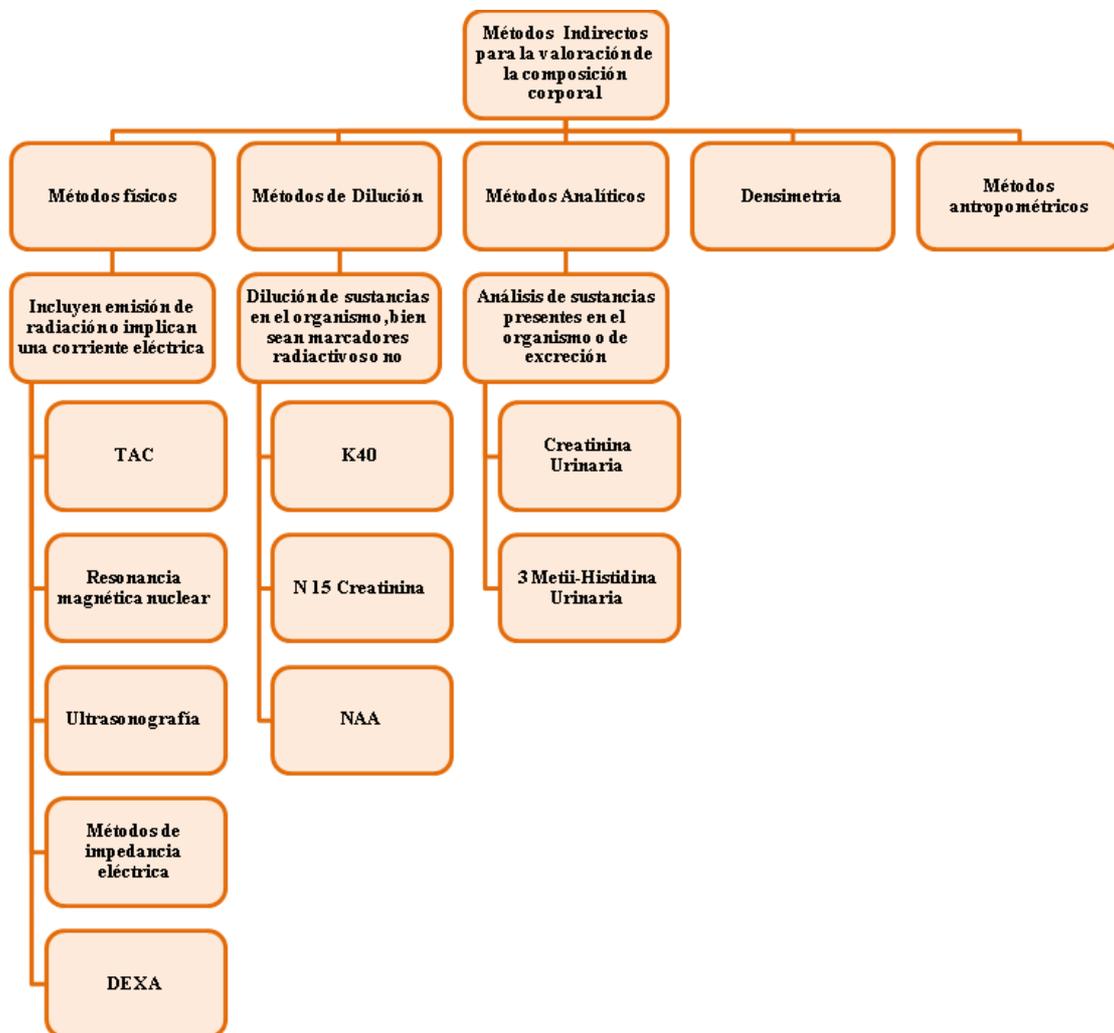


Figura 2 Métodos indirectos para la valoración de la composición corporal. Clasificación de (98). CAT = Tomografía axial computerizada; RMN = Resonancia magnética nuclear; BIA = Bioimpedancia eléctrica; DXA = Absorciometría dual de rayos X; NAA = Análisis de Activación de Neutrones.

A continuación describiremos los métodos de análisis antropométricos más utilizados en el deportista siguiendo la clasificación de Wilmore and Costil (91):

[1] **Técnicas de laboratorio**

1. Densitometría

La densitometría supone medir la densidad del cuerpo del deportista. La densidad (D) se define como la masa dividida por el volumen:

$$D \text{ corporal} = \text{masa corporal} / \text{volumen corporal}$$

La masa corporal es la escala de peso del deportista. El volumen corporal puede obtenerse mediante varias técnicas, pero la más común es el pesaje hidrostático, en el cual el deportista es pesado encontrándose totalmente sumergido en el agua. La diferencia entre el peso del deportista dado por una báscula y el peso debajo del agua, una vez corregido por la densidad del agua, iguala el volumen del cuerpo. Este volumen tiene que volverse a corregir teniendo en cuenta el volumen de aire atrapado en el cuerpo. La cantidad de aire atrapado en el tracto gastrointestinal es difícil de medir, pero afortunadamente es un volumen pequeño (unos 100 ml) y se suele pasar por alto. No obstante, el gas atrapado en los pulmones debe medirse porque su volumen suele ser grande, dando un promedio de 1.500 ml en los hombres adultos jóvenes y de 1.200 ml para las mujeres adultas jóvenes. Las técnicas nuevas generalmente se comparan con la densitometría para determinar su precisión. No obstante, ésta tiene sus limitaciones. Si el peso corporal, el peso debajo del agua y el volumen pulmonar durante el pesaje bajo el agua se miden correctamente, valor resultante de la densidad corporal es preciso. El punto más débil de la densitometría radica en la conversión de la densidad del cuerpo en una estimación del porcentaje de grasa corporal (99).

Al usar el modelo de dos componentes de la composición corporal, se requieren estimaciones precisas de las densidades de la MG y magra. La ecuación usada más frecuentemente para convertir la densidad corporal en una estimación del porcentaje de grasa corporal es la ecuación estándar de Siri:

$$\text{Porcentaje de grasa corporal} = ((4.95 / \text{densidad corporal}) - 4.50) \times 100$$

Esta ecuación presupone que las densidades de la MG y magra son relativamente constantes en todas las personas. De hecho, la densidad de grasa en diferentes puntos es muy constante en el mismo individuo y relativamente constante entre las personas. El valor generalmente usado es 0.9007 g/cm^3 . Pero la determinación de la densidad de masa magra que la ecuación de Siri supone de 1.100 g/cm^3 es más problemática. Para determinar esta densidad, debemos presuponer que la densidad de cada tejido, incluida la masa magra, es conocida y permanece constante; y que cada tipo de tejido representa una proporción constante de masa magra (p. ej., suponemos que el hueso representa siempre el 17% de la masa magra).

Hay disponibles ecuaciones para poblaciones específicas, que mejoran la precisión de la conversión de la densidad corporal en valores de porcentaje de grasa corporal (100). Específicamente, se han derivado ecuaciones para mujeres, niños (101). No obstante, esta investigación necesita ampliarse a otras poblaciones. Como ejemplo, se ha demostrado que la D masa magra de los hombres que practican un entrenamiento de resistencia está por debajo del empleado en las ecuaciones estándar, como la fórmula de Siri (102). Por tanto, en este grupo de deportistas se calculará por debajo la densidad de la masa magra y por encima de la MG usando estas ecuaciones estándar.

Se dispone de muchas otras técnicas de laboratorio para valorar la composición corporal. Éstas comprenden radiografías, tomografías computarizadas (TC), resonancias magnéticas (RM), hidrometría (para medir el contenido total de agua del cuerpo), la conductividad eléctrica total del cuerpo, y la activación de neutrones. La mayoría de estas técnicas son complejas y precisan un equipamiento caro. No es probable que ninguna de ellas se emplee para evaluar a los deportistas. Estas técnicas han sido revisadas ampliamente por otros autores (103–105). Existen otras dos técnicas muy prometedoras, la absorciometría por rayos X de doble energía y el desplazamiento del aire.

2. Absorciometría por rayos X de doble energía (DXA)

Se utiliza para medir la composición mineral ósea y los tejidos blandos del cuerpo. Proporciona estimaciones de densidad mineral ósea, tejidos blandos libres de grasa y grasa. El método requiere una baja exposición a la radiación, de 0.05 a 1.5 mrem, dependiendo de la máquina y la rapidez con que se realiza la exploración total del cuerpo (106). La unidad DXA mide la atenuación del haz de rayos X de dosis baja cuando pasa a través de diferentes tejidos del cuerpo. Cada haz de fotones que es absorbido por los átomos en el tejido mineral óseo y los tejidos blandos del cuerpo, se registra durante el escaneo y se procesa estimando los tejidos blandos y minerales óseos (107). El instrumento DXA debe vincularse con algoritmos informáticos apropiados para obtener estimaciones de contenido mineral de hueso, tejido blando

libre de grasa y contenido de tejido graso de la totalidad del cuerpo. Los algoritmos también permiten la división del cuerpo en segmentos anatómicos; brazos, piernas, tronco y cabeza (108).

La estimación del tejido blando libre de grasa a través de los escaneos DXA se basa en la proporción de la valoración de los tejidos blandos de los haces de fotones de alta y baja energía a medida que pasan a través del cuerpo. La estimación de los tejidos blandos de baja y alta energía se conoce con base a escaneos de tejidos blandos libres de grasa, grasa y cálculos teóricos. Se supone que la estimación de la grasa y los tejidos blandos libres de grasa es constante. Utilizando estas constantes y las exploraciones de la unidad DXA, se calcula la cantidad de tejido blando libre de grasa y grasa (108).

La derivación del mineral óseo requiere un ajuste para el tejido tisular que cubre el hueso. La tecnología DXA proporciona una estimación del contenido mineral óseo total del cuerpo (g) y del área ósea total (cm^3). La relación entre el mineral óseo total del cuerpo y el área ósea total se utiliza para estimar la densidad mineral ósea (g/cm^3). DXA básicamente mide el área de la sección transversal de un escáner (área total del hueso) y no del volumen del hueso (108).

Actualmente están comercialmente disponibles varios tipos de instrumentos DXA. Cada tipo de unidad tiene sus propios algoritmos informáticos para obtener estimaciones de la composición corporal y hay diferencias entre instrumentos. Existe cierta preocupación por la compatibilidad a la hora de comparar las mediciones, especialmente de tejidos blandos, de las máquinas producidas por diferentes fabricantes. Todos ellos asumen que los valores del hueso, los tejidos blandos libres de grasa y la grasa son conocidos y constantes (106).

3. Pletismografía por desplazamiento de aire

Es una técnica de densitometría. El volumen se determina mediante el desplazamiento del aire en vez de con la inmersión del cuerpo en agua. Esta técnica, desarrollada a comienzos de la década de 1900, se usó muchísimo en los laboratorios de investigación hasta la década de 1990, cuando se dispuso de un modelo comercializado (109). El principio es bastante simple, consiste en una cámara cerrada con aire a temperatura ambiente, a presión atmosférica y con un volumen conocido. Se abre la escotilla, la persona entra, se sienta en una postura fija y luego se cierra la escotilla, dejando la cámara herméticamente cerrada.

Se determina el nuevo volumen de aire de la cámara, que luego se resta del volumen total de la cámara para obtener un cálculo del volumen del cuerpo.

$$\text{Volumen total} = \text{volumen de la persona} + \text{volumen restante}$$

$$\text{Volumen de la persona} = \text{volumen total} - \text{volumen restante}$$

Aunque se trata de una técnica relativamente sencilla, requiere considerable precisión del control de los cambios en la temperatura, composición de los gases, y la respiración de la persona mientras permanece en la cámara. Parece ofrecer una medición relativamente exacta del volumen corporal ya que se ha comprobado en diversas condiciones (91).

Igual que la pesada hidrostática, se pueden obtener mediciones relativamente precisas del volumen corporal total, y, por tanto, de la densidad total del cuerpo. No obstante, hay que aplicar la densidad del cuerpo a una ecuación para calcular la grasa relativa del cuerpo, teniendo en cuenta las inexactitudes de la DMM de esa persona (91).

[2] Técnicas de campo

Al igual que con las técnicas de laboratorio, en la actualidad se disponen de de varias técnicas de campo para valorar la composición corporal. Estas técnicas, generalmente son más accesibles que las de laboratorio porque su equipo es menos costoso y aparatoso, por lo que se pueden usar con mayor facilidad por el entrenador, el preparador, o incluso por el deportista.

1. Pliegues cutáneos

La técnica de campo más ampliamente aplicada supone medir los pliegues cutáneos en uno o más puntos y usar los valores obtenidos para calcular la densidad corporal, el porcentaje de grasa corporal o la masa magra. Se aconseja generalmente que la suma de las mediciones de los pliegues en tres o más puntos se empleen en una ecuación al cuadrado para estimar la densidad corporal (110). Con el fin de estandarizar las medidas se utiliza el protocolo de la ISAK (111) presenta las normas de la Sociedad Internacional para el avance de la Cineantropometría, técnicas necesarias para obtener un perfil antropométrico total de una persona. Los datos obtenidos, podrían ser utilizados para calcular el somatotipo; el fraccionamiento de la masa corporal en componentes óseo, muscular, adiposo, piel y residual; estimaciones de proporcionalidad; predicción de la densidad corporal (y consecuentemente el porcentaje de grasa corporal); obesidad total y las clasificaciones de masa proporcional; así como otros índices tales como el cociente cintura-cadera, pliegues cutáneos (PC), y perímetros (112).

2. Impedancia bioeléctrica

Es un método rápido, barato y no invasivo para la evaluación de la composición corporal. La impedancia eléctrica mide la oposición al flujo de una corriente por el cuerpo entero. La resistencia o impedancia al flujo de corriente, será más grande en individuos con grandes cantidades de tejido adiposo, dado que este es un conductor pobre de la electricidad debido a su bajo volumen de agua. Los tejidos acuosos con gran disolución de electrolitos (tejido muscular) serán grandes conductores eléctricos y no así la grasa y el hueso. Las medidas de impedancia se hallan estrechamente relacionadas con la cantidad de agua corporal total (ACT). Normalmente, en una bioimpedancia de cuerpo entero, se utilizan dos electrodos en pareja situados en la muñeca y en el tobillo, haciendo discurrir una corriente eléctrica de 800 μ A, a una frecuencia de medida de 50 KHz. para calcular un valor de impedancia corporal (113). La bioimpedancia asume que el cuerpo es un cilindro conductor con una longitud proporcional a la altura del sujeto (Ht), variable que suele incluirse en todas las ecuaciones de estimación de la MG y MLG, así como la resistencia (R) y la reactancia (Xc). Los cambios en el volumen extracelular y la concentración de electrolitos tendrán su expresión en la variación de los valores de R y Xc. En general, las ecuaciones de predicción que se presentan en este documento de consenso están basados en validaciones con métodos multicomponente como métodos de referencia y aceptables para obtener medidas criterio de composición corporal y realizadas normalmente en grandes muestras ($n > 100$) (114).

El volumen de agua de la MLG es relativamente grande (se estima alrededor del 73%), y por ello se puede estimar la MLG a partir del volumen de ACT y teniendo en cuenta las constantes de hidratación de los tejidos. Individuos con una MLG grande y gran cantidad de ACT tienen menos resistencia al paso de la corriente sobre los fluidos comparada con individuos con una MLG menor (115).

En una revisión llevada a cabo por Moon y cols. (116) se concluyó que las ecuaciones de bioimpedancia desarrolladas específicamente para los atletas también pueden producir valores aceptables. En la actualidad, para determinar la masa libre de grasa y la MG en atletas, tenemos que tener en cuenta que la densidad de estas junto con los niveles de hidratación, es por ello que necesitamos modelos de múltiples compartimentos que contengan una estimación de ACT.

2.2.1.2. Valoración de la ingesta y bioquímica nutricional en actividad física

Organizaciones como la ISSN o el (ACSM) consideran la alimentación como un factor clave para el rendimiento del deportista. Una correcta ingesta de energía, micronutrientes y macronutrientes, ayudará a la función óptima del organismo así como a la composición corporal de especial, ya ambas están consideradas como factores influyentes en el éxito en el deporte (4,117).

2.2.1.2.1. Macronutrientes

Los deportistas o sujetos sometidos a entrenamientos de alta intensidad o larga duración tienen unas necesidades nutricionales distintas al resto de la población (91). Una ingesta adecuada de energía, por tanto, es fundamental en la dieta del deportista y necesaria para una función óptima del organismo (118).

El gasto energético total (GET) de un deportista va a depender del tipo de ejercicio, la duración, la frecuencia e intensidad, el sexo del deportista, y el estado nutricional previo (119,120). Igualmente, las necesidades de energía en el deportista van a depender del momento de la temporada en que se encuentre, por lo tanto, debe estar supeditada al volumen e intensidad de entrenamiento. Además de lo anteriormente mencionado, existen diversos factores que pueden modificar las necesidades energéticas, encontrándose por encima de los niveles basales en situaciones de calor o el frío excesivo, situaciones de estrés, la altitud, lesiones, medicamentos específicos, el aumento de la masa libre de grasa (121), o por el contrario, disminuidas como consecuencia del envejecimiento posiblemente debido a la disminución de la masa magra (122). A continuación, se aportará información sobre los diferentes macronutrientes y micronutrientes y en relación al ejercicio:

Hidratos de carbono

Las necesidades de HC del deportista son, desde un punto de vista cuantitativo, las más importante en su dieta (123) ya que son la principal fuente de nutrientes para la mayoría de deportistas (91). La ingesta de HC tiene como finalidad fundamental mantener los niveles de glucosa en sangre durante el ejercicio y reemplazar el glucógeno muscular (119). Nuevos estudios ponen de manifiesto la importancia de los HC, incluso relacionando su consumo

deficiente como detonante de procesos de mala adaptación prolongada o sobreentrenamiento (124).

La importancia de los HC en el deporte viene determinada por los siguientes factores: en primer lugar, sus reservas son limitadas pero pueden ser manipuladas por la ingesta. En segundo lugar, es un sustrato versátil ya que el organismo lo puede utilizar para gran gama de intensidades debido a su uso por ambas vías anaeróbicas y oxidativas proporcionando un mayor rendimiento de ATP por volumen de oxígeno que reciben las mitocondrias (122), mejorando así la eficacia del HIIT (125). Además de su papel como sustrato el glucógeno desempeña importantes funciones directas e indirectas en la regulación de la adaptación y la formación de la masa muscular (6), aunque en este sentido en una revisión llevada a cabo por Escobar y cols. (126) destaca que en el ejercicio de fuerza puede darse una regulación positiva y una adaptación sin comprometer la formación de masa muscular mediante la ingestión de aminoácidos.

El incremento calórico, en lo que se refiere a los HC, se efectúa mediante el aumento en el consumo de ciertos grupos de alimentos (pan, cereales, pastas, legumbres, leche y derivados, vegetales y frutas) y ingestas diaria. Las recomendaciones de HC dependen del gasto total diario de energía, del tipo de deporte, del sexo y de las condiciones ambientales. Estas recomendaciones oscilan entre 6 y 10 g/kg de peso corporal, completando del 50% al 60% del consumo calórico total (4,91,119,123). Igualmente importante es la adición de proteína así como el momento de la ingesta de HC, en especial, para ayudar a la recuperación del deportista. En una revisión actual llevada realizada por ISSN (127) describe que para una restauración rápida de glucógeno (<4 h de tiempo de recuperación), se deben considerar las siguientes estrategias:

- a. Realimentación agresiva de HC (1.2 g/kg/h) con preferencia hacia las fuentes de HC que tienen un índice glucémico alto (> 70).
- b. La adición de cafeína (3-8 mg/kg).
- c. Combinando HC (0.8 g/kg/h) con proteína (0.2-0.4 g/kg/ h).

Analizadas las evidencias actuales sobre los HC podemos incluir unas pautas esenciales sobre el restablecimiento de dicho macronutriente recogidas por Burke y cols. (128) en su estudio “Carbohydrates for Training and Competition”, como son:

- Es importante que la ingesta diaria de HC y la restauración del glucógeno coincida con la intensidad del ejercicio.
- Para la ingesta diaria de HC la masa corporal es un factor importante a tener en cuenta junto a los objetivos dietéticos generales del deportista y del entrenamiento.

- Las pautas para la ingesta de HC en deportistas no deben proporcionarse en términos de contribuciones porcentuales a la ingesta energética total.
- Cuando el período entre sesiones de ejercicio es inferior a 8 h, los atletas deben consumir HC tan pronto como sea posible para maximizar el tiempo efectivo de recuperación entre sesiones, teniendo en cuenta que si en la ingesta se realiza en ausencia HC, el reabastecimiento del glucógeno no será efectivo.
- La mezcla de HC junto a la proteína mejora el almacenamiento del glicógeno, en especial cuando la cantidad de ingesta de HC no es suficiente.
- El restablecimiento del glucógeno se puede mejorar con una mayor tasa de ingesta de HC en especial cuando se consumen cantidades pequeñas y frecuentes.
- Durante los periodos de recuperación largos (más de 24 horas) el consumo de HC se elegirá de acuerdo con lo que sea más práctico y agradable para el deportista.
- Los alimentos ricos en HC con un índice glucémico de moderado-alto proporcionan una fuente de sustrato disponible para la síntesis de glucógeno. Esto puede ser importante cuando se requiere un almacenamiento máximo de glucógeno en las horas posteriores al ejercicio.
- Los alimentos con HC ricos y variados en nutrientes agregados a las comidas y bebidas enfocadas a la recuperación, pueden proporcionar una buena fuente de proteínas y otros nutrientes esenciales.
- Se necesita una ingesta energética adecuada para optimizar el almacenamiento de glucógeno. Las prácticas de alimentación restringida de algunos atletas interfieren tanto con el cumplimiento de los objetivos de ingesta de HC como con la optimización del almacenamiento de glucógeno a partir de esta ingesta.

Lípidos

La grasa es un componente necesario para una dieta saludable, para el suministro de energía y de elementos esenciales de las membranas celulares, así como para favorecer la absorción de vitaminas solubles en grasa (4). Igualmente, es una fuente de energía, vitaminas, y ácidos grasos esenciales, importante en la dieta de los atletas. Se debe respetar los porcentajes de este macronutriente con respecto a la ingesta total de energía, ya que dietas altas en grasas no son recomendables en deportistas (91,119,123).

Si bien, los científicos y los médicos han promovido la disminución de la ingesta de grasa desde la década de 1950 (129) en la actualidad las principales recomendaciones al respecto siguen siendo moderar el consumo de grasas (130). En general, se ha descrito que para

deportistas la ingesta de grasa debe oscilar entre 20% a 35% de la ingesta total de energía, ya que el consumo de cantidades inferiores o iguales al 20% de la energía de la grasa no beneficia el rendimiento (119). Esta recomendación incluye una ingesta por debajo del 10% de calorías diarias de ácidos grasos saturados y 300 mg diarios de colesterol (131).

En lo que a la intervención nutricional se refiere, la premisa de la reducción de la grasa en la dieta para la pérdida de peso es apuntar al macronutriente más denso en energía para imponer condiciones hipocalóricas. Aunque esta estrategia puede tener efectos positivos a corto plazo, parece que el organismo termina produciendo una compensación adaptativa en periodos más largos de tiempo (132). En la actualidad existen intervenciones nutricionales en deportistas que consisten en el aumento del consumo de grasa disminuyendo la ingesta de HC. Por ejemplo, un estudio realizado por Burke y cols. (118), demostró adaptaciones metabólicas significativas con una dieta alta en grasas (2.4 g/kg día de HC y 4.0 g/kg/día grasa). Este tipo de intervenciones han sido realizadas con la finalidad de aumentar el estado de cetosis y con ello una mayor flexibilidad metabólica durante el ejercicio de resistencia, aumentando la tasa de oxidación de grasas y reduciendo la glucólisis muscular y las concentraciones de lactato en plasma (133). El aumento del consumo de grasas también puede darse en deportistas ya que para estos son de una mayor importancia el mantenimiento del equilibrio energético, la reposición de las reservas triacilglicerol intramusculares y el consumo adecuado de ácidos grasos esenciales, por esta razón se puede recomendar elevar la ingesta de este macronutriente en los atletas llegando aproximadamente al 30% de su ingesta calórica diaria, pudiendo llegar en ocasiones de forma segura hasta el 50% durante el entrenamiento regular de alto volumen (134).

Proteínas

La ingesta de energía suficiente para mantener el peso corporal y un rendimiento óptimo, es necesaria a través del consumo de una cantidad adecuada de proteínas por su importancia para construir y regenerar los tejidos (119). Mientras que en un sujeto sedentario el equilibrio nitrogenado se logra con un porcentaje de un 8-10% de las calorías totales derivadas de las proteínas, en el deportista, este equilibrio puede verse multiplicado por dos, es decir, entre un 15-20% del total energético (123).

En deportistas tanto de resistencia como de fuerza, se han descrito recomendaciones de proteína comprendidas entre 1.2-2 g/kg/día (4). El consumo elevado de proteínas, 1.8-2.0 g/kg/día, dependiendo del déficit calórico, puede ser una ventaja para evitar pérdidas de masa

magra y promover la pérdida de MG durante períodos de restricción energética (7). Aunque si bien, las recomendaciones mencionadas son las aceptadas como norma general, podemos encontrar que algunos casos en especial deportistas sometidos a entrenamientos de resistencia podría ser necesaria una mayor ingesta de proteína (2.3-3.1 g/kg/d) para maximizar el mantenimiento de la masa muscular durante periodos hipocalóricos, así mismo, existen recientes evidencias que sugieren que una mayor ingesta de proteínas (> 3.0 g/kg/d) puede tener efectos positivos en la composición corporal en individuos sometidos a entrenamientos de resistencia (es decir, promover la pérdida de MG) (135).

Estas ingestas recomendadas de proteínas por lo general pueden ser atendidas en la dieta normal del deportista sin el uso de proteínas o los suplementos de aminoácidos. Se debe prestar especial atención en el aumento de la síntesis proteica debido a que la ingesta debe realizarse lo antes posible tras al entrenamiento (inferior a las 2 horas) (136), y a que este macronutriente debe de combinarse con la de HC como consecuencia del efecto insulinotrópico de dicha mezcla (123). De esta forma podemos afirmar que lo relevante no es la cantidad total de proteínas que se toman al día, sino que las comidas realizadas estén equilibradas y, sobre todo, que se ingiera inmediatamente después de entrenar una pequeña cantidad de proteína unida a HC (123).

Como venimos mencionando la calidad de la proteína parece es importante para maximizar la acumulación de proteínas musculares, por lo que los atletas harían bien en centrarse en fuentes de proteínas de alta calidad, como proteínas lácteas, huevos y carne magra. Cuando los atletas consideran inconveniente o no tienen la posibilidad de consumir tales alimentos, las fuentes de proteínas “portátiles” ofrecen una alternativa práctica en sus diversas presentaciones como son las barritas o los batidos (136). De especial interés son los enriquecidos con leucina ya que este aminoácido, y posiblemente los otros aminoácidos de cadena ramificada, ocupan una posición predominante en la estimulación de la síntesis de proteína muscular (136).

La dosis proteica de alta calidad que parece estimular al máximo la síntesis de proteínas musculares es cercana a 20-25 g, por encima de la cual la síntesis de proteínas no se estimula adicionalmente además puede producirse un aumento en la oxidación de aminoácidos y la síntesis de urea (136). Es importante respetar las recomendaciones establecidas anteriormente, ya que el consumo excesivo de proteínas nos puede derivar en procesos de mala adaptación prolongada o sobreentrenamiento (124), habiéndose demostrado que dietas extremadamente elevadas en proteínas no ofrecen beneficios sobre el rendimiento deportivo y pueden dañar los mecanismos de excreción.

2.2.1.2.2. Micronutrientes

Los micronutrientes juegan un papel fundamental en la producción de energía, la síntesis de hemoglobina, el mantenimiento de la salud ósea, la función inmune adecuada y la protección del cuerpo contra el daño oxidativo (119), participando también en la síntesis y reparación del tejido muscular durante la recuperación frente al ejercicio.

El ejercicio pone énfasis en muchas de las vías metabólicas donde se necesitan micronutrientes, lo que puede dar lugar a adaptaciones bioquímicas musculares que aumentan las necesidades de estos. Como resultado, una mayor ingesta de micronutrientes puede ser necesaria para cubrir las mayores necesidades de construcción, reparación y mantenimiento de la masa magra corporal en atletas (137). Existen pocos estudios sobre los hábitos alimentarios y valoración nutricional en deportistas para poder asegurar que la dieta es equilibrada cubriendo sus necesidades fisiológicas. Entre estos se han obtenido resultados que orientan hacia unos hábitos de alimentación mejorables para cubrir las necesidades en nutrientes energéticos, vitaminas y minerales (123,138).

2.2.1.2.2.1. Minerales

De entre los aproximadamente 90 elementos minerales que se encuentran de forma natural en la naturaleza, 22 parecen ser esenciales para el ser humano. Los minerales se requieren en cantidades relativamente pequeñas y para funciones muy especializadas. No obstante, algunos de ellos considerados como macroelementos (Ca, P, Mg, Na, K, Cl y S), se necesitan en cantidades diarias de más de 100 mg (en el adulto). Los microelementos u oligoelementos pueden clasificarse en elementos traza, necesario en cantidades que oscilan entre 1 y 100 mg/día, y los elementos ultratraza, cuya ingesta diaria es inferior a 1 mg. Los elementos traza incluyen Fe, Zn, Mn, Cu y F, y los elementos ultratraza Se, Mo, I, Cr, B y Co.

Los deportistas han demostrado estar menos preocupados por el consumo de suplementos minerales que de suplementos vitamínicos, posiblemente porque se les atribuye menores cualidades ergogénicas. De los minerales, el Ca y el Fe son los más frecuentemente investigados en deporte (91).

Calcio

El calcio (Ca) es el catión más abundante en el organismo (1.200-1.500 g), representando el 1.5-2% del peso total del cuerpo. La mayor parte del Ca corporal se encuentra en el tejido óseo y en los dientes (99.1%), formando parte de su estructura junto con el fosfato en una proporción de 1.5:1, y el restante 0.9% se encuentra disuelto en el líquido extracelular (0.4%) y en los tejidos blandos del organismo (0.5%), donde regula y participa en multitud de reacciones metabólicas. Existe un equilibrio dinámico de este catión entre los distintos compartimentos corporales, de forma que el Ca disuelto del medio extracelular y parte del que se encuentra en el hueso son intercambiables. El hueso puede actuar como reservorio de Ca y cederlo si la concentración de este catión en la sangre disminuye por debajo del rango de normalidad (hipocalcemia), que es de 9.0-10.2 mg/dl (2.3-2.6 mM) (139).

a) Funciones. El Ca cumple numerosas e importantísimas funciones en el organismo, de ahí que se encuentre plenamente justificada la existencia de un complejo y preciso sistema de regulación al que se ve sometido este catión, tanto en el medio extracelular como en el intracelular (139).

Es especialmente importante para el crecimiento, mantenimiento y reparación de tejido óseo, preservación de los niveles de Ca en la sangre, regulación de la contracción muscular, conducción nerviosa y coagulación normal de la sangre (119). Estudios recientes (140) han demostrado la relación de ciertos minerales, entre ellos el Ca, con la presión arterial y la cantidad de lípidos en sangre. De esta forma podemos observar que el alto consumo de Ca reduce el colesterol en sangre, los TG y fosfoglicéridos.

b) Déficit. La carencia de Ca puede ser ocasionada por el insuficiente aporte dietético de este mineral, por la deficiencia de vitamina D o por la muy baja relación Ca/P en la dieta. Dado que el hueso actúa como reservorio de Ca, es difícil que se mantenga una situación de hipocalcemia. Por tanto, el efecto de la carencia de Ca es una mineralización pobre de la matriz ósea, que es lo que origina en la etapa infantil y adolescente el raquitismo, y en la edad adulta la osteomalacia (139). Cuando el aporte de Ca por la dieta no es suficiente, el Ca se extraerá de los depósitos del cuerpo, especialmente del hueso. Esta condición se llama osteopenia, debilitando los huesos y conduce a la osteoporosis (91).

c) RDA y límites tolerables. Para la población española, las necesidades varían según la edad y comprenden desde los 800 a 1.000 mg/día siendo máximas en etapas donde el individuo se encuentra en crecimiento especialmente durante la adolescencia (139,141,142). Las necesidades estimadas de este mineral son establecidas de manera diferente según el país y

la entidad que lo propone. En la Comunidad Europea (CE): Las necesidades estimadas comprenden desde los 1.000 mg/día a los 700 mg/día. En los Estados Unidos (EEUU), la ingesta recomendada oscila entre los 1.300 mg/día para los menores de 18 años, 1.000 mg/día para edades comprendidas entre los 19 y 50 años y 1.200 mg/día para los mayores de 51 años. Finalmente la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura (FAO) y para la Organización Mundial de la Salud (OMS), la ingesta recomendada oscila entre los 1.300 mg/día para los menores de 18 años, 1.000 mg/día para edades comprendidas entre los 19 y 65 años y 1.300 mg/día para los mayores de 51 años (141).

En lo que a los límites tolerables (UL) se refiere encontramos el límite en 2.500 mg/día (123), aunque podemos decir que no suelen darse ingestas excesivas de Ca de procedencia alimentaria, pero sí puede ocurrir por el consumo de suplementos de este mineral. Dosis superiores a 2 g/día pueden ocasionar hipercalcemia, sobre todo si se ingieren suplementos de Ca y vitamina D combinados (139).

La intoxicación por hipercalcemia puede tener efectos más o menos graves dependiendo de la intensidad de la misma. Además de interferir en la absorción de otros cationes divalentes, tales como hierro, magnesio (Mg), manganeso (Mn) y zinc (Zn), la hipercalcemia puede ocasionar estreñimiento, náuseas, poliuria y cálculos renales y, en situaciones extremas, la pérdida del tono muscular, el coma y la muerte (139)

d) Fuentes Alimentarias. Entre las fuentes dietéticas de Ca se encuentran la leche y los productos lácteos, que constituyen la fuente por excelencia de dicho mineral, seguidos de los pescados, las harinas integrales, los frutos secos y las legumbres (139).

e) En deporte. Estudios realizados en deportistas muestran una mayor fijación del Ca es fundamentalmente en deportes donde hay que soportar una carga externa o existe impacto, como los deportes de combate o deportes de equipo como rugby o fútbol. Asimismo, los deportes en los que no está tan presente la gravedad, la densidad mineral ósea es menor, como por ejemplo la natación y el waterpolo (143). Otros estudios relacionan la correcta ingesta de Ca mediante la dieta, la actividad física y la exposición al sol como parámetros esenciales para lograr un nivel máximo de masa ósea (144). Podemos observar cómo influye el entrenamiento sobre los niveles de Ca en un estudio realizado a jugadores de baloncesto sometidos a un entrenamiento de alta intensidad y un ambiente cálido durante una semana de entrenamiento, reduciéndose de manera significativamente los niveles de Ca en sangre, el Ca total y el Ca ionizado (145).

Las recomendaciones actuales para los atletas con desórdenes alimentarios, amenorrea y riesgo de osteoporosis precoz son de 1.500 mg de Ca y de 400-800 UI de vitamina D por día (119). Es recomendable que la suplementación con Ca y vitamina D sea determinada después de una evaluación nutricional previa. No hay estudios concluyentes sobre la suplementación de Ca en la práctica deportiva (91,123,146).

En un último estudio de consenso del Colegio Europeo de Ciencias del Deporte (ECSS) y el Asociación Americana de Dietistas (ADA), han incluido este mineral como un factor importante que puede llevar a la disminución del rendimiento, indicándose la necesidad de monitorizar su estatus para evitar que interfiera en los síntomas de sobreentrenamiento (124). Una dieta que contenga una inadecuada ingesta de Ca y vitamina D aumenta el riesgo de baja densidad mineral ósea y fracturas por estrés. Las atletas femeninas se encuentran en mayor riesgo de baja densidad mineral ósea si la ingesta es baja en productos lácteos y otros alimentos ricos en Ca junto con la presencia disfunción menstrual (119).

Fósforo

El fósforo (P) es el sexto mineral más abundante en el organismo (600-900 g), representando el 0.8-1.1% del peso total del cuerpo. De su contenido corporal total, el 80% forma parte, junto con el Ca, de la estructura mineral del hueso y el diente. Del resto, la mayoría se encuentra en los tejidos blandos y en baja proporción (1%), disuelto en el líquido extracelular. Al igual que ocurre con el Ca, en una situación de hipofosfatemia, el fosfato es cedido por el hueso, que actúa como reservorio de este mineral, aunque la regulación de su concentración en plasma es menos precisa que la del Ca.

En el organismo, la mayor parte del P que no forma parte de huesos y dientes, se presenta en forma de sales inorgánicas (H_2PO_4 y HPO_4) y orgánicas. El fosfato inorgánico es más ionizable y difundible a través de las membranas que el orgánico. En el plasma, donde se puede encontrar unido a Ca, Mg, Na y proteína, su concentración es de 3-4.5 mg/dL en los adultos, mientras que, en niños, su concentración es algo mayor (4-7 mg/dL). En tejidos blandos, el P forma parte de fosfolípidos, nucleótidos, ácidos nucleicos, enzimas, etc. La bilis y el jugo pancreático, lo mismo que el jugo intestinal, contienen una considerable proporción de P, y contribuyen a mantener el equilibrio entre la ingesta de P y su excreción fecal (139).

a) Funciones. Además de la función plástica que posee el fosfato junto con el Ca en el organismo, este mineral desempeña otras muchas e importantes funciones en los tejidos blandos. Así, juega un papel importante en el metabolismo de los HC, contribuyendo a la absorción intestinal de glucosa mediante el proceso de fosforilación; estimula la reabsorción tubular renal de glucosa mediante el mismo proceso, uniéndose a los lípidos y constituyendo los fosfolípidos, que forman parte estructural de todas las membranas celulares; es necesario para multitud de reacciones en las que se requiere energía, siendo básico en la producción de moléculas energéticas como el ATP, fosfato de creatina y fosfoenolpirúvico; forma parte del músculo e interviene en su metabolismo; colabora en el transporte de los ácidos grasos, formando parte de los fosfolípidos plasmáticos; constituye parte de los ácidos nucleicos, ADN y ARN, y de varios fosfátidos que intervienen en numerosos procesos biológicos. Asimismo, se encuentra en el AMP cíclico, que actúa como un segundo mensajero intracelular, y en otros nucleótidos libres.

Este mineral contribuye al control del equilibrio ácido-base en la sangre, formando parte del tampón fosfato, e igualmente es importante su papel amortiguador en el líquido intracelular, pero especialmente en el líquido extracelular, en la luz de los túbulos renales, donde neutraliza los iones hidrogeniones excretados por la bomba renal de protones. Por otro lado, el P forma parte del tejido nervioso, siendo indispensable para su adecuado funcionamiento, así como para el mantenimiento de la actividad intelectual y sexual (139). Estudios recientes (140) han demostrado que el P junto a minerales como el Ca y el Mg, influye en la presión arterial y la cantidad de lípidos en sangre.

b) Déficit. No se estima que pueda haber una deficiencia en los aportes de este mineral, dada su existencia en un alto número de alimentos, sobre todo los ricos en proteínas tanto de origen animal como vegetal, frutos secos y cereales (123,139). Salvo que existan problemas de regulación del P en el organismo, son muy raras las situaciones carenciales de este mineral (139). En los síntomas de insuficiencia de este mineral podemos encontrar la pérdida de energía y la función celular (91).

c) RDA y UL. La regulación del P en nuestro organismo está muy relacionada con la del Ca, por lo que se recomienda la ingesta de ambos minerales en una relación 1:1 y siempre a favor del Ca (123,139). En población española, las necesidades varían según la edad y comprenden desde los 1.200 mg/día a 700 mg/día para mayores de 20 años (139,141). En la CE, las necesidades estimadas comprenden desde los 775 a mg/día a los 550 mg/día para los mayores de 18 años (141).

Los UL para este mineral se encuentra en los 4.000 mg/día (123). Aunque la hiperfosfatemia no se suele dar por ingestión excesiva en individuos sanos, sí pueden ocurrir en ciertas enfermedades como insuficiencia renal, hipoparatiroidismo, glomerulonefritis aguda y crónica, en casos de crecimiento excesivo de los huesos, como sucede en los niños de bajo peso al nacer y en los acromegálicos, así como tras la administración demasiado rápida por vía intravenosa. El exceso de P es responsable de síntomas fundamentalmente musculares, como la tetania (141).

d) Fuentes Alimentarias. El P se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza en forma de fosfatos, tanto en el reino mineral como en el vegetal y el animal. Buenas fuentes de este mineral son carnes, pescados, leche y sus productos derivados, frutos secos, legumbres, cereales, etc. Además, son muy ricos en P los alimentos procesados tecnológicamente, pues se les añaden diversos aditivos que contienen este mineral (123,139).

e) En deporte. No encontramos muchos estudios de este mineral en el deporte. Podemos destacar dos razones: 1) El P se encuentra ampliamente difundido en la naturaleza en forma de fosfatos, tanto en el reino mineral como en el vegetal y el animal y 2) La regulación del P en nuestro organismo está muy relacionada con la del Ca, por lo que se recomienda la ingestión de ambos minerales en una relación 1:1 (123,139). No se recomienda ningún suplemento o la toma exclusiva de fosforo.

Magnesio

El magnesio (Mg) es el segundo catión del medio intracelular en abundancia y está considerado, al igual que el Ca y el P, como un mineral mayoritario, siendo su contenido de unos 25 g en el cuerpo del adulto. De este total, un 65-70% está en los huesos, que también constituyen una reserva de Mg, al igual que el músculo en forma tanto de fosfato como de carbonato. El resto se localiza en el interior de las células de los tejidos blandos, en una concentración de 15 mEq/L, donde participa en la utilización de la energía metabólica, y en menor proporción en el plasma (1.4-2.5 mg/mL), de este último, alrededor del 80% está ionizado y es difusible, el resto está ligado a proteínas séricas. Los músculos contienen más Mg que Ca, al contrario que la sangre. Para que el Mg penetre en las células es indispensable que exista piridoxina (vitamina B6). Con la edad, el contenido en Mg del organismo tiende a disminuir (139).

a) Funciones. Entre el Mg y el Ca existen estrechas relaciones, pudiendo producirse tanto fenómenos de sinergismo como de antagonismo. En el hueso, el Mg forma parte de la estructura mineral, junto con el Ca y el fosfato y, además, participa en los procesos de intercambio de estos minerales entre el hueso y otros tejidos. Regula la osificación y el equilibrio fosfocálcico. Es esencial para que el Ca se fije adecuadamente y no se deposite en forma de cálculos.

En los tejidos blandos, el Mg tiene múltiples funciones, muchas de ellas similares a las del Ca. Por ejemplo, participa en la contracción de los músculos, secreciones de glándulas y transmisión de los impulsos nerviosos. Además, las enzimas que liberan la energía metabólica almacenada como ATP precisan Mg, al igual que las implicadas en el metabolismo de otras moléculas fosforiladas ricas en energía; es importante para una normal excitabilidad muscular, al igual que el Ca; estimula la contracción de la fibra muscular lisa; tiene acción sobre el sistema circulatorio reequilibrante y protectora contra los infartos; estimula la contractilidad cardiaca. Es un factor de crecimiento y un regenerador tisular que influye sobre el anabolismo; disminuye la excitabilidad del sistema nervioso central, fenómeno que se puede producir, por ejemplo, en la insuficiencia renal.

Este mineral participa en el metabolismo de los HC, activando enzimas del proceso glicolítico y la oxidación de la glucosa (fosforilación oxidativa), y también otras muchas enzimas como la fosfatasa alcalina, hexokinasa, fructokinasa, fosforilasas y fosfoglucomutasa. Interviene en el metabolismo de las proteínas, actuando como cofactor de su síntesis en los ribosomas. La traducción de la secuencia de bases para la obtención de la secuencia del perfil de aminoácidos se encuentra bajo la dependencia de las concentraciones de Mg y de Ca.

Por otro lado, el Mg disminuye la alcalinidad de la sangre y acidifica la orina. Tiene una participación fundamental en la actividad electrolítica de las células, en el equilibrio ácido-base y en los fenómenos de óxido-reducción. Juega un importante papel en la respiración celular y en los intercambios celulares; es un antiséptico interno y externo; participa en procesos de anafilaxia; posee acción antiinflamatoria y antiinfecciosa; estimula la fagocitosis y es indispensable para la acción de los anticuerpos; mejora la resistencia al estrés por traumatismos e intervenciones quirúrgicas; mejora el funcionamiento psíquico y la resistencia a la fatiga; aumenta la actividad genésica y la libido; la ansiedad, la hiperactividad y el insomnio producen una descarga del Mg intracelular (139). Un estudio reciente relaciona las ingestas dietéticas de Mg, y otros minerales como el Cu y Mn e indican que pueden desempeñar un papel importante en el control de la presión arterial y los lípidos en sangre (140).

b) Déficit. Se considera un déficit de Mg cuando su concentración plasmática es menor de 1 mEq/L, y generalmente se produce cuando existe hipocalcemia e hipopotasemia. Entre las distintas causas que pueden originar déficit de Mg, se encuentran: aporte insuficiente de Mg en la dieta, especialmente por el elevado consumo de productos cultivados químicamente, alcoholismo, vómitos frecuentes, diarreas, malabsorción intestinal (123,139). Estudios recientes relacionan el déficit de Mg con la hipertensión y la presencia de lípidos en sangre (140).

c) RDA y UL. Las RDA de Mg para la población Española son de 350 mg/día para los varones, 300 mg/día para las mujeres, y unos 150 mg/día para los niños. Las recomendaciones se incrementan durante el embarazo y la lactancia hasta los 400 mg/día (123,139). En EEUU, la ingesta recomendada oscila entre los 240 mg/día para los menores de 13 años, 410 mg/día para edades comprendidas entre los 14 y 30 años y 420 mg/día para los mayores de 31 años. Para la FAO y para la OMS, ingesta recomendada oscila entre los 250 mg/día para los menores de 18 años, 260 mg/día para edades comprendidas entre los 19 y 65 años y 230 mg/día para los mayores de 51 años (141).

Para los UL, la CE las establece en 625 mg, con un máximo de 250 mg adicionales para los complementos alimenticios. Para la población norteamericana el UL es de 350 mg/día, si el aporte es de origen no alimentario (123). Existe alguna referencia en relación a un efecto negativo sobre el balance del P si se superan los 500 mg/día de Mg (147).

d) Fuentes Alimentarias. En principio, buenas fuentes de Mg son los vegetales, pues este mineral forma parte de la molécula de clorofila, en la que desempeña un papel biológico esencial, comparable al que tiene el hierro en la hemoglobina. Las nueces y otros frutos secos, así como las hortalizas y los cereales son ricos en Mg, pero contienen fitatos y oxalatos que disminuyen su biodisponibilidad. El chocolate, por ejemplo, contiene unos 385 mg/100 g, pero también contiene oxalatos (124 mg/100 g).

Alimentos de origen animal con alto contenido en Mg son los productos lácteos (quesos, leche, yogur), huevos y pescados (139). Una dieta equilibrada cubre las necesidades de este mineral, siendo su principal fuente las legumbres, frutos secos, cereales y derivados ricos en fibra (123).

e) En deporte. Por otro lado, disminuye la alcalinidad de la sangre en el equilibrio ácido-base y en los fenómenos de óxido-reducción, juega un importante papel en la respiración celular y en los intercambios celulares. Aunque el efecto ergogénico sobre el equilibrio ácido-base de este mineral no se ha demostrado. Pongamos de ejemplo el artículo de Pevaler y Palmer (148), en el que se evalúa la producción de lactato a 9 ciclistas de competición en una

contrarreloj de 20 km, no encontrando diferencias significativas entre las tandas suplementadas y las no suplementadas.

La suplementación está justificada ya que existe una depleción de Mg como consecuencia de la sudoración que produce el propio ejercicio (146). En esta línea podemos destacar el estudio que llevo a cabo Molina López y cols. (149) sobre jugadores de balonmano de elite donde observaron que la suplementación con 100 mg de Mg aumentó significativamente los niveles en plasma de este mineral, durante el período suplementado y tendió a preservar sus niveles durante el entrenamiento y la competición.

Sumado a su función como antioxidante su efecto, más que ergogénico, podría considerarse facilitador de la recuperación de la excitabilidad neuronal. Está indicado especialmente en contracturas musculares o calambres asociados a esfuerzos intensos y mantenidos, o cuando su aporte a través de la dieta se considera insuficiente (146).

En resumen podemos observar, según lo expuesto y acompañado de una revisión sobre el Mg y el rendimiento del ejercicio realizada por Zhang y cols. (150) que el rendimiento del ejercicio puede verse comprometido con niveles deficientes de Mg así mismo resultados de estudios realizados en animales, sugirieron que la administración de suplementos de Mg podría mejorar la eficiencia del metabolismo energético, mientras que los estudios en humanos indicaron que la administración de suplementos de Mg puede mejorar los parámetros de rendimiento tanto en ejercicios aeróbicos como anaeróbicos.

No encontramos necesidades de Mg específicas para deportistas en la bibliografía. No obstante, sí encontramos los UL cuando el origen de la ingesta de este mineral no es alimentaria y existe un aporte extra por su suplementación. Para el National Research Council cuando la ingesta de este mineral no es alimentario el UL es de 350 mg. En la CE se establece un UL de 625 mg, con un máximo de 250 mg para los complementos alimenticios. Para la población norteamericana el UL es de 350 mg/día, si el aporte es de origen no alimentario (123).

Hierro

El hierro (Fe) es un oligoelemento mineral necesario para una amplia variedad de funciones biológicas, desde el transporte de oxígeno y la oxidación mitocondrial hasta la síntesis de dopamina y ADN. Aunque el Fe ferroso (Fe^{2+}), soluble, estaba ampliamente disponible cuando las primeras formas de vida se desarrollaron, buena parte del abundante Fe

presente en la tierra se ha oxidado desde entonces a una forma férrica (Fe^{3+}), debido al oxígeno atmosférico.

Múltiples proteínas del organismo precisan de una captación de Fe suficiente y apropiado para cubrir las necesidades celulares y del organismo. Pero, además, las proteínas responsables de su transporte y secuestro deben captarlo para evitar que el Fe en estado libre reaccione con especies de oxígeno generando (ROS) radicales libres (RL) (139).

Como hemos citado con anterioridad el Fe forma parte de la hemoglobina y mioglobina, es cofactor en reacciones de oxidorreducción y en la síntesis de ADN e interviene como transportador de oxígeno en el cuerpo y de electrones en las mitocondrias. Además, el resto del Fe corporal se encuentra almacenado (30%) en forma de ferritina y hemosiderina (bazo, hígado y médula ósea, principalmente) y, en menor cantidad, circula por sangre como componente de la transferrina. La sideremia normal es de 50 a 150 $\mu\text{g}/\text{dL}$.

El Fe hemo se absorbe con mayor facilidad y en mayor porcentaje (25%) que los iones ferroso y férrico, siendo este último el que mayor dificultad tiene para ser absorbido. El ácido clorhídrico facilita la conversión del Fe férrico a ferroso. Los procesos del metabolismo del Fe están regulados por las cantidades absorbidas, sus depósitos corporales y por la velocidad de la eritropoyesis (123), estando presente en el organismo en cantidades relativamente pequeñas (entre 35 y 50 mg por kg de peso corporal) (91).

a) Déficit. La deficiencia de Fe puede definirse como aquella situación en la que se produce un balance negativo lo suficientemente intenso y duradero como para comprometer la síntesis de hemoglobina y del resto de los compuestos férricos. Si el balance de Fe negativo persiste comienza a afectarse el compartimento de Fe funcional o tisular, situación conocida como ferropenia manifiesta y eritropoyesis ferropénica, por fallo en el aporte de Fe a la célula con disminución de los compuestos de Fe y descenso ligero de la hemoglobina sin llegar a alcanzar niveles patológicos. En un último estadio se vería afectada la síntesis de hemoglobina, determinando la anemia ferropénica. Podemos decir que la causa de la anemia ferropénica son el ingreso insuficiente, el consumo elevado por aumento de los requerimientos y las pérdidas excesivas (139).

b) RDA y UL. Los requerimientos de Fe son la cantidad que ha de reponerse para soportar las pérdidas y las demandas propias del organismo en crecimiento, que varían en función de la edad y el sexo (139). Para población española, las necesidades del Fe oscilan entre 7 mg/día para menores de 3 años, 9 mg/día para niños de 4 a 9 años. Para edades comprendidas entre los 10 y 14 años se recomienda una ingesta de 12 mg/ día, de 13 a 19 años se encuentra los

requerimientos más altos para este mineral 15 mg/día y para mayores de 20 años la ingesta es de 10 mg/día. Para mujeres, la ingesta es superior con 18 mg/día desde los 10 a los 49 años y en etapas posteriores se igualan con la ingesta recomendada para los varones con 10 mg/día (141). En la CE, la recomendación diaria es de 9 mg/día para mayores de 18 años. En EEUU, la ingesta recomendada se estima en 8 mg/día en mayores de 19 años. Para FAO y OMS, la ingesta recomendada oscila entre 9 y 27 mg/día para hombres con edades comprendidas entre 19 a 50 años (141).

Para la población francesa está establecido un límite máximo (UL) de 28 mg/día. Se debe tener en cuenta que un exceso de Fe puede aumentar el estrés oxidativo, al incrementar los RL, lo que puede incidir en el desarrollo de distintas patologías. En la CE la recomendación diaria, a efectos de etiquetado de alimentos, es de 14 mg (123).

c) Fuentes Alimentarias. En una dieta mixta de tipo occidental, con una ingesta media de este mineral estimada en 10-20 mg/día, el Fe contenido en la mioglobina y hemoglobina de los alimentos proteicos de origen animal representa un 10-15%. El procedente de alimentos vegetales es Fe férrico, convirtiéndose en ferroso durante la digestión para ser absorbido en un pequeño porcentaje favorecido por la presencia de ácidos orgánicos, sobre todo por la vitamina C, y proteínas de origen animal ricas en cisteína. La absorción a partir de la ingesta es de 0.5-1 mg/día; puede estar estimulada en situaciones de necesidad como el embarazo o la disminución de las reservas orgánicas por algún proceso específico. Se consideran inhibidores de la absorción componentes de los alimentos como los taninos, fitatos, polifenoles (té, café, salvado) y el exceso en la ingestión de Ca y Zn, los bloqueantes H₂ y los antiácidos. Se calcula que existe una alta disponibilidad de Fe cuando se ingieren más de 90 g de proteína animal en una comida mixta con alimentos de origen vegetal que proporcionan Fe no hemo en cantidad adecuada, acompañados de más de 75 mg de ácido ascórbico (123).

e) En deporte. El Fe es necesario para la formación de proteínas transportadoras de oxígeno, la hemoglobina y la mioglobina, y para las enzimas involucradas en la producción de energía. La capacidad de transportar oxígeno es esencial para el ejercicio de resistencia, así como la función normal del sistema nervioso, del comportamiento e inmune (119). Con respecto al comportamiento del Fe podemos observar que, sujetos sometidos a entrenamientos HIIT durante una semana, dieron como resultado que este tipo de entrenamientos tendrían un impacto en los niveles de dicho mineral, aunque vuelven a sus niveles basales tras una semana de reposo (145).

La depleción de Fe es una de las deficiencias nutricionales más comunes observadas entre atletas, especialmente mujeres. La deficiencia de Fe, con o sin anemia, puede afectar la

función muscular y la capacidad de trabajo límite. La alta incidencia de la depleción de Fe entre los atletas se suele atribuir a la ingesta de energía inadecuada (119). Otros factores que pueden afectar el nivel de Fe incluyen las dietas vegetarianas que tienen poca disponibilidad de Fe, los períodos de rápido crecimiento, la exposición o entrenamiento en altura, el aumento de las pérdidas de Fe en el sudor, las heces, la orina, la sangre menstrual, la hemólisis intravascular, la hemólisis por impacto del pie, la donación regular de sangre o las lesiones. Los atletas, especialmente las mujeres, los corredores de larga distancia, los adolescentes y los vegetarianos deben ser monitorizados periódicamente para evaluar el estado de Fe (119).

En atletas Fe-deficientes que son suplementados, el Fe no sólo mejora los parámetros bioquímicos en sangre y el estatus de Fe, sino que también aumenta la capacidad de trabajo como se evidencia por el aumento de la absorción de oxígeno, la reducción de la FC, y la disminución de la concentración de lactato durante el ejercicio (119). Diversos autores (151) apoyan la suplementación de Fe para mejorar el rendimiento cuando se prescribe una suplementación de 100 mg de Fe (sulfato ferroso) durante 4-6 semanas.

Zinc

El zinc (Zn) forma parte de una gran cantidad de enzimas y de otros metabolitos, distribuidos en todos los órganos, fluidos y secreciones del cuerpo humano. La mayor proporción del Zn corporal está contenida en el músculo esquelético (50-60%), siendo apreciable también su contenido en el hueso (25-30%, que puede llegar a un 40% en el recién nacido a término). Sin embargo, hay otros órganos con concentraciones de Zn semejantes a los órganos mencionados (hígado, riñón, con 50-60 µg Zn/g).

La importancia del Zn viene dada por roles insustituibles relacionados principalmente con sistemas enzimáticos de los procesos de división y multiplicación celular y con los sistemas metabólico-hormonales de regulación. Además, está ampliamente demostrado que la deficiencia nutricional de Zn puede llevar a signos clínicos de enfermedad, los cuales se recuperan con ingestas adecuadas de Zn (139).

a) Funciones. Claramente asociadas a la deficiencia de Zn son el crecimiento, la inmunidad y la cicatrización entre otros. A ello se puede agregar las evidencias iniciales de su participación en algunos aspectos del desarrollo psicomotor, en la regulación de la composición corporal, así como del apetito (139). El Zn participa en numerosos sistemas enzimáticos (más de 300) formando parte integral del grupo prostético, entre ellas se puede citar la anhidrasa

carbónica, fosfatasa alcalina, deshidrogenasa alcohólica, carboxipeptidasas, oxidorreductasas. Igualmente es necesario para la síntesis proteica y de ácidos nucleicos, participando en reacciones en las que está vinculado al Fe, Cu, Mg y Ca. Así, interviene en funciones antioxidantes al formar parte de la enzima superóxido dismutasa (SOD) Cu-Zn dependiente y protege la peroxidación lipídica al inhibir la formación de complejos Fe/oxígeno con el ácido enólico (123).

b) Déficit. La deficiencia de Zn de origen nutricional se observa en comunidades o personas que ingieren poca cantidad de proteínas de origen animal. A ello se suma la disminución de la biodisponibilidad del Zn en dietas con un alto contenido de fitatos, componente de diversos productos vegetales. Al igual que con otros nutrientes, las necesidades de Zn también están asociadas a los aportes de energía. Las dietas occidentales habituales tienen una relación Zn/energía en torno a 2 mg Zn/MJ. Las dietas deficientes en Zn están en torno a 0.7-1 mg Zn/MJ. Junto con un bajo aporte de Zn y alto de fitatos, una ingesta elevada de energía podría aumentar el riesgo de deficiencia de Zn (139).

c) RDA y UL. La ingesta recomendada del Zn para la población española es de 15 mg/día siendo menor en niños (7 mg/día para menores de 3 años y 9 mg/día para las edades comprendidas entre 4-9 años). Asimismo, vemos que las necesidades aumentan con respecto al embarazo (20 mg/día y 25 mg/día para la lactancia) (141). En EEUU, la ingesta recomendada oscila entre los 9 mg/día para los menores de 18 años y 9.5 mg/día para los mayores de 19 años. Para la FAO y la OMS, la ingesta recomendada oscila entre los 5.7 y 9.2 mg/día para los menores de 18 años, 4.2 a 14 mg/día para edades para los mayores de 19 años (141). En la CE, la recomendación diaria, a efectos del etiquetado de alimentos, es de 10 mg, habiéndose establecido un UL de 25 mg. Se desaconseja un consumo superior a 50 mg/día por sus efectos negativos sobre la inmunidad y función antioxidante (123).

d) Fuentes Alimentarias. Las principales fuentes de Zn son las proteínas de origen animal como las carnes de vacuno, ave, pescados, mariscos, lácteos y cereales (123,139).

e) En deporte. El Zn juega un papel en el crecimiento, la construcción y reparación de tejido muscular, la producción de energía, y el estado inmunológico. El estatus de Zn se ha demostrado que influye directamente los niveles de la hormona tiroidea, el metabolismo basal, y la utilización de proteínas, que a su vez podría afectar negativamente a la salud y el rendimiento físico (119).

Las dietas bajas en proteínas de origen animal en general y las dietas altas en fibra y vegetarianas en particular, están asociadas con una disminución de la ingesta de Zn. El impacto

de la baja ingesta de Zn en el estatus de este mineral es difícil de medir porque los criterios de evaluación no se han establecido de una manera clara y las concentraciones plasmáticas de Zn podrían no reflejar los cambios sus el organismo en su totalidad. Se ha observado una relación entre el estatus pobre de Zn y la disminución en la función cardiorrespiratoria, la fuerza muscular y la resistencia (119).

Los estados carenciales de Zn pueden producirse en situaciones de estrés mantenido siendo frecuente también en el mantenimiento de dietas fundamentalmente a base de cereales. Estos se pueden dar en sujetos sometidos a entrenamientos HIIT de forma continuada (152). En un estudio realizado a 10 jugadores de baloncesto sometidos a entrenamientos de HIIT durante una semana, se midieron los niveles de microelementos y tras una semana de descanso se observó observando que los niveles de Zn no volvían a los niveles basales que experimentaban los otros minerales (145).

Los atletas deben ser advertidos respecto a la suplementación de Zn ya que a menudo superan las cantidades de 40 mg/día, y exceso de Zn puede conducir a una disminución del colesterol HDL y desequilibrios de nutrientes al interferir con la absorción de otros nutrientes, como el Fe y el cobre. Además, no se han establecido los beneficios de los suplementos de Zn para el rendimiento físico (4). Otros estudios, ponen el UL en 50 mg/día por su capacidad de interferir en la absorción del cobre, recomendando la suplementación con fines deportivos en no más de 30 mg/día (152). No hay estudios concluyentes sobre su suplementación en la práctica deportiva, aunque para la población francesa activa se establece un límite superior de 15 mg/día (con un suplemento de 1 mg/día cada 1.000 Kcal adicionales) (123).

Cobre

El Cobre (Cu) es esencial para la vida de plantas y animales. Diversos estudios realizados en animales y humanos (123), han mostrado que el Cu está involucrado en la función de numerosas enzimas. Se absorbe en un 30-40%, favorecida por las proteínas y disminuida por la vitamina C, disacáridos y exceso de Fe y Zn. Se encuentra principalmente en hígado, cerebro, corazón y riñones.

a) Funciones. Se ha demostrado que un importante número de proteínas muestra una actividad óxido-reductasa que depende de la presencia de Cu. El papel del Cu en estas enzimas deriva de su capacidad para actuar como un intermediario en la transferencia de electrones. El Cu

es un cofactor esencial para la actividad catalítica de la lisiloxidasa, tirosinasa, Cu/Zn superóxido dismutasa (SOD1), citocromo C oxidasa (COX) y Cp (139).

Interviene en el metabolismo del Fe (síntesis de la transferrina), la mineralización ósea, el mantenimiento del colágeno y de la elastina, la regulación de neurotransmisores, la inmunidad, el metabolismo oxidativo de la glucosa (sobre todo en el miocardio), y la eliminación de RL a través de la SOD. Esta última se utiliza como biomarcador del balance de Cu en el organismo (123). El Cu se sabe que es un nutriente esencial para las funciones cardiovasculares normales en los seres humanos y en animales experimentales (140).

b) Déficit. La deficiencia de Cu ocurre en etapas de severidad creciente (deficiencias marginal, moderada y severa o clínica). Para la evaluación de la nutrición de Cu se pueden utilizar diversos indicadores como:

- Niveles de Cu en suero/plasma, eritrocitos, leucocitos.
- Cuantificación de proteínas ligantes de Cu: Cp (actividad, masa, proporción) en plasma o suero, y metalotioneína en eritrocitos.
- Actividad de enzimas Cu-dependientes: SOD eritrocitaria, COX, diamino oxidasa, y peptidil glicina α -amidante monooxigenasa plasmática.
- Alteraciones funcionales.
- Manifestaciones clínicas: anemia, neutropenia, y alteraciones óseas (123,139).

Las alteraciones funcionales relacionadas con la deficiencia de Cu no son utilizadas en la detección de individuos deficientes, debido a su clara inespecificidad, así como las alteraciones clínicas asociadas al déficit de Cu y sólo aparecen en la deficiencia severa de este metal, por lo que no son de utilidad para la detección precoz de esta deficiencia ni para estudios poblacionales (139). Kim y Choi (140) relacionan la deficiencia de Cu con las enfermedades del corazón y con el aumento de los lípidos en sangre, concluyendo que la ingesta adecuada de varios minerales tales como Mg, Cu, y Mn, puede tener un papel protector contra el aumento de la presión arterial y los lípidos en sangre.

c) RDA y UL. Los requerimientos de Cu han sido establecidos mediante estudios controlados, en los cuales los sujetos han sido sometidos a ingestas bajas de Cu (estudios de depleción) y pruebas de repleción, evaluándose su efecto sobre el estado nutricional de este mineral esencial (139). En población española, las necesidades de Cu oscilan entre 0.3 mg/día para niños de hasta 7 meses y 0.7 mg/día para niños de 6 a 9 años, siendo en edades comprendidas entre los 10 y los 19 años de 1 mg/ día tanto para hombres como para mujeres y 1.1 mg/día para sujetos mayores de 20 años (142). En EEUU, la ingesta recomendada se estima en

1.1 mg/día en hombres y mujeres mayores de 18 años. Para la FAO y OMS, la ingesta recomendada es algo menor de 0.9 mg/día para hombres y mujeres mayores de 19 años (141). En la CE, la recomendación diaria, a efectos de etiquetado de alimentos es de 1 mg (123).

La sobrecarga de Cu puede ser consecuencia de un defecto genético autosómico recesivo del metabolismo del Cu o de origen ambiental (139). Los UL para la población adulta norteamericana son de 10 mg/día. En la CE, la recomendación es no sobrepasar los 5 mg (123).

d) Fuentes Alimentarias. Los alimentos más ricos en Cu son el hígado, los mariscos y pescados, nueces, cacao, semillas (trigo, avena), soja y verduras (123).

e) En deporte. El Cu es un mineral con acción antioxidante. Entre sus funciones fisiológicas más importantes para el deporte destacan el desarrollo y la integridad del sistema cardiovascular y del sistema esquelético, la función eritropoyética, la participación en mecanismos inmunes, y el mantenimiento de la estructura y función del sistema nervioso. El Cu, distribuido mayoritariamente en el músculo, participa en la protección contra los agentes oxidantes y en la síntesis de catecolaminas y melatonina (MEL), que a su vez desempeña un importante papel en la recuperación hidrocarbonada (146).

En estudios recientes (145), se observa que los límites de Cu en sangre disminuyen en sujetos sometidos a HIIT durante una semana, observándose que sus niveles tienden a los basales tras un periodo de descanso de una semana.

Los síntomas de insuficiencia de este mineral que pueden padecer los deportistas son la anemia y la pérdida de energía (91). En la práctica deportiva, se establece para la población francesa con un esfuerzo moderado u ocasional la misma cantidad que en la población en general más un aporte extra de 0.6 mg por cada 1.000 kcal suplementarias con un límite máximo de 3.5 mg/día (123).

Selenio

El selenio (Se) desempeña un papel fisiológico fundamental con toxicidad potencial cuando se encuentra en cantidades inferiores a 250 µg/g en los tejidos corporales, alimentos o agua de bebida. Para el Se, se conocen tanto los efectos de la deficiencia como de la sobreexposición. Por otra parte, en los últimos años se discuten las evidencias de algunos elementos minerales potencialmente esenciales (139).

Es metabólicamente activo como selenoproteína, siendo sustituido el azufre por el Se, principalmente en la cisteína. No hay mecanismos de regulación en su absorción, siendo ésta del 80% y de manera preferente en la forma orgánica. Se encuentra principalmente en hígado, riñones, páncreas y músculos (123).

a) Funciones. El Se forma parte de la glutatión peroxidasa (GSH-Px), una enzima fundamental en el sistema de defensa antioxidante celular, ya que descompone los hidroperóxidos lipídicos y el peróxido de hidrógeno en presencia de glutatión reducido (123,139). En relación con esta función antioxidante, se ha observado que, al aumentar los sustratos oxidables, como el TC y los TG sanguíneos, aumentan también significativamente los niveles séricos de este elemento, estableciendo el mecanismo de protección frente al riesgo incrementado de estrés oxidativo (139). También se le atribuye un efecto antioxidante ya que regenera las formas reducidas de las vitaminas C y E (123). Por otro lado, el Se también protege frente a la toxicidad de otros metales pesados como es el caso del mercurio (Hg), del plomo (Pb), del cadmio (Cd) y de la plata (Ag) (139).

Otra función es que el Se forma parte de las selenoproteínas P y W de función actualmente desconocida. El Se se incorpora a las metaloenzimas celulares que lo contienen durante el proceso de transducción en forma de selenocisteína. Por otro lado, la forma de selenometionina se incorpora en las proteínas vegetales que son usadas por los animales en la síntesis de sus propias proteínas, lo que facilita su acumulación (139).

b) Déficit. Los síntomas por insuficiencia de Se en individuos sanos son desconocidos (91), si bien es cierto que existen enfermedades específicas como la enfermedad de Keshan, una cardiomiopatía endémica de ciertas áreas de China que afecta a los niños y a las mujeres en periodo fértil y ocurre por deficiencia de Se. Este mineral también puede verse afectado por otros factores como el alcoholismo, que además del aumento progresivo del daño hepático que provoca, conduce a un descenso significativo en los niveles séricos de Se (139).

En los últimos años, múltiples estudios experimentales realizados en humanos han relacionado un bajo estado nutricional en Se con algunas enfermedades como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares o algunas patologías hepáticas. Para otras enfermedades, como la diabetes, los resultados disponibles son contradictorios (139).

c) RDA y UL. La cantidad de Se ingerido depende en gran medida de los hábitos alimentarios de cada país o región y del origen geográfico de los alimentos. Por otra parte, hay una gran diferencia en las ingestas diarias entre individuos del mismo sexo y edad (139). Para la población española las necesidades varían según la edad y comprenden desde los 10 µg/día

(para niños menores de 6 meses) a 30 $\mu\text{g}/\text{día}$ (para niños menores de 9 años). En edades comprendidas entre 10 a 15 años las necesidades se estiman en 40 $\mu\text{g}/\text{día}$ para varones y 45 $\mu\text{g}/\text{día}$ para mujeres, 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ para individuos entre los 16 y 19 años y 70 $\mu\text{g}/\text{día}$ para hombres y 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ para mujeres mayores de 20 años (141). En otros estudios (142) las necesidades se estiman en 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ en hombres y mujeres mayores de 20 años. En la CE, las necesidades se estiman en 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ en hombres y mujeres mayores de 18 años. En EEUU, la ingesta recomendada se estima en 55 $\mu\text{g}/\text{día}$ en hombres y mujeres, igual que para la población europea, aunque en individuos mayores de 14 años. Para la FAO y la OMS, la ingesta recomendada es algo menor 34 $\mu\text{g}/\text{día}$ para hombres y 24 $\mu\text{g}/\text{día}$ para mujeres mayores de 10 años (141).

El Se pueden llegar a ser potencialmente tóxicos, por lo que no se recomienda superar la dosis de 150 $\mu\text{g}/\text{día}$ (123,146). En la CE se recomienda no sobrepasar los límites de 300 $\mu\text{g}/\text{día}$ (123). La toxicidad crónica por Se está caracterizada por la pérdida de pelo y cambios en la morfología de las uñas. En algunos casos aparecen lesiones de la piel y anomalías en el sistema nervioso, tales como parestesia, parálisis y hemiplejía. En los animales, el daño hepático es el hecho común de la selenosis crónica. La toxicidad del Se probablemente se debe a que este metal es un potente catalizador de la oxidación de grupos sulfhidrilo y esto puede ejercer un efecto inhibitorio de la síntesis proteica (139).

e) Fuentes Alimentarias. Los alimentos de origen animal como el pescado y mariscos, la carne y las vísceras, y los de origen vegetal como las legumbres, los frutos secos y los cereales, tienen un alto contenido en Se. A pesar de esto, los frutos secos y las legumbres no son fuentes prioritarias en la de Se en la dieta por el bajo consumo que se hace de ellos en la alimentación general de la población (139). También se puede encontrar en huevos y quesos (123). Existen diversos factores que pueden influir en el contenido de Se en los alimentos, tales como su tratamiento tecnológico, el cocinado que puede originar una pérdida de hasta el 40% del Se presente por volatilización, o el contenido en Se existente en los suelos de cultivo, por lo cual su concentración es dependiente de la localización geográfica (139).

e) En deporte. El incremento en el estrés oxidativo causado por el ejercicio y el reconocimiento de la estimulación de la actividad antioxidante por el Se inevitablemente implica una relación entre el Se y el ejercicio (152). El Se es uno de los nutrientes antioxidantes que junto a la vitaminas C, E y alfa-caroteno juegan un papel importante en la protección de las membranas celulares del daño oxidativo. Puesto que el ejercicio puede aumentar de 10 a 15 veces el consumo de oxígeno, se ha planteado que un ejercicio a largo plazo provoca de manera constante un estrés oxidativo en los músculos y otras células que derivan en una peroxidación lipídica en las membranas. Estos efectos pueden verse remitidos en parte por el consumo de estos elementos (119).

Como se comentó anteriormente, el Se interviene en la formación de la enzima antioxidante GPx, complementando la acción de la vitamina A como antioxidante (146). Drăgan y cols. (153) investigaron los efectos de la suplementación con Se durante 14 días en nadadores que realizaban entrenamientos de 2 horas diarias, hallando cambios significativamente menores de los sujetos suplementados con respecto al grupo placebo en los niveles de marcadores derivados de la peroxidación lipídica el malondealdehído (MDA). Un estudio realizado a jugadores de baloncesto sometidos a HIIT durante una semana que alteraron los niveles de Se, aunque vuelven a sus niveles basales tras una semana de reposo (145). Se ha informado sobre el aumento en la producción de RL y los niveles de lactato en respuesta al ejercicio de natación aguda en ratas, lo que podría ser compensado por la suplementación de Se, aunque este efecto no se ha podido comprobar en deportistas (154). En otro estudio (155), 16 atletas bien entrenados mostraron diferencias significativas en los niveles plasmáticos de Se en función de la intensidad del ejercicio, observándose correlaciones positivas significativas con la epinefrina, el cortisol, el lactato y la glucosa.

La ADA y el ACSM (119) alertan que los atletas que corren el mayor riesgo de bajo consumo de antioxidantes como el Se son los que siguen una dieta baja en grasa o reducen severamente su masa corporal, así como los deportistas que limitan la ingesta diaria de frutas, verduras y granos enteros.

Con lo que respecta al Se no se han descrito requerimientos específicos para el deportista. Además no existen estudios concluyentes sobre su suplementación en la práctica deportiva, aunque como ya se ha citado con anterioridad se establece un límite superior de 150 µg/día con un complemento de 30 µg/día cada 1.000 kcal suplementarias para la población francesa activa (123).

Manganeso

El manganeso (Mn), desempeña varias funciones biológicas como cofactor enzimático, sin embargo, tanto las ingestas bajas como las elevadas no causan problemas sustanciales ni en la población infantil ni en la adulta. Se distribuye mediante transporte proteico específico con mayor afinidad en los tejidos ricos en mitocondrias, cerebro, hígado, páncreas y riñón. Su biodisponibilidad no es bien conocida por las dificultades para su estudio. Las concentraciones plasmáticas de Mn no varían en sujetos con disminución o aumento del mismo (123).

a) Funciones. El Mn es un constituyente de varias enzimas y activador de otras muchas. El Mn forma parte de la SOD mitocondrial, que como ya hemos citado con anterioridad en otros minerales, es una enzima fundamental en el sistema de defensa antioxidante celular, ya que cataliza la misma reacción que la enzima citosólica, concretamente la conversión del anión superóxido a peróxido de hidrógeno (139).

El Mn forma parte de la piruvato carboxilasa, una enzima clave en el proceso gluconeogénico. La arginasa, una enzima importante del ciclo de la urea es también una metaloenzima de Mn. La fosfoenolpiruvato carboxikinasa, la acetil-CoA carboxilasa y la tirosina sulfotransferasa entre otras enzimas también requieren Mn. La mayor parte de las enzimas activadas por el Mn también lo son por el Mg (139).

El Mn se relaciona con la formación del tejido conjuntivo esquelético, y por tanto, con la formación del hueso, el crecimiento y la reproducción, así como el metabolismo de los HC, de los lípidos y de los aminoácidos (139). Estudios recientes (140) mostraron que la ingesta de Mn a través de la dieta puede jugar un papel importante en la presión arterial y en los de lípidos en sangre, concluyendo que la ingesta adecuada de minerales como el Mn puede tener un papel protector contra el aumento de la presión arterial y los lípidos en sangre.

b) Déficit. Los datos disponibles sobre los efectos fisiológicos que resultan de la deficiencia de Mn están limitados prácticamente a los resultados obtenidos en estudios animales, en los que se produce una falta de crecimiento, una alteración de la capacidad reproductiva, una incapacidad para la bipedestación, causando hinchamiento y desorganización del retículo endoplásmico celular, así como defectos en la membrana mitocondrial. Su deficiencia en los animales gestantes causa anomalías en el esqueleto de las crías y ataxia (139).

Otros autores asocian la deficiencia de Mn con temblores y convulsiones (91,123) relacionando los niveles bajos de este mineral con alteraciones en su metabolismo, con convulsiones en edad infantil, dermatitis, alteraciones capilares y cambios en los factores de la coagulación vitamina K-dependientes.

c) RDA y UL. No existen datos suficientes para establecer los requerimientos basales o de referencia de Mn (139). No obstante, los valores para la población española son de 1.5 mg/día para niños de 4 a 9 años y de 2.3 mg/día en hombres y 1.8 mg/día para mujeres mayores de 20 años (142). La OMS, considera la cantidad diaria ingerida sin efectos adversos hasta 11 mg/día (0.06 mg/peso corporal). En la CE, la recomendación diaria a efectos del etiquetado de alimentos es de 2 mg (123).

El Mn es el menos tóxico de los elementos traza cuando se ingiere por vía oral. En el hombre no se tiene constancia de intoxicaciones asociadas a una elevada ingesta dietética por debajo de 10 mg/día, aunque sí se conoce la intoxicación en mineros o trabajadores sobreexposados a altos niveles en el aire y humos (119,139).

d) Fuentes Alimentarias. Las concentraciones típicas de este elemento en los alimentos oscilan entre 0.2 µg de Mn/g en fuentes pobres en este mineral como las carnes, productos lácteos y pescado, y 20 µg de Mn/g en frutos secos, cereales, legumbres y granos enteros, donde se encuentra en elevada proporción. Las verduras y las frutas frescas suelen contener cantidades intermedias (0.2-2 µg de Mn/g). El té y el café presentan concentraciones relativamente altas en Mn, pudiendo éstos constituir hasta el 10% de la ingesta diaria para algunas personas (139).

e) En deporte. Encontramos que el Mn es un mineral poco estudiado en lo que a sus funciones específicas para el deporte se refiere. Las funciones ya citadas anteriormente que se podrían adaptar a las exigencias en el deporte, son que el Mn forma parte de la SOD, está relacionado con la formación del tejido conjuntivo esquelético, y por tanto, con la formación del hueso, el crecimiento y la reproducción, así como la participación en el metabolismo de los HC, de los lípidos (colesterol) y de los aminoácidos.

No existen estudios concluyentes sobre su suplementación en la práctica deportiva. No obstante en Francia, para la población que realiza un esfuerzo moderado u ocasional, se establece la misma cantidad que en la población en general, y un aporte extra de 0.6 mg por cada 1.000 Kcal suplementarias con un límite de 3.5 mg/día (123).

Sodio, Potasio y Cloruro

El sodio (Na), el potasio (K) y el cloruro (Cl) están distribuidos por todos los fluidos y tejidos del cuerpo. Son iones que ayudan a regular el equilibrio de los líquidos del organismo, encontrándose en el plasma (parte líquida de la sangre) y en el sudor (156). El Na y el Cl se hallan principalmente en los fluidos extracelular y en el plasma, mientras que el K, se localiza principalmente en el citosol. La distribución selectiva de estos tres minerales establece la separación de la carga eléctrica hallada a nivel neuronal y en las membranas celulares musculares, por lo que estos minerales favorecen la actividad muscular y son responsables del mantenimiento y distribución del agua en el organismo, así como los equilibrios osmótico, acidobásico, y de la FC (91).

Dado que las dietas occidentales son elevadas en Na, su carencia dietética es muy improbable. No obstante con el sudor se pierden minerales, por lo que cualquier condición que produce una sudoración excesiva, como un esfuerzo o ejercicios extremos en un ambiente caluroso, pueden agotar las reservas de estos minerales. Al analizar los desequilibrios minerales, con frecuencia nos centramos en las carencias. Sin embargo, muchos de estos minerales también tienen efectos negativos cuando se toman en exceso. De hecho, el exceso de K puede producir insuficiencia cardíaca. Las necesidades individuales varían pero las megadosis nunca son aconsejables (91).

a) En deporte. El Na es un electrolito importante, especialmente para los atletas con grandes pérdidas mediante la sudoración. La concentración de Na^+ en el sudor oscila entre 10 y 70 mEq/L, la de K^+ entre 3 y 15 mEq/L, y la de Cl^- entre 5 y 60 mEq/L. Debido a que la aclimatación mejora la capacidad para reabsorber Na^+ , las personas adaptadas a las condiciones ambientales de la zona presentan concentraciones más bajas de Na^+ en el sudor (más del 50% de reducción) (157).

Muchos atletas de resistencia requerirán mucho más que el UL para el Na^+ (2.3 g/día) y Cl^- de (3.6 g/ día). Se recomiendan las bebidas deportivas que contienen Na (0.5-0.7 g/ Litro) y K (0.8-2.0 g/Litro), así como HC, especialmente para los atletas que participan en pruebas de resistencia y larga duración (92 h) (119).

El K es importante para el equilibrio de líquidos y electrolitos, la transmisión nerviosa y mecanismos de transporte activo. Durante el ejercicio intenso, las concentraciones plasmáticas de K tienden a disminuir en un grado menor que el Na. Una dieta rica en variedad de verduras frescas, frutas, nueces/semillas, productos lácteos, carnes magras y granos enteros se considera adecuada para el mantenimiento de un estatus adecuado de K entre los atletas (119). En resumen, podemos realizar las siguientes recomendaciones para el deportista sobre la hidratación y estos electrolitos:

- Tras ejercicios de larga duración se aconseja una bebida que tenga Na, lo que permite aumentar la retención de líquidos suministrando el electrolito eliminado de manera mayoritaria a través del sudor. También deben administrarse HC para reponer de forma rápida los depósitos de glucógeno muscular, utilizados durante el esfuerzo (156).
- Se recomienda ingerir como mínimo un 150% de la pérdida de peso en las primeras 6 horas tras el ejercicio (157).
- El aumento del volumen plasmático está directamente relacionado con el volumen de líquido ingerido y con la concentración de Na. La resíntesis del glucógeno hepático y muscular (utilizado durante el ejercicio) es mayor durante las dos primeras horas

después del esfuerzo. Por todo esto, las bebidas de rehidratación post-ejercicio deben llevar tanto Na como HC y hay que empezar a tomarlas tan pronto como sea posible (157).

Tabla 1. Parte 1. Características de los minerales atendiendo a su función, ingestas recomendadas, límites tolerables y alimentos ricos en el mineral.

Mineral	Función	Función Deporte	Insuficiencia	RDAS (mg/día) - Se (µg/día)			UL	Alimentos		
				ESP	CE	EEUU OMS				
Calcio	Formación de los huesos y de los dientes, coagulación de la sangre, actividad muscular y función nerviosa	Crecimiento, Mantenimiento y reparación de tejido óseo, El mantenimiento de los niveles de Ca en la sangre, Regulación de la contracción muscular, La conducción nerviosa, y La coagulación normal de la sangre	Descarga nerviosa espontánea y tetania. Aumenta el riesgo de baja densidad mineral ósea y La fracturas por estrés	800	700	1000	1500	2500	Lácteos, pescados, harinas integrales, frutos secos y legumbres	
	Formación de los huesos y de los dientes, importante en la transferencia de energía (ATP) componente de ácidos nucleídos. Tampón Intracelular		Pérdida de Energía y de la función celular, posible fractura por estrés	700	550	700		4000	Carnes, pescados, leche y sus productos derivados, frutos secos, legumbres, cereales	
Magnesio	Parte del hueso Secreciones Contracción muscular Actividad enzimática	Interviene en el metabolismo de las proteínas Disminuye la alcalinidad de la sangre en el equilibrio ácido-base y en los fenómenos de óxido-reducción Función antioxidante	Mayor Irritabilidad del sistema nervioso, y arritmias vasodilatación y	350	420	260		625	Legumbres, frutos secos, cereales y derivados ricos en fibra	
	Forma parte de la hemoglobina y mioglobina, es cofactor en reacciones de oxidoreducción y en la síntesis de ADN e interviene como transportador de oxígeno en el cuerpo y de electrones en las mitocondrias	Mejora de la capacidad de trabajo y resistencia, el aumento de consumo de oxígeno, la reducción de las concentraciones de lactato, y la reducción de la fatiga muscular	Anemia , reducción del transporte de oxígeno y pérdida de energía	10	9	8	9-27	17	28	Proteína de origen animal y ricas en cisteína (pollo, pato, cerdo, huevo) potenciadores Vitamina C; Inhibidores café, té y salvado
Zinc	Componente de varias enzimas; interviene en el transporte de dióxido de carbono y en el metabolismo, necesario para el metabolismo de las proteínas	Crecimiento, la construcción y reparación de tejido muscular, la producción de energía, y el estado inmunológico	Deficiente transporte de dióxido de carbono y el metabolismo de las proteínas	15	10	11	14	>15	50	Proteínas de origen animal, lácteos y cereales

Tabla 1. Parte 2. Características de los minerales atendiendo a su función, ingestas recomendadas, límites tolerables y alimentos ricos en el mineral.

Mineral	Función	Función Deporte	Insuficiencia	ESP	RDAS (mg/día) - Se (µg/día)			UL	Alimentos
					CE	EEUU	OMS		
Cobre	Interviene en el metabolismo del hierro, la mineralización ósea, el mantenimiento del colágeno y de la elastina, la regulación de la síntesis de catecolaminas neurotransmisores, la inmunidad, el metabolismo oxidativo de la glucosa, sobre todo en el miocardio, y la eliminación de RL a través de la superóxido dismutasa Forma parte de diversas enzimas, como la GSH-Px, antioxidante que protege las estructuras celulares de la acción de los peróxidos lipídicos y RL; intervienen en el metabolismo de las hormonas tiroideas; la enzima tioredoxina reductasa, entre otras acciones. Interviene en la síntesis de las prostacelinas	Protección contra los oxidantes, y en la síntesis de catecolaminas y MEL, que a su vez desempeña un importante papel en la recuperación hidrcarbonada	Anemia macrocítica hipocrómica, neutropenia, desmineralización ósea y alteraciones de la pigmentación cutánea. Pérdida de energía	1.1	1.1	0.9	5	Hígado, los mariscos y pescados, nueces, cacao, semillas (trigo, avena), soja y verduras	
Selenio		Antioxidante que regenera las formas reducidas de las vitaminas C y E	Desconocidos	70	55	34	150	Alimentos proteicos: productos pesqueros, carne y vísceras, legumbres, frutos secos y cereales Contenido en plantas: depende de nivel en suelo	
Manganeso	Antioxidante por superóxido dismutasa. Regulador de metabolismo de macro. Formación de hueso	Antioxidante y regulador del metabolismo de hidratos de carbono, de los lípidos (colesterol) y de los aminoácidos		2.3	2	2.3	11	Alimentos de origen vegetal frutos secos, cereales, legumbres y granos enteros. También té y café	
Cloro	Capacitan la actividad muscular, son responsables del mantenimiento y distribución del agua del cuerpo, del equilibrio osmótico normal, del equilibrio ácido básico (pH) y de la frecuencia cardíaca normal		Desequilibrio ácido base	2300		2300	3600		
Sodio		Importantes para el equilibrio de líquidos y electrolitos, la transmisión nerviosa y mecanismos de transporte activo	Náuseas, vómitos, la agotamiento y vértigo	1500	600	1500	2400	Presente en multitud de alimentos	
Potasio			Debilidad muscular, electrocardiograma anormal y orina alcalina	310	310	470	6000		

2.2.1.2.2.2. VITAMINAS

Las vitaminas son un grupo de compuestos orgánicos inconexos que desarrollan funciones específicas para favorecer el crecimiento y conservar la salud. Las necesitamos en cantidades relativamente pequeñas. Actúan principalmente como catalizadores en las reacciones químicas y son esenciales para la liberación de energía, para la formación de tejido y para la regulación metabólica. Las vitaminas pueden clasificarse en dos categorías principalmente: las hidrosolubles y las liposolubles (91).

Las vitaminas hidrosolubles incluyen el conjunto de las vitaminas del grupo B (tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, cianocobalamina, ácido fólico, ácido pantoténico y biotina) entre cuyas funciones está regular el metabolismo energético, y la vitamina C, que actúa como antioxidante. Como son solubles en agua, en caso de una ingesta elevada serían eliminadas por la orina.

Las vitaminas liposolubles incluyen la vitamina A, D, E y K. Un exceso en su ingesta puede ocasionar toxicidad. Los β -carotenos, precursores de la vitamina A, y la vitamina E, actúan como antioxidantes. La vitamina D participa en el metabolismo del Ca, y la vitamina K en procesos en la coagulación y metabolismo óseo (123). Las vitaminas que despiertan más interés y preocupación en la dieta a los deportistas son la vitamina D y las vitaminas del complejo B, así como algunos antioxidantes como las vitaminas C y E.

Los deportistas que corren mayor riesgo de deficiencias de estos micronutrientes son los que restringen su ingesta de energía o realizan pérdidas de peso severas (luchas olímpicas, judo, boxeo, etc). Estos atletas se podrían beneficiarse con un suplemento multivitamínico diario. Por el contrario, el uso de suplementos de vitaminas y minerales no mejora el rendimiento de las personas que consumen dietas nutricionalmente adecuadas, por lo que se debería informar a los deportistas para que no superen los UL de ingesta de antioxidantes ya que dosis altas pueden tener un efecto pro-oxidante con sus consecuentes efectos negativos (119).

Complejo B

A pesar de que hubo un tiempo que se creía que las vitaminas del complejo B eran una sola vitamina, ahora se han identificado una docena de vitaminas de dicho complejo, con funciones esenciales en el metabolismo celular (91). Hoy día podemos ver cómo las vitaminas

del complejo B tienen varias funciones importantes en el organismo, incluida la producción de energía, la síntesis de hemoglobina, una función inmune adecuada y la construcción y reparación del tejido muscular. En un estudio se examinó la ingesta dietética de las vitaminas del complejo B en atletas observando ingestas medias adecuadas (158–162). Sin embargo, cuando se examinaron los datos de ingesta dietética para atletas individuales, muchos atletas, especialmente las mujeres, no consumían los niveles recomendados de estos nutrientes (159,163–168).

a) Funciones. Entre sus diversas funciones está la de servir como cofactor en varios sistemas enzimáticos que intervienen en la oxidación de los alimentos y en la producción de energía. La vitamina B₁ se necesita para la conversión del ácido pirúvico en acetil co-A. La vitamina B₂ se convierte en FAD que actúa como un aceptor de hidrógeno durante la oxidación. La vitamina B₃ es un componente de la NADP, una coenzima presente en la glucólisis. La vitamina B₁₂ participa en el metabolismo de los aminoácidos siendo también necesaria para la producción de los glóbulos rojos, implicados en el transporte de oxígeno (91).

b) Déficit. Mason (169) aborda las deficiencias de estas vitaminas que a continuación se exponen:

- Vitamina B₁ (tiamina). La ingesta alta de HC aumenta la necesidad de B₁ a nivel plasmático. La deficiencia leve de esta vitamina cursa irritabilidad, fatiga y dolores de cabeza, mientras que la deficiencia severa produce combinaciones de neuropatía periférica, disfunción cardiovascular y disfunción cerebral. El síndrome de deficiencia responde dentro de las 24 horas a la tiamina parenteral, pero es parcial o totalmente irreversible después de una determinada etapa.
- Vitamina B₂ (riboflavina, lactoflavina). La deficiencia generalmente se observa junto con deficiencias de otras vitaminas B. La deficiencia aislada de riboflavina produce hiperemia y edema de la mucosa nasofaríngea, queilosis, estomatitis angular, glositis, dermatitis seborreica y una anemia normocrómica normocítica.
- Vitamina B₃ (nicotinamida, vitamina PP o niacina). La pelagra es el síndrome de deficiencia clásico y se ve a menudo en poblaciones en las que el maíz es la principal fuente de energía. La diarrea, la demencia y una dermatitis pigmentada que se desarrolla en áreas expuestas al sol son características típicas. Glositis, estomatitis, vaginitis, vértigo y disestesia ardiente son signos tempranos.
- Vitamina B₆ (piridoxina). La deficiencia generalmente se ve junto con otras deficiencias de vitaminas solubles en agua. La estomatitis, la queilosis angular, la glositis, la irritabilidad, la depresión y la confusión ocurren en la depleción de moderada a grave, observándose una anemia normocítica en la deficiencia severa. También se han

observado electroencefalogramas anormales y, en lactantes, convulsiones. La isoniazida, la cicloserina, la penicilamina, el etanol y la teofilina pueden inhibir el metabolismo de B₆.

- Vitamina B₉ (ácido fólico, folacina o ácido pteroil-L-glutámico). Las mujeres en edad fértil tienen más probabilidades de ser deficientes. El síndrome de deficiencia clásica produce anemia megaloblástica, diarrea y glotitis.

c) RDA y UL

- Vitamina B₁. 1.2 mg/día en varones y 1,1 mg/día en mujeres, en EEUU, 1.1 mg en la CE (141), 1.2 mg/día para la población española (142).
- Vitamina B₂. La ingesta recomendada es de 1.3 mg/día en varones, 1,1 mg/día en mujeres en EEUU, de 1.4 mg en la CE (141) y 1.6 mg/día para la población española (142).
- Vitamina B₃. La ingesta recomendada en EEUU es de 16 mg/día en hombres y 14 mg/día en mujeres de equivalentes de niacina (incluye la formada a partir del triptófano), con un máximo de 35 mg/día de niacina preformada contenida en los alimentos. En la CE se recomiendan 16 mg de niacina preformada y un UL de 900 mg como nicotinamida y de 10 mg como ácido nicotínico (123). 18 mg/día para la población española (142)
- Vitamina B₅. En EEUU se establece una ingesta adecuada de 5 µg g/día, mientras que la ingesta recomendada en la CE es de 6 µg (141). 5 µg /día para la población española (142)
- Vitamina B₆. La ingesta recomendada es de 1.3 mg/día en EEUU, con un máximo de 100 mg/día. En la CE se recomienda una ingesta de 1.4 mg, con un UL de 25 mg (123). 1.5 µg /día para la población española (142)
- Vitamina B₇. Mientras que la ingesta adecuada en EEUU es de 30 µg/día , en la CE se recomienda una ingesta de 50 µg (141). 30 µg /día para la población española (142).
- Vitamina B₉. La ingesta recomendada es de 400 µg/día, con un máximo de 1000 µg, tanto en EEUU como en la CE (141). 300 µg /día para la población española (142).
- Vitamina B₁₂. Se conocen cuatro derivados activos: vitamina B_{12a} o cianocobalamina, vitamina B_{12b} o hidroxicobalamina, vitamina B_{12c} o nitrocobalamina y cobalamina. La ingesta recomendada es de 2.4 µg/día en EEUU y 2.5 µg en la CE. La FAO/OMS estableció una recomendación de 2.4 µg y un UL de 1000 µg (141). 2 µg /día para la población española (141)

d) Fuentes Alimentarias. Los alimentos que contienen mayor cantidad de vitaminas del complejo B son hígado, pescado, carnes rojas, leche y huevos (91).

e) En deporte. Las vitaminas del complejo B tienen una interacción tan estrecha que la carencia de una de ellas puede afectar a las demás (91). El consumo adecuado de vitaminas del complejo B es importante para asegurar la producción de energía óptima y la construcción y reparación del tejido muscular. Las vitaminas del complejo B tienen dos funciones principales directamente relacionadas con el ejercicio. La tiamina, riboflavina, niacina, piridoxina, ácido pantoténico, biotina están involucradas en la producción de energía durante el ejercicio, mientras que el ácido fólico y la cianocobalamina son necesarios para la producción de glóbulos rojos, para la síntesis de proteínas, la reparación tisular y el mantenimiento del SNC (91,119,123).

- Vitamina B₁. En deportistas se admite una ingesta de hasta 2 mg/día y en caso de que se realice la adición con otro suplemento se recomienda que ésta sea de al menos 0.05 mg/100 kcal (o de 0.2 mg/100 g HC) (123).
- Vitamina B₆. En los deportistas bien nutridos no mejora la capacidad aeróbica ni la acumulación de ácido láctico. La vitamina B₆, en combinación con la vitamina B₁ y la B₁₂, puede aumentar los niveles de serotonina y mejorar las habilidades motoras, motivo por el que se ha recomendado en deportes de precisión como tiro olímpico y tiro con arco (123).
- Vitamina B₉. No encontramos documentos de consenso donde se estime una suplementación específica para deportistas, si bien, un estudio en jugadores de elite de balonmano (170), mostraron que la suplementación con 200 µg de ácido fólico/día durante un periodo de 2 meses tuvo repercusiones positivas sobre los niveles de homocisteína, marcador de riesgo cardiovascular. Este aumento puede estar asociado con un aumento repentino en el riesgo de enfermedades cardiovasculares (ECV) como resultado de la alta carga de entrenamiento acumulada en las sucesivas sesiones de entrenamiento durante la competición.
- Vitamina B₁₂. De forma similar a la piridoxina, en combinación con ésta y con la tiamina, puede mejorar el rendimiento en tiro olímpico. Esto puede deberse al aumento de la serotonina, neurotransmisor que a nivel del SNC reduce los estados de ansiedad (123).

Déficit. No se ha observado una disminución significativa del rendimiento a corto plazo influida por la deficiencia de vitaminas del complejo B. No obstante, la deficiencia severa de vitamina B₁₂, ácido fólico, o ambos, pueden dar lugar a anemia lo que provocaría una reducción de la capacidad de resistencia (123). En una revisión llevada a cabo por Woolf y Manore (171), destacan que la suplementación de este grupo de vitaminas está indicada en los casos de atletas que tienen presentas dietas insuficientes en vitaminas del complejo B, especialmente aquellos

que restringen la ingesta de energía o la eliminación de las fuentes alimentarias citadas anteriormente, ya que las investigaciones actuales sugieren que el ejercicio puede aumentar los requerimientos de riboflavina y vitamina B₆

Vitamina C

La vitamina C es importante en la formación y el mantenimiento del colágeno, una proteína crucial hallada en el tejido conectivo, por lo que es esencial para los huesos, ligamentos y vasos sanguíneos. Además la vitamina C interviene en el metabolismo de los aminoácidos, la síntesis de algunas hormonas, tales como las catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) y los corticoides antiinflamatorios, el favorecimiento de la absorción del hierro a nivel intestinal.

a) Funciones. Los roles de la vitamina C son muy variados ya que interviene en la liberación de energía, en el buen funcionamiento del sistema inmune, en la protección contra los RL, mejorando la absorción del hierro, así como el buen funcionamiento del sistema nervioso, la salud de los huesos y las articulaciones además de reducir del cansancio y la fatiga (123,172).

b) Déficit. El escorbuto es una enfermedad causada por una ingesta insuficiente prolongada de vitamina (más de 6 meses). Se caracteriza por astenia progresiva, inflamación de encías, la caída de dientes, la inflamación y el dolor de articulaciones, la fragilidad capilar y la equimosis. Con frecuencia, también aparece una anemia como consecuencia de estas pequeñas hemorragias. La falta de vitamina C bloquea la producción de sustancia intercelular para los tejidos conectivos. La depleción de vitamina C puede afectar negativamente diversos aspectos del rendimiento físico, causando fatiga, debilidad muscular y anemia (139).

c) RDA y UL. La ingesta recomendada en EEUU en hombres es de 90 mg/día y en mujeres de 75 mg/día, con un máximo de 2.000 mg/día. En la CE se recomienda una ingesta de 80 mg (141). 60 mg /día para la población española (142).

d) Fuentes Alimentarias. La vitamina C está muy extendida en la naturaleza. En general, todas las frutas y verduras la contienen en mayor o menor cantidad, siendo escaso su contenido en los cereales. Las frutas más ricas son las ácidas, ya que el pH bajo estabiliza la vitamina C (kiwi, fresas, grosellas, mango, naranja). Entre los alimentos de origen animal, la cantidad de vitamina C es escasa, aunque aparece en hígado, riñón y cerebro (139).

e) En deporte. En deportistas es especialmente interesante ya que podría beneficiar el rendimiento deportivo, mejorando el metabolismo durante el ejercicio. También hay evidencia

de que la vitamina C puede mejorar la inmunidad (172). Debido a su implicación en varias rutas metabólicas como la carnitina, la noradrenalina y la síntesis de colágeno, así como en la defensa antioxidante, podemos decir que los requisitos de ácido ascórbico (vitamina C) de los atletas son mayores debido a una mayor tasa de consumo endógeno en comparación con las personas que no son físicamente activas (173).

El ejercicio vigoroso y prolongado se ha demostrado que aumenta la necesidad de vitamina C, el rendimiento físico puede verse comprometida con estados carenciales de vitamina C. Estos deportistas deberían consumir de 100 a 1000 mg de vitamina C al día (123). Si bien no siempre el incremento de la ingesta de antioxidantes aporta beneficios al deportista, por ejemplo vemos que la alta ingesta de vitamina C también reduce la absorción de Cu y aumenta la absorción de Fe en detrimento de la absorción intestinal de Zn (174).

La depleción de vitamina C puede afectar negativamente diversos aspectos del rendimiento físico, causando fatiga, debilidad muscular y anemia (123). Las concentraciones basales de ácido ascórbico en plasma en algunos atletas pueden ser bajas y en algunos casos alcanzar concentraciones marginales (175–177). Estos atletas son principalmente aquellos que participan en juegos de equipo o aquellos que experimentan períodos inusuales de entrenamiento intensivo (173).

La altitud, las temperaturas elevadas y el ejercicio físico parecen aumentar las necesidades de vitamina C aunque su suplementación en deportistas con una adecuada nutrición no parece mejorar el rendimiento físico. Hay evidencias que indican que la suplementación con vitamina C (500 mg/d), cuando se realiza ejercicio intenso, puede disminuir la incidencia de infecciones de las vías respiratorias altas y por tanto mejora de la inmunidad. El umbral mínimo de suplementación recomendado por la Autoridad Europea para la Seguridad de los Alimentos (EFSA) para el mantenimiento del sistema inmunitario durante y después de un ejercicio físico intenso es de 200 mg/día (123).

Vitamina A

La vitamina A o retinol es un alcohol primario de color amarillo pálido que deriva del caroteno. Se almacena en el hígado en grandes cantidades, por eso es raro un déficit de la misma y su ingesta excesiva puede ser tóxica y producir perturbaciones metabólicas y mostrar síntomas como vómitos, pérdida del cabello y daño hepático (123).

a) Funciones. Cada una de las formas funcionales de la vitamina A presenta diversas funciones. Así, el retinol participa principalmente en la reproducción, el retinal en la visión y el ácido retinoico en la diferenciación epitelial, y la reproducción, a través de la regulación de la expresión génica (139). Forma parte constituyente de los pigmentos visuales y está involucrada en la visión nocturna. También es importante su función antioxidante. Participa en el sistema inmune y en el metabolismo del hierro (123).

b) Déficit. En los adultos es rara la deficiencia en vitamina A y suele ser más de tipo secundario a enfermedades. No obstante, si la deficiencia se prolonga en el tiempo, los mecanismos homeostáticos no son suficientes y se producen los signos clínicos característicos destacando la ceguera nocturna, xeroftalmia, infecciones y patología cutánea (139).

c) RDA y UL. La ingesta recomendada en EEUU, como equivalentes de retinol, es de 900 µg/día en hombres y de 700 µg /día en mujeres, y de 800 µg/día en la CE (123)(123)(123)(123)(123)(123)(123)(123). En ambas recomendaciones el UL es de 3.000 µg (123,141). 700 µg /día para la población española (142).

d) Fuentes Alimentarias. En general, los alimentos con un mayor contenido en vitamina A son el hígado, los aceites de pescado, la mantequilla, la leche, el queso, yema de huevo, algunos pescados grasos como atún y sardinas, las verduras de hoja oscura y las hortalizas muy pigmentadas (139).

e) En deporte. A nivel deportivo puede ser interesante ya que es crucial para el crecimiento y desarrollo normales desempeñando una función integral en el desarrollo óseo (91). El interés en su suplementación se basa en su capacidad antioxidante, pero es mayor el riesgo por su toxicidad. No existen evidencias de que la suplementación con vitamina A mejore el rendimiento físico (123).

Vitamina D

El término genérico “vitamina D” agrupa a dos moléculas distintas: el ergocalciferol o vitamina D₂ y el colecalciferol o vitamina D₃. Según la nomenclatura moderna, las vitaminas D₂ y D₃ se denominan ercalciol y calciol, respectivamente. Actualmente se considera que la vitamina D como vitamina y hormona, siendo un compuesto orgánico que actúa como micronutriente, y su ingestión es necesaria (139).

a) Funciones. La vitamina D es necesaria para una adecuada absorción del Ca, la regulación de los niveles de Ca y P en la sangre y para asegurar la salud de los huesos. Esta vitamina también regula la homeostasis de los sistemas nervioso y esquelético (123).

b) Déficit. La deficiencia continua de vitamina D produce la aparición de raquitismo y osteomalacia. Los signos más característicos afectan al esqueleto y consisten en la aparición de deformaciones óseas. Cuando estos signos aparecen, si es en niños, se denomina raquitismo, y osteomalacia cuando es en adultos (139).

c) RDA y UL. La ingesta recomendada es de 5 µg/día como ingesta adecuada en EEUU, con un máximo de 5 µg/día. Estas mismas cifras se recomiendan en la CE (141). 5 µg /día para la población española (142).

d) Fuentes Alimentarias. La principal fuente de vitamina D para la mayoría de los humanos es la endógena mediante exposición diaria a la luz del sol. Sin embargo, multitud de factores pueden disminuir e incluso suprimir la producción de vitamina D endógena. Así, la ingesta de Ca y P, la edad, el sexo o la cantidad de pigmentación de la piel pueden influir en su síntesis. En general, la vitamina D se adiciona a los alimentos en forma de ergocalciferol obtenido mediante radiación del ergosterol (139). La vitamina D la podemos encontrar en aceites de hígado de pescado, leche enriquecida y huevos (91).

e) En deporte. En el deporte empieza a emerger el interés científico sobre la vitamina D por su papel biomolecular en la formación metabólica del músculo esquelético (178,179). Asimismo, un creciente número de estudios han documentado la relación entre la prevención de lesiones, entre ellas la disminución del riesgo de fractura por estrés (180,181), reducción de la inflamación muscular y la mejora de los tiempos de rehabilitación, (182), la mejora de la función neuromuscular, y el aumento de la sección transversal del músculo (183).

Los atletas que viven en latitudes por debajo del paralelo 35 o que principalmente entrenan y compiten en el interior, tienen un mayor riesgo de insuficiencia o deficiencia de vitamina (4). La suplementación con vitamina D y Ca puede prevenir la pérdida ósea en deportistas susceptibles de presentar osteoporosis. Ningún estudio indica que mejore el rendimiento físico (123).

Vitamina E

El término “vitamina E” se utiliza a menudo para referirse a todos los tocoferoles o complejo vitamínico E, pero estrictamente hablando sólo debería aplicarse al α -tocoferol. La vitamina E es absorbida en la porción media del intestino delgado en presencia de sales biliares y lipasa pancreática. La absorción depende de la capacidad del individuo para absorber la grasa, siendo aproximadamente del 50% de una ingesta diaria normal (5-15 mg/día) (139).

a) Funciones. La vitamina E es un antioxidante muy efectivo en la protección de los ácidos grasos insaturados y otras sustancias fácilmente oxidables. Además, los tocoferoles actúan en el organismo estabilizando otras vitaminas, en particular la vitamina A. Entre las propiedades más destacables de la vitamina E, se encuentran la estabilización de membranas biológicas, la agregación plaquetaria, la hemólisis y su efecto sobre actividades enzimáticas.

b) Déficit. El déficit de vitamina E causa una variedad de cambios orgánicos histológicos, distrofia muscular, formación de pigmento lipóide, anemia, metabolismo disminuido de la creatinina, disminución de la respuesta inmunológica así como una reducción de la fertilidad (139).

c) RDA y UL. La ingesta recomendada, como equivalentes de alfa-tocoferol, en EEUU es de 15 mg/día, con un máximo de 1.000 mg/día. En la CE se recomienda una ingesta de 12 mg y un UL de 300 mg (141). 15 mg /día para la población española (142).

d) Fuentes Alimentarias. La vitamina E está ampliamente distribuida en la naturaleza. Como fuentes alimentarias ricas en dicha vitamina pueden citarse los aceites vegetales (soja, maíz, oliva, semilla de algodón y cártamo), los productos derivados de estos aceites (margarina y mayonesas), el germen de trigo, las nueces y otros cereales. En las plantas se localiza en las hojas y partes verdes, y en los animales en el tejido adiposo (139).

e) En deporte. Actúa como antioxidante evitando la formación de RL influyendo en la respuesta celular frente al estrés oxidativo durante el ejercicio intenso y en la prevención la destrucción de glóbulos rojos, además de mejorar la liberación de oxígeno al músculo durante el ejercicio (172). Las fibras tipo I (de contracción lenta) tienen una mayor concentración de alfa-tocoferol que las fibras tipo II (123). La suplementación con vitamina D y Ca puede prevenir la pérdida ósea en deportistas susceptibles de presentar osteoporosis. Ningún estudio indica que mejore el rendimiento físico (123).

La evidencia una combinación de antioxidantes o su administración individual, como la vitamina E puedan ser de ayuda en la reducción de la inflamación o dolor muscular durante el

período de recuperación tras ejercicio intenso, sigue sin ser clara. Aunque el potencial ergogénico de la vitamina E sobre el rendimiento físico no ha sido claramente documentado, los atletas de resistencia pueden tener una mayor necesidad de esta vitamina (123). En efecto, se ha demostrado que la suplementación con vitamina E reduce la peroxidación lipídica durante ejercicios de resistencia/aeróbicos y tienen un efecto limitado en los entrenamientos de fuerza. Hay evidencias de que la vitamina E puede reducir el daño inducido del ADN y mejorar la recuperación en algunos sujetos activos (123).

Los efectos de los suplementos antioxidantes son principalmente observables cuando los sujetos son inicialmente deficientes en antioxidantes por la baja o insuficiente ingesta de los mismos (184,185). Por ello, la relación entre la ingesta de antioxidantes exógenos y los efectos del entrenamiento se requiere relacionar la interpretación de los datos fisiológicos con cada caso individualmente. De hecho, la especificidad de la respuesta adaptativa es la función de factores individuales tales como el período de entrenamiento, el tipo de actividad física realizada, el nivel de entrenamiento, la edad de los sujetos, las condiciones ambientales y las infinitas diferencias interindividuales. En casos específicos, un complejo antioxidante podría ayudar a los atletas con ingestas inicialmente bajas de antioxidantes a mantener su estatus antioxidante en periodos de entrenamiento intenso (173).

Tabla 2. Parte 1. Características de las vitaminas hidrosolubles y liposolubles atendiendo a su función, ingestas recomendadas, límites tolerables y alimentos ricos en estas vitaminas.

Vitaminas	Función	Función Deporte	Insuficiencia	ESP	Europa	EEUU	FAO	Deporte	UL	Alimentos
B	<p>BI, B2, B3, B5, B6 y B7 involucradas en la producción de energía durante el ejercicio. Cofactor de varios sistemas enzimáticos en la oxidación de los alimentos y en la producción de energía.</p>	<p>BI, B2, B3, B5, B6 y B7 involucradas en la producción de energía durante el ejercicio. Ácido fólico y B12 necesarios para la producción de glóbulos rojos, síntesis de proteínas, reparación tisular y mantenimiento del SNC.</p>	<p>Deficiencia severa de vitamina B12, ácido fólico, o ambos, podrán dar lugar a anemia lo que provocaría una reducción de la capacidad de resistencia.</p>	B1-1.2	B1-1.1	B1-1.1	B1-1.2			
				B2-1.3	B2-1.3	B2-1.3	B2-1.6			
C	<p>Mejorando el metabolismo durante el ejercicio, mejorar la inmunidad y antioxidante</p>	<p>Mejorando el metabolismo durante el ejercicio, mejorar la inmunidad y antioxidante</p>	<p>Fatiga, debilidad muscular y anemia</p>	60	80	90	45	200	2000	<p>Hígado, pescado, carnes rojas, leche y huevos</p>
A	<p>Desempeña una función integral en el desarrollo óseo y Antioxidante</p>	<p>Desempeña una función integral en el desarrollo óseo y Antioxidante</p>	<p>Pérdida de apetito, propensos a las infecciones</p>	700	800	900	600	3000		<p>Todas las frutas en especial las ácidas como; kiwi, fresas, grosellas, mango, naranja. Entre los alimentos de origen animal aparece en hígado, riñón y cerebro</p>

Tabla 2. Parte 2. Características de las vitaminas hidrosolubles y liposolubles atendiendo a su función, ingestas recomendadas, límites tolerables y alimentos ricos en estas vitaminas.

Vitaminas	Función	Función Deporte	Insuficiencia	RDAS (mg/día) - Vit A, D (µg/día)				UL	Alimentos
				ESP	Europa	EEUU	FAO		
D	Necesaria para una adecuada absorción del Ca, la regulación de los niveles de Ca y P en la sangre y para asegurar la salud de los huesos. Esta vitamina también regula la homeostasis de los sistemas nervioso y esquelético	Prevención de lesiones, reducción de la inflamación muscular y aumento de la sección transversal del músculo.	Aparición de raquitismo osteomalacia	5	5	5	5	50	Aceites de hígado de pescado, leche enriquecida y huevos
E	Estabilización de membranas biológicas, agregación plaquetaria, hemólisis, el efecto sobre actividades enzimáticas	Actúa como antioxidante evitando la formación de radicales libres la destrucción de glóbulos rojos parece que mejora la liberación de oxígeno al músculo durante el ejercicio	Cambios orgánicos histológicos, distrofia muscular, formación de pigmento lipóide, anemia, ↓ metabolismo de la creatinina, ↓ respuesta inmunológica y ↓ de la fertilidad	15	12	15	10	1000	Aceites vegetales (soja, maíz, oliva, semilla de algodón y cártamo), los productos derivados de estos aceites (margarina y mayonesas), cereales. En las plantas se localiza en las hojas y partes verdes, y en los animales en el tejido adiposo

2.2.1.3. Valoración bioquímica clínica en actividad física

La evaluación bioquímica pretende estimar a nivel plasmático o celular las concentraciones o cantidades de los nutrientes, ya sean por deficiencia o por exceso, y/o de la situación de las funciones metabólicas o corporales en las que están directamente implicados (86).

La alta exigencia en los deportistas crea la necesidad de controlar el proceso de adaptación al entrenamiento. Analizar los parámetros bioquímicos es de utilidad para el control biológico del deportista y ofrece herramientas al dietista-nutricionista deportivo en el seguimiento del entrenamiento (186). El objetivo principal del control bioquímico del entrenamiento es ayudar a los entrenadores, y/o equipo multidisciplinar integrado por el fisioterapeuta, el médico y el dietista-nutricionista deportivo, a conseguir el rendimiento máximo y evitar el sobre-entrenamiento o fatiga crónica (187).

Si queremos analizar factores específicos del entrenamiento como son la extralimitación (overreaching) o el sobreentrenamiento (overtraining), la mayoría de los parámetros de la sangre (por ejemplo, el recuento de glóbulos rojos, proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, Creatina Quinasa (CK), creatinina, urea, enzimas hepáticas, glucosa, ferritina, Na y K) no son capaces de detectar por sí solas estas situaciones fisiológicas pero, sin embargo, son útiles aportando información sobre el estado de salud actual del atleta y por lo tanto en el "diagnóstico de exclusión" (124).

Si bien la bioquímica es una herramienta útil para los distintos especialistas, tenemos que tener en cuenta que para interpretar correctamente los datos es necesario conocer el comportamiento de los parámetros de laboratorio durante y después de la práctica deportiva, así como la competición (188).

En HIIT, en una revisión llevada a cabo por Tolfrey y Smallcombe (189) se observan un escaso número de estudios que recogen muestras de sangre antes y después del entrenamiento, lo que dificulta la identificación de tendencias en la variedad de metabolitos bioquímicos investigados. Siguiendo la clasificación de Banfi y cols. (188) podemos distinguir los parámetros que a continuación se describen.

1. Metabolismo hepático. Podemos encontrar la Aminotransferasa y la Bilirrubina. La interpretación de las concentraciones séricas de la Aminotransferasa en atletas, se deben considerar mediante la liberación del Aspartato Aminotransferasa (AST) del músculo y

Alanina Aminotransferasa (ALT), principalmente del hígado. Los valores de la bilirrubina puede elevarse debido a hemólisis continua, típica del ejercicio.

2. Metabolismo muscular. Entre los más destacados encontramos la CK, Lactato Deshidrogenasa. La CK se puede utilizar para la interpretación de la recuperación incompleta del deportista debido al excesivo entrenamiento o trauma, ya que la liberación fisiológica de la CK muscular puede deberse a la rabdomiólisis. Diversos marcadores cardíacos como la NT-proBNP y la Troponina, se liberan durante el ejercicio, especialmente en el entrenamiento de resistencia. Los aumentos de estos marcadores no deben interpretarse simplemente como un signo de daño cardíaco o de estrés, sino más bien como un signo de la regulación de la adaptación miocárdica.
3. Función Renal. Para valorar la función renal se utiliza la Creatinina, la Urea y la Cysteina C, siendo la primera interpretada a partir del IMC del atleta y la fase competitiva de la temporada.
4. El ácido úrico, es importante en para el seguimiento del deportista ya que es el producto terminal del metabolismo de la purina y el principal antioxidante en el plasma humano. El metabolismo de la purina a menudo se incrementa en atletas debido al alto contenido de proteína animal en su dieta y el aumento de la rotación celular.
5. La Glucosa en los deportistas experimentan adaptaciones inducidas por el ejercicio que afectan a la mejora de la sensibilidad a la insulina en comparación a la población sedentaria.
6. A partir del perfil lipídico, podemos observar que los deportistas experimentan valores superiores a los sujetos sedentarios, principalmente debido al colesterol de HDL en individuos físicamente activos, aunque existen diferencias entre las disciplinas deportivas.
7. Los marcadores para el metabolismo óseo, son importantes en el estudio del recambio óseo en los atletas y en la población general, ya que se recomienda el ejercicio físico para la prevención de la osteoporosis y los trastornos del metabolismo óseo.

Tabla 3. Valoración bioquímica del entrenamiento como herramienta para el dietista-nutricionista deportivo. (186).

Parámetro	Significado fisiológico	Interpretación
Ácido Láctico	Activación de la glucólisis en el tejido muscular. Prioritariamente implicación de las fibras de tipo FT.	Puede ser de utilidad para valorar la zona de transición aerobio-anaerobia o el UAN, la cual muestra la capacidad aeróbica del deportista. Sedentarios al 70-75% deportistas entrenados en resistencia aeróbica al 80-90% del VO2max.
Amoniaco* (NH4)	Activación de las fibras glucolíticas (FT) y fuente de para la oxidación de los Aminoácidos de cadena ramificada (AACRs).	Se utiliza como índice de actividad del metabolismo anaeróbico
Urea*	La gran producción de urea puede provenir de la dieta hiperproteica aumenta mucho el trabajo hepático y renal, también se produce acidosis y pérdida de Ca por la orina, cosa que no nos interesa para el deportista.	Indicador de carga interna e intensidad del entrenamiento. En aumentos de la urea pronunciados, pueden haber vaciado las reservas de glucógeno y en consecuencia aumento del catabolismo muscular. Es habitual en deportes de resistencia de larga duración, especialmente porque hay un vaciado de los depósitos de glucógenos muscular
CK	Actividad metabólica de organismo. Hay diferentes tipos de CK que determinan la actividad del músculo esquelético o actividad del miocardio.	Indicador de carga interna e intensidad del entrenamiento. En deportes con una mayor implicación muscular, aumenta después de la sesión de entrenamientos o competición y en ejercicios excéntricos como (correr) al haber mayor destrucción muscular inducida por microtraumatismos.
Alanina	Utilización de aminoácidos, HC y la relación entre ellos.	Su aumento se asocia a una depleción de los depósitos de glucógeno, ya que mediante el Ciclo de Cori, éste está involucrado en la gluconeogénesis, especialmente cuando los depósitos de glucógenos están vacíos.
Leucina	Índice de actividad del metabolismo de los AACR.	Su descenso puede asociarse a una depleción de glucógeno muscular. Un descenso en la alanina se relaciona con descenso de los AACR. Se puede relacionar con estados de hipoglucemia en el ejercicio que a la vez es dependiente del cortisol.
Triptófano	Índice de actividad del metabolismo de los AACR. Relacionados con los mecanismos de fatiga aguda a nivel SNC	Su aumento se relaciona con mecanismos de fatiga y está estrechamente relacionado con los AACR, ya que los dos compiten para la entrada al cerebro. Una disminución de Triptófano puede estar asociada a la aparición de cansancio a nivel SNC.
Glutamina	Relacionado con los mecanismos de fatiga crónica.	Relacionado con los mecanismos de fatiga crónica o sobre-entrenamiento. Una disminución de este AA junto a un aumento del cortisol sanguíneo, puede estar en riesgo el deportista, ya que estas dos afectan directamente en el sistema inmune.
Cortisol	Relacionado con mecanismos de fatiga crónica. Suele utilizarse para su diagnóstico utilizando el índice de Testosterona/Cortisol (I T/C).	Un aumento considerable en los niveles de cortisol, es indicador de un estrés psico-físico demasiado elevado, y no ha de mantenerse durante mucho tiempo, porque nos puede llevar a un estado de sobre-entrenamiento y decremento del sistema inmunológico, lo cual sobre todo en invierno, el deportista sería más susceptible a tener infecciones.

*Sabiendo la ingesta de proteína total, la excreción de urea y amoniaco se puede predecir la cantidad de aminoácidos que ha retenido el organismo.

CAPÍTULO 2.3. ESTRÉS OXIDATIVO Y ACTIVIDAD FÍSICA

El radical libre se define como una especie química cargada con uno o más electrones desapareados en su orbital electrónico externo y que es capaz de existir independientemente (190). El peligro de contener una gran cantidad de RL consiste en que estas especies son sumamente inestables y reaccionan con otras moléculas a su alrededor, provocando el paso de electrones libres y alterando el funcionamiento correcto de estas moléculas. La formación de los RL en el organismo es inevitable, pero estas especies no causan daño oxidativo en condiciones normales debido a que la célula está prevista de un efectivo sistema antioxidante. Los antioxidantes se definen como aquellas sustancias que a bajas concentraciones respecto a las de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación. Este proceso consiste, básicamente, en el hecho de que un antioxidante cede un electrón al radical libre, neutralizándolo, y transformándolo en una molécula inocua.

La inducción de estrés oxidativo durante el ejercicio físico se ha propuesto como una causa de daño a nivel de la membrana del miocito, lo que conduce a una exacerbada respuesta inflamatoria (191,192) y por consiguiente al padecimiento de excesivo dolor y fatiga muscular posteriores al ejercicio (193). Sin embargo, en la literatura actual existen evidentes discrepancias, tanto en la propia presencia de estrés oxidativo asociado a diferentes esfuerzos, como en los fenómenos adaptativos que podrían resultar si este desequilibrio persiste durante un período determinado (194).

En la revisión llevada a cabo por Powers y cols. (195) se destaca que la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), e incluso la propia presencia de estrés oxidativo inducido por el ejercicio ejercen un papel relevante en la efectividad de la contracción muscular. Tomemos como ejemplo el modelo teórico propuesto por Reid y cols. (196) sobre el efecto bifásico del estado oxidativo en la producción de fuerza muscular máxima. Su modelo explica cómo el estado redox del músculo es una variable fisiológicamente regulada que mantiene el equilibrio al igualar las tasas de producción de ROS con la capacidad antioxidante celular. Lo que clarifica la existencia de un estado redox celular óptimo, en el que las condiciones son ideales para la producción de fuerza muscular y que una desviación del equilibrio redox más favorable conduce a una disminución en la producción de fuerza.

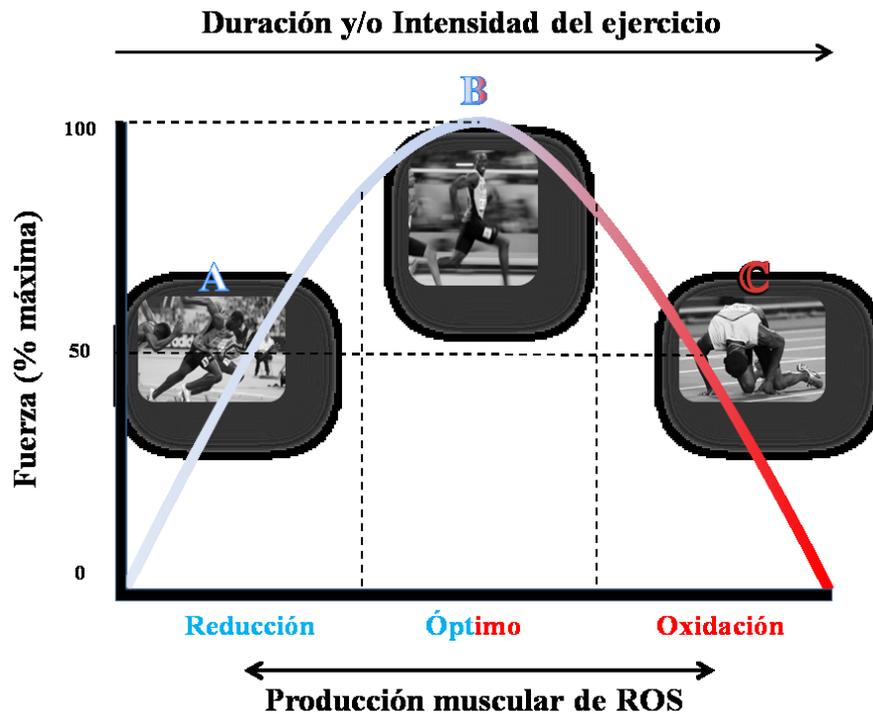


Figura 3. Modelo teórico sobre el efecto bifásico del estado oxidativo en la producción de fuerza muscular máxima. Adaptada de Reid (196). A: fuerza isométrica máxima generada por un músculo no fatigado sin el agregado de oxidantes o antioxidantes; B: fuerza máxima alcanzada con un estado redox óptimo, que implica la exposición a un nivel bajo de oxidantes, pero también a compuestos reductivos; C: empeoramiento de la fuerza máxima frente a un nivel excesivo de ROS en el músculo.

El aumento de la frecuencia y el consumo de oxígeno metabolizado por las fibras musculares, así como el aumento de la temperatura y la disminución del pH de las células musculares durante el ejercicio, podría acelerar la producción de RL (197). A pesar de que actualmente existen debates sobre los orígenes de la producción de ROS durante el ejercicio, el músculo esquelético se ha considerado como la principal fuente de generación de ROS (198). Los principales lugares donde se localiza la generación de ROS es en las mitocondrias de los músculos activos durante el ejercicio, siendo importantes en su valoración la xantina oxidasa, adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa nicotinamida, procesos fosfolipasa A2 dependientes, y algunas células inmunes incluyendo macrófagos, monocitos, neutrófilos y eosinohpils (195).

El aumento de los niveles de catecolaminas, así como aumento de la liberación de metamioglobina de músculo dañado y la interacción de metmioglobina y metahemoglobina con peróxidos durante el ejercicio también se han propuesto como mediadores de la generación de ROS (199).

2.3.1. Defensas antioxidantes primarias y secundarias

Los sistemas antioxidantes se pueden diferenciar en primarios (constituidos por enzimas como la SOD y la CAT, así como otras del ciclo redox del glutatión) y en secundarios (moléculas antioxidantes) (200).

Los sistemas antioxidantes primarios previenen el fenómeno oxidativo impidiendo la formación de los RL o directamente eliminando a los agentes oxidantes. Aquí se incluyen moléculas como la vitamina E, el ácido ascórbico, los beta-carotenos, el ácido úrico y algunas enzimas como SOD, GPx, CAT y DT-diaforasa (201).

Los sistemas antioxidantes secundarios actúan de forma complementaria a los primarios, eliminando los productos nocivos formados durante la oxidación e impidiendo su acumulación. En este grupo encontramos a las enzimas de reparación del ADN, exonucleasas y endonucleasas, enzimas proteolíticas (proteasas y peptidasas), enzimas lipolíticas (fosfolipasa A2) y transferasas. Con la salvedad de los sistemas de reparación del ADN, las restantes enzimas metabolizan los ácidos nucleicos, proteínas y lípidos que han sido dañados por las ROS, ya que dichas moléculas una vez dañadas dejan de cumplir sus funciones biológicas, y su permanencia las convertiría con toda probabilidad en agentes nocivos (48).

2.3.2. Sistemas antioxidantes en función del mecanismo de acción

Los mecanismos de acción de las distintas defensas antioxidantes las podemos centrar en tres campos: mecanismos de prevención (sistemas primarios), mecanismos eliminadores de RL y sistemas enzimáticos de reparación de origen endógeno (sintetizados por el organismo) o exógeno (aportados a través de la dieta). En la siguiente Figura podemos ver donde actúan los distintos antioxidantes (200).

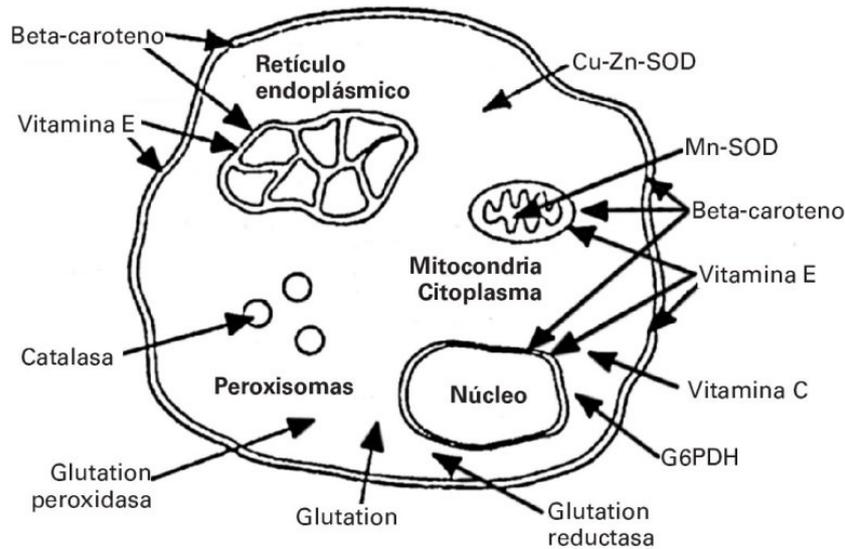


Figura 4. Célula eucariota: Lugar específico de acción de cada antioxidante (200).

2.3.2.1. Sistemas antioxidantes endógenos

La mayoría de las células poseen una batería de enzimas que desechan las ROS. Este sistema antioxidante enzimático es modulado por varios factores, entre los que el ejercicio físico desempeña un importante papel, como ha sido demostrado en diferentes estudios (202,203).

A. Superóxido Dismutasa.

La SOD posee dos isoformas clasificadas según el ión metálico ligado a su sitio activo (Cu-Zn o Mn) (204) y es la principal defensa contra los radicales superóxido (O_2^-) y es la primera línea de defensa contra el estrés oxidativo (203). La SOD representa un grupo de enzimas que catalizan la dismutación de O_2^- y la formación de H_2O_2 como se representa en la siguiente ecuación química:



Las concentraciones en plasma son muy bajas o nulas. Su concentración mayor parece encontrarse en los sitios donde puede producirse oxígeno. En las células musculares, el 65-85% de la actividad de SOD se realiza en el citosol (203).

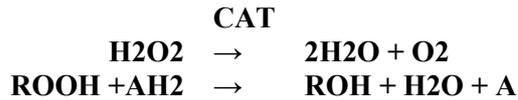
La familia de las SOD ha ido en aumento y ya se han descubierto al menos tres miembros además de las dos proteínas inicialmente detectadas (la Mn SOD mitocondrial y la Zn/Cu SOD citoplasmática, que dan cuenta del 100% de la actividad SOD intracelular), la Esc-SOD es de localización extracelular. El Mn es un cofactor de la forma Mn-SOD, que está presente en las mitocondrias, así como en el cobre y el zinc, que son cofactores de Cu-Zn-SOD, presentes en el citosol (202).

Existe variación en la distribución de las isoformas de SOD a través de los tejidos; por ejemplo, en el músculo esquelético, el 65-85% de la actividad total de SOD existe en el citosol, mientras que el 15-35% de la actividad total de SOD está en la mitocondria (205). Además, se debe tener en cuenta que la actividad SOD es mayor en los músculos con una alta capacidad oxidativa, es decir, los que cuentan con un alto porcentaje de fibras tipo I (fibras lentas o rojas) en comparación con los músculos con baja capacidad oxidativa, los que contienen un alto porcentaje de fibras tipo IIb (rápido o blancas) (206,207).

B. Catalasa

Se trata de una enzima ferroporfirínica intracelular. Para mantener la actividad catalítica, el CAT requiere Fe^{3+} como cofactor (208) y se encuentra principalmente en los peroxisomas (80%) y el citosol de las células, aunque también está presente en las mitocondrias y otros orgánulos (209). La concentración de catalasa varía en las diferentes localizaciones celulares, y entre los diferentes tejidos del organismo, siendo su concentración baja o ausente en plasma (210), mientras que abunda y es muy activa tanto en hígado como a nivel eritrocitario (209).

Puede ser el antioxidante celular más importante cuando se escapa de las células necrosadas, autolimitando la extensión del daño por RL y ejerce su acción sobre el peróxido de hidrógeno de forma muy eficaz. La función de la catalasa es doble, ya que por un lado cataliza la descomposición de peróxidos de hidrógeno en agua y oxígeno, y por otro ejerce una función peroxidica, produciendo la oxidación de donadores de hidrógeno como el metano, los fenoles o el etanol con consumo de peróxidos como el H_2O_2 (211).



El predominio de la reacción catalítica o peroxidica depende tanto de la concentración de peróxido de hidrógeno en el sistema como de la concentración de donadores de hidrógeno. Si bien existe una superposición entre la función de la CAT y GPx, las dos enzimas difieren en su afinidad por el H₂O₂ como sustrato, ya que la GPx de mamíferos tiene una afinidad mucho mayor por el H₂O₂ a bajas concentraciones en comparación con la CAT. Por lo tanto, cuando los niveles celulares de H₂O₂ son bajos, la GPx es más activo que la CAT para eliminar el H₂O₂ de la célula (207).

Aunque la CAT se distribuye ampliamente en la célula, se encuentra a altas concentraciones tanto en peroxisomas como en mitocondrias (212). Al igual que otras enzimas antioxidantes primarias, la actividad de la CAT es mayor en fibras musculares con altas capacidades oxidativas y menor en fibras musculares con bajas capacidades oxidativas (207).

C. Glutación Peroxidasa

Cataliza la reacción de los hidroperóxidos con el glutatión reducido (GSH) para formar glutatión disulfuro oxidado (GSSG) y el producto de la reducción del hidroperóxido:



La enzima GPx usa GSH como donante de electrones y requiere Se como cofactor siendo GPx es altamente específico para su donador de electrones GSH ya que tiene una baja especificidad para los sustratos. Es decir, GPx reducirá una amplia gama de hidroperóxidos, desde H₂O₂ a hidroperóxidos orgánicos complejos (212). Esta clara falta de especificidad de sustrato aumenta su capacidad de acción y es un importante protector celular contra el daño mediado por ROS a los lípidos de la membrana y otras moléculas sensibles a la oxidación (203). En el estado estable se requiere la regeneración del GSH por la reducción del GSSG. La GSSG reductasa, dependiente del NADPH, tiene una distribución subcelular similar a la de la glutatión

peroxidasa. La oxidación une la acción de la glutatión peroxidasa con los sustratos unidos al NADPH. En situaciones de estrés oxidativo la actividad peroxidasa la realizan las glutatión transferasas con aumento de la actividad peroxidasa y disminución de la actividad transferasa (213,214).

Similar a la SOD, la actividad de la GPx varía a través de los tipos de fibras musculares, con fibras tipo I (rojas o lentas), que contienen la actividad más alta, y fibras tipo IIb (blancas o rápidas), que poseen la actividad más baja (207,215). La GPx se encuentra tanto en el citosol como en la mitocondria. En el músculo esquelético, en el que existen tipos de fibras mixtas, aproximadamente el 45% de la actividad de esta enzima se encuentra en el citosol, y el 55% restante se encuentra en la mitocondria (215). Este hecho permite a la GPx eliminar H₂O₂ e hidroperóxidos tanto en el citosol como en la mitocondria (216).

D. Glutathion Reductasa

GR tiene una distribución celular que es similar a la GPx, y su actividad es mayor en los músculos oxidativos en comparación con los músculos con baja capacidad oxidativa. Aunque GR no se considera una enzima antioxidante primaria, es una enzima esencial para la función antioxidante normal de GPx (203).

Es una flavoproteína que cataliza la reducción de NADPH que depende del disulfuro de GSSG a GSH. La reacción es esencial para el mantenimiento de los niveles de glutatión. Esta molécula tiene un importante papel como reductor de los procesos de óxido-reducción, actuando también en los procesos de detoxificación y en otras funciones celulares de gran importancia. La actividad de esta enzima permite mantener los niveles de GSH para la acción de la glutatión peroxidasa. Es beneficioso, por tanto, un elevado balance GSH/GSSG para el mantenimiento de la salud, ya que se promueve la detoxificación del peróxido de hidrógeno y de otros agentes tóxicos externos como la N-Acetilcisteína y otros compuestos con puentes sulfhidrilos, que pueden actuar como antioxidantes al contribuir a la síntesis de glutatión y aumentar la eliminación de los RL (201)

2.3.2.2. Sistemas antioxidantes exógenos

Son compuestos principalmente exógenos teniendo como característica que se consumen durante su acción antioxidante, por lo que deben ser reemplazados. Proviene

fundamentalmente de la dieta. Como antioxidantes de bajo peso molecular no enzimáticos podemos encontrar entre otros el beta-caroteno, el ácido úrico, la ceruloplasmina (Cp), la transferrina, la taurina, el dimetilsulfóxido (DMSO), la dimetilformamida (DMPO), quelantes de metales pesados, taninos, alcaloides del Ginkgo biloba, Se, lactoferrina, tioxantina, hidroxantina (atrapador del radical OH), los ácidos nordihidroguayarático y tiazolidincaboxilo y las vitaminas E y C (201). En lo que a la función de los micronutrientes como antioxidantes se refiere la podemos encontrar en la Tabla 2.

A. Tioles

Los tioles, moléculas que contienen un grupo de cadena lateral de sulfhidilo (SH), actúan como antioxidantes, estabilizando RL al aceptar su electrón desapareado. La metionina y la cisteína son dos aminoácidos esenciales del tiol que se metabolizan en el potente y probablemente más importante antioxidante endógeno, el glutatión. Los niveles adecuados de esta molécula GSH, son cruciales para mantener el equilibrio de redox dentro de los tejidos corporales, siendo la proporción de de glutatión reducido a oxidado un indicador primario de este estado. Una relación más alta de GSH a GSSG sugiere un entorno reductor donde los niveles de ROS se mantienen a niveles homeostáticos, mientras que un bajo índice de GSH a GSSG es indicativo de estrés oxidativo (217). La cisteína que le da al GSH su actividad antioxidante, como la cisteína también limita la velocidad de su formación, y la cisteína dietética o su aminoácido precursor (metionina), es crucial para mantener la defensa antioxidante endógena. Además de GSH, los tioles dietéticos tienen la capacidad de aumentar los niveles de taurina, otro potente antioxidante del tiol, a través de la vía del ácido cisteína-sulfínico (218).

B. Glutatión reducida

Es un compuesto peptídico de la familia de los tioles, que tiene un papel fundamental en la defensa antioxidante del miocito, y por lo tanto es de gran interés en relación con el ejercicio. Además del reciclaje intracelular de GSH a partir del GSSG formado por acción de la GPx, el GSH es sintetizado ex novo en el hígado y transportado posteriormente hacia los tejidos a través de la circulación sanguínea. Su concentración celular es dependiente de la actividad metabólica del tejido (219) y su importancia se debe a que actúa de tres formas: a) reaccionando directamente con diferentes FR como un dador de electrones; b) sirviendo como sustrato para la

GPx en su reacción antioxidante y c) reduciendo las formas oxidadas, y por lo tanto reciclando el poder antioxidante de otros compuestos como las vitaminas C y E. Diferentes estudios han mostrado que el contenido muscular de GSH se incrementa en respuesta a la práctica regular de ejercicios de resistencia de alta intensidad (>80% VO₂máx) (220,221).

C. Ubiquinona (Coenzima Q)

La coenzima Q, también llamada ubiquinona, es un compuesto lipofílico natural que se encuentra en todas las células vivas cuya forma más abundante en humanos y en la mayoría de los animales es la Q₁₀ (CoQ₁₀). Además de la síntesis endógena, los alimentos también son una fuente de CoQ₁₀, como la carne, pescado, nueces y ciertos aceites vegetales, que son las fuentes nutricionales más ricas (222), sin embargo, su consumo dietético se limita a solo un pequeño porcentaje (223).

La CoQ₁₀ es un componente clave de la cadena respiratoria mitocondrial, pero también es conocido por sus propiedades antioxidantes (224). Puede actuar como bloqueante de los RL, además de su papel en la cadena respiratoria mitocondrial, puede actuar como antioxidante son previniendo la peroxidación lipídica o la propagación de la reacción en cadena (201). Sobre todo en su forma reducida, el CoQ₁₀ es un antioxidante eficaz con capacidad para proteger contra la peroxidación lipídica, la oxidación del ADN y la proteína, y para regenerar también las vitaminas C y E (202,222).

En lo que al deporte se refiere, la suplementación con CoQ₁₀ presenta controversia sin alcanzar niveles altos de evidencia como señala la ADA y el ACSM mediante su artículo (119) y la Federación Española de Medicina del Deporte FEMEDE (123). Aunque si bien podemos encontrar estudios recientes como el llevado a cabo por Emami y cols. (225) donde un grupo de 36 nadadores de elite suplementados con 300mg/día de CoQ₁₀ durante dos semanas, mejoraron el nivel de actividad de GPx, SOD y CAT.

D. β-Carotenos

Los carotenoides están presentes en plantas, algas y microorganismos, y se dividen en dos clases, carotenos y xantofilas (226). Las principales fuentes dietéticas de carotenoides son las frutas y las verduras (227).

Los carotenos más abundantes en la dieta son el β -caroteno y el licopeno, mientras que la luteína, la β -criptoxantina, la zeaxantina y la astaxantina son las xantofilas más comunes (Riccioni, 2009). Los carotenoides son antioxidantes eficientes y constituyen un componente importante del sistema de defensa antioxidante en humanos al proteger contra el estrés oxidativo, reaccionando con determinados RL, como el peróxido, el hidroxilo, el anión superóxido, el ácido hipocloroso y otras especies reactivas, e inhibiendo la peroxidación lipídica (227).

La mayoría de estudios en deportistas utilizan la suplementación con carotenoides en combinación con otros antioxidantes (123). En un estudio realizado por Djordjevic y cols. (228) empleando como carotenoides la astaxantina (4 mg) en 32 jugadores jóvenes de fútbol profesional durante 90 días, se observó un efecto positivo de la suplementación en los niveles de CK y en el estado antioxidante total, mientras que no se observaron cambios en la SOD.

E. Polifenoles

Los polifenoles son el grupo más grande de fitoquímicos de reconocida acción antioxidante (229). Los flavonoides son el grupo más grande de compuestos polifenólicos, contando con más de 4000 variedades identificadas distribuidas entre frutas, verduras, nueces, té y vino (230–232). Un gran número de publicaciones, ha sugerido que estos compuestos tienen propiedades inmunomoduladoras, antioxidantes y antiinflamatorias (231,232). Los flavonoides parecen ejercer su actividad antioxidante al secuestrar ROS (233) y al alterar la producción de ROS inhibiendo la NADPH oxidasa, la xantina oxidasa y la mieloperoxidasa (234). Además, también tienen la capacidad de inhibir la peroxidación lipídica, quelar metales redox activos, activar enzimas antioxidantes y reducir los radicales α -tocoferol (235). Se han propuesto algunos mecanismos para explicar los efectos antiinflamatorios de los flavonoides, como la reducción de las actividades de las enzimas metabolizadoras del ácido araquidónico (fosfolipasa A2, ciclooxigenasa, lipoxigenasa), la inhibición de la óxido nítrico sintasa, la inhibición de moléculas proinflamatorias (IL-1b, IL-2, IL-6, TNF- α , entre otros), y la modulación de la expresión génica proinflamatoria (232).

En lo que a la suplementación se refiere podemos ver que la evidencia es insuficiente para hacer recomendaciones a favor o en contra del uso de suplementos de polifenoles (ni polifenoles específicos ni dosis específicas) para atletas recreativos, competitivos o de elite como recoge en su revisión Myburgh (236).

F. Otros antioxidantes

Se están descubriendo numerosos compuestos antioxidantes de interés biológico, como el glutatión (tripéptido formado por cisteína, glicina y glutamina). La acción antioxidante de la mayoría de éstos se conoce *in vitro*, quedando por determinar su acción real *in vivo*. Entre las moléculas proteicas no enzimáticas de localización plasmática se conocen la Cp, la transferrina, la albúmina, la haptoglobina, y la hemopexina. Existe un grupo de pequeñas moléculas no enzimáticas y de pequeño peso molecular antioxidantes como el ácido úrico, la bilirrubina, el licopeno, la luteína, la zeoxantina, los polifenoles, la vitamina K, etc. (201).

Una de las moléculas que ha mostrado efectos protectores más favorables para los deportistas, debido a sus acciones antioxidantes y sobre otros muchos órganos y funciones, es la MEL, cuya potencial utilización en los deportistas a pesar de la escasa difusión de los resultados de los estudios sobre sus efectos en el ejercicio físico.

CAPÍTULO 2.4. MELATONINA Y ACTIVIDAD FÍSICA

Hace tres siglos, el filósofo francés René Descartes describió la glándula pineal como "la sede del alma", pero no fue hasta final de los años cincuenta que se identificó la MEL, principal sustancia secretada por la glándula pineal (237).

2.4.1. Melatonina. Generalidades

La melatonina (MEL) (N-acetil-5-metoxitriptamina) fue descubierta hace más de cincuenta años (237) y desde la primera revisión bibliográfica sobre la melatonina por López-Muñoz y cols. (238), la MEL ha adquirido un papel cada vez más importante como molécula reguladora de los ritmos circadianos, el sueño, el apetito y hasta la reproducción. En consecuencia, podemos observar que el mayor número de artículos citados referente a esta molécula tratan sobre la fisiología del sueño, la reproducción, los ritmos circadianos y el estrés oxidativo (239).

La síntesis de MEL ocurre en la glándula pineal y en los tejidos extrapineales como pueden ser la retina, el timo, linfocitos B, hígado y otros órganos, principalmente el intestino. También ha sido encontrada en invertebrados, bacterias, organismos unicelulares incluso plantas (240). La molécula precursora para la síntesis de MEL es el triptófano, aminoácido

esencial que se transforma posteriormente en serotonina, y después de dos reacciones secuenciales que implican las enzimas serotonina-*N*-acetil transferasa (NAT) e hidroxindole-*O*-metil transferasa (HIOMT), se obtiene la MEL (241,242). La MEL procedente de la glándula pineal pasa libremente a través de las membranas y se distribuye por el organismo, mientras que la MEL procedente de la retina aparentemente actúa localmente dentro de los ojos (243).

La producción de MEL procedente de la glándula pineal es controlada por una señal circadiana del núcleo supraquiasmático (SCN), que a su vez está asociada al fotoperíodo (244). Las señales del SCN alcanzan el pinealocito a través de una vía compleja que implica el núcleo paraventricular y la columna de la célula torácica intermedia superior. A partir de aquí, las fibras se proyectan hacia los ganglios cervicales superiores que envían las fibras noradrenérgicas simpáticas postganglionares a la glándula pineal. Durante la noche, esta vía está activa y libera norepinefrina a partir de las fibras simpáticas que, a su vez, activan la adenilato ciclasa a través de receptores β 1-adrenérgicos en el pinealocito (245).

Los mecanismos de acción mejor descritos de la MEL son los que se producen a través de sus receptores. Existen dos tipos de receptores para la MEL, los ML1 o receptor de alta afinidad (detectado a nivel picomolar), y los ML2 o receptor de baja afinidad (detectado en nanogramos). La activación de los ML1, que pertenecen a la familia de las proteínas unidas a la guanosina trifosfato, provoca la inhibición de la actividad de la adenilato-ciclasa en las células diana. Estos receptores probablemente estén implicados en la regulación de la función retiniana, los ritmos circadianos y la reproducción. Los receptores ML2 se encuentran acoplados a la estimulación de los compuestos fosfoinositoides, aunque su distribución no está suficientemente documentada (246).

La MEL tiene una doble función en el organismo: sincronizar funciones y proteger las células del daño oxidativo/inflamatorio. Esto explica por qué la MEL extrapineal actúa de manera diferente a la de la pineal, y tiene mecanismos reguladores diferentes. Mientras que la MEL producida por la glándula pineal puede regular en cierta medida la síntesis de MEL extrapineal, esta última es probablemente controlada por mecanismos adicionales incluyendo el estado redox de la célula. Además, las propiedades antioxidantes y anti-inflamatorias de la MEL requieren mayores concentraciones de esta indolamina que las producidas y liberadas por la glándula pineal. Esto también puede explicar las concentraciones más altas de MEL en tejidos y órganos en comparación con sus niveles séricos. Finalmente, la síntesis de la MEL por las mismas células que expresan su membrana y receptores nucleares apoyan las acciones intra, auto, y paracrinas de esta indolamina, favoreciendo así su potencial homeostático (247).

A consecuencia de las propiedades ya citadas anteriormente de la MEL como son las: antioxidantes y anti-apoptóticas, se ha sugerido un papel en la regulación inmune por su potencial papel autocrino y paracrino, aunque los mecanismos moleculares implicados en la función inmunorreguladora aún no se han aclarado. La función de la MEL sobre el sueño es principalmente de carácter cronobiológica (248).

En otras líneas de investigación distintas al deporte, se han demostrado beneficios cognitivos en pacientes con Alzheimer, y actuando sobre el crecimiento y la división de las células cancerígenas en el cáncer de mama, aunque los mecanismos subyacentes de esta función no son claros aún (248). En la siguiente figura podemos observar las distintas funciones de la MEL.

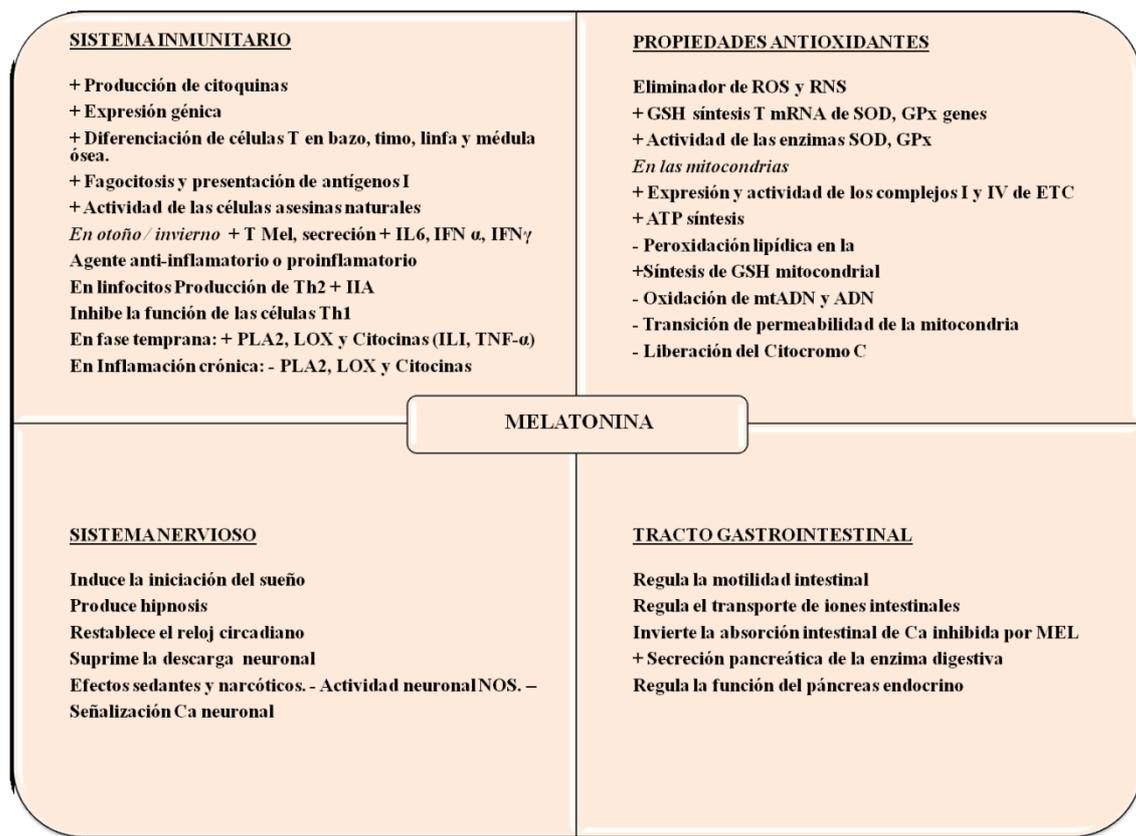


Figura 5. Efectos de la melatonina en diferentes tejidos y sistemas. CAT: catalasa; ETC: cadena de transporte de electrones; GPx: glutatión peroxidasa; GSH: glutatión; IFN α : interferón alfa; IFN γ : interferón gamma; IL: interleucina; iNOS: óxido nítrico sintasa inducible; LOX: lipoxigenasa; ADN mitocondrial; NOS: óxido nítrico sintasa; PLA2: fosfolipasa A2; RNS: especies reactivas del nitrógeno; ROS: especies reactivas del oxígeno; SOD1: superóxido dismutasa uno; Th1: tipo 1 linfocitos T auxiliares; Th2: tipo 2 linfocitos T auxiliares; TNF- α : factor de necrosis tumoral alfa. (248).

En cuanto a la toxicidad de la MEL exógena, en una revisión llevada a cabo por Andersen y cols. (249), concluye que tanto en animales como en humanos el uso a corto plazo de la MEL es seguro, incluso en dosis extremas. Ningún estudio indica que la MEL exógena posea efectos adversos graves. Además, en estudios clínicos aleatorios se indicó que la administración a largo plazo sólo induce efectos adversos leves. Teniendo en cuenta lo ya citado las dosis administradas de la MEL que garanticen su absorción por la mucosa se encuentra en el rango de 3 a 20 mg (250).

Con respecto a la MEL que podemos encontrar en los alimentos de especial interés es la dieta mediterránea, ya que tradicionalmente se originó en las zonas donde se cultivaban las aceitunas (*Olea europaea* L), la vid (*Vitis vinifera* L) produciendo el aceite de oliva y el vino para consumirlo de forma regular, siendo estos alimentos fuentes ricas de MEL. Además de estos productos alimentarios, otros componentes principales de la dieta mediterránea incluyen granos enteros, frutas, verduras, legumbres y frutos secos; el yogur y el queso así como fuentes de proteínas los productos lácteos, pescados y carnes blancas (251). La siguiente tabla resume los principales alimentos de origen vegetal de la dieta mediterránea, así como otros alimentos que contienen MEL y su concentración relativa.

Tabla 4. Contenido de melatonina en algunos alimentos de origen vegetal (252,253).

Nombre común	Nombre científico	Contenido de melatonina
Fresa	<i>Magna Pragma</i>	12 pg/g
Manzana	<i>Malus domestica</i>	48 pg/g
Plátano	<i>Musa sapientum</i>	0.236 pg/g
Bayas de uva (piel)	/	5-96 pg/g
Tomate	<i>Lycopersicon esculentum</i>	32 pg/g
Zanahoria	<i>Carota paucus</i>	55 pg/g
Patata	<i>Solanum tuberosum</i>	0
Arroz	<i>Oryza sativa japonica</i>	1006 pg/g
Maíz dulce	<i>Zea mays</i>	1366 pg/g
Vinos de Italia u tipos de vino	/	4000-5000 pg/ml
Cerveza	/	52-170 pg/ml
Aceite de oliva virgen extra	/	70-119 pg/ml

2.4.2. Melatonina como antioxidante

Respecto al papel de la MEL como antioxidante frente a la eliminación de RL, se conocen estudios desde la década de los 90 (254). Más adelante se descubrieron efectos antioxidantes indirectos, ya que la MEL estimula otras enzimas antioxidantes como son la GPx y la GR (255,256). Estas funciones antioxidantes indirectas de la MEL, pueden potenciar aún

más su acción antioxidante como factor endógeno clave en la limitación de los daños de los RL (257).

La actividad antioxidante de la MEL se realiza a nivel de todos los compartimientos celulares (membrana, citosol, mitocondria y núcleo). La MEL, al ser muy lipofílica, atraviesa todas las membranas celulares, además de las barreras hematoencefálica y placentaria (201). Entre las funciones de la MEL como un antioxidante se conocen la función neutralizante directa de RL, la estimulación de la actividad de enzimas antioxidantes mediante la regulación de la expresión génica de determinadas enzimas de óxido-reducción, el incremento de la eficiencia de la fosforilación oxidativa mitocondrial además de reducir la eliminación de electrones, y el aumento en la eficiencia de otros antioxidantes.

Los metabolitos intermediarios de la MEL, como el N-acetil-N-formil-5-methoxykynuramine (AFMK) y el N-acetil-5-methoxykynuramine (AMK) también realizan funciones antioxidantes, (258,259), en lo que se ha definido como “la cascada antioxidante de la MEL” (melatonin’s antioxidant cascade) (260). Por lo tanto, los metabolitos de primera, segunda y tercera generación de MEL han demostrado ser excelentes eliminadores de RL (261). Este fenómeno permite neutralizar hasta 10 tipos distintos de ROS, lo que contrasta con los captadores de RL clásicos, que desintoxican una sola molécula oxidante (257).

Además de los medios ya mencionados, una variedad de factores ayudan probablemente a la MEL en la reducción de la carga total oxidativa del organismo. Como se resume en la siguiente Figura 6, la MEL no sólo neutraliza una serie de moléculas reactivas tóxicas, también modula las actividades de una amplia variedad de enzimas que determinan la cantidad de ROS/RNS. Asimismo, existen factores fisiológicos y metabólicos que probablemente contribuyen a la alta eficacia de la MEL, así como sus metabolitos, en la reducción de daño oxidativo. A consecuencia de la inflamación de las células se producen RL, es por ello que al tener la MEL propiedades antiinflamatorias, se reduce indirectamente los daños producidos por los RL (262,263).

Características fisiológicas y metabólicas	Detoxificación de ROS/RNS	Modulación de las enzimas redox
<ul style="list-style-type: none"> • Distribución universal en animales y plantas • Disponibilidad endógena y exógena • Cruce las barreras morfofisiológicas • Elevadas concentraciones intracelulares • Antiinflamatorio • Vincula metales de transición • Sinergiza con otros antioxidantes • Reduce la fuga de electrones de ETC • Fortalece los ritmos circadianos • Tanto las acciones mediadas por receptores como las independientes del receptor • Interacciones con ubiquitina/ proteasoma • Distribución ubicua • Niveles muy altos en el LCR 	<ul style="list-style-type: none"> • Anión de superóxido • Peróxido de hidrógeno • Radical hidroxilo • Peroxinitrito • Oxígeno singlete • Óxido nítrico • Radical peróxilo • Radical alcoxilo • Otros radicales orgánicos 	<ul style="list-style-type: none"> • Superóxido dismutasa • Glutación peroxidasa • Glutación reductasa • Glutamyl cysteine ligase • Ciclooxygenasa • Heme-oxigenasa • Óxido nítrico sintasa • Paraoxonasa • Mieloperoxidasa • Lipoxigenasa • Catalasa

Figura 6. La melatonina y sus metabolitos en la función antioxidante (257).

2.4.3. Melatonina y actividad física

La MEL es de gran utilidad para la actividad física ya que ejerce un efecto homeostático sobre la función mitocondrial, la mejora cardiaca, la actividad de las mitocondrias musculares, esqueléticas y la producción de ATP (264). Asimismo, la MEL puede capturar directamente ROS, al igual que varios de sus metabolitos, generados por dicha actividad, siendo los principales antioxidantes endógenos que promueven la expresión y actividad de las enzimas antioxidantes incluyendo SOD, GPx y CAT (247,265,266). De hecho, los efectos beneficiosos por los cuales la suplementación con MEL se asocia a una mejor respuesta al estrés oxidativo que se produce durante el ejercicio intenso en humanos (36), aunque aún queda mucho por clarificar, fundamentalmente debido al tipo de ejercicio, la dosis administrada, así como el momento y tiempo de administración. De la misma manera, la relación entre la asociación del estado antioxidante asociada al daño de ADN en los sujetos tratados con MEL aún no está clara. Además, se ha demostrado recientemente que el tratamiento con MEL podría revertir la inflamación en el músculo esquelético y el estrés oxidativo inducido por el ejercicio vigoroso en modelos animales, lo que sugiere que puede ayudar a mejorar la recuperación de los atletas después de un ejercicio exhaustivo (267).

Antes de analizar la MEL como suplementación, deberíamos ver primero la relación que existe entre la producción de MEL endógena y el ejercicio. En este sentido, existe cierta controversia ya que por un lado se ha demostrado que los niveles de MEL aumentan en relación al entrenamiento intensivo (268,269), mientras que por otro disminuyen. Así, en el estudio llevado a cabo por Davis y cols. (270) que evaluó la producción de la MEL durante una prueba de ultra-resistencia, se observó que después de la carrera, los niveles de MEL disminuyeron tras el ejercicio a pesar de su aumento por la noche, de lo que podemos deducir que los niveles de MEL no se ven afectados por este ejercicio, al menos en lo que a la respuesta aguda se refiere. Resultados similares encontramos en los estudios de Miyazaki y cols. (271) utilizando un tipo de ejercicio extensivo y Elias y cols. (272) mediante la realización del test de Bruce en el que se evaluaron posibles influencias sobre el $VO_2\text{max}$. Tal controversia puede deberse a las diferentes condiciones de iluminación y la hora del día en que los sujetos realizaron la actividad física. En una revisión llevada a cabo por Atkinson y cols. (273) recoge evidencias de que distintos tipos de ejercicio en cuanto a intensidad y duración, pudieron ser un factor mediador en los ritmos de secreción de la MEL.

En cualquier caso, la MEL podría mejorar el rendimiento físico ya que los atletas necesitan proporcionar una alta sostenibilidad en el suministro de oxígeno a los músculos involucrados en dicha actividad. Esto se logra en gran medida con el aumento del gasto cardíaco, junto con adaptaciones en los músculos entrenados y la mejora de los efectos negativos del estrés oxidativo relacionados con el ejercicio (36). En cuanto a los efectos positivos de la MEL que podrían ayudar en la actividad física sobre el sistema cardiovascular, encontramos que la administración de MEL presentó efectos inhibidores del tono simpático reduciendo los niveles de catecolaminas y dopamina, la frecuencia cardíaca y la presión arterial en hombres despiertos colocados en posición supina (274). Estos efectos podrían favorecer la recuperación de los atletas proporcionando un mayor descanso. Por otro lado, existe un aumento del volumen sistólico de eyección, elevando el gasto cardíaco mediante la administración de MEL. Tales efectos quedaron ya recogidos en el estudio de Bosnian y cols. (275) en el modelo animal suplementado con 0.2 a 0.3 g/kg de MEL.

La administración de la MEL tiene efectos protectores contra el daño causado por el ejercicio agudo o extenuante en rata, como queda recogido en el estudio de Veneroso y cols. (276), donde apreciaron una reducción de la CK elevada por el ejercicio agudo así como de la creatina, la isoenzima cardiospecífica de CK (CK-MB) en el músculo cardíaco, además de la reducción de la $TNF-\alpha$ y de los niveles de IL-1 e IL-6 en el corazón, lo que sugiere una mejor respuesta reduciendo los procesos de inflamación. En estudios con animales (277) está bien documentado que la MEL reduce el daño muscular del corazón después de la lesión por

isquemia/reperfusión. Por tanto, es razonable concluir que la suplementación con MEL podría reducir el riesgo de infarto agudo de miocardio y de la lesión miocárdica aguda asociada con el ejercicio (36).

Siguiendo la línea de la utilización de la MEL para la reducción del estrés oxidativo, encontramos el estudio realizado por Ochoa y cols. (278) en deportistas suplementados con MEL que realizaban una prueba de ultra-resistencia, concluyendo que tal suplementación resultó eficaz en la reducción de los niveles de peroxidación lipídica y un aumento significativo de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx, y la reducción de la TNF- α . También se han encontrado dichos efectos en otros deportes, como en un estudio llevado a cabo por Maldonado y cols. (279) en futbolistas suplementados con 6 mg de MEL antes del entrenamiento, en el que concluyen que los sujetos tratados mejoraron el sistema de defensa antioxidante y el metabolismo de los lípidos mejorando el rendimiento.

Otros efectos de la MEL sobre el ejercicio son los relacionados con el metabolismo. Se ha demostrado que la suplementación con MEL antes del ejercicio preserva los niveles de glucógeno almacenado a través del intercambio de HC y la utilización de lípidos, manteniendo la glucemia y la reducción del β -hidroxibutirato (cuerpo cetónico que participa en el metabolismo anaeróbico), así como el lactato en plasma y en el hígado (280,281). La MEL tiene efectos sobre la estimulación de la fosforilación del receptor de insulina sustrato-1 y la actividad de fosfoinositida 3-quinasa, aumentando la captación de glucosa del músculo esquelético (282). Este fenómeno podría contribuir al mantenimiento de la glucosa en el ejercicio físico.

Una potencial aplicación de la suplementación con MEL sobre el ejercicio, por sus posibles efectos hipotérmicos, podrían ser aplicados para la mejora del rendimiento en deportes de resistencia realizados en ambientes calurosos, aunque existen tan sólo resultados positivos en sujetos sometidos a temperaturas ambientes de 23° C, no encontrando resultados concluyentes en temperaturas de 40°C (283,284).

CAPÍTULO 2.5. EJERCICIO Y DAÑO EN ADN

Cada día, el genoma humano sufre aproximadamente un millón de lesiones, consecuencia de modificaciones o fragmentación de la cadena principal de fosfato de azúcar del ADN (285). Si no se repara, el daño del ADN puede causar mutaciones tales como sustituciones de bases y translocaciones cromosómicas (desplazamiento de un segmento de un cromosoma a un nuevo lugar en el genoma) que alteran la expresión normal del gen o crean proteínas

anormales que son perjudiciales para la función celular (286). El daño del ADN inducido por el estrés oxidativo así como la reparación insuficiente del ADN juegan un papel importante en los procesos que conducen a enfermedades crónicas como el cáncer, la diabetes y la arteriosclerosis (287).

En lo que al ejercicio se refiere, durante la ejecución del mismo, el consumo de oxígeno puede aumentar hasta 10 a 15 veces por encima de los niveles de reposo, lo que aumenta temporalmente la tasa de producción de RL mitocondriales. El ejercicio también puede inducir reacciones inflamatorias similares a la respuesta de fase aguda que ocurre en una lesión o infección (288). Por otra parte, observamos que la actividad física regular se asocia con varios beneficios para la salud, incluyendo la disminución del riesgo de las enfermedades mencionadas (289–291). Con respecto a la mortalidad, en un meta-análisis realizado por Barry y cols. (292), observaron que los individuos con mejor estado de forma física tienen menos probabilidad de sufrir estas enfermedades, concluyendo que los individuos con mala aptitud física tienen el doble de riesgo de muerte independientemente de su masa corporal.

Dentro del ejercicio podemos distinguir varios, el regular, ya sea vigoroso o no, y los no regulares o agudos, que inducen mayor formación de ROS y RNS (293). El ejercicio agudo y extenuante conduce al estrés oxidativo por la producción excesiva de ROS y RNS, NO, superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^\cdot) y ácido hipocloroso (HOCl), que exhiben efectos perjudiciales sobre macromoléculas como los lípidos y las proteínas, pero principalmente el ADN (293,294).

No obstante, las reacciones redox inducidas por el ejercicio a través de los radicales OH^\cdot y el H_2O_2 pueden transcurrir sin daño en ADN y viceversa (295,296). En general, estas reacciones están más profundamente interrelacionadas de lo que se pensaba. Se requieren investigaciones más profundas sobre este fenómeno (297), si bien las diversas fuentes de RL atribuibles al daño en el ADN después del ejercicio no se conocen bien, a pesar de que es cierto que el OH^\cdot desempeña un papel fundamental. Los radicales OH^\cdot se producen típicamente en las células por reacciones de Fenton que implican la reducción de H_2O_2 por cualquiera ion ferroso o de cobre (190,298). El daño en ADN mediado por OH^\cdot se inicia por la interacción de electrones o hidrógeno o por la que el OH^\cdot , que reacciona con la base de ADN y la cadena principal del azúcar ribosa en tasa de difusión controlada (299). Se estima que el 70% del OH^\cdot reacciona con bases de ADN y el 30% con restos de desoxirribosa (300).

Autores como Cobley y cols. (297) señalan que la química de ADN mediada por OH^\cdot es muy compleja. Se entiende que cuando se une un OH^\cdot a una base de ADN, se producen radicales centrados en el ADN que reaccionan con el oxígeno (O_2) u otras especies de RL, como

el O_2^- o el NO, originando el producto de desoxidación del ADN (301). En consecuencia, con la adición de OH^- en un anillo aromático de base de ADN, pueden producirse hasta 70 productos finales de oxidación diferentes (300).

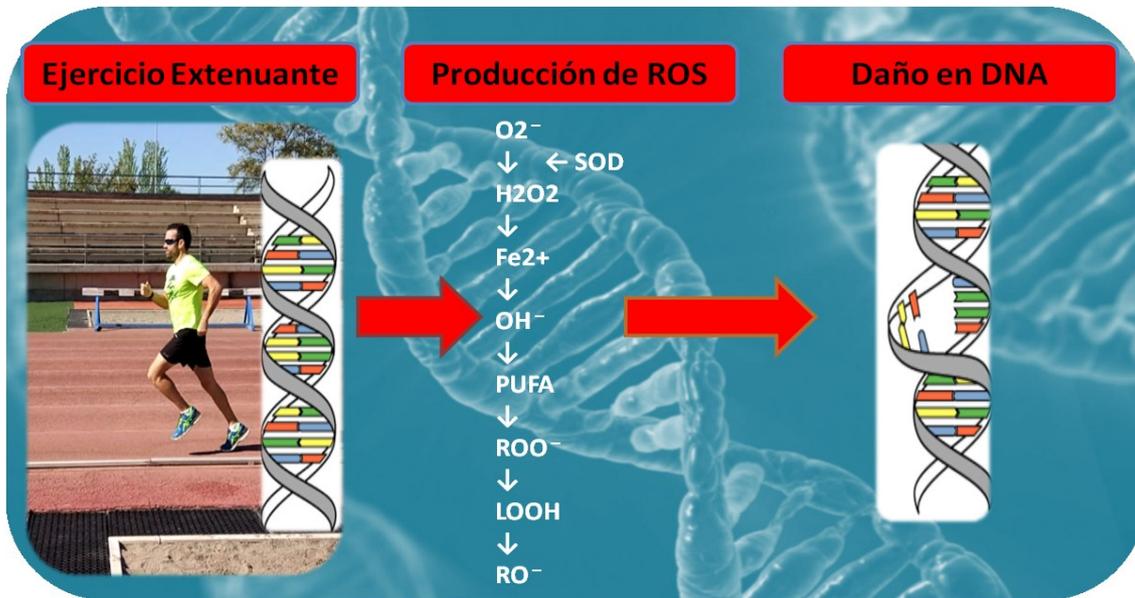


Figura 7. Daño a ADN inducido por el ejercicio (302). O_2^- , anión superóxido; SOD, superoxididismutasa; H_2O_2 , hidropéroxido; Fe^{2+} , hierro; OH^- , hidroxilo; PUFA, ácido graso poliinsaturado; ROO^- , peróxido; LOOH, lipidohidropéroxido; RO, alcoxilo.

Como hemos visto anteriormente, la integridad del ADN puede verse comprometida por la generación excesiva y descontrolada de RL. Este fenómeno también está estrechamente relacionado con la inflamación. A continuación veremos los procesos de inflamación que afectan al daño en el ADN.

Las moléculas clave implicadas en la inflamación que son el enlace de este proceso incluyen factores de transcripción, transductores de señal y activadores de la transcripción 3 (STAT3), así como citocinas inflamatorias tales como IL- 1β NF-kappa B o, IL-6, IL-23 y TNF- α (263).

El factor nuclear kappa-B (NF-kappa B), es un coordinador significativo de la inmunidad innata y la inflamación. Este es un complejo de proteína que controla la transcripción del ADN por el siguiente mecanismo de acción: NF-kappa B en estado inactivado se encuentra en el citosol y un complejo que contiene la proteína inhibidora I $KB\alpha$. Las diferentes señales

extracelulares como son el estrés oxidativo, citoquinas, RL, irradiación ultravioleta, o antígenos bacterianos y virales, pueden activar la quinasa IKB (IKK). Este IKK es una enzima que fosforila la IKB α , lo que resulta en la ubiquitinación (marcar la proteína por ubiquinina), la disociación de IKB α de NF-kappa B, y la degradación de IKB α por el proteasoma. Esta disociación tiene, como resultado, la activación de NF-kappa B y su translocación en el núcleo, donde se une a secuencias específicas de ADN llamado elementos de respuesta. El ADN/NF-kB recluta complejos coactivadores y ARN polimerasa, que transcribe el ADN en ARNm (303,304). El ARNm se transcribe en un gran número de la familia de genes pro-inflamatorios, incluyendo citoquinas (por ejemplo, TNF- α , IL), quimiocinas, moléculas de adhesión, y enzimas inflamatorias (por ejemplo, iNOS, COX-2, 5-lipoxigenasa) (305). En definitiva, podemos ver cómo el daño en ADN está estrechamente relacionado con la intensidad del ejercicio. En un estudio llevado a cabo por Lippi y cols. (306) en 15 atletas adultos en 4 pruebas distintas de menor a mayor distancia, se observó un aumento en el daño en ADN relacionándose estrechamente con la intensidad y el volumen de las pruebas.

Otro factor a abordar es cómo actúan los mecanismos de reparación del ADN de los practicantes de ejercicio regular. Como hemos citado anteriormente, es concebible que una generación excesiva de ROS mediante el ejercicio exhaustivo pueda provocar un daño agudo pero transitorio del ADN, que luego puede ser eficazmente reparado pocos días después del ejercicio, como se demostró en diferentes estudios (184,307). Por otro lado, los estímulos agudos y repetidos también pueden promover una adaptación crónica, que luego puede asociarse con una disminución de la producción de ROS y/o una mayor protección antioxidante a largo plazo, al menos en atletas entrenados (306). Esto se confirma por la evidencia, aportada por Soares y cols. (308), de que la capacidad aeróbica es un predictor significativo de roturas de doble cadena de ADN.

Por lo tanto, los datos disponibles indican que el ejercicio regular induce a mecanismos adaptativos de RL, con una mayor actividad de los sistemas de reparación del ADN y una mayor resistencia al estrés oxidativo. Las diferencias observadas en la literatura pueden deberse al diseño del estudio, el estado de entrenamiento de los sujetos, la duración e intensidad del ejercicio o la actividad de reparación del ADN (309).

2.5.1. Melatonina e integridad del ADN

Debido a su carácter anfifílico o capacidad de absorber o repeler el agua, la MEL se puede encontrar en cualquier compartimento celular (253,266,310). Sin embargo, los estudios

sugieren que la hormona de la glándula pineal se localiza preferentemente dentro del núcleo y puede proteger al ADN nuclear del daño oxidativo al interactuar con el ADN bicatenario y promover su estabilidad (311). El efecto antioxidante de la MEL implica la reparación del ADN hecho que fue demostrado por Mahal (312).

La MEL participa en la inhibición de numerosas vías mediadoras de la inflamación como puede ser el NF- κ B y también ejercer un efecto protector sobre la oxidación de ADN y la hemólisis de eritrocitos humanos inducidos por el 2,2'-azobis (2-amidinopropano) (313). La correlación proporcional del período de inhibición con la concentración de MEL revela que una molécula de MEL puede atrapar casi dos radicales peroxilo (ROO) en la protección de ADN y eritrocitos (313).

Otra propiedad que se le atribuye a la MEL es el aumento de la capacidad de reparación del ADN al afectar varios genes clave implicados en las vías de respuesta al daño del ADN (314,315) (Figura 8). En este sentido, existen pocos estudios específicos que ayuden a aclarar los mecanismos por los cuales la MEL es capaz de reparar el daño en ADN originado por la actividad física intensa.

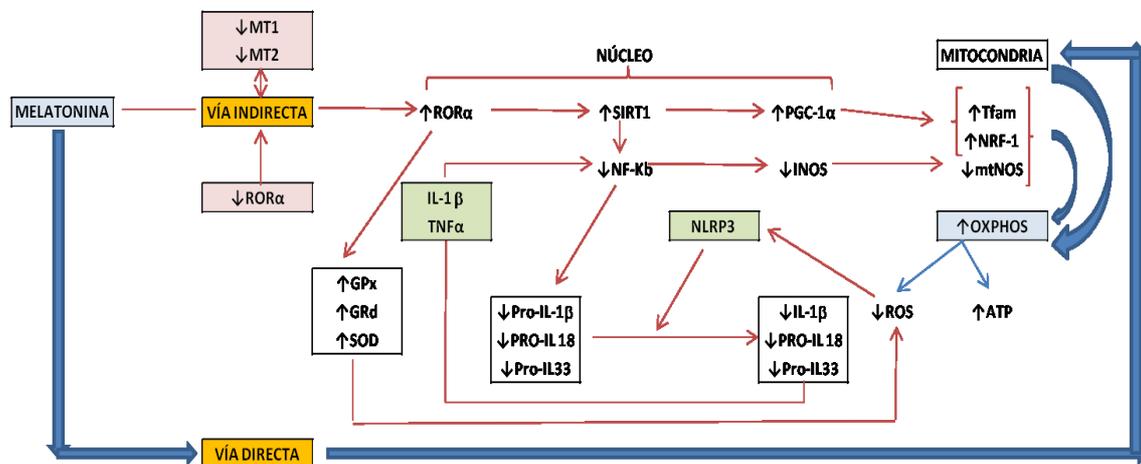


Figura 8. Melatonina como antiinflamatorio y protección del ADN. <http://www.iimel.es/index.php/11-que-es-la-melatonina/46-la-melatonina-es-un-buen-antiinflamatorio> (316).

Tabla 5. Estudios que utilizaron la MEL como suplementación en deporte

Referencia	N	Tipo de Ejercicio	Suplemento	Muestra	Conclusión
Bicer y cols. (2015)	80 Ratas (8G x10)	Natación Aguda	3 mg/kg/día 4 semanas	tejido hepático	Cambio significativo de minerales en el tejido hepático (↑ Zn) en ratas diabéticas.
Mendes y cols. (2013)	32 Ratas (4 grupos)	CC en cinta aumento gradual hasta llegar 1 km/h 60 min	1 mg/kg/día 16 semanas	tejido hepático y muscular	↑ La eficiencia energética y la sensibilidad a la insulina. ↓ el peso corporal y aumentar.
Maldonado y cols. (2012)	16 futbolistas	Bicicleta 60 min a V media 25 km/h	6 mg 30 min. antes del ejercicio	sangre	Revierde el daño oxidativo generado por el ejercicio de alta intensidad, ↑ actividad antioxidante total, el consumo de lípidos de las células y los niveles de IgA en plasma.
Bicer y cols. (2011)	80 Ratas (8G x10)	Natación Aguda	3 mg/kg/día 4 semanas	tejido hepático	↑ niveles de glucógeno del hígado que disminuyen en el ejercicio de natación aguda.
Ochoa y cols. (2011)	20 Corredores	Carrera de ultra-resistencia 50 km	Total 5C x 3 mg 1C-2 noches antes 3C-1 día antes 1C 1h antes de la prueba	sangre y orina	↓ el daño muscular a través de la modulación del estrés oxidativo y la inflamación.
Kaya y cols. (2010)	30 Ratas (3G)	Natación aguda	3 mg/kg/día 4 semanas	sangre	Efecto protector sobre las reservas de glucógeno de hígado.
Nasar y cols. (2007)	30 H y 30 M	Prensa de piernas 7x7 al 85% 1-RM	5 mg 0.5 mg antes del ejercicio	sangre	Sin ejercicio: Hombres 5 mg de MEL ↑ la GH en suero, ↓ simultáneamente los niveles de SST. Con ejercicio: 0.5 y 5 mg de MEL ↑ la GH no dependiente de ↓ SST. Mujeres menor ↑ de la GH que en los hombres.
Kaya y cols. (2006)	30 Ratas (3G)	Natación Aguda	3 mg/kg/día 4 semanas	sangre	↓ Los niveles de lactato, retrasando el agotamiento. ↑ Los niveles de zinc en plasma.
Kim y cols. (2004)	32 Ratas (4G)	60' día x 8 semanas	MEL (1 µg/g) Carnitina (0,5%/ dieta) Vit E (0,5mg /g) Vit C (0,5 mg /g). Directamente al estomago	sangre	Las ratas suplementadas y entrenadas ↑ aprox. del 25% en el tiempo de resistencia sobre las ratas entrenadas no suplementadas. Sinergismo entre la carnitina y los antioxidantes pueden ↑ la utilización de ácidos grasos para obtener energía durante el ejercicio.

Lista de descriptores. Melatonin, exercise, supplementation // Melatonin, sports, supplementation // Melatonin, physical activity, supplementation. **Abreviaturas:** Inmunoglobulina A (IgA); Melatonina (MEL); Hormona del crecimiento (GH); Somatostatina (SST); Vitamina (Vit); Capsula (C); Carrera Continua (CC); Velocidad (V); Repetición máxima (RM); Grupo/os (G).

Capítulo 3

MATERIAL Y MÉTODOS

CAPÍTULO 3. MATERIAL Y MÉTODO

CAPÍTULO 3.1. SUJETOS DEL ESTUDIO

3.1.1. Selección de la muestra

Catorce hombres sanos (20-37 años de edad) y físicamente activos, cuya frecuencia de entrenamiento se encontraba entre 4-5 días por semana fueron incluidos en este estudio de Septiembre a Diciembre de 2016. Todos los sujetos fueron sometidos a un periodo de familiarización de un mes además de los 14 días de intervención mediante HIIT que combinó ejercicio físico de fuerza y resistencia.

Antes de su inclusión en el estudio, todos los candidatos fueron examinados por un médico y sometidos a una entrevista individual. Después de la selección y la evaluación inicial, los participantes fueron clasificados aleatoriamente en dos grupos: un grupo tratado con MEL (MG) y un grupo placebo (PG). El grupo MG recibió la administración oral de 1 cápsula diaria de 20 mg/día de MEL (Acofarma, Barcelona, España), suministrada a cada individuo antes del ejercicio durante el período de estudio controlado. El grupo PG recibió una administración oral de 1 cápsula diaria que contenía lactosa, suministrada a cada individuo con la misma metodología en iguales condiciones que el grupo MG.

Los criterios de inclusión consistían en pasar un examen médico, una evaluación clínica y un registro de historial médico correspondiente a un individuo sano, además de no ser un fumador, y no estar tomando ningún medicamento. El Comité de Ética de la Universidad de Granada aprobó el estudio. Se obtuvo un consentimiento informado firmado por escrito de cada participante aceptando a formar parte del estudio.

3.1.2. Diseño del estudio

El desarrollo del estudio se llevó a cabo en el periodo comprendido de Septiembre a Diciembre del 2016. A continuación se muestra de manera esquemática todo el desarrollo de la investigación. El presente estudio consistió en un estudio experimental de intervención, aleatorio, doble ciego, aleatorio con dos grupos. En el desarrollo temporal del estudio distinguimos dos fases:

La primera, con una duración de un mes consistió en evaluar el estado de los sujetos en lo que a la salud y estado de forma se refiere, junto a un periodo de adaptación a las cargas que utilizaríamos posteriormente.

La segunda, con una duración de dos semanas se realizó una intervención con una suplementación de MEL y se sometió a los sujetos a un programa de entrenamiento HIIT alternado con un entrenamiento de fuerza.

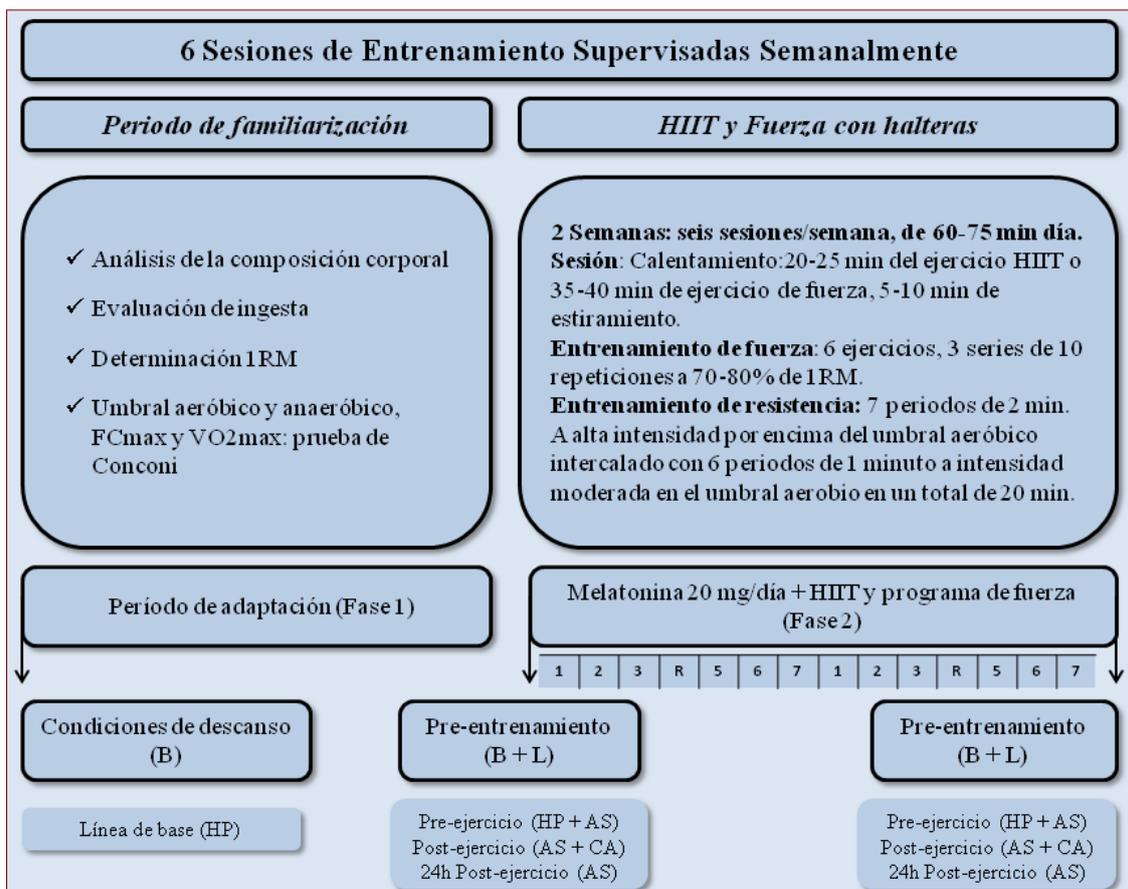


Figura 9. Diseño del estudio. HIIT = Entrenamiento de alta intensidad; 1RM = 1 repetición máxima; FCmax = Frecuencia cardíaca máxima; VO2max = Consumo de oxígeno máximo; AS = Estado antioxidante; B = extracción de sangre; CA = Ensayo de cometa; HP = parámetros hematológicos; L = aislamiento de linfocitos; R = Recuperación.

CAPÍTULO 3.2. EVALUACIÓN PREVIA DE LA MUESTRA PARA AJUSTAR LA INTENSIDAD Y LA CARGA DE ENTRENAMIENTO

Dentro del periodo de familiarización, se aplicaron diversos test para registro y control de la intensidad y la carga de entrenamiento a realizar durante la intervención. Estos test comprendieron la evaluación del umbral anaeróbico y la cuantificación de una repetición máxima (1RM).

Respecto al umbral anaeróbico, se utilizó una versión modificada del test de Conconi para para su determinación (317). Este test es un método indirecto que se basa en la realización de incrementos en la velocidad durante la carrera en un tapiz rodante hasta la extenuación. Para determinar la velocidad inicial, los sujetos realizaban un calentamiento incremental partiendo de una velocidad de 4-5 km/h hasta iniciar la carrera y alcanzar las 120-140 ppm durante al menos dos minutos. Una vez fijada la velocidad de partida esta se incrementaba en 2km/h cada 2 minutos hasta el agotamiento. Durante las últimas etapas de la prueba, los participantes fueron animados vigorosamente con el fin de conseguir que realizaran un esfuerzo máximo. La frecuencia cardiaca máxima (FCmax) se alcanzó al final de la prueba (318). Los sujetos fueron controlados con un monitor cardiaco polar (RS300X).



Figura 10. Determinación del umbral anaeróbico mediante del test de Conconi.

Para la estimación de 1 RM de las sesiones de fuerza, se empleó el método de estimación indirecta de 1RM propuesto por Brzycki (319). Los ejercicios evaluados fueron para el press de banca, el remo en polea alta, el press militar, prensa, las extensiones de cuádriceps y el curl de piernas (320).

En ésta sesión, para determinar 1RM se siguieron las consideraciones del Colegio Americano de Medicina del Deporte (321). Los participantes realizaron 2-3 series de calentamiento de 10-15 repeticiones del 40-60 % del máximo percibido. La prueba consistía en 3 intentos incrementales donde el sujeto debía llegar al agotamiento antes de completar 10 repeticiones. Entre los intentos se realizaron descansos de 3 a 5 minutos para evitar que la fatiga muscular tuviese una influencia negativa sobre la carga desplazada. Finalmente, la 1RM se determinó como la mayor carga que el sujeto podía levantar concéntricamente en un solo intento. Todos los levantamientos fueron realizados en presencia de un supervisor experimentado.



Figura 11. Estimación del 1RM mediante el cálculo indirecto propuesto por Brzycki (319).

CAPÍTULO 3.3. METODOLOGÍA DE REGISTRO Y CONTROL DEL ENTRENAMIENTO DE ALTA INTENSIDAD

El programa de entrenamiento HIIT llevado a cabo combinó ejercicios de fuerza (hipertrofia) y carrera interválica a alta intensidad durante 14 días. Previo a este periodo, se realizó un período de entrenamiento adaptativo después del procedimiento de selección de los sujetos y la realización de los test iniciales. A lo largo de este periodo, todos los sujetos fueron

supervisados y controlados mediante el registro tanto de las cargas como de la intensidad individual en cada una de las sesiones realizadas.

Los sujetos siguieron el entrenamiento de ejercicio durante 14 días, con seis sesiones por semana de 60-75 min por día. Cada sesión se dividió en tres componentes: calentamiento, parte principal y estiramientos (Figura 11). Además de la continua supervisión, a cada sujeto se le entregó el entrenamiento por escrito, indicando las cargas en kg junto al ejercicio a realizar en el caso de las sesiones de fuerza y el rango de pulsaciones a las que deberían ir en el caso de la carrera interválica a alta intensidad. Más del 75% de participación era obligatoria para asegurar los efectos del entrenamiento físico.

Todos los sujetos fueron motivados para asegurar que tanto las cargas como las intensidades realizadas se ajustaban correctamente a los objetivos predeterminados para cada uno de los sujetos.

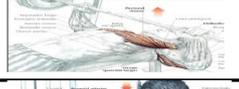
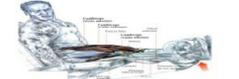
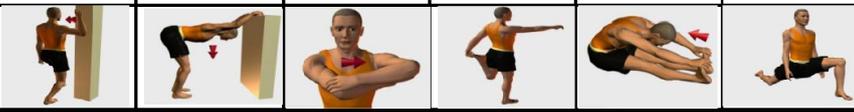
NOMBRE:						ID	
ENTRENAMIENTO CON HALTERAS							
DÍAS							
CALENTAMIENTO							
EJERCICIO				TIEMPO		IMÁGENES	
CARRERA CONTINUA				10 MIN			
ABDOMINALES				2x100			
PARTE PRINCIPAL							
ENTRENAMIENTO	3X10	DEL 70% AL 80% DE 1RM		TIEMPO RECUPERACIÓN		1,30"	
EJERCICIO	INDICE F.R	1RM	70%	80%	IMÁGENES		
Press de Banco plano (Pectoral)	0,86	67,51	47	54			
Polea al prech (Dorsal)	1,10	85,97	60	69			
Press Frontal con Barra (Deltoides)	0,84	66,01	46	53			
Extensión de piernas en maquina (Cuádriceps)	1,35	105,95	74	85			
Curl de Piernas sentado en maquina (Isquiotibial)	1,70	133,28	93	107			
Prensa de Piernas Inclinada (Piernas)	2,52	196,89	138	158			
SUMA	1,40	655,62					
VUELTA A LA CALMA Y ESTIRAMIENTOS							
STRECHING DE ANDERSON 30" CADA ESTIRAMIENTO							
							
ENTRENAMIENTO EN FARTLEK							
DÍAS							
CALENTAMIENTO Carrera 10 min hasta llegar a 120 ppm y mantener							
ENTRENAMIENTO 2MIN-I.A / 1MIN- I.M // 2MIN-I.A / 1MIN- I.M//2MIN-I.A / 1MIN- I.M // 2MIN-I.A / 1MIN- I.M//2MIN-I.A / 1MIN- I.M // 2MIN-I.A / 1MIN- I.M// 2MIN-I.A							
	PPM	VELOCIDAD	V. M/S	T. 400	T.2000	NOTA	
UMBRAL	155	9,6	2,67	2,50	12,50	1	
PULSACIONES MAX	171	13	3,61	1,85	9,23	1	
RITMO I.A	163	12,39	3,44	1,94	9,68	1	
RITMO I.M	155	9,6	2,67	2,50	12,50	1	
VUELTA A LA CALMA Y ESTIRAMIENTOS							
STRECHING DE ANDERSON 30" CADA ESTIRAMIENTO							
							

Figura 12. Plantilla de entrenamiento que indica las cargas, el ejercicio a realizar y el rango de pulsaciones a las que deberían ir en el caso del HIIT. PPM: pulsaciones por minuto, V: velocidad, T: tiempo.

3.3.1. Protocolo de entrenamiento de alta intensidad

Las sesiones de resistencia constaban de un calentamiento donde los sujetos realizaban carrera continua durante 10 minutos. Al final de este periodo, los sujetos debían alcanzar una frecuencia media de 120 ppm y mantenerlas hasta su finalización.

Tras el calentamiento, la parte principal de la sesión de HIIT, se dividió en 7 periodos de 2 minutos a alta intensidad por encima del umbral aeróbico a un 90% del $VO_{2\text{máx}}$. intercalado con 6 periodos de 1 minuto a intensidad moderada dentro del umbral aeróbico.

Tras la finalización de la sesión de HIIT, los sujetos realizaron una recuperación activa caminando durante 5 minutos y realizando finalmente estiramientos empleando la metodología de stretching de (322). A lo largo de la sesión, el registro de la FC fue controlada mediante la utilización de un monitor cardiaco modelo Polar (RS300X).

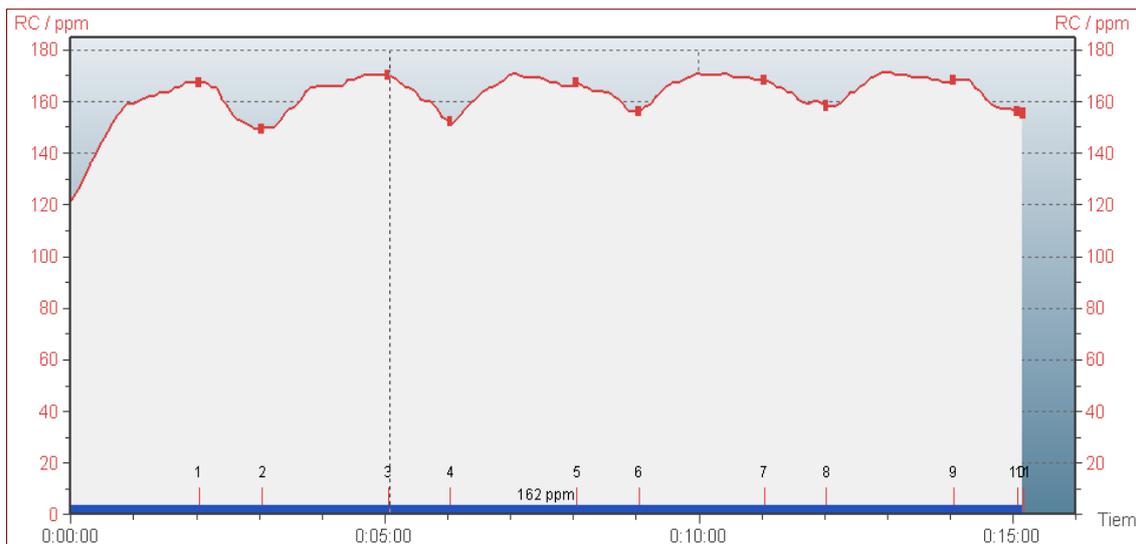


Figura 13. Gráfica de registro de la variación de la FC en relación a la intensidad del ejercicio durante una sesión de entrenamiento de HIIT.

3.3.2. Protocolo de entrenamiento de fuerza

El protocolo de fuerza constaba de un calentamiento donde los sujetos realizaban carrera continua durante 10 minutos. Además, se realizaron 2 series de 100 abdominales y 2 series de los ejercicios a realizar al 30-40% de 1RM.

Tras el calentamiento, la parte principal constaba de 3 series de 10 repeticiones al 70-80% de 1RM con descansos de 3-5 minutos de 6 ejercicios: press de banca, prensa, remo de poleas, prensa militar, extensiones de cuádriceps y curl de piernas (321) (Figura 11). La vuelta a la calma se realizó mediante estiramientos siguiendo nuevamente la metodología de stretching de Anderson (322).

CAPÍTULO 3.4. PRUEBAS DE APTITUD FÍSICA

Se realizaron las pruebas físicas ciñéndonos a las normas publicadas en el Boletín Oficial del Estado (323). El lugar de realización fue el polideportivo municipal Núñez Blanca donde nos permitió someter al deportista a una situación similar a las pruebas de aptitud físicas oficiales.



Figura 14. Grupo de opositores después de realizar Pruebas de Aptitud Física en el polideportivo municipal Núñez Blanca.

Circuito de Agilidad

De pie detrás de la línea de partida, el opositor debe realizar el recorrido que figura en el siguiente gráfico representativo (Figura 13). Es nulo todo intento en el que el candidato derribe alguno de los banderines o vallas que delimitan el recorrido o se equivoque en el mismo. Se permiten dos intentos sólo a los opositores que hagan nulo el primero.

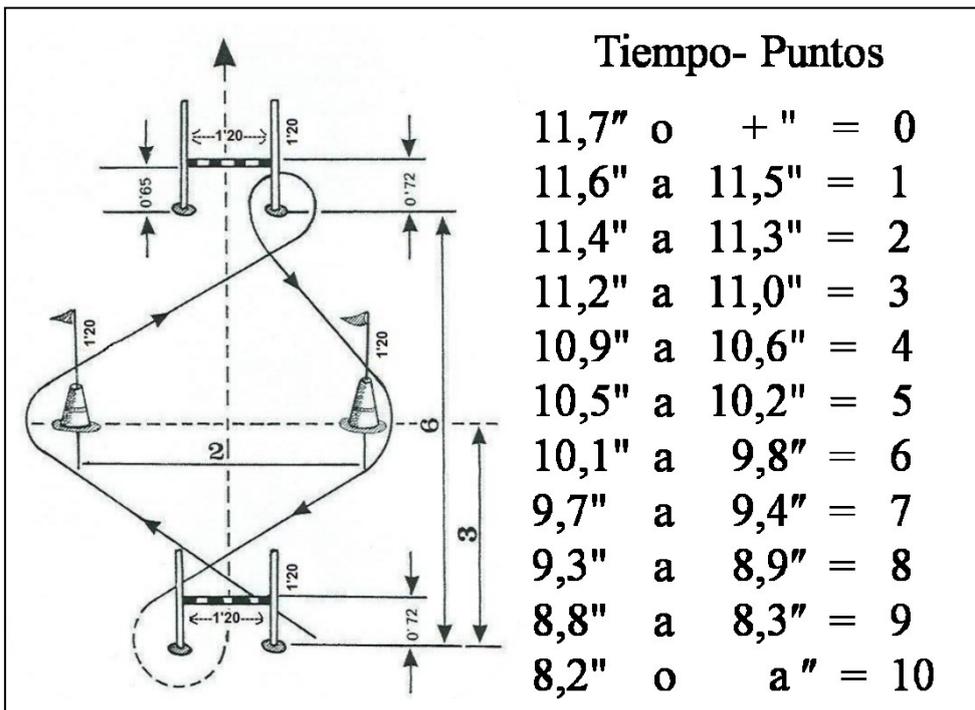


Figura 15. Descripción de la prueba de Circuito de Agilidad con las medidas reglamentarias y dirección que debe llevar el opositar. Tabla de tiempos y puntuaciones.

Dominadas

El aspirante comenzará en una suspensión pura con el cuerpo rígido y recto, los codos completamente extendidos, la amplitud del agarre será ligeramente más ancha que los hombros y los dedos apuntando hacia adelante. Tras la orden verbal “comenzad”, el participante procederá a levantarse hasta que su barbilla pase completamente por encima de la barra. A continuación extenderá los brazos en su totalidad sin permitir que el cuerpo se balancee o se ayude con los movimientos de las piernas. Los oficiales continuarán de esta manera

completando tantas repeticiones como fuera posible hasta un máximo de 17. La prueba finalizará cuando un aspirante no pueda realizar este movimiento con la técnica adecuada.



Figura 16. Imagen de las fases de la prueba de dominadas mostrando la correcta realización para que la repetición sea válida. Tabla de repeticiones y su respectiva puntuación.

Salto Vertical

Desde la posición inicial, de lado junto a una pared vertical, y con un brazo totalmente extendido hacia arriba, el candidato marcará la altura que alcanza en esta posición. Separado 20 cm de la pared vertical, saltará tanto como pueda y marcará nuevamente con los dedos al nivel alcanzado. Al flexionar las piernas para tomar impulso, no se permitirá despegar los talones del suelo. Se acreditará la distancia existente entre la marca hecha desde la posición inicial y la conseguida con el salto, y se permitirán dos intentos sólo a los opositores que hagan nulo el primero.



Figura 17. Imagen del salto vertical junto a la pizarra que ayuda a la medición del mismo. Tabla de puntuación junto a los centímetros que debe alcanzar en el salto el opositor.

2.000 metros lisos

Los candidatos realizarán en el menor tiempo posible un recorrido de 2.000m en una superficie lisa, plana y dura, como es la pista de atletismo. Los opositores aguardarán en la línea de salida, a la voz de “ya” comenzarán a recorrer la pista a la mayor velocidad posible pudiendo ocupar cualquier calle de la pista de atletismo.



Figura 18. Fases de la carrera de 2.000m desde la salida hasta la llegada en la pista de atletismo. Tabla de tiempos con sus respectivas puntuaciones.

CAPÍTULO 3.5. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL

Para el registro de la composición corporal, se emplearon dos metodologías diferentes, pero a la vez complementarias. Una de ellas consistió en el registro de la composición corporal mediante impedancia bioeléctrica, mientras que por otro lado, el análisis se complementó con el

registro de pliegues, perímetros y amplitudes corporales. A continuación, se detalla el procedimiento de determinación y la metodología empleada en ambos procesos.

3.5.1. Valoración de la composición corporal: Impedancia bioeléctrica

La realización de la Impedancia Bioeléctrica (BIA) Multifrecuencia (Tanita MC-980 Analizador de Composición Corporal MA Multifrequency Segmental, Barcelona, España) se determinó a lo largo del estudio para determinar la variación de la composición corporal durante el periodo controlado. El analizador cumple con las normas europeas aplicables (93/42EEC, 90/384EEC) para uso en la industria médica.

La medición de BIA se realizó según los criterios establecidos por el National Institutes of Health Technology Assessment Conference Statement (National Institutes of Health, 1996 Sep). Los sujetos se colocaron en posición anatómica, con los brazos y las piernas separados del cuerpo. Para la determinación mediante BIA se informó previamente a los participantes de las condiciones que se requería tener antes de la medición: no ingerir alcohol menos de 24 horas antes de la medición, no realizar ejercicio vigoroso menos de 12 horas antes de la medición, no ingerir comida ni bebida menos de 3 horas antes, no tener objeto metálico alguno en el cuerpo, haber orinado antes de la medición. Todas las mediciones se realizaron por la mañana en las en tiempo y condiciones similares.

La determinación comprendió las siguientes medidas: edad, talla, peso, índice de masa corporal. En el análisis compartimental, se evaluó la MG, la masa libre de grasa, la masa muscular, la masa ósea, el ACT, intracelular y extracelular, así como el índice de grasa visceral. En el análisis segmentario se analizó la MG y masa libre de grasa de los distintos segmentos corporales. Finalmente, respecto a los parámetros de tasa metabólica en reposo, se determinó la tasa metabólica en reposo, el índice metabólico en reposo, y edad metabólica.

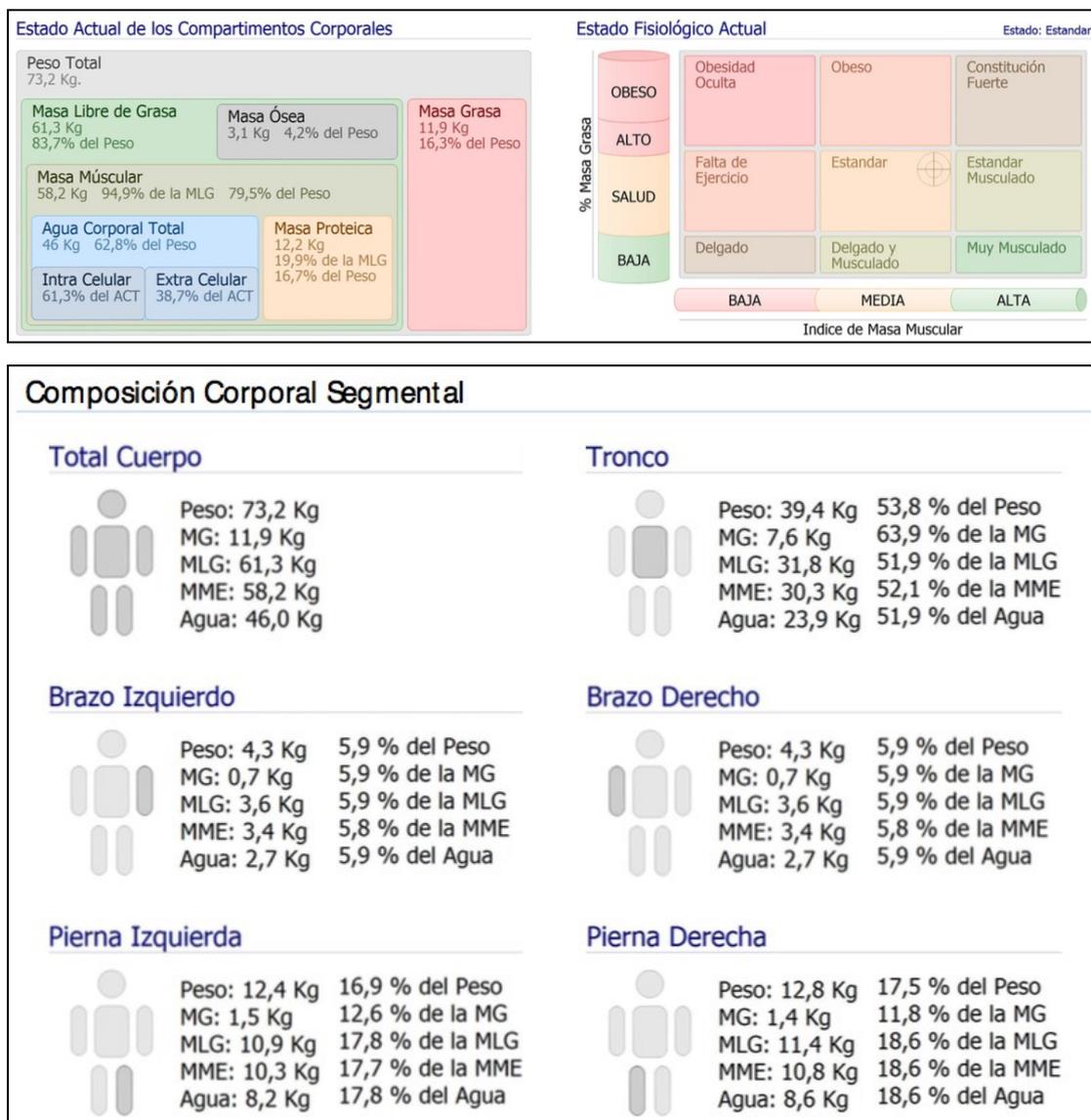


Figura 19. Informe de análisis de impedancia bioeléctrica multifrecuencia TANITA MC-980.

3.5.2. Valoración de la composición corporal: Pliegues, perímetros y amplitudes

Las mediciones antropométricas se realizaron siguiendo el protocolo de la Sociedad Internacional para el Avance de la Cineantropometría (ISAK) (111). Todas las mediciones antropométricas fueron realizadas por el mismo personal técnico certificado por ISAK. El error técnico de la medición en nuestro estudio se situó dentro de los estándares ISAK (324). El proceso de medición tuvo en cuenta los siguientes criterios de evaluación:

- La exploración se realizó en una estancia suficientemente amplia y a una temperatura confortable. El sujeto estudiado se situó descalzo y con ropa adecuada.
- Las medidas de peso corporal y estatura sufren variaciones a lo largo del día, por lo que las mediciones se realizaron a primera hora de la mañana.
- Con el objetivo de realizar comparación de medidas, las mediciones se realizaron en hemicuerpo derecho.
- El material fue calibrado y se comprobó su exactitud antes de iniciar la toma de medidas.
- La exploración se inició marcando los puntos anatómicos y las referencias antropométricas necesarias para el estudio. Las medidas se tomaron siguiendo un orden práctico y cómodo.
- Las mediciones se repitieron 3 veces.

El peso corporal se midió con la báscula Tanita MC-980 (Analizador de Composición Corporal MA Multifrequency Segmental, Barcelona, España precisión de 0.1 kg). La altura se determinó en un tallímetro con un rango de error de 0.01 cm. Para la medición de pliegues cutáneos se utilizó un Caliper marca Holtain (Crymych U.K.), de sensibilidad 0.2 mm. El registro de las amplitudes corporales se realizó utilizando un paquímetro compás de corredera graduado tipo Martín con capacidad de medida de 0 a 250 mm, y precisión de 1 mm.

El registro antropométrico abarcó la determinación de pliegues cutáneos (pectoral, axilar, subescapular, tríceps, abdomen, suprailiaco, muslo, pierna), perímetros (pecho, brazo, cintura, cadera, muslo, pierna media), y amplitudes (diámetro biepiestiloideo, diámetro biepihúmero, diámetro biepi fémur), mediante un protocolo de registro descrito en la literatura (ISAK) (112,325,326).

La técnica de medida es la misma para todos los pliegues. Después de localizar el punto a medir con precisión, se pinza el pliegue de grasa con los dedos índice y pulgar de la mano izquierda (los diestros), asegurándose de pinzar únicamente tejidos epitelial y adiposo, y nada de masa muscular. Seguidamente se aplica el calibre de grasa un centímetro por debajo del punto de pinzamiento, manteniendo el calibre mediante sujeción del pliegue durante dos segundos, y leyendo la medida antes de retirar el calibre. A continuación se detallan los pliegues determinados, así como su localización.

- **Pliegue axilar.** Es un pliegue vertical sobre la línea ilio-axilar allí donde ésta se cruza con la prolongación lateral del punto xifoideo (que se marcaría sobre la región inferior del cuerpo del esternón).
- **Pliegue pectoral.** Es medido utilizando un pliegue cutáneo con su eje longitudinal corriendo desde la punta del pliegue axilar anterior hasta el pezón. El pliegue cutáneo es tomado lo más alto posible en el pliegue axilar anterior, y el espesor del pliegue de grasa es medido 1 cm por debajo de los dedos a lo largo del eje.
- **Pliegue del bíceps:** El pliegue se pinza en la parte anterior del brazo, verticalmente y a la distancia media entre el acromion y el punto radial.
- **Pliegue del tríceps:** El pliegue se pinza en la parte posterior del brazo, verticalmente y a la distancia media entre el acromion y el punto radial.
- **Pliegue subescapular:** Se toma justamente debajo del borde inferior de la escápula, formando un ángulo de 45° respecto al plano horizontal y desde adentro hacia afuera.
- **Pliegue supraespinal:** Se localiza en la intersección formada por la línea del borde superior del íleon y una línea imaginaria que va desde la espina iliaca anterosuperior hasta el borde axilar interior. Se sigue la línea natural del pliegue medialmente hacia abajo formando un ángulo de 45° con la horizontal
- **Pliegue abdominal:** Se mide verticalmente, entre 3 y 5 centímetros del ombligo y en el lado derecho.
- **Pliegue del muslo anterior:** Con el sujeto sentado y las piernas formando un ángulo de 90°, se toma el pliegue verticalmente y a la distancia media entre el pliegue inguinal y el borde superior de la patela.
- **Pliegue medial de la pierna o de la pantorrilla:** Se mide en la parte lateral interna de la pierna, a la altura del máximo perímetro de ésta y verticalmente.

El modelo de **4 componentes** (masas grasa, muscular, ósea y residual), es el recomendado a utilizar en el ámbito de la salud y el deporte, debiendo conocer la definición de cada uno de estos componentes. Esta metodología tiene como objetivo proporcionar información sobre el somatotipo de nuestro colectivo. La siguiente Figura, muestra la hoja de registro antropométrico y cálculo de los 4 componentes y el somatotipo mediante el empleo de fórmulas de estimación indirecta de la composición corporal.

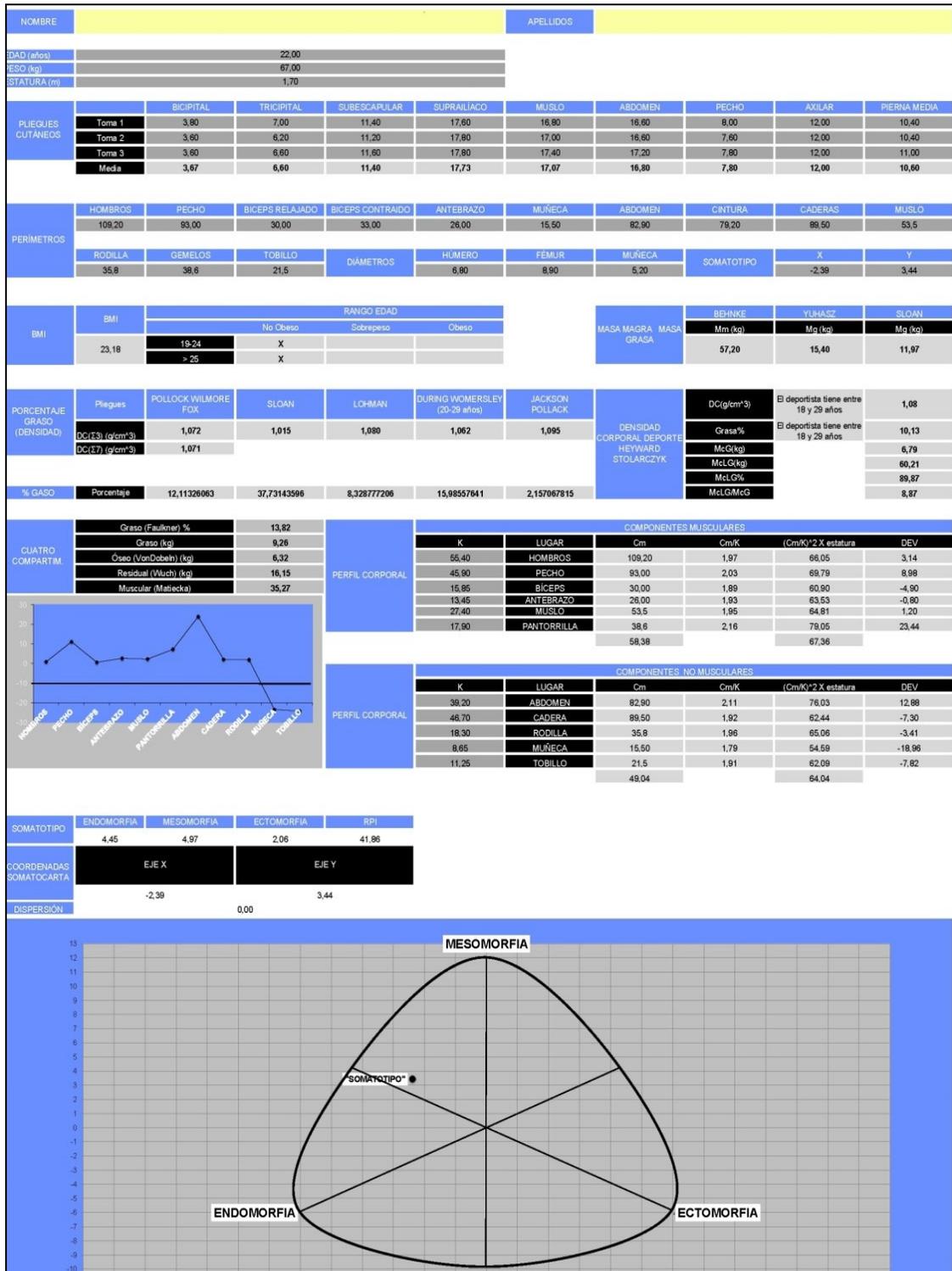


Figura 20. Hoja de registro antropométrico para el cálculo de los 4 compartimentos corporales y representación del somatotipo.

3.5.3. Valoración de ingesta

La valoración de la ingesta se realizó cuantitativamente mediante un registro de 24 horas, 3 días (uno de ellos festivo), para el punto basal, así como el registro de 14 días para controlar todo el periodo de intervención realizado. De manera cualitativa, se empleó un cuestionario de frecuencia de consumo alimentaria (FFQ). Los datos sobre la ingesta de alimentos se obtuvieron mediante entrevistas individuales para solicitar información de cada participante sobre los tipos de alimentos y tamaños de las porciones.

La precisión de la cantidad de ingesta se facilitó con un conjunto de fotografías de alimentos preparados y platos que se consumen con frecuencia en España (87) (Montellano, Gomez-Arancela, García, Mataix, & Llopis, 1992). El programa Nutriber® se utilizó para convertir la ingesta de alimentos en valores absolutos y porcentuales de la ingesta recomendada de cada nutriente para los atletas individuales.

La ingesta de macronutrientes se comparó con las ingestas recomendadas (RDA) propuestas por la ADA y el ACSM (Thomas, Erdman, & Burke, 2016). La ingesta de vitaminas y minerales se comparó con la ingesta dietética de referencia (IDR) para la población española y la Unión Europea (141). Los niveles adecuados de ingesta se determinaron comparando la ingesta real de cada nutriente con la ingesta recomendada para cada sujeto, y se registraron en tres rangos: por debajo del 75% de la RDA, entre 75% y 100% de la RDA y por encima de la RDA.

La FFQ se utilizó para recoger información sobre la frecuencia de consumo de un grupo de alimentos. Se comparó con las recomendaciones propuestas por la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC) (327) y fue expresada como porcentaje de sujetos con ingestas por debajo o por encima de las recomendaciones en porciones.

3.5.4. Valoración bioquímica

Se tomaron muestras de sangre de cada sujeto, tanto en condiciones basales (entre las 8:30 y las 10:00 horas en ayunas), como antes, después y 24 horas después del entrenamiento físico, siendo recogidas tubos de ensayo (vacutainer) con EDTA. La misma metodología se llevó a cabo después de la intervención. Inicialmente, se realizaron perfiles bioquímicos y hematológicos para determinar el estado de salud de los individuos. La sangre extraída se

centrifugó para separar la fracción plasmática, leucocitaria y eritrocitaria en la siguiente hora y media, y se almacenó a -80°C .

Los parámetros bioquímicos realizados en los laboratorios del hospital fueron glucosa, creatinina, urea, ácido úrico, TG, TC, proteínas totales, transferrina, prealbúmina y albúmina.



Figura 21. Extracción de sangre en el estado basal de los sujetos y posterior tratamiento en el laboratorio.

CAPÍTULO 3.6. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO

3.6.1. Protocolo de determinación de la actividad de la Superóxido Dismutasa

La actividad de SOD se determinó utilizando el kit Randox Ransod (RANDOX Laboratories Ltd., Reino Unido). Este método emplea xantina y xantina oxidasa para generar radicales superóxido que reaccionan con Cl de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5 feniltetrazolio para formar un colorante rojo de formazano (328).

Reactivos: Los reactivos empleados en ésta técnica son: Sustrato Mixto; Solución Tampón; Xantin Oxidasa; Patrón; Tampón Fosfato 0.01 mol/L; Ransod Control.

Proceso de obtención: Para medir la SOD se utilizó el kit RANDOX Ransod-SD125 (determinación cuantitativa in vitro de Superóxido Dismutasa). Se realizan 2 lecturas en lector de placas (Bio-Tek Instruments, Inc., Vermont, USA), con un tiempo de 3 minutos entre lectura y lectura, a una longitud de onda de 505nm a una temperatura de 37°C.

Resultado Final: Se obtienen valores de la actividad de SOD en U/ml, calculados a través del % de inhibición de cada muestra para obtener las unidades de SOD de la curva patrón.

3.6.2. Protocolo de determinación de la actividad de la Glutation Peroxidasa

La actividad GPx se determinó utilizando el kit Bioxytech GPx-340 TM (OxisResearch TM), un ensayo colorimétrico indirecto de la actividad de c-GPx (329).

Reactivos: Los reactivos necesarios para esta técnica son: NADPH Reactivo: β -nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato (reducido), glutatión y glutatión reductasa, liofilizado que cuando se reconstituye con 7.5 ml de tampón de ensayo cada uno de los 5 viales proporciona 20 pruebas. Tampón de ensayo pH 7.6, 120 ml. Hidroperóxido de tert-butilo en agua, 2.0 ml.

Proceso de obtención: La glutatión peroxidasa celular (c-GPx, EC 1.11.1.9) es un miembro de una familia de enzimas GPx cuya función es desintoxicar peróxidos en la célula. Debido a que los peróxidos pueden descomponerse para formar radicales altamente reactivos, las enzimas GPx desempeñan un papel crítico en la protección de la célula del daño de los radicales libres, particularmente la peroxidación de lípidos. Las enzimas GPx catalizan la reducción de H₂O₂ en agua y peróxidos orgánicos (R-O-O-H) a los correspondientes alcoholes estables (R-O-H) usando GSH como fuente de equivalentes reductores.

Con la excepción del fosfolípido-hidroperóxido GPx, un monómero, todas las enzimas GPx están formadas por 4 subunidades idénticas (monómero Mr 22-23 kDa). Cada subunidad contiene una molécula de selenocisteína en el sitio activo de la enzima. Se cree que la selenocisteína participa directamente en la donación de electrones al sustrato de peróxido y se oxida en el proceso. La enzima utiliza entonces el glutatión como donante de electrones para

regenerar la forma reducida de la selenocisteína. Las enzimas GPx aceptan una amplia variedad de peróxidos orgánicos como sustratos. Sin embargo, las enzimas muestran una fuerte preferencia por el glutatión como fuente de equivalentes reductores. El fosfolípido-hidroperóxido GPx (Mr 19 kDa) es la única enzima con actividad significativa en los fosfolípidos esterificados y el colesterol en las membranas.

3.6.3. Protocolo de determinación del estatus antioxidante

La determinación del CAT en muestras de plasma se realizó evaluando el poder de reducción de Cu^{2+} a partir de la acción de antioxidantes presentes en muestras (kit CAT, Jaica, Shizuoka, Japón). La variabilidad se ensayó repetidamente realizando cinco muestras y considerando una variabilidad inferior al 5% a incluir.

La determinación del CAT se realizó mediante una medida indirecta colorimétrica, en la que se evaluó la capacidad de los antioxidantes como sustrato en la reacción de reducción del Cu^{2+} a Cu^{+} .

Reactivos: Los reactivos empleados en ésta técnica son: Estándar (polvo de ácido úrico), diluyente de muestra, solución de Cu^{2+} , solución stop.

Proceso de obtención: Para medirla capacidad antioxidante se utilizó el kit JAICA (PAO test kit for Total Antioxidant Capacity-Catalog #KPA050-). Se adicionan 200 μl de solución diluida de muestras y se hace una primera lectura a 490nm. Después se añade 50 μl de solución Cu^{2+} y se deja 3 min a T° ambiente. Posteriormente, se añade 50 μl de solución stop y se lee por segunda vez a 490nm.

Resultado Final: Los niveles de antioxidantes obtenidos se obtienen comparando los valores de absorbancia neta de la muestra con la curva estándar y el equivalente mM de ácido úrico. Este valor se multiplica por el coeficiente 2189 (poder reductor de cobre) dando el resultado en mol/L.

CAPÍTULO 3.7. METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN DEL DAÑO EN ADN (COMET)

Se obtuvieron muestras de sangre por centrifugación de una muestra de sangre heparinizada a 800 rpm durante 20 min a 4°C. Los linfocitos se prepararon usando centrifugación en gradiente de densidad. Agregando partes iguales de solución salina tamponada con fosfato (PBS), se diluyeron las muestras de sangre. Los linfocitos de sangre periférica se aislaron mediante centrifugación en gradiente de densidad en Lymphoprep™ (Axis-Shield) y luego se centrifugaron a 1800 rpm durante 30 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se eliminó la banda de linfocitos entre la capa de muestra y la solución de Lymphoprep. La suspensión de linfocitos se lavó entonces dos veces con PBS y se centrifugó durante 5 min a 1800 rpm y 4°C. El precipitado celular de la muestra de linfocitos se almacenó a -80°C para la medición del ensayo de cometa.

La prueba de cometa se llevó a cabo como se describe por Singh y cols (330). Los linfocitos aislados de muestras de sangre heparinizada (100 µl) se suspendieron en 0.7% de agarosa de bajo punto de fusión en solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se pipetearon sobre portaobjetos de microscopio previamente recubiertos con una capa de agarosa de fusión normal al 1%. Se dejó que la agarosa con la suspensión celular se pusiera sobre las placas pre-revestidas a 4°C durante 10 min. Posteriormente, se añadió otra capa superior de 0.7% de agarosa de bajo punto de fusión y se dejó a 4°C durante 10 min. Los portaobjetos se sumergieron a continuación en una solución de lisis (n-laurilsarcosinato de sodio al 1%, NaCl 2.5 M, Na₂EDTA 100 mM, Tris HCl 10 mM a pH 10, Triton X-100 al 1% y dimetilsulfóxido al 10% durante 1 h a 4°C. Después de la incubación en solución de lisis, las láminas se expusieron a tampón alcalino (Na₂EDTA 1 mM, tampón NaOH 300 mM, pH>13) durante 20 minutos, en estas condiciones el ARN se degrada completamente. Las láminas se sometieron a electroforesis de 20 minutos a 25 V en el mismo tampón alcalino y finalmente se lavaron con tampón Tris HCl 0.4 M (pH 7.5) para neutralizar el álcali en exceso y eliminar los detergentes antes de la tinción con bromuro de etidio (2 µg/ml).

Los resultados se realizaron por triplicado y los datos (150 puntuaciones por muestra) fueron los valores medios y el error estándar de la media (SEM), obtenidos mediante el uso del sistema de análisis de imágenes Comet Assay IV (Perceptive Instrumentos, Reino Unido) con un microscopio de fluorescencia (Zeiss Axioscope, Alemania). La intensidad de la cola (porcentaje de ADN en la cola) se eligió como la medida del daño del ADN.

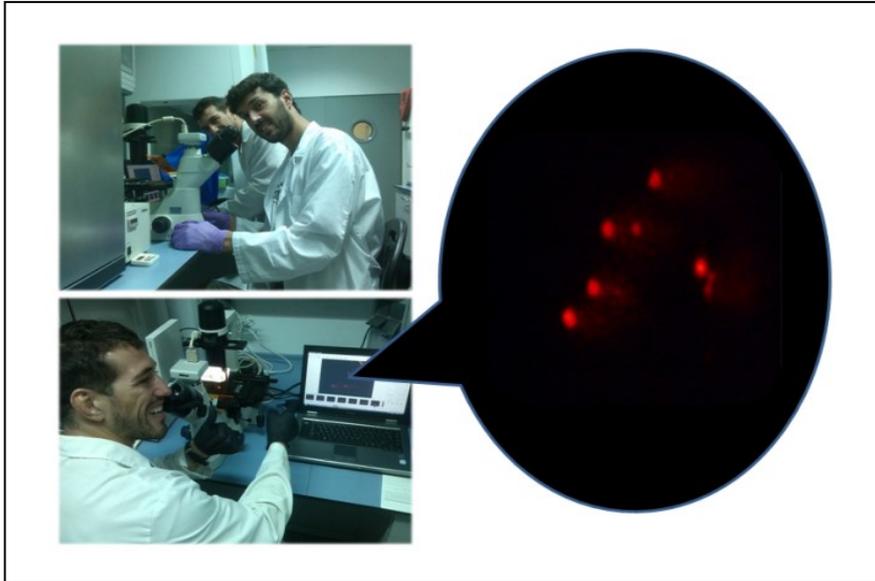


Figura 22. Medición de las muestras tratadas en el laboratorio con el programa Comet.

CAPÍTULO 3.8. DETERMINACIÓN PLASMÁTICA DE MELATONINA

Para la determinación de MEL en plasma, se mezcló una muestra de plasma (500 μ l) con 1 ml de triclorometano para determinar la MEL. La mezcla se agitó en vórtice durante 1 min a 1400 rpm, y después se centrifugó durante 1 min a 5000 x g.

La fase acuosa se retiró y la fase orgánica se lavó tres veces con 500 μ l de solución de bicarbonato sódico 50 mM, pH 10.25. Finalmente, se colocaron 500 μ l del sistema de muestras en un Speed Vac durante 33 minutos (presión de vacío de 5.1) y los extractos secos obtenidos se almacenaron a -80°C hasta el ensayo de MEL. Para el ensayo, los extractos secados se resuspendieron en 70 μ l de fase móvil consistente en fosfato sódico 100 mM, sal disódica de ácido etilendiaminotetraacético 0.1 mM y acetonitrilo al 25%.

La MEL se midió mediante cromatografía líquida de alta resolución (Shimadzu Europe GmbH, Alemania) con una columna Waters Sunfire C18 5 de 150 x 4.5 mm (Waters Chromatography, Barcelona, España). Después de la estabilización de la columna con la fase móvil, se inyectaron muestras de MEL (40 μ l) en el sistema cromatográfico a un caudal de 1 ml/min, como 5-fluorotriptamina como patrón interno. La fluorescencia de MEL se midió en un

detector de fluorescencia (Shimadzu RF-10A XL) con una onda de excitación y emisión de 285 nm y 345 nm, respectivamente. El tiempo de retención fue de 8.9 min.

Se construyó una curva estándar para la MEL, se calculó la concentración de MEL en las muestras como área del pico. Las concentraciones de MEL se expresan en pg/ml.

CAPÍTULO 3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos se analizaron utilizando SPSS 22.0 para Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, EE.UU.) y se expresaron como valores medios y desviación estándar para el análisis descriptivo, y los resultados de las variables categóricas en frecuencias (%). La prueba de Shapiro-Wilks se utilizó para evaluar la normalidad.

3.9.1. Valoración del estado nutricional de la muestra completa

Respecto al análisis estadístico realizado a la muestra completa, a continuación se detallan las técnicas estadísticas utilizadas. En referencia a las pruebas físicas, composición corporal, ingesta de nutrientes, bioquímica, la prueba t-student para muestra apareadas fue realizada con la finalidad evaluar la eficacia previa y posterior a los 14 días de intervención.

En relación a la ingesta y la frecuencia de consumo de alimentos, se calculó la adecuación de ingesta a partir de las RDA actuales para población sana. Respecto a la ingesta, esta se categorizó de acuerdo a los sujetos que presentaban una ingesta insuficiente, una ingesta normal, y una ingesta superior a la normalidad, tanto de macronutrientes como de micronutrientes. En referencia a la FFQ de alimentos, igualmente se categorizó el consumo de alimentos de acuerdo a la pirámide de FFQ de alimentos propuesta por la SENC (130). Estos valores representaban una FFQ inferior a la recomendación, una FFQ dentro de la recomendación, y finalmente una FFQ superior a la recomendación.

3.9.2. Valoración del estatus antioxidante, estrés oxidativo y daño en ADN. Estudio de intervención con melatonina

Respecto al análisis del estudio de valoración del estatus antioxidante estrés oxidativo y daño en ADN, a continuación se detallan las técnicas estadísticas utilizadas. En el estudio de los datos o variables numéricas, se ha utilizado el test de muestras independientes en las comparaciones entre grupos, correspondientes a la valoración de la composición corporal, la valoración de la ingesta, la valoración bioquímica, y la evaluación del estatus antioxidante y el daño en ADN. El test para muestras relacionadas, se realizó con la finalidad de evaluar la evolución de todos los sujetos a lo largo de la intervención mediante 14 días de entrenamiento HIIT. Se emplearon el test de la t de Student para los métodos paramétricos, tanto en el caso de muestras independientes, como de muestras relacionadas, el test de Kruskal-Wallis para los no paramétricos de muestras independientes, y el test de Wilcoxon, como test no paramétrico para muestras relacionadas. El nivel de significación se fijó en 0.05.

El análisis de regresión lineal se utilizó para la búsqueda de correlaciones bivariadas, utilizando el coeficiente de correlación de Pearson en el caso de variables que seguían una distribución normal, y el coeficiente de correlación de Spearman para variables que seguían una distribución no normal.

CAPÍTULO 3.10. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Teniendo en cuenta resultados mostrados expuestos en la presente Tesis Doctoral sobre novedades en cuanto a las relaciones entre la suplementación con melatonina, el estatus antioxidante, el estrés oxidativo, el daño en ADN y el estatus nutricional de opositores a Policía Nacional durante un periodo de suplementación de 14 días intervenidos con HIIT, la presente Tesis Doctoral no está exenta de limitaciones que merecen ser comentadas.

Respecto a las limitaciones metodológicas, el tamaño de la muestra, fue una limitación ya que contábamos con 14 sujetos repartidos en dos grupos, grupo suplementado y grupo placebo, esto nos pudo limitar en la magnitud de los hallazgos y la tendencia de los datos hacia su significación estadística. Hay que tener en cuenta que los individuos fueron seleccionados según los criterios de inclusión previamente descritos, presentando como opositores a Policía Nacional unas características físicas, de edad y sociodemográficas muy similares, lo que hizo que la muestra fuera muy homogénea y por ello hemos conseguido resultados significativos.

Otra de las principales limitaciones de la presente Tesis Doctoral ha sido el periodo durante el cual los sujetos han sido suplementados. Es posible que de haber usado un periodo de

suplementación más amplio previo, podría haber potenciado los efectos obtenidos sobre la reducción del daño en ADN y la el estrés oxidativo promovido por el ejercicio. Sin embargo, y en base a los objetivos nuestra intención principal fue que el ejercicio no promoviera ciertas adaptaciones biológicas producidas con un mayor trascurso de tiempo.

Por otro lado, la falta de estudios de investigación previos sobre el tema de hábitos nutricionales asociado al entrenamiento, hace que al ser un colectivo de difícil acceso, y que depende de las plazas ofertadas por el Gobierno Central, no contemos con datos comparativos con los que poder discutir los resultados. Asimismo, los resultados obtenidos pueden no ser generalizables a otro tipo de esfuerzos o disciplinas deportivas.

Capítulo 4

RESULTADOS

CAPITULO 4. RESULTADOS

La presente sección de resultados trata de describir los resultados más relevantes de nuestra investigación desde dos objetivos principales tenidos en cuenta, que van a marcar el desarrollo de la lectura esta sección. Inicialmente, nuestro objetivo ha sido realizar la valoración del estado nutricional de una muestra de 14 sujetos opositores a Policía Nacional. Como resultado de ello, la muestra ha sido tratada con la finalidad de valorar la composición corporal, la ingesta y la frecuencia de consumo de alimentos, además de la bioquímica, para lo que tuvimos que valorar el estado nutricional previo y posterior a 14 días de intervención con HIIT.

De forma paralela a nuestra intervención, en la sección segunda de los resultados mostraremos los resultados más relevantes a una intervención que realizamos con MEL en los opositores a Policía Nacional. Como consecuencia de ello, para poder valorar en qué medida afectó la intervención al estatus antioxidante, al estrés oxidativo y al daño en ADN, dividimos la muestra en dos grupos (GP y GM), con la finalidad observar de qué forma previa y posterior a 14 días de intervención con HIIT existió una respuesta distinta en ambos grupos.

CAPÍTULO 4.1. SUJETOS DEL ESTUDIO

4.1.1. Selección de la muestra

Catorce hombres sanos (20-37 años de edad) y físicamente activos de características clínicas similares. La altura de los sujetos 178.5 cm (SD 5.12) así como el peso en el punto basal 79.17 kg (6.77) se encontraron por encima de la media de la población española 1.75 cm para la altura y 77 kg para el peso según el Instituto Nacional de Estadística. El peso en el punto final 77.85 kg (6.16) se situó dentro de la media 77.5 kg.

Tabla 6. Características generales de la muestra.

Parámetros generales	Basal	Final	Δ Cambio	P Valor
Edad (años)	27.21 (5.22)	-	-	-
Altura (cm)	178.5 (5.12)	-	-	-
Peso (Kg)	79.17 (6.77)	77.85 (6.16)		0.106

4.1.2. Evaluación del estado fisiológico de la muestra

Los sujetos presentaron un valor medio de VO₂ máx. De 57.3 (SD 6.6) ml/kg/min y un índice de fuerza relativa total (IFR T) de 1.57 (0.18), índice de fuerza relativa (IFR) en el tren superior (IFR TSup) de 1.7 (0.14) y un índice de fuerza relativa en el tren inferior de (IFR TInf) 2.06 (0.27).

Tabla 7. Estado fisiológico de la muestra.

Parámetros fisiológicos	Basal
VO ₂ máx (ml/kg/min)	57.30 (6.6)
IFR T	1.57 (0.18)
IFR TSup	1.70 (0.14)
IFR TInf	2.06 (0.27)

VO₂ máx.: Volumen máximo de oxígeno. IFR T: índice de fuerza relativa total. IFR TSup: índice de fuerza relativa en el tren superior. IFR TInf: índice de fuerza relativa en el tren inferior.

Respecto a la capacidad respiratoria máxima de los deportistas, el VO₂ máx. los sujetos se situó en valores de referencia de deportistas entrenados en deportes de equipo (Dirix, Knuttgen, & Titte, 1988) como fútbol o baloncesto (91), como en deportistas de nivel internacional en luchas olímpicas (331), o en judocas de elite (332).

CAPÍTULO 4.2. VALORACIÓN DE LA CONDICIÓN FÍSICA

Todos los sujetos registraron diferencias significativas entre pre intervención y post intervención, especialmente en las pruebas de salto y resistencia $p= 0.002$. El 92.9 % de los sujetos superaron las pruebas como aptos después del estudio, mes de acondicionamiento y 14 días de intervención mediante HIIT.

Tabla 8. Nivel de aptitud física en aspirantes a Policía Nacional antes y después de 14 días de intervención de entrenamiento interválico de alta intensidad.

	Pre	Post	Pre - Puntos	Post - Puntos	Porcentaje sujetos			
					Pre		Post	
					< Q	> Q	< Q	> Q
Circuito agilidad (seg)	9.97 (0.55)	9.02 (0.45)	6.21 (1.37)	8.17 (1.03)	28.6	71.4	0.00	100
Dominadas (reps)	10.6 (5.63)	12.3 (3.77)	6.00 (3.4)	7.57 (1.83)	28.6	71.4	7.1	92.9
Salto vertical (cm)	54.5 (6.01)	58.8 (6.73)	4.79 (1.97)	6.01 (1.63)	42.9	57.1	23.1	76.9
2000 m (seg)	8.41 (0.82)	7.80 (0.42)	2.36 (2.84)	4.57 (1.99)	72.7	27.3	42.9	57.1
Total	-	-	18.9 (5.67)	24.7 (4.27)	64.3	35.7	7.1	92.9

Q = Puntuación de referencia.

CAPÍTULO 4.3. VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL MUESTRA COMPLETA

La presente sección de resultados, se corresponde con el estudio de intervención con MEL realizado en los opositores a Policía Nacional. Los resultados referentes a este capítulo, ha sido enviado a la revista: **Journal of Strength and Conditioning Research** – Submitted.

A continuación presentamos los resultados correspondientes a la evaluación del estado nutricional en sus tres fases como son la valoración antropométrica, la valoración de ingesta y frecuencia de consumo de alimentos, y la valoración bioquímica.

4.3.1. Valoración de la composición corporal

4.3.1.1. Pliegues cutáneos, perímetros y amplitudes

Los sujetos presentaban un somatotipo endo-mesomorfo, endomorfo 4.81 (1.84), mesomorfo 4.54 (1.18), y ectomorfo 1.92 (0.8) (en el que predomina la endomorfia, pero la mesomorfia es más aparente que la ectomorfia). Tanto el IMC de 24.86 (1.97), como el índice cintura cadera (ICC) de 0.88 (0.03) se situaron dentro de los valores normales $IMC \leq 25$ y $ICC \leq 0.88$ según la Organización Mundial de la Salud (333) y su consulta mixta de expertos “Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas” realizada en Ginebra 2003 (334). El

porcentaje de grasa corporal 14.71 (2.41) se encontró dentro del rango de población sana comprendido ente el 8% al 19% (335).

Tabla 9. Valoración de la composición corporal y el somatotipo mediante plicometría.

Pliegues cutáneos	Basal
Sumatorio 3	37.29 (5.04)
Sumatorio 6	78.63 (3.92)
Sumatorio 8	92.60 (4.55)
Perímetros	
Pecho	102.2 (4.80)
Bíceps relajado	32.51 (2.09)
Bíceps contraído	34.45 (1.75)
Cintura	85.48 (4.56)
Cadera	97.32 (5.38)
Muslo	55.94 (3.59)
Índices	
IMC	24.86 (1.97)
ICC	0.88 (0.03)
Masa magra masa grasa	
Behnke Mm (kg)	66.14 (6.26)
Yuhasz Mg (kg)	16.46 (2.89)
Sloan Mg (kg)	15.55 (3.00)
Cuatro Compartimentos	
Graso (Faulkner) %	14.71 (2.41)
Graso (kg)	11.63 (2.18)
Óseo (VonDobeln) (kg)	6.86 (0.37)
Residual (Wuch) (kg)	19.04 (1.58)
Muscular (Matiecka)	41.46 (4.15)
Somatotipo	
Endomorfo	4.81 (1.84)
Mesomorfo	4.54 (1.18)
Ectomorfo	1.92 (0.80)

Mm Masa Muscular; Mg Masa: magra; IMC Índice de Masa Corporal; ICC Índice Cintura Cadera

4.3.1.2. Impedancia bioeléctrica

Las características antropométricas de los participantes del estudio se presentan en la Tabla 1. El porcentaje de grasa corporal y peso graso disminuyó significativamente después de 14 días de intervención con ejercicios de HIIT ($p=0.024$ y $p=0.019$, respectivamente) siendo más evidente en miembros inferiores ($p=0.005$ y $p=0.006$, respectivamente). Igualmente, el índice de grasa visceral disminuyó significativamente de 4.29 a 3.58 después de la intervención. Por otro lado, teniendo en cuenta el porcentaje de masa libre de grasa, éste aumentó significativamente después de 14 días de intervención, siendo confirmado por el aumento del porcentaje de ACT ($p=0.013$) observada una vez que se realizó la intervención. Teniendo en cuenta el metabolismo basal de los sujetos, los valores medios fueron de 1918.6 ± 125.4 y 1915.2 ± 119.9 kcal pre and post intervención mediante HIIT. Respecto al resto de parámetros antropométricos, los valores se mantuvieron sin cambios.

4.3.1.3. Estudio de correlación antropométrica

Para la valoración de la composición corporal, se realizó un tratamiento estadístico utilizando la correlación bivalente de Pearson entre los compartimentos musculares y grasos estimados con el fin de cuantificar la compatibilidad de dichos métodos. En referencia al estudio de correlación bivariada entra la valoración de la composición corporal mediante impedancia bioeléctrica y la plicometría. Encontramos una fuerte correlación significativa $p=0.01$ entre los siguientes compartimentos; el graso en kg medido mediante impedancia con las mediciones de pliegues de MG en kg $r=0.786$ y % de masa muscular $r=0.598$. La masa magra expresada en porcentaje de la impedancia con las medidas realizadas mediante plicometría de % de grasa $r=0.627$ y grasa en kg $r=0.849$. Por último ambas masas musculares de las técnicas realizadas $r=0.957$.

Tabla 10. Evolución de la composición corporal mediante impedancia bioeléctrica pre y post intervención con HIIT.

Análisis compartimental	Basal	Final	Δ Cambio	P value
MG (Kg)	14.03 (3.71)	12.66 (3.76)	1.23 (1.63)	0.024
MG (%)	17.49 (3.54)	16.07 (4.02)	1.38 (1.73)	0.019
MLG (Kg)	65.17 (4.2)	65.19 (3.95)	-0.19 (1.27)	0.612
MLG (%)	82.51 (3.54)	83.93 (4.01)	-1.37 (1.75)	0.020
MMT (Kg)	61.95 (4.01)	61.96 (3.78)	-0.17 (1.22)	0.646
Masa Ósea (kg)	3.22 (0.2)	3.23 (0.18)	-0.03 (0.06)	0.191
ACT (kg)	46.96 (3)	47.19 (2.93)	-0.42 (1.03)	0.190
ACT (%)	59.50 (3.25)	60.79 (3.83)	-1.33 (1.36)	0.006
AIC (kg)	28.47 (2.14)	28.72 (2.2)	-0.38 (0.76)	0.117
AEC (kg)	18.49 (0.96)	18.48 (0.85)	-0.04 (0.33)	0.674
IGV	4.29 (2.3)	3.58 (2.07)	0.67 (0.78)	0.013
Análisis segmentario				
Tronco MG (%)	19.49 (4.3)	17.82 (4.7)	1.51 (2.62)	0.071
Tronco MG (kg)	8.54 (2.43)	7.67 (2.43)	0.77 (1.29)	0.063
Tronco MLG (kg)	34.75 (2.55)	34.69 (2.24)	0.02 (0.82)	0.945
MG derecha pierna (%)	14.49 (3.45)	13.22 (3.68)	1.47 (1.34)	0.003
MG derecha pierna (kg)	1.96 (0.56)	1.78 (0.57)	0.20 (0.21)	0.005
MLG derecha pierna (kg)	11.44 (0.64)	11.48 (0.62)	-0.10 (0.27)	0.231
MG izquierda pierna (%)	15.26 (3.37)	14.07 (3.57)	1.31 (1.31)	0.005
MG izquierda pierna (kg)	2.03 (0.55)	1.84 (0.56)	0.19 (0.20)	0.006
MLG izquierda pierna (kg)	11.09 (0.68)	11.10 (0.66)	-0.06 (0.26)	0.449
MG derecha brazo (%)	15.39 (2.87)	14.43 (2.93)	0.77 (1.39)	0.082
MG derecha brazo (kg)	0.71 (0.17)	0.68 (0.15)	0.03 (0.06)	0.191
MLG derecha brazo (kg)	3.94 (0.31)	3.93 (0.3)	0.01 (0.15)	1.000
MG izquierda brazo (%)	15.97 (2.82)	14.78 (2.93)	1.08 (1.49)	0.032
MG izquierda brazo (kg)	0.75 (0.19)	0.71 (0.16)	0.04 (0.1)	0.175
MLG izquierda brazo (kg)	3.95 (0.33)	3.99 (0.34)	-0.05 (0.18)	0.352
Tasa metabólica en reposo				
Índice de tasa metabólica (kcal)	1918.6 (125.4)	1915.2 (119.9)	-1.5 (36.97)	0.891
Índice de tasa metabólica reposo	8.43 (1.02)	8.67 (0.89)	-0.25 (0.75)	0.275
Edad Metabólica (Años)	24.79 (9.71)	22.08 (9.79)	2.58 (4.46)	0.071

IMC Índice de masa corporal; MG Masa grasa; MLG Masa libre de grasa; MMT Masa muscular total del cuerpo; ACT Agua corporal total; AIC Agua intracelular; AEC Agua extracelular; IGV Índice de grasa visceral.

Con respecto a la relación entre la composición corporal y las pruebas de aptitud física en opositores a Policía Nacional, los resultados sugieren que la composición corporal, en términos de porcentaje de MG o MG en kilogramos, está asociada a la prueba de dominadas previa (Figura 21A) y post intervención (Figura 21B). Por lo tanto, la disminución significativa en la MG después de la intervención se relacionó negativamente con un aumento en la puntuación de dominadas. Además de la asociación intuitiva entre una mayor MG y su bajo rendimiento asociado, los resultados van más allá al sugerir que la MG puede no estar fuertemente asociada con todas las formas de rendimiento físico que se pueden apreciar en los distintos test (336). En esencia, el estudio encontró que para las medidas de potencia y fuerza muscular (como dominadas y salto vertical) la masa libre de grasa puede ser más importante que la MG (Figura 21C y D). Además, una posible razón para esta diferencia es la distribución de la MG, con investigaciones previas (336,337), que sugieren que un aumento en el contenido de grasa alrededor del abdomen impactó en el rendimiento en el test de 1 min de sentadillas y salto vertical. En esta línea, encontramos una correlación entre la MG del tronco (porcentaje) y la puntuación del test de dominadas antes y después de la intervención (Figura 21E y F). Hallazgos similares encontramos el estudio llevado a cabo por Sánchez y cols. (338) donde encontraron resultados similares a nuestro estudio añadiendo una correlación negativa con la masa corporal magra, lo que parece indicar que para el test de dominadas no solo es importante la MG, además el peso total puede ser un factor importante para determinar el número de repeticiones de dicho ejercicio.

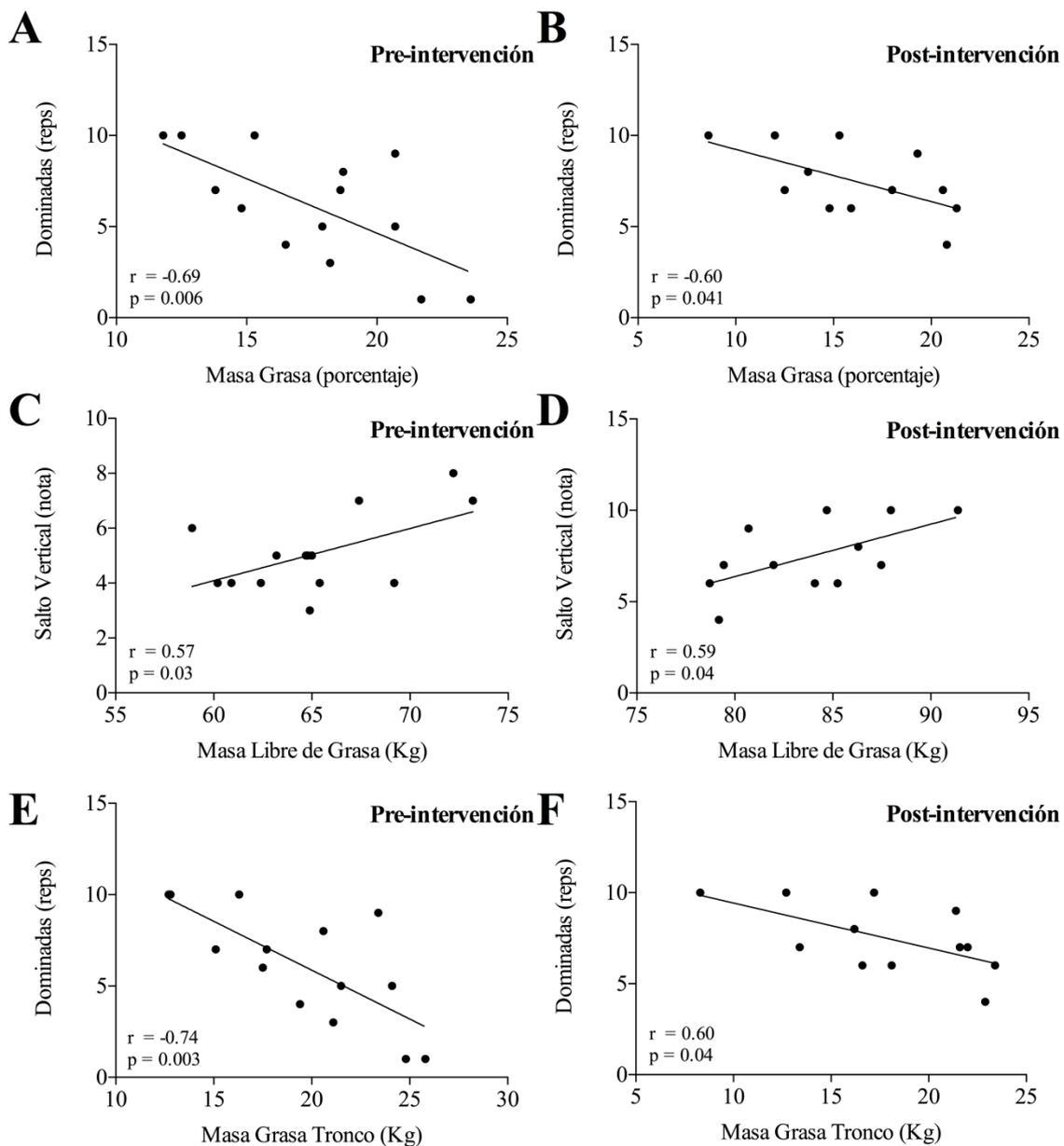


Figura 23. Correlaciones bivariada de Pearson entre la valoración de la composición corporal y el estado físico antes y después de 14 días de intervención de entrenamiento interválico de alta intensidad.

4.3.2. Valoración de ingesta: cualitativa y cuantitativa

4.3.2.1. Ingesta de energía, macronutrientes y micronutrientes

La Tabla 11 describe el consumo de macronutrientes y micronutrientes en comparación con los valores de Ingesta Dietética Recomendada (IDR) aplicables (119,141). En general, la evaluación del aporte de energía a través de la dieta, se mostró por debajo de los valores de

referencia tanto al inicio como después de 14 días de intervención. Respecto al perfil de ingesta nutricional de los opositores de policía, se estimó la ingesta de macronutrientes y su porcentaje respecto al total de calorías ingeridas. Se observó un desequilibrio de los principales macronutrientes: HC, al inicio: 3.78 ± 1.45 g/kg/día (45.2% de la energía total), 14 días: 4.01 ± 1.44 g / kg / día (41.9% de la energía total); grasa, al inicio: 1.40 ± 0.43 g/kg/día (37.8% de la energía total), 14 días: 1.71 ± 0.42 g/kg/día (40.2% de la energía total); proteínas, al inicio: 1.55 ± 0.61 g/kg/día (18.6% de la energía total), 14 días: 1.91 ± 0.25 g/kg/día (20.0% de la energía total). La ingesta de proteína, colesterol y ácidos grasos monoinsaturados y fibra aumentó significativamente ($p < 0.05$) después de 14 días de intervención. Todos los sujetos se situaron por encima de los valores de referencia dos veces medidos de acuerdo con la ingesta de proteínas. Sin embargo, el 78.6% de los sujetos se encontraron por debajo de dos tercios de la ingesta recomendada de HC.

Los resultados correspondientes a la ingesta de minerales se describen en la Tabla 12. A nivel general, se observó como la mayoría de los minerales excedieron las IDR para población sana a excepción del zinc al inicio. Los sujetos presentaron un 73.77% de AI para este nutriente. Teniendo en cuenta la intervención realizada, observamos un incremento significativo en la ingesta en valores medios absolutos de minerales como el (p=0.012), Se (p=0.003), Zn (p=0.000) y Mg (p=0.010), fundamentalmente debido al incremento en la ingesta de energía. La mayor parte de los sujetos se situaron por encima de la recomendación a excepción de la ingesta de Zn al inicio donde el 71,4 % de los sujetos se situaron por debajo de la recomendación. Éste déficit en la ingesta se vio corregido tras la intervención.

La Tabla 13 describe la ingesta de micronutrientes (Vitaminas) en comparación a los valores de ingesta recomendada (RDI). Las vitaminas B₁₂ y C describieron una disminución significativa pasando de 30.54 µg a 16.55 µg (p=0.035) y de 120.4 mg a 54.37 mg (p=0.002) del inicio a 14 días posteriores a la intervención. Las vitaminas B6, Niacina y Retinol experimentaron un aumento significativo con valores de 2,64mg a 3.31 mg (p=0.029), de 33.8 mg a 49.68 mg (p=0.001) y de 800.5 µg a 1387.1 µg (p=0.008) del inicio a 14 días posteriores a la intervención. La mayor parte de los sujetos se encontraban por encima de las recomendaciones (RDI) de vitaminas.

Tabla 11. Consumo de energía, macronutrientes en comparación con RDA/AI.

Macronutrientes	Media (Sd)		Valor P	RDA/AI		% RDA/AI		Porcentaje de sujetos	
	Inicio	14 Días		Inicio	14 Días	Inicio	14 Días	Inicio	14 Días
Energía (Kcal/día)	2651.4 (511.9)	2984 (530.4)	0.048	3228.1	81.90	92.18	42.9 - 42.9 - 14.3	7.1 - 78.6 - 14.3	
Carbohidratos (g/día)	299.59 (115.23)	312.66 (112.25)	0.569	447.6	66.63	69.55	78.6 - 7.10 - 14.3	78.6 - 14.3 - 7.10	
Proteína (g/día)	123.1 (48.34)	149.1 (20.16)	0.035	54.00	228.1	276.3	0.00 - 0.00 - 100	0.00 - 0.00 - 100	
Grasa (g/día)	111.39 (34.48)	133.36 (33.03)	0.052	118.3	94.06	112.4	28.6 - 21.4 - 50.0	7.10 - 28.6 - 64.3	
Colesterol (g/día)	324.5 (113.61)	444.2 (106.9)	0.003	300.0	108.2	148.1	14.3 - 21.4 - 64.3	0.00 - 7.10 - 92.9	
Ácidos Grasos Saturados (g/día)	28.64 (13.97)	33.58 (13.66)	0.264	28.70	99.31	116.3	35.7 - 28.6 - 35.7	0.00 - 42.9 - 57.1	
Ácidos Grasos Monoinsaturados (g/día)	48.95 (15.48)	63.41 (11.76)	0.021	71.69	68.19	88.56	64.3 - 28.6 - 7.10	28.6 - 42.9 - 28.6	
Ácidos Grasos Polinsaturados (g/día)	16.6 (9.53)	16.75 (4.21)	0.957	17.93	92.92	93.17	42.9 - 28.6 - 28.6	21.4 - 50.0 - 28.6	
Fibra (g/día)	25.8 (7.22)	31.32 (6.92)	0.013	25.00	103.2	125.2	7.10 - 57.1 - 35.7	0.00 - 21.4 - 78.6	

IA; ingestas adecuadas en tipo común seguido de un asterisco. RDA; Recomendaciones dietéticas recomendadas en tipo normal. La ingesta insuficiente se consideró una vez que el promedio de la ingesta diaria de la dieta era inferior a dos tercios de las RDA. Se cree que la adecuación de ingesta (IA) cubre las necesidades de todos los individuos sanos de los grupos, pero la falta de datos o la incertidumbre en ellos impide que se muestren conclusiones específicas sobre la proporción de la muestra que logre la IA.

Tabla 12. Consumo de minerales en comparación con RDA/AI.

Minerales	Media (Sd)		P	RDA/AI	% RDA/AI		Porcentaje de sujetos	
	Inicio	14 Días			Inicio	14 Días	Inicio	14 Días
Potasio (mg/día)	3504.64 (878.11)	4236.64 (779.93)	0.008	3500	100.1	121.1	21.4 - 21.4 - 57.1	0.00 - 21.4 - 78.6
Calcio (mg/día)	1091.76 (486.59)	1285.81 (361.46)	0.076	800	136.4	160.7	14.3 - 14.3 - 71.4	0.00 - 7.10 - 92.9
Magnesio (mg/día)	362.49 (117.46)	462.67 (92.87)	0.010	350	103.5	132.1	21.4 - 28.6 - 50.0	0.00 - 7.10 - 92.9
Fosforo (mg/día)	1774.1 (459.85)	2021.9 (339.79)	0.012	700	253.4	288.8	0.00 - 0.00 - 100	0.00 - 0.00 - 100
Hierro (mg/día)	26.53 (21.8)	41.64 (26.87)	0.080	10	265.3	416.4	0.00 - 0.00 - 100	0.00 - 0.00 - 100
Cobre (mg/día)	1.14 (0.56)	1.40 (0.26)	0.073	1.1	103.8	127.5	28.6 - 21.4 - 50.0	0.00 - 14.3 - 85.7
Zinc (mg/día)	11.07 (7.75)	27.70 (16.18)	0.000	15	73.77	184.6	71.4 - 14.3 - 14.3	0.00 - 21.4 - 78.6
Selenio (µg/día)	96.15 (44.34)	132.5 (24.83)	0.003	70	137.4	189.3	7.10 - 14.3 - 78.6	0.00 - 0.00 - 100

IA; ingestas adecuadas en tipo común seguido de un asterisco. RDA; Recomendaciones dietéticas recomendadas en tipo normal. La ingesta insuficiente se consideró una vez que el promedio de la ingesta diaria de la dieta era inferior a dos tercios de las RDA. Se cree que la adecuación de ingesta (IA) cubre las necesidades de todos los individuos sanos de los grupos, pero la falta de datos o la incertidumbre en ellos impide que se muestren conclusiones específicas sobre la proporción de la muestra que logre la IA.

Tabla 13. Consumo de vitaminas en comparación con RDA/AI.

Vitaminas	Media (Sd)		P	RDA/AI	% RDA/AI		Porcentaje de sujetos	
	Inicio	14 Días			Inicio	14 Días	Inicio	14 Días
Tiamina (mg/día)	3.32 (3.42)	5.43 (4.68)	0.203	1.28	263.92	416.14	0.00 - 7.10 - 92.9	0.00 - 0.00 - 100
Riboflavina (mg/día)	2.31 (0.83)	2.40 (0.47)	0.658	1.93	119.49	124.49	7.10 - 35.7 - 57.1	0.00 - 7.10 - 92.9
Vitamina B6 (mg/día)	2.64 (1.13)	3.31 (0.76)	0.029	1.8	146.55	183.81	0.00 - 21.4 - 78.6	0.00 - 0.00 - 100
Vitamina B12 (µg/día)	30.54 (19.87)	16.55 (5.59)	0.035	2	1527.14	827.46	0.00 - 0.00 - 100	0.00 - 0.00 - 100
Ácido Fólico (µg/día)	290.39 (69.09)	401.56 (75.32)	0.000	200	145.2	200.78	0.00 - 0.00 - 100	0.00 - 0.00 - 100
Niacina (mg/día)	33.82 (12.64)	49.68 (10.02)	0.001	21.31	158.2	233.38	0.00 - 21.4 - 78.6	0.00 - 0.00 - 100
Vitamina C (mg/día)	120.37 (54.37)	193.04 (56.53)	0.002	60	200.61	321.74	7.10 - 0.00 - 92.9	0.00 - 0.00 - 100
Retinol (µg/día)	800.54 (312.6)	1387.08 (556.92)	0.008	1000	80.05	138.71	50.0 - 14.3 - 35.7	7.10 - 7.10 - 85.7
Vitamina D (µg/día)	9.51 (8.47)	14.64 (9.08)	0.182	5	190.14	292.76	21.4 - 7.10 - 71.4	0.00 - 7.10 - 92.9
Vitamina E (mg)	16.64 (7.45)	19.05 (2.58)	0.258	12	138.67	158.79	0.00 - 21.4 - 78.6	0.00 - 0.00 - 100

IA; ingestas adecuadas en tipo común seguido de un asterisco. RDA; Recomendaciones dietéticas recomendadas en tipo normal. La ingesta insuficiente se consideró una vez que el promedio de la ingesta diaria de la dieta era inferior a dos tercios de las RDA. Se cree que la adecuación de ingesta (IA) cubre las necesidades de todos los individuos sanos de los grupos, pero la falta de datos o la incertidumbre en ellos impide que se muestren conclusiones específicas sobre la proporción de la muestra que logre la IA.

4.3.2.2. Frecuencia de consumo de alimentos

La FFQ de alimentos de los opositores a Policía Nacional se muestra en la Tabla 14. Para el análisis de la FFQ se utilizaron las recomendaciones establecidas por la SENC (130,327) para la población sana. Cuando comparamos los resultados con las recomendaciones de la SENC, podemos destacar que ninguno de nuestros sujetos de estudio cubría las recomendaciones de consumo diario de los siguientes grupos de alimentos: leche y productos lácteos, aceite de oliva, vegetales, fruta, patatas, arroz, pan, pan integral y pasta. De manera global, se observó cómo los grupos de alimentos menos consumidos fueron la fruta y arroz, pan, pan integral y pasta con un 78.6% de individuos que no llegaban a la recomendación.

Teniendo en cuenta la frecuencia de consumo de verduras y lácteos y sus derivados, el 71.4% y el 50.0% de los sujetos se encontraron dentro o por encima de las recomendaciones, respectivamente. Por otro lado, alimentos como las nueces o los huevos tuvieron un consumo muy bajo encontrándose por debajo de las recomendaciones en un 71.4% y un 85.7% de los individuos, respectivamente.

Las cifras de consumo de pescado, carne magra, aves de corral (porciones/semana) mostraron que la mayoría de los participantes consumieron más de la cantidad recomendada en porciones de cada uno de estos tipos de alimentos. Por último, respecto a los alimentos de consumo ocasional (salchichas y grasas de carne, dulces, refrigerios, refrescos, mantequilla, margarina y pasteles, y grupos de cerveza y vino), se expresaron como porciones/día ya los participantes de este estudio consumieron estos alimentos con relativa frecuencia. En este caso, el promedio de frecuencia de consumo para alimentos como las salchichas y las carnes grasas fue de 0.88 raciones/día, al igual que el consumo de dulces/pasteles, cuyo consumo fue de 1.39 porciones/día.

Tabla 14. Frecuencia de consumo de alimentos en los aspirantes a Policía Nacional.

Grupos de alimentos	Recomendaciones	Media (CI)	(< R)	(≥ R)
Patatas, arroz, pan, pan integral y pasta	4-6 porciones/día	2.97 (2.05 - 3.88)	78.60	21.40
Fruita	≥ 3 porciones/día	1.84 (1.16 - 2.52)	78.60	21.40
Vegetales	≥ 2 porciones/día	3.25 (2.21 - 4.28)	28.60	71.40
Aceite de Oliva	3-6 porciones/día	1.79 (1.03 - 2.56)	57.10	42.90
Leche y Productos Lácteos	2-4 porciones/día	2.06 (1.52 - 2.61)	50.00	50.00
Nueces	3-7 porciones/semana	2.14 (0.76 - 4.35)	71.40	28.50
Legumbres	2-4 porciones/semana	3.39 (1.98 - 4.73)	35.70	64.30
Huevos	3-4 porciones/semana	2.53 (1.90 - 3.15)	85.70	14.30
Carnes magras y embutidos	3-4 porciones/semana	5.20 (4.42 - 5.97)	-	100.0
Pescado y marisco	3-4 porciones/semana	6.82 (5.69 - 7.95)	-	100.0
Carne grasa y embutido *	Ocasional y Moderado	0.88 (0.46 - 1.30)	-	-
Bebidas sin alcohol y helados*	Ocasional y Moderado	0.38 (0.12 - 0.63)	-	-
Panadería dulce, pasteles, dulces *	Ocasional y Moderado	1.39 (0.36 - 2.42)	-	-
Mantequilla, margarina, mayonesa, tocino *	Ocasional y Moderado	0.24 (0.07 - 0.48)	-	-
Cerveza o vino *	Consumo opcional y moderado en adultos	0.20 (0.07 - 0.33)	-	-

Todos los datos se expresan como la media seguida por el intervalo de confianza entre paréntesis. El consumo de diferentes alimentos se indica como el número de porciones para cada grupo de alimentos. Recomendaciones para atletas según SENC (Dapcich, y otros, 2004), (SENC, 2016). * Si se recomiendan porciones ocasionales o si no hay una recomendación específica para un grupo de alimentos, la ingesta se informa como porciones/día. R=Porcentaje de participantes en los que la ingesta cubrió (≥R) o no cubrió (<R) las cantidades recomendadas.

4.3.3. Valoración bioquímica

La tabla 15 compara el perfil bioquímico de los opositores a Policía Nacional respecto a los valores de referencia, así como la evolución de éstos a lo largo de la intervención con HIIT durante los 14 días. Los datos mostrados representan los valores medios basales bioquímicos de los opositores a Policía Nacional, los valores post ejercicio agudo previos a la intervención, y finalmente los valores post ejercicio tras 14 días de intervención mediante HIIT. Con esta finalidad pretendimos evaluar 1) el efecto agudo del HIIT sobre el perfil bioquímico y hematológico, y 2) el efecto acumulativo de cargas de entrenamiento HIIT durante 14 días sobre el perfil bioquímico y hematológico. A nivel general, los valores medios basales mostraron normalidad para todos los parámetros estudiados, excepto para los triglicéridos, donde el 35% de los sujetos se situó por debajo de los valores de referencia.

Una vez realizada la primera sesión de HIIT, los valores bioquímicos y hematológicos fueron nuevamente analizados. Referente al metabolismo de los HC, los niveles de glucosa mostraron un descenso significativo ($p < 0.05$) tras la sesión de HIIT. El 83.3% de los sujetos, se encontraron por debajo de los niveles de referencia de glucosa para población normal. A nivel de metabolismo proteico, los niveles de creatinina, bilirrubina total y CK, aumentaron significativamente ($p < 0.05$) tras el ejercicio. En este caso, el 41.7%, el 33.3% y el 66.7% de los sujetos mostraron niveles alterados (por encima de los valores de referencia) de creatinina, bilirrubina total y CK, respectivamente. Respecto al perfil de lípidos, tanto los niveles de TC como los de HDL y LDL se mostraron alterados en un 25% de los opositores, a pesar de que a nivel absoluto no se alcanzó la significación estadística. A nivel hematológico, tanto hematocrito como hemoglobina se vieron incrementados ($p < 0.05$) tras la sesión aguda de HIIT. El resto de parámetros (minerales, clínico-nutricionales y hematológicos) no mostraron alteración tras la sesión aguda de HIIT.

Finalmente, tras 14 días de intervención mediante HIIT, se observó cómo la glucosa, la creatinina, ácido úrico, bilirrubina total, CK, Mg, Na y ferritina, mostraron cambios significativos ($p < 0.05$) respecto a su comparación con los valores bioquímicos basales. A nivel comparativo entre los valores pre y post intervención con HIIT, se observó que los parámetros que mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) fueron la creatinina, la bilirrubina total y el Fe. Analizando la muestra en función de los opositores que se encontraban por encima o por debajo de los valores de referencia, tanto para los parámetros bioquímicos como hematológicos, pudimos observar cómo un 14.3% de los sujetos se situaron por debajo de las recomendaciones para LDL, el Na, la proteínas totales y la pre-albúmina, siendo este último

un parámetro marcador del estado nutricional. En el caso de la glucosa, el 85.7% de los sujetos mostraron estar por debajo de los valores de referencia tras 14 días de HIIT. Respecto a los sujetos que se situaron por encima de los valores de referencia, el 90.9, el 50.0% y el 28.6% mostraron alteración para la CK, la bilirrubina y la creatinina. En el caso de la CK, casi el total de la muestra mostró estar por encima de los valores de referencia.

Tabla 15. Parte 1. Perfil bioquímico de los opositores a Policía Nacional respecto a los valores de referencia, así como la evolución de éstos a lo largo de la intervención con el HIIT durante los 14 días que duró el programa de intervención.

Parámetros	Control	Inicio	Pre - 14d HIIT	Post - 14d HIIT	Porcentaje de sujetos											
					Inicio		Pre - 14d HIIT		Post - 14d HIIT		Pre - 14d HIIT		Post - 14d HIIT			
					<R	R	<R	R	<R	R	<R	R	<R	R	<R	R
Glucosa (mg/dL)	70-110	81.50 (7.10)	60.25 (12.02) ^a	56.00 (12.03) ^a	7.10	100	0.00	83.3	16.7	0.00	85.7	14.3	0.00	85.7	14.3	0.00
Urea (mg/dL)	10-50	38.29 (11.8)	41.33 (7.01)	35.43 (10.2)	0.00	78.6	21.4	0.00	91.7	8.3	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00
Creatinina (mg/dL)	0.7-1.2	0.99 (0.12)	1.13 (0.17) ^a	1.08 (0.16) ^{ab}	0.00	100	0.00	0.00	58.3	41.7	0.00	71.4	28.6	0.00	71.4	28.6
Ácido úrico(mg/dL)	3.4-7	6.00 (0.97)	6.01 (0.89)	5.11 (0.79) ^a	0.00	85.7	14.3	0.00	91.7	8.3	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00
Colesterol total (mg/dL)	100-200	167.6 (27.31)	180.0 (33.83)	163.7 (24.31)	0.00	85.7	14.3	0.00	75	25	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00
HDL (mg/dL)	40-60	53.69 (8.1)	54.75 (9.64)	52.29 (5.02)	0.00	84.6	15.4	8.3	66.7	25	0.00	85.7	14.3	0.00	85.7	14.3
LDL (mg/dL)	70-150	98.46 (19.51)	98.67 (19.77)	87.71 (16.56)	7.7	2.3	0.00	8.3	91.7	0.00	14.3	85.7	0.00	0.00	85.7	0.00
Triglicéridos (mg/dL)	50-200	69.14 (32.59)	133.1 (69.51) ^a	163 (126.53)	35.7	64.3	0.00	8.3	66.7	25	0.00	85.7	14.3	0.00	85.7	14.3
Bilirrubina total (mg/dL)	0.2-1	0.72 (0.52)	0.85 (0.58) ^a	1.15 (0.86) ^{ab}	0.00	85.7	14.3	0.00	66.7	33.3	0.00	50	50	0.00	50	50
GOT (U/L)	1-40	27.00 (9.17)	30.36 (5.84)	28.50 (7.26)	0.00	92.9	7.1	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00
GPT (U/L)	1-41	24.86 (7.58)	23.67 (5.91)	20.33 (6.15)	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00
CK (U/L)	24-195	189.3 (83.44)	302.9 (133.8) ^a	364.6 (285.0) ^a	0.00	71.4	28.6	0.00	33.3	66.7	0.00	9.1	90.9	0.00	9.1	90.9

Diferencias estadísticamente significativas: a = p <0.05 inicio versus pre y post; b = p <0.05 pre vs post; HDL, lipoproteína de alta densidad; LDL, lipoproteína de baja densidad; GOT, transaminasa glutámica oxilacética; GPT, transaminasa glutámico-pirúvica; CK creatina quinasa; RBCS glóbulos rojos.

Tabla 15. Parte 2. Perfil bioquímico de los opositores a Policía Nacional respecto a los valores de referencia, así como la evolución de éstos a lo largo de la intervención con el HIIT durante los 14 días que duró el programa de intervención.

Parámetros	Control	Inicio	Pre - 14d HIIT	Post - 14d HIIT	Porcentaje de sujetos										
					Inicio		Pre - 14d HIIT		Post - 14d HIIT		Post - 14d HIIT				
					<R	R	<R	R	<R	R	<R	R			
Calcio (mg/dL)	8.6-10.2	9.62 (0.22)	9.51 (0.17)	9.50 (0.23)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00
Fósforo (mg/dL)	2.5-4.5	3.27 (0.4)	3.56 (0.31)	3.19 (0.36)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00
Magnesio (mg/dL)	1.7-2.6	2.05 (0.11)	2.02 (0.12)	1.91 (0.12) ^a	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00
Hierro (µg/dL)	59-158	119.3 (40.27)	124.5 (28.93)	103.1 (13.09) ^b	0.00	91.7	8.3	0.00	83.3	16.7	0.00	100	0.00	100	0.00
Sodio (mmol/L)	135-145	140.5 (1.61)	137.2 (2.52) ^a	137.1 (1.86) ^a	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	14.3	85.7	0.00	0.00
Proteína total (g/dL)	6.6-8.7	7.30 (0.32)	7.62 (0.32) ^a	7.41 (0.49)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	14.3	85.7	0.00	0.00
Albumina (g/dL)	3.5-5.2	4.78 (0.18)	4.94 (0.14) ^a	4.84 (0.18)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00
Pre-albumina (mg/dL)	20-40	26.49 (1.94)	31.4 (6.12)	28.74 (13.75)	0.00	100	0.00	91.7	8.3	14.3	71.4	14.3	71.4	14.3	0.00
Transferrina (mg/dL)	200-360	255.3 (27.79)	289.5 (39.56)	267.9 (34.32)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00
Ferritina (ng/mL)	30-400	125.3 (58.93)	129.1 (58.15)	97.43 (49.97) ^a	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00
Rbcs (x10 ⁶ /uL)	4.5-5.5	5.01 (0.25)	5.14 (0.23)	5.02 (0.27)	0.00	100	0.00	91.7	8.3	0.00	92.9	7.1	0.00	92.9	7.1
Hemoglobina (g/dL)	13-17	15.24 (0.72)	15.61 (0.66) ^a	15.47 (0.8)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	0.00	100	0.00	0.00
Hematocrito (%)	40-50	44.97 (2.12)	46.28 (1.85) ^a	45.65 (2.18)	0.00	100	0.00	100	0.00	100	0.00	0.00	92.9	7.1	0.00

Diferencias estadísticamente significativas: a = p <0.05 inicio versus pre y post; b = p <0.05 pre vs post; HDL, lipoproteína de alta densidad; LDL, lipoproteína de baja densidad; GOT, transaminasa glutámica oxilacética; GPT, transaminasa glutámico-pirúvica; CK creatina quinasa; RBCS glóbulos rojos .

CAPÍTULO 4.4. VALORACIÓN DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE Y DAÑO EN ADN. ESTUDIO DE INTERVENCIÓN CON MELATONINA

La presente sección de resultados, se corresponde con el estudio de intervención mediante suplementación con MEL realizado en los opositores a Policía Nacional. Los resultados referentes a este capítulo, ha sido publicado en la revista: **International Journal of Sports Medicine** – DOI 10.1055/s-0043-119881.

4.4.1. Valoración de la composición corporal.

Respecto al análisis de composición corporal (Tabla 16), los sujetos no mostraron diferencias significativas entre grupos. Todos los parámetros se encontraron dentro de los valores de normalidad atendiendo a las características como la edad, el sexo de los sujetos y los valores de referencia según estos parámetros.

Tabla 16. Características antropométricas de la muestra.

Parámetros	Grupo Placebo	Grupo Melatonina
Edad (años)	28.43 (4.39)	26.00 (6.03)
Altura (cm)	176.9 (3.89)	179.9 (6.04)
Peso (kg)	78.39 (6.68)	79.96 (7.29)
IMC (kg/m ²)	25.06 (2.20)	24.70 (1.98)
MG (kg)	13.21 (3.91)	14.79 (3.60)
MG (%)	16.70 (3.77)	18.27 (3.39)
MLG (kg)	65.17 (4.34)	65.17 (4.41)
MLG (%)	83.32 (3.76)	81.71 (3.39)
MMT (kg)	61.96 (4.13)	61.94 (4.21)
Nivel de fitness		
VO ₂ max (ml/kg/min)	58.27 (6.02)	56.32 (7.48)

IMC Índice de masa corporal; MG Masa grasa; MLG Masa libre de grasa; MMT Masa muscular total del cuerpo.

4.4.2. Valoración de la ingesta de macronutrientes y micronutrientes.

Respecto al análisis de ingesta de energía, macronutrientes y micronutrientes, los resultados vienen mostrados en la Tabla 17. La ingesta de energía y HC, se situaron por debajo de las RDA para cada uno de los nutrientes analizados. Por otro lado, la ingesta de proteínas se mostró por encima de las RDA para este macronutriente. El análisis de los distintos macronutrientes según la energía ingerida, mostró que el porcentaje de ingesta de proteínas y grasa, se situaron en el 18.7% y 18.4%, y 44.9% y 45.5% para el GP y GM, respectivamente, encontrándose por encima de las recomendaciones de proteínas y grasas respecto al total de energía ingerida. En cambio, el porcentaje de HC respecto al total de energía ingerida, mostró una ingesta del 37.8% y 37.9% para el GP y GM, respectivamente, encontrándose por debajo de las recomendaciones de HC respecto al total de energía ingerida. Respecto al análisis comparativo, no se encontraron diferencias entre la ingesta de energía y macronutrientes entre el GP y GM.

Tabla 17. Consumo de energía, macronutrientes y micronutrientes en comparación con los valores de referencia.

Ingesta	Grupo Placebo	Grupo Melatonina
Macronutrientes		
Energía (kcal/día)	2752.0 (704.6) [91.73 (23.49)]	2549.6 (761.5) [84.99 (25.38)]
Energía (kJ/día)	11498.9 (2942.3) [85.84 (19.21)]	10653.7 (3182.2) [77.71 (21.47)]
Proteína (g/día)	129.0 (66.40) [276.2 (40.29)]	117.3 (23.97) [276.2 (37.37)]
Grasa (g/día)	115.5 (27.89) [98.66 (22.64)]	107.3 (41.94) [89.46 (33.8)]
HC (g/día)	308.9 (127.1) [69.44 (26.5)]	290.3 (111.4) [63.81 (22.84)]
Micronutriente		
Hierro (mg/día)	18.09 (6.73) [180.9 (67.37)]	14.96 (8.60) [149.6 (86.07)]
Cobre (mg/día)	1.43 (0.22) [130.3 (20.72)]	1.37 (0.29) [124.6 (26.75)]
Zinc (mg/día)	8.52 (3.55) [56.82 (23.72)]	13.60 (10.12) [90.70 (67.46)]
Selenio (µg/día)	92.01 (50.99) [131.4 (72.85)]	100.2 (40.24) [143.2 (57.48)]
Vitamina C (mg/día)	117.9 (70.87) [196.6 (118.1)]	122.7 (37.00) [204.6 (61.67)]
Retinol (µg/día)	1384.2 (389.7) [138.4 (38.97)]	1389.9 (721.1) [138.9 (72.11)]
Vitamina E (mg/día)	18.78 (9.76) [156.5 (81.40)]	14.49 (3.75) [120.8 (31.29)]

Los valores representan la media (desviación estándar) y [la adecuación porcentual en comparación con las RDA (desviación estándar)]. Los valores de la energía y la ingesta de macronutrientes se compararon con las ingestas dietéticas de referencia para una población sana.

4.4.3. Valoración bioquímica en grupo placebo y grupo melatonina

La Tabla 18 informa sobre los datos bioquímicos en comparación con los valores de referencia para personas sanas. En general, todos los opositores a policía nacional mostraron normalidad en los valores bioquímicos y hematológicos determinados al inicio del estudio. No se encontraron diferencias entre grupos para ninguno de los parámetros analizados.

Tabla 18. Parámetros bioquímicos y hematológicos en los aspirantes a Policía Nacional.

Parámetros	Grupo Placebo	Grupo Melatonina	Referencia
Glucosa (mg/dL)	82.43 (8.96)	80.57 (5.19)	70 - 110
Urea (mg/dL)	42.14 (14.36)	34.43 (7.76)	10 - 40
Creatinina (mg/dL)	1.04 (0.09)	0.94 (0.13)	0.5 - 1.3
Ácido Úrico (mg/dL)	6.09 (1.26)	5.91 (0.68)	3.0 - 7.0
Colesterol Total (mg/dL)	171.0 (28.02)	164.3 (28.36)	110 - 200
HDL (mg/dL)	54.67 (7.63)	52.86 (8.99)	40 - 60
LDL (mg/dL)	98.50 (23.93)	98.43 (16.86)	70 - 150
Triglicéridos (mg/dL)	73.71 (35.88)	64.57 (31.06)	50 - 200
Bilirrubina Total (mg/dL)	1.31 (1.18)	1.00 (0.37)	0 - 1.0
Hierro (µg/dL)	124.9 (48.14)	111.4 (29.19)	60 - 180
Albumina (g/dL)	4.80 (0.20)	4.77 (0.18)	3.0 - 5.0
Pre-albúmina (mg/dL)	25.83 (0.67)	27.15 (2.67)	19.5 - 35.8
Transferrina (mg/dL)	239.3 (11.37)	267.3 (31.83)	170 - 370
Ferritina (ng/mL)	134.3 (54.90)	114.4 (68.14)	20 - 250
Eritrocito ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	4.96 (0.23)	5.07 (0.28)	♂ 4.8 - 6.2
Hemoglobina (g/dL)	15.10 (0.81)	15.37 (0.65)	♂ 13.5 - 16
Hematocrito (%)	44.20 (2.09)	45.74 (2.00)	♂ 40 - 54

Los valores representan la media (desviación estándar) y [la adecuación porcentual en comparación con los DRA (desviación estándar)].

4.4.4. Valoración de los niveles plasmáticos melatonina tras la suplementación.

Los sujetos suplementados con MEL mostraron niveles superiores de MEL en plasma en comparación con sujetos placebo después de la intervención ($p > 0.05$) y sujetos con MEL antes de la intervención ($p > 0.05$). La siguiente Figura representa el estatus de MEL en el plasma pre y post intervención.

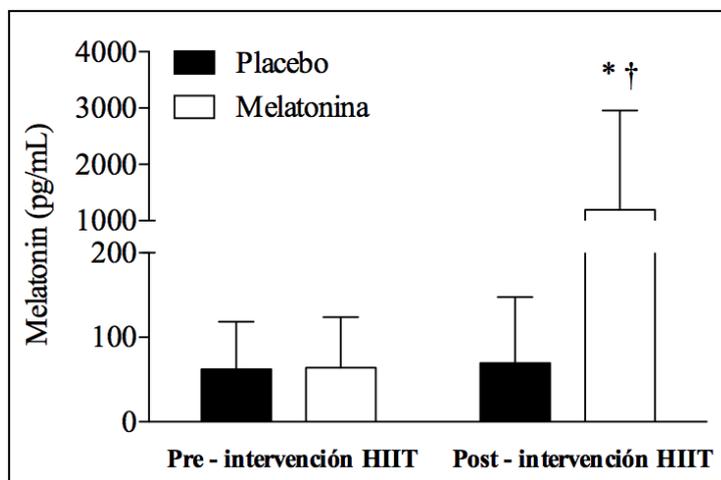


Figura 24. Niveles plasmáticos de melatonina pre y post intervención mediante HIIT y suplementación con melatonina. Los valores representan la media y la desviación estándar. * Diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre grupos; † Diferencias estadísticas ($p < 0.05$) entre cada grupo suplementado en la evaluación pre vs post intervención con HIIT.

4.4.5. Valoración del estatus antioxidante y el estrés oxidativo.

Dentro del presente apartado, debemos tener en cuenta diversas variables sobre las que hemos trabajado para evaluar dos variables: 1) evaluar el efecto del ejercicio sobre el estatus antioxidante y el estrés oxidativo (pre, post y 24h post al ejercicio), 2) valorar el estatus antioxidante y el estrés oxidativo en distintos momentos del tiempo, a nivel basal para hacer de control, previo a la intervención con HIIT, y tras 14 días de intervención con HIIT. Con este diseño responderemos a preguntas sobre el efecto de la suplementación con MEL en el estatus antioxidante y el estrés oxidativo, analizar como el ejercicio afecta de manera puntual a la modulación del estatus antioxidante y el estrés oxidativo en ausencia de suplementación, y finalmente, evaluar la intervención con HIIT tras 14 días y analizar la modulación del estatus antioxidante y el estrés oxidativo tras esta intervención.

En cuanto al estatus antioxidante, los resultados no mostraron diferencias entre los grupos en los niveles plasmáticos basales de CAT. Los resultados correspondientes al estatus antioxidante tras una sesión aguda de HIIT (pre-intervención HIIT), mostraron una respuesta similar tras su determinación pre, post y 24 horas post ejercicio. En el período post-intervención HIIT, el MG mostró un aumento significativo en los niveles plasmáticos de CAT post y 24

horas después del ejercicio en comparación con los valores pre ejercicio. El GP, igualmente mostró un aumento significativo en los niveles plasmáticos de CAT tan sólo 24 horas después del ejercicio con los valores previos al ejercicio en el mismo período.

Teniendo en cuenta los niveles de CAT tras 14 días de intervención con HIIT y tras la suplementación con MEL, se observaron diferencias significativas entre grupos ($p=0.041$) transcurridas 24 horas después del ejercicio. En este caso, el GM mostró niveles significativamente mayores de CAT respecto al GP.

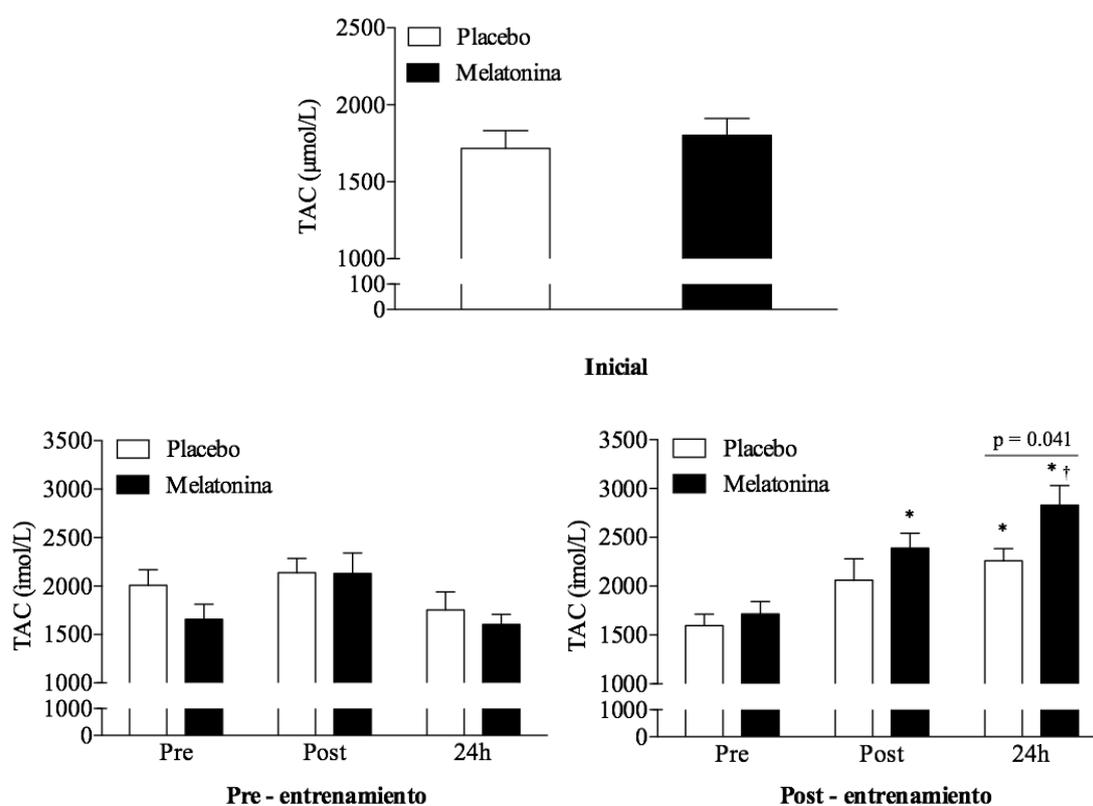


Figura 25. Concentraciones plasmáticas de CAT ($\mu\text{mol/L}$) en grupos placebo (PG) y melatonina (MG) medidos al inicio, antes del ejercicio, después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio, sin (pre-entrenamiento) o con tratamiento (post-entrenamiento). Los valores representan la media y la desviación estándar. * Diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) atendiendo a la variable ejercicio: pre vs post y pre vs 24 h analizados por la prueba de Wilcoxon; † Diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) atendiendo a la intervención con HIIT.

En lo que se refiere a la actividad enzimática de la GPx, los resultados no mostraron diferencias entre grupos en condiciones de reposo ni en el período previo a intervención con

HIIT. Ambos grupos describieron la misma tendencia en sus valores pre, post y 24 horas post ejercicio en la sesión de HIIT previa a la intervención. Teniendo en cuenta los tres momentos en los que se tomaron muestras de sangre en el período posterior al entrenamiento con HIIT, el grupo MG mostró una disminución significativa en la actividad de la GPx post y 24 horas después del ejercicio en comparación con los valores previos al ejercicio. Igualmente, el grupo PG mostró una disminución significativa en GPx post ejercicio comparando con los valores pre-ejercicio en el mismo período de entrenamiento.

El estudio de comparación entre grupos mostró cambios significativos ($p=0.036$) entre los grupos después de la intervención con HIIT en el post-ejercicio donde el MG mostró mayor actividad enzimática que el PG.

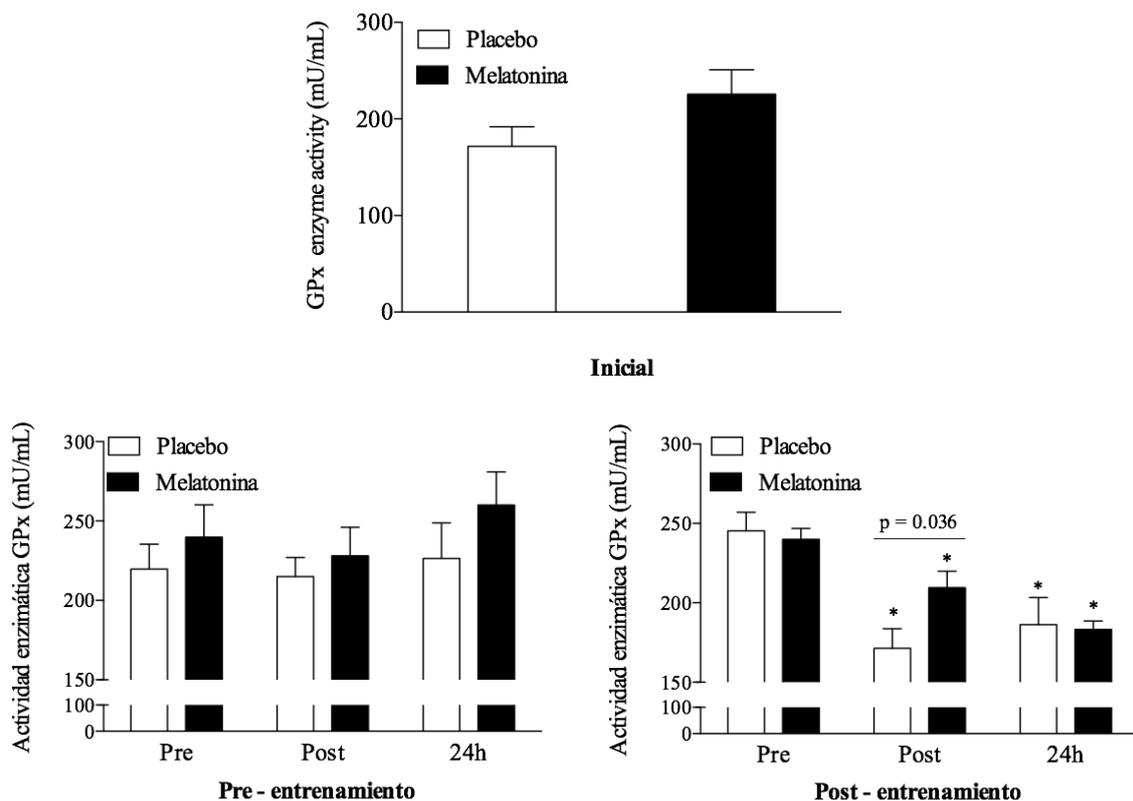


Figura 26. Actividad enzimática eritrocitarias de GPx (mU/mL) en grupos placebo (PG) y melatonina (MG) medidos al inicio, antes del ejercicio, después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio, sin (pre-entrenamiento) o con tratamiento (post-entrenamiento). Los valores representan la media y la desviación estándar. * Diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) atendiendo a la variable ejercicio: pre vs post y pre vs 24 h analizados por la prueba de Wilcoxon; † Diferencias estadísticamente significativas ($p<0.05$) atendiendo a la intervención con HIIT.

La Figura 24 muestra la actividad enzimática de la SOD, como podemos observar no se encontraron diferencias significativas entre grupos en condiciones de reposo, periodo de pre-intervención y post intervención con HIIT. Ambos grupos describieron la misma tendencia en sus valores iniciales, previa a la intervención, y posterior a la misma, no mostrando diferencias significativas.

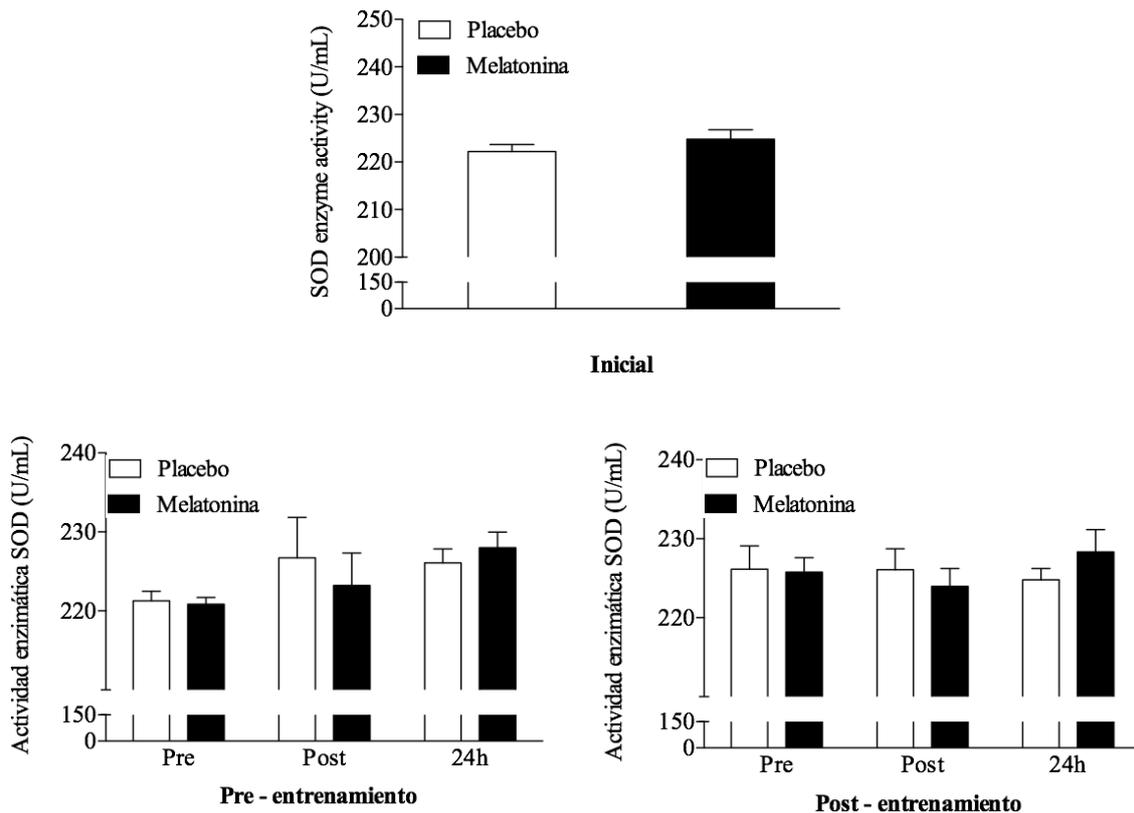


Figura 27. Actividad plasmática de SOD (U/mL) en grupos placebo (PG) y melatonina (MG) medidos al inicio, antes del ejercicio, después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio, sin (pre-entrenamiento) o con tratamiento (post-entrenamiento). Los valores representan la media y la desviación estándar.

4.4.6. Valoración del daño en ADN mediante COMET

Con respecto al daño del ADN determinado por el ensayo del comet, se detectaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los grupos en el daño del ADN expresado como porcentaje de cola en las condiciones post-intervención con HIIT (Figura 26) donde MG mostró menor daño en el ADN que el grupo PG.

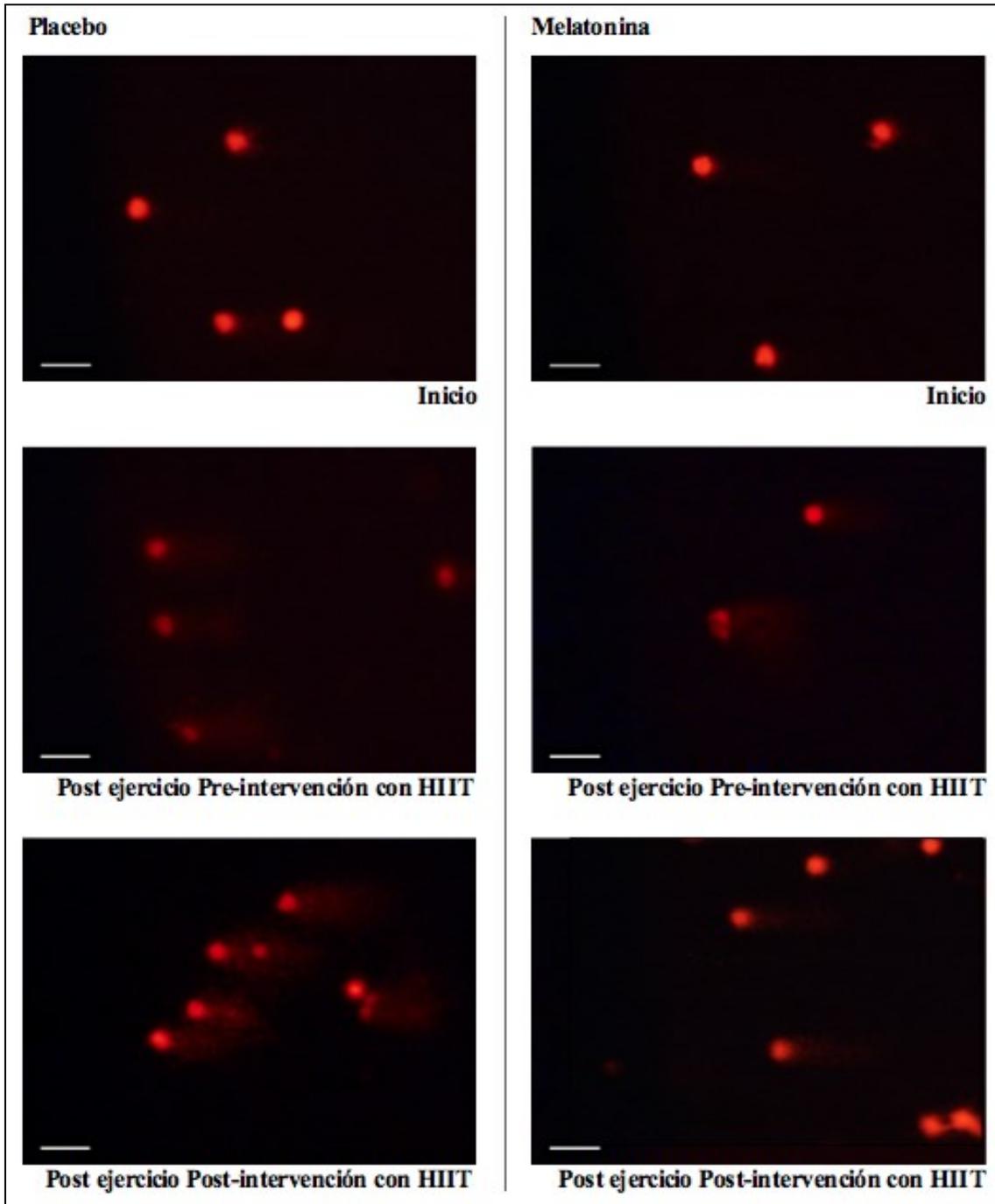


Figura 28. Electroforesis en gel de célula única (ensayo de cometa) que muestra colas detectables del cometa cuando se visualiza bajo un microscopio de fluorescencia, indicativo de daño en el ADN. Barras de escala: 20 μ m.

Además, se encontró un aumento significativo del daño en el ADN ($p < 0.05$) en PG al comparar las condiciones iniciales con ambos períodos de entrenamiento. En cuanto a los

sujetos MG, un aumento significativo ($p < 0.05$) de daño en el ADN sólo se observó en el período de pre-intervención con HIIT en comparación con los niveles basales (Figura 25).

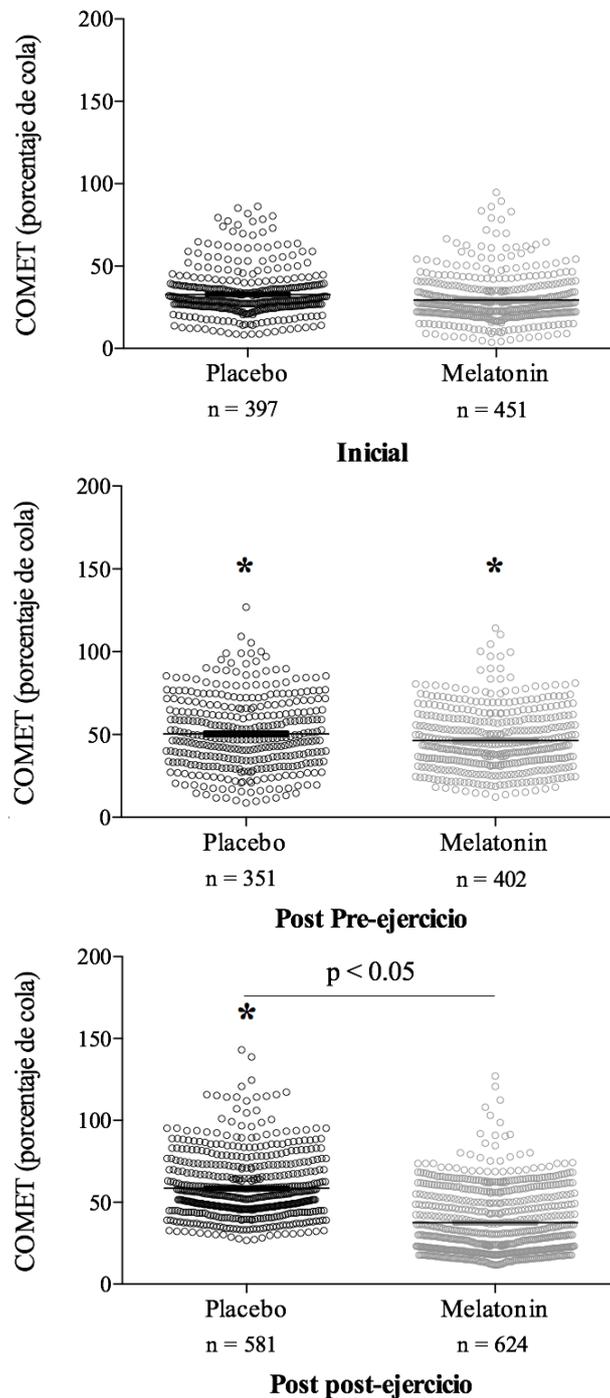


Figura 29. Ensayo Comet en los puntos: inicio, después del ejercicio pre-intervención con HIIT y después del ejercicio post-intervención con HIIT. Cuantificación del daño del ADN expresada en porcentaje de intensidad de la cola. * Diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el análisis comparativo entre pre vs post.

4.4.7. Relación entre el estatus antioxidante y el daño en ADN mediante COMET

Finalmente, se trató de explorar la relación entre el estatus antioxidante, el estrés oxidativo y el daño en ADN promovido por el ejercicio. La relación entre la capacidad antioxidante total y el daño del ADN después del programa de entrenamiento de HIIT en opositores tratados y no tratados con MEL, reveló una relación significativa indirecta entre un mayor poder antioxidante y un menor daño de ADN tras el ejercicio en los opositores suplementados con MEL. El coeficiente de correlación de Spearman fue de $r = -0.68$; $p = 0.047$ (Figura 27). En el caso del grupo PG esta relación no se cumplió, observándose incluso una tendencia diferente en la distribución de los datos.

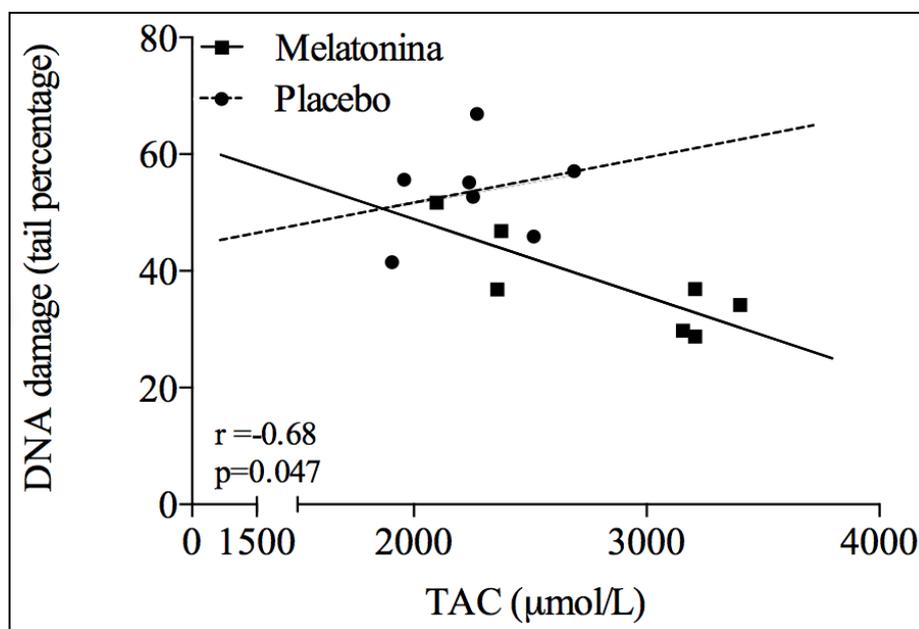


Figura 30. Relación entre la capacidad antioxidante total y el daño del ADN después de una intervención con HIIT en opositores a policía nacional tratados y no tratados con melatonina.

Capítulo 5

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los principales hallazgos del primer estudio mostraron una ingesta desequilibrada de macronutrientes y micronutrientes además de una frecuencia de consumo de alimentos alterada. El programa HIIT realizado por los aspirantes a Policía Nacional, redujo significativamente la grasa visceral, así como el porcentaje de grasa corporal, principalmente centrado en las extremidades inferiores y aumentó la masa muscular. A pesar de la ingesta desequilibrada, los opositores presentaron un peso óptimo. Todos los sujetos se situaron por encima de las exigencias de las pruebas físicas después del período de entrenamiento HIIT. Finalmente, la intervención de mediante HIIT no solo promovió un aumento en los marcadores de degradación proteica, sino que también aumentó los valores de hematocrito y hemoglobina después de 14 días de HIIT.

En el segundo estudio, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la ingestión oral de melatonina en el daño del ADN asociado a la alteración en el estado antioxidante inducida por el HIIT. Observamos una mejor adaptación del sistema antioxidante en los sujetos tratados con MEL en comparación con el GP a través de un aumento significativo de los niveles de CAT y la actividad GPx en el período post-entrenamiento. Por otra parte, se demostró sólo en el MG una reducción significativa en el daño del ADN después del ejercicio, en el período post-intervención.

CAPÍTULO 5.1. VALORACIÓN DE LA CONDICIÓN FÍSICA

Con respecto a la relación entre la composición corporal y las pruebas de aptitud física en opositores a Policía Nacional, los resultados sugieren que la composición corporal, en términos MG en porcentaje o en kilogramos, está asociada a la prueba de dominadas previa (Figura 23A) y post intervención (Figura 23B). Por lo tanto, la disminución significativa en la MG después de la intervención se relacionó negativamente con un aumento en la puntuación de dominadas. En esencia, el estudio encontró que para las medidas de potencia y fuerza muscular (como dominadas y salto vertical) la masa libre de grasa puede ser más importante que la MG (Figura 23C y D). Investigaciones previas (336,337), han sugerido que la distribución de la MG, y en particular alrededor del abdomen, tuvo un impacto negativo en el rendimiento de test como 1 minuto de sentadillas o el salto vertical. En esta línea, encontramos una correlación entre la MG del tronco (porcentaje) y la puntuación del test de dominadas antes y después de la

intervención (Figura 23E y F). Hallazgos similares fueron encontrados en el estudio llevado a cabo por Sánchez y cols. (338), donde se observó una correlación negativa con la masa corporal magra similar, lo que parece indicar que para el test de dominadas no solo es importante la MG, sino que el peso total puede ser un factor importante para determinar el número de repeticiones de dicho ejercicio.

Por otro lado, encontramos que tras realizar nuestro programa de entrenamiento de un mes de adaptación junto a 14 días de intervención mediante HIIT, el 92.9 % de los sujetos superaron los test físicos específicos (BOE, 2015). En otro tipo de programas como el realizado por Crawley y cols. (339) en el que utilizaron un programa basado en autocargas y carrera continua durante 16 semanas, no encontraron diferencias significativas en la condición física hacia las 8 últimas semanas ni diferencias significativas en ninguno de los test realizados como la velocidad de carrera o el salto vertical. Como podemos observar, parece ser que la intensidad de entrenamiento es un factor importante para la mejora de los test de aptitud física.

5.1.1. Parámetros fisiológicos

Respecto a la capacidad respiratoria máxima de nuestros sujetos de estudio, en comparación con aspirantes a Policía Nacional de otros países (340,341) o con otros colectivos como son el cuerpo de bomberos (342), encontramos que nuestros sujetos se situaron por encima de los valores de VO_2 máx. registrados por ambos estudios. Asimismo, podemos ver que el VO_2 máx. registrado se situó en valores de referencia de deportistas entrenados en deportes de equipo (343) como fútbol o baloncesto (91), o como en deportistas de nivel internacional en de luchas olímpicas (331) o judocas de elite (332). Por estas razones podemos decir que nuestros sujetos son capaces de soportar altas cargas de entrenamiento. En la práctica esta capacidad fisiológica es de gran importancia ya que guarda una correlación positiva entre las pruebas de aptitud física de fondo (340) y de 1.5 millas (340,341).

Respecto al índice de fuerza relativa, nuestro estudio mostró valores ligeramente superiores a los mostrados por Crawley y cols. (339) a cadetes de Policía. Estas capacidades de aptitud física son de gran importancia en estos colectivos ya que existe una relación inversa entre el nivel de aptitud física y la propensión a sufrir una lesión (344), igual relación respecto al absentismo laboral (345). Podemos concluir que el mantenimiento de la aptitud física en este colectivo es importante, afirmación que se recoge desde hace años en el estudio realizado por

Bonneau y Brown (346), citando dos razones esenciales, la primera es la garantía de que posean el nivel mínimo de condición física para cumplir con su deber de velar por la seguridad pública, y la segunda razón, relacionada con la salud personal.

CAPÍTULO 5.2. VALORACIÓN DEL ESTADO NUTRICIONAL DE MUESTRA COMPLETA

5.2.1. Valoración de la composición corporal

5.2.1.1. Pliegues cutáneos

Los sujetos presentaban un somatotipo endo-mesomorfo, endomorfo 4.81 (1.84) mesomorfo 4.54 (1.18) ectomorfo 1.92 (0.8) (en el que predomina la endomorfia, pero la mesomorfia es más aparente que la ectomorfia). El IMC 24.86 (1.97), así como el ICC 0.88 (0.03) se situaron dentro de los valores normales $IMC \leq 25$ y $ICC \leq 0.88$ según la OMS (OMS, 2017) y su consulta mixta de expertos “Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas” realizada en Ginebra 2003 (334). El porcentaje de grasa corporal 14.71 (2.41) se encontró dentro del rango de población sana comprendido ente el 8% al 19% (335).

Los niveles de grasa corporal en kilogramos registrada por nuestros sujetos fueron menores comparadas con otros estudios realizados a iguales o similares poblaciones como son aspirantes, cadetes, agentes u oficiales de Policía. En un estudio realizado a 76 hombres oficiales de Policía registraron una media de MG de 14.24 Kg (336), siendo mayor que la registrada al inicio de 12.2 Kg y menor que la registrada al final de 18.70 kg en estudio longitudinal de 12 años llevado a cabo por Boyce y cols. (347) a 327 agentes. Un estudio realizado por Cocke y cols. (348), realizan una intervención mediante dos programas de entrenamiento durante 6 meses, registrando valores de 15.96 y 15.70 Kg para ambos grupos al comienzo, reduciéndose al 12.71 y al 12.04 Kg después de la intervención mediante el entrenamiento.

5.2.1.2. Impedancia bioeléctrica

La composición corporal observada en los aspirantes a policía mostró una reducción significativa ($p < 0.05$) en los compartimentos de la MG después de la intervención del ejercicio. Por el contrario, mostraron un aumento significativo de la masa muscular en el análisis compartimental total ($p < 0.05$). En este sentido, un estudio de Cocke y cols. (348), investigó el impacto de dos programas de entrenamiento diferentes en cadetes de policía. Los principales hallazgos de ese estudio no mostraron variación antropométrica después de la intervención de ambos programas. Sin embargo, de acuerdo con nuestros resultados, diversos estudios han observado una disminución en la grasa corporal después de entrenamientos HIIT, que podría explicarse por la mejora en la regulación de la resistencia a la insulina y la glucosa (26), así como una mayor capacidad del músculo esquelético para la oxidación de ácidos grasos (349). Curiosamente, también observamos una reducción significativa del índice de grasa visceral (4.29 a 3.58). Un aumento de los niveles de grasa visceral es un factor de riesgo para el desarrollo de afecciones patológicas como enfermedades cardiovasculares y disfunción endotelial (350). Recientemente, Giannaki y cols. (351), compararon un entrenamiento HIIT con un entrenamiento continuo convencional durante 8 semanas, observando una reducción en los niveles de grasa total y visceral en sujetos sometidos al entrenamiento HIIT, por lo que podemos decir que este tipo de entrenamiento es más eficaz en la reducción de los parámetros de grasa anteriormente nombrados.

5.2.2. Valoración de ingesta.

5.2.2.1. Ingesta de energía, macronutrientes y micronutrientes

Teniendo en cuenta que la evaluación de la ingesta alimentaria es una de las características fundamentales dentro de la determinación del riesgo de una ingesta deficitaria en nutrientes, en nuestro estudio obtuvimos estimaciones sobre la ingesta media de los aspirantes a Policía Nacional, que se examinaron teniendo en cuenta los valores de referencia estimados para la población activa (4,119). En general, la ingesta energética media del colectivo fue inferior a los valores de referencia tanto al inicio como después de 14 días de intervención. En concordancia con nuestros resultados, se observó una ingesta de energía similar (consumo de energía media de 2107 ± 502 kcal/día) en miembros de la Policía británica después de realizarles una evaluación dietética (352).

Una ingesta energética adecuada es la piedra angular de la dieta del atleta ya que favorece la función óptima del organismo, determinando la capacidad de ingesta de macronutrientes y micronutrientes, y ayudando a manipular la composición corporal. Teniendo en cuenta esta suposición, y relacionando la ingesta con otras variables como la composición corporal, encontramos una asociación positiva entre el aumento de la energía después de 14 días de intervención HIIT y el aumento del porcentaje de MLG ($r=0.54$, $p=0.043$). Por tanto, podemos deducir, que el aumento de la masa muscular no sólo se debió al programa de entrenamiento HIIT, sino que la modificación en la ingesta total de energía pudo promover una mayor respuesta al ejercicio y con ello una mejora del contenido de masa magra de los deportistas.

MACRONUTRIENTES

Una dieta equilibrada en macronutrientes es un factor clave para una buena respuesta fisiológica al ejercicio. En este sentido, el ACSM (4,119) recomienda una ingesta de HC de 6 a 10 g/kg/día en atletas con un rango de actividad física de 1 a 3 horas por día. Estas recomendaciones se realizan con la finalidad de proporcionar una alta disponibilidad de HC para compensar las necesidades musculares y del sistema nervioso central en respuesta a las cargas de ejercicio. Teniendo en cuenta estas consideraciones, en nuestro estudio, los aspirantes a Policía Nacional se situaron por debajo de las recomendaciones con una ingesta total de HC de 299.6 (115.2) al inicio y 312.7 (112.3) mg/día después de 14 días de la intervención con ejercicio. Además, tan sólo un 14.3% de los sujetos pudieron cumplir con las necesidades mínimas de HC recomendadas por el ACSM. Los valores medios de la ingesta de HC en función del peso corporal fueron 3.83 (1.56) y 4.21 (1.71) al inicio y tras la intervención con ejercicio, respectivamente. Igualmente, teniendo en cuenta la relación entre la ingesta y el peso corporal de los sujetos, observamos que esta se encontraba por debajo de las recomendaciones de la ADA y la ACSM (4,119). En concordancia con nuestros resultados, diversos autores (353,354) han afirmado que una intervención mediante una baja ingesta de HC a corto plazo en los entrenamientos para posteriormente en la competición realizar ingestas altas de HC del inglés “train low, compete high”, podría conllevar mejoras corporales en respuesta al ejercicio. Sin embargo, otros estudios como por ejemplo los recogidos en la revisión llevada a cabo por Spriet (5), explica la relación entre la disminución del metabolismo de las grasas cuando la disponibilidad de HC aumenta desde el ejercicio moderado a intenso, por lo que una disminución de la ingesta de HC en ejercicios de HIIT podría afectar directamente al

rendimiento debido a una menor capacidad de proveer este macronutriente como combustible fundamental para este tipo de ejercicios. En nuestro estudio, es importante destacar la correlación encontrada entre la FFQ de alimentos como patatas, arroz, pan, pan de harina y pasta y la ingesta de HC después de 14 días de entrenamiento ($r=0.58$, $p=0.026$). Esta correlación remarca la relación directa entre la baja ingesta de HC y la baja frecuencia de alimentos ricos en este macronutriente, ambos por debajo de los valores de referencia en deporte (119), así como en población sana (130).

La ingesta de proteínas se ha descrito por su influencia directa en la correcta adaptación metabólica, reparación, remodelación y renovación de proteínas. Las recomendaciones ACSM y ADA varían de 1.2 a 2.0 g/kg/día (4). En nuestro estudio, todos los sujetos estuvieron por encima de las recomendaciones de proteínas para personas sanas (130), pero dentro de las recomendaciones para los atletas. La ingesta media de proteínas en relación al peso corporal fue de 1.55 (0.58) y 1.92 (0.33) g/kg/día. El aumento en la ingesta proteica registrada por los sujetos después de 14 días de intervención, pudo deberse al aumento en la intensidad de los entrenamientos ya que las ingestas más altas de este macronutriente pueden indicarse en periodos cortos durante el entrenamiento intensivo evitando la pérdida de masa magra (7,355). La síntesis de proteínas no se estimula con consumos superiores a 20 a 25 g de proteína de alta calidad (proteínas lácteas, huevos y carne) (136). En este sentido, existió una correlación positiva entre la ingesta de proteínas y el consumo de huevos ($r=0.59$; $p=0.027$). Por otro lado, la ISSN llegó a la conclusión de que es importante combinar la ingesta de proteínas con otros macronutrientes como HC en una proporción de 3-4: 1 con el fin de mejorar la recuperación y reposición de glucógeno muscular, así como el equilibrio de proteínas, reparación de tejidos y las adaptaciones a ejercicio (356). En nuestro estudio, la proporción de ingesta de HC y proteínas se encontró por debajo de la relación 3: 1 (2.56: 1 y 2.09: 1, al inicio y después de 14 días, respectivamente), principalmente atribuida al bajo consumo de alimentos ricos en HC. En una revisión realizada por Burke y cols. (357), se pone de manifiesto una asociación entre el bajo rendimiento y la baja ingesta de HC, donde no se llegan a alcanzar las recomendaciones.

En cuanto al consumo de grasas, un total de 50% y 64% de los sujetos estuvo por encima de la recomendación a lo largo del periodo de estudio. En general, la ingesta promedio de grasa relacionada con el consumo total de energía fue de 37.8% y 40.0% antes y después de la intervención con HIIT, siendo más alta que las recomendaciones de ACSM y ADA (4), donde la ingesta de grasa debería situarse entre 20-35% de la energía total consumida. Estas recomendaciones de ingesta de grasa se basan en pruebas que indican que el consumo fuera de estos rangos se asocia con una mayor ingesta de ácidos grasos saturados (para ingestas de grasas

>35% del total de energía ingerida). Es importante tener en cuenta que las personas, a menudo, consumen más que sus necesidades de energía por lo que puede ser de gran utilidad práctica examinar el consumo total de grasas como un porcentaje respecto al total energía ingerida (131). En nuestro estudio, tanto el colesterol como el consumo de ácidos grasos saturados se situaron por encima de los valores de referencia (119).

Esta recomendación incluye una ingesta por debajo del 10% de calorías diarias de ácidos grasos saturados y 300 mg diarios de colesterol (131). Burke y cols. (118) demostraron adaptaciones metabólicas significativas con una dieta alta en grasas y baja en HC (2.4 g/kg de HC por día y 4.0 g/kg de grasa por día). Este tipo de intervenciones tienen como objetivo conseguir un estado de cetosis que proporcione una mayor flexibilidad metabólica durante el ejercicio de resistencia, aumentando la oxidación de grasas y reduciendo la glucólisis muscular y las concentraciones de lactato en plasma (133). Si bien estas intervenciones nutricionales son utilizadas por deportistas, parece que en nuestro caso, los registros de consumo de grasas responden a una tendencia poblacional tal y como muestra el estudio de Serrano y cols. (358) “Transición Nutricional en España durante la historia reciente” donde se evidencia el aumento de consumo de grasas por la población española.

MICRONUTRIENTES

Los minerales y las vitaminas son nutrientes esenciales para el mantenimiento de la salud y prevención de enfermedades crónicas (359). Una mayor ingesta de micronutrientes puede ser necesaria para cubrir el aumento de las necesidades de construcción, reparación y mantenimiento de la masa magra en atletas (137). Una ingesta adecuada de vitaminas y minerales a través de una dieta variada y equilibrada sigue siendo el mejor enfoque para mantener el estado antioxidante óptimo en el deportistas (360). La suplementación con antioxidantes puede ser beneficioso para los atletas no consumen una dieta equilibrada (20), aunque puede influir negativamente en el rendimiento cuando sobrepasan de los UL (361). En este sentido, evaluar el estado de micronutrientes en el atleta mediante registros de ingesta y la observación de síntomas de asociados puede ser una estrategia eficaz para la prevención de deficiencias en micronutrientes, especialmente para el Ca, hierro, vitamina D y antioxidantes (4).

En nuestro estudio, todos los sujetos presentaron una ingesta de micronutrientes por encima de los RDA para la población sana (141), excepto minerales como yodo (I) y zinc (Zn) o vitaminas como C antes de la intervención HIIT cuyos porcentajes fueron ligeramente inferiores. Como se observó, la intervención mediante ejercicio HIIT ayudó a corregir los patrones alimentarios de sujetos que mostraron una ingesta insuficiente en ciertas vitaminas y minerales. Las vitaminas y minerales más comunes que preocupan a los atletas son Ca, vitaminas D, C, E y complejo B, así como hierro, zinc, magnesio y selenio (137), sin embargo, nuestro estudio mostró una ingesta adecuada de estos micronutrientes relativamente a la RDA. En particular, los sujetos registraron mayores ingestas de Ca (71.4%), potasio (K) (57.1%) y magnesio (Mg) (50%) y fósforo (100%) cruciales en la construcción y mantenimiento de la densidad mineral ósea (362). En el deporte, la ingesta baja de Ca aumenta el riesgo de fracturas por estrés (363) y la deficiencia de Mg se relaciona con la debilidad muscular, las náuseas y la irritabilidad, así como el síndrome de sobreentrenamiento (124). Con base en la pirámide de frecuencia de los alimentos española, los resultados del presente estudio mostraron múltiples asociaciones entre la frecuencia de consumo de Ca y la leche, el magnesio y la legumbres o vitaminas B y los alimentos ricos en proteínas de animales y vegetales.

Otros minerales como el hierro (Fe) juegan un papel crítico durante el ejercicio (8). Atletas sometidos a entrenamientos intensivos han visto mermado su rendimiento (siendo clave para el suministro de oxígeno a los tejidos y el uso de oxígeno a nivel celular y subcelular) al aumentar las pérdidas de este mineral por el sudor, la orina, las heces y de la hemólisis intravascular, por lo que las recomendaciones de ingesta son mayores a 8 mg/día en el caso de los hombres y 18 mg/día para las mujeres (4). La deficiencia de este mineral puede llevar al atleta al síndrome de sobreentrenamiento (124). En nuestro estudio, el 100% de los sujetos estaban por encima de las RDA. Teniendo en cuenta el aumento significativo de la ingesta de hierro después de HIIT ($p < 0.05$), podemos concluir que la densidad de ingesta del hierro por cada 1000 kcal aumentó significativamente de 10.01 mg/1000 kcal a 14.0 mg/ 1000 kcal. Por lo tanto, la intervención de ejercicio no solo mejoró la ingesta de ciertos micronutrientes, sino que también mejoró la calidad de la ingesta en relación con la ingesta de energía, por lo tanto, disminuyó el riesgo de presentar ingestas insuficientes en determinados micronutrientes. Por el contrario, uno de los minerales que presentó la menor ingesta respecto a su recomendación fue el zinc (Zn), donde el 74.4% de los sujetos presentaron ingestas insuficientes para este mineral previa intervención. Después de la intervención mediante HIIT, ninguno de los sujetos presentó una ingesta insuficiente de Zn. Además, la densidad de ingesta de zinc por energía aumentó significativamente ($p < 0.05$) de 4.13 mg/1000 kcal a 9.28 mg/1000 kcal. Una ingesta adecuada de Zn es necesaria para la integración de muchos sistemas fisiológicos, como la depresión

inmunitaria contra el ejercicio, lo que sugiere que el estado de este mineral debe influir en el rendimiento del atleta (8,364).

Como ya hemos mencionado, los antioxidantes son importantes para el rendimiento y la salud del atleta. Las vitaminas C y E o minerales como el Selenio (Se) juegan un papel importante en la protección de las membranas celulares contra el daño oxidativo (119). En nuestro estudio, todos los sujetos registraron ingestas superiores a las RDAs para población sana a excepción del retinol, lo que puede estar relacionado con la baja ingesta de productos con alto contenido en vitamina A como pueden ser la leche y productos lácteos o la yema de huevo. Esta vitamina es muy importante para el desarrollo óseo (91), además de su especial interés en el deporte por su capacidad antioxidante (123), aunque en la actualidad también se está informando de la ayuda de esta vitamina en la recuperación musculotendinosa (365).

Finalmente, las vitaminas del grupo B son esenciales para la producción de energía ayudando a convertir la glucosa, los HC, grasas y alcohol en energía, lo que también son importantes para el sistema nervioso y digestivo, ayudando a la visión y a la salud de la piel (366). Algunos estudios (171) sugieren que el ejercicio puede aumentar ligeramente la necesidad de estas vitaminas hasta el doble de la cantidad actual recomendada, sin embargo, este aumento de las necesidades en general pueden ser atendidas con la ingesta de energía más alta (119). En concordancia con la ADA y el ACSM, en nuestro estudio la intervención con el programa de HIIT se promovió un incremento de ingesta de energía lo que llevó al aumento de la ingesta de este grupo de vitaminas a excepción de la B₁₂ aunque el 100% de los sujetos seguían estando por encima de las RDAs.

En general en nuestro estudio observamos que los sujetos incrementaron la ingesta de micronutrientes al aumentar su consumo de energía al libitum, observándose un aumento significativo en la ingesta y la calidad de nutrientes inducido por el ejercicio, lo que se corrobora por otros estudios (366,367), donde muestran esta tendencia de aumentar la cantidad energía y calidad de nutrientes al incrementar la actividad física. Podemos decir que los sujetos sometidos a HIIT podrían mostrarse menos propensos a presentar algún tipo de deficiencia en cuanto a micronutrientes se refiere.

5.2.2.2. Frecuencia de consumo de alimentos

La FFQ de alimentos de los opositores a Policía Nacional se muestra en la Tabla 14. Para el análisis de la FFQ se utilizaron las recomendaciones establecidas por la SENC (130,327) para la población sana. Cuando comparamos los resultados con las recomendaciones del SENC para la población sana, podemos destacar que ninguno de nuestros sujetos de estudio cubría las recomendaciones de consumo diario de los siguientes grupos de alimentos: leche y productos lácteos, aceite de oliva, vegetales, fruta patatas, arroz, pan, pan integral y pasta. De manera global, se observó cómo los grupos de alimentos menos consumidos fueron la fruta y arroz, pan, pan integral y pasta con un 78.6% de individuos que no llegaban a la recomendación. De especial interés para este colectivo puede ser el bajo consumo de alimentos como los cereales ya que, como podemos observar, en la población española, el consumo de cereales y derivados son los que mayor aporte realizan de HC (49.0%), almidón (77,1%) y fibra (39.9%) (368), además de la importancia de los HC para el rendimiento (4).

En los registros de la FFQ para el consumo de frutas en nuestros sujetos, observamos que el 78.6% se encontraban por debajo de las recomendaciones de la SENC (130), por el contrario la tendencia en la población española es la del aumento del consumo de frutas (369). Teniendo en cuenta la frecuencia de consumo de verduras y lácteos y sus derivados, el 71.4% y el 50.0% de los sujetos se encontraron dentro o por encima de las recomendaciones, respectivamente. La leche y derivados son los alimentos que cuantitativamente más importantes de la dieta española, aunque se observó una disminución significativa en el consumo de lácteos en los últimos años (369,370). En la actualidad, el aporte energético para la población española de los lácteos es del 5% y para las verduras y hortalizas del 4% (368).

Por otro lado, alimentos como las nueces o los huevos tuvieron un consumo muy bajo encontrándose por debajo de las recomendaciones en un 71.40% y un 85.70% de los individuos, respectivamente. La disminución en el consumo de huevos está generalizada en la población española probablemente se deba a la preocupación general de que los huevos son "no saludables", según su contenido de colesterol. Si bien es cierto que los huevos contienen colesterol, debe recordarse que el consumo de ácidos grasos saturados tiene una mayor influencia sobre los niveles de colesterol (369).

Las cifras de consumo de pescado, carne magra, aves de corral (porciones/semana) mostraron que la mayoría de los participantes consumieron más de la cantidad recomendada de porciones de cada uno de estos tipos de alimentos. El aumento del consumo de carne tiende al

alza y se ha incrementado en aproximadamente un 300% en comparación con los datos de 1964 (369). Para la población española el grupo de productos cárnicos es el primer proveedor en la dieta de proteínas (33,1%), ácidos grasos saturados (25,7%), ω -6 (38,7%) y ω -3 (38,3%) (368).

5.2.3. Parámetros bioquímicos

Los parámetros bioquímicos también se analizaron en condiciones basales, previos a la intervención con HIIT, y post intervención con HIIT en los opositores a Policía. En general, todos los parámetros bioquímicos estuvieron dentro de los valores de referencia a lo largo del estudio, excepto para CK y bilirrubina, donde 50 a 90 por ciento de los sujetos estuvieron por encima del valor de referencia después de HIIT. Se ha informado que el HIIT resultó en un aumento de moderado a elevado en los niveles de CK (371) así como en la bilirrubina total donde las concentraciones elevadas de bilirrubina total parecen deberse a cambios causados por el ejercicio (372). La producción de bilirrubina depende estrechamente de la destrucción de eritrocitos y la rotación fisiológica y, a su vez, en el catabolismo de la hemoglobina. La hemólisis se incrementa notablemente en los atletas (188). En referencia a la CK, en un estudio realizado por Lippi y cols. (373) a 30 ciclistas profesionales, 30 esquiadores de fondo y 30 sujetos sedentarios, mostraron diferencias significativas mayores (casi el doble) para los deportistas.

Además, la creatinina, los TG, la proteína albúmina total, la hemoglobina y el hematocrito aumentaron significativamente ($p < 0.05$) después del ejercicio previo a la intervención HIIT y a los valores iniciales, por lo tanto, estos cambios se atribuyeron principalmente a la respuesta promovida por el ejercicio. La creatinina es un indicador muy utilizado para evaluar la función renal. Los valores de referencia de los parámetros bioquímicos específicos para los atletas nunca se han definido, si bien, a veces son superiores a los umbrales establecidos para la población en general y pudiendo estar influenciados por la dieta y la hidratación (188). De la misma manera, la disminución significativa observada en glucosa, magnesio, sodio y ferritina antes de la intervención con ejercicios fue una respuesta moduladora producida por el ejercicio. Estudios previos (149) informaron del efecto modulador de varios micronutrientes como el magnesio en respuesta al ejercicio anaeróbico como consecuencia de la redistribución compartimental para cubrir las demandas de ejercicio.

En cuanto a los parámetros hematológicos, el aumento significativo previo a la intervención en relación con los valores basales, sugiere que su aumento podría deberse a una disminución del volumen plasmático después del ejercicio y su consiguiente relación positiva con el hematocrito. Aunque la mayoría de los parámetros de la sangre (por ejemplo, el recuento de sangre, proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, CK, la creatinina urea, enzimas hepáticas, glucosa, ferritina, sodio y potasio) no son capaces de detectar la extralimitación (overreaching) o el sobreentrenamiento (overtraining), son útiles en el suministro de información sobre el estado de salud actual del atleta y, por lo tanto, en el "diagnóstico de exclusión" de dichos procesos provocados por una mala adaptación al ejercicio (124), además de que los parámetros mencionados anteriormente pueden ser de especial utilidad para la valoración del estado nutricional.

CAPÍTULO 5.3. VALORACIÓN DEL ESTATUS ANTIOXIDANTE, ESTRÉS OXIDATIVO, Y DAÑO EN ADN. ESTUDIO DE INTERVENCIÓN CON MELATONINA

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de ROS y la capacidad de las células para desintoxicar estas especies y metabolitos intermedios. El estrés oxidativo severo se produce después de un ejercicio extenuante (374), lo que puede provocar daños en el ADN como resultado del daño celular producido por HIIT (16,17,19). Actualmente, hay información limitada sobre las respuestas al estrés oxidativo y daño al ADN después de la suplementación de MEL en HIIT. En este sentido, nuestro objetivo fue investigar el efecto de la ingestión oral de MEL en el daño del ADN asociado con la alteración del estado antioxidante inducida por el HIIT. Nuestros principales resultados mostraron un aumento del sistema antioxidante en los sujetos tratados con MEL a través de un aumento significativo en los niveles de la actividad CAT y GPx en comparación con el grupo PG. Por otra parte, en el grupo MG se observó una reducción significativa en el daño del ADN después del ejercicio, en comparación con el grupo PG en el período post-entrenamiento, donde se estableció una relación inversa entre el CAT y el daño del ADN.

5.3.1. Valoración del estatus de melatonina

Es importante destacar que la dosificación de MEL utilizada en el presente estudio tuvo como objetivo cubrir su papel como antioxidante. Se cree que la dosis oral de MEL requerida por su acción antioxidante debería ser considerablemente más alta que la dada para la modulación del ciclo circadiano (375). Sin embargo, actualmente no hay consenso sobre la dosificación utilizada en la administración de suplementos de MEL oral para cubrir esa función. Estudios recientes demostraron que las dosis de MEL en un rango de 20 a 100 mg/d fueron bien toleradas tanto en voluntarios sanos (376) como en atletas (377), sin presentar ningún problema de seguridad y sin cambios clínicamente relevantes en cualquier análisis fisiológico y bioquímico. De forma similar, en nuestro estudio los parámetros clínico-nutricionales se encontraron dentro la normalidad. En nuestro estudio, esperábamos que la administración oral de 20 mg/día de MEL produjera efectos beneficiosos sobre el aumento del estado antioxidante y la reducción del daño del ADN en los atletas.

Se sabe que el ejercicio tiene un impacto en muchos de los sistemas homeostáticos del organismo, incluida la respuesta al estrés. En este sentido, la evidencia sugiere que el ejercicio puede modificar agudamente los niveles de MEL (36). Aunque varios estudios mostraron que los niveles plasmáticos de MEL aumentan después del ejercicio, también se ha revelado una disminución o ningún cambio en la secreción de MEL después de este (36). Como esperábamos, la concentración plasmática de MEL aumentó significativamente después de la administración de MEL en el grupo MG en comparación con el grupo PG ($p < 0.05$). Inicialmente, no existieron diferencias en la concentración plasmática de MEL entre los grupos que realizaban ejercicio físico de alta intensidad antes de la suplementación (Figura 24). A partir de los hallazgos actuales, está claro que el ejercicio no influyó en los niveles de MEL debido a la falta de diferencias observadas en el grupo PG durante el período de estudio.

5.3.2 Valoración del estatus antioxidante y el estrés oxidativo

Un sistema de defensa antioxidante bien equilibrado es indispensable para la prevención del daño por ejercicio extenuante. La elevación aguda del estrés oxidativo inducida por el ejercicio puede estar justificada por varios mecanismos (16,278,279). Teniendo en cuenta que ROS podría responder positivamente a las adaptaciones de entrenamiento (378), evaluamos los cambios en el estado antioxidante mediante un HIIT y un programa de fuerza durante un corto

plazo, evitando los efectos beneficiosos como consecuencia de la adaptación al ejercicio. Sin embargo, se ha demostrado que una sesión de HIIT tiene un mayor impacto sobre el estrés oxidativo (374). En este estudio, un hallazgo importante es que las actividades de las enzimas antioxidantes primarias como GPx aumentaron significativamente en los atletas tratados con MEL justo después del ejercicio en el período posterior al entrenamiento (Figura 26). Contrariamente a la GPx, no se encontraron cambios en la actividad de la enzima SOD. El mecanismo de control puede estar mediado por el aumento de la actividad de GPx, lo que indica que el MG presentó una mejor respuesta al HIIT. Por lo tanto, el suplemento de MEL puede ser beneficioso debido a su acción antioxidante. De acuerdo con nuestros resultados, un estudio reciente (267), apoya el hecho de que el tratamiento con MEL en un modelo animal puede revertir la inflamación del músculo esquelético y el estrés oxidativo inducido por el ejercicio extenuante. En nuestro estudio, estos efectos podrían ayudar a mejorar la recuperación después del ejercicio extenuante como un mecanismo compensatorio para aumentar la protección contra el daño inducido por los radicales libres. Esto se confirma por los cambios significativos en la actividad de la enzima GPx entre los grupos en el período posterior al entrenamiento descrito anteriormente.

En estudios anteriores al nuestro, como el llevado a cabo por Ochoa y cols. (278) han reportado un aumento de la actividad de GPx junto con CAT en sujetos suplementados con MEL después del ejercicio físico. Al mismo tiempo, los niveles de CAT mostraron diferencias significativas entre los grupos en el post-entrenamiento. Esto nos lleva a creer que el aumento significativo de CAT en el MG 24 horas después del ejercicio pudo estar influenciado por la suplementación. Nuestro estudio señala que la suplementación con MEL podría tener un efecto positivo en la recuperación de los sujetos, aumentando tanto la actividad de la enzima GPx en MG y los niveles de CAT después del ejercicio. En este sentido, Escames y cols. (36) han demostrado que la presencia de MEL en cultivos celulares es suficiente para aumentar el ARNm de las enzimas antioxidantes 24 horas después, lo que sugiere un posible papel de la MEL en la regulación de las enzimas antioxidantes (266). Nosotros sugerimos que el aumento significativo de CAT en el período post-entrenamiento observado en PG y MG podría atribuirse a cambios promovidos por el ejercicio dentro de los sistemas oxidativos involucrados en el proceso adaptativo a un estímulo de entrenamiento (378). En el estudio llevado a cabo por Bogdanis y cols. (374) determinaron que el impacto positivo de una sola sesión de HIIT en CAT podría explicar los cambios observados en respuesta al HIIT. También, varios autores (379) demostraron que la administración de MEL previno un aumento en la producción de radicales libres después del ejercicio de natación aguda. Por consiguiente, el mayor aumento en los cambios plasmáticos de CAT 24 horas después del ejercicio en MG (64% en MG vs 40% en PG

en comparación con valores previos al ejercicio en el mismo período) pueden deberse a una respuesta de la suplementación de MEL que promueve una mayor capacidad de recuperación en atletas entrenados contra la producción de ROS.

5.3.3 Valoración del daño en ADN mediante COMET

El ejercicio de alta intensidad puede aumentar la producción de oxígeno reactivo y especies de radicales libres de nitrógeno, lo que puede causar una serie de ataques a la integridad celular, incluyendo la modificación del ADN (302). Por lo tanto, la suplementación antioxidante podría asumir un papel de defensa contra el daño del ADN.

El ensayo de Comet se utiliza para evaluar cambios en la integridad del ADN, tales como roturas de hilos, sitios lábil a álcalis, reticulación de ADN y reparación de escisión incompleta (380). La prueba Comet tiene un uso extendido debido a su sensibilidad, simplicidad, y confiabilidad (302). En nuestro estudio, el nivel de daño en el ADN expresado como el número de células con el ADN migrado se incrementó significativamente después del ejercicio antes de la suplementación. Esto indica que el ejercicio intenso presenta efectos negativos sobre el daño del ADN. Varios autores (381), han demostrado que el ejercicio exhaustivo en una cinta ergométrica es suficiente para inducir la ruptura de ADN 24 horas después del ejercicio. Otro estudio (382), igualmente han confirmado que un ejercicio extenuante cerca del $VO_2\text{max}$ puede dañar las cadenas de ADN inmediatamente o 24 horas tras el ejercicio. Sin embargo, basándonos en los estudios realizados observamos que existe una controversia relacionada con el tipo de ejercicio y el momento en el que se toma la medición en relación con el daño en ADN. Hasta donde sabemos, la mayoría de los estudios han demostrado niveles elevados de migración del ADN inmediatamente después del ejercicio y 24 horas después del ejercicio. Sin embargo los estudios plantean limitaciones por los diferentes protocolos, el reducido grupo de participantes, y las diferencias en el estado de entrenamiento.

En nuestro estudio, hemos demostrado que el nivel de daño del ADN se redujo significativamente después del ejercicio en los sujetos tratados con MEL en comparación con PG en el post-entrenamiento, lo que sugiere que la suplementación podría preservar el ADN contra el ejercicio intenso (Figura 28 y 29). Por lo tanto, este estudio proporciona datos adicionales que demuestran que la correlación encontrada entre el estado antioxidante y daño del ADN en el grupo tratado con MEL, pudiendo explicar la asociación entre un CAT más

elevado y un menor daño al ADN con la suplementación de MEL ($r=-0.68$; $p=0.047$). La evidencia indica que la suplementación con otros nutrientes mostró efectos protectores en la reducción del nivel de daño en el ADN de los linfocitos de sangre periférica (PBL) inducido por H_2O_2 en individuos físicamente activos (383). Los resultados del ensayo Comet combinado con nuestros resultados sobre el estado antioxidante sugieren que la disminución en el daño en el ADN observado después del entrenamiento es atribuible a la suplementación con MEL.

En resumen, los resultados de este estudio apuntan a la conclusión de que el ejercicio de alta intensidad produce estrés oxidativo y daño al ADN y que una adecuada suplementación con MEL puede tener efectos beneficiosos, mejorando así el estado antioxidante y previniendo el daño del ADN inducido por el ejercicio extenuante. Se deben realizar investigaciones futuras que evalúen estas mismas variables, además del daño al ADN, durante ciclos de entrenamiento más largos. Esto proporcionaría los datos necesarios para comprender mejor la relación entre el estrés oxidativo y el daño del ADN.

Capítulo 6

CONCLUSIONES

CAPÍTULO 6. CONCLUSIONES

Como consecuencia de los resultados y lo expuesto en la discusión del estudio, a continuación se desglosan las conclusiones de manera ordenada dependiendo de los apartados tratados en la presente Tesis Doctoral.

Respecto a la valoración de la condición física.

La intervención mediante ejercicio interválico de alta intensidad y fuerza a lo largo de 14 días en los aspirantes a Policía Nacional, mejoró significativamente los resultados de los diferentes test físicos referidos a la potencia, fuerza, resistencia, agilidad y coordinación encontrándose asociada la variación de la composición corporal (disminución del contenido graso y aumento del contenido magro) con la mejora de las puntuaciones obtenidas una vez finalizada la intervención. Por tanto, ayudó a alcanzar las calificaciones necesarias para los test físicos que deben superar los aspirantes a Policía Nacional.

Respecto a la valoración del estado nutricional.

En cuanto a la valoración antropométrica, la composición corporal mostró una reducción significativa de los compartimentos de grasa y visceral, y un incremento significativo en la masa muscular tras la intervención mediante ejercicio interválico de alta intensidad y fuerza a lo largo de 14 días en los aspirantes a Policía Nacional.

En cuanto a la valoración de ingesta de nutrientes al inicio, los aspirantes a Policía Nacional mostraron una ingesta alterada de macronutrientes, donde la ingesta de energía y carbohidratos se situó por debajo de las recomendaciones establecidas por el Colegio Americano de Medicina Deportiva, mientras que las recomendaciones de proteínas y grasas se situaron por encima de estas. En nuestro estudio, la proporción de ingesta de HC y proteínas se encontró por debajo de la relación óptima de 3:1, principalmente atribuida al bajo consumo de alimentos ricos en HC, donde existió una correlación entre la baja frecuencia de consumo de alimentos como patatas, arroz, pan, pan de harina y pasta. Referido a la ingesta de micronutrientes, tanto las vitaminas como los minerales se encontraron por encima de las

recomendaciones establecidas para población sana adulta a excepción del zinc, el yodo o la vitamina C que se encontraban ligeramente por debajo de estas recomendaciones.

La intervención mediante ejercicio de alta intensidad a lo largo de 14 días en los aspirantes a Policía Nacional, mejoró significativamente el incremento en la ingesta energética media, aunque no llegaron a corregirse los desequilibrios iniciales de adecuación de macronutrientes. En referencia a la ingesta de micronutrientes, existió una mejora significativa de la calidad de ingesta de cada uno de ellos a través de su ingesta alimentaria. No obstante, tras el periodo de entrenamiento de alta intensidad se elevó la ingesta total de energía junto a un aumento de la masa muscular, factores que pueden promover un aumento de la respuesta al ejercicio.

En referencia a los niveles bioquímicos y hematológicos, todos los sujetos se situaron en valores normales a lo largo de todo el periodo de estudio controlado. La intervención mediante ejercicio de alta intensidad a lo largo de 14 días promovió cambios fisiológicos esperados en los valores bioquímicos y hematológicos en respuesta al ejercicio.

Respecto a la valoración del estatus antioxidante, estrés oxidativo, y daño en ADN. Estudio de intervención con melatonina.

En referencia a los niveles de melatonina, los sujetos aspirantes a Policía Nacional no mostraron diferencias significativas en respuesta al ejercicio de alta intensidad previo al periodo de suplementación. Tras la intervención mediante la suplementación con melatonina, se observó un incremento significativo esperado en sus niveles respecto al grupo placebo tras 14 días de intervención mediante ejercicio de alta intensidad.

Respecto al estado antioxidante, tras la suplementación con melatonina, se produjo un efecto coadyuvante potenciador significativo del estatus antioxidante mediante los parámetros analizados, la GPx y el CAT, lo que podría ayudar a mejorar la recuperación después del ejercicio extenuante como un mecanismo compensatorio para aumentar la protección contra el daño inducido por los radicales libres tras 14 días de ejercicio de alta intensidad.

En nuestro estudio, la valoración del nivel de daño en el ADN se incrementó significativamente después del ejercicio antes de la suplementación, lo que indica que el ejercicio intenso presenta efectos negativos sobre el ADN. Tras la suplementación con

melatonina, el nivel de daño del ADN se redujo significativamente después del ejercicio en los sujetos tratados tras la intervención de 14 días mediante ejercicio de alta intensidad, lo que sugiere que la suplementación podría preservar el ADN contra el ejercicio intenso, observándose una asociación significativa entre el estado antioxidante y dicho daño del ADN.

Conclusión final

En general, la población de opositores a Policía Nacional sometidos a entrenamiento intenso presentan ingestas inadecuadas en macro y micronutrientes que derivan en exceso o deficiencia, y en la alteración del estatus antioxidante y daño en ADN, que si no se corrige mediante diferentes estrategias como protocolos dietéticos adecuados y suplementación con antioxidantes naturales como la melatonina, podrían alterar su rendimiento y su calidad de vida a corto y largo plazo.

Capítulo 7

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAPITULO 7. REFERENCIAS BILIOGRÁFICAS

1. Official page of the DGP-Oppositions-National Police. Natl. Police Corps. [Internet]. 2017. Available from: https://www.policia.es/oposiciones/e_basica.html
2. Orr R, Dawes JJ, Pope R, Terry J. Assessing Differences In Anthropometric And Fitness Characteristics Between Police Academy Cadets And Incumbent Officers. *J Strength Cond Res* ., 2017;
3. Rossomanno CI, Herrick JE, Kirk SM, Kirk EP. A 6-month supervised employer-based minimal exercise program for police officers improves fitness. *J Strength Cond Res*. 2012;26: 2338–2344.
4. Thomas DT, Erdman KA, Burke LM. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J Acad Nutr Diet*. 2016;116(3):501-28.
5. Spriet L. New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sport Med*. 2014;44(suppl 1):S87-S96.
6. Philp A, Hargreaves M, Baar K. More than a store: Regulatory roles for glycogen in skeletal muscle adaptation to exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302(11):E1343-E1351.
7. Phillips SM, Van Loon LJ. Dietary protein for athletes: from requirements to optimum adaptation. *J Sports Sci*. 2011;29(sup1), S29-S38.
8. Lukaski HC. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*. 2004;20(7), 632-644.
9. Bailey DM, Lawrenson L, McEneny J, Young IS, James PE, Jackson SK, et al. Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radic Res*. 2007;41: 182–190.
10. Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, et al. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation*. 2003;108:530-535.
11. Falone S, Mirabilio A, Passerini A, Izzicupo P, Cacchio M, Gallina S, et al. Aerobic performance and antioxidant protection in runners. *Int J Sport Med*. 2009;30: 782–788.

12. McTiernan A. Mechanisms linking physical activity with cancer. *Nat Rev Cancer*. 2008;8: 205–211.
13. Shanely RA, Nieman DC, Henson DA, Jin F, Knab AM, Sha W. Inflammation and oxidative stress are lower in physically fit and active adults. *Scand J Med Sci Sport*. 2013;23: 215–223.
14. Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, et al. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Eur J Physiol*. 2002;445: 273–278.
15. Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, R.L. W. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sport Exerc*. 2000;32: 1576–1581.
16. Conti V, Russomanno G, Corbi G, Guerra G, Grasso C, Filippelli W, et al. Aerobic training workload affects human endothelial cells redox homeostasis. *Med Sci Sport Exerc*. 2013;45: 644–53.
17. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. The effect of an increased training volume on oxidative stress. *Int J Sports Med*. 2014;35(01), 8-13.
18. Tanimura Y, Shimizu K, Tanabe K, Kono I, Ajisaka R. Effects of three consecutive days exercise on lymphocyte DNA damage in young men. *Eur J Appl Physiol*. 2010;110: 307–314.
19. Tanskanen M, Atalay M, Uusitalo A. Altered oxidative stress in overtrained athletes. *J Sports Sci*. 2010;28: 309–317.
20. Pingitore A, Lima GPP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2015;31: 916–922.
21. Poljsak B. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev*. 2011;2011: 194586.
22. Siff MC, Verkhoshansky Y. *Super entrenamiento*. Barcelona: Paidotribo; 2000.
23. Bompa TO. *Periodización. Teoría y metodología del entrenamiento*. Madrid: Editorial Hispano Europea; 2003.
24. Cassidy S, Thoma C, Houghton D, Trenell MI. High-intensity interval training: a review of its impact on glucose control and cardiometabolic health. *Diabetologia*. 2017;60(1), 7-23.

25. Sloth M, Sloth D, Overgaard K, Dalgas U. Effects of sprint interval training on VO₂max and aerobic exercise performance: a systematic review and meta- analysis. *Scand J Med Sci Sports*. 2013;23(6), e341-e352.
26. Jelleyman C, Yates T, O'Donovan G, Gray LJ, King JA, Khunti K, et al. The effects of high- intensity interval training on glucose regulation and insulin resistance: a meta- analysis. *Obes Rev*. 2015;16(11), 942-961.
27. Fex A, Leduc-Gaudet JP, Filion ME, Karelis AD, Aubertin-Leheudre M. Effect of elliptical high intensity interval training on metabolic risk factor in pre-and type 2 diabetes patients: A pilot study. *J Phys Act Heal*. 2015;12(7), 942-946.
28. Machado AF, Baker JS, Junior F, Aylton J, Bocalini DS. High- intensity interval training using whole- body exercises: training recommendations and methodological overview. *Clin Physiol Funct Imaging*. 2017;
29. Gibala MJ. High-intensity interval training: a time-efficient strategy for health promotion? *Curr Sport Med Rep*. 2007;6 (4): 211-3.
30. Burgomaster KA, Howarth KR, Phillips SM, Rakobowchuk M, Macdonald MJ, McGee SL, et al. Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol*. 2008;586:151–160.
31. Nybo L, Sundstrup E, Jakobsen MD, Mohr M, Hornstrup T, Simonsen L, et al. High-intensity training versus traditional exercise interventions for promoting health. *Med Sci Sport Exerc*. 2010;42 (10) 1951-8.
32. Laursen PB, Jenkins DG. The scientific basis for highintensity interval training: optimising training programmes and maximising performance in highly trained endurance athletes. *Sport Med*. 2002;32 (1): 53-73.
33. Gibala MJ, McGee SL. Metabolic adaptations to short-term high-intensity interval training: a little pain for a lot of gain?. *Exerc Sport Sci Rev*. 2008;36 (2): 58-63.
34. McArdle DW, Katch VL, Katch F. *Fisiologia del Ejercicio: Nutricion, Rendimiento y Salud*. Barcelona: Wolters kluwer health. Lippincott williams and wilkins.; 2015.
35. Hagerman FC. Energy metabolism and fuel utilization. *Med Sci Sports Exerc*. 1992;24(9 Suppl), S309-14.
36. Escames G, Ozturk, G, B B-O, MJ P, JA M, et al. Exercise and melatonin in humans: reciprocal benefits. *J Pineal Res*. 2012;52(1):1-11.

37. Dohm GL, Newsholme EA. Metabolic control of hepatic gluconeogenesis during exercise. *Biochem J.* 1983;212(3), 633-639.
38. Burgomaster KA, Heigenhauser GJ, Gibala MJ. Effect of short-term sprint interval training on human skeletal muscle carbohydrate metabolism during exercise and time-trial performance. *J Appl Physiol.* 2006;100(6), 2041-2047.
39. Gaitanos GC, Williams C, Boobis LH, Brooks S. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. *J Appl Physiol.* 1993;75(2), 712-719.
40. Boutcher SH. High-intensity intermittent exercise and fat loss. *J Obes.* 2011;
41. Tomlin DL, Wenger HA. The relationship between aerobic fitness and recovery from high intensity intermittent exercise. *Sport Med.* 2001;31(1), 1-11.
42. Little JP, Jung ME, Wright AE, Wright W, Manders RJ. Effects of high-intensity interval exercise versus continuous moderate-intensity exercise on postprandial glycemic control assessed by continuous glucose monitoring in obese adults. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2014;39(7), 835-841.
43. Frøsig C, Richter EA. Improved insulin sensitivity after exercise: focus on insulin signaling. *Obesity.* 2009;17(S3).
44. Ren JM, Semenkovich CF, Gulve EA, Gao J, Holloszy JO. Exercise induces rapid increases in GLUT4 expression, glucose transport capacity, and insulin-stimulated glycogen storage in muscle. *J Biol Chem.* 1994;269(20), 14396-14401.
45. Simoneau JA, Colberg SR, Thaete FL, Kelley DE. Skeletal muscle glycolytic and oxidative enzyme capacities are determinants of insulin sensitivity and muscle composition in obese women. *FASEB J.* 1995;9(2), 273-278.
46. Kessler HS, Sisson SB, Short KR. The potential for high-intensity interval training to reduce cardiometabolic disease risk. *Sport Med.* 2012;1;42(6):489-509.
47. Houston MC, Fazio S, Chilton FH, Wise DE, Jones KB, Barringer TA, et al. Nonpharmacologic treatment of dyslipidemia. *Prog Cardiovasc Dis.* 2009;52 (2): 61-94.

48. Morales MCG. Efectos de la la melatonina, coenzima Q10 y phlebodium decumanum sobre el estrés oxidativo en el ejercicio físico intenso. Granada: Editorial de la Universidad de Granada.; 2007.
49. Keteyian SJ, Brawner CA, Savage PD, Ehrman JK, Schairer J, Divine G, et al. Peak aerobic capacity predicts prognosis in patients with coronary heart disease. *Am Hear J*. 2008;156(2), 292-300.
50. Wisløff U, Ellingsen Ø, Kemi OJ. High-intensity interval training to maximize cardiac benefits of exercise training? *Exerc Sport Sci Rev*. 2009;37(3), 139-146.
51. Tanasescu M, Leitzmann MF, Rimm EB, Willett WC, Stampfer MJ, Hu FB. Exercise type and intensity in relation to coronary heart disease in men. *Jama*. 2002;288(16), 1994-2000.
52. Lee IM, Sesso HD, Oguma Y, Paffenbarger RS. Relative intensity of physical activity and risk of coronary heart disease. *Circulation*. 2003;107(8), 1110-1116.
53. Cassidy S, Thoma C, Hallsworth K, Parikh J, Hollingsworth KG, Taylor R, et al. High intensity intermittent exercise improves cardiac structure and function and reduces liver fat in patients with type 2 diabetes: a randomised controlled trial. *Diabetologia*. 2016;59(1), 56-66.
54. Cox ML, Bennett JB, Dudley GA. Exercise training-induced alterations of cardiac morphology. *J Appl Physiol*. 1986;61(3), 926-931.
55. Helgerud J, Høydal K, Wang E, Karlsen T, Berg P, Bjerkaas M, et al. Aerobic high-intensity intervals improve $\dot{V}O_2\text{max}$ more than moderate training. *Med Sci Sport Exerc*. 2007;39(4), 665-671.
56. Kemi OJ, Haram PM, Loennechen JP, Osnes JB, Skomedal T, Wisløff U, et al. Moderate vs. high exercise intensity: differential effects on aerobic fitness, cardiomyocyte contractility, and endothelial function. *Cardiovasc Res*. 2005;67(1), 161-172.
57. Stølen TO, Høydal MA, Kemi OJ, Catalucci D, Ceci M, Aasum E, et al. Interval training normalizes cardiomyocyte function, diastolic Ca^{2+} control, and SR Ca^{2+} release synchronicity in a mouse model of diabetic cardiomyopathy. *Circ Res*. 2009;105(6), 527-536.
58. Wisløff U, Loennechen JP, Currie S, Smith GL, Ellingsen Ø. Aerobic exercise reduces cardiomyocyte hypertrophy and increases contractility, Ca^{2+} sensitivity and SERCA-2 in rat after myocardial infarction. *Cardiovasc Res*. 2002;54(1), 162-174.

59. Wisloff U, Stoylen A, Loennechen JP, Bruvold M, Rognmo Ø, Haram PM, et al. Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation*. 2007;115:3086–3094.
60. Lumens J, Delhaas T, Arts T, Cowan BR, Young AA. Impaired subendocardial contractile myofiber function in asymptomatic aged humans, as detected using MRI. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2006;291(4), H1573-H1579.
61. Hallsworth K, Thoma C, Hollingsworth KG, Cassidy S, Anstee QM, Day CP, et al. Modified high-intensity interval training reduces liver fat and improves cardiac function in non-alcoholic fatty liver disease: a randomized controlled trial. *Clin Sci*. 2015;129(12), 1097-1105.
62. Halley CM, Houghtaling PL, Khalil MK, Thomas JD, Jaber WA. Mortality rate in patients with diastolic dysfunction and normal systolic function. *Arch Intern Med*. 2011;171(12), 1082-1087.
63. Hollekim-Strand SM, Bjørgaas MR, Albrektsen G, Tjønnå AE, Wisløff U, Ingul CB. High-Intensity Interval Exercise Effectively Improves Cardiac Function in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Diastolic Dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2014;64(16), 1758.
64. McGinley C, Bishop DJ. Influence of training intensity on adaptations in acid/base transport proteins, muscle buffer capacity, and repeated-sprint ability in active men. *J Appl Physiol*. 2016;121(6), 1290-1305.
65. Flück M. Functional, structural and molecular plasticity of mammalian skeletal muscle in response to exercise stimuli. *J Exp Biol*. 2006;209(12), 2239-2248.
66. Joseph AM, Pilegaard H, Litvintsev A, Leick L, Hood DA. Control of gene expression and mitochondrial biogenesis in the muscular adaptation to endurance exercise. *Essays Biochem*. 2006;13–29,42.
67. Coffey VG, Hawley JA. The molecular bases of training adaptation. *Sport Med*. 2007;37(9), 737-763.
68. Fry AC. The role of resistance exercise intensity on muscle fibre adaptations. *Sport Med*. 2004;34(10), 663-679.
69. Nakamaru Y, Schwartz A. The influence of hydrogen ion concentration on calcium binding and release by skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Gen Physiol*. 1972;59(1), 22-32.

70. Tjønnå AE, Lee SJ, Rognmo Ø, Stølen TO, Bye A, Haram PM, et al. Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome. *Circulation*. 2008;118(4), 346-354.
71. Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol*. 2010;588(6), 1011-1022.
72. De Filippis E, Alvarez G, Berria R, Cusi K, Everman S, Meyer C, et al. Insulin-resistant muscle is exercise resistant: evidence for reduced response of nuclear-encoded mitochondrial genes to exercise. *Am J Physiol Metab*. 2008;294(3), E607-E614.
73. Gibala MJ, McGee SL, Garnham AP, Howlett KF, Snow RJ, Hargreaves M. Brief intense interval exercise activates AMPK and p38 MAPK signaling and increases the expression of PGC-1 α in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2009;106(3), 929-934.
74. Mathai AS, Bonen A, Benton CR, Robinson DL, Graham TE. Rapid exercise-induced changes in PGC-1 α mRNA and protein in human skeletal muscle. *J Appl Physiol*. 2008;105(4), 1098-1105.
75. Gibala MJ, Jones AM. Physiological and performance adaptations to high-intensity interval training. In *Limits of Human Endurance*. Karger Publ. 2013;Vol. 76, pp. 51–60.
76. Schulingkamp RJ, Pagano TC, Hung D, Raffa RB. Insulin receptors and insulin action in the brain: review and clinical implications. *Neurosci Biobehav Rev*. 2000;24(8), 855-872.
77. Burgomaster KA, Cermak NM, Phillips SM, Benton CR, Bonen A, Gibala MJ. Divergent response of metabolite transport proteins in human skeletal muscle after sprint interval training and detraining. *Am J Physiol Integr Comp Physiol*. 2007;292(5), R1970-R1976.
78. Ruiz F, Irazusta A, Gil S, Irazusta J, Casis L, Gil J. Nutritional intake in soccer players of different ages. *J Sports Sci*. 2005;23(3), 235-242.
79. Hawley JA, Tipton KD, Millard-Stafford ML. Promoting training adaptations through nutritional interventions. *J Sport Sci*. 2006;24, 709–721.
80. Farajian P, Kavouras SA, Yannakoulia M, Sidossis LS. Dietary intake and nutritional practices of elite Greek aquatic athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2004;14, 574–585.

81. Di Chen J, Wang JF, Li KJ, Zhao YW, Wang SW, Jiao Y, et al. Nutritional problems and measures in elite and amateur athletes. *Am J Clin Nutr.* 1989;49(5), 1084-1089.
82. Brotherhood JR. Nutrition and sports performance. *Sport Med Auckl NZ.* 1984;1, 350–389.
83. Short SH, Short WR. Four-year study of university athletes dietary intake. *J Am Diet Assoc.* 1983;
84. Mielgo-Ayuso J, Maroto-Sánchez B, Luzardo-Socorro R, Palacios G, Palacios Gil-Antuñano N, González-Gross M. Evaluation of nutritional status and energy expenditure in athletes. *Nutr Hosp.* 2015;31(Suppl 3)227-236.
85. García- Hortal M, Ortiz-Franco M. Adecuación de ingesta en vitaminas y su asociación con otros parámetros, en un colectivo adulto masculino durante entrenamiento intensivo. Granada: Ruiz de Aloza Editores, S.L.; 2013.
86. Mataix J, Aranceta J. Valoración del estado nutricional. II. Determinación de la ingesta de alimentos y nutrientes. In: *Nutrición y Alimentación Humana: situaciones fisiológicas y patológicas Tomo 2.* Madrid: Editorial Océano-Ergon; 2015. p. 974–89.
87. Montellano M, Gomez-Arancena J, García L, Mataix J, Llopis J. *Manual de Fotografía para Encuestas Alimentarias.* Granada: Universidad de Granada; 1992.
88. Spronk I, Kullen C, Burdon C, O'Connor H. Relationship between nutrition knowledge and dietary intake. *Br J Nutr.* 2014;111: 1713-26.
89. Rumbold PLS, Gibson AS, Stevenson E, Dodd-Reynolds CJ. Agreement between two methods of dietary data collection in female adolescent netball players. *Appetite.* 2011;57: 443-7.
90. Forster H, Fallaize R, C G, O'Donovan C, Woolhead C, Marianne C, et al. Online dietary intake estimation: The Food4Me food frequency questio. *J Med Internet Res.* 2014;16(6), e150.
91. Wilmore JH, Costill DL. *Fisiología del esfuerzo y del deporte.* 6a ed. Paidotribo; 2007.
92. Stellingwerff T, Maughan RJ, Burke LM. Nutrition for power sports: Middledistance running, track cycling, rowing, canoeing/kayaking, and swimming. *J Sport Sci.* 2011;29(suppl 1):S79-S89.

93. Wang ZM, Pierson RN, Heymsfield SB. The five-level model: a new approach to organizing body-composition research. *Am J Clin Nutr.* 1992;56(1), 19-28.
94. Lee S, Gallagher D. Assessment methods in human body composition. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2008;11(5), 566.
95. Toomey CM, McCormack WG, Jakeman P. The effect of hydration status on the measurement of lean tissue mass by dual-energy X-ray absorptiometry. *Eur J Appl Physiol.* 2017;117(3), 567-574.
96. Duren DL, Sherwood RJ, Czerwinski SA, Lee M, Choh AC, Siervogel RM, et al. Body composition methods: comparisons and interpretation. *J Diabetes Sci Technol.* 2008;2(6), 1139-1146.
97. Wagner DR, Heyward VH. Techniques of body composition assessment: A review of laboratory and field methods. *Res Q Exerc Sport.* 1999;70(2):135-49.
98. Canda Moreno AS, Pacheco del Cerro JL, López Calbet JA, Dorado García C, Chavarren Cabrero J, González de Suso JM, et al. Métodos de estudio de la composición corporal en deportistas. Madrid: Ministerio de Educación, Cultura y Deporte Consejo Superior de Deportes; 2003.
99. Martin AD, Drinkwater DT. Variability in the measures of body fat: Assumptions or technique? *Sport Med.* 1991;11,277-288.
100. Grande F, Keys A, Grande F, Keys A. Body weight, body composition and calorie status. In: *Modern nutrition in health and disease.* Filadelfia: En R.S. Goodhart & M.E. Shils; 1980. p. 16.
101. Lohman TG. Applicability of Body Composition Techniques and Constants for Children and Youths. *Exerc Sport Sci Rev.* 1986;14(1), 325-358.
102. Modlesky CM, Cureton KJ, Lewis RD, Prior BM, Sloniger MA, Rowe DA. Density of the fat-free mass and estimates of body composition in male weight trainers. *J Appl Physiol.* 1996;80, 2.085-2.096.
103. Brodie D, Moscrip V, Hutcheon R. Body composition measurement: a review of hydrodensitometry, anthropometry, and impedance methods. *Nutrition.* 1998;14(3), 296-310.
104. Lukaski HC. Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr.* 1987;46(4), 537-556.

105. McCrory MA, Gomez TD, Bernauer EM, Molé PA. Evaluation of a new air displacement plethysmograph for measuring human body composition. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27, 1.686–1.691.
106. Heymsfield SB, Lohman TG, Chen Z, Wang. *Human body composition.* Champaign: Human Kinetics; 2005.
107. Goran MI. Energy expenditure, body composition, and disease risk in children and adolescents. *Proc Nutr Soc.* 1997;56(1B), 195-209.
108. Malina RM. Body composition in athletes: assessment and estimated fatness. *Clin Sports Med.* 2007;26(1), 37-68.
109. Dempster P, Aitkens S. A new air displacement plethysmograph for measuring human body composition. *Med Sci Sports Exerc.* 1995;27, 1.686–1.691.
110. Pollock ML, Jackson AS. Research progress in validation of clinical methods of assessing body composition . *Med Sci Sports Exerc.* 1984;16,606-613.
111. International standards for anthropometric assessment. . Potchefstroom, RSA ISAK. 2001;
112. Marfell-Jones M, Olds T, Stewart A, Carter L. International standards for anthropometric assessment. ISAK. 2006;
113. Lukaski H, Bolonchuck W, Hall C, Siders W. Validation of tetrapolar bioelectrical impedance method to assess human body composition. *J Appl Physiol.* 1986;60:1327-32.
114. Alvero Cruz JR, Diego Acosta AM, Fernández Pastor VJ, García Romero J. Métodos de evaluación de la composición corporal: Tendencias actuales III. *Arch Med del Deport.* 2005;106:121-8.
115. Baumgartner R. Electrical impedance and total body electrical conductivity. *Human body composition.* In Champaign, IL: Roche A, Heymsfield S, Lohman T (eds); 1996. p. 79–107.
116. Moon JR. Body composition in athletes and sports nutrition: an examination of the bioimpedance analysis technique. *Eur J Clin Nutr.* 2013;67, S54–9.
117. Lun V, KA E, Reimer RA. Evaluation of nutritional intake in Canadian high-performance athletes. *Clin J Sport Med.* 2009;19: 405–411.

118. Burke LM, Angus DJ, Cox GR, Cummings NK, Febbraio MA, Gawthorn K. Effect of fat adaptation and carbohydrate restoration on metabolism and performance during prolonged cycling. *J Appl Physiol*. 2000;89(6), 2413-2421.
119. Rodriguez NR, DiMarco NM, Langley S. American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American Colleg. *Am Diet Assoc Dietitians Canada*. 2009;109(3):509-27.
120. Iglesias-Gutiérrez E, García-Rovés PM, Rodríguez C, Braga S, García-Zapico P, Patterson ÁM. Food habits and nutritional status assessment of adolescent soccer players. A necessary and accurate approach. *Can J Appl Physiol*. 2005;30(1), 18-32.
121. Burke L, Deakin V, Manore M, Thompson J. Energy requirements of the athlete: Assessment and evidence of energy efficiency. In: *Energy requirements of the athlete: Assessment and evidence of energy efficiency*. Sydney: Clinical Sports Nutrition; 2006. p. 2015:114-139.
122. Spriet L. New insights into the interaction of carbohydrate and fat metabolism during exercise. *Sport Med*. 2014;44(suppl 1):S87-S96.
123. Palacios N, Manonelles P, Blasco R, Franco L, Villegas J. Ayudas ergogénicas nutricionales para las personas que realizan ejercicio físico. *Arch Med del Deport*. 2012;
124. Meeusen R, Duclos M, Foster C, Fry A, Gleeson M, Nieman D, et al. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med Sci Sport Exerc*. 2013;45(1):186-205.
125. Cole M, Coleman D, Hopker J, J W. Improved gross efficiency during long duration submaximal cycling following a short-term high carbohydrate diet. *Int J Sport Med*. 2014;35(3):265-269.
126. Escobar KA, VanDusseldorp TA, Kerksick CM. Carbohydrate intake and resistance-based exercise: are current recommendations reflective of actual need? *Br J Nutr*. 2016;116(12), 2053-2065.
127. Kerksick CM, Arent S, Schoenfeld BJ, Stout JR, Campbell B, Wilborn CD, et al. International society of sports nutrition position stand: nutrient timing. *J Int Soc Sports Nutr*. 2017;14(1), 33.
128. Burke LM, Hawley JA, Wong SH, Jeukendrup AE. Carbohydrates for training and competition. *J Sport Sci*. 2011;29(sup1), S17-S27.

129. La Berge AF. How the ideology of low fat conquered America. . J Hist Med Allied Sci. 2008;63(2), 139-177.
130. SENC. Guías alimentarias para la población española; la nueva pirámide de la alimentación saludable. Nutr Hosp. 2016;33(Supl.8):1-48.
131. Vannice G, Rasmussen H. Position of the academy of nutrition and dietetics: dietary fatty acids for healthy adults. J Acad Nutr Diet. 2014;114(1), 136-153.
132. Aragon AA, Schoenfeld BJ, Wildman R, Kleiner S, VanDusseldorp T, Taylor L, et al. International society of sports nutrition position stand: diets and body composition. J Int Soc Sports Nutr. 2017;14(1), 16.
133. Cox PJ, Kirk T, Ashmore T, Willerton K, Evans R, Smith A, et al. Nutritional Ketosis Alters Fuel Preference and Thereby Endurance Performance in Athletes. Cell Metab. 2016;24(2), 256-268.
134. Venkatraman JT, Leddy J, Pendergast D. Dietary fats and immune status in athletes: clinical implications. Med Sci Sports Exerc. 2000;32(7 Suppl), S389-95.
135. Jäger R, Kerksick CM, Campbell BI, Cribb PJ, Wells SD, Skwiat TM, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: protein and exercise. J Int Soc Sports Nutr. 2017;14(1), 20.
136. Phillips SM. Dietary protein requirements and adaptive advantages in athletes. . Br J Nutr. 2012;108(S2), S158-S167.
137. Driskell J, Wolinsky I. Summary: Vitamins and trace elements in sports nutrition. Sports Nutrition. Vitamins and Trace Elements. New York (NY): CRC/Taylor & Francis, 323-31; 2006.
138. Zapico A Fernández E. Overweight BJ. obesity and adequacy to mediterranean diet of madrid community adolescents. 2010;271-80.
139. Gil Á. Tratado de Nutrición. ACCION MEDICA; 2017.
140. Kim M-H, Choi M-K. Seven Dietary Minerals (Ca, P, Mg, Fe, Zn, Cu, and Mn) and Their Relationship with Blood Pressure and Blood Lipids in Healthy Adults with Self-Selected Diet. Biol. Trace Elem Res. 2013;153(1-3):69-75.

141. Cuervo M, Corbalán M, Baladía E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, et al. Comparison of dietary reference intakes (DRI) between different countries of the European Union, The United States and the World Health Organization. *Nutr Hosp Organo Of Soc Española Nutr Parenter Enter.* 2009;24(4):384-414.
142. Cuervo M, Baladía E, Goñi L, Corbalán M, Manera M, Basulto J, et al. Propuesta de ingesta dietéticas de referencia (IDR) para la población española FESNAD. *Académica EUNSA*; 2010.
143. Morel J, Combe B, Francisco J, Bernard J. Bone Mineral Density of 704 Amateur Sportsmen Involved in Different Physical Activities. *Osteoporos Int.* 2001;12(2):152-7.
144. Marwaha RK, Puri S, Tandon N, Dhir S, Agarwal N, Bhadra K, et al. Effects of sports training & nutrition on bone mineral density in young Indian healthy females. *Indian J Med Res.* 2011;134(3):307-1.
145. Wang L, Zhang J, Wang J, He W, H H. Effects of High-Intensity Training and Resumed Training on Macroelement and Microelement of Elite Basketball Athletes. *Biol Trace Elem Res.* 2012;149(2):148-54.
146. Alonso J, Molina A, Vargas C. Sustancias que pueden mejorar el rendimiento deportivo. *Ayudas Ergogénicas.* Junta de Andalucía, Consejería de Turismo y Deporte; 2006.
147. Palacios N, Franco L, Manonelles P, Manuz B, Villegas J. Composición y pautas de reposición de líquidos documento de concenso de la Federación Española de Medicina del Deporte (FEMEDE). *Arch Med del Deport.* 2008;XXV:245-58.
148. Peveler WW, Palmer T. Effect of Magnesium Lactate Dihydrate and Calcium Lactate Monohydrate on 20-km Cycling Time Trial Performance. *J Strength Cond Res.* 2012;26(4):1149-53.
149. Molina-López J, Molina JM, Chiroso LJ, Florea D, Sáez L, Millán E, et al. Association between erythrocyte concentrations of magnesium and zinc in high-performance handball players after dietary magnesium supplementation. *Magnes Res.* 2012;25(2), 79-88.
150. Zhang Y, Xun P, Wang R, Mao L, He K. Can Magnesium Enhance Exercise Performance? *Nutrients.* 2017;9(9), 946.
151. Brownlie T, Utermohlen V, Hinton PS, Haas JD. Tissue iron deficiency without anemia impairs adaptation in endurance capacity after aerobic training in previously untrained women. *Am J Clin Nutr.* 2004;79:437–43.

152. Neek LS, Gaeini AA, Choobineh S. Effect of Zn and Selenium Supplementation on Serum Testosterone and Plasma Lactate in Cyclist After an Exhaustive Exercise. *Bout Biol Trace Elem Res.* 2011;144(1-3):454-62.
153. Drăgan I, Dinu V, Mohora M, Cristea E, Ploșteanu E, Stroescu V. Studies regarding the antioxidant effects of selenium on top swimmers. *Rev Roum Physiol.* 1990;27(1), 15-20.
154. Akil M, Gurbuz U, Bicer M, Sivrikaya A, Mogulkoc R, Baltaci AK. Effect of Selenium Supplementation on Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzymes, and Lactate Levels in Rats Immediately After Acute Swimming Exercise. *Biol Trace Elem Res.* 2011;142(3)651-9.
155. Soria M, González-Haro C, Ansón M, López-Colón JL, Escanero JF. Plasma levels of trace elements and exercise induced stress hormones in well-trained athletes. *J Trace Elem Med Biol.* 2015;31, 113–119.
156. Palacios N, Montalvo Z, Ribas AM. Alimentación, nutrición e hidratación en el deporte. Madrid: Imprenta Nacional del BOE; 2009.
157. Gil-Antuñano NP, Bonafonte LF, Marqueta PM, Manuz B, García JA V. Consenso sobre bebidas para el deportista. Composición y pautas de reposición de líquidos. *Arch Med del Deport Rev la Fed Española Med del Deport y la Confed Iberoam Med del Deport.* 2008;(126), 245-258.
158. Baer JT, Taper LJ. Amenorrheic and eumenorrheic adolescent runners: Dietary intake and exercise training status. *J Am Diet Assoc.* 1992;92:89-91.
159. Beals KA, Manore MM. Nutritional status of female athletes with subclinical eating disorders. *J Am Diet Assoc.* 1998;98:419-425.
160. Beitz R, Mensink GBM, Henschel Y, Fischer B, Erbersdobler HF. Dietary behaviour of German adults differing in levels of sport activity. *Public Heal Nutr.* 2004;7:45-52.
161. Faber M, Benade AS. Mineral and vitamin intake in field athletes (discus-, hammer-, javelin-throwers and shotputters). *Int J Sports Med.* 1991;12(03), 324-327.
162. Nieman DC, Butler J V, Pollett LM, Dietrich SJ, Lutz RD. Nutrient intake of marathon runners. *J Am Diet Assoc.* 1989;89(9), 1273-1278.
163. Howat PM, Carbo ML, Mills GQ, Wozniak P. The influence of diet, body fat, menstrual cycling, and activity upon the bone density of females. *J Am Diet Assoc.* 1989;89(9), 1305-1307.

164. Kaiserauer S, Snyder AC, Sleeper M, Zierath J. Nutritional, physiological, and menstrual status of distance runners. *Med Sci Sports Exerc.* 1989;21(2), 120-125.
165. Keith RE, O’Keeffe KA, Alt LA, Young KL. Dietary status of trained female cyclists. *J Am Diet Assoc.* 1989;89(11), 1620-1623.
166. Kopp-Woodroffe SA, Manore MM, Dueck CA, Skinner JS, Matt KS. Energy and nutrient status of amenorrheic athletes participating in a diet and exercise training intervention program. *Int J Sport Nutr.* 1999;9(1), 70-88.
167. Manore MM, Besenfelder PD, Wells CL, Carroll SS, Hooker SP. Nutrient intakes and iron status in female long-distance runners during training. *J Am Diet Assoc.* 1989;89:257-259.
168. Rucinski A. Relationship of body image and dietary intake of competitive ice skaters. *J Am Diet Assoc.* 1989;89:98-100.
169. Mason JB. 225 – Vitamins, Trace Minerals, and Other Micronutrients. In: Goldman’s Cecil Medicine. Elsevier Inc; 2012. p. Pages e47–e56 Volumen 2.
170. Molina-López J, Molina JM, Chiroso LJ, Florea DI, Sáez L, Planells E. Effect of folic acid supplementation on homocysteine concentration and association with training in handball players. *J Int Soc Sports Nutr.* 2013;10(1), 10.
171. Woolf K, Manore MM. B-vitamins and exercise: does exercise alter requirements? *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2006;16(5), 453-484.
172. Kreider RB, Wilborn CD, Taylor L, Campbell B, Almada AL, R C, et al. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *J Int Soc Sport Nut.* 2010;7:7.
173. Margaritis I, Rousseau AS. Does physical exercise modify antioxidant requirements? *Nutr Res Rev.* 2008;21(1), 3-12.
174. Sandström B. Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *Br J Nutr.* 2001;85(S2), S181-S185.
175. Bergholm R, Mäkimattila S, Valkonen M, Liu ML, Lahdenperä S, Taskinen MR, et al. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation in vivo. *Atherosclerosis.* 1999;145(2), 341-349.

176. Pincemail J, Lecomte J, Castiau J, Collard E, Vasankari T, Cheramy-Bien J, et al. Evaluation of autoantibodies against oxidized LDL and antioxidant status in top soccer and basketball players after 4 months of competition. *Free Radic Biol Med.* 2000;28(4), 559-565.
177. Schröder H, Navarro E, Tramullas A, Mora J, Galiano D. Nutrition antioxidant status and oxidative stress in professional basketball players: effects of a three compound antioxidative supplement. *Int J Sports Med.* 2000;21(02), 146-150.
178. Sinha A, Hollingsworth KG, Ball S, T. C. Improving the vitamin D status of vitamin D deficient adults is associated with improved mitochondrial oxidative function in skeletal muscle. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(3): E509-E513.
179. Pojednic RM, Ceglia L. The emerging biomolecular role of vitamin D in skeletal muscle. *Exerc Sport Sci Rev.* 2014;42(2):76-81.
180. Ruohola JP, Laaksi I, Ylikomi T, al et. Association between serum 25(OH) D concentrations and bone stress fractures in Finnish young men. *J Bone Miner Res.* 2006;21(9):1483-1488.
181. Halliday TM, Peterson NJ, Thomas JJ, Kleppinger K, Hollis BW, Larson-Meyer DE. Vitamin D status relative to diet, lifestyle, injury, and illness in college athletes. *Med Sci Sport Exerc.* 2011;43(2):335-343.
182. Larson-Meyer DE, Willis KS. Vitamin D and athletes. *Curr Sport Med Rep.* 2010;9(4):220-226.
183. Cannell JJ, Hollis BW, Sorenson MB, Taft TN, Anderson JJ. Athletic performance and vitamin D. *Med Sci Sport Exerc.* 2009;41(5):1102-1110.
184. Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG. Antioxidant supplementation prevents exercise-induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radic Biol Med.* 2004;36(10), 1329-1341.
185. Watson TA, Callister R, Taylor R, Sibbritt D, MacDonald-Wicks LK, Garg ML. Antioxidant restricted diet increases oxidative stress during acute exhaustive exercise. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2003;12.
186. Urdampilleta A, Martínez-Sanz JM, Lopez-Gruoso R. Valoración bioquímica del entrenamiento: herramienta para el dietista-nutricionista deportivo. *Rev Española Nutr Humana y Dietética.* 2013;17(2), 73-83.

187. Hug M, Mullis PE, Vogt M, Ventura N, Hoppeler H. Training modalities: over-reaching and over-training in athletes, including a study of the role of hormones. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2003;17(2), 191-209.
188. Banfi G, Colombini A, Lombardi G, Lubkowska A. Metabolic markers in sports medicine. *Adv Clin Chem.* 2012;2,56.
189. Tolfrey K, Smallcombe J. High-intensity interval training. In: *Oxford Textbook of Children's Sport and Exercise Medicine*, 3rd ed. Oxford: OUP: Armstrong, N and van Mechelen, W. (eds.); 2017. p. 477–491.
190. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine.* USA: Oxford University Press; 2015.
191. Rokitzki L, Logemann E, Sagredos AN, Murphy M, Wetzel-Roth W, Keul J. Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol.* 1994;151(2), 149-158.
192. McBride JM, Kraemer WJ, Triplett-McBride T, Sebastianelli W. Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc.* 1998;30(1), 67-72.
193. Jammes Y, Steinberg JG, Mambrini O, Bregeon F, Delliaux S. Chronic fatigue syndrome: assessment of increased oxidative stress and altered muscle excitability in response to incremental exercise. *J Intern Med.* 2005;257(3), 299-310.
194. Fernández JM, Da Silva-Grigoletto ME, Túnez-Fiñana I. Estrés oxidativo inducido por el ejercicio. *Rev Andaluza Med del Deport.* 2009;2009;2(1):19-34.
195. Powers SK, Nelson WB, Hudson MB. Exercise-induced oxidative stress in humans: cause and consequences. *Free Radic Biol Med.* 2011;51(5), 942-950.
196. Reid MB, Khawli FA, Moody MR. Reactive oxygen in skeletal muscle. III. Contractility of unfatigued muscle. *J Appl Physiol.* 1993;75(3), 1081-1087.
197. Arbogast S, Reid MB. Oxidant activity in skeletal muscle fibers is influenced by temperature, CO₂ level, and muscle-derived nitric oxide. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2004;287(4), R698-R705.
198. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev.* 2008;88(4), 1243-1276.

199. Cooper CE, Vollaard NB, Choueiri T, Wilson MT. Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans.* 2002;30(2):280–5.
200. Fardy H, Silverman F. Localización celular y lugar específico de acción de cada antioxidante. *Arch Dis Child.* 1995;73, F112–117.
201. De Teresa- Galván C, Barrilao RG, García MC, Ochoa J, Wilhelmi JO. Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Rev Andal Med Deport.* 2008;1(2):61-72.
202. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sport Med.* 2006;36(4):327-58.
203. Powers SK, Lennon SL. Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proc Nutr Soc.* 1999;58(4), 1025-1033.
204. Culotta VC, Yang M, O'Halloran T V. Activation of superoxide dismutases: putting the metal to the pedal. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Cell Res.* 2006;1763(7), 747-758.
205. Ji LL, Fu R, Mitchell E. Glutathione and antioxidant enzymes in skeletal muscle: effects of fiber type and exercise intensity. *J Appl Physiol.* 1992;73, 1854–1859.
206. Criswell D, Powers S, Dodd S, Lawler J, Edwards W, Renshler K, et al. High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant activity. *Med Sci Sports Exerc.* 1993;25, 1135–1140.
207. Powers S, Criswell D, Lawler J, Ji L, Martin D, Herb R, et al. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol.* 1994;266, R375–R380.
208. Gutteridge JM, Halliwell B. Iron toxicity and oxygen radicals. *Baillieres Clin Haematol.* 1989;2(2), 195-.
209. Nieto N. Perfil lipídico y defensa antioxidante del corazón de ratas alimentadas con diferentes dietas lipídicas. Memoria de Licenciatura. Granada: Universidad de Granada. Facultad de Farmacia.; 1993.
210. Ramon JR. Protocolos: Radicales libres y antioxidantes en clínica humana. Madrid: Editorial IDEPSA; 1993.
211. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984;150:121-127.
212. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. Third edition. New York: Oxford University Press; 1999.

213. Warholm M, Cuthenberg C, Von Barh C, Mannervick B. Glutathione transferases from human liver. *Methods Enzymol.* 1985;113:499-504.
214. Aniya Y, Nieto A. Oxidative stress induced activation of microsomal glutathione 5-transferase in isolated rat liver. *Biochem Pharmacol.* 1993;45(1):37-42.
215. Ji LL, Stratman F, Lardy H. Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. *Arch Biochem Biophys.* 1988;263, 150–160.
216. Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exerc Sport Sci Rev.* 1995;23, 135–166.
217. Jones DP. Redox potential of GSH/GSSG couple: Assay and biological significance. *Methods Enzymol.* 2002;93–112,348.
218. McLeay Y, Stannard S, Houltham S, Starck C. Dietary thiols in exercise: oxidative stress defence, exercise performance, and adaptation. *J Int Soc Sports Nutr.* 2017;14(1), 12.
219. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(2), 653s-669s.
220. Jackson MJ. Redox regulation of skeletal muscle. *IUBMB Life.* 2008;60(8), 497-501.
221. Leeuwenburgh C, Hollander J, Leichtweis S, Griffiths M, Gore M, Ji LL. Adaptations of glutathione antioxidant system to endurance training are tissue and muscle fiber specific. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 1997;272 1 Pt 2:R363-9.
222. Pravst I, Žmitek K, Žmitek J. Coenzyme Q10 contents in foods and fortification strategies. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2010;50(4), 269-280.
223. Bentinger M, Tekle M, Dallner G. Coenzyme Q–biosynthesis and functions. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010;396(1), 74-79.
224. Littarru GP, Tiano L. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Nutrition.* 2010;26:250–254.
225. Emami A, Tofighi A, Rezayi SA, Gilani BB. Effect of Short-term Coenzyme Q10 Supplementation and Pre-cooling on Serum Endogenous Antioxidant Enzymes of Elite Swimmers. *J Strength Cond Res.* 2017;
226. Riccioni G. Carotenoids and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2009;11(6), 434-439.

227. Semba RD, Lauretani F, Ferrucci L. Carotenoids as protection against sarcopenia in older adults. *Arch Biochem Biophys*. 2007;458(2), 141-145.
228. Djordjevic B, Baralic I, Kotur-Stevuljevic J, Stefanovic A, Ivanisevic J, Radivojevic N, et al. Effect of astaxanthin supplementation on muscle damage and oxidative stress markers in elite young soccer players. *J Sport Med Phys Fit*. 2012;52(4), 382-392.
229. Tsao R. Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*. 2010;2:1231–1246.
230. Cabrera C, Artacho R, Giménez R. Beneficial effects of green tea—a review. *J Am Coll Nutr*. 2006;25(2), 79-99.
231. González-Gallego J, García-Mediavilla M V, Sánchez-Campos S, Tuñón MJ. Fruit polyphenols, immunity and inflammation. *Br J Nutr*. 2010;104(S3), S15-S27.
232. Marzocchella L, Fantini M, Benvenuto M, Masuelli L, Tresoldi I, Modesti A, et al. Dietary flavonoids: molecular mechanisms of action as anti-inflammatory agents. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov*. 2011;5(3), 200-220.
233. García-Lafuente A, Guillamón E, Villares A, Rostagno MA, Martínez JA. Flavonoids as anti-inflammatory agents: implications in cancer and cardiovascular disease. *Inflamm Res*. 2009;58(9), 537-552.
234. Cotelle N. Role of flavonoids in oxidative stress. *Curr Top Med Chem*. 2001;1(6), 569-590.
235. Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nutr Biochem*. 2002;13(10), 572-584.
236. Myburgh KH. Polyphenol supplementation: benefits for exercise performance or oxidative stress? *Sport Med*. 2014;44(1), 57-70.
237. Lerner AB, Case JD, Takahashi Y, Lee TH, Mori W. Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. . *J Am Chem Soc*. 1958;80(10), 2587-2587.
238. López-Muñoz F, Boya J, Marín F, Calvo JL. Scientific research on the pineal gland and melatonin:A bibliometric study for the period 1966–1994. *J Pineal Res*. 1996;20, 115–124.
239. Varoni EM, Soru C, Pluchino R, Intra C, Iriti M. The Impact of Melatonin in Research. . *Molecules*. 2016;21(2), 240.

240. Reiter RJ, Tan DX, Mayo JC, Sainz RM, Leon J, Czarnocki Z. Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol Ed.* 2003;50(4), 1129-1146.
241. Klein DC, Moore RY. Pineal N-acetyltransferase and hydroxyindole-O-methyltransferase: Control by the retinohypothalamic tract and the suprachiasmatic nucleus. *Brain Res.* 1979;174, 245–262.
242. Axelrod J, Weissbach H. Enzymatic O-methylation of N-acetylserotonin to melatonin. *Science (80-)*. 1960;131, 1312-1312.
243. Garbarino-Pico E, AR C, MA C, M S, Brocco MA, Panzetta P, et al. Retinal ganglion cells are autonomous circadian oscillators synthesizing N-acetylserotonin during the day. *J Biol Chem.* 2004;279:51172–81.
244. Moore RY. Suprachiasmatic nucleus in sleep–wake regulation. *Sleep Med.* 2007;8, 27–33.
245. Sugden D, Klein DC. Beta-adrenergic receptor control of rat pineal hydroxyindole-O-methyltransferase. *Endocrinology.* 1983;113(1), 348-353.
246. Brzezinski A. Melatonin in humans. *N Engl J Med.* 1997;336(3), 186-195.
247. Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, et al. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol life Sci.* 2014;71(16), 2997-3025.
248. Carpentieri A, de Barboza GD, Areco V, López MP, De Talamoni NT. New perspectives in melatonin uses. *Pharmacol Res.* 2012;65(4), 437-444.
249. Andersen LPH, Gögenur I, Rosenberg J, Reiter RJ. The safety of melatonin in humans. *Clinical drug investigation. Clin Drug Investig.* 2016;36(3), 169-175.
250. Johe PD, Østerud B. The in vivo effect of melatonin on cellular activation processes in human blood during strenuous physical exercise. *J Pineal Res.* 2005;39(3):324-30.
251. Iriti M, Varoni EM. Melatonin in Mediterranean diet, a new perspective. *J Sci Food Agric.* 2015;95(12), 2355-2359.
252. Iriti M, Varoni EM, Vitalini S. Melatonin in traditional Mediterranean diets. *J Pineal Res.* 2010;49(2), 101-105.

253. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Simopoulos AP, Maldonado MD, Flores LJ, et al. Melatonin in edible plants (phytomelatonin): Identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Rev Nutr Diet.* 2007;97, 211–230.
254. Poeggeler B, Reiter RJ, Tan DX, Chen LD, Manchester LC. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: A hypothesis . *J Pineal Res.* 1993;14(4), 151-168.
255. Barlow-Walden LR, Reiter RJ, Abe M, Pablos M, Menendez-Pelaez A, Chen LD, et al. Melatonin stimulates brain glutathione peroxidase activity. *Neurochem Int.* 1995;26(5), 497-502.
256. Fischer TW, Kleszczyński K, Hardkop LH, Kruse N, Zillikens D. Melatonin enhances antioxidative enzyme gene expression (CAT, GPx, SOD), prevents their UVR-induced depletion, and protects against the formation of DNA damage (8-hydroxy-2'-deoxyguanosine) in ex vivo human skin. *J Pineal Res.* 2013;54(3), 303-312.
257. Reiter RJ, Mayo JC, Tan DX, Sainz RM, Alatorre-Jimenez M, Qin L. Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *J Pineal Res.* 2016;
258. Rosen J, Than NN, Koch D, Poeggeler B, Laatsch H, Hardeland R. Interactions of melatonin and its metabolites with the ABTS cation radical: extension of the radical scavenger cascade and formation of a novel class of oxidation products C2-substituted 3-indolinones. *J Pineal Res.* 2006;41(4), 374-381.
259. Schaefer M, Hardeland R. The melatonin metabolite N1-acetyl-5-methoxykynuramine is a potent singlet oxygen scavenger. *J Pineal Res.* 2009;46(1), 49-52.
260. Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, Yan MT, El-Sawi M, Sainz RM, et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger. *Curr Top Med Chem.* 2002;2(2), 181-197.
261. Galano A, Tan DX, Reiter RJ. On the free radical scavenging activities of melatonin's metabolites, AFMK and AMK. *J Pineal Res.* 2013;54(3), 245-257.
262. Mauriz JL, Collado PS, Veneroso C, Reiter RJ, González-Gallego J. A review of the molecular aspects of melatonin's anti-inflammatory actions: recent insights and new perspectives. *J Pineal Res.* 2013;54(1), 1-14.

263. Sánchez A, Calpena AC, Clares B. Evaluating the oxidative stress in inflammation: role of melatonin. *Int J Mol Sci.* 2015;16(8), 16981-17004.
264. Martín M, Macías M, Escames G, León J, Acuña-Castroviejo D. Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress. *FASEB J.* 2000;14(12), 1677-1679.
265. Moneim AEA, Ortiz F, Leonardo-Mendonca RC, Vergano-Villodres R, Guerrero-Martínez JA, López LC, et al. Protective effects of melatonin against oxidative damage induced by Egyptian cobra (*Naja haje*) crude venom in rats. *Acta Trop.* 2015;143, 58–65.
266. Rodríguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martín V, et al. Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J Pineal Res.* 2004;36(1), 1-9.
267. Borges Dermargos, A LDS, Junior EPDS, Weimann E, Lambertucci RH, Hatanaka E. Melatonin decreases muscular oxidative stress and inflammation induced by strenuous exercise and stimulates growth factor synthesis.. *J Pineal Res.* 2015;204;58(2):166-72.
268. Strassman RJ, Appenzeller O, Lewy AJ, Qualls CR, Peake GT. Increase in plasma melatonin, β -endorphin, and cortisol after a 28.5-mile mountain race: relationship to performance and lack of effect of naltrexone. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989;69(3), 540-545.
269. Carr DB, Reppert SM, Bullen B, Skrinar G, Beitins I, Arnold M, et al. Plasma melatonin increases during exercise in women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;53(1), 224-225.
270. Davis GR, Etheredge C, E, Marcus L, Bellar D. Prolonged sleep deprivation and continuous exercise: effects on melatonin, tympanic temperature, and cognitive function. *Biomed Res Int.* 2014;
271. Miyazaki T, Hashimoto S, Masubuchi S, Honma S, Honma KI. Phase-advance shifts of human circadian pacemaker are accelerated by daytime physical exercise. *Am J Physiol Integr Comp Physiol.* 2001;281(1), R197-R205.
272. Elias AN, Wilson AF, Pandian MR, Rojas FJ, Kayaleh R, Stone SC, et al. Melatonin and gonadotropin secretion after acute exercise in physically active males. *Eur J Appl Physiol Occup physiol.* 1993;66(4), 357-361.
273. Atkinson G, Edwards B, Reilly T, Waterhouse J. Exercise as a synchroniser of human circadian rhythms: an update and discussion of the methodological problems. *Eur J Appl Physiol.* 2007;99(4), 331-341.

274. Nishiyama K, Yasue H, Moriyama Y, Tsunoda R, Ogawa H, Yoshimura M, et al. Acute effects of melatonin administration on cardiovascular autonomic regulation in healthy men. *Am Heart J.* 2001;141(5), 13A-17A.
275. Bosnian H, Dormehl IC, Hugo N, Redelinguys IF, Theron JJ. The effect of intravenous administration of melatonin on cardiovascular parameters of the baboon (*Papio ursinus*). *J Pineal Res.* 1991;11(3-4), 179-181.
276. Veneroso C, Tuñón MJ, González-Gallego J, Collado PS. Melatonin reduces cardiac inflammatory injury induced by acute exercise. *J Pineal Res.* 2009;47(2), 184-191.
277. Tengattini S, Reiter RJ, Tan DX, Terron MP, Rodella LF, Rezzani R. Cardiovascular diseases: protective effects of melatonin. *J Pineal Res.* 2008;44(1), 16-25.
278. Ochoa JJ, Díaz-Castro J, Kajarabille N, García C, Guisado IM, De Teresa C, et al. Melatonin supplementation ameliorates oxidative stress and inflammatory signaling induced by strenuous exercise in adult human males. *J Pineal Res.* 2011;51(4), 373-380.
279. Maldonado MD, Manfredi M, Ribas-Serna J, Garcia-Moreno H, Calvo JR. Melatonin administered immediately before an intense exercise reverses oxidative stress, improves immunological defenses and lipid metabolism in football players. *Physiol Behav.* 2012;105(5), 1099-1103.
280. Mazepa RC, Cuevas MJ, Collado PS, Gonzalez-Gallego J. Melatonin increases muscle and liver glycogen content in nonexercised and exercised rats. *Life Sci.* 1999;66(2), 153-160.
281. Sánchez-Campos Arevalo, M., Mesonero, M. J., Esteller, A., González-Gallego, J., & Collado, P. S. S. Effects of melatonin on fuel utilization in exercised rats: role of nitric oxide and growth hormone. *J Pineal Res.* 2001;31(2), 159-166.
282. Ha E, Yim S V, Chung JH, Yoon KS, Kang I, Cho YH, et al. Melatonin stimulates glucose transport via insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase pathway in C2C12 murine skeletal muscle cells. *J Pineal Res.* 2006;41(1), 67-72.
283. McLellan TM, Gannon GA, J Z, Gil V, Brown GM. Low doses of melatonin and diurnal effects on thermoregulation and tolerance to uncompensable heat stress. *J Appl Physiol.* 1999;87(1), 308-316.
284. McLellan TM, Smith IF, Gannon GA, Zamecnik J. Melatonin has no effect on tolerance to uncompensable heat stress in man. *Eur J Appl Physiol.* 2000;83(4), 336-343.

285. Skoner JM, Sigmon J, Larcom LL. Suppressed DNA repair capacity of peripheral lymphocytes in pregnant women. *Mol Cell Endocrinol.* 1995;108(1), 179-183.
286. Furness DLF, Dekker GA, Roberts CT. DNA damage and health in pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2011;89(2), 153-162.
287. Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta.* 2004;339(1), 1-9.
288. Tsai K, Hsu TG, Hsu KM, Cheng H, Liu TY, Hsu CF, et al. Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radic Biol Med.* 2001;31(11), 1465-1472.
289. Blair SN, Kohl HW, Barlow CE, Paffenbarger RS, Gibbons LW, Macera CA. Changes in physical fitness and all-cause mortality: a prospective study of healthy and unhealthy men. *Jama.* 1995;273(14), 1093-1098.
290. Kruk J, Aboul-Enein HY. Physical activity and cancer prevention: updating the evidence. The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Curr Cancer Ther Rev.* 2007;3(2), 81-95.
291. Hamman RF, Wing RR, Edelstein SL, Lachin JM, Bray GA, Delahanty L, et al. Effect of weight loss with lifestyle intervention on risk of diabetes. *Diabetes Care.* 2006;29(9), 2102-2107.
292. Barry VW, Baruth M, Beets MW, Durstine JL, Liu J, Blair SN. Fitness vs. fatness on all-cause mortality: a meta-analysis. *Prog Cardiovasc Dis.* 2014;56(4), 382-390.
293. Packer L, Cadenas E, Davies KJ. Free radicals and exercise: an introduction. *Free Radic Biol Med.* 2008;44(2), 123-125.
294. Wagner KH, Reichhold S, Hölzl C, Knasmüller S, Nics L, Meisel M, et al. Well-trained, healthy triathletes experience no adverse health risks regarding oxidative stress and DNA damage by participating in an ultra-endurance event. *Toxicology.* 2010;278(2), 211-216.
295. Jones DP. Redefining oxidative stress. *Antioxid Redox Signal.* 2006;8 (9-10), 1865-1879.
296. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2008;295,849-868.

297. Cobley JN, Margaritelis N V, Morton JP, Close GL, Nikolaidis MG, Malone JK. The basic chemistry of exercise-induced DNA oxidation: oxidative damage, redox signaling, and their interplay . *Front Physiol.* 2015;6.
298. Cadet J, Ravanat JL, TavernaPorro M, Menoni H, Angelov D. Oxidatively generated complex DNA damage: tandem and clustered lesions. *Cancer Lett.* 2012;327(1), 5-15.
299. Chatgililoglu C, D'Angelantonio M, Kciuk G, Bobrowski K. New insights into the reaction paths of hydroxyl radicals with 2'-deoxyguanosine. *Chem Res Toxicol.* 2011;24(12), 2200-2206.
300. Nikitaki Z, Hellweg CE, Georgakilas AG, Ravanat JL. Stress-induced DNA damage biomarkers: applications and limitations. *Front Chem.* 2015;3.
301. Ramirez DC, Gomez-Mejiba SE, Mason RP. Immuno-spin trapping analyses of DNA radicals. *Nat Protoc.* 2007;2(3), 512-522.
302. Davison GW. Exercise and Oxidative Damage in Nucleoid DNA Quantified Using Single Cell Gel Electrophoresis: Present and Future Application. *Front Physiol.* 2016;7: 249.
303. Gilmore TD. Introduction to NF- κ B: players, pathways, perspectives. *Oncogene.* 2006;25(51), 6680-6684.
304. Brasier AR. The NF- κ B regulatory network. *Cardiovasc Toxicol.* 2006;6(2), 111-130.
305. Morgan MJ, Liu ZG. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling. *Cell Res.* 2011;21(1), 103-115.
306. Lippi G, Buonocore R, Tarperi C, Montagnana M, Festa L, Danese E, et al. DNA injury is acutely enhanced in response to increasing bulks of aerobic physical exercise. *Clin Chim Acta.* 2016;146–151,460.
307. Neubauer O, Reichhold S, Nics L, Hoelzl C, Valentini J, Stadlmayr B, et al. Antioxidant responses to an acute ultra-endurance exercise: impact on DNA stability and indications for an increased need for nutritive antioxidants in the early recovery phase. *Br J Nutr.* 2010;104(8), 1129-1138.

308. Soares JP, A.I S, Silva AM, Almeida V, Matos M, Gaivão I, et al. Effects of physical exercise training in DNA damage and repair activity in humans with different genetic polymorphisms of hOGG1 (Ser326Cys): Physical exercise effects in hOGG1 Ser326Cys. *Cell Biochem Funct.* 2015;33:519-524.
309. Villaño D, Vilaplana C, Medina S, Cejuela-Anta R, Martínez-Sanz JM, Gil P, et al. Effect of elite physical exercise by triathletes on seven catabolites of DNA oxidation. *Free Radic Res.* 2015;49(8), 973-983.
310. Simonneaux V, Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters. *Pharmacol Rev.* 2003;55(2), 325-395.
311. Tan Reiter, R.J DX, Chen LD, Poeggeler B, Manchester LC, Barlow-Walden LR. Both physiological and pharmacological levels of melatonin reduce DNA adduct formation induced by the carcinogen safrole. *Carcinogenesis.* 1994;15(2), 215-218.
312. Mahal HS, Sharma HS, Mukherjee T. Antioxidant properties of melatonin: a pulse radiolysis study. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(5), 557-565.
313. Zhao F, Liu ZQ, Wu D. Antioxidative effect of melatonin on DNA and erythrocytes against free-radical-induced oxidation. *Chem Phys Lipids.* 2008;151(2), 77-84.
314. Sliwinski T, Rozej W, Morawiec-Bajda A, Morawiec Z, Reiter R, Blasiak J. Protective action of melatonin against oxidative DNA damage—chemical inactivation versus base-excision repair. *Mutat Res Toxicol Environ Mutagen.* 2007;634(1), 220-227.
315. Liu R, Fu A, Hoffman AE, Zheng T, Zhu Y. Melatonin enhances DNA repair capacity possibly by affecting genes involved in DNA damage responsive pathways. *BMC Cell Biol.* 2013;14(1), 1.
316. Instituto Internacional de la Melatonina [Internet]. Available from: <http://www.iimel.es/index.php/11-que-es-la-melatonina/46-la-melatonina-es-un-buen-antiinflamatorio>
317. Conconi F, Ferrari M, Ziglio PG, Droghetti P, Codeca L. Determination of the anaerobic threshold by a noninvasive field test in runners. *J Appl Physiol.* 1982;52(4), 869-873.
318. Hofmann P, Pokan R. Value of the application of the heart rate performance curve in sports. *Int J Sports Physiol Perform.* 2010;5(4), 437-447.

319. Brzycki M. Strength testing—predicting a one-rep max from reps-to-fatigue. *Journal of Physical Education. Recreat Danc.* 1993;64(1), 88-90.
320. Delavier F. Guía de los movimientos de musculación. Descripción anatómica. Barcelona: Paidotribo; 2007.
321. Ferguson B. ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription 9th Ed. Baltmor: The Journal of the Canadian Chiropractic Association; 2014.
322. Anderson B, Burke E. Scientific, medical and practical aspects of stretching. *Clin Sport Med.* 1991;10 (1): 63-86.
323. BOE BO del E. policia.es [Internet]. 2015. Available from: <https://www.boe.es/boe/dias/2015/05/12/pdfs/BOE-A-2015-5247.pdf>
324. Gore C, Norton K, Olds T, Whittingham N, Birchall K, Clough MB, et al. Accreditation in anthropometry: An Australian model. Sydney, NSW: University of New South: In K. Norton & T. Olds (Eds.), *Anthropometrica* (pp. 395–411). ; 1996.
325. Stewart A, Sutton L. *Body Composition in Sport, Exercise and Health.* Routledge. 2012;
326. Esparza F. *Manual de Cineantropometría, GREC.* GREC Fed Española Med Deport. 1993;
327. Dapcich V, G S-C, L R-B, Pérez- Rodrigo C, J A-B, Serra- Majem L. Guía de la alimentación saludable. In Madrid: Sociedad Española de Nutrición Comunitaria.; 2004. p. 20.
328. Arthur JR, Boyne R. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. *Life Sci.* 1985;36(16), 1569-1575.
329. Chu FF, Doroshov JA, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI . *J Biol Chem.* 1993;268(4), 2571-2576.
330. Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells . *Exp Cell Res.* 1988;175(1), 184-191.
331. Yoon J. Physiological profiles of elite senior wrestlers. *Sport Med.* 2002;32(4), 225-233.
332. Franchini E, Del Vecchio FB, Matsushigue KA, Artioli GG. Physiological profiles of elite judo athletes. . *Sport Med.* 2011;41(2), 147-166.

333. OMS. Organización Mundial de la Salud [Internet]. 2017. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
334. OMS. Serie de Informes Técnicos. Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2003.
335. Gallagher D, Heymsfield SB, Heo M, Jebb SA, Murgatroyd PR, Sakamoto Y. Healthy percentage body fat ranges: an approach for developing guidelines based on body mass index. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(3), 694-701.
336. Dawes JJ, Orr RM, Siekaniec CL, Vanderwoude AA, Pope R. Associations between anthropometric characteristics and physical performance in male law enforcement officers: a retrospective cohort study. *Ann Occup Env Med.* 2016;28, 10, 28:26.
337. Dawes J, Orr R, Elder C, Rockwell C. Association between body fatness and measures of muscular endurance among part-time swat officers. *J Aust Strength Cond.* 2014;22(4), 33-37.
338. Sanchez-Moreno M, Pareja-Blanco F, Diaz-Cueli D, Gonzalez-Badillo JJ. Determinant factors of pull-up performance in trained athletes. *J Sports Med Phys Fitness.* 2015;56(7-8), 825-833.
339. Crawley AA, Sherman RA, Crawley WR, Cosio-Lima LM. Physical fitness of police academy cadets: baseline characteristics and changes during a 16-week academy. *J Strength Cond Res.* 2016;30(5), 1416.
340. Martin SE, McLaughlin K, Noack B, Granados J, Joubert D, Green J, et al. Relationships between Fitness Assessments, Fitness Levels and Coronary Heart Disease Risk Markers in Police Officers. *Med Sci Sports Exerc.* 2016;48(5 Suppl 1), 435.
341. Shusko M, Benedetti L, Korre M, Eshleman EJ, Farioli A, Christophi CA, et al. Recruit fitness as a predictor of police academy graduation. *Occup Med (Chic Ill).* 2017;67(7), 555-561.
342. Roberts MA, O’dea J, Boyce A, Mannix ET. Fitness levels of firefighter recruits before and after a supervised exercise training program. *J Strength Cond Res.* 2002;16(2), 271-277.
343. Dirix A, Knuttgen HG, Titte K, Neumann G. Assessment of Physical and Functional Capacity. In: Special performance capacity The Olympic Book of Sports Medicine. Cambridge, Massachusetts: Blackwell Scientific Publications; 1988. p. 97–108.

344. Rosendal L, Langberg H, Skov-Jensen A, Kjaer M. Incidence of injury and physical performance adaptations during military training. *Clin J Sport Med*. 2003;13(3), 157-163.
345. Boyce RW, Perko MA, Jones GR, Hiatt AH, Boone EL. Physical fitness, absenteeism and workers' compensation in smoking and non-smoking police officers. . *Occup Med (Chic Ill)*. 2006;56(5), 353-356.
346. Bonneau J, Brown J. Physical ability, fitness and police work. . *J Clin Forensic Med*. 1995;2(3), 157-164.
347. Boyce R, Jones G, Llyoid C, Boone E. A longitudinal observation of police: Body composition changes over 12 years with gender and race comparisons. . *J Exerc Physiol Online*. 2008;11: 1–13.
348. Cocke C, Dawes J, Orr RM. The use of 2 conditioning programs and the fitness characteristics of police academy cadets. *J Athl Train*. 2016;51(11), 887-896.
349. Talanian JL, Galloway SD, Heigenhauser GJ, Bonen A, Spriet LL. Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *J Appl Physiol*. 2007;102(4), 1439-1447.
350. Gast KB, den Heijer M, Smit JW, Widya RL, Lamb HJ, de Roos A, et al. Individual contributions of visceral fat and total body fat to subclinical atherosclerosis: The NEO study. *Atherosclerosis*. 2015;241(2), 547-554.
351. Giannaki CD, Aphas G, Sakkis P, Hadjicharalambous M. Eight weeks of a combination of high intensity interval training and conventional training reduce visceral adiposity and improve physical fitness: a group-based intervention. *J Sport Med Phys fitness*. 2016;56(4), 483-490.
352. Gibson R, Eriksen R, Lamb K, McMeel Y, Vergnaud AC, Spear J, et al. Dietary assessment of British police force employees: a description of diet record coding procedures and cross-sectional evaluation of dietary energy intake reporting (The Airwave Health Monitoring Study). *BMJ Open*. 2017;7(4), e012927.
353. Burke LM. Fueling strategies to optimize performance: training high or training low? . *Scand J Med Sci Sports*. 2010;20(s2), 48-58.
354. Cochran AJ, Myslik F, MacInnis MJ, Percival ME, Bishop D, Tarnopolsky MA, et al. Manipulating carbohydrate availability between twice-daily sessions of high-intensity interval training over 2 weeks improves time-trial performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2015;25(5), 463-470.

355. Mettler S, Mitchell N, Tipton KD. Increased protein intake reduces lean body mass loss during weight loss in athletes. *Med Sci Sport Exerc.* 2010;42(2), 326-37.
356. La Bounty PM, Campbell BI, Wilson J, Galvan E, Berardi J, Kleiner SM, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: meal frequency. *J Int Soc Sports Nutr.* 2011;8(1), 4.
357. Burke LM, Cox GR, Cummings NK, Desbrow B. Guidelines for daily carbohydrate intake: do athletes achieve them? . *Sport Med.* 2001;31(4), 267-299.
358. Serrano MDM, Montero P, Cherkaoui M. Transición Nutricional en España durante la historia reciente. *Nutr Clínica y Dietética Hosp.* 2012;32(2), 55-64.
359. Ramage-Morin PL, Garriguet D. Nutritional risk among older Canadians. *Heal reports.* 2013;24(3), 1.
360. Peternelj TT, Coombes JS. Antioxidant supplementation during exercise training. *Sport Med.* 2011;41(12), 1043-1069.
361. Draeger CL, Naves A, Marques N, Baptistella AB, Carnauba RA, Paschoal V, et al. Controversies of antioxidant vitamins supplementation in exercise: ergogenic or ergolytic effects in humans? *J Int Soc Sport Nutr.* 2014;11(1), 4.
362. Sarkis KS, de Medeiros Pinheiro M, Szejnfeld VL, Martini LA. High bone density and bone health. *Endocrinol y Nutr (English Ed.* 2012;59(3), 207-214.
363. Nattiv A, Loucks AB, Manore MM, Sanborn CF, Sundgot-Borgen J, Warren MP. The female athlete triad special communications: position stand., 39(10), 1867-82. *Med Science Sport Exerc.* 2007;39(10), 1867-82.
364. Lukaski HC. Low dietary zinc decreases erythrocyte carbonic anhydrase activities and impairs cardiorespiratory function in men during exercise. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(5), 1045-1051.
365. Tack C, Shorthouse F, Kass L. The Physiological Mechanisms of Effect of Vitamins and Amino Acids on Tendon and Muscle Healing: A Systematic Review. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2017;1–44.
366. Yan Y, Drenowatz C, Hand GA, Shook RP, Hurley TG, Hebert JR, et al. Is nutrient intake associated with physical activity levels in healthy young adults? *Public Health Nutr.* 2016;19(11), 1983-1989.

367. Westerterp KR. Physical activity, food intake, and body weight regulation: insights from doubly labeled water studies. *Nutr Rev.* 2010;68(3), 148-154.
368. Ruiz Moreno E. Aplicación de las nuevas tecnologías para la estimación de la ingesta de energía y macronutrientes en la población española: Estudio ANIBES. Madrid: UNIVERSIDAD CEU SAN PABLO; 2017.
369. Varela-Moreiras G, Avila JM, Cuadrado C, Del Pozo S, Ruiz E, Moreiras O. Evaluation of food consumption and dietary patterns in Spain by the Food Consumption Survey: updated information. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64, S37–S43.
370. Del Pozo S, García V, Cuadrado C, . E R, Valero T, Ávila JM, et al. Valoración Nutricional de la Dieta Española de acuerdo al Panel de Consumo Alimentario. Madrid, España: Fundación Española de la Nutrición (FEN); 2012.
371. Wiewelhove T, Raeder C, Meyer T, Kellmann M, Pfeiffer M, Ferrauti A. Effect of Repeated Active Recovery During a High-Intensity Interval-Training Shock Microcycle on Markers of Fatigue. *Int J Sports Physiol Perform.* 2016;11(8), 1060-1066.
372. Witek K, Ścisłowska J, Turowski D, Lerczak K, Lewandowska-Pachecka S, Pokrywka A. Total bilirubin in athletes, determination of reference range. *Biol Sport.* 2017;34(1), 45.
373. Lippi G, Brocco G, Salvagno GL, Montagnana M, Dima F, Guidi GC. High-workload endurance training may increase serum ischemia-modified albumin concentrations. *Clin Chem Lab Med.* 2005;43(7), 741-744.
374. Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, Philippou A, Chatzinikolaou A, Draganidis D, et al. Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol.* 2013;61, 171–177.
375. Costello RB, Lentino C V, Boyd CC, O'Connell ML, Crawford CC, Sprengel ML, et al. The effectiveness of melatonin for promoting healthy sleep: a rapid evidence assessment of the literature. *Nutr J.* 2014;13(1), 106.
376. Galley HF, Lowes DA, Allen L, Cameron G, Aucott LS, Webster NR. Melatonin as a potential therapy for sepsis: a phase I dose escalation study and an ex vivo whole blood model under conditions of sepsis. *J Pineal Res.* 2014;56(4), 427-438.

377. Leonardo-Mendonça RC, Martinez-Nicolas A, de Teresa Galván C, Ocaña-Wilhelmi J, Rusanova I, Guerra-Hernández E, et al. The benefits of four weeks of melatonin treatment on circadian patterns in resistance-trained athletes. *Chronobiol Int.* 2015;32(8), 1125-1134.
378. Slattery K, Bentley D, Coutts AJ. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. *Sport Med.* 2015;45(4), 453-471.
379. Bicer M, Akil M, Avunduk MC, Kilic M, Mogulkoc R, Baltaci AK. Interactive effects of melatonin, exercise and diabetes on liver glycogen levels. *Endokrynol Pol.* 2011;62(3), 252-251.
380. Breitbach S, Tug S, Simon P. Circulating cell-free DNA. *Sport Med.* 2012;42(7), 565-586.
381. Fogarty MC, Hughes CM, Burke G, Brown JC, Davison GW. Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. *Br J Nutr.* 2013;109(02).
382. Sardas S, Omurtag GZ, Monteiro IFC, Beyoglu D, Tozan-Becerem A, Topsakal N, et al. Assessment of DNA damage and protective role of vitamin E supplements after exhaustive exercise by comet assay in athletes. *J Clin Toxicol.* 2012;S5:001.
383. Petrović J, Stanić D, Dmitrašinović G, Plećaš-Solarović B, Ignjatović S, Batinić B, et al. Magnesium supplementation diminishes peripheral blood lymphocyte DNA oxidative damage in athletes and sedentary young man. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016: 2019643.

Capítulo 8

ANEXOS

Manuel Ortiz-Franco, Elena Planells, Bartholome Quintero, Dario Acuña-Castroviejo, Iryna Rusanova, Germaine Escames, Jorge Molina-López

www.thieme.com

Effect of Melatonin Supplementation on Antioxidant Status and DNA Damage in High Intensity Trained Athletes

**DOI 10.1055/s-0043-119881
IJSM 2017; 38: 1117–1125**

This electronic reprint is provided for non-commercial and personal use only: this reprint may be forwarded to individual colleagues or may be used on the author's homepage. This reprint is not provided for distribution in repositories, including social and scientific networks and platforms.

Publishing House and Copyright:

© 2017 by
Georg Thieme Verlag KG
Rüdigerstraße 14
70469 Stuttgart
ISSN 0172-4622

Any further use
only by permission
of the Publishing House



Effect of Melatonin Supplementation on Antioxidant Status and DNA Damage in High Intensity Trained Athletes

Authors

Manuel Ortiz-Franco^{1, 2}, Elena Planells^{1, 2}, Bartholomé Quintero³, Dario Acuña-Castroviejo^{4, 5}, Iryna Rusanova^{4, 5}, Germaine Escames^{4, 5}, Jorge Molina-López^{1, 2}

Affiliations

- 1 Department of Physiology, Faculty of Pharmacy, Campus de la Cartuja, University of Granada, Granada, Spain
- 2 Institute of Nutrition and Food Technology, Biomedical Research Center, Health Campus, Avd. del Conocimiento, Granada, Spain
- 3 Department of Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Campus de la Cartuja, University of Granada, Granada, Spain
- 4 Department of Physiology, Faculty of Medicine, Campus de la Cartuja, University of Granada, Granada, Spain
- 5 Institute of Biotechnology, Biomedical Research Center, Health Campus, Avd. del Conocimiento, Granada, Spain

Key words

Melatonin, antioxidant status, DNA damage, comet assay, high-intensity interval training

accepted 07.09.2017

Bibliography

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0043-119881>

Published online: 17.11.2017

Int J Sports Med 2017; 38: 1117–1125

© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York

ISSN 0172-4622

Correspondence

Prof. Jorge Molina López
Department of Physiology
Institute of Nutrition and Food Technology

Biomedical Research Center,
Health Campus, Avd. del Conocimiento
18071 Granada, Spain
Tel.: +34/958/241000 20313,
jrgmolinalopez@ugr.es

ABSTRACT

The aim of the study was to evaluate the effect of melatonin supplementation on antioxidant capacity and DNA damage in high intensity interval training (HIIT) athletes. A 2-week randomised, double-blinded, placebo-controlled trial with two groups was conducted. Placebo (PG) and melatonin (MG) (20 mg/d) athletes were monitored over a two-week period of HIIT and strength training. The total antioxidant capacity (TAC) and the glutathione peroxidase (GPx) and superoxide dismutase (SOD) activities were analysed in blood samples. DNA damage was measured in isolated lymphocytes by comet assay prior to and immediately after exercise. The supplementation increased plasma melatonin levels in the melatonin-treated group ($p < 0.05$) after two weeks of intervention. Analysis of antioxidant status indicated higher ($p < 0.05$) TAC and GPx in MG than PG post-intervention. No differences were found in SOD enzyme activity. DNA damage was diminished in MG ($p < 0.05$) compared to PG in post-training conditions. Antioxidant status was associated with DNA damage ($r = -0.679$; $p = 0.047$) in the melatonin-treated athletes. The present study suggest that melatonin supplementation improves antioxidant status and may prove to have beneficial effects preventing DNA damage induced by high intensity training.

Introduction

Nutritional strategies with antioxidants have been proposed to protect the body against oxidative stress [28], preventing damage to a wide range of cell structures including lipids, proteins and DNA [29]. Melatonin, a major product of the pineal gland, is an indoleamine with an extensive range of antioxidant properties as well as free radical scavenging. Melatonin also has an indirect antioxidant stimulatory capacity which regulates the activity of antioxidant enzymes [1, 31].

Regular physical activity has been shown to promote beneficial effects such as decreasing oxidative stress and inflammation and improving immune function [16, 25, 33]. In fact, physical activity

may protect against DNA damage [30]. However, several mechanisms have been proposed to explain the progressive cell and tissue damage promoted by high intensity training (HIIT), prolonged and strenuous exercise [2, 11, 21, 38, 39]. In normal conditions, an equilibrium is established between energy demands and physiological response to exercise. However, during HIIT, the raised production of reactive oxygen species (ROS) may not be counteracted by antioxidant defence systems, thus causing oxidative stress [4, 19]. The formation of ROS in amounts that exceed the capacity of the antioxidant defence system (SOD and GPx together comprise the first line of defence against exercise-induced free radical production) may result in DNA damage [36, 37].

Although the function of melatonin in exercise has yet to be well-established, it is necessary to recognise that regular physical activity may have an impact on plasma melatonin levels [15]. The effects of melatonin supplementation on exercise may be inversely associated with oxidative stress during intense exercise in humans [15]. In addition, the administration of melatonin immediately prior to HIIT was recently proven to reverse oxidative stress and improve lipid metabolism in football players [23]. Recently, Borges et al. [7] demonstrated that melatonin might reverse inflammation in skeletal muscle and in oxidative stress caused by strenuous exercise in rats. This suggests that melatonin may help to improve athletes' recovery after exhaustive exercise. Nevertheless, it is important to note that the mechanisms underlying melatonin-induced changes in DNA damage associated with the antioxidant status in HIIT are still unknown.

For this purpose, this study evaluates the effect of melatonin supplementation on the antioxidant profile by measuring the activity of SOD and GPx enzymes, the total antioxidant status, and the DNA damage in high intensity trained athletes. We hypothesised that compared with placebo athletes, HIIT and melatonin-treated athletes would exhibit: 1) increased antioxidant enzyme activity (GPx and SOD) and enhanced TAC due to melatonin antioxidant properties, 2) diminished DNA damage, due to an improved antioxidant exercise response.

Methods

Participants

Fourteen male healthy athletes (20–37 years old) were enrolled in this study from September 2016 to December 2016. A 2-week randomised, double-blinded, placebo-controlled trial with two groups was conducted (► **Fig. 1**). Before inclusion in the study, all athletes were thoroughly monitored by a physician and subjected to a personal interview. After initial screening and assessment, participants were randomly classified into two groups: a melatonin-treated group (MG) and a placebo group (PG). MG received an oral administration of 1 daily capsule containing 20 mg of melatonin (Acofarma, Barcelona, Spain) supplied to each individual before exercise during the controlled study period. PG received an oral administration of 1 daily capsule containing lactose supplied to each individual using the same methodology followed by MG. Inclusion criteria were: the ability to pass a recruitment medical examination consisting of a clinical examination and a medical history registration; to be a non-smoker; to not demonstrate lactose intolerance; to not be on a medication regimen; to follow a regular sleep schedule (11:00–08:00 ± 1 h) during the study. The Regional Ethics Committee of the University of Granada approved the study. All procedures performed were in accordance with the ethical standards of the International Journal of Sports Medicine as described in Harriss and Atkinson [20]. Written informed consent was acquired from each participant which authorised the use of their information for the present study.

Anthropometrical assessment

Height and total body weight were measured according to the international standards for anthropometric assessment. In order to eval-

uate height, a stadiometer (Seca, model 213) with a scale range of 0.10 cm was used. Body composition measurements were taken by multi-frequency bioelectrical impedance (Tanita MC-980 Body Composition Analyser MA Multi-frequency Segmental, Barcelona, Spain). Participants were informed in advance of the required conditions prior to the measurement: no alcohol less than 24 h before the measurement, no vigorous exercise less than 12 h prior to the measurement, no food or drink less than 3 h prior to the measurement, and no urination immediately before the measurement. All measurements were taken simultaneously during the morning. Weight and body mass index measurements were calculated and the compartmental analysis measured fat mass, fat free mass and muscle mass.

Nutritional assessment

Nutritional assessment was quantitatively performed using a fourteen-day dietary record questionnaire. Recall accuracy was recorded with a set of photographs of prepared foods and dishes that are frequently consumed in Spain. The Nutriber® software program was used in order to adjust food intakes to the absolute and percentage values of the recommended consumption of each nutrient intended for individual athletes. Macronutrient and micronutrient intakes were compared with the recommended daily allowances for healthy individuals (RDA) [13, 24].

Maximal exercise test

A maximal exercise test was performed on the treadmill to determine the maximal oxygen uptake (VO_{2max}). The protocol consisted of a 6-min warm-up of horizontal walking at a speed corresponding to 70–80% of the age-predicted maximal heart rate, followed by grade increases of 2.5% every 2 min until exhaustion. Peak oxygen consumption (VO_{2peak}) was considered to represent maximal oxygen consumption (VO_{2max}) when at least two of the following criteria were attained: a) reaching (± 10 beats/minute) age-predicted max heart rate ($220 - \text{age}$); and b) a rating of perceived exertion of at least 18 on the Borg Rate of Perceived Exertion scale. Participants were encouraged vigorously in order to make maximal effort. The maximal value for heart rate (HR) was achieved at the end of the test (HR_{max}). A submaximal strength protocol was performed in order to determine the initial training loads. An indirect method was used for estimating the strength of training at 1 repetition maximal (RM) [9].

Physical exercise training

The training program was carried out combining strength and HIIT over a 2-week period. An adaptation-training period was performed after the athletes' selection procedure. The athletes followed the exercise training over 2 weeks, with six sessions per week, lasting 60–75 min per day. Each session was divided into three components: 20–25 min of HIIT exercise, 35–40 min of strength exercise (exercises performed were: bench press, leg press, high pulley rowing, military press, quadriceps extensions and leg curls), and 10 min of stretching and cool down. The HIIT component was divided into 7 periods of 2 min at high intensity above the anaerobic threshold (90% VO_{2max}) and interspersed with 6 periods of 1 min at moderate intensity within the aerobic threshold (70% VO_{2max}). All training sessions were performed with a Polar heart rate monitor (RS300X). The strength exercises consisted of 3 sets of 10 repeti-

tions at 70–80% of 1RM. More than 75% of assiduity was obligatory to assure the physical exercise training effects.

Blood sample collection

Blood samples (10 mL) were taken from each subject at baseline (between the hours of 08:30 am and 10:00 am during fasting) as well as before, immediately after, and 24 h after the physical exercise training. Blood samples were collected in EDTA test tubes to prevent coagulation. Blood drawn was centrifuged to separate plasma and red blood cells and stored at -80 °C. The same methodology was carried out after intervention. Biochemical and haematological profiles were conducted to determine the health state of each individual. Biochemical parameters performed at hospital laboratories included glucose, creatinine, urea, uric acid, triglycerides, total cholesterol, total proteins, transferrin, pre-albumin and albumin.

Melatonin assay

The plasma sample (500 µL) was mixed with 1 mL of trichloromethane for melatonin determination. The mixture was vortexed for 1 min at 1400 rpm and then centrifuged for 1 min at 5000xg. The aqueous phase was removed and the organic phase was washed three times with 500 µL of a sodium bicarbonate 50 mM solution, pH 10.25. Finally, 500 µL of the sample system was placed in a Speed Vac for 33 min (default vacuum pressure) and the dry extracts obtained were stored at -80 °C until the melatonin assay was performed. For the assay, dried extracts were resuspended in 70 µL of mobile phase consisting of 100 mM sodium phosphate, 0.1 mM ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt, and 25% acetonitrile. Melatonin was measured using high-resolution liquid chromatography (Shimadzu Europe GmbH, Germany) with a 150 × 4.5 mm Waters Sunfire C18 column (Waters Chromatography, Barcelona, Spain). After column

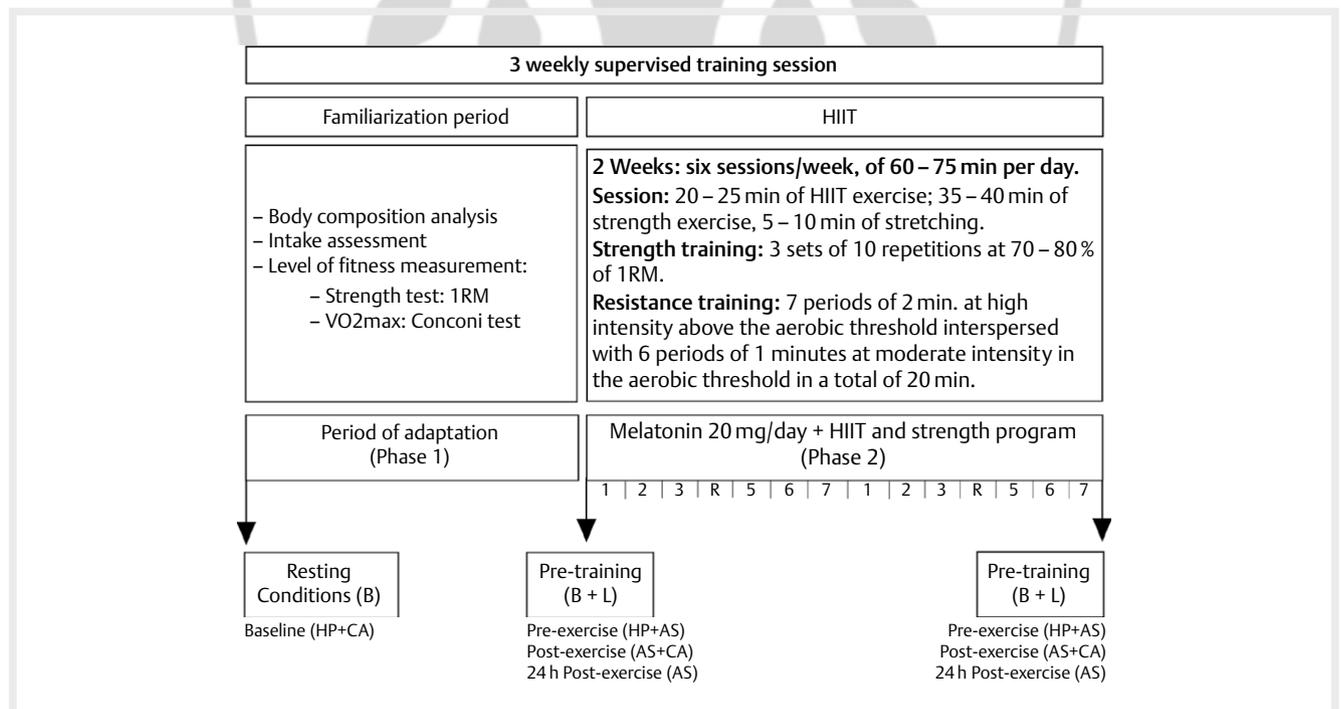
stabilisation with the mobile phase, melatonin samples (40 µL) were injected into the chromatographic system at a flow rate of 1 mL/minute added with 5-fluorotryptamine as an internal standard. Melatonin fluorescence was measured in a fluorescence detector (Shimadzu RF-10A XL) with an excitation and emission wave of 285 nm and 345 nm, respectively. The retention time was 8.9 min. A standard curve for melatonin was constructed and the melatonin concentration in samples was found to be within the peak area. Melatonin concentrations are expressed in pg/mL.

Oxidative stress

Antioxidant status was measured by TAC, GPx and SOD parameters with commercial kinetic colorimetric methods. TAC determination in plasma samples was carried out evaluating the reduction power of Cu(II) from the action of antioxidants present in samples (TAC kit, Jaica, Shizuoka, Japan). Variability was tested by repeatedly conducting five samples and including those with a variability of lower than 5% [40]. GPx activity was determined in erythrocyte by using the Bioxytech GPx-340™ kit (OxisResearch™), and an indirect colorimetric assay of the c-GPx activity [10]. SOD activity was determined in plasma by using the Randox Ransod kit (RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom). This method employs xanthine and xanthine oxidase to generate superoxide radicals that react with 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride to form a red formazan dye [3].

Lymphocyte isolation

Blood samples were obtained by centrifugation of a heparinised blood sample at 800 rpm for 20 min at 4 °C. Lymphocytes were prepared using density gradient centrifugation. Adding equal parts of phosphate buffered saline (PBS), the blood samples were diluted.



► **Fig. 1** Study design. AS = Antioxidant status; B = Blood extraction; CA = Comet assay; HP = Haematological parameters; L = Lymphocyte isolation; R = Recovery.

► **Table 1** Sample characteristics.

Parameters	Placebo Group	Melatonin Group
Anthropometry		
Age (years)	28.43 (4.39)	26.00 (6.03)
Height (cm)	176.9 (3.89)	179.9 (6.04)
Weight (kg)	78.39 (6.68)	79.96 (7.29)
BMI (kg/m ²)	25.06 (2.20)	24.70 (1.98)
Fat Mass (kg)	13.21 (3.91)	14.79 (3.60)
Fat mass (%)	16.70 (3.77)	18.27 (3.39)
Fat Free Mass (kg)	65.17 (4.34)	65.17 (4.41)
Fat Free Mass (%)	83.32 (3.76)	81.71 (3.39)
Muscle Mass (kg)	61.96 (4.13)	61.94 (4.21)
Intake		
Energy (kcal/day)	2752.0 (704.6) [91.73 (23.49)]	2549.6 (761.5) [84.99 (25.38)]
Energy (kj/day)	11498.9 (2942.3) [85.84 (19.21)]	10653.7 (3182.2) [77.71 (21.47)]
Protein (g/day)	129.0 (66.40) [276.2 (40.29)]	117.3 (23.97) [276.2 (37.37)]
Fat (g/day)	115.5 (27.89) [98.66 (22.64)]	107.3 (41.94) [89.46 (33.8)]
CHO (g/day)	308.9 (127.1) [69.44 (26.5)]	290.3 (111.4) [63.81 (22.84)]
Iron (mg/day)	18.09 (6.73) [180.9 (67.37)]	14.96 (8.60) [149.6 (86.07)]
Copper (mg/day)	1.43 (0.22) [130.3 (20.72)]	1.37 (0.29) [124.6 (26.75)]
Zinc (mg/day)	8.52 (3.55) [56.82 (23.72)]	13.60 (10.12) [90.70 (67.46)]
Selenium (µg/day)	92.01 (50.99) [131.4 (72.85)]	100.2 (40.24) [143.2 (57.48)]
Vitamin C (mg/day)	117.9 (70.87) [196.6 (118.1)]	122.7 (37.00) [204.6 (61.67)]
Retinol (µg/day)	1384.2 (389.7) [138.4 (38.97)]	1389.9 (721.1) [138.9 (72.11)]
Vitamin E (mg/day)	18.78 (9.76) [156.5 (81.40)]	14.49 (3.75) [120.8 (31.29)]
Physical fitness status		
VO ₂ max (ml · kg · min)	58.27 (6.02)	56.32 (7.48)
Values represent the mean (standard deviation) and [percentage adequacy compared with DRAs (standard deviation)]. Values of energy and macronutrient and micronutrient intake were compared with the dietary reference intakes for healthy population [13, 23]. Statistical significant differences in t-student test for inter-group comparison: * (p) - statistical differences (p < 0.05) within groups, analysed by Wilcoxon test; CHO = carbohydrates; VO ₂ max = maximal oxygen uptake		

Peripheral blood lymphocytes were isolated by density gradient centrifugation on Lymphoprep™ (Axis-Shield) and then centrifuged at 1800 rpm for 30 min at room temperature. Subsequently, the lymphocyte band between the sample layer and the Lymphoprep™ solution was removed. The lymphocyte slurry was then washed twice with PBS and centrifuged for 5 min at 1800 rpm and 4 °C. The cellular precipitate of the lymphocytes sample was stored at -80 °C for comet assay measurement.

Comet assay

The comet test was conducted as described by Singh et al. [34]. Lymphocytes isolated from heparinised blood samples (100 µL) were suspended in 0.7% low melting agarose in phosphate buffer saline (PBS) and pipetted onto microscope slides pre-coated with a layer of 1% normal melting agarose. The agarose with the cell suspension was allowed to set on the pre-coated slides at 4 °C for 10 min. Subsequently, another top layer of 0.7% low melting agarose was added and allowed to set at 4 °C for 10 min. The slides were then immersed in lysis solution (1% sodium n-lauryl-sarcosinate, 2.5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris HCl pH 10, 1% Triton X-100 and 10% dimethyl sulfoxide for 1 h at 4 °C in the dark, in order to lyse the embedded cells and to permit DNA unfolding. After incubation in lysis solution, slides were exposed to alkaline buffer (1 mM EDTA, 300 mM NaOH buffer, pH > 13) for 20 min; in this condition RNA is completely degraded. The slides were subjected to 20 min of electrophoresis at 25 V in the same alkaline buffer and finally washed with 0.4 M Tris HCl buffer (pH 7.5) to neutralise excess alkali and to remove detergents before staining with ethidium bromide (2 µg/mL). Experiments were performed three times and data (at least 150 scores per sample) are the mean values plus/minus the standard error of the mean (SEM), scored using the Comet Assay IV image-analysis system (Perceptive Instruments, UK) with a fluorescence microscope (Zeiss Axioscope, Germany). Tail intensity (percent DNA in the tail) was chosen as the measurement of DNA damage.

Statistical analysis

Data were analysed using SPSS 20.0 for Windows (SPSS Inc. Chicago, IL, USA) and expressed as the mean values and standard deviation for descriptive analysis. The standardising of the variables was carried out using the Shapiro-Wilk test with Lilliefors correction. The homoscedasticity was determined through the Levene test. After verifying that the majority variables were normal, the data were analysed using the t-test (before and after the intervention). Wilcoxon and Mann-Whitney tests were performed for non normal variables. Associations between quantitative variables were determined using Spearman correlation analysis. The level of significance was set at 0.05.

Results

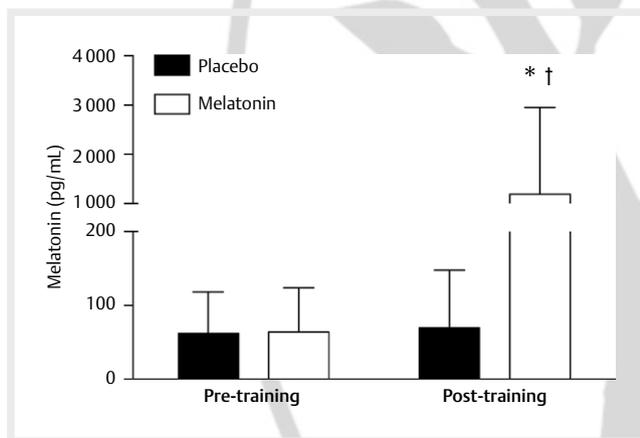
Anthropometric characteristics, energy, macronutrient and micronutrient intake and physical fitness of the study participants are presented in ► **Table 1**. The results show no differences between groups. All nutritional parameters were in accordance to the reference values for healthy population. ► **Table 2** reports the biochemical data compared to the reference values for healthy people. All athletes were within the reference values. ► **Fig. 2** represents the melatonin status in plasma pre- and post-intervention. Athletes supplemented with melatonin reported significantly higher ($p < 0.05$) levels of melatonin in plasma with 1194.0 ± 666.8 pg/mL in comparison with athletes given the placebo after intervention with 64.00 ± 22.67 pg/mL and melatonin athletes before intervention with 69.57 ± 29.56 pg/mL ($p < 0.05$).

► **Fig. 3** reports the enzymatic activities and antioxidant status measured before and after intervention with HIIT and melatonin. No significant differences were found in TAC plasma levels and

► **Table 2** Biochemical data.

Parameters	Placebo Group	Melatonin Group	Reference
Glucose (mg/dL)	82.43 (8.96)	80.57 (5.19)	70 - 110
Urea (mg/dL)	42.14 (14.36)	34.43 (7.76)	10 - 40
Creatinine (mg/dL)	1.04 (0.09)	0.94 (0.13)	0.5 - 1.3
Uric Acid (mg/dL)	6.09 (1.26)	5.91 (0.68)	3.0 - 7.0
Total Cholesterol (mg/dL)	171.00 (28.02)	164.30 (28.36)	110 - 200
HDL (mg/dL)	54.67 (7.63)	52.86 (8.99)	40 - 60
LDL (mg/dL)	98.50 (23.93)	98.43 (16.86)	70 - 150
Triglycerides (mg/dL)	73.71 (35.88)	64.57 (31.06)	50 - 200
Total Bilirubin (mg/dL)	1.31 (1.18)	1.00 (0.37)	0 - 1.0
Iron (µg/dL)	124.90 (48.14)	111.40 (29.19)	60 - 180
Albumin (g/dL)	4.80 (0.20)	4.77 (0.18)	3.0 - 5.0
Prealbumin (mg/dL)	25.83 (0.67)	27.15 (2.67)	19.5 - 35.8
Transferrin (mg/dL)	239.30 (11.37)	267.30 (31.83)	170 - 370
Ferritin (ng/mL)	134.30 (54.90)	114.40 (68.14)	20 - 250
Red Blood Cells (x10 ⁶ /µL)	4.96 (0.23)	5.07 (0.28)	♂ 4.8 - 6.2
Haemoglobin (g/dL)	15.10 (0.81)	15.37 (0.65)	♂ 13.5 - 16
Haematocrit (%)	44.20 (2.09)	45.74 (2.00)	♂ 40 - 54

Values represent the mean (standard deviation) and [percentage adequacy compared with DRAs (standard deviation)]. Statistical significant differences in t-student test for inter-group comparison: * (p) – statistical differences (p<0.05) within groups, analysed by Wilcoxon test



► **Fig. 2** Plasma melatonin. Values represent the mean and standard deviation. * (p) - statistical differences (p<0.05 within groups, analysed by Wilcoxon test; †(p) - statistical differences (p<0.05 between each supplemented group in pre-training and post-training evaluation, analysed by Mann–Whitney test.

endogenous antioxidant erythrocyte enzymes (GPx and SOD) at resting conditions and pre-intervention. Concentrations of TAC in plasma significantly increased (p<0.05) in MG with 2829.9±200.3 µmol/L and PG 24 h after exercise post-intervention with 2260.0±124.3 µmol/L in comparison to pre-intervention at the same measured point. Regarding melatonin supplementation, MG also demonstrated higher concentrations (p<0.05) of TAC in plasma (2390.6±151.4 µmol/L) 24 h post-exercise after intervention (► **Fig. 3a**). GPx enzyme activity significantly decreased (p<0.05) in MG after exercise with 209.5±10.38 mU/mL and 24 h after exercise with 183.2±5.35 mU/mL compared to pre exercise values (239.9±6.82 mU/mL) in the post-intervention period. PG

only showed a significant decrease (p<0.05) in GPx after exercise compared to pre exercise values in the post-intervention period. Moreover, inter-groups comparison after exercise in the post-intervention period showed significantly lower (p<0.05) GPx enzyme activity in PG (171.3±12.42 mU/mL) than in MG (209.5±10.38 mU/mL) (► **Fig. 3b**). The results showed no differences in SOD enzyme activity (► **Fig. 3c**).

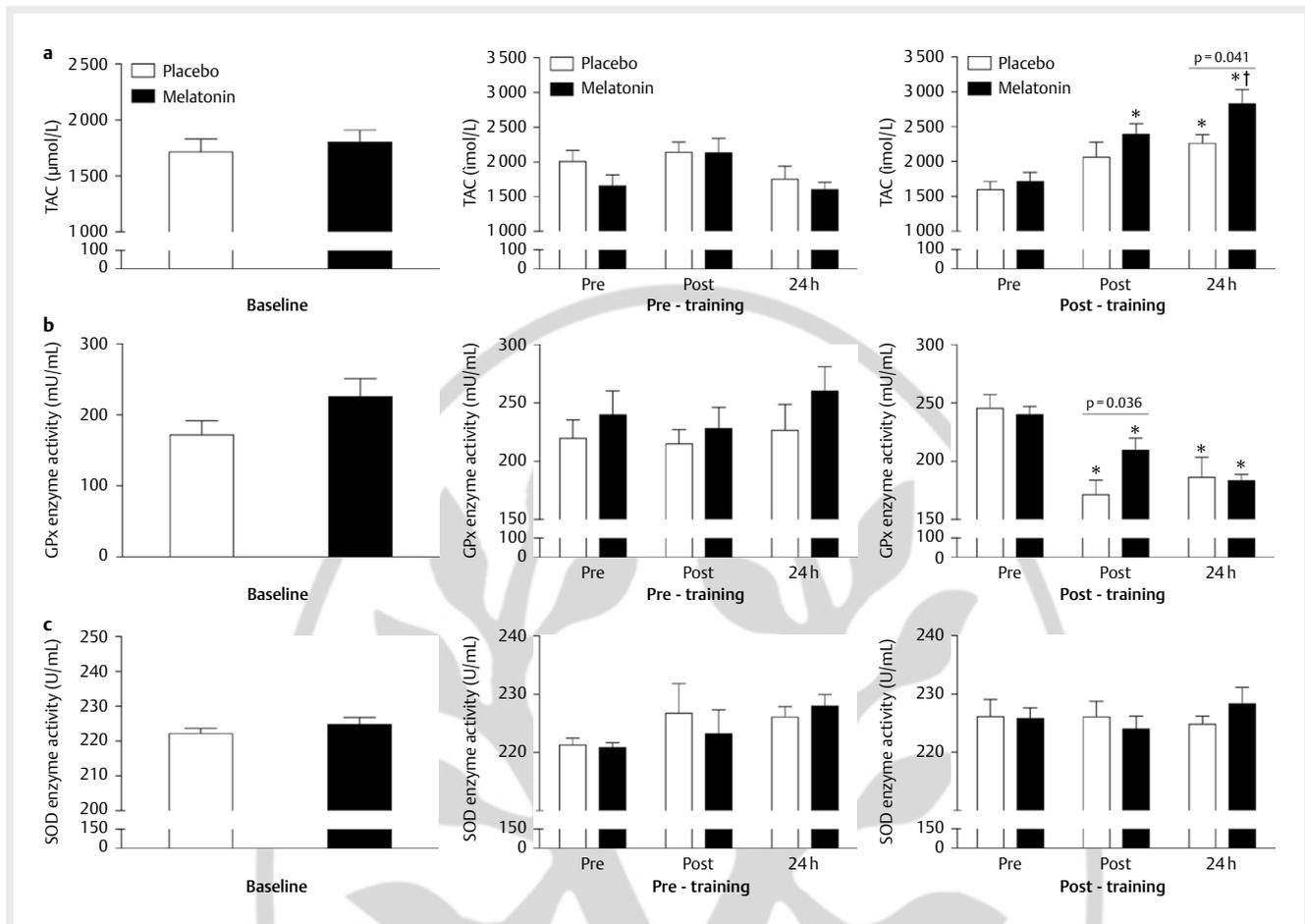
► **Fig. 4** reports the DNA damage expressed as percentage of tail intensity and determined by comet assay measured in post-exercise in pre-training and post-exercise in post-training. MG presented significantly less (p<0.05) DNA damage (37.55±19.68%) than PG athletes (58.50±18.98%) after intervention. These results together with the significant increase (p<0.05) in DNA damage in PG compared to resting conditions confirm a higher level of DNA damage in this group of athletes.

► **Fig. 5** reports the correlation coefficients predicting DNA damage based on the antioxidant status in MG after intervention. Negative associations were found for DNA damage and antioxidant status in MG after intervention (r = -0.679; p = 0.047) where less DNA damage was associated with a better antioxidant status.

Discussion

The main finding of the present study was the significant increase of the antioxidant system in the melatonin-treated athletes through a significant increase in TAC levels and GPx activity in comparison with the PG. Moreover, a significant reduction in DNA damage after exercise has been observed only in MG in the post-training period, where an inverse relationship between TAC and DNA damage was established.

It is important to emphasize that the melatonin dosage used in the present study aimed to cover its role as antioxidant. It is believed that the oral dose melatonin required for its antioxidant ac-



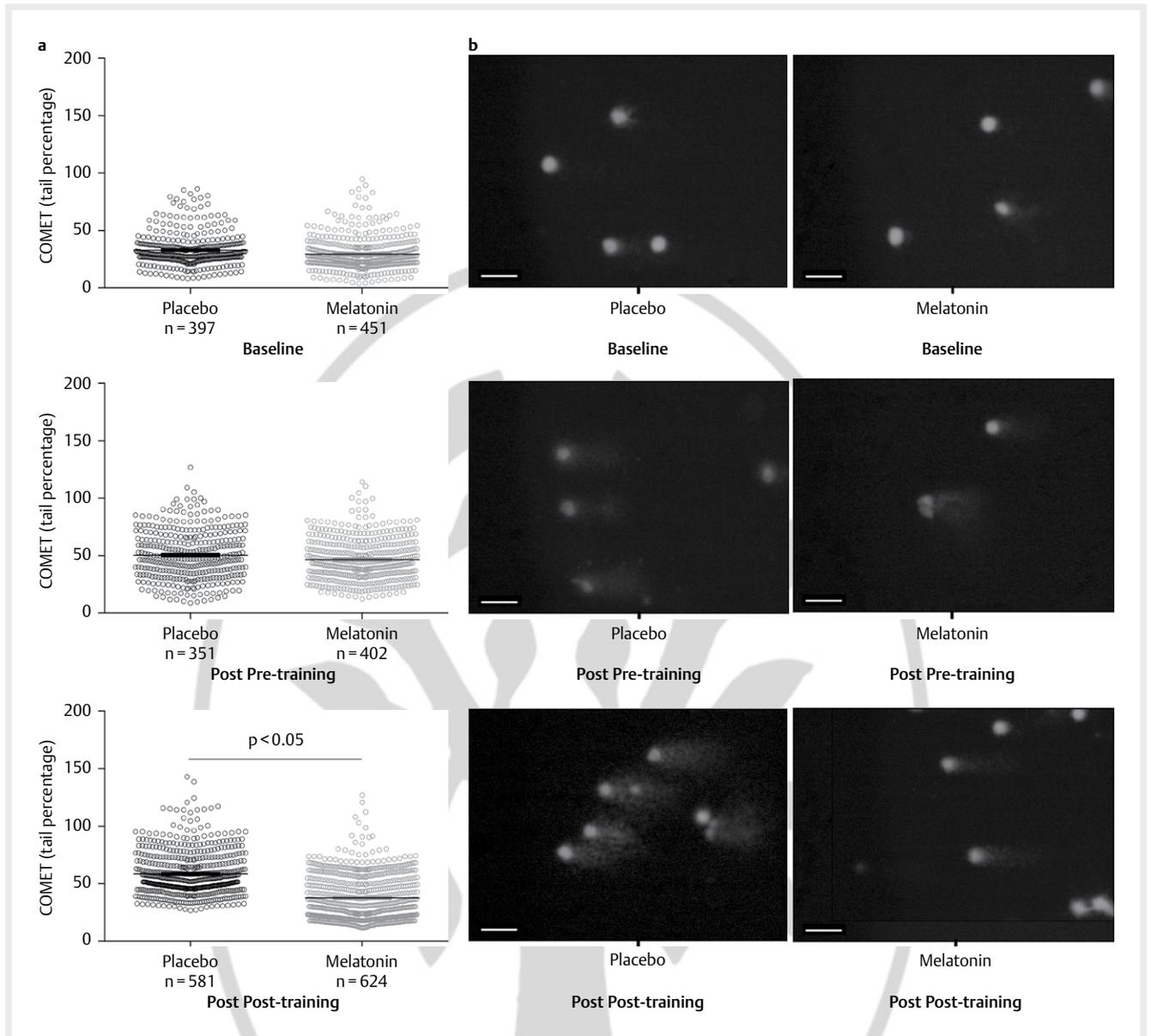
► **Fig. 3** GPx and SOD enzymatic activities in erythrocyte and plasma respectively, and TAC plasma concentrations in placebo (PG) and melatonin (MG) groups measured at baseline, pre-exercise, post-exercise, and 24 h after exercise, without (Pre-training) or with (Post-training) melatonin treatment. **a** TAC plasma levels (μmol/L); **b** Kinetic profiles of erythrocyte GPx activity (mU/mL); **c** Kinetic profiles of erythrocyte SOD activity (U/mL). Values represent the mean and standard deviation. * (p) - statistical differences ($p < 0.05$) within time points: Pre vs Post and Pre vs 24 h analysed by Wilcoxon test; †(p) - statistical differences ($p < 0.05$ within time points: Post vs 24 h analysed by Mann-Whitney test.

tion should be considerably higher than that given for modulation of the circadian cycle [12]. However, there is currently no consensus on the dosage used in oral melatonin supplementation to cover that function. Recent studies, showed that doses of melatonin in a range of 20 to 100 mg/d were well tolerated in both healthy volunteers [18] and athletes [22], without presenting any problem in safety and without clinically relevant changes in any physiological and biochemical measure. In our study clinical-nutritional and haematological parameters were found within normal range and unmodified by melatonin supplementation. We expected that the oral administration of 20 mg/d of melatonin would result in beneficial effects on increased antioxidant status and reducing DNA damage in athletes.

Exercise is known to have an impact on many of the body's homeostatic systems, including the stress response. In this sense, accumulating evidence suggests that exercise can acutely modify melatonin levels [15]. Although several studies showed that plasma melatonin levels increase after exercise, a decrease or no change in melatonin secretion after exercise has also been disclosed [15]. As we expected, the plasma melatonin concentration increased significantly after melatonin administration in the MG compared to the PG ($P < 0.05$). Ini-

tially, there were no differences in plasma melatonin concentration between groups performing high-intensity physical exercise before supplementation (► **Fig. 2**). From the present findings, it is clear that exercise did not influence melatonin levels due the lack of differences observed in PG during the study period.

A well balanced antioxidant defence system is indispensable for the prevention of exhaustive exercise damage. Acute exercise-induced elevation of oxidative stress may be justified by several mechanisms [11, 23, 26]. Taking into account that ROS could respond positively to the training adaptations [35], we evaluated the antioxidant status changes by a HIIT and strength program over a short period of time avoiding the beneficial effects as a consequence of the exercise. However, it has been shown that one HIIT session has a larger impact on oxidative stress [6]. In this study, an important finding is that the activities of primary antioxidant enzymes such as GPx increased significantly in the melatonin-treated athletes just after exercise in the post-training period (► **Fig. 3**). Contrary to GPx, no changes were found for SOD enzyme activity. The mechanism of control may be mediated by the increased GPx activity indicating that MG presented a better response than HIIT. Therefore, the melatonin supplement may be beneficial due to its antioxidant action.

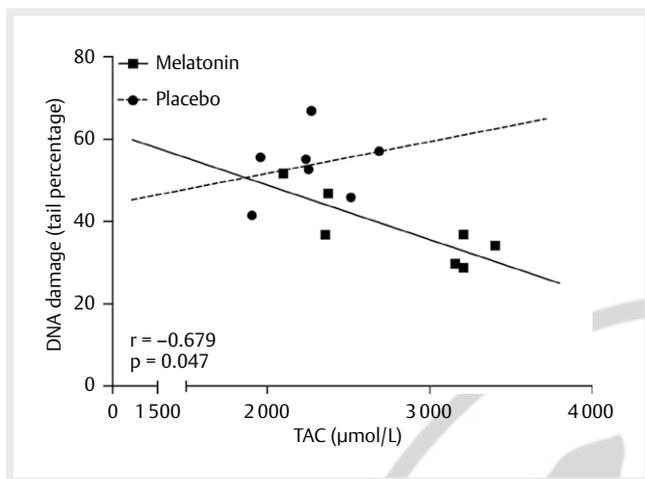


► **Fig. 4** **a** DNA damage quantification expressed in percentage of tail intensity measured in post-exercise in pre-training and post-exercise in post-training. Data are reported as mean in individual lymphocytes count. * (p) - statistical differences ($p < 0.05$) within groups analysed by t-student test. **b** Single-cell gel electrophoresis (comet assay) showed detectable comet tails when visualised under a fluorescent microscope, indicative of DNA damage. Scale bars: 20 μ m.

In accordance with our results, a recent study supports the fact that melatonin treatment in an animal model may reverse skeletal muscle inflammation and oxidative stress induced by strenuous exercise [7]. In our study, these effects could help to improve recovery after exhaustive exercise as a compensatory mechanism to increase the protection from damage induced by free radicals. This is confirmed by the significant changes in GPx enzyme activity between groups in the post-training period described above.

Several studies [26] have reported an increase of GPx activity together with TAC in melatonin-supplemented athletes after physical exercise. At the same time, TAC levels showed significant differences between groups in the post-training. This leads us to believe that the significant increase of TAC in MG 24 h after exercise might be influ-

enced by supplementation. Our study points out that a melatonin supplement could have a positive effect on the recovery of the athletes, increasing both the GPx enzyme activity in MG and the levels of TAC after exercise. Several authors [15] have demonstrated that the presence of melatonin in cell cultures is sufficient to increase mRNA for antioxidant enzymes 24 h later, suggesting a possible role for melatonin in the regulation of antioxidant enzymes [31]. We suggest that the significant increase in TAC in the post-training period observed in PG and MG could be attributed to exercise-promoted changes within the oxidative systems involved in the adaptive process to a training stimulus (35). Recently [6], it has been determined that a positive impact of a single HIIT session in TAC could explain the changes observed in response to HIIT. Also, several authors



► **Fig. 5** The relationship between total antioxidant capacity and DNA damage after a high intensity interval training (HIIT) and strength program in melatonin treated and non-treated athletes Spearman's correlation coefficient ($r = -0.679$; $p = 0.047$).

proved that melatonin administration prevented an increase in associated free radical production after acute swimming exercise [5] and exhaustive exercise in animals [7]. Then, the greater increase in TAC plasma changes 24 h after exercise in MG (64% in MG vs 40% in PG compared to pre-exercise values in the same period) may be a response of the melatonin supplementation promoting higher recovery capacity in well-trained athletes against ROS production.

High intensity exercise can increase the production of reactive oxygen and nitrogen free radical species, which may cause a number of attacks on cellular integrity, including DNA modification [14]. Therefore, antioxidant supplementation could take on a defence role against DNA damage. Comet assay is used in evaluating changes in DNA integrity such as strand breaks, alkali-labile sites, DNA cross-linking, and incomplete excision repair [8]. The comet test has a widespread use because of its sensitivity, simplicity, and reliability [14]. In our study, the level of DNA damage expressed as the number of cells with migrated DNA was significantly increased post-exercise in both groups after supplementation. This indicates that intense exercise exhibits negative effects on DNA damage. Several authors [17] have demonstrated that exhaustive exercise on a treadmill is sufficient to induce DNA strand breaks 24 h post-exercise. Others [32] have confirmed that exhaustive exercise near VO_{2max} can either damage DNA strands immediately or 24 h after exercise. Nevertheless, the type of exercise and the time at which the measurement is taken based on the conducted studies are still controversial concerning DNA damage. To the best of our knowledge, the majority of studies have shown increased levels of DNA migration immediately after exercise and 24 h after exercise. However, different protocols, a reduced group of participants, and differences in the training status in these studies pose limitations.

We have demonstrated that the level of DNA damage was significantly diminished after exercise in melatonin-treated athletes compared to PG in the post-training, suggesting that supplementation could preserve DNA against intense exercise (► **Fig. 4**). Therefore, this study provides further data that prove that the cor-

relation found between the antioxidant status and DNA damage in the melatonin-treated group may explain the association between higher TAC and less DNA damage with melatonin supplementation. Evidence indicates that supplementation with other nutrients showed protective effects in reducing the level of H_2O_2 -induced PBL DNA damage in physically active individuals [27]. The results from the comet assay combined with our results on antioxidant status suggest that the decrease in spontaneous DNA damage observed after training is most likely ascribable to melatonin supplementation.

Conclusion

In summary, results of this study point to the conclusion that high intensity exercise produces oxidative stress and DNA damage and that an appropriate supplementation with melatonin may prove to have beneficial effects, thus improving the antioxidant status and preventing DNA damage induced from strenuous exercise. Future research assessing these same variables, in addition to DNA damage, over longer training cycles should be performed. This would provide the data necessary to better understand the link between oxidative stress and DNA damage.

Author Contributions

E.P., D.A-C, G.E., and J.M-L. conceived and designed the experiments; M.O-F, B.Q, I.R and J.M-L performed the experiments, recruited athletes, performed the exercise protocol, and performed data collection and analysis and manuscript preparation; E.P. and J.M-L. analyzed the data; E.P., D.A-C, G.E. y I.R. contributed reagents/materials/analysis tools.

Acknowledgements

This work was supported by the Spanish Ministry of Education (grant number AP2009-3701) and by FIS Project PI10/1993 from the Carlos III Health Institute. The authors thank Ann Smith for translating the manuscript into English.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- [1] Acuña-Castroviejo D, Escames G, Venegas C, Díaz-Casado ME, Lima-Cabello E, López LC, Rosales-Corral S, Tan D-X, Reiter RJ. Extrapineal melatonin: sources, regulation, and potential functions. *Cell Mol Life Sci* 2014; 71: 2997–3025
- [2] Alessio HM, Hagerman AE, Fulkerson BK, Ambrose J, Rice RE, Wiley RL. Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med Sci Sports Exerc* 2000; 32: 1576–1581
- [3] Arthur JR, Boyne R. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in neutrophils from selenium deficient and copper deficient cattle. *Life Sci* 1985; 36: 1569–1575

- [4] Bailey DM, Lawrenson L, McEneny J, Young IS, James PE, Jackson SK, Henry RR, Mathieu-Costello O, McCord JM, Richardson RS. Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radic Res* 2007; 41: 182–190
- [5] Bicer M, Akil M, Avunduk MC, Kilic M, Mogulkoc R, Baltaci AK. Interactive effects of melatonin, exercise and diabetes on liver glycogen levels. *Pol J Endocrinol* 2011; 62: 252–256
- [6] Bogdanis GC, Stavrinou P, Fatouros IG, Philippou A, Chatzinikolaou A, Draganidis D, Ermidis G, Maridaki M. Short-term high-intensity interval exercise training attenuates oxidative stress responses and improves antioxidant status in healthy humans. *Food Chem Toxicol* 2013; 61: 171–177
- [7] da S Borges L, Dermargos A, da S Junior EP, Weimann E, Lambertucci RH, Hatanaka E. Melatonin decreases muscular oxidative stress and inflammation induced by strenuous exercise and stimulates growth factor synthesis. *J Pineal Res* 2015; 58: 166–172
- [8] Breitbach S, Tug S, Simon P. Circulating Cell-Free DNA. *Sports Med* 2012; 42: 565–586
- [9] Brzycki M. Strength Testing—Predicting a One-Rep Max from Reps-to-Fatigue. *J Phys Educ Recreat Dance* 1993; 64: 88–90
- [10] Chu FF, Doroshov JH, Esworthy RS. Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J Biol Chem* 1993; 268: 2571–2576
- [11] Conti V, Russomanno G, Corbi G, Guerra G, Grasso C, Filippelli W, Paribello V, Ferrara N, Filippelli A. Aerobic training workload affects human endothelial cells redox homeostasis. *Med Sci Sports Exerc* 2013; 45: 644–653
- [12] Costello RB, Lentino CV, Boyd CC, O'Connell ML, Crawford CC, Sprengel ML, Deuster PA. The effectiveness of melatonin for promoting healthy sleep: a rapid evidence assessment of the literature. *Nutr J* 2014 13 Available from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4273450/>
- [13] Cuervo M, Corbalán M, Baladía E, Cabrerizo L, Formiguera X, Iglesias C, Lorenzo H, Polanco I, Quiles J, Romero de Avila MD, Russolillo G, Villarino A, Alfredo Martínez J. Comparison of dietary reference intakes (DRI) between different countries of the European Union, The United States and the World Health Organization. *Nutr Hosp* 2009; 24: 384–414
- [14] Davison GW. Exercise and oxidative damage in nucleoid DNA quantified using single cell gel electrophoresis: Present and future application. *Front Physiol* 2016; 7: 249
- [15] Escames G, Ozturk G, Baño-Otálora B, Pozo MJ, Madrid JA, Reiter RJ, Serrano E, Concepción M, Acuña-Castroviejo D. Exercise and melatonin in humans: reciprocal benefits. *J Pineal Res* 2012; 52: 1–11
- [16] Falone S, Mirabilio A, Passerini A, Izzicupo P, Cacchio M, Gallina S, Baldassarre AD, Baldassarre AD, Amicarelli F. Aerobic performance and antioxidant protection in runners. *Int J Sports Med* 2009; 30: 782–788
- [17] Fogarty MC, Hughes CM, Burke G, Brown JC, Davison GW. Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. *Br J Nutr* 2013; 109: 293–301
- [18] Galley HF, Lowes DA, Allen L, Cameron G, Aucott LS, Webster NR. Melatonin as a potential therapy for sepsis: A phase I dose escalation study and an ex vivo whole blood model under conditions of sepsis. *J Pineal Res* 2014; 56: 427–438
- [19] Goto C, Higashi Y, Kimura M, Noma K, Hara K, Nakagawa K, Kawamura M, Chayama K, Yoshizumi M, Nara I. Effect of different intensities of exercise on endothelium-dependent vasodilation in humans: role of endothelium-dependent nitric oxide and oxidative stress. *Circulation* 2003; 108: 530–535
- [20] Harriss DJ, Atkinson G. Ethical Standards in Sport and Exercise Science Research: 2016 Update. *Int J Sports Med* 2015; 36: 1121–1124
- [21] Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. The effect of an increased training volume on oxidative stress. *Int J Sports Med* 2014; 35: 8–13
- [22] Leonardo-Mendonça RC, Martinez-Nicolas A, de Teresa Galván C, Ocaña-Wilhelmi J, Rusanova I, Guerra-Hernández E, Escames G, Acuña-Castroviejo D. The benefits of four weeks of melatonin treatment on circadian patterns in resistance-trained athletes. *Chronobiol Int* 2015; 32: 1125–1134
- [23] Maldonado MD, Manfredi M, Ribas-Serna J, Garcia-Moreno H, Calvo JR. Melatonin administered immediately before an intense exercise reverses oxidative stress, improves immunological defenses and lipid metabolism in football players. *Physiol Behav* 2012; 105: 1099–1103
- [24] Mataix J. Food composition tables. 5th edition University of Granada; 2011
- [25] McTiernan A. Mechanisms linking physical activity with cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 205–211
- [26] Ochoa JJ, Díaz-Castro J, Kajarabille N, García C, Guisado IM, De Teresa C, Guisado R. Melatonin supplementation ameliorates oxidative stress and inflammatory signaling induced by strenuous exercise in adult human males. *J Pineal Res* 2011; 51: 373–380
- [27] Petrović J, Stanić D, Dmitrašinović G, Plečaš-Solarović B, Ignjatović S, Batinić B, Popović D, Pešić V. Magnesium supplementation diminishes peripheral blood lymphocyte DNA oxidative damage in athletes and sedentary young man. *Oxid Med Cell Longev* 2016; 2016: 2019643
- [28] Pingitore A, Lima GPP, Mastorci F, Quinones A, Iervasi G, Vassalle C. Exercise and oxidative stress: Potential effects of antioxidant dietary strategies in sports. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif* 2015; 31: 916–922
- [29] Poljsak B. Strategies for reducing or preventing the generation of oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* 2011; 2011: 194586
- [30] Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez F, Goto S. Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Eur J Physiol* 2002; 445: 273–278
- [31] Rodriguez C, Mayo JC, Sainz RM, Antolin I, Herrera F, Martin V, Reiter RJ. Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin. *J Pineal Res* 2004; 36: 1–9
- [32] Sardas S, Omurtag GZ, Monteiro IFC, Beyoglu D, Tozan-Beceran A, Topsakal N, Cotuk HB. Assessment of DNA damage and protective role of vitamin E supplements after exhaustive exercise by comet assay in athletes. *J Clin Toxicol* 2012; 55: 001
- [33] Shanely RA, Nieman DC, Henson DA, Jin F, Knab AM, Sha W. Inflammation and oxidative stress are lower in physically fit and active adults. *Scand J Med Sci Sports* 2013; 23: 215–223
- [34] Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175: 184–191
- [35] Slattery K, Bentley D, Coutts AJ. The role of oxidative, inflammatory and neuroendocrinological systems during exercise stress in athletes: implications of antioxidant supplementation on physiological adaptation during intensified physical training. *Sports Med Auckl NZ* 2015; 45: 453–471
- [36] Soares JP, Mota MP, Duarte JA, Collins A, Gaivão I. Age-related increases in human lymphocyte DNA damage: is there a role of aerobic fitness? *Cell Biochem Funct* 2013; 31: 743–748
- [37] Soares JP, Silva AI, Silva AM, Almeida V, Matos M, Gaivão I, Mota MP. Effects of physical exercise training in DNA damage and repair activity in humans with different genetic polymorphisms of hOGG1 (Ser-326Cys): Physical exercise effects in hOGG1 Ser326Cys. *Cell Biochem Funct* 2015; 33: 519–524
- [38] Tanimura Y, Shimizu K, Tanabe K, Kono I, Ajsaka R. Effects of three consecutive days exercise on lymphocyte DNA damage in young men. *Eur J Appl Physiol* 2010; 110: 307–314
- [39] Tanskanen M, Atalay M, Uusitalo A. Altered oxidative stress in overtrained athletes. *J Sports Sci* 2010; 28: 309–317
- [40] Vassalle C, Petrozzi L, Botto N, Andreassi MG, Zucchelli GC. Oxidative stress and its association with coronary artery disease and different atherogenic risk factors. *J Intern Med* 2004; 256: 308–315