



# UNIVERSIDAD DE GRANADA

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA. FACULTAD DE FARMACIA**

**Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos “José Matáix Verdú”**

**Programa de Doctorado en Nutrición y Ciencias de los Alimentos**

**“EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN DE CORTA DURACIÓN CON  
UBIQUINOL SOBRE EL PROCESO DE REMODELADO ÓSEO Y OTROS  
PARÁMETROS HORMONALES Y NERVIOSOS ASOCIADOS A UN  
EJERCICIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDAD”**

**Memoria para aspirar al Grado de Doctor presentada por:**

**Pablo Javier Mira Rufino  
Granada, 2021**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: Pablo Javier Mira Rufino  
ISBN: 978-84-1306-923-4  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/69431>





**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

**Dr. D. JULIO JOSÉ OCHOA HERRERA, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD ADSCRITO AL  
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA;**

**INFORMA:**

**Como Director de la Tesis y hasta donde mi conocimiento alcanza, la memoria de tesis doctoral titulada: EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN DE CORTA DURACIÓN CON UBIQUINOL SOBRE EL PROCESO DE REMODELADO ÓSEO Y OTROS PARÁMETROS HORMONALES Y NERVIOSOS ASOCIADOS A UN EJERCICIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDAD y presentado por el Licenciado D. Pablo Javier Mira Rufino, ha sido realizada bajo mi dirección y se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones. Así mismo, el trabajo reúne todos los requisitos de contenido, teóricos y metodológicos para ser admitido a trámite, a su lectura y defensa pública, con el fin de obtener el referido Título de Doctor, y por lo tanto AUTORIZO la presentación de la referida Tesis para su defensa y mantenimiento de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 99/2011, de 28 de enero.**

Fdo.: Julio José Ochoa Herrera



**UNIVERSIDAD  
DE GRANADA**

**Dr. D. JAVIER DÍAZ CASTRO, PROFESOR TITULAR DE UNIVERSIDAD ADSCRITO AL  
DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA;**

**INFORMA:**

Como Director de la Tesis y hasta donde mi conocimiento alcanza, la memoria de tesis doctoral titulada: **EFFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN DE CORTA DURACIÓN CON UBIQUINOL SOBRE EL PROCESO DE REMODELADO ÓSEO Y OTROS PARÁMETROS HORMONALES Y NERVIOSOS ASOCIADOS A UN EJERCICIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDAD** y presentado por el Licenciado D. Pablo Javier Mira Rufino, ha sido realizada bajo mi dirección y se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones. Así mismo, el trabajo reúne todos los requisitos de contenido, teóricos y metodológicos para ser admitido a trámite, a su lectura y defensa pública, con el fin de obtener el referido Título de Doctor, y por lo tanto **AUTORIZO** la presentación de la referida Tesis para su defensa y mantenimiento de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 99/2011, de 28 de enero.

Fdo.: Javier Díaz Castro



*A mis padres y mi hermano*

*“La modestia siempre ha sido inseparable del verdadero mérito”*

Benito Pérez Galdós (*De Oñate a la Granja. Episodios Nacionales*)





## AGRADECIMIENTOS

---

Este trabajo no hubiera sido posible sin la colaboración y el apoyo de no pocas personas. En primer lugar y, como no puede ser de otra manera, expresar mi más sincera y profunda gratitud a mis directores de tesis Julio y Javier, los cuales han sido mi inspiración y mi guía. Su profunda entrega en este trabajo, su exigencia constante y su confianza en mí han sido esenciales para que esta tesis haya visto la luz. Ellos saben que han sido muchos los obstáculos que se han interpuesto en este arduo pero emocionante camino y por este motivo, precisamente, llego a la meta más fortalecido y más sabio. Gracias a los dos y a todo el equipo que ha formado parte de esta investigación.

Gracias a todos los voluntarios del Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada que han dedicado su tiempo y esfuerzo desinteresadamente a este proyecto.

Deseo también agradecer todo el apoyo y el cariño que he recibido por parte de la familia Galdo Fuentes. Tanto Ángel como Conchita han supuesto para mí un modelo a seguir. Sin duda han dejado en mí la impronta del trabajo bien hecho, la entrega a los demás y la fe.

Gracias a mis padres, por apoyarme siempre, por haberme cuidado y querido y por haberme dado la vida. A vosotros os dedico esta tesis.

Y finalmente, gracias a Dios por ser mi luz y mi guía.



*"La sabiduría fue creada antes de cualquier cosa, la inteligencia que todo lo dispone viene de más lejos que el principio del tiempo"*

*Sirácides (Eclesiástico), 1*

# ÍNDICE GENERAL

---

RESUMEN	XVII
LISTADO DE ABREVIATURAS	XXI
ÍNDICE DE TABLAS	XXVII
ÍNDICE DE FIGURAS	XXIX

## BLOQUE I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

---

<b>1. Generalidades del ejercicio físico</b>	<b>35</b>
1.1. Aclaraciones conceptuales sobre el ejercicio	35
1.1.1. Ejercicio moderado y regular	36
1.1.2. Ejercicio extenuante	37
1.2. Adaptaciones fisiológicas y beneficios del ejercicio moderado y regular	39
1.2.1. Adaptaciones fisiológicas	39
1.2.2. Beneficios del ejercicio moderado y regular	42
1.3. Daño causado por el ejercicio extenuante	43
<b>2. Ejercicio, turnover óseo y metabolismo energético</b>	<b>45</b>
2.1. Generalidades del hueso humano	45
2.2. Generalidades del turnover óseo	47
2.2.1. Células implicadas en el turnover óseo	47
2.2.1.1 Diferenciación osteoblastos/osteoclastos	54
2.2.2. Fases del proceso de remodelado óseo	56
2.2.3 Equilibrio formación/resorción	60
2.3. Efectos del ejercicio físico sobre el turnover óseo y el metabolismo energético	61
2.3.1. Factores hormonales y nerviosos que afectan al proceso de remodelado óseo y al metabolismo energético y que se pueden ver afectados por el ejercicio	67
2.3.2. Estrés oxidativo e inflamación asociado al ejercicio físico extenuante y su efecto sobre el proceso de remodelado	95
<b>3. Coenzima Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) y ejercicio</b>	<b>101</b>
3.1. Generalidades de la CoQ <sub>10</sub>	103
3.2.- Ubiquinona vs Ubiquinol	108
3.3. CoQ <sub>10</sub> como suplemento durante la realización de ejercicio físico	110
3.4. Efectos de la CoQ <sub>10</sub> sobre el remodelado óseo y el metabolismo energético	118

## BLOQUE II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

---

<b>4. Justificación</b>	<b>125</b>
<b>5. Objetivos</b>	<b>127</b>

## BLOQUE III. MATERIAL Y MÉTODOS

---

<b>6. Material y métodos</b>	<b>131</b>
6.1. Diseño metodológico	131
6.1.1. Tipo de estudio	131
6.1.2. Muestra poblacional	131
6.1.3. Selección de muestra	132
6.2. Diseño experimental	134
6.2.1. Reconocimiento inicial	135
6.2.2. Valoración nutricional y actividad física	136

6.2.3. Análisis de impedancia bioeléctrica	137
6.2.4. Protocolo de suplementación	138
6.2.5. Protocolo de ejercicio físico	138
6.3. Analítica realizada	141
6.3.1. Extracción y preparación de muestras sanguíneas	141
6.3.2. Determinación de la concentración plasmática de ACTH, PTH, OC, OPN, OPG, SOST, leptina e insulina	142
6.3.3. Fosfatasa Alcalina (ALP)	143
6.3.4. Adrenalina y Noradrenalina	143
6.3.5. Cortisol	144
6.3.6. Coactivador de receptor y activador por proliferador de peroxisoma 1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )	144
6.4. Tratamiento estadístico	145
<b>BLOQUE IV. RESULTADOS</b>	<b>147</b>
<b>7. Descripción poblacional</b>	<b>149</b>
7.1. Características generales de la población objeto de estudio	149
7.2. Evaluación de las encuestas nutricionales y de actividad física realizadas y de la impedancia bioeléctrica	149
<b>8. Biomarcadores óseos: ACTH, PTH, OC, OPG, SOST, OPN, ALP</b>	<b>153</b>
8.1. Adrenocorticotropina (ACTH)	153
8.2. Parathormona (PTH)	154
8.3. Osteocalcina (OC)	155
8.4. Osteoprotegerina (OPG)	156
8.5. Esclerostina (SOST)	157
8.6. Osteopontina (OPN)	158
8.7. Fosfatasa Alcalina (ALP)	159
<b>9. Otros factores hormonales y nerviosos relacionados con el remodelado óseo y el metabolismo energético</b>	<b>161</b>
9.1. Insulina	161
9.2. Leptina	162
9.3. Cortisol	163
9.4. Adrenalina	164
9.5. Noradrenalina	165
9.6. Proteína 1 $\alpha$ coactivadora del receptor y activado por el proliferador de peroxisomas (PGC-1 $\alpha$ )	166
<b>BLOQUE V. DISCUSIÓN</b>	<b>167</b>
<b>BLOQUE VI. CONCLUSIONES</b>	<b>183</b>
<b>BLOQUE VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>188</b>

<b>ANEXOS</b>	<b>231</b>
ANEXO I	233
ANEXO II	235
ANEXO III	237
ANEXO IV	245
ANEXO V	249

# RESUMEN

---



Las diferentes intensidades del ejercicio provocan multitud de impactos en el organismo. Numerosas investigaciones muestran el efecto beneficioso del ejercicio, observándose efectos positivos como la reducción del riesgo de infarto de miocardio, de obesidad, diabetes y cáncer, entre otras patologías. No obstante, el ejercicio de alta intensidad puede tener efectos negativos, los cuales abarcan desde tendinopatías, respuestas inflamatorias acompañadas de estrés oxidativo y disfunción mitocondrial, efectos adversos en el sistema inmunitario, etc.

Uno de los tejidos que se ve fuertemente influenciado por el ejercicio es el hueso, afectándose de manera marcada el proceso de remodelado óseo. El efecto del ejercicio sobre el turnover óseo se puede dar tanto directa como indirectamente, involucrando tanto vías metabólicas endocrinas como nerviosas.

El proceso de remodelado óseo implica la intervención de diferentes tipos de células como son los osteoclastos, osteoblastos y osteocitos, y está regido por un proceso complejo compuesto de varias fases. En este proceso de remodelación ósea intervienen diversas vías de regulación con una acción más o menos directa, como es el sistema regulador RANK/RANKL/OPG, encargado de la diferenciación y activación de los osteoblastos y osteoclastos, y de hormonas como la osteocalcina, osteopontina, esclerostina, parathormona, adrenocorticotropina, cortisol, leptina, noradrenalina, etc.

Como el proceso de remodelado óseo es constante, implica una gran demanda energética, lo cual significa la existencia de un vínculo entre el tejido óseo, el metabolismo energético y el sistema nervioso simpático. Esta interrelación supone la interacción de hormonas propias del proceso de remodelado óseo, como la osteocalcina, con otras procedentes del tejido adiposo, como la leptina, la cual afecta al metabolismo de la glucosa, ácidos grasos, secreción de insulina y adiponectina, y demás factores nerviosos como la noradrenalina y/o adrenalina. Este vínculo fisiológico demuestra que el hueso no sólo es un tejido utilizado como soporte para los músculos y órganos, sino que va más allá, ya que su papel de regulador endocrino modula diferentes rutas metabólicas como la glucosa, el apetito y las funciones musculares, entre otras.

Por todo lo descrito anteriormente, es evidente el efecto que puede tener el ejercicio en el proceso de remodelado óseo y en el propio metabolismo.

Entre los diversos factores que pueden afectar al proceso de remodelado óseo y que se ven intensificados durante el ejercicio de alta intensidad es la producción de radicales libres. Las ERO (especies reactivas de oxígeno) pueden afectar negativamente el turnover óseo

debido a un aumento de la resorción a consecuencia de la actividad y proliferación de los osteoclastos por diferentes rutas. Asimismo, se ha observado que el uso de suplementos nutricionales con actividad antioxidante puede dar lugar a efectos beneficiosos sobre estas alteraciones óseas asociadas al estrés oxidativo. Una de estas moléculas estudiadas y usadas en el ejercicio físico intenso es la Coenzima Q<sub>10</sub>. La CoQ<sub>10</sub> ha mostrado efectos sobre el proceso de remodelado óseo y, además, efectos positivos sobre el estrés oxidativo asociado al ejercicio físico de alta intensidad.

La CoQ<sub>10</sub> es un componente de la cadena de transporte de electrones mitocondrial y por lo tanto de gran importancia en la obtención de energía vía aeróbica, pero además se le atribuye un papel antioxidante y antiinflamatorio, estimulador del metabolismo de las grasas y de la actividad del Sistema Nervioso Autónomo, entre otros. Esta molécula se puede encontrar de forma oxidada (ubiquinona) o reducida (ubiquinol). La forma reducida es la forma activa y diversos estudios muestran que la suplementación en esta isoforma presenta una mayor biodisponibilidad. Además, se ha observado que su uso como suplemento presenta un efecto antioxidante y antiinflamatorio en el ejercicio físico, reduce marcadores de daño muscular y puede afectar al rendimiento físico.

Sin embargo, los estudios que muestran el efecto de la suplementación con Coenzima Q<sub>10</sub>, especialmente en su forma reducida, sobre el proceso de remodelado óseo durante un ejercicio de alta intensidad son inexistentes.

En base a lo expuesto anteriormente, hemos planteado el presente estudio de cara a evaluar el **efecto de una suplementación de corta duración con ubiquinol sobre diversos biomarcadores óseos y otros factores hormonales y nerviosos que afectan al turnover óseo y al metabolismo energético asociados a un ejercicio intenso en sujetos sanos entrenados.**

Para realizar este experimento se utilizó una muestra de 100 varones sanos pertenecientes al cuerpo de bomberos de Granada cuya actividad profesional implicaba un alto grado de actividad física. Esta muestra fue dividida en dos grupos de 50 individuos cada uno, siendo el grupo control el grupo al que se administró el placebo, y el grupo experimental el grupo al que se le administró ubiquinol. El grupo experimental fue suplementado con 200 mg/día de ubiquinol (dos cápsulas de 100 mg diarias suministradas por Kaneka Corporation, Osaka, Japón) durante dos semanas.

Se realizaron dos sesiones idénticas de ejercicio consistentes en dos series de un circuito compuesto por 10 ejercicios de musculación, con un descanso de cinco minutos entre series y de 24 horas entre sesiones. En cada ejercicio se debía de realizar el número máximo posible de repeticiones durante 20" y con una carga mínima comprendida entre un 60-70% de 1 RM (repetición máxima). Se dispuso de 40" de recuperación entre cada ejercicio y el esfuerzo era de tipo anaeróbico-aeróbico.

Se tomaron muestras sanguíneas previas al inicio de la suplementación (T1), posteriores a la suplementación (2 semanas) y previas a la realización de la primera sesión de ejercicios (T2), posteriores a la primera sesión de ejercicio (T3), tras el descanso de 24 horas y previo a la realización de la segunda sesión de ejercicios (T4) y, finalmente, tras la realización de la segunda sesión de ejercicios (T5).

Los marcadores óseos analizados fueron la adrenocorticotropina (ACTH), parathormona (PTH), osteocalcina (OCN), osteoprotegenina (OPG), esclerostina (SOST), osteopontina (OPN) y fosfatasa alcalina. También se analizaron otros factores hormonales y nerviosos que afectan tanto al proceso óseo como al metabolismo energético como son: la insulina, leptina, adrenalina, noradrenalina, cortisol y PGC-1 $\alpha$ .

Los resultados mostraron que la suplementación con ubiquinol potenció los efectos propios del ejercicio sobre los biomarcadores de formación ósea y el metabolismo energético. El ejercicio físico intenso realizado ha mostrado un claro efecto sobre el turnover óseo, principalmente sobre los biomarcadores de formación ósea, aumentando las concentraciones de ACTH, PTH, osteocalcina y disminución de OPN, aunque también se observó un efecto de aumento de SOST (biomarcador de resorción). En relación a los otros factores hormonales y nerviosos estudiados, se observa que nuestro protocolo de ejercicio aumentó los niveles de adrenalina, noradrenalina, PGC-1 $\alpha$  y disminuyó los valores de insulina. Estos efectos favorecen la movilización de glucosa, ácidos grasos y el metabolismo energético.

La suplementación con ubiquinol, incrementa los efectos observados por el ejercicio físico sobre el turnover óseo. Esta suplementación induce un aumento de PTH, lo cual estimula la proliferación y diferenciación de osteoblastos, los niveles de OC e incluso un efecto vasodilatador; un aumento de OPG, inhibiendo la activación osteoclástica y la resorción ósea y también un aumento de fosfatasa alcalina, lo cual indica un incremento en la actividad osteoblástica y una mejora del proceso de formación ósea. Finalmente, se observó un aumento de la osteocalcina, la cual, además, de tener un claro efecto sobre la formación ósea, muestra el papel endocrino del hueso sobre el metabolismo energético al ser una hormona

vinculada a la leptina y que muestra un papel en el metabolismo de la glucosa y las grasas, en la estimulación de insulina y adiponectina y en la capacidad muscular.

También se observó una potencialización positiva de nuestra suplementación de corta duración con 200 mg de ubiquinol sobre el resto de factores hormonales y nerviosos estudiados. Se observó un incremento en la concentración de leptina, hormona vinculada a la OC, como hemos comentado anteriormente y que además de estimular la formación ósea presenta un efecto claro sobre la insulina, aumentando la biodisponibilidad de glucosa y ácidos grasos y cuyo efecto se ve potenciado por el aumento de noradrenalina. Finalmente, se destaca el efecto positivo sobre la PGC-1 $\alpha$ , de gran importancia en la regulación de adipogénesis, metabolismo de lípidos, regeneración de fibras musculares, biogénesis mitocondrial y el sobre el turnover óseo a través de su efecto sobre el estrés oxidativo y la inflamación.

En definitiva, la suplementación con ubiquinol durante el ejercicio extenuante mejora el turnover óseo, especialmente la formación de hueso. Adicional a los efectos óseos, el ubiquinol aumenta las concentraciones de OC, leptina, noradrenalina y PGC-1 $\alpha$ , que presentan efectos positivos sobre el metabolismo energético durante y después de la realización de un ejercicio de alta intensidad, como puede ser un mayor transporte de glucosa y lípidos o una mayor reposición y recuperación de glucógeno muscular, y además, puede afectar a la biogénesis mitocondrial y a la transición de fibras musculares, todo lo cual puede presentar una ventaja ergogénica y fisiológica para el propio músculo esquelético.

## LISTADO DE ABREVIATURAS

---

µg: microgramos

µm: micras.

25(OH)D: Calcifediol o 25 hidroxicolecalciferol.

AA: Ácido araquinódico.

ACSM: American College of Sport Medicine.

ACTH: Hormona adrenocorticotropina.

ADN: Ácido dexosirribonucleico.

ADNmt: ADN mitocondrial.

AgRP: Proteína r-Agouti.

ALP: Fosfatasa alcalina. Del inglés "Alkaline Phosphatase".

ALT: Alanina transaminasa o Alanina aminotransferasa.

AMP: Adenosin Monofosfato.

AMPc: Adenosina Monofosfato Cíclica.

AMPK: Proteína Kinasa activada por AMP. Del Inglés "AMP-activated Protein Kinase".

ARNm: ARN mensajero.

AST: Aspartato transaminasa o Aspartato aminotransferasa.

ATF2: Factor de transcripción activador tipo 2.

ATP: Adenosin trifosfato.

BALP: Fosfatasa alcalina ósea. Del Inglés "Bone Specific Alkaline Phosphatase".

BMCs: Células mononucleares sanguíneas. Del Inglés "Marrow Mononuclear Cells".

BMMs: Macrófagos de la médula ósea. Del Inglés "Bone Marrow-Derived Macrophages".

BMPs: Proteínas morfogenéticas óseas. Del Inglés "Bone Morphogenetic Proteins".

Ca<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>: Hidroxiapatita.

Ca<sup>2+</sup>: Calcio iónico o ión calcio.

CAD: Trastorno de las arterias coronarias. Del Inglés "Coronary Artery Disease".

Camk IV: Proteína Kinasa regulada por Calcio/Calmodulina. Del Inglés "Calcio/Calmodulin-Dependant Protein Kinase".

CART: Transcripción relacionada con la cocaína y anfetamina. Del Inglés "Cocaine-and amphetamine-Regulated Transcript".

CaSR: Receptor-controlador del calcio. Del Inglés "Calcium-sensing Receptor".

CFU-O: Unidad formadora de colonias de progenitores osteogénicos. Del inglés "Colony-forming units-osteogenic progenitor".

CHD: Enfermedad coronaria. Del Inglés "Coronary Heart Disease".

CK: Creatina kinasa.

CK-MM: Creatina kinasa muscular.

CL: Cloro

CO<sub>2</sub>: Dióxido de carbono.

CoQ<sub>10</sub>: Coenzima Q<sub>10</sub>, CoQ reducida o Ubiquinol (QH), CoQ oxidada o Ubiquinona (COQoxi).

COX-1: Ciclooxygenasa-1

COX-2: Ciclooxygenasa-2

CREB: Proteína de unión a elementos de respuesta a AMPc. Del Inglés "Camp Response Element-Bending Protein".

CRF: Factor liberador de corticotropina. Del Inglés "Corticotroping Releasing Factor".

CRM: Cadena respiratoria mitocondrial.

CRP: Proteína reactiva C. Del Inglés "C-Reactive Protein".

c-Src: Tirosina quinasa c-Src. Del Inglés "Proto-Oncogene tyrosine-protein kinase Src".

CT: Colesterol total.

Cyt C: Citocromo C. Del Inglés "Cytochrome C".

Dcl: decilitros.

DHODH: Dihydroorotato deshidrogenasa.

Dlx5: Gen distal-less homeobox 5.

DMO: Densidad mineral ósea.

E11/gp38: Glicoproteína E/11podoplanina.

EBC: Entrenamiento básico de combate.

EphB4: Receptor 4 de efrina tipo B. Del Inglés “Ephrin Type-B Receptor 4”.

ERK: Kinasa regulada por señal extracelular. Del Inglés “Extracellular-Signal-Regulated Kinase”.

ERO: Especies Reactivas de Oxígeno.

ERR- $\alpha$ : Receptor  $\alpha$  de estrógenos. Del Inglés “Estrogen-Related Receptor Alpha”.

FFAs: Ácidos grasos libres. Del Inglés “Free Fatty Acids”.

FGF-23: Factor de crecimiento fibroblástico. Del Inglés “Fibroblast Growth Factor 23”.

GCS: Gamma-glutamylcisteina-sintetasa.

GH: Hormona del crecimiento. Del Inglés “Growth Hormone”.

GLa: Ácido gamma-carboxiglutámico.

GLUT: Proteína transportadora de glucosa. Del Inglés “Glucose Transporter”.

GSH: Glutation.

GST: Glutation-S-transferasa.

H<sup>+</sup>: Hidrogeniones.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrógeno.

HAIR: Receptores de insulina de alta afinidad. Del Inglés “High Affinity Insulin Receptors”.

Hba1C: Hemoglobina glicosilada.

HDL: Lipoproteína de alta densidad. Del Inglés “High-Density Lipoprotein”.

HOMA-IR: Índice de resistencia a la insulina. Del Inglés “Homeostatic Model Assesment for Insulin Resistance”.

HPA: Pituitaria hipotalámica adrenal. Del Inglés “Hypothalamic-Pituitar-Adrenal-Axis”.

HPP: Hipofosfatasa.

HsCRP: Alta sensibilidad a la proteína reactiva C. Del Inglés “High Sensitivity C-Reactive Protein”.

IGF-1: Factor de crecimiento semejante a la insulina. Del Inglés “Insulin-like growth factor 1”.

IL-1: Interleukina 1.

IL-18: Interleukina 18.

IL-1 $\beta$ : Interleukina 1 beta.

IL-6: Interleukina 6.

IMC: Índice de Masa Corporal.

INSR: Receptor de la insulina. Del Inglés "Insulin Receptor".

Kcal: kilocalorías.

kDa: Kilodaltons.

LA: Ácido  $\alpha$ -lipólico. Del Inglés "Alpha Lipolic Acid".

LAIR: Receptores de insulina de baja afinidad. Del Inglés "Low Affinity Insulin Receptors".

LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Del Inglés "Low Density Lipoproteins".

LepRb: Receptor de la leptina. Del Inglés "Leptin receptor long isoform".

LIF: Factor inhibidor de la leucemia. Del Inglés "Leukemia Inhibitory Factor".

MC2R: Receptor de la hormona adrenocorticotropina. Del Inglés "Adrenocorticotropin ACTH receptor".

MC3T3-E1: Células pre-osteoblásticas murinas.

M-CSF: Factor estimulador de macrófago.

MEF2: Miocito estimulador factor-2. Del Inglés "Mocyte Enhancer Factor-2".

MET: Unidad de medida de Índice Metabólico o Equivalente Metabólico o Equivalente de Tasa Metabólica. Del Inglés "Metabolic equivalent of task".

Mg: miligramos.

ml: mililitros

MLSS: Máximo estado estable de lactato. Del Inglés "Maximun Lactate Steady State".

mM: milimoles.

mmHg: milímetros de mercurio.

MSC: Células mesenquimales. Del Inglés "Mesenchymal Stem Cells".

NEMP: Proteínas mitocondriales nucleares codificadas. Del Inglés "Nuclear-Encoded Mitochondrial Proteins".

NF- $\kappa$ B: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células  $\beta$  activadas. Del Inglés "Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of Activated  $\beta$  Cells".

NO: Óxido Nítrico.

NPY: Neuropeptido Y.

NRF-1: Factor de respiración nuclear. Del Inglés "Nuclear Respiratory Factor 1".

Nrf2: Factor nuclear derivado de eritroide 2. Del Inglés "Nuclear Factor Erythroid 2".



NSAID: Droga antiinflamatoria no esteroidea.

O(FOXO): Proteína FOXO. Del Inglés "Forkhead Box O".

Ob/ob: Ratones obesos. Del Inglés "Obese mouse".

OBLA: Inicio de la acumulación de lactato en sangre. Del Inglés "Onset of Blood Lactate Accumulation".

OC: Osteocalcina liberada durante la resorción ósea.

OC: Osteocalcina.

OCPs: Precursor de los osteoclastos. Del Inglés "Osteoclasts Precursor".

OPG: Osteoprotegerina.

OPN: Osteopontina.

Osx: Osterix.

p38MAPK: p38 Mitogen-Activated Protein Kinases.

PaO<sub>2</sub>: Presión parcial de oxígeno.

PGC-1 $\alpha$ : Coactivador 1 $\alpha$  del receptor activado gamma del proliferador de peroxisoma.

PGE<sub>2</sub>: Prostaglandina E<sub>2</sub>.

PGG<sub>2</sub>: Prostaglandina G<sub>2</sub>.

PGH<sub>2</sub>: Prostaglandina H<sub>2</sub>.

PGI<sub>2</sub>: Prostaglandina I<sub>2</sub>.

PI3K: Fosfoionisitida 3-kinasa.

Pmnt: feniletilamina-N-metiltransferasa.

PO<sub>2</sub>: Presión parcial de oxígeno.

POMC: Proopiomelanocortina.

PPAR Gamma: Proliferador activado de peroxisoma gamma. Del Inglés "Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma".

PTH: Hormona paratiroidea.

PTHr1: Receptor 1 de la hormona paratiroidea. Del Inglés "Parathyroid hormone 1 Receptor".

PTHrP: Proteína relacionada con la hormona paratiroidea. Del Inglés "Parathyroid Hormone-Related protein".

QH: Ubiquinol

RANK: Receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$ . Del Inglés "Receptor Activator of Nuclear Factor  $\kappa\beta$ ".

RANKL: Ligando de receptor activador para el factor nuclear  $\kappa\beta$ . Del Inglés "Receptor Activator for Nuclear Factor  $\kappa\beta$  ligand".

Runx2: Factor de transcripción 2 relacionado con Runt. Del Inglés "Run Related Transcription Factor 2".

SGPT: Transaminasa pirúvica glutámica Del Inglés "Serum Glutamate-pyruvate Transaminase".

SIP: Esfingosina 1-fostato. Del Inglés "Sphingosine 1-phosphate".

SOST: Hormona Esclerostina.

SREBP: Proteína de unión a elemento regulador del esterol. Del Inglés "Sterol Regulatory Element-Binding Protein".

T2DM: Diabetes Mellitus tipo II.

TFAM: Factor A de Transcripción mitocondrial. Del Inglés "Transcription Factor A".

TGF- $\beta$ : Factor de crecimiento transformador beta. Del Inglés "Transforming Growth Factor beta".

TGs: Triglicéridos.

TNF: Factor de necrosis tumoral. Del Inglés "Tumoral Necrosis Factor".

Tnfsf11: Factor de necrosis tumoral 11. Del Inglés "Tumor Necrosis Factor Ligand Superfamily member 11".

TRAP: Fosfatasa ácida tartrato resistente. Del Inglés "Tartrate-Resistant Acid Phosphatase."

Twist2: Twist Related Protein 2.

UBM: Unidad Básica Multicelular.

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular. Del Inglés "Vascular Endothelial Growth Factor".

VMH: Núcleo hipotalámico ventromedial. Del Inglés "Ventromedial Nucleus of the Hypothalamus".

VO<sub>2</sub>máx: máximo índice de consumo de oxígeno.

VSMCs: Células vasculares del tejido muscular liso. Del Inglés "Vascular Smooth Muscle Cells".

XO: Xantina Oxidasa.

## ÍNDICE DE TABLAS

---

<b>BLOQUE I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b>	<b>pág.</b>
<b>Tabla 1.</b> Relación entre la edad y la cantidad de actividad física realizada expresada en METs. Adaptado de Tanasescu (2002).	42
<b>Tabla 2.</b> Media $\pm$ SD de la densidad mineral ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) según el deporte practicado. Adaptado de Fehling et al. (1995).	66
<b>Tabla 3.</b> Valores de altura y peso ajustados a la media de las densidades óseas ( $\text{g}/\text{cm}^3$ ) según el deporte practicado. Adaptado de Fehling et al. (1995).	66
<b>Tabla 4.</b> Concentraciones de marcadores óseos, junto a la ingesta diaria, vitamina D y calcio en atletas (A) y no atletas (NA). Adaptado de Zagrodna et al. (2016).	79
<b>Tabla 5.</b> Correlaciones entre el cortisol, la DMO de la columna vertebral, el trocánter mayor del fémur y el cuello femoral en ciclistas. Adaptado de Mathis et al. (2013).	85
<b>Tabla 6.</b> Marcadores proinflamatorios tras 32 semanas de entrenamiento. Adaptado de Marques et al. (2013).	96
<b>Tabla 7.</b> Distribución del estado redox de la $\text{CoQ}_{10}$ en tejidos humanos. Adaptado de Bhagavan et al. (2006).	104
<b>BLOQUE III. MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>pág.</b>
<b>Tabla 8.</b> Composición de las cápsulas suministradas a los participantes.	138
<b>BLOQUE IV. RESULTADOS</b>	<b>pág.</b>
<b>Tabla 9.</b> Características basales de los sujetos experimentales.	149
<b>Tabla 10.</b> Resultados del análisis nutricional de macro y micronutrientes.	149
<b>Tabla 11:</b> Resultados del cuestionario Internacional de Actividad Física-Versión Corta (IPAQ-SF).	150
<b>Tabla 12.</b> Resultados análisis de Impedancia Bioeléctrica.	151



## ÍNDICE DE FIGURAS

---

<b>BLOQUE I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS</b>	<b>pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Incremento curvilíneo de lactato en sangre en relación con la velocidad al correr. Fuente: Adaptado de Kumar (2004).	38
<b>Figura 2.</b> Distribución de la intensidad de entrenamiento en un determinado umbral donde se relaciona el lactato con la ventilación pulmonar expresada en % del VO <sub>2</sub> máx. Fuente: Adaptado de Seiler & Kjerland (2006).	38
<b>Figura 3.</b> Esquema del control del mecanismo fisiológico durante el ejercicio voluntario y dinámico. Fuente: Adaptado de Hawley et al. (2014).	40
<b>Figura 4.</b> Representación del volumen de tiempo dedicado al running y su relación con diferentes causas de mortalidad. Fuente: Adaptado de Lavie et al. (2015).	44
<b>Figura 5.</b> Ilustración de la formación ósea intermembranosa. Fuente: Adaptado de Kenkre & Bassett (2018).	46
<b>Figura 6.</b> Representación esquemática del proceso multifactorial de la diferenciación de los osteoblastos. Fuente: Adaptado de Capulli et al. (2014).	48
<b>Figura 7.</b> Células óseas de revestimiento situadas en la superficie del osteoide. Fuente: Adaptado de Florencio da Silva et al. (2015).	49
<b>Figura 8.</b> Ilustración de los osteoblastos y las células óseas de revestimiento. Los osteocitos se localizan en la matriz ósea (OT). Fuente: Adaptado de Florencio da Silva et al. (2015).	51
<b>Figura 9.</b> Los osteocitos se localizan concretamente dentro de la hondonada o laguna, rodeados de la matriz ósea mineralizada mostrando un aspecto dendrítico. Fuente: Adaptado de Florencio da Silva et al. (2015).	52
<b>Figura 10.</b> Esquema de la interacción entre osteoclastos y osteoblastos. Fuente: Adaptado de Proff & Römer (2009).	56
<b>Figura 11:</b> Representación esquemática de Unidades Básicas Multicelulares en hueso esponjoso o trabecular y cortical. Fuente: Adaptado de Eriksen (2010).	58
<b>Figura 12.</b> Fases específicas del proceso de remodelado óseo. Fuente: Adaptado de Kenkre et al. (2018).	58

- Figura 13.** Fases del proceso de remodelado óseo después del daño por fatiga en el hueso trabecular. Fuente: Adaptado de Hughes et al. (2017). 63
- Figura 14.** Media ( $\pm$ SD) plasmática de la ACTH según diferentes intensidades en tapiz rodante. Fuente: Adaptado de Luger et al. (1987). 69
- Figura 15.** El esqueleto regula la homeostasis energética y mineral. En la homeostasis general, los bajos niveles de calcio estimulan la liberación de la hormona PTH, la cual también regula los niveles de calcio sanguíneo a través de la estimulación osteoclástica de la resorción y la producción renal de vitamina D para incrementar la absorción intestinal de calcio. Fuente: Adaptado de Shao et al. (2015). 74
- Figura 16.** Estructuras en 3D de hueso trabecular de las tibias después de 4 semanas sometidas a ausencia de carga (SUSP) o con carga (LOAD) en ratones silvestres (WILD TYPE) y ratones sin función activa de OPN (OPN<sup>-/-</sup>). Fuente: Adaptado de Ishijima et al. (2002). 80
- Figura 17.** Acciones de la leptina para alterar la ingesta calórica y el gasto energético. Fuente: Adaptado de Upadhyay et al. (2016). 87
- Figura 18.** La noradrenalina y la isoprenalina también estimulan la producción de RANK-L mediante los osteoblastos, lo que sugiere que la osteoclastogénesis afecta indirectamente sobre los osteoblastos. Fuente: Adaptado de Aitken et al. (2009). 91
- Figura 19.** Modelo fisiológico que ilustra cómo la carga mecánica puede prevenir la pérdida de hueso provocada por la inflamación en la artritis reumatoide. Fuente: Adaptado de Pathak et al. (2015). 96
- Figura 20.** Rutas de activación de la señalización de las ERO que afectan a la génesis de los osteoblastos y osteoclastos. Fuente: Adaptado de Filaire & Toumi (2012). 98
- Figura 21.** Sistema simplificado de la ruta inflamatoria COX a consecuencia del daño provocado por el ejercicio y la aplicación de NSAID (Droga Antiinflamatoria no esteroidea). Fuente: Adaptado de Schoenfeld (2012). 102
- Figura 22.** Conversión de ubiquinona a ubiquinol. Fuente: Adaptado de Díaz-Castro et al. (2015). 108
- Figura 23.** Comparación de los niveles plasmáticos de CoQ<sub>10</sub> después de una suplementación con QH o Ubiquinona. Fuente: Adaptado de Siebretch et al. (2015). 109

<b>Figura 24.</b> Producción energética mitocondrial como contenido de CoQ <sub>10</sub> /Ubiquinol. Fuente: Adaptado de Lenaz et al. (1991).	113
<b>Figura 25.</b> Coenzyma Q10 y el flujo de electrones en la cadena de transporte mitocondrial. Fuente: Adaptado de Casarin et al. (2015).	113
<b>Figura 26.</b> Modificaciones en el metabolismo energético después de la administración de CoQ <sub>10</sub> y placebo en reposo y en el ejercicio. Fuente: Adaptado de Zheng et al. (2008).	116
<b>Figura 27.</b> Modificaciones en la actividad del Sistema Nervioso Autónomo después de la administración de CoQ <sub>10</sub> y placebo en reposo y durante el ejercicio. Fuente: Adaptado de Zheng et al. (2008).	117
<b>Figura 28.</b> Efecto de dieta en grasa y suplementación de CoQ <sub>10</sub> sobre los niveles de OPG, RANKL y RANKL/OPG en ratas de 6 y 24 meses. Fuente: Adaptado de Valera-López et al. (2017a).	120

## **BLOQUE II. MATERIAL Y MÉTODOS**

**pág.**

---

<b>Figura 29.</b> Gráfico de representación de abandonos.	133
<b>Figura 30.</b> Esquema del diseño experimental.	135
<b>Figura 31.</b> Tensiómetro de muñeca OMRON HEM-6111.	136
<b>Figura 32.</b> Instrumentos que se usaron para realizar las mediciones de peso y altura.	137
<b>Figura 33.</b> Representación esquemática de la distribución de las cargas durante el protocolo de aplicación.	140
<b>Figura 34.</b> Escala de percepción del esfuerzo OMNI-RES. Fuente: adaptado de Robertson et al. (2003).	141

## **BLOQUE IV. RESULTADOS**

**pág.**

---

<b>Figura 35:</b> Efecto de la suplementación sobre la ACTH.	153
<b>Figura 36:</b> Efecto de la suplementación sobre PTH.	154
<b>Figura 37:</b> Efecto de la suplementación sobre la OC.	155
<b>Figura 38:</b> Efecto de la suplementación sobre la OPG.	156

<b>Figura 39:</b> Efecto de la suplementación sobre la SOST.	157
<b>Figura 40:</b> Efecto de la suplementación sobre la OPN.	158
<b>Figura 41:</b> Efecto de la suplementación sobre la Fosfatasa Alcalina.	159
<b>Figura 42:</b> Efecto de la suplementación sobre la Insulina.	161
<b>Figura 43:</b> Efecto de la suplementación sobre la Leptina.	162
<b>Figura 44:</b> Efecto de la suplementación sobre el Cortisol.	163
<b>Figura 45:</b> Efecto de la suplementación sobre la Adrenalina.	164
<b>Figura 46:</b> Efecto de la suplementación sobre la Noradrenalina.	165
<b>Figura 47:</b> Efecto de la suplementación sobre la PGC-1 $\alpha$ .	166



# BLOQUE I.

## ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

---



## 1. GENERALIDADES DEL EJERCICIO FÍSICO

---

Es ampliamente conocido que el ejercicio contribuye notablemente a la mejora de la salud (Kolt et al., 2017) siendo numerosas las investigaciones que confirman esta afirmación. Las instituciones públicas también se han hecho eco de estos resultados puesto que se ha demostrado que el ejercicio, así como las terapias basadas en ejercicio, después de patologías cardíacas contribuyen a economizar los recursos ahorrando de este modo costes sanitarios (Hautala et al., 2016). Más de 960.000 casos de infarto se diagnostican diariamente en Estados Unidos y el coste anual se estima en ser superior a los 30 billones de dólares (Pandey et al., 2017). Para el año 2030 se estima que más del 40% de los adultos estadounidenses, es decir, 116 millones de personas, sufrirán una o más manifestaciones de trastornos cardiovasculares. Dichos datos justifican la intención de los gobiernos de motivar a la población a practicar ejercicio físico, no sólo por el beneficio económico que supone sino como actividad recreativa y catártica.

### 1.1. Aclaraciones conceptuales sobre el ejercicio

La primera cuestión que planteamos es de tipo conceptual. Nos referimos a los términos ejercicio físico, actividad física, condición física y deporte.

Atendiendo a Caspersen (Caspersen et al., 1985), la actividad física se define como cualquier movimiento producido por los músculos esqueléticos y que resulta en un consumo energético el cual puede ser medido en kilocalorías cuya cantidad es dependiente del número de músculos implicados en el movimiento, así como la intensidad, duración y frecuencia de las contracciones. Puede ser clasificada en actividades domésticas, laborales, lúdicas, etc. Según este mismo autor, el ejercicio es una subcategoría de la actividad física que es planificada, estructurada y repetitiva para alcanzar un objetivo: la mejora o el mantenimiento de la condición física. Esta idea nos lleva a denominar la condición física como un conjunto de atributos relacionados con la salud o con ciertas habilidades. El grado sobre el cual las personas tienen desarrolladas estas habilidades puede ser medido a través de tests específicos diseñados para tal fin (Caspersen et al., 1985).

Finalmente, el último término que es imprescindible aclarar es deporte. Weinberg (2013) establece tres características que lo diferencian de los conceptos anteriores. La primera es el objetivo que, básicamente, se reduce a ganar. En segundo lugar, el rendimiento, el cual, no se basa tanto en el resultado, sino en la mejora que experimenta el individuo y que se expresa en medidas concretas y específicas. Por último, el procedimiento, el cual hace referencia a cómo el atleta desarrolla o reproduce una determinada técnica o lleva a cabo una estrategia específica (Weinberg, 2013).

### 1.1.1. Ejercicio moderado y regular

Manson et al., (2020) definen como ejercicio físico regular y moderado aquel que no es agotador y propone como ejemplo el golf, bolos, baile o la natación y la bicicleta estática practicados a intensidad moderada. Tanasescu et al., (2020) consideran que una actividad es de baja intensidad si alcanza los 1-4 METs (equivalentes de tasa metabólica), moderada entre 4-6 METs e intensa entre 6-12 METs.

Es necesario resaltar que el ejercicio regular y moderado se caracteriza por estar programado, es decir, está planeado y estructurado, es repetitivo y pretende alcanzar un objetivo: mejorar o mantener la condición física y mental del individuo. Los componentes relacionados con la salud sobre los cuales actúa este tipo de ejercicio son la capacidad cardiovascular, la resistencia muscular, la fuerza muscular, la composición muscular y la flexibilidad (Caspersen et al., 1985).

Diversos estudios muestran que las personas que realizan ejercicio regular y moderado experimentan mejoras en su capacidad aeróbica, con efectos favorables en su capacidad cardiovascular y mejora de la elasticidad arterial, además de regular el control de glucosa y la sensibilidad a la insulina (Shiotsu & Yanagita, 2018).

El American College of Sport Medicine (ACSM) (Garber et al., 2011) afirmó que la mortalidad se ve retrasada gracias a la realización de ejercicio físico regular y moderado. Este efecto es especialmente significativo en personas que pasan de no realizar ningún tipo de ejercicio o muy poco ejercicio a una rutina regular con unos niveles de intensidad recomendados. El ejercicio reduce el riesgo de padecer infarto de miocardio, diabetes tipo 2 y algunas formas de cáncer (Garber et al., 2011), y puede producir descensos en la presión diastólica y sistólica (Manson et al., 2002). Sin embargo, ¿cuál es la intensidad adecuada para

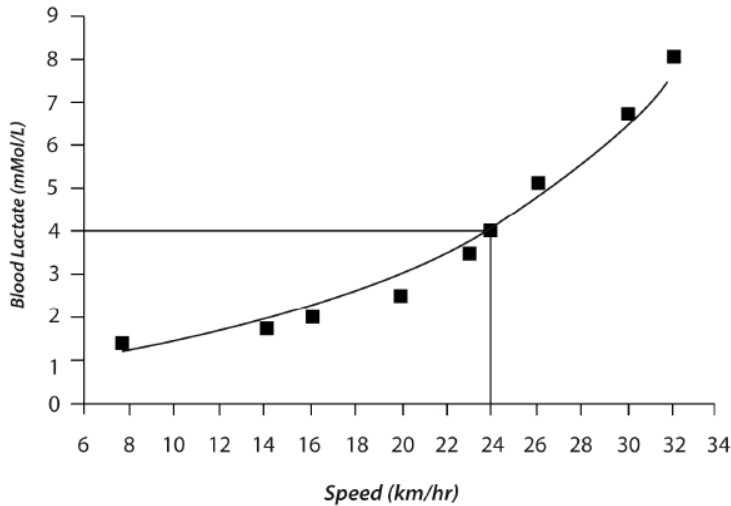
considerar un ejercicio físico regular y que, por lo tanto, nos garantice los beneficios descritos anteriormente? Blair et al., (1992), determinaron que el ejercicio moderado es el correspondiente al 40%-60% de la capacidad aeróbica máxima y es la intensidad adecuada para muchas personas. Dicha intensidad además debe ser mantenida durante un tiempo más prolongado para que tenga unos resultados positivos en la capacidad aeróbica (Blair et al., 1992). El ACSM sugiere que 30 minutos de ejercicio moderado a diario es considerado saludable desde el punto de vista metabólico (Garber et al., 2011, Tanasescu et al. 2002). Un gasto energético aproximado de  $1000 \text{ kcal}\cdot\text{wk}^{-1}$  (o  $150 \text{ min}\cdot\text{wk}^{-1}$ ) se considera intensidad moderada la cual está asociada con bajos índices de enfermedad cardiovascular y de muerte prematura (Manson et al., 2002, Garber et al., 2011).

### 1.1.2. Ejercicio extenuante

Para explicar qué es un ejercicio intenso o extenuante previamente tenemos que entender que la intensidad varía según la zona de entrenamiento, zonas definidas en términos de frecuencia cardiaca o índices de concentración de lactato en sangre. Wassermann et al., (1973) fueron los primeros que marcaron los límites definiendo el primer incremento de lactato en sangre como umbral aeróbico y finalizando con el umbral anaeróbico definido como el punto en el que la acidosis metabólica y las modificaciones asociadas al intercambio de gases en los pulmones se producen durante el ejercicio. Es decir, durante un ejercicio de esfuerzo progresivo, al llegar a cierta intensidad, se produce un incremento curvilíneo ascendente en la ventilación conocido como umbral de ventilación anaeróbica que se manifiesta también en la concentración de lactato sanguíneo conocido como umbral de lactato. Ocurre del mismo modo con el  $\text{CO}_2$ , que experimenta un incremento no curvilíneo (Wasserman et al., 1973) y que coincide con el índice OBLA (índice de Acumulación de Lactato en Sangre) que corresponden a los  $4 \text{ mM/L}$  de lactato (Yoshida et al., 1987). Todos estos elementos tomados en conjunto representan el Umbral Anaeróbico (Figura 1).

La concentración de lactato en sangre es el resultado neto de la producción de lactato y su eliminación del músculo (Chirtel et al., 1984). Por lo tanto, el incremento del lactato en sangre no necesariamente indica un incremento abrupto en la producción de ácido láctico.

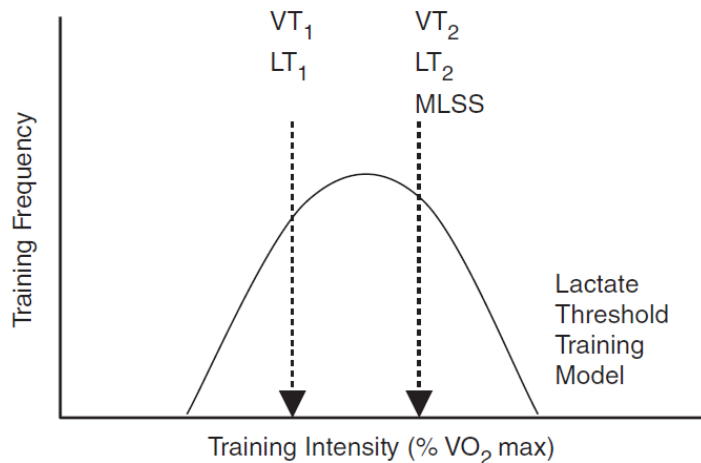
**Figura 1.** Incremento curvilíneo del lactato en sangre en relación con la velocidad al correr (OBLA). En este caso a los 24 km/h el aumento del ácido láctico es exponencial (Kumar, 2004).



Se identifican tres zonas de intensidad según el lactato en sangre (Figura 2): zona de bajo lactato, zona de acumulación de lactato (donde la concentración de lactato sanguíneo es elevada pero los índices de producción y eliminación reestablecen el equilibrio) y la zona de acumulación de lactato, donde la producción de lactato sanguíneo excede el índice de aclaramiento y la fatiga muscular es inminente (Seiler & Kjerland, 2006).

La transición aeróbico-anaeróbico comienza con el umbral aeróbico, que indica el primer aumento de lactato en sangre y que finaliza con el umbral anaeróbico correspondiente al Máximo Estado Estable de Lactato (MLSS) (Seiler & Kjerland 2006):

**Figura 2:** Distribución de la intensidad del entrenamiento en un determinado umbral destacando el entrenamiento entre el primer y el segundo umbral donde se relaciona el lactato con la ventilación pulmonar expresada en % del  $VO_2$  máx (MLSS: máximo lactate stable state; VT: ventilatory threshold;  $LT_1$ : aerobic threshold;  $LT_2$ : anaerobic threshold) (Seiler & Kjerland., 2006).



Durante los maratones, ultra-maratones, ejercicios prolongados de ciclismo y pruebas de ultra-resistencia y amateur, se observan importantes aumentos de Troponina. Dichos niveles están asociados a la distancia recorrida y la intensidad y su fuga del citosol de los cardiomiocitos, debido a un incremento de la permeabilidad de la membrana ocasionada por el ejercicio intenso (Eijsvogels et al., 2016).

## **1.2. Adaptaciones fisiológicas y beneficios del ejercicio moderado y regular**

### **1.2.1. Adaptaciones fisiológicas**

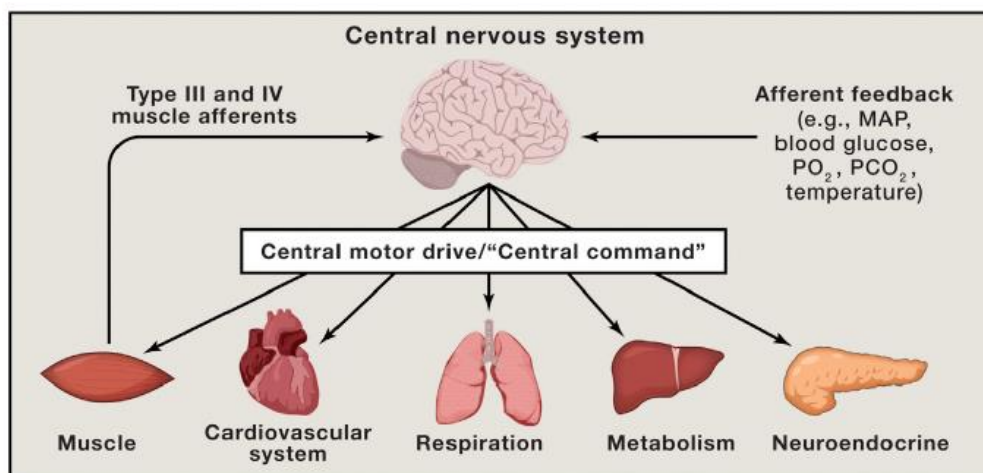
El ejercicio implica una activación del músculo esquelético para realizar actividades recreativas, deportivas u ocupacionales, que se caracterizan por ser voluntarias y que inducen a una amplia variedad de respuestas fisiológicas fundamentales para el rendimiento muscular (Hawley et al., 2014).

Una contracción isométrica o estática de corta duración, pero donde se genera una fuerza elevada, comprime los vasos sanguíneos de la musculatura implicada y limita el flujo sanguíneo y el transporte de O<sub>2</sub> a dichos músculos mientras, al mismo tiempo, incrementa la presión arterial. Por el contrario, durante un ejercicio sostenido en el tiempo como el ciclismo o la carrera de larga duración, las contracciones son más cortas con escasa alteración del flujo sanguíneo y de la presión arterial (Hawley et al., 2014).

Las adaptaciones agudas cardiovasculares a ejercicios dinámicos e isométricos dan lugar a patrones de remodelado y adaptaciones que incrementan el VO<sub>2</sub>máx y minimizan las alteraciones en la homeostasis que se puedan generar en el organismo (MacDougall et al., 1992). Los sistemas de feedback permiten generar adaptaciones crónicas de forma que durante el ejercicio se producen ligeros descensos de la presión sanguínea permitiendo grandes flujos sanguíneos en el músculo esquelético (Figura 3). Estos procesos contribuyen también a un descenso crónico de la presión sanguínea a consecuencia del ejercicio. Sin embargo, durante ejercicios como levantamiento de peso la presión arterial media se puede situar en valores como 320/250 mmHg (MacDougall et al., 1992) puesto que hay una compresión de los vasos sanguíneos en los músculos esqueléticos que provoca respuestas para superar una inadecuada perfusión generada por un incremento de la presión sanguínea.

El ejercicio también está asociado a un incremento del tamaño de las cámaras del corazón, pero no al espesor de las mismas, lo cual facilita el incremento del volumen sistólico en entrenamientos de larga duración. El ejercicio de fuerza máxima provoca la hipertrofia de las paredes cardíacas, mientras que el ejercicio de resistencia de larga duración apenas ocasiona modificaciones en su espesor (Ellison et al., 2012). El estímulo que provoca la hipertrofia en el ejercicio dinámico genera una elongación de las paredes del ventrículo causada por el retorno venoso desde la periferia. Esta elongación se lleva a cabo por el incremento del volumen sanguíneo y las concentraciones de catecolaminas gracias al entrenamiento. Los mecanismos celulares responsables de la hipertrofia cardíaca producida por el entrenamiento conllevan la activación de determinadas secuencias metabólicas que incluyen el factor de crecimiento IGF-1 entre otras (Ellison et al., 2012).

**Figura 3:** Esquema del control del mecanismo fisiológico durante el ejercicio voluntario y dinámico (Hawley et al., 2014).



El impulso motor cortical hace contraer el músculo, así como activar una orden central para dar respuestas clave como la liberación de las hormonas neuroendocrinas necesarias para la movilización de los depósitos energéticos en la contracción muscular. Dichas respuestas integradas se ajustan mediante feedback aferente, implicando respuestas mecánicas y de las fibras nerviosas quimio-sensitivas tipo II y IV en los músculos activos. Dicho ajuste también se realiza mediante sensores fundamentales que monitorizan diferentes parámetros como la presión arterial media, la concentración de glucosa en sangre, los niveles de dióxido de carbono, la temperatura corporal y el volumen sanguíneo (Hawley et al., 2014).



El principal mecanismo responsable de la hiperemia muscular durante el ejercicio es la vasodilatación de los músculos esqueléticos. Factores humorales, mecánicos y neuronales, incluso aquéllos procedentes de los músculos activos, están implicados en el aumento de la irrigación sanguínea puesto que el aumento del flujo sanguíneo muscular está íntimamente relacionado con el índice metabólico basal (Hellsten et al., 2012). Se observa también una modificación en los canales de potasio, adenosina, ATP procedente de varias fuentes, productos de metabolismo muscular y especies reactivas de oxígeno. Sin embargo, ninguna sustancia de forma individual puede ser responsable del aumento muscular del flujo sanguíneo, el cual es redistribuido al riñón, hígado y otros órganos viscerales y músculos inactivos a través de la vasoconstricción de los lechos vasculares después del incremento de la actividad simpática durante el ejercicio (González-Alonso et al., 2008). Esto permite que una mayor parte del gasto cardiaco se destine a los músculos esqueléticos activos y que parcialmente compense la caída de la resistencia periférica total como respuesta a la vasodilatación de los músculos esqueléticos. El flujo sanguíneo destinado al sistema nervioso central permanece inalterado o se modifica ligeramente y el flujo de sangre coronaria incrementa. Puesto que la evaporación del sudor es el mayor mecanismo para la disipación del calor durante el ejercicio, especialmente a altas temperaturas, la piel experimenta un aumento del flujo sanguíneo y, por lo tanto, una pérdida de fluidos (González-Alonso et al., 2008).

Respecto al  $\dot{V}O_2$  máx, el consumo de oxígeno en cargas de ejercicio máximas puede arrojar valores de entre 40 y 200 l/min, lo que puede representar un aumento entre 8 y 20 veces el consumo de  $O_2$  respecto a los valores en reposo. Además, el flujo sanguíneo a los músculos activos puede incrementar hasta 100 veces sobre los niveles basales, es decir, hasta un 80% o 90% del gasto cardiaco. Cabe destacar que hay un modesto incremento de la presión arterial media (en torno al 20%) mientras que la presión parcial de oxígeno ( $PO_2$ ), el dióxido de carbono ( $PCO_2$ ) y el PH permanecen inalterables hasta que se alcanzan intensidades máximas (Hawley et al, 2014).

Las funciones principales del sistema pulmonar son mantener la oxigenación arterial y facilitar la eliminación de  $CO_2$  producido durante el metabolismo oxidativo. Para ello la ventilación pulmonar se incrementa en proporción a la intensidad del ejercicio. Por otro lado, la presión parcial de oxígeno y el dióxido de carbono se mantienen a niveles de reposo hasta que se alcanza una intensidad de ejercicio considerable (Dempsey et al., 2014). Los factores

responsables de un incremento significativo de la ventilación incluyen el descenso del centro de mando paralelamente a la activación motora cortical del músculo esquelético que estimula los centros respiratorios y emite una estimulación de retorno o feedback desde las fibras aferentes tipo IV y tipo III (Dempsey et al., 2014).

### 1.2.2. Beneficios del ejercicio moderado y regular

Según el American College of Sport Medicine (ACSM), el ejercicio reduce el riesgo de padecer cardiopatías congénitas infarto de miocardio, diabetes tipo II y algunas formas de cáncer (por ejemplo, colon y mama). Reduce la presión sanguínea, mejora el perfil proteico, mejora la sensibilidad a la insulina y juega un papel fundamental en el control del sobrepeso (Garber et al., 2011). En adultos mayores mantiene la masa ósea y reduce el riesgo de caída (Nelson et al., 2007).

**Tabla 1:** Actividad física expresada en MET en relación a diversos factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular. A mayor actividad física, menor BMI, menores niveles de colesterol, de hipertensión, etc. (Tanasescu 2002)

Characteristic	Quintile of Physical Activity, MET-hours per Week				
	1	2	3	4	5
Median (range)	1.2 (0-2.9)	5.0 (3.0-7.9)	12.1 (8.0-17.7)	24.1 (17.8-34.5)	49.1 (34.6-69.2)
BMI, mean	26.2	26.0	25.5	25.1	24.8
Current smoking, %	14.3	10.9	9.1	7.1	6.6
Hypertension, %	22.3	21.6	20.4	18.7	17.1
High serum cholesterol, %	10.5	10.3	11.1	10.5	10.3
Family history of MI, %	12.0	12.0	11.9	11.3	12.7
Vitamin E supplement use, %	16.0	18.0	20.3	21.1	22.6
Total fat intake, % of total kcal	33.5	32.8	32.2	31.6	30.6
Polyunsaturated fat intake, % of total kcal	5.9	6.0	6.0	6.0	5.9
Saturated fat intake, % of total kcal	11.7	11.4	11.0	10.7	10.4
Trans fatty acid intake, % of total kcal	1.36	1.32	1.27	1.21	1.16
Dietary fiber intake, mean, g/d	18.4	19.9	20.7	21.6	23.0
Alcohol intake, mean, g/d	10.9	11.1	11.3	11.6	12.3

Respecto a la composición corporal, tanto la obesidad general como la obesidad abdominal están asociadas con un incremento en el riesgo de efectos adversos (Reis et al., 2009), mientras que la masa corporal libre de grasa relacionada con el ejercicio está vinculada a una reducción en el riesgo de muerte. Finalmente, patologías del sistema nervioso (como el

Alzhéimer, la depresión o los infartos) y del sistema inmune (trastornos inflamatorios crónicos) pueden ser mitigados por la práctica del ejercicio físico (Mattson, 2012).

### 1.3. Daño causado por el ejercicio extenuante

Además de las tendinopatías y demás patologías osteomusculares y alteraciones nerviosas como la anorexia (Kostrezewa et al., 2013), el ejercicio extenuante puede provocar efectos adversos que se concretan en una respuesta inflamatoria acompañada de estrés oxidativo. Las citoquinas inflamatorias intervienen en la activación de las rutas catabólicas durante el ejercicio extenuante. El ejercicio con un amplio componente excéntrico produce el mayor daño de fibras musculares, inflamación y déficits funcionales (Kostrezewa et al., 2013). Muchas de estas respuestas producidas como consecuencia del daño muscular se desencadenan a consecuencia de un gran incremento de las citoquinas inflamatorias del músculo implicado en el movimiento, así como en el plasma y quizás en el cerebro. En un principio se pensaba que el incremento de estas citoquinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) eran expresiones del sistema inmunitario, pero se expresan en otros muchos tejidos (Davis et al., 2007). Estas citoquinas están reguladas por una variedad de estimuladores y supresores dentro de las rutas inflamatorias. El daño muscular con la producción de radicales libres en respuesta a un ejercicio no habitual extremo puede desencadenar estas rutas que conducen a la producción de citoquinas inflamatorias, dolor y alteraciones en la realización del ejercicio (Davis et al., 2007).

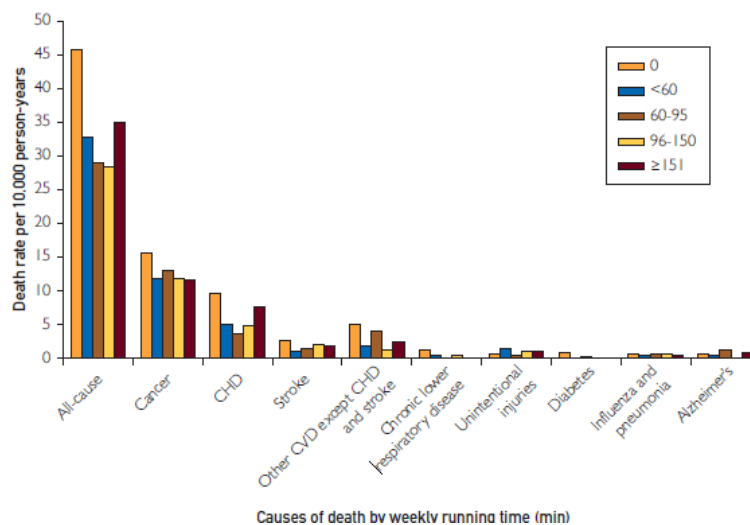
A nivel cardiovascular el corazón se ve sometido también a la influencia del estrés oxidativo bajo la acción de la noradrenalina y los glucocorticoides, citoquinas proinflamatorias y prooxidantes (Li et al., 2016). Durante el ejercicio extenuante, tanto el estrés oxidativo como la inflamación están asociados con un exceso de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) los cuales podrían constituir una importante fuente de disfunción mitocondrial. En concreto, el daño muscular ocasionado por un ejercicio intenso induce una respuesta antiinflamatoria e incrementa los niveles de ERO debido a una pérdida de electrones en la cadena de transporte de electrones mitocondrial (Li et al, 2016).

Ejercicios extenuantes como los ultramaratones, pueden producir efectos adversos en el sistema inmunitario posteriores a la realización de las pruebas. Además de infecciones, se producen modificaciones en hormonas como la adrenalina y los glucocorticoides.

Concretamente, los corticoides se conocen por su sistema inmunosupresivo y su nivel es particularmente elevado en ejercicios de resistencia muy intensos (Abbasi et al, 2014).

Lavie et al., (2015) afirman que puede existir cardiotoxicidad producida por el deporte extremo como maratones, ultramaratones y triatlones de larga distancia. Los ejercicios extremos de ultra resistencia se asocian a un incremento de troponina cardiaca que actúa como marcador de fallo cardiaco, así como un incremento significativo del atrio cardiaco y la dilatación de las cámaras ventriculares, especialmente del ventrículo derecho el cual experimenta una reducción en su función. Aunque correr, como actividad física, induce a un menor riesgo total de padecer trastornos coronarios, los corredores de maratón, especialmente a altas dosis de entrenamiento (en volumen de tiempo) pueden tener mayor riesgo de padecer cardiopatías congénitas (Figura 4).

**Figura 4:** Representación de volumen de tiempo dedicado al running y su relación con diferentes causas de mortalidad. Los participantes se clasificaron en 5 grupos: no corredores y 4 cuartiles estructurados en volumen de tiempo de entrenamiento (minutos) (Lavie et al., 2015).



Tanto en los corredores amateur como profesionales de ultra maratones se ha detectado un deterioro de la función ventricular derecha después de una competición. Ya desde los años 90 Douglas et al., (1987) concluyeron que el ejercicio prolongado podía dar lugar a alteraciones en el rendimiento sistólico y diastólico ventricular izquierdos.

## 2. EJERCICIO, TURNOVER ÓSEO Y METABOLISMO ENERGÉTICO

---

### 2.1. Generalidades del hueso humano

Los huesos desempeñan una amplia variedad de funciones: proporcionan soporte estructural para el resto del cuerpo, permitiendo el desplazamiento a través de palancas en combinación con los músculos, protegen los órganos vitales y estructuras internas, aseguran el mantenimiento de la homeostasis mineral y un equilibrio ácido-básico, actúan como depósito de factores de crecimiento y citoquinas y proporcionan el entorno adecuado para la hematopoyesis dentro de los espacios de la matriz ósea (Taichman, 2005). A pesar de la existencia de otras estructuras como los dientes, tendones y cartílagos, el hueso está en constante renovación a través del remodelado óseo (Boyce & Xing, 2007).

Las cuatro categorías de huesos son: huesos largos, cortos, planos e irregulares. Los huesos largos comprenden la clavícula, húmero, radio, cúbito, metacarpos, fémur, tibia, peroné, metatarsos y falanges. Entre los huesos cortos están los carpos y tarsos, rótula y los huesos sesamoideos. Los huesos planos incluyen el cráneo, mandíbula, escápula, esternón y las costillas. Finalmente, entre los huesos irregulares identificamos las vértebras, el hueso sacro, el coccis y el hueso hioide. Los huesos planos tienen una formación membranosa, mientras que los huesos largos son producto de una combinación de formación membranosa y cartilaginosa (Clarke, 2008).

Los huesos largos están compuestos por una estructura alargada cilíndrica y hueca, o diáfisis, la cual se ensancha adoptando la forma de un cono invertido (metáfisis) justo debajo de la placa epifisaria; y la epífisis, localizada encima de la placa epifisaria. La diáfisis está compuesta principalmente por hueso denso cortical mientras que la metáfisis y la epífisis por una malla de hueso trabecular rodeada por una fina cubierta de hueso cortical (Clarke, 2008). El hueso cortical es sólido con canales vasculares que penetran y fabrican la estructura protectora exterior. Posee una superficie exterior periostial que contiene vasos sanguíneos, terminaciones nerviosas, osteoblastos, osteoclastos y una superficie endostial interna adyacente a la médula ósea. En la superficie endostial del hueso cortical se localiza el hueso trabecular en forma de panal, el cual está formado por una delgada red de varillas (Kenkre & Bassett, 2018). Que los huesos tengan dos estructuras tan diferentes indica que cada

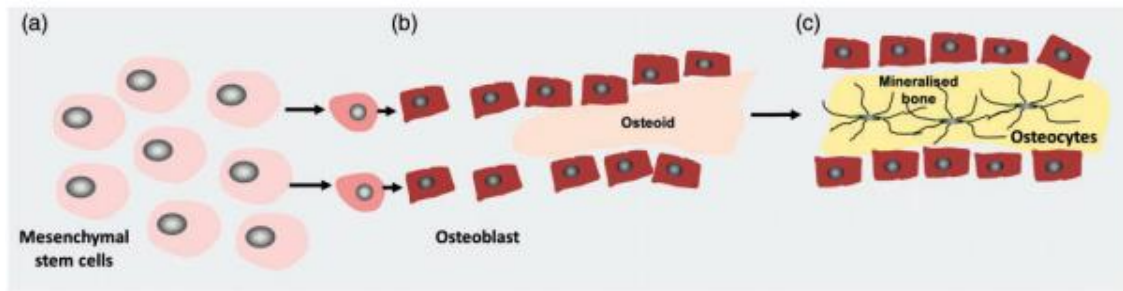
composición desempeña una función distinta. La mayoría del esqueleto maduro posee una densidad cortical que tiene un bajo nivel de turnover y una alta resistencia a la torsión. Puede liberar mineral en caso de una prolongada deficiencia.

El hueso trabecular, el cual es más denso y más elástico, tiene un nivel de turnover mayor y es más resistente, proporciona soporte mecánico y contribuye a preservar la fuerza y la integridad gracias a su estructura. El hueso trabecular tiene una amplia área superficial para el intercambio mineral y es más activo desde el punto de vista metabólico que el hueso cortical (Kenkre & Bassett, 2018). Tanto el hueso cortical como trabecular están compuesto por osteonas. Las osteonas de hueso cortical también se denominan sistema Havers (Clarke, 2008).

Un esqueleto humano adulto contiene, generalmente, un 80% de hueso cortical y un 20% de hueso trabecular (Eriksen et al., 1994), aunque distintas partes del esqueleto tienen diferentes ratios entre hueso cortical y trabecular. Por ejemplo, las vértebras contienen una ratio de hueso cortical/trabecular de 25:75, 50:50 en la cabeza del fémur y 95:5 en la diáfisis del radio.

El hueso constituye una combinación de matriz osteoide (Figura 5) y cristales de hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] (Kenkre & Bassett, 2018). Además, contiene agua, proteínas no colágenas, lípidos y células óseas. La matriz ósea de colágeno tipo I proporciona al hueso elasticidad, flexibilidad y solidez maleable. Las fibras de colágeno están compuestas por tres cadenas helicoidales y se combinan para formar fibrillas. Por otro lado, la principal función de las proteínas no colágenas son proporcionar fuerza a la estructura de colágeno y regular su mineralización. El mineral óseo, con la forma de cristales de hidroxiapatita, constituye un almacén esencial de calcio y fosfato fundamental para la homeostasis mineral proporcionando al esqueleto rigidez mecánica y fuerza compresiva (Kenkre & Bassett, 2018).

**Figura 5:** Diagrama ilustrativo de la formación ósea intramembranosa. A) Células mesenquimales en el tejido conectivo diferenciadas en osteoblastos. B) Los osteoblastos sintetizan y secretan la matriz orgánica o sustancia osteoide rica en colágeno tipo I. C) El osteoide se mineraliza para formar la osificación desde la cual la mineralización se extiende. Los osteoblastos, que también participan en la regularización de la mineralización de la matriz orgánica, finalmente terminan diferenciándose en osteocitos los cuales quedan sepultados dentro de la recién formada matriz ósea (Kenkre & Bassett, 2018).



## 2.2. Generalidades del turnover óseo

### 2.2.1. Células implicadas en el turnover óseo

#### Osteoblastos

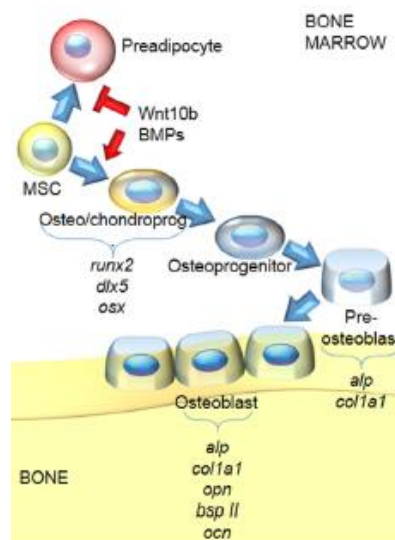
Los osteoclastos son células cuboidales localizadas a lo largo de la superficie del hueso comprendiendo entre un 4%-6% del total de las células óseas y son conocidas por su papel de formadoras óseas. Estas células muestran características morfológicas de células sintetizadoras de proteínas, incluyendo un retículo endoplasmático abundante y un gran aparato de Golgi, así como varios vesículos secretores (Capulli et al., 2014).

Los osteoblastos se derivan de células mesenquimales (MSC) cuya relación con la estirpe osteoprogenitora necesita la expresión de diferentes genes, siguiendo una serie de pasos que incluyen la síntesis de proteínas morfogenéticas de hueso (BMPs) y miembro de la ruta Wnt (Grigoriadis et al., 1988). La expresión del factor de transcripción 2, distal-homeobox 5 (Dlx5) y Osterix (Osx) es crucial para la diferenciación de los osteoblastos. No obstante, Runx2 (factor de transcripción 2 vinculado a Runt) constituye el principal gen de la diferenciación osteoblástica (Ducy et al., 1997).

Una vez que se produce la diferenciación osteoblástica (Figura 6), tiene lugar la fase de proliferación, donde los progenitores de los osteoblastos pasan a ser considerados preosteoblastos. La fosfatasa alcalina (ALP) es un indicador de esta transición puesto que constituye un marcador de la diferenciación osteogénica (Capulli et al., 2014). La transición entre preosteoblastos y osteoblastos maduros se caracteriza por un incremento de Osx y una secreción de proteínas de la matriz ósea como la osteocalcina (OC) y colágeno tipo I. Los

osteoblastos finalmente sufren alteraciones morfológicas adoptando formas alargadas y cuboidales (Ducy et al., 1997). Los osteoblastos sintetizan la matriz ósea siguiendo dos pasos: la deposición de la matriz orgánica y su subsiguiente mineralización. En el primer paso, los osteoblastos secretan proteínas de colágeno, principalmente de tipo I, proteínas monocolágeno (osteoconectina y osteopontina) y proteoglicano los cuales forman la matriz orgánica. A partir de aquí, la mineralización de la matriz ósea se desarrolla en dos fases: fase vesicular y fase fibrilar (Yoshiko et al., 2007). La fase vesicular se desarrolla cuando los vesículos de la matriz son liberados desde la membrana de los osteoblastos a la nueva matriz ósea en la cual se unen a los proteoglicanos y otros componentes orgánicos. Debido a su carga negativa, los proteoglicanos inmovilizan los iones de calcio que son almacenados dentro de los vesículos de la matriz (Yoshiko et al., 2007). Cuando los osteoblastos secretan enzimas que degradan los proteoglicanos, los iones de calcio se liberan y atraviesan los canales de calcio en los vesículos de la matriz. Dichos canales lo forman proteínas denominadas annexinas (Anderson, 2003).

**Figura 6:** Representación esquemática del proceso multifactorial de la diferenciación de los osteoblastos (MSC=células mesenquimales). (Capulli et al., 2014).



Por otro lado, los compuestos formados por fosfatasa se degradan por la acción de la ALP secretada por los osteoblastos liberando iones fosfato en el interior de los vesículos de la matriz, por tanto, los iones fosfato y calcio dentro de los vesículos forman los cristales de hidroxapatita. Finalmente, la fase fibrilar tiene lugar cuando la saturación de iones calcio y



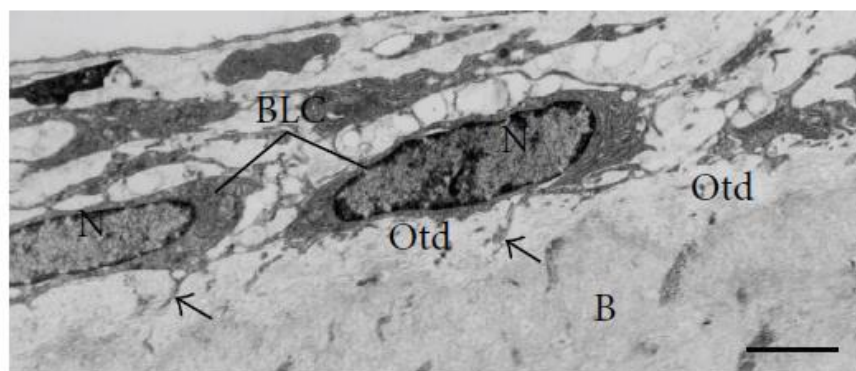
fosfato dentro de la matriz provoca una ruptura de estas estructuras y los cristales de hidroxiapatita se dispersan por la matriz (Boivin & Meunier, 2002).

### Células óseas de revestimiento (BLC-Bone Lining Cells)

Estas células óseas de revestimiento (Figura 7) son osteoblastos con forma aplanada e inmóvil que cubren la superficie del hueso donde no se produce ni resorción ni formación. Se caracterizan por mostrar un perfil nuclear aplanado y delgado, su citoplasma se extiende a lo largo de toda la superficie del hueso y presenta escasas organelas citoplasmáticas, retículo endoplasmático rugoso y aparato de Golgi (Miller et al., 1989).

La actividad secretora de estas células de revestimiento depende del estado fisiológico del hueso, a través del cual pueden adquirir nuevamente su actividad secretora aumentando su tamaño y adoptando una forma cuboidal. Aunque la función de este tipo de células no se comprende todavía completamente, se conoce que evitan el contacto directo entre los osteoclastos con la matriz cuando el proceso de resorción no tiene lugar, y participan en la diferenciación de los osteoclastos produciendo osteoprotegerina (OPG) y el ligando del activador receptor del factor nuclear  $\kappa\beta$  (RANKL). Las células de revestimiento, junto con otras células, constituyen un componente esencial de la Unidad Básica Multicelular (UBM), estructura anatómica presente durante el ciclo del remodelado óseo (Everts et al., 2002) que se estudiará más adelante.

**Figura 7:** Las células óseas de revestimiento se sitúan en la superficie osteoide. Dichas células se extienden sobre la superficie citoplasmática (flechas) en dirección al osteoide (Florencio-Silva et al., 2015).



## Osteocitos

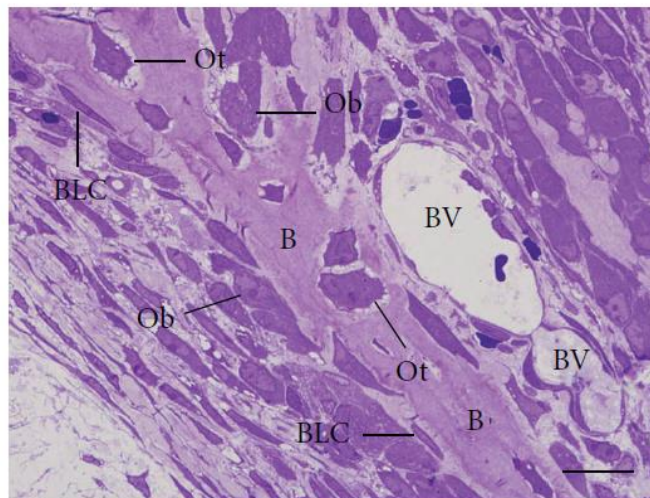
Los osteocitos constituyen entre el 90-95% del número total de células óseas, son las más abundantes y tienen un ciclo de vida muy amplio llegando a alcanzar los 25 años (Florencio-Silva et al., 2015). A diferencia de los osteoclastos y los osteoblastos que han sido definidos por sus respectivas funciones en la formación y resorción ósea, los osteocitos se definen por su morfología y localización, y desempeñan funciones esenciales en el hueso (Florencio-Silva et al., 2015). (Figura 8).

Los osteocitos se localizan en una laguna rodeada por matriz ósea mineralizada donde muestran una morfología dendrítica (Rocheffort et al., 2010).

La morfología de los osteocitos incrustados difiere dependiendo del tipo de hueso. Los osteocitos en el hueso trabecular son más redondeados que en el hueso cortical presentado una morfología más elongada (Currey, 2003).

Los osteocitos derivan de las células mesenquimales MSCs a través de la diferenciación de los osteoblastos. En este proceso se identifican cuatro estadios: osteoide-osteocito, preosteocito, osteocito joven y osteocito maduro. Al finalizar el ciclo de formación ósea, una parte de los osteoblastos se transforman en osteocitos incorporados a la matriz ósea. Dicho proceso viene acompañado por interesantes cambios estructurales y morfológicos como la reducción del tamaño de los osteoblastos. El tamaño de las organelas como el retículo endoplasmático rugoso y el aparato de Golgi disminuyen, y la ratio núcleo-citoplasma aumenta, lo que se corresponde con un descenso de la síntesis y secreción proteica (Schaffler et al., 2014).

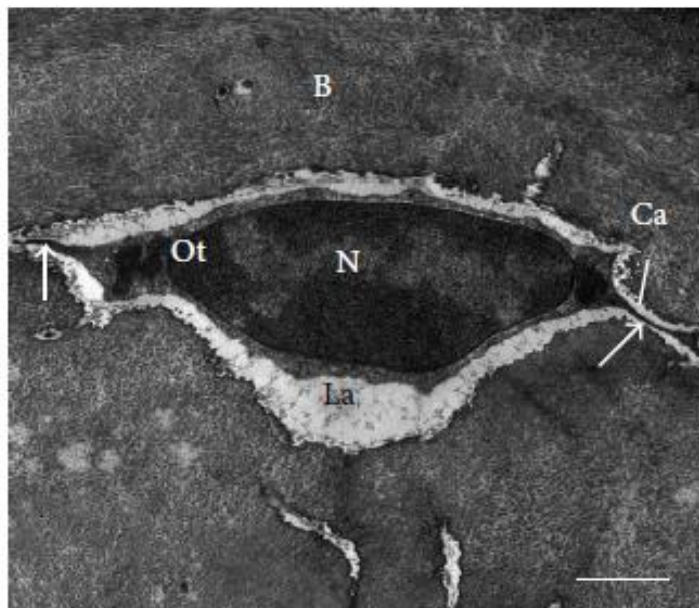
**Figura 8:** Los osteoblastos y las células óseas de revestimiento se observan en la superficie ósea mientras que los osteocitos (OT) están localizados en la matriz ósea (Florencio-Silva et al., 2015).



Durante la transición osteoblastos/osteocitos, el proceso citoplasmático surge antes de que los osteocitos se introduzcan en la matriz ósea (Capulli et al., 2014). Aunque los mecanismos que subyacen en el desarrollo de los procesos citoplasmáticos de los osteocitos no están totalmente esclarecidos, la proteína E11/gp38, también llamada glicoproteína E11/podopladina, desempeña una función muy importante. Dicha proteína está expresada en osteocitos recientemente introducidos en la matriz ósea de forma similar a otras células con morfología dendrítica. E11/gp38 utiliza la energía de la actividad GTPasa para interactuar con los componentes citoesqueléticos y las moléculas implicadas en motilidad celular, por lo que regula la dinámica del citoesqueleto (Wetterwald et al., 1996). Por consiguiente, la inhibición de la expresión de la proteína E11/gp38 en los osteocitos, bloquea la elongación de las dendritas sugiriendo que dicha proteína está implicada en la formación de las dendritas de los osteocitos (Zhang et al., 2006).

Una vez que la etapa en la cual los osteocitos maduros quedan atrapados en la matriz mineralizada ha finalizado, algunos de los marcadores de los osteoblastos como la osteocalcina (OC) y la ALP disminuyen. Cuando los osteocitos se sitúan en la laguna (Figura 9), los procesos citoplasmáticos atraviesan pequeños túneles originando un espacio denominado canícula formando lo que se denomina sistema lacuno-canicular (Manolagas, 2006).

**Figura 9:** Micrográfico de un osteocito (Ot) en el interior de la “hondonada” o “laguna” (La) en la matriz ósea (B), junto con el proceso citoplasmático (flechas) en el interior de la canícula (C). N: núcleo. (Florencio- Silva et al., 2015).



A través del sistema lacuno-canicular, los osteocitos actúan como mecanosensores puesto que su red interconectada tiene la capacidad de detectar presiones y cargas mecánicas ayudando al hueso a adaptarse a las modificaciones mecánicas diarias (Rocheffortt al., 2010). Esta habilidad confiere a los osteocitos la capacidad de regular el remodelado óseo mediante la regulación, a su vez, de los osteoclastos y los osteoblastos (Dallas et al., 2013). La función mecanosensitiva de los osteocitos se logra gracias a su ubicación estratégica dentro de la matriz. La forma y la organización espacial de los osteocitos están en consonancia con sus funciones sensitivas de transporte cuyo estímulo mecánico cambia a señales bioquímicas, fenómeno denominado efecto piezoeléctrico. Los mecanismos y componentes a través de los cuales los osteocitos convierten el estímulo mecánico en señales bioquímicas no se conocen completamente. No obstante, se han planteado dos mecanismos. Uno de ellos afirma que hay un complejo proteico formado por un cilio y está asociado a las proteínas PolyCystins 1 y 2, las cuales son cruciales para la mecanosensibilidad y le mediación osteoblastos/osteocitos de la formación ósea (Xiao et al., 2006). El segundo mecanismo involucra a los componentes del citoesqueleto de los osteocitos incluyendo el complejo de adhesión proteica y sus múltiples proteínas tales como la paxilina y la talina. Respecto a la estimulación mecánica, los osteocitos producen varios mensajeros secundarios como el ATP y el óxido nítrico (NO),  $\text{Ca}^{2+}$  y las prostaglandinas  $\text{PGE}_2$  y  $\text{PGI}_2$  las cuales influyen la fisiología ósea (Bonewald, 2011).

Independientemente de la función de estos mecanismos, es fundamental mencionar que la función mecanosensitiva de los osteocitos es posible gracias a una intrincada red canalicular la cual permite la comunicación entre células (Bonewald, 2011).

## Osteoclastos

Los osteoclastos son células multinucleadas diferenciadas procedentes de células mononucleares de la familia de células hematopoyéticas. Están influenciados por factores como el factor macrófago estimulador (M-CSF), secretado por células mesenquimales y osteoblastos (Boyce et al., 1999), y por RANK (receptor activador de factor nuclear kB), el cual es secretado por los osteoblastos y células estromales. Todos estos factores juntos estimulan la activación de los factores de transcripción y la expresión génica de los osteoclastos (Boyce et al., 1999, Yavropoulou & Yovos, 2008).

El M-CSF se une a su receptor presente en los precursores de los osteoclastos, el cual estimula su proliferación e inhibe la apoptosis (Yavropoulou & Yovos, 2008). El RANKL es un factor crucial para la osteoclastogénesis el cual es expresado por los osteoblastos, osteocitos y las células estromales. Cuando RANKL se une a su receptor RANK en los precursores de los osteoclastos, se induce la formación de los osteoclastos (Sodek & McKee, 2000). Sin embargo, otro factor denominado osteoprogerina (OPG) el cual es producido por una amplia variedad de células incluidas los osteoblastos y las células estromales, se une al RANKL evitando la interacción RANK/RANKL y, en consecuencia, impidiendo la osteoclastogénesis (Boyce & Xing, 2008), de esta manera, el sistema RANK/RANKL/OPG es un mediador clave en la osteoclastogénesis (Sodek & McKee 2000).

El sistema RANK/RANKL regula genes específicos de los osteoclastos como TRAP (fosfatasa ácida resistente al tartrato) y catepsina K, los cuales son esenciales para la actividad de los osteoclastos. No obstante, el potencial de estos factores puede diferir dependiendo de la zona del hueso. Por ejemplo, los osteoclastos procedentes de la médula ósea de huesos largos se forman antes que en las mandíbulas. Esta diferencia en la osteoclastogénesis puede deberse a la composición celular específica de la médula ósea (Miyamoto, 2006).

Los osteoclastos trabajan dentro de las unidades de remodelado bajo el control de células osteoblásticas. La unión de los osteoclastos se logra mediante estos podosomas que contienen filamentos de actina e integrina  $\alpha_v\beta_3$ , los cuales interactúan con las proteínas de la

matriz tales como la osteopontina y la vitronectina (Duong et al., 2000). El estrecho contacto entre la matriz ósea y los osteoclastos se refleja por la polarización de estos últimos formando finalmente tres áreas distintas: la primera, una membrana basolateral sin contacto con el mineral óseo; la segunda, la zona sellada que está estrechamente adherida al hueso; y finalmente la tercera, la cual posee el borde ondulado y que está rodeada por la zona de sellado. La zona ondulada está orientada hacia la matriz ósea en contacto directo con la matriz. La zona de sellado forma una barrera con el objeto de asegurar una concentración de protones secretada por el borde ondulado durante el desarrollo del proceso de resorción bajo el osteoclasto (Väänänen & Laitala-Leinonen, 2008).

Los osteoclastos, en su parte frontal, disponen de una superficie destinada a la resorción, la cual se adhiere a la matriz ósea. Son capaces de disolver el material óseo como la hidroxiapatita mediante el ácido clorhídrico. Una ATPasa (V-type), la cual está presente en la membrana ondulada de los osteoclastos, produce una translocación de protones a la zona de resorción acidificando de este modo su zona de acción. Por otro lado, los osteoclastos utilizan la anhidasa carbónica II para proveer protones en caso de necesitarlo (Väänänen & Laitala-Leinonen, 2008).

#### **2.2.1.1. Diferenciación osteoblastos/osteoclastos**

Las principales funciones del sistema regulador RANK/RANKL/OPG son la regulación de los elementos de la UBM y la diferenciación y activación de osteoclastos y osteoblastos proporcionando la homeostasis en el ciclo de remodelado óseo. Tanto RANK como RANKL son proteínas transmembranas pertenecientes a la superfamilia de TNF (Factor de Necrosis Tumoral) (Esparza-Guerrero et al., 2016). RANK se expresa en las membranas de los osteoclastos, mientras que RANKL se expresada por los osteoblastos. Cuando estas dos proteínas se unen estimulan el canal de señalización del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células  $\beta$  activadas (NF- $\kappa$ B) promoviendo la diferenciación de los pre-osteoclastos en osteoclastos y, en última instancia, estimulando la resorción ósea (Esparza-Guerrero et al., 2016). Veamos con más detalle cómo se lleva a cabo esta diferenciación:

La completa diferenciación de los osteoblastos se caracteriza por una co-expresión de fosfatasa alcalina y colágeno tipo I, ambos importantes para la síntesis de la matriz ósea y la subsecuente mineralización (Eriksen, 2010). Los osteoblastos maduros también producen reguladores de la mineralización de la matriz como la osteocalcina, osteonectina, osteopontina y RANKL, el cual es necesario para diferenciación osteoblástica y el receptor para la PTH (PTHr1). Al término de su periodo de vida los osteoblastos se transforman en osteocitos los cuales se incrustan en la matriz mineralizada o en células de revestimiento que cubren toda la superficie del hueso (Eriksen, 2010).

Para llevar a cabo la diferenciación de los osteoclastos, es necesario la expresión en los precursores de los osteoclastos (OCPs) del c-Fos, un factor de transcripción activado del RANKL (Karsenty & Wagner, 2002). Para realizar una correcta función de resorción, los osteoclastos se adhieren firmemente a la superficie del hueso utilizando podosomas especializados para formar extensiones circulares selladas. En el interior de estas zonas selladas, los osteoclastos forman membranas onduladas que incrementan el área superficial de la membrana celular para secretar ácido clorhídrico y la enzima proteolítica catepsina K en la superficie del hueso. De este modo disuelven el mineral y degradan la matriz ósea mientras protegen las células adyacentes del mecanismo de sellado (Teitelbaum & Ross, 2003).

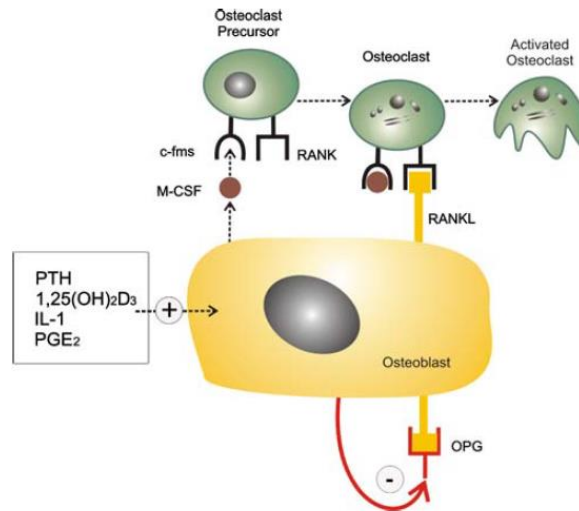
Durante el proceso de resorción, se distingue una considerable concentración de calcio hasta los 40 mM en el mismo lugar donde se ha producido la degradación la cual inhibe la actividad osteoclástica. Dicho incremento es resultado de una modificación del nivel de calcio en los osteoclastos seguido de una reorganización podosómica de desmontaje que, finalmente, conduce a la apoptosis (Delaissé et al., 2000). Incluso el TGF- $\beta$  que bloquea la resorción ósea estimula la apoptosis de los osteoclastos, lo cual se refleja en la fragmentación del ADN.

Los osteoclastos están involucrados en el reclutamiento de unidades de osteoblastos formadores de hueso para rellenar los espacios que estos mismos forman en la superficie del hueso. Esta afirmación está basada en estudios que muestran que, posteriormente al suministro de PTH, los osteoblastos incrementan la expresión del RANKL para la activación de los osteoclastos y, de este modo, estimular la formación de nuevo hueso (Cosman et al., 2005)

Como se ha comentado antes, la ruta RANK/RANKL/OPG es la ruta imperante que regula la diferenciación de los osteoblastos (Esparza-Guerrero, 2016) y mediante esta vía, la

proporción entre RANKL y OPG podría regular la resorción ósea y la fuerza del hueso (Kostenuik, 2005).

**Figura 10:** Esquema de la interacción entre osteoclastos y osteoblastos. M-CSF actúa sobre los precursores de los osteoclastos para controlar su proliferación y diferenciación. Los osteoblastos producen una proteína denominada ligando de receptor activador para el factor nuclear kappa B, el cual se puede unir al receptor RANK localizado en el precursor de los osteoclastos estimulándolo para para diferenciar los osteoclastos activados. La OPG, secretada por los osteoblastos, compete con RANKL por el RANKL. La hormona paratiroidea (PTH), la interleukina 1 (IL-1), la prostaglandina (PGE<sub>2</sub>), 1,25 (OH)<sub>2</sub>, y la vitamina D<sub>3</sub> son estimuladores de la resorción ósea para estimular la expresión de RANKL en las células osteoblásticas (Proff & Römer, 2009).



Rodan & Martin (1981), postularon que los osteoblastos regulan la formación de los osteoclastos y que los factores que expresan los osteoblastos dentro del hueso son producidos en respuesta de estimuladores de resorción ósea como la hormona paratiroidea (PTH) (Rodan & Martin, 1981). El receptor activador del factor nuclear  $\kappa\beta$  del sistema de señalización RANKL/RANK OPG nos va a ayudar a entender que los osteoclastos no son únicamente células “excavadoras”, sino que también desempeñan funciones reguladoras importantes como inmunomoduladores en estados patológicos que pueden regular también la función osteoblástica (Boyce & Xing, 2007).

### 2.2.2. Fases del proceso de remodelado óseo

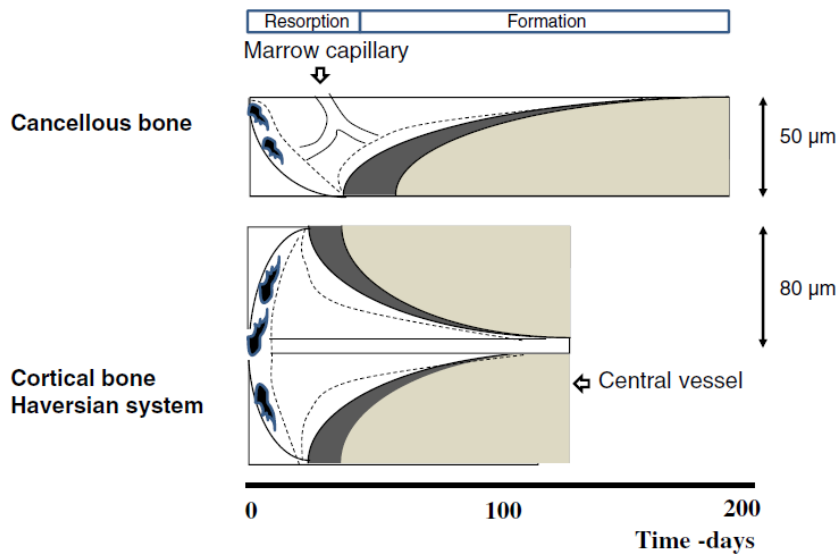
El remodelado óseo es un sistema donde el hueso autorregula su propio mantenimiento y reparación accediendo rápidamente al calcio y fósforo para mantener la homeostasis general. Desde el punto de vista anatómico, el remodelado óseo tiene lugar dentro de la Matriz o UBM compuesta por osteoclastos, osteoblastos y capilares sanguíneos



(Frost, 1990). Dicha unidad requiere de un constante reabastecimiento de osteoclastos y osteoblastos los cuales están controlados por los osteocitos. La estructura y composición de la BMU varía dependiendo si se localiza en hueso cortical o trabecular. En el hueso trabecular se ubica en la superficie formando unos orificios denominados lagunas de Howship (Kenkre & Bassett, 2018). En el hueso cortical, por otro lado, los osteoclastos dentro de la Unidad forman un cono de corte el cual perfora el córtex eliminando el hueso dañado. Detrás de este cono, el hueso de nueva creación se deposita de forma concéntrica en las paredes del "túnel" por osteoblastos diferenciados para dejar un remanente y dando lugar a lo que se denomina Canal de Havers (Manolagas, 2018). Tanto en el hueso trabecular como en el cortical la BMU está cubierta por una estructura de células delineando el Compartimento de Remodelado Óseo. Dicho compartimento proporciona un área definida de remodelado que facilita el acoplamiento entre osteoclastos y osteoblastos (Kenkre & Bassett, 2018).

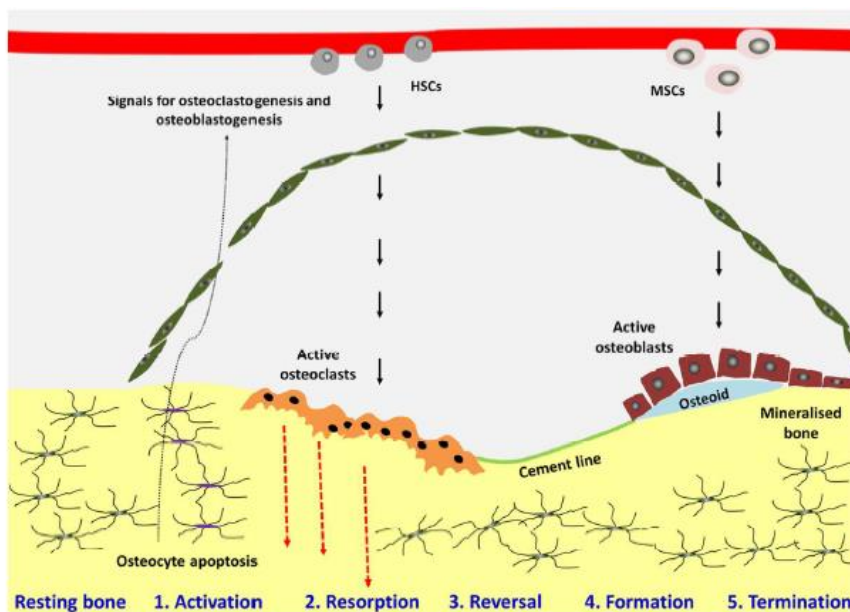
Observando la figura 11, las líneas punteadas representan el borde externo del compartimento del remodelado óseo asociado con los lugares de formación y resorción de BMU. La media de grosor de la estructura en el hueso esponjoso es de 50  $\mu\text{m}$  y en el del hueso trabecular es de 80  $\mu\text{m}$  lo que equivale a la media del diámetro del sistema de Havers de 160  $\mu\text{m}$ . El aporte sanguíneo para los compartimentos de remodelado óseo lo proporcionan capilares procedentes tanto de la médula ósea en el caso de las unidades básicas multicelulares del hueso trabecular, o desde los vasos sanguíneos centrales de los sistemas Havers en el caso del hueso cortical. La duración del proceso de remodelado es algo más larga en el hueso esponjoso que en el trabecular (Eriksen, 2010).

**Figura 11:** Representación esquemática de Unidades Básicas Multicelulares en hueso esponjoso o trabecular y cortical (Eriksen, 2010).



El proceso de remodelado óseo se desarrolla durante cinco fases bien diferenciadas entre sí: activación, resorción, inversión, formación y finalización (Figura 12) (Agerbaek et al., 1991). Dicho proceso conlleva una duración de 120 y 200 días en el hueso cortical y trabecular, respectivamente. Los osteocitos son los responsables del remodelado óseo ya que regulan la diferenciación de los osteoclastos y los osteoblastos y, por consiguiente, la resorción y la formación (Kenkre & Bassett, 2018). Veamos, por tanto, cada una de estas fases para entender mejor este proceso:

**Figura 12:** Fases específicas del proceso de remodelado óseo: activación, resorción, inversión, formación y finalización (Kenkre & Bassett, 2018).



**Activación** (Goldring, 2015): Como se ha descrito anteriormente, el remodelado implica un proceso de eliminación de hueso dañado o inservible en un área específica del mismo, lo que implica en primer lugar, que los osteocitos emitan una señal a través de una extensa red de procesos dendríticos para emitir señales a otras células. La apoptosis de los osteocitos, inducida por factores dirigidos como una alteración de la canalícula debido a un microdaño causado en la matriz ósea, conlleva la liberación de factores paracrinos que incrementan la angiogénesis local y el reclutamiento de precursores de osteoclastos y osteoblastos (Goldring, 2015).

El remodelado óseo inducido por factores no dirigidos, hace referencia al remodelado en respuesta a modificaciones sistémicas en las hormonas como la PTH para permitir el acceso a los almacenes de calcio, y no está dirigido a un área específica (Kenkre & Bassett, 2018).

**Resorción** (Delaissé et al., 2003): Este proceso comienza con la activación y la diferenciación de los osteoclastos por los osteocitos. Esta reestructuración implica que dichas células se adhieran a la superficie del hueso, la formación de una zona de sellado y la generación de un borde ondulado para proveer una mejor área. Para empezar, los osteoclastos bombean protones en el espacio a reabsorber para disolver el hueso, concretamente, el  $H^+$ -ATPasa bombea  $H^+$  en la laguna, el cual se acopla con el  $Cl^-$  con el objetivo de mantener la electroneutralidad. Posteriormente, el colágeno de la matriz se degrada por la acción de las proteasas. Esta fase, por tanto, finaliza con la muerte programada de los osteoclastos para evitar el exceso de resorción (Delaissé et al., 2003).

**Inversión** (Eriksen et al., 1984): Es en este momento cuando la resorción cambia a la formación y donde tienen lugar dos hechos importantes. El primero es que la superficie del hueso resorbido está lista para la deposición del nuevo hueso y una posterior señalización tiene lugar para que la resorción y la formación estén equilibradas evitando una pérdida de hueso neta. En segundo lugar, la preparación de dicha superficie es responsabilidad de células osteoblásticas las cuales eliminan la matriz de colágeno desmineralizada para que la nueva matriz mineralizada se deposite y así mejorar la adherencia de los osteoblastos (Eriksen et al., 1984).

**Formación** (Eriksen et al., 1984): Este proceso se divide en dos estadios: el primero donde los osteoblastos sintetizan y secretan la matriz osteoide (aún sin mineralizar) rica en colágeno tipo I. En segundo lugar, el papel que juegan los osteoblastos en la regulación de la mineralización osteoide.

El proceso de mineralización ósea a través del cual los cristales de hidroxapatita se depositan entre las fibras de colágeno, no se comprende totalmente. El control se ejerce a través de una regulación sistémica de concentraciones de calcio y fosfato dentro de los vesículos de la matriz extracelular y a través de inhibidores locales de mineralización como la osteopontina (OPN). La relación pirofosfato/fosfato constituye un regulador esencial en la mineralización (Eriksen et al., 1984).

**Finalización** (Bonewald, 2011): Una vez que el proceso de mineralización ha finalizado, los osteoblastos sufren un proceso de apoptosis quedando sepultados en la matriz celular. Los osteocitos, por su parte, determinan la finalización del proceso de remodelado a través de la secreción de antagonistas de la osteogénesis, concretamente antagonistas de la ruta de señalización Wnt como la esclerostina (SOST) (Bonewald et al., 2011).

### 2.2.3. Equilibrio formación/resorción

Mohan & Baylink (1996), formularon la hipótesis de que la liberación del factor de crecimiento IGF1 e IGF2, y algunas citoquinas incrustadas en la matriz ósea durante el proceso de resorción aseguran un equilibrio entre formación y resorción durante el remodelado óseo. Dicha hipótesis se confirma con otros trabajos donde la formación ósea osteoblástica proseguía inalterada a pesar de la ausencia de resorción en presencia de osteoclastos defectuosos sin canales de ácido clorhídrico o elementos esenciales para la formación de bordes ondulados en la superficie de los osteoclastos como la tirosina quinasa c-Src (Karsdal et al., 2007).

Otro sistema responsable de mantener el equilibrio entre formación y resorción son las proteínas transmembranas efrina B2 que se expresa en los osteoblastos y el EPH receptor B4 (EphB4) que se expresa en los osteoclastos (Eriksen, 2010). Además, el factor osteoclástico

esfingosina 1-fosfato (SIP) juega un papel esencial. La interacción entre la efrina B2 y la EPH promueve la diferenciación osteoblástica mientras que reprime la diferenciación osteoclástica. La secreción de SIP por los osteoclastos parece reclutar células progenitoras de osteoblastos en los lugares donde se produce la resorción y estimular la diferenciación de estas células progenitoras estimulando la señalización del EphB4. Esto da lugar a un cese de resorción y el inicio de una fase de formación en la también llamada fase de transición (Eriksen, 2010).

### Remodelado estocástico y dirigido

El remodelado óseo estocástico implica la participación de hormonas como la PTH, tiroxina, la hormona de crecimiento y estrógenos. La principal vía para esta regulación es a través de la modulación de los osteoclastos afectando en última instancia a la actividad osteoblástica (Eriksen, 2010). En el remodelado óseo dirigido, se asegura la eliminación del hueso dañado a través de la resorción. Los osteocitos constituyen las células más abundantes en el hueso, y su muerte a causa de microtraumatismos conduce al inicio de la resorción osteoclástica (Cardoso et al., 2009). La resorción es 3 veces más frecuente en microtraumatismos lo cual indica que el remodelado está asociado con la reparación de dichos daños. Los osteocitos dañados promueven la diferenciación de precursores de osteoclastos a través de la secreción de M-CSF y RANKL. Por otro lado, en el hueso cortical existe evidencia que sugiere que estos microtraumatismos no sólo activan nuevas Unidades Básicas Multicelulares, sino que también pueden dirigir el movimiento de BMU existentes cuando perforan el córtex. El grado de daño a la red de osteocitos determina la respuesta metabólica de los osteocitos a las cargas influenciando el remodelado dirigido (Henriksen et al., 2007).

### 2.3. Efectos del ejercicio sobre el turnover óseo y el metabolismo energético

La actividad física que supone levantar una carga produce un efecto osteogénico sobre el hueso (Creighton et al., 2000). Los atletas que practican deportes que incrementan el estrés mecánico elevan también su Densidad Mineral Ósea (DMO) si se les compara con la población general. Otros, en cambio, donde no soportan ningún estrés mecánico sobre los huesos, obtienen menos beneficios a nivel óseo que aquellos atletas que realizan actividades de levantamiento de cargas (Dook et al., 1997).

Aquellos atletas que entrenan en ausencia de impactos por periodos extensos de tiempo, pueden sufrir efectos negativos en su densidad mineral ósea. Este dato se apoya en el hallazgo de un bajo nivel de formación ósea, así como una alteración en los procesos de resorción y formación (Creighton et al., 2000). Un estrés aplicado repetidamente en aquellos lugares donde se soporta una carga mecánica durante periodos extensos de tiempo actúa como un agente que fortalece la salud ósea. Estos datos demuestran que los ejercicios donde se soporta un determinado peso pueden ser más beneficiosos para la salud ósea que, por ejemplo, deportes con bajo o nulo impacto (Creighton et al., 2000).

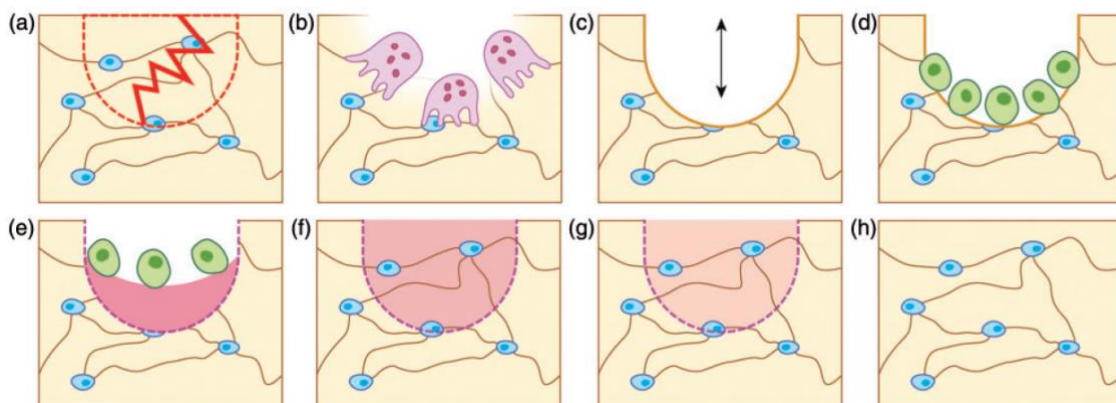
Cabe destacar que aquellos protocolos de entrenamiento que se caracterizan por pocas repeticiones y varias sesiones y aquellos que tienen un intervalo de tiempo amplio entre cada carga (30s) son más efectivos para la densidad ósea que la repetición de un único estímulo (Robling et al., 2002) o con intervalos cortos de tiempo en cada carga (3s) (Umemura et al., 2002) porque la mecanosensibilidad del hueso tiende a disminuir y requiere un periodo de recuperación más dilatado después de cada carga.

Un indicador significativo que determina la influencia del ejercicio en el remodelado óseo lo determinan las fracturas óseas (Hughes et al., 2018). Las fracturas generadas por estrés mecánico son comunes y provocan lesiones que se producen generalmente en el tren inferior de atletas o personal militar. Dichas fracturas se originan durante ejercicios de alta intensidad como los que caracterizan el entrenamiento básico de combate (EBC) del personal militar de los Estados Unidos el cual incluye running, ejercicios de fuerza y marcha (Simpson et al., 2013), siendo la tibia, el peroné, los metatarsos, el fémur y la pelvis los huesos más susceptibles de sufrir roturas durante estos protocolos de entrenamiento (Lee, 2011). Básicamente, las fracturas por estrés se originan cuando los efectos negativos transitorios de la resorción ósea superan los efectos protectores de la formación, es decir, uno de los objetivos del remodelado óseo es la reparación del daño ocasionado por la fatiga, la eliminación de estos microdaños se denomina, como hemos visto anteriormente, remodelado dirigido el cual da lugar a una porosidad temporal que puede contribuir a que se produzca una fractura. Este proceso puede resultar paradójico en tanto en cuanto puede provocar una fractura ya que introduce un alto índice de porosidad pero al mismo tiempo puede evitar la fractura reemplazando el hueso dañado (Hughes et al., 2017). Sin embargo, existe un

incremento de la densidad ósea volumétrica en personal civil y militar después de un periodo de entre 8-13 semanas de entrenamiento militar y de entrenamientos de resistencia aeróbico (Evans et al., 2012).

Inmediatamente después de una carga repetitiva, el hueso sufre un microdaño que reduce su coeficiente de elasticidad. Este microdaño precede al proceso de apoptosis de los osteocitos en áreas del tejido óseo dañado. Esta apoptosis es fundamental para estimular la expresión de las proteínas pro-osteoclásticas, el factor nuclear activador RANKL (Xiong et al., 2015) y el factor de crecimiento endotelial VEGF (Kennedy et al., 2014). Con el reclutamiento de los osteoclastos en el lugar de remodelado el hueso es resorbido y el espacio resultante representa un equilibrio óseo negativo que puede reducir la dureza del hueso hasta que la cavidad se completa con hueso totalmente mineralizado. En cada lugar de remodelado, la formación se acopla con la resorción pero la deposición del nuevo hueso formado por los osteoblastos no restablece inmediatamente la rigidez mecánica del hueso. Después de la deposición de hueso no mineralizado tiene lugar una mineralización rápida de la matriz depositada (Bennell et al., 1998). Dicho proceso se denomina “primera mineralización” y durante las siguientes semanas después de la deposición de la matriz aproximadamente un 65-70% de la mineralización queda completada (Figura 13f). Lo que resta de mineralización (segunda mineralización Figura 13g) tiene lugar dentro del primer año y continua según el intervalo de vida del tejido (Fuchs et al., 2008). Esto significa que cada nueva unidad de remodelado requiere más de un año antes de recuperar las propiedades mecánicas iniciales.

**Figura 13:** Esquema del proceso de remodelado óseo después del daño por fatiga en el hueso trabecular. (a) Microdaño linear perturbando el sistema lacunocanalicular de los osteocitos provocando apoptosis en los osteocitos en el área afectada (zona punteada). (b) Resorción osteoclástica del hueso dañado. (c) Espacio óseo negativo temporal debido a la resorción osteoclástica. (d) Reclutamiento de los osteoblastos en el espacio de remodelado. (e) Deposición de los osteoblastos de hueso desmineralizado de la matriz ósea (osteóide). (f) Primera mineralización de la nueva matriz depositada. (g) Segunda mineralización de la matriz ósea. (h) Ciclo de remodelado óseo completo (Hughes et al 2017).



Todos estos estudios sugieren que los cambios anabólicos del hueso en jóvenes adultos ocurren relativamente rápido en respuesta de una actividad física no habitual. Los huesos se someten a cambios adaptativos en respuesta a la carga mecánica percibida. Estos datos son coherentes con la teoría de la adaptación funcional del hueso que propone que los huesos más débiles experimentarán las tensiones más fuertes y, por lo tanto, sufrirán mayor adaptación ósea (Frost, 2003).

Además de los cambios producidos en la microarquitectura de la formación ósea, se observa un descenso de la densidad mineral ósea cortical y en la densidad mineral del tejido cortical tanto en diáfisis como en la metáfisis (Parfitt, 1987). Estas diferencias pueden deberse a la naturaleza desmineralizada del nuevo hueso formado. Cuando la nueva matriz ósea, u osteoides, se deposita, el tejido óseo puede tardar más de un año en mineralizarse descendiendo la media total de la densidad mineral ósea (Parfitt, 1987). Sin embargo, una respuesta fisiológica que podría ser la causa de un descenso de esta densidad es la intensificación del remodelado óseo, es decir, el remodelado intercortical se intensifica durante un ejercicio físico agudo como un intento de sustituir el hueso dañado por la fatiga (Robling et al., 2006). El daño en el hueso ocasionado por la fatiga después de una carga mecánica desencadena un proceso de apoptosis en los osteocitos, las primeras células mecanosensitivas en el hueso seguido de una señalización pro-osteoclástica con el subsiguiente remodelado óseo (Kennedy et al., 2014). Como existe un periodo entre la resorción osteoclástica y la formación osteoblástica con la consiguiente mineralización, la densidad mineral ósea media podría declinar. Sin embargo, se observan incrementos en los valores de los marcadores de resorción ósea que apoyan la idea de que el proceso de remodelado podría haber ocurrido durante la aplicación de un entrenamiento básico de combate (EBC) (Hughes et al., 2018).

Hughes et al., (2018) observó que los cambios en la densidad y la microestructura del hueso cortical y trabecular producidos por la aplicación del EBC fueron más significativos que los tratamientos para la osteoporosis, por ejemplo, el descenso de la BMD cortical del 0.3-0.7% en la tibia después de 8 semanas de la aplicación del EBC aunque algo más reducido, es análogo al 1.6% de descenso de la BMD cortical de la tibia después de un año de tratamiento con un estimulador de remodelado óseo. Del mismo modo, un año de tratamiento con un



agente antiremodelado produjo aproximadamente un 2% de incremento total de la BMD en la tibia distal (Tsai et al., 2015). Hughes et al., (2018) establece una ganancia de aproximadamente otro 2% en la misma zona después de la aplicación del EBC durante 8 semanas. Es evidente que los dos mecanismos de acción de las dos terapias difieren y son marcadamente distintas respecto a los cambios metabólicos inducidos por la carga mecánica generada durante la EBC (Hughes et al., 2018).

Los huesos de los atletas pueden exponerse a grandes cargas mecánicas ante las cuales el hueso responde mejorando su densidad mineral ósea en zonas específicas (Fehling et al., 1995). El estímulo osteogénico que controla la masa ósea se origina a consecuencia de la carga provocada por la deformación mecánica. Se ha sugerido que el remodelado óseo está relacionado con una *señalización errónea* (la diferencia entre una tensión local producida por una carga habitual y otra específica o aguda). El entrenamiento que produce tensiones elevadas con grandes picos de fuerza constituye un efecto eficaz con resultados osteogénicos en mujeres jóvenes (Heinonen et al., 1998). Incluso caminar a una intensidad elevada puede provocar este mismo efecto en los huesos de los miembros inferiores según la alternancia en la orientación y el ritmo de la carga debido a un impacto sobre el talón más corto y a una mayor fuerza de reacción de la cadera (Bergman et al., 1993). Las magnitudes del pico de estrés o de la tensión son significativamente más altas para actividades como caminar, saltar a la comba y jogging que en ejercicios de fuerza de resistencia (Andersson et al., 1996), siendo la tensión en el tejido óseo proporcional a la velocidad de desplazamiento al andar. Como consecuencia, caminar rápido en pendientes y practicar jogging a baja intensidad, probablemente produzcan tensiones más altas y diferentes distribuciones de fuerza comparados con actividades como pasear. En cambio, para que en ejercicios de fuerza se produzcan modificaciones en la densidad mineral ósea, éstos tienen que producir una tensión lo suficientemente alta y una distribución de fuerzas no habitual para producir un estímulo efectivo (Heinonen et al., 1998).

La naturaleza de la carga podría explicar el efecto positivo en la densidad mineral ósea (Tablas 2 y 3). Caminar a paso enérgico o practicar jogging puede producir una fuerza de reacción del suelo 1.2-1.5 veces el peso del cuerpo cuando se camina a un ritmo normal y 2.5 veces cuando se practica running (Subotnick 1985), incluso las fuerzas que actúan sobre la

articulación de la cadera durante una práctica tan habitual como caminar pueden ser de hasta 4.8 veces el peso del cuerpo en el caso de que existan una errónea angulación de las palancas de los músculos implicados en el movimiento (Bergman et al., 1993).

**Tabla 2:** Media ( $\pm$ SD) de la densidad mineral ósea ( $g/cm^3$ ) según el deporte practicado (Fehling et al., 1995).

Skeletal site	Physical activity			
	Volleyball	Swimming	Gymnastic	Control
Lumbar spine (L1-4)	1.22 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	1.05 $\pm$ 0.07	1.17 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.02 $\pm$ 0.07
Femoral neck	1.12 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>	0.92 $\pm$ 0.05	1.06 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>	0.91 $\pm$ 0.07
Ward's triangle	1.05 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	0.83 $\pm$ 0.04	0.95 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	0.80 $\pm$ 0.08
Total body*	1.29 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	1.14 $\pm$ 0.05	1.22 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	1.11 $\pm$ 0.05
Left arm	0.99 $\pm$ 0.05 <sup>d</sup>	0.92 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	0.86 $\pm$ 0.06
Right arm	1.03 $\pm$ 0.08 <sup>a</sup>	0.90 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.85 $\pm$ 0.06
Left leg	1.48 $\pm$ 0.09 <sup>b</sup>	1.23 $\pm$ 0.04	1.32 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.20 $\pm$ 0.07
Right leg	1.46 $\pm$ 0.08 <sup>b</sup>	1.25 $\pm$ 0.04	1.35 $\pm$ 0.07 <sup>c</sup>	1.22 $\pm$ 0.06
Pelvis	1.42 $\pm$ 0.11 <sup>a</sup>	1.20 $\pm$ 0.06	1.35 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	1.17 $\pm$ 0.09
Torso**	0.94 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	0.85 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.08 <sup>c</sup>	0.79 $\pm$ 0.04

\*Includes the head.

\*\*The sum of the left and right ribs, thoracic spine, and lumbar spine from total body scan.

<sup>a</sup> $p < 0.05$ ; volleyball and gymnastic greater than swimming and control.

<sup>b</sup> $p < 0.05$ ; volleyball greater than swimming, gymnastic, and control.

<sup>c</sup> $p < 0.05$ ; gymnastic greater than swimming and control.

<sup>d</sup> $p < 0.05$ ; volleyball greater than swimming and control.

<sup>e</sup> $p < 0.05$ ; volleyball and gymnastic greater than control.

**Tabla 3:** Densidad ósea ajustada a la altura y el peso ( $g/cm^2$ ) según el deporte practicado (Fehling et al., 1995).

Skeletal site	Physical activity			
	Volleyball	Swimming	Gymnastic	Control
Lumbar spine (L1-4)	1.16 <sup>a</sup>	1.03	1.20 <sup>a</sup>	1.03
Femoral neck	1.08 <sup>a</sup>	0.90	1.08 <sup>a</sup>	0.92
Ward's triangle	0.98 <sup>a</sup>	0.81	0.98 <sup>a</sup>	0.81
Total body*	1.27 <sup>a</sup>	1.13	1.24 <sup>a</sup>	1.10
Left arm	0.93	0.90	1.04 <sup>b</sup>	0.88
Right arm	0.93	0.87	1.04 <sup>b</sup>	0.87
Left leg	1.43 <sup>c</sup>	1.22	1.34 <sup>d</sup>	1.21
Right leg	1.40 <sup>a</sup>	1.23	1.37 <sup>a</sup>	1.23
Pelvis	1.43 <sup>a</sup>	1.20	1.35 <sup>a</sup>	1.16
Torso**	0.89 <sup>c</sup>	0.84	0.90 <sup>c</sup>	0.80

\*Includes the head.

\*\*The sum of the left and right ribs, thoracic spine, and lumbar spine from total body scan.

<sup>a</sup> $p < 0.05$ ; volleyball and gymnastic greater than swimming and control.

<sup>b</sup> $p < 0.05$ ; gymnastic greater than volleyball, swimming, and control.

<sup>c</sup> $p < 0.05$ ; volleyball greater than gymnastic, swimming, and control.

<sup>d</sup> $p < 0.05$ ; gymnastic greater than swimming and control.

<sup>e</sup> $p < 0.05$ ; volleyball and gymnastic greater than control.

Un 70% de intensidad sobre el  $VO_2$ máx se acerca al umbral anaeróbico que en mujeres postmenopáusicas constituye la transición de caminar a correr. Dicha transición

representa la frontera entre una carga liviana sobre el hueso (andar a intensidad moderada) y otra más intensa diferente a los movimientos rutinarios de intensidad moderada o baja como los descritos anteriormente. Por ejemplo, caminar a paso rápido (7.2 km/h) que excede el umbral anaeróbico produce un aumento de la densidad mineral ósea en la columna lumbar, sin embargo, caminar a una velocidad más reducida (6.2 km/h) por debajo del umbral anaeróbico no produce modificación alguna en la densidad mineral ósea de la misma zona (Hatori et al., 1995).

### 2.3.1. Factores hormonales y nerviosos que afectan al proceso de remodelado óseo y al metabolismo energético y que se pueden ver afectados por el ejercicio

Es necesario profundizar en los procesos hormonales que intervienen en el remodelado óseo y cómo se desarrollan durante el ejercicio. Nos vamos a centrar principalmente en los siguientes biomarcadores óseos: la hormona adrenocorticotropina (ACTH), la hormona paratiroidea (PTH), osteocalcina (OC), osteoprotegenina (OPG), esclerontina (SOST), osteopontina (OPN) y fosfatasa alcalina (ALP). Respecto a los marcadores nerviosos estudiaremos la insulina, cortisol, leptina, la adrenalina, la noradrenalina y el coactivador 1 $\alpha$  del receptor activado gamma del proliferador de peroxisoma (PGC-1 $\alpha$ ).

#### Biomarcadores óseos

La hormona **ACTH** es un péptido de 39 aminoácidos derivado de la escisión de pro-opiomelanocortina (POMC), se procesa y secreta en la pituitaria para estimular la producción de cortisol en la glándula adrenal pero también la producen otras células como los macrófagos (Isales et al., 2010). La síntesis de ACTH se estimula en la pituitaria por el factor de liberación de corticotropina (CRF) liberado por el hipotálamo, por la arginina, la vasopresina (hormona antidiurética), por citoquinas antiinflamatorias, como al IL-6, IL-1 y el factor de inhibición de la leucemia (LIF). Entre las principales funciones de la ACTH se encuentran la estimulación de la secreción de cortisol, la inhibición de la producción de los anticuerpos de las células  $\beta$ , inhibir la proliferación de células T, estimular la migración de las células mononucleares y la fagocitosis y estimular la proliferación de los osteoblastos (Zhong et al., 2005).

Los osteoclastos son precursores de los macrófagos, con lo cual pueden fabricar y liberar ACTH. De forma aislada, los osteoclastos sintetizan y liberan ACTH en cultivos (Zhong et al., 2005). La enzima 11- $\beta$ -hidroxiesteroidea (11- $\beta$ HSD) que controla la conversión desde corticoesteroides inactivos a activos está presente en los osteoblastos y controla los niveles de glucocorticoides en el hueso (Cooper, 2008), en otras palabras, el eje CRF-POMC-ACTH-glucocorticoides está presente en las células óseas y concede al hueso la capacidad de responder a lesiones y daños con un incremento de la actividad osteoclástica (Isales et al., 2010).

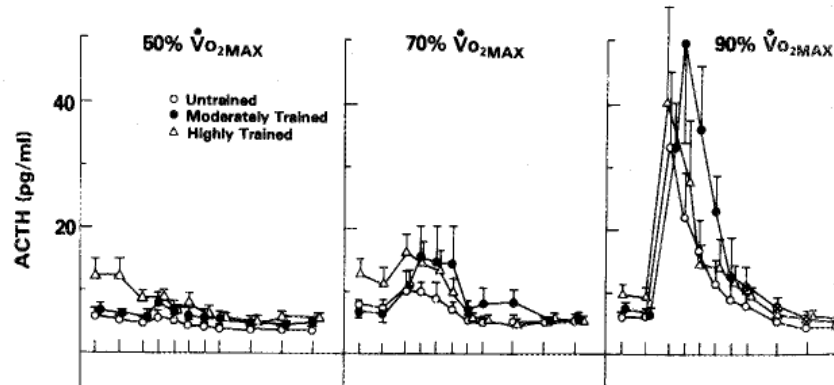
Esta hormona es capaz de incrementar significativamente la síntesis de colágeno en los osteoblastos. Sin embargo, la respuesta de la ACTH parece tener un efecto umbral (Isales et al., 2010). El efecto potencial de la ACTH incluye la unión directa a los receptores de la ACTH en las células óseas. De forma intermitente, la ACTH puede actuar conjuntamente con los glucocorticoides para estimular la diferenciación de los osteoblastos y podría interactuar con otros péptidos los cuales pueden unirse a receptores específicos para modular la actividad de los osteoblastos (Isales et al., 2010). Probablemente, la ACTH interactúe de forma sinérgica con otras hormonas, esteroides o factores de crecimiento para modificar la actividad ósea, es decir, la acción de la ACTH en el hueso está integrada en el funcionamiento del equilibrio energético en el conjunto del organismo (Isales et al., 2010).

La ACTH ofrece un efecto osteo-protector (Zofkova & Matucha, 2014). En altas concentraciones activa el colágeno tipo I ARNm y a través de los receptores de la melanocortina (MC2R) estimula la proliferación de los osteoblastos y la formación ósea. Bajos niveles de ACTH tienen el efecto contrario (Isales et al., 2010).

El ejercicio provoca elevaciones de las concentraciones en plasma de ACTH y cortisol y puede considerarse como un estímulo natural del eje adrenal-pituitario (Luger et al., 1987). Los sujetos entrenados tienen menos activación del eje adrenal-pituitario-hipotalámico comparados con sujetos desentrenados para una determinada carga. Es decir, dicha activación es inversamente proporcional a su nivel de condición física. De este modo, las adaptaciones al ejercicio se asocian con una respuesta reducida por parte del eje adreno-pituitario, similar a lo que ocurre con la respuesta del sistema nervioso autónomo ante una carga de trabajo (Cousineau et al., 1977).

En ejercicios superiores al 60% del  $\dot{V}O_2$ máx, los niveles de ACTH y cortisol se elevan de forma significativa. Dicha respuesta es similar tanto para sujetos entrenados como para no entrenados en términos relativos de carga de trabajo (Luger et al., 1987) (Figura 14). No obstante, aquellos atletas altamente entrenados pueden tener altos niveles basales de ACTH y cortisol (Luger et al., 1987).

**Figura 14:** Media ( $\pm$ SP) plasmática de ACTH según diferentes intensidades (50, 70 y 90% del  $\dot{V}O_2$ máx en tapiz rodante (Luger et al., 1987).



Cabe destacar que la disminución de las concentraciones de cortisol en reposo mediante un programa de entrenamiento de fuerza sin modificaciones significativas en las concentraciones de ACTH indica que los receptores de la ACTH en la glándula adrenal podrían disminuir (Hickson & Marone, 1993). Con el entrenamiento, la disminución de la respuesta del cortisol al ejercicio de fuerza se puede observar en hombres jóvenes, lo cual coincide con estudios anteriores similares (Staron et al., 1994). Estas modificaciones en la respuesta del cortisol después del ejercicio están determinadas por la reducción en la respuesta de la ACTH al ejercicio. La disminución del cortisol proporciona un mecanismo a través del cual la acumulación de proteínas a través de la reducción de la degradación en las fibras musculares tipo I mejora. En otras palabras, se produce una disminución en la respuesta hormonal catabólica que resulta en un entorno anabólico favorable para la degradación proteica o el incremento de la síntesis proteica (Kraemer et al., 1999).

La **PTH** es un polipéptido ácido de 84 enlaces amino sintetizada y secretada por las glándulas paratiroides de forma análoga a la secreción del calcio, mantiene la homeostasis del calcio, controla la reabsorción renal de fosfato y la vitamina  $D_3$  y modula el turnover óseo a través del receptor PTH/PTHrP. Dichos receptores se expresan en el hueso y el hígado,

principalmente (Bellido et al., 2012). La síntesis y secreción de PTH se controlan mediante el receptor-controlador del calcio CaSR (Silva & Bilezikian, 2015).

La hormona paratiroidea constituye el mayor regulador de las funciones del metabolismo óseo para mantener las concentraciones de calcio de los fluidos extracelulares dentro de los límites fisiológicos normales. La PTH es también determinante en la homeostasis del calcio intracelular (Rasmussen, 1968). Los principales órganos objetivos de esta hormona son el hígado y la estructura esquelética.

La PTH tiene un efecto bifásico en el hueso: el tratamiento continuo es catabólico, mientras que el tratamiento intermitente es anabólico (Locklin et al., 2003). Algunos estudios muestran que la práctica del ejercicio hasta la extenuación (Brahm et al., 1997) y ejercicios continuos (2 ejercicios de 21' al 70% y 85% del  $VO_2$ máx, respectivamente) o intermitentes (2 ejercicios de 21' cada uno al 70% y 85% del  $VO_2$ máx con 40' de recuperación) a una intensidad submáxima (Bouassida et al., 2006) mejoran las concentraciones de la PTH. Sin embargo, estos resultados son contradictorios. Otras investigaciones no encontraron cambios significativos en las concentraciones de PTH después de un ejercicio máximo (Kristoffersson et al., 1995).

La calcitonina, el Ph y las catecolaminas pueden modificar la secreción de PTH. Índices elevados de PTH aumentan el turnover óseo dando lugar a efectos tanto catabólicos como anabólicos en los huesos dependiendo de la duración del incremento de la hormona (Poole & Reeve, 2005). Los rangos normales de las concentraciones de PTH oscilan entre 0.5-5.0  $pmol^{-1}$  en adultos jóvenes (Hodsman et al., 1993) y 0.40-1.08  $pmol^{-1}$  en hombres por debajo de 50 años. El suministro intermitente de PTH produce efectos anabólicos sobre la formación ósea estimulando la proliferación de osteoblastos, promocionando la diferenciación de preosteoblastos y osteoblastos, e inhibiendo la apoptosis de los osteoblastos. El incremento de la resorción ósea se produce por el incremento de las células de absorción, los osteoclastos (Silva et al., 2015). Sin embargo, la PTH no activa directamente los osteoclastos. El efecto de la PTH para estimular la resorción parece ser que es indirecto, a través de su influencia sobre los osteoclastos y los osteocitos (Xiong & O'Brien, 2012).

La continua secreción de PTH, causa del efecto catabólico del esqueleto, incrementa la codificación de ARNm para RANKL y disminuye la codificación de ARNm para la OPG

derivando a un incremento en la ratio de RANKL/OPG y, como consecuencia, aumento de la osteoclastogénesis y la resorción ósea (Silva & Bilezikian, 2015). Estudios recientes muestran que la PTH también estimula la producción de RANKL en los osteocitos (Bellido et al., 2013). Los osteocitos, y no los osteoclastos, pueden considerarse la mayor fuente de RANKL para la osteoclastogénesis (Xiong et al., 2014). La ausencia del gen *Tnfrsf11* codificador de RANKL en los osteocitos desarrolla un incremento de la masa ósea con la edad lo cual se asocia con la reducción del número de osteoclastos y, por lo tanto, con la resorción ósea (Xiong et al., 2014).

La ruta OPG-RANKL-RANK parece ser, además, el principal mediador de las acciones catabólicas de la PTH (Nakchbandi et al., 2008). Los niveles circulantes de RANKL se correlacionan positivamente con los marcadores de resorción ósea y los índices de pérdida de masa ósea en pacientes con hiperparatiroidismo (Nakchbandi et al., 2008).

Sin embargo, el efecto catabólico de la esta hormona es consecuencia de condiciones patológicas en las cuales se secreta demasiada cantidad de PTH de forma continuada a un nivel sostenido. Tal ritmo de secreción (como ocurre en la disfunción renal crónica y en el hiperparatiroidismo) puede desembocar en la destrucción ósea (Poole et al., 2005). La continua secreción de PTH puede dar lugar a un incremento de la expresión del receptor activador del factor nuclear Kappa B, (RANKL) y, en consecuencia, de la osteoclastogénesis con un efecto inhibitorio de la expresión de la osteoprotegerina (Locklin et al., 2003).

De forma similar a la exposición continua de PTH, el tratamiento intermitente de esta hormona lleva a un incremento del turnover óseo (Silva et al., 2015). En pacientes tratados con PTH de forma intermitente se produce una incipiente estimulación de formación ósea sin resorción seguida de un aumento general de turnover óseo (Silva et al., 2015). El periodo de tiempo en el que la PTH alcanza su pico anabólico se denomina *ventana anabólica* (Greenspan et al., 2007). El remodelado óseo correspondiente a la formación ósea inducida por la PTH tiene lugar en áreas de remodelado donde se produce un desbordamiento de las cavidades de resorción ósea con extensión de la formación más allá de los márgenes de la cavidad de resorción. El concepto de ventana anabólica incluye un periodo de tiempo después del efecto de modelado óseo que ya no es prominente, porque, incluso cuando el remodelado es estimulado, la formación ósea excede la resorción (Silva et al., 2015).

Los receptores de la PTH se encuentran en los preosteoblastos, osteoblastos, células de revestimiento y osteocitos. La administración de PTH intermitente actúa en los osteoblastos para promover la osteoblastogénesis, reduce la apoptosis de los osteoblastos y reactiva las células de revestimiento inactivas (Kim et al., 2012). Un incremento en la diferenciación de los osteoblastos parece ser el principal mecanismo por el cual la PTH estimula la osteoblastogénesis (Silva et al., 2015). La PTH paraliza el ciclo de los osteoblastos, reforzando su función de diferenciación osteogénica (Wang et al., 2007).

El ejercicio influye considerablemente en las concentraciones de PTH dependiendo de la intensidad y de la duración. Existe un umbral de estimulación de hueso para el ejercicio a partir del cual se incrementan las concentraciones de PTH. Maïmoun et al., (2005) analizaron las respuestas de la PTH antes y después de un test de intensidad máxima creciente en hombres y mujeres mayores y detectaron que dicho incremento podría tener un efecto anabólico en el turnover óseo (Maïmoun et al., 2005).

Las variaciones en las concentraciones de PTH durante y después del ejercicio dependen tanto de la duración como de la intensidad lo cual sugiere que existe un umbral de estimulación de la PTH (Bouassida et al., 2006)

La **OC** es una proteína de 5 kilodaltons (kDa) no colágena también conocida como proteína ósea GLa (García-Martín et al., 2013) que se sintetiza y secreta por células pertenecientes a la familia de los osteoblastos. Es una de las proteínas más ricas en colágeno de la matriz ósea. La mayor cantidad de osteocalcina se encuentra en la matriz ósea y en pequeñas cantidades en la sangre, ya que tiene una fuerte afinidad por la matriz ósea (Shao et al., 2015). Una gran proporción de osteocalcina descarboxilada está en la circulación y puede actuar directamente sobre células beta pancreáticas y los adipocitos (Ferron et al., 2008) lo que lleva a considerar al hueso como un órgano endocrino basado en la secreción de osteocalcina, la cual incrementa la secreción de insulina, disminuye la glucosa plasmática e incrementa tanto la sensibilidad a la insulina como el gasto energético (Lee et al.; 2007). De hecho, la inactivación de la osteocalcina provoca un incremento de grasa visceral junto con una intolerancia a los carbohidratos, bajos niveles de insulina, modificaciones de la respuesta de la insulina a la glucosa y una disminución de las células beta pancreáticas (Motyl et al., 2010). Los pacientes diabéticos tienen menos niveles de osteocalcina comparados con los no



diabéticos, y existe una relación inversa entre la osteocalcina y la glucosa basal, la insulina basal, la hemoglobina glicosilada (Hba1C), el índice de resistencia a la insulina (HOMA-IR), la alta sensibilidad a la proteína reactiva-C (hsCRP), la interleukina 6 (IL-6), el índice de masa corporal, el porcentaje de grasa, así como una relación directa con la adiponectina (Pittas et al., 2009). El marcador de adiposidad puede predecir los cambios producidos en la osteocalcina (García-Martín et al., 2013), lo cual se confirma en otros estudios donde los diferentes niveles de osteocalcina son resultado de cambios en el metabolismo de los carbohidratos (Hwang et al., 2012).

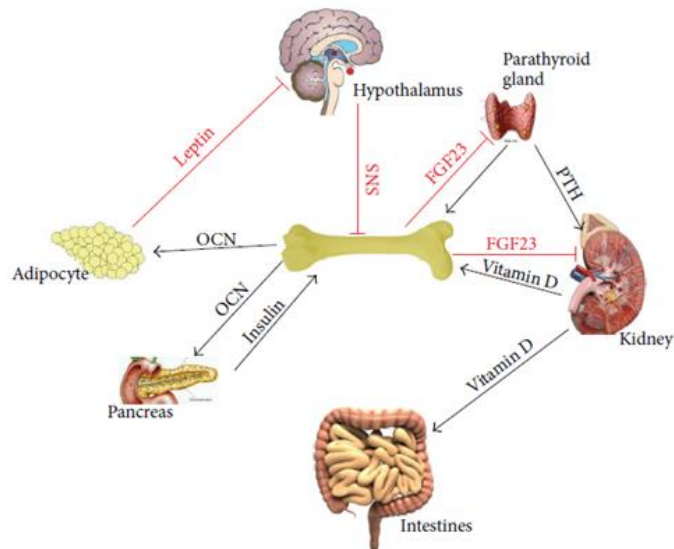
La osteocalcina tiene una función proosteoblástica o de formación ósea. Los osteoblastos pueden secretar OC para estimular la diferenciación osteoblástica así como la maduración y diferenciación de los osteocitos (Shao et al., 2015).

Nishiyama et al., (1988) estudiaron los niveles de OC inmediatamente y una hora y 30' después de un ejercicio en tapiz rodante en jóvenes varones atletas y no atletas. En ambos grupos los niveles séricos de OC incrementaron significativamente después del ejercicio manifestándose en primer lugar en sujetos desentrenados. Este hallazgo sugiere que el cambio en los marcadores de remodelado óseo se puede atribuir a procesos de adaptación aguda más que a efectos producidos por el ejercicio sobre el hueso en el largo plazo (Woitge et al., 1998).

Woitge et al., (1998) estudiaron los efectos del ejercicio aeróbico y anaeróbico, encontrando elevadas concentraciones de OC en el grupo de ejercicio anaeróbico. Sin embargo, concluye que el ejercicio aeróbico produce cambios compatibles con la reducción de la resorción ósea, mientras que el ejercicio anaeróbico resulta en una aceleración del turnover óseo.

La osteocalcina también desempeña un papel importante en el metabolismo energético, especialmente en el metabolismo de la glucosa. Con la administración de OC en ratones se obtuvo una actividad elevada de la insulina, un nivel menor de glucosa en sangre, mayor tolerancia a la glucosa y mayor sensibilidad a la insulina (Lee et al., 2007). Estos datos indican que la OC puede incrementar la secreción y la sensibilidad a la insulina en algunos tejidos como los músculos y el tejido adiposo (Shao et al., 2015) (Figura 15).

**Figura 15:** El esqueleto regula la homeostasis energética y mineral. En la homeostasis mineral, los bajos niveles de calcio estimulan la liberación de la hormona PTH, la cual también regula los niveles de calcio sanguíneo a través de la estimulación osteoclástica de la resorción y la producción renal de vitamina D para incrementar la absorción intestinal de calcio. La OC afecta también a las células pancreáticas  $\beta$  incrementando los niveles de insulina, la cual tiene un efecto feedback sobre el hueso derivando hacia la producción de OC. La OC también afecta a las grasas para estimular la producción de adiponectina y regular la sensibilidad a la insulina (Shao et al., 2015).



La osteocalcina actúa directamente sobre cultivo de células y diferentes cantidades regulan la proliferación celular y la secreción de la insulina, por un lado, mientras que por otro regulan la masa grasa y la sensibilidad a la insulina (Ferron et al., 2008). La administración intermitente de osteocalcina reestablece parcialmente la sensibilidad a la insulina, la tolerancia a la glucosa e incrementa la masa de células beta pancreáticas en ratones alimentados con una dieta rica en grasas (Ferron et al., 2008). Esta administración discontinua también incrementó el gasto energético actuando contra la obesidad protegiendo contra la esteatosis (Ferron et al., 2012). También se comprobó una mejoría en la glucosa sanguínea y en la reducción de la masa grasa con la administración de osteocalcina intravenosa en modelos animales (García-Martín et al., 2013).

Bajo las consideraciones anteriores, un estudio en individuos no diabéticos evaluó el efecto de una dieta hipercalórica y la actividad física regular en los niveles de osteocalcina, concluyendo que la pérdida de peso mediante la dieta y la actividad física regular tuvo como consecuencia un aumento de osteocalcina, la cual estuvo asociada a cambios en la masa grasa visceral (Fernández-Real et al., 2009). En otro trabajo se estudió la relación entre los niveles

circulantes de osteocalcina descarboxilada y los cambios en los parámetros metabólicos en pacientes tratados con PTH para la osteoporosis, el grupo PTH experimentó una pequeña pero significativa disminución de peso a los 12 meses de tratamiento y un descenso de masa grasa (Schafer et al., 2011). Es más, en el grupo PTH se observó una correlación entre el incremento de la osteocalcina descarboxilada y descensos en la masa grasa (Schafer et al., 2011). En este estudio los resultados de la osteocalcina correlacionaron positivamente con cambios en la adiponectina, sin embargo, no se observó ninguna relación con la leptina, insulina, glucosa, o la ratio insulina/glucosa (Schafer et al., 2011).

La vitamina K es un cofactor para la enzima glutamato carboxilasa, responsable de la carboxilación de la osteocalcina (Berkner, 2005). Niveles bajos de esta vitamina están asociados a altos niveles de osteocalcina descarboxilada, mientras que suplementos de la misma disminuyen los niveles de la misma (Sokol & Sadowski, 1996).

La **OPG** es un miembro de la superfamilia del factor de necrosis tumoral que actúa como señuelo del receptor activador del factor nuclear kappa B, RANKL para bloquear la activación de RANK (Yasuda et al., 1998). La síntesis de la OPG se estimula por diferentes citoquinas como el TNF, IL-1, IL-18, el factor de crecimiento TGF, y hormonas esteroideas (Schoppet et al., 2002), y es fundamental tanto para el metabolismo óseo como para las paredes vasculares. Se produce mayormente por los huesos, pero también se secreta en tejidos como las estructuras vasculares (corazón, arterias y venas), pulmones, riñones y células inmunes (Schoppet et al., 2002).

RANK es un receptor específico de RANKL que se expresa en células como los osteoclastos, células T y células dendríticas. RANKL activa su receptor RANK en los osteoclastos estimulando la osteoclastogénesis (Yasuda et al., 1998). La OPG actúa como un receptor soluble de RANKL evitando la activación de RANK para inhibir la osteoclastogénesis y, por lo tanto, inhibiendo la activación de los osteoclastos (Caidahl et al., 2010). También neutraliza el efecto de apoptosis de TNF inhibiendo las rutas preapoptóticas (Caidahl et al., 2010).

Como se ha estudiado anteriormente, la masa ósea se ve influida principalmente por el incremento de las presiones mecánicas procedentes de la práctica de disciplinas deportivas que generan una mayor densidad ósea en comparación con atletas que practican deportes

con escasa carga mecánica (Hinton et al., 2006). Además, el ejercicio puede provocar cambios hormonales y metabólicos con la participación de moléculas responsables del turnover óseo como la osteocalcina y el sistema OPG/RANK/RANKL (Hinton et al., 2006).

Durante los últimos 10/15 años diversos estudios se han centrado en el efecto del ejercicio sobre el sistema OPG/RANK/RANKL, sin embargo, los resultados no son concluyentes. Respecto al ejercicio de fuerza resistencia, los cambios sobre la OPG no fueron significativos, experimentándose descenso en el RANKL soluble, lo cual indica que las medidas de estos mediadores no son útiles para indicar la densidad mineral ósea o el nivel de turnover óseo después de ejercicios de fuerza resistencia (Karaarslan et al., 2010). Tampoco se experimentaron cambios en los niveles de OPG y RANKL o en el ratio OPG/RANKL (Marques et al., 2013).

Los ejercicios de tipo aeróbico, están asociados con un descenso de los niveles de osteocalcina y de resistencia a la insulina pero sin una modificación significativa de la OPG (Wieczorek-Baranowska et al., 2012), y se concluye que este tipo de ejercicio induce una inhibición de la dependencia de OPG de la masa ósea (Bergström et al., 2011). En un estudio con sujetos obesos y normopesos, la OPG estuvo asociada positivamente con el índice HOMO-IR (índice de resistencia a la insulina), la glucosa en ayunas, los valores SGPT (transaminasa pirúvica glutámica) y CRP (proteína reactiva C), pero sin ninguna relación con el índice de Masa Corporal ni parámetros lipídicos (Gannagé-Yared et al., 2008). La OPG no varió después de 6 meses de pérdida de peso por cirugía bariátrica concluyendo que la OPG no estaba correlacionada ni con la leptina ni con valores de adiponectina (Gannagé-Yared et al., 2008). Existe una relación positiva entre la edad y la OPG descubierta en sujetos diabéticos y se ha interpretado como un mecanismo compensatorio que contrarresta la resorción y la aterosclerosis (Kiechl et al., 2004).

En sujetos obesos se ha reportado bajos valores séricos de OPG en comparación con controles normopesos, lo cual se explica por una baja actividad de los osteoclastos en la obesidad. La pérdida de peso provoca un posterior descenso de la OPG debido a una menor cantidad de PTH y a mayores niveles de 25(OH)D (calcifediol) después de la pérdida de peso (Holecki et al., 2007).

Los niveles de OPG circulante observados después de la pérdida de peso podrían ser resultado de diferentes fuentes de OPG (baja producción del tejido adiposo y del hígado asociados a una mayor producción por parte de los huesos), lo cual explicaría la relación de la pérdida de peso con valores bajos de OPG (Gennagé-Yared et al., 2008).

Se han observado elevados niveles de OPG en pacientes diabéticos (Xiang et al., 2006). Esta asociación no está todavía esclarecida y los resultados son contradictorios (Gannagé-Yared et al., 2008). Tampoco se observa ninguna relación entre la adiponectina y la OPG. La adiponectina inhibe la expresión de la OPG en los osteoblastos. Por el contrario, se ha descrito en una muestra de población masculina mayor una asociación positiva pero débil entre la adiponectina y la OPG (Gannagé-Yared et al., 2006).

Respecto a la relación entre la OPG y el perfil lipídico, sujetos obesos e hipercolesterolemios presentaron niveles más elevados de OPG, lo cual contrasta con otras investigaciones donde se observó una correlación inversa entre triglicéridos y niveles de OPG en hombres con trastorno arterial coronario (CAD) a pesar del hecho de que la OPG está asociada con la severidad del trastorno (Schoppet et al., 2003). Del mismo modo, existe una relación positiva entre la OPG y los triglicéridos y el colesterol HDL (Gannagé-Yared et al., 2008) lo cual añade más desconcierto ante resultados tan dispares.

No existe relación directa entre la OPG y la función hepática (Gannagé-Yared et al., 2008), sin embargo, pacientes con trastorno hepático tienen incrementos en los niveles de OPG. Esta relación no está relacionada con la disminución de la densidad mineral ósea lo cual sugiere que la OPG puede ser sintetizada por el hígado (Simonet et al., 1997).

En los ejercicios de alta intensidad, el incremento de la resorción ósea puede ser causa de un incremento de la PTH, mientras que el incremento de OPG es una respuesta compensatoria a dicho incremento en la resorción (Scott et al., 2010). También se observa un incremento de la OPG en corredores de maratones, especulándose que el efecto positivo del ejercicio de resistencia en largas distancias puede estar determinado por el sistema OPG/RANKL (Ziegler et al., 2005). Dichos incrementos sugieren una posible implicación de la OPG en la protección de la masa ósea y un rol de la OPG como mediador de las cargas mecánicas (Bergström et al., 2011; Ziegler et al., 2005). Sin embargo, el exceso de ejercicio

puede tener unos efectos opuestos que resulten en un aumento de la resorción. El ejercicio agudo o extremo estimula la resorción, pero no la formación, y el incremento de los niveles de OPG se considera un mecanismo compensatorio al incremento de la resorción ósea (Scott et al., 2010).

El regulador clave producido por los osteocitos es la **SOST**, una glicoproteína que inhibe la diferenciación de los osteoblastos y la formación ósea (Lin et al., 2009) actuando como un regulador negativo de la formación ósea inhibiendo las rutas de señalización de Wnt de vital importancia para el desarrollo y funcionamiento de los osteoblastos (Zagrodna et al., 2016). En modelos animales, existe un descenso en la expresión de la esclerostina cuando son sometidos a las cargas mecánicas del ejercicio, sin embargo, la ausencia de dichas cargas eleva su expresión (Robling et al., 2008). Asimismo, la terapia con PTH en mujeres postmenopáusicas implica una significativa reducción en los niveles séricos de esclerostina. La expresión de la esclerostina por los osteocitos se regula por fuerzas mecánicas y determinadas hormonas que afectan al metabolismo del hueso como la PTH, la calcitonina y los glucocorticoides (Sims & Chia, 2012).

Un dato significativo es que el Índice de Masa Corporal y la grasa ósea se correlacionan positivamente con los niveles de esclerostina, cuanto más activo sea el individuo, menor será el nivel de esclerostina (Amrein et al., 2011). Teniendo en cuenta la función biológica de la esclerostina como un inhibidor de los osteoblastos, existe una correlación negativa entre la esclerostina circulante y la osteocalcina después de aplicar una carga mecánica (Robling et al., 2008).

Sin embargo, los resultados sobre las concentraciones de esclerostina en atletas comparados con individuos activos son escasos y no están claros (Zagrodna et al., 2016) (Tabla 4). Lombardi et al., (2014) investigaron las concentraciones de SOST en atletas de élite, encontrando niveles más altos de esclerostina en varones que desempeñaban actividades donde tenían que levantar un peso que en aquellos que no desarrollaban este tipo de actividades. Es decir, depende del tipo de ejercicio, así afectará a los niveles de esclerostina (Lombardi et al., 2014).

**Tabla 4:** Concentraciones de marcadores óseos, junto la ingesta diaria, vitamina D y calcio en atletas (A) y no atletas (NA) (Zagrodna et al., 2016).

	A (n=43)	NA (n=16)	P
Sclerostin (pmol · l <sup>-1</sup> )	35.3±8.9	28.0±5.6	0.004
P1NP (ng · ml <sup>-1</sup> )	145.6±77.5	61.2±22.3	<0.0001
PTH (pg · ml <sup>-1</sup> )	25.8±8.3	38.2±11.5	<0.0001
25(OH)D3 (ng · ml <sup>-1</sup> )	16.9±8.4	10.3±4.3	0.004
Calcium (mmol · l <sup>-1</sup> )	2.55±0.05	2.36±0.09	0.0004
Vitamin D intake (µg · d <sup>-1</sup> )	5.1±4.2	4.7±5.1	NS
Calcium intake (mg · d <sup>-1</sup> )	1072.1±373.7	1051.3±484.1	NS
Energy intake (kcal · d <sup>-1</sup> )	2655.7±448.7	2585.1±664.3	NS

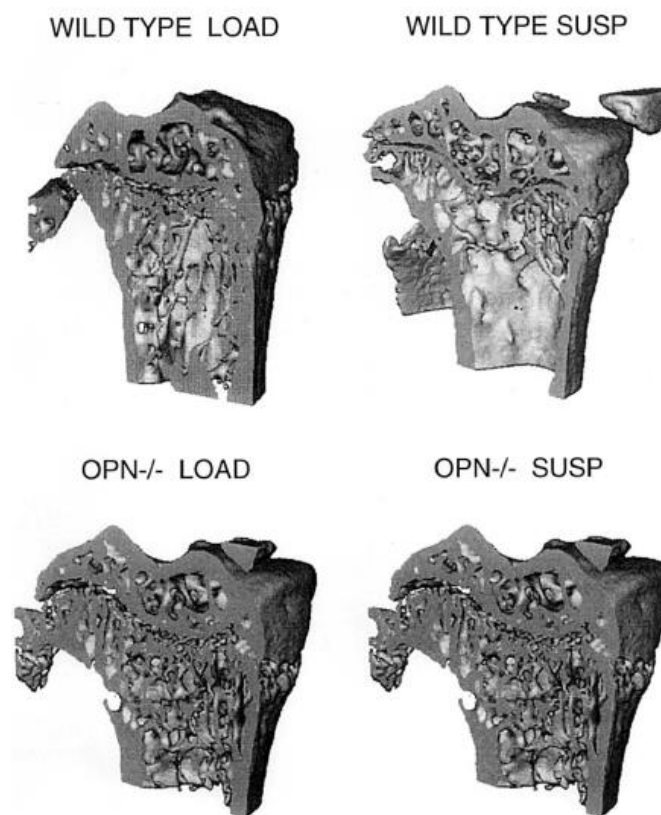
No queda claro por qué las concentraciones de SOST pueden ser más altas en atletas que en personas no activas. Dado que la esclerostina es un potente inhibidor de la ruta de señalización Wnt la cual promueve la formación ósea estimulando la diferenciación y la maduración de los osteoblastos, y reduce la resorción inhibiendo la generación de osteoclastos (Delgado-Calle et al., 2017), las concentraciones de esclerostina en atletas están asociadas a contrarrestar el constante incremento de la formación ósea y la masa ósea después de una carga mecánica repetitiva. Tampoco hay una correlación significativa entre la esclerostina y otros marcadores de remodelado óseo como la PTH (Zagrodna et al., 2016).

La **OPN** es una fosfoproteína localizada en la matriz extracelular de los tejidos mineralizados y es una de las más abundantes proteínas no colágenas de la matriz ósea producida tanto por los osteoblastos como por los osteoclastos (Denhardt & Noda, 1998). Aunque la OPN se expresa inicialmente en el desarrollo óseo, *per se* no es necesaria para el desarrollo de los huesos. Por otro lado, la osteopontina juega un papel importante en el proceso de resorción ósea patológica después de una ooforectomía o en la resorción tras la implantación de discos intervertebrales. Es también un componente esencial de la matriz ósea en el turnover sirviendo de apoyo a los osteoclastos para activar la cascada de resorción (Reinholt et al., 1990).

La expresión de la OPN se regula por estrés mecánico tanto in vivo como in vitro, lo cual puede estar relacionado con la función que desempeña esta hormona en el remodelado óseo. Sin embargo, la función específica de la OPN en la regulación de la respuesta ósea al estrés mecánico todavía se desconoce. El aumento de la resorción ósea producida por la ausencia de carga mecánica y, por lo tanto, la supresión del proceso de formación ósea, no

tiene lugar con la falta de OPN , lo cual sugiere que la OPN desempeña una importante función en transmitir el efecto del estrés mecánico a los osteoblastos y osteoclastos (Ishijima et al., 2002).

**Figura 16:** Estructuras en 3D del hueso trabecular de las tibias después de 4 semanas sometidas a ausencia de carga (SUSP) o con carga (LOAD) en ratones silvestres (WILD TYPE) y ratones sin función activa de OPN (OPN<sup>-/-</sup>). Las estructuras trabeculares tanto en la parte central como en la periférica de las regiones endostiales de las metafisis de las tibias en los ratones OPN<sup>-/-</sup> en ausencia de carga no se alteraron y presentaron características parecidas a aquellos ratones sometidos a cargas mecánicas (Ishijima et al., 2002).



Las **ALP** constituyen el grupo de metaloenzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres fosfatos en un medio alcalino generando un radical orgánico y un fosfato inorgánico (Warnes, 1972). Las alcalinas fosfatasas se expresan principalmente en huesos, hígados, intestinos, riñones y placenta. La actividad total de las ALP cambia con la edad y la fracción ósea variando del 77% al 89% en niños y del 58% al 67% en adultos (Plomteux & Reginster, 1980).

La actividad total de la ALP es, normalmente, un marcador de la actividad osteoclástica. Los niños en edad de crecimiento tienen niveles más altos comparados con los adultos. Los niveles más elevados de ALP se detectan durante la fase rápida de crecimiento de



la niñez como la infancia y la pubertad. Sin embargo, los niveles de ALP incrementan en personas con desórdenes óseos como la enfermedad de Paget o la osteomalacia (Keijiro et al., 2015). Se sospecha que los niveles específicos de fosfatasa alcalina ósea (BALP) están relacionados con la formación ósea o la mineralización y pueden usarse como indicativos del grado total de turnover óseo (Keijiro et al., 2015).

Los sujetos con bajos niveles de ALP tienen un turnover óseo reducido, es decir, se detecta una alteración general del metabolismo óseo, pero no solamente una reducida actividad de la ALP (López-Delgado et al., 2018). Estos datos son congruentes con los observados en pacientes con hipofosfatasa (HPP), una condición genética extraña provocada por una pérdida de funciones del gen que codifica el tejido no específico de la ALP localizado en el cromosoma 1p36.12. La mayoría de pacientes con HPP poseen un retraso en la mineralización acompañada de una acumulación de osteoides junto con un reducido número de osteoclastos y osteoblastos (López-Delgado et al., 2018).

Los mecanismos que subyacen en la relación de bajos niveles de ALP con un reducido turnover óseo no están esclarecidos. Se presume que la acumulación de osteoides con retraso en la mineralización podría hacer descender la diferenciación de los precursores de los osteoblastos a través de mecanismos de feedback desconocidos (López-Delgado et al., 2018). Los resultados de un interesante estudio que muestra que un anticuerpo monoclonal de esclerostina mejora la formación de los marcadores óseos en pacientes con HPP refuerza la posibilidad de que el señalizador Wnt pueda estar implicado (Seefried et al., 2017).

La actividad de la ALP se expresa también en los osteoclastos (López-Delgado et al., 2018). La actividad enzimática se concentra en la membrana basolateral de los osteoclastos reabsorbentes maduros, lo que sugiere que la ALP puede desempeñar alguna función en el proceso de resorción ósea (Nakamura et al., 1991).

La ALP en suero total es el marcador de metabolismo óseo mayormente utilizado. En la práctica clínica se prefiere la isoenzima específica del hueso (BALP) debido a su alta especificidad (Seibel, 2005). Puesto que la ALP está implicada en todas las fases del proceso de mineralización, el indicador BAP es un indicador específico de la actividad osteoblástica (Epstein, 1988), por lo tanto, nos referiremos a la fosfatasa alcalina en su versión BAP.

La estimulación de la formación ósea después del entrenamiento aeróbico queda reflejada por los elevados niveles de BALP (Eliakim et al., 1997). El comportamiento de la BALP varía según sean las características del ejercicio que se desarrolle. Los corredores de maratón y los atletas altamente entrenados de alto impacto experimentan un descenso en los niveles de BALP inmediatamente después de haber finalizado la prueba, mientras que en los corredores de corta distancia los niveles de BALP permanecen inalterados (Banfi et al., 2010, Maïmoum et al., 2005). La supresión de la BALP se asocia a un incremento de cortisol y la paratormona debido a la intensidad y duración del ejercicio lo que refleja modificaciones en la homeostasis del calcio (Alp, 2016).

El comportamiento de la BAP después de una carga máxima de entrenamiento arroja datos controvertidos (Alp, 2016). Una carga de entrenamiento de saltos estimuló la formación ósea inmediatamente después del ejercicio tanto en adultos varones como en niños varones de 10 años, lo cual se reflejó en el incremento tanto de la BALP como en la osteoprotegerina. La respuesta de los marcadores óseos en los niños fue mayor que en los adultos, lo cual sugiere que el crecimiento del esqueleto inmaduro es más sensible a estímulos mecánicos. El marcador de formación ósea BAP se modifica después de 1 mes de ejercicio (Banfi et al., 2010). Además, la BAP es sensible a al ejercicio aeróbico (Banfi et al., 2010). Después de una actividad de larga duración y de gran intensidad como un maratón, se puede observar un descenso en los niveles de BAP sin que se determinen cambios en los marcadores de resorción después del ejercicio y la recuperación (Malm et al., 1993).

Los ejercicios de resistencia de alta intensidad tienen un impacto mayor sobre la ratio BAP/pyridinolina a favor de la formación ósea confirmado únicamente por mediciones de la densidad mineral ósea (Vincent et al., 2002).

### Otros biomarcadores hormonales y nerviosos

La acción de la **insulina** sobre el transporte de la glucosa se expresa en términos de sensibilidad y respuesta a la insulina. Un incremento en la sensibilidad a la insulina provoca un desplazamiento en la curva de respuesta a la insulina a la izquierda con un descenso en la concentración de insulina necesaria que causa el 50% de la respuesta máxima (Holloszy, 2005).

La señalización de la insulina regula tanto la formación ósea generada por los osteoblastos como la resorción ósea (osteoclastos). De hecho, ambas células expresan el receptor de la insulina en su superficie. Las investigaciones actuales señalan que el receptor de la insulina en los osteoblastos se necesita para la supervivencia, proliferación y diferenciación de los osteoblastos (Fulzele et al., 2010). In vitro, las concentraciones fisiológicas de insulina incrementan la proliferación de osteoblastos, la síntesis de colágeno, la producción de fosfatasa alcalina y la absorción de glucosa, e inhiben la actividad osteoclástica (Thraillkill et al., 2005), lo cual indica que la insulina actúa como un agente anabólico en el hueso. Los modelos que muestran una deficiencia de insulina se asocian con una reducción del área de la superficie mineralizada y el número y la actividad de los osteoblastos (Thraillkill et al., 2005), y grandes estudios epidemiológicos demuestran que sujetos con diabetes tipo I tienen poca densidad mineral ósea (Hough et al., 2016) teniendo un mayor riesgo de fractura comparados con los sujetos no diabéticos.

La osteocalcina y particularmente la osteocalcina liberada durante la resorción ósea (ucOC) tiene como objetivo las células  $\beta$ , estimulando la síntesis de insulina y su secreción, afectando a los adipocitos y mejorando la secreción de adiponectina. La propia adiponectina regula la sensibilidad a la insulina de las células objetivo de la insulina (Lihn et al., 2005).

No está claro si la resistencia a la insulina puede afectar al turnover óseo. Algunos estudios sugieren que la hiperinsulinemia y la resistencia a la insulina pueden contribuir a reducirlo (Huang et al., 2010). Aunque un descenso del turnover puede contribuir a un incremento de la densidad mineral ósea, puede influir también en la fragilidad del hueso mediante el aumento de la porosidad del hueso u otras deficiencias en su microarquitectura (Huang et al., 2010).

La resistencia a la insulina y cualquier hiperglucemia puede reducir el volumen de hueso formado por los osteoblastos de la BMU y reducir el índice de remodelado óseo. Por ejemplo, los marcadores de remodelado óseo se suprimen después de una comida o siguiendo una administración de glucosa en adultos sanos con resistencia a la insulina (Schwetz et al., 2014). La insulina es anabólica y es capaz de promover la proliferación y diferenciación de los osteoblastos así como inducir el aumento de los marcadores de hueso como la fosfatasa alcalina (ALP) y la osteocalcina (Yang et al., 2010).

Elevados picos de glucosa reducen el índice de remodelado. Niveles altos de glucosa reducen la expresión de ALP en un 50% en los osteoblastos (Cunha et al., 2014). Altas concentraciones de glucosa suprimen la actividad de la ALP y la expresión de la OC en los osteoblastos. También incrementan su apoptosis y reducen su supervivencia. Los marcadores de remodelado óseo se suprimen después de una administración de glucosa y el ejercicio agudo no compensa el efecto supresor de esta carga de glucosa en los marcadores de remodelado óseo. Esto es debido, en parte, al incremento de la apoptosis de los osteoblastos, su periodo de vida reducido y la actividad de la ALP así como a la osteocalcina (Levinger et al., 2016).

El transporte de glucosa se produce principalmente por difusión utilizando proteínas de transporte (GLUT). Tanto el ejercicio como la insulina regulan este transporte a través de la translocación de la isoforma GLUT4 desde los compartimentos intracelulares hasta la membrana plasmática y los túbulos transversales. Los niveles de GLUT4 constituyen un elemento fundamental en la sensibilidad a la insulina (Hughes et al., 1993).

Las adaptaciones asociadas con el entrenamiento de ejercicio aeróbico se relacionan con la mejora de la acción de la insulina y el control glucémico (Hickey et al., 1995). Las mejoras en la sensibilidad a la insulina también se correlacionan con intensidades más altas del ejercicio (DiPietro et al., 2006) e incluso con ejercicios de alta intensidad y muy corta duración. En los ejercicios que exceden el 80% del  $VO_2$ máx, la glucosa es casi el suministro energético de los músculos. Los niveles de catecolaminas suben significativamente lo cual provoca que la producción de glucosa aumente hasta ocho veces, mientras que su utilización aumente sólo tres veces. Durante el ejercicio extenuante, se produce un incremento significativo de la glucosa sanguínea y que pueden continuar incluso una hora después del ejercicio. Los niveles de insulina plasmáticos se incrementan para corregir los niveles de glucosa normales y restablecer el glucógeno muscular (Adams, 2013).

Cuando un individuo se ve sometido a condiciones estresantes tanto fisiológicas como psicológicas, tienen lugar una compleja cadena de reacciones cuyos orígenes se localizan en los ejes simpático-adrenal (SA) y la pituitaria hipotalámica-adrenal (HPA), el sistema nervioso simpático y el parasimpático (SNP). El estrés psicológico provoca incrementos en la secreción de epinefrina y norepinefrina desde el eje simpático-adrenal

(Frankenhaeuser, 1991) y **cortisol** desde el eje hipotalámico adrenal (Frankenhaeuser, 1991). La activación de eje hipotalámico adrenal provoca la secreción de cortisol (McAllister et al., 2016) que suele ser elevada en determinadas actividades y deportes con una alta carga de presión psicológica (McAllister et al., 2016).

Existe una correlación significativa entre la secreción de cortisol y la densidad mineral ósea (Tabla 5) (Mathis et al., 2013) El cortisol desencadena una resorción mineral del hueso (eliminación) para liberar ácidos y usarlos como fuente energética a través de la glucogénesis. Indirectamente, el cortisol actúa en el hueso bloqueando la absorción del calcio e impidiendo el crecimiento de las células óseas. La alteración de la homeostasis del calcio aumenta la resorción ósea (Hesmati et al., 1998) y en última instancia reduce la densidad mineral del hueso. Incluso una pequeña secreción de cortisol puede causar un descenso de la densidad mineral ósea. El excesivo incremento de los niveles de cortisol, como el hipercortisolismo, está relacionado con la aparición de osteoporosis, asociándose a su vez con una reducción de la densidad mineral ósea durante la vejez (Raff et al., 1999).

**Tabla 5:** Correlaciones entre las muestras de cortisol y la DMO de la columna vertebral, el trocánter mayor del fémur y el cuello de femoral en ciclistas (<sup>a</sup>n=29, <sup>b</sup>n=22; \*denota la correlación significativa al 0.001. † denota que la correlación es significativa al 0.005. BMI representa el índice de Masa Corporal) (Mathis et al.,2013).

Variable	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Predictor variable													
(1) Age	—												
(2) BMI	0.00	—											
(3) Calcium intake	0.07	0.07	—										
(4) Weight training	0.01	0.31	0.62 <sup>†</sup>	—									
(5) Years of cycling	0.67 <sup>†</sup>	-0.05	0.00	-0.12	—								
(6) Run training	-0.14	0.42 <sup>*</sup>	-0.16	0.20	-0.23	—							
(7) Races per year	-0.11	-0.26	0.28	-0.19	0.24	-0.42 <sup>*</sup>	—						
(8) Prerace cortisol <sup>a</sup>	-0.05	0.31	0.15	0.25	0.08	0.29	-0.10	—					
(9) Postrace cortisol <sup>b</sup>	-0.02	-0.24	0.00	-0.23	-0.11	0.19	-0.02	-0.08	—				
(10) Prerace nervousness	-0.16	-0.27	0.06	-0.03	-0.05	-0.21	0.05	-0.19	-0.08	—			
Dependent variables													
(11) Lumbar spine	0.02	-0.11	0.40 <sup>*</sup>	0.61 <sup>†</sup>	-0.22	-0.44	-0.22	-0.04	0.03	0.03	—		
(12) Total hip	-0.24	0.16	0.21	0.66 <sup>†</sup>	-0.28	0.13	-0.28	0.16	-0.02	-0.03	0.76 <sup>†</sup>	—	
(13) Femoral neck	-0.27	0.08	0.38 <sup>*</sup>	0.75 <sup>†</sup>	-0.37 <sup>*</sup>	0.12	-0.28	0.11	-0.08	-0.11	0.86 <sup>†</sup>	0.91 <sup>†</sup>	—
(14) Femoral trochanter	-0.01	0.05	0.29	0.64 <sup>†</sup>	-0.17	0.09	-0.24	0.14	-0.01	0.10	0.82 <sup>†</sup>	0.90 <sup>†</sup>	0.86 <sup>†</sup>

El aumento de las concentraciones de cortisol es debido a factores fisiológicos y psicológicos. Los niveles basales de cortisol pueden deberse a una respuesta al entrenamiento de resistencia muy intenso y a una excitación psicológica excesiva durante la competición. Existe documentación donde se han registrado elevados niveles de cortisol durante la competición debido a la anticipación mental y física de la prueba (Gatti & De Palo, 2011).

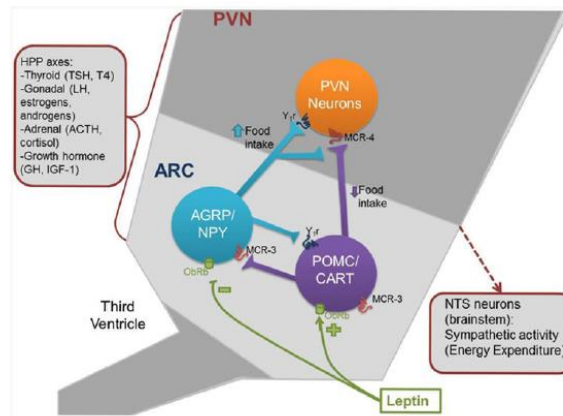
Mediante el sistema endocrino, la secreción de esta hormona en respuesta al entrenamiento se produce para mantener la homeostasis (Galbo, 1983). Sus fluctuaciones pueden deberse a una respuesta aguda al ejercicio y las concentraciones pueden verse alteradas debido a un estrés crónico producido por el entrenamiento (Deschenes et al., 1994).

En los ritmos circadianos, las variaciones en las concentraciones de cortisol son responsables también de las variaciones circadianas de osteocalcina. Algunas de las hormonas con influencia en el remodelado óseo como la PTH, la GH y el cortisol también están sujetas a ritmos circadianos y, por lo tanto, median en las variaciones circadianas que influyen en el turnover óseo. Dichos efectos se manifiestan en la homeostasis del calcio, la secreción de PTH y el transporte renal del calcio. No obstante, una de las posibles funciones del cortisol es su influencia en los patrones circadianos de la osteocalcina (Hesmati et al., 1998).

La **leptina** es una adipoquina formada por 167 aminoácidos cuya función es mantener la homeostasis energética (Sinha et al., 1996). Esta hormona se secreta desde los adipocitos, a niveles determinados principalmente por el número de adipocitos, es decir, de la grasa corporal y, en menor medida, de la ingesta calórica diaria. Aunque los niveles circulantes de leptina indican la cantidad de energía almacenada en el tejido adiposo, lo cual ya es un indicativo del grado de obesidad, los niveles de insulina y la ingesta de alcohol también se asocian con un incremento de los niveles de leptina circulante (Mantzoros et al., 1998).

La función principal de la leptina tiene lugar en el hipotálamo donde inhibe la función del neuropéptido Y (NPY) y la proteína  $\alpha$ -Agouti (AgRP), y mejora las funciones de proopiomelanocortina (POMC) y la proteína CART (transcripción relacionada con la cocaína y anfetamina) para reducir la ingesta calórica (Figura 17).

**Figura 17:** Acciones de la leptina para alterar la ingesta calórica y el gasto energético. La Leptina inhibe el AGRP/NPY (proteína n-agouti/neuropéptido Y) y activa las neuronas POMC/CART en el núcleo curvo del hipotálamo. Dichas neuronas actúan sobre las neuronas paraventriculares para incrementar o disminuir la ingesta calórica así como para modular la actividad simpática y el gasto energético mediante el Núcleo del Tracto Solitario del Hipotálamo. El señalizador de la leptina en el hipotálamo también activa otros ejes periféricos-pituitario-hipotalámicos los cuales también tienen consecuencias sobre el metabolismo óseo (Upadhayay et al., 2016).



Esta hormona también incide sobre las rutas hipotalámicas para regular la reproducción y el desarrollo, pero especialmente actúa sobre órganos esenciales periféricos. Estas acciones vienen determinadas por el receptor de la leptina (LepRb) el cual se localiza tanto en el cerebro como en el bulbo raquídeo, así como en órganos periféricos (Tartaglia, 1997).

En relación al hueso, la leptina efectúa dos mecanismos, principalmente: mecanismo directo e indirecto (Upadhayay et al., 2016).

### Mecanismo directo:

El receptor de la leptina se puede localizar en los osteoblastos adultos y condrocitos, lo cual sugiere que los efectos de la leptina en el crecimiento y el metabolismo del hueso pueden ser directos. Otros estudios, sin embargo, sugieren que la leptina puede impactar sobre el crecimiento del hueso a través del factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF-23) (Tsuji et al., 2010). La leptina también influye en la osteocalcina la cual no regula todo el metabolismo óseo, sino también la sensibilidad a la insulina y el gasto energético (Ferron & Lacombe, 2014).

Localmente, los adipocitos de la médula ósea secretan leptina lo cual puede influir en el efecto local de la leptina sobre el hueso. De hecho, la sustitución de tejido óseo en ratones que carecen de un receptor de leptina funcional, incrementa la masa ósea sin que afecte al equilibrio energético, lo cual sugiere que algunos de los efectos de la leptina sobre el metabolismo óseo pueden ser periféricos más que centrales (Turner et al., 2013).

#### Mecanismo indirecto:

Aunque la leptina puede actuar de forma periférica sobre el hueso, su administración restaura la densidad ósea a niveles normales, lo cual hace suponer que, indirectamente, impacta sobre la masa ósea (Ducy et al., 2000). El núcleo hipotalámico ventromedial (VMH) puede activar la señalización noradrenérgica en los osteoblastos en respuesta a la leptina (Takeda et al., 2002). Ciertamente, las lesiones en el VMH evitan el restablecimiento de la masa ósea con la administración de leptina, lo cual sugiere que la VMH es un elemento clave para el control de la leptina sobre la masa ósea (Takeda et al., 2002).

El impacto del ejercicio extenuante sobre la leptina está sujeto a cierta controversia (Bouassida et al., 2009). Las diferentes investigaciones arrojan resultados dispares dependiendo de la muestra investigada, el protocolo seguido y el estado nutricional (Desgorces et al., 2004). Bouassida et al., (2009) determinaron que la leptina no es sensible al ejercicio agudo de corta duración o prolongado (de un gasto energético inferior a 800 kcal) (Bouassida et al., 2009). Por otro lado, las concentraciones de leptina descendieron significativamente durante ejercicios extenuantes como 25 km de natación (Karamouzis et al., 2002), 6.5 km de remo o ultramaratonés.

Se ha planteado que la secreción de la leptina está determinada por cambios hormonales y metabólicos inducidos por el ejercicio (Desgorces et al., 2004). Los descensos en las concentraciones de leptina que se observan en otros estudios vienen acompañados de hipoinsulinemia (Desgorces et al., 2004) y un incremento de la hormona del crecimiento, glicerol (Karamouzis et al., 2002), cortisol y neuropéptidos Y(NPY) (Karamouzis et al., 2002). Como se ha mencionado anteriormente, Bouassida et al., (2009) establecieron que para ejercicios submáximos que comprenden un gasto energético inferior a 800 kcal, se producen



modificaciones metabólicas sin que existan cambios simultáneos en los niveles de leptina plasmática.

Siguiendo a este autor, a pesar de las modificaciones hormonales y metabólicas la energía consumida durante el ejercicio extenuante no es suficiente para producir cambios significativos en las concentraciones de leptina (Bouassida et al., 2009). Sin embargo, se desconoce aún cómo la disponibilidad energética, la estimulación simpática y los metabolitos y las hormonas que regulan las concentraciones de leptina interactúan para modular dichas concentraciones (Zafeiridis et al., 2003).

Las **catecolaminas adrenalina y noradrenalina** constituyen los principales ejecutores del sistema nervioso andrenérgico. Se sintetizan mediante la conversión enzimática de dopamina a noradrenalina a través de la acción de la dopamina-hidroxilasa (Okoshi et al., 2018). La noradrenalina se almacena en vesículas para ser liberada en la hendidura sináptica de las neuronas después de la estimulación del impulso nervioso andrenérgico. La noradrenalina puede convertirse en adrenalina por acción de la feniletilamina-N-metiltransferasa (Pmnt), una enzima citoplasmática. La adrenalina se sintetiza en la médula adrenal liberándose al torrente sanguíneo. Otros tejidos como el corazón, y los vasos sanguíneos también contienen Pmnt y son capaces de sintetizar adrenalina (Bao et al., 2007).

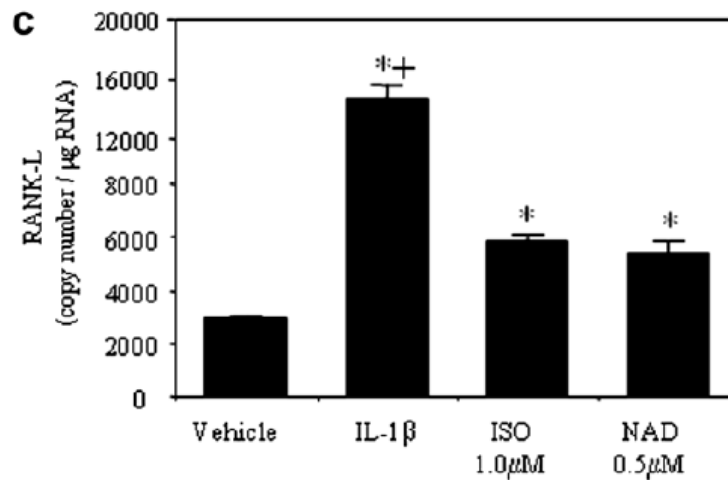
La noradrenalina se considera un neurotransmisor y una hormona, mientras que la adrenalina es únicamente una hormona. Puesto que la adrenalina y la noradrenalina se consideran, respectivamente, efectores de la actividad del sistema nervioso simpático y de la actividad de la médula adrenal y actúan simultáneamente en diferentes niveles a la hora de realizar ejercicio (Zouhal et al., 2008), serán estudiadas conjuntamente.

Las catecolaminas actúan usando receptores y existen al menos dos receptores  $\alpha$  y  $\beta$ , los cuales están divididos a su vez en dos subtipos  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ;  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$ . La noradrenalina activa primero los  $\alpha$ -receptores, y la adrenalina los  $\beta$ -receptores aunque también puede activar los  $\alpha$ -receptores (García-Sáinz, 1995). La estimulación de los  $\alpha$ -receptores se asocia con la constricción de los pequeños vasos sanguíneos y la relajación de la musculatura lisa del tracto intestinal. Los  $\beta$ -receptores activan la musculatura suave relajada pero también afecta al corazón incrementando la frecuencia cardíaca y la fuerza de contracción (Zouhal et al., 2008).

Es bien conocida la regulación hormonal del metabolismo óseo desempeñado por osteoclastos y osteoclastos (Takeda, 2009). Estas células no sólo disponen de receptores adrenérgicos (ARs) y receptores neuropéptidos, sino que también expresan la dirección molecular de los axones para el crecimiento de las fibras nerviosas (Togari & Arai, 2008). Este hecho, junto con la evidencia de que los huesos de los mamíferos están inervados por nervios simpáticos, sugiere que la extensión de los axones de los nervios periféricos y simpáticos a los osteoclastos y los osteoblastos es necesaria para una correcta regulación del metabolismo óseo (Togari & Arai, 2011).

La adrenalina junto con la isoprenalina regula la osteoclastogénesis (Togari & Arai, 2011). La implicación de RANKL y/o OPG en la resorción ósea producida por la adrenalina se demuestra por el efecto de la adrenalina en la expresión del ARNm de RANKL y la OPG en las células pre-osteoblásticas murinas (MC3T3-E1) y la acción del ácido fosfatasa tartrato resistente (TRAP), lo cual ofrece una mejor comprensión de la resorción ósea inducida por el sistema nervioso simpático (Takeuchi et al., 2001). La expresión de los ARNm de RANKL y OPG en las células osteoblásticas está regulada por una estimulación adrenérgica (Takeuchi et al., 2001). La expresión de RANKL y de la OPG desencadenada por la adrenalina parece estar mediada por la estimulación de  $\beta$ -adrenérgico y  $\alpha$ -adrenérgico, respectivamente (Togari & Arai, 2011). El tratamiento de médula ósea en ratones con adrenalina o isoprenalina genera TRAP-positivos capaces de horadar hondonadas provocando un incremento de RANKL y un descenso en la producción de OPG por la médula ósea (Ishizuka et al., 2005).

**Figura 18:** La noradrenalina y la isoprenalina también estimulan la producción de RANK-L mediante los osteoblastos, lo que sugiere que la osteoclastogénesis afecta indirectamente sobre los osteoblastos (Aitken et al., 2009).



Aitken et al., (2009) ha demostrado que la noradrenalina estimula la expresión del mRNA de RANKL en los osteoblastos primarios (Figura 18) e incrementaron la formación de los osteoclastos y la resorción ósea en los osteoblastos de la matriz ósea lo cual sugiere que el efecto estimulante de la noradrenalina en la osteoclastogénesis puede estar mediado por un efecto indirecto sobre la familia de las células osteoblásticas. Dicho estudio es congruente con otros que demuestran que la estimulación del adrenoreceptor  $\beta_2$  ejerce un efecto estimulante en los osteoclastos mediante el incremento de la expresión de RANKL (Elefteriou et al., 2005).

En respuesta al ejercicio, las catecolaminas juegan un papel fundamental en la movilización de sustratos energéticos desde el hígado, músculo esquelético y el tejido adiposo (Kreisman et al., 2001). Las catecolaminas también estimulan la función cardiovascular para favorecer el transporte de oxígeno y los sustratos energéticos a los músculos activos tanto en reposo como en ejercicio, es decir, el entrenamiento puede influir en los receptores androgénicos a nivel del hígado, músculo esquelético y tejido adiposo (Zhoual et al., 2008).

Para una determinada duración de ejercicio las concentraciones de noradrenalina se incrementan exponencialmente con la intensidad. Para un nivel constante de  $VO_2$  las concentraciones plasmáticas de noradrenalina se incrementan continuamente hasta la extenuación, cualquiera que sea la intensidad del ejercicio (Friedman & Kindermann, 1989). Dicho incremento se acelera más allá del 75% del máximo rendimiento aeróbico. Kjaer et al., (1985) reportaron que 60 minutos de ejercicio al 35% del  $VO_{2\text{máx}}$  es suficiente para

incrementar las concentraciones de noradrenalina y que 20 minutos de ejercicio al 40-50% del  $VO_2$ máx son necesarios para incrementar las concentraciones de adrenalina, en otras palabras, cuando la duración es el factor determinante ambas hormonas pueden incrementar incluso a una intensidad muy baja (Kjaer et al., 1985).

Sin embargo, el incremento en la concentración de las catecolaminas es más importante para ejercicios extenuantes con intensidades superiores al máximo rendimiento aeróbico, es decir, las concentraciones basales de catecolaminas se elevan de cinco a diez veces o incluso más, observándose en sujetos que realizaron un ejercicio al 130% y al 156% de su  $VO_2$ máx y al final de un ejercicio progresivo hasta la extenuación (165% del  $VO_2$ máx) (Lehmann et al., 1985).

El coactivador  $1\alpha$  del receptor activado del proliferador de peroxisoma (**PGC-1 $\alpha$** ) es un coactivador transcripcional el cual ha ayudado a entender cómo las rutas reguladoras se combinan para constituir una defensa antioxidante y ejercer una respuesta ante la inflamación muscular (Kang & Ji, 2012). En un principio se identificó como un activador funcional del receptor proliferador activado de peroxisoma (PPAR  $\gamma$ ) en el tejido adiposo pardo y es muy conocido su efecto sobre numerosas funciones metabólicas (Lin et al., 2002). Se ha localizado en otros tejidos ricos en mitocondrias, incluido el músculo esquelético, el corazón, en el hígado, riñón y cerebro (Finck & Kelly, 2006). Esta molécula interactúa con numerosos receptores y factores de transcripción para activar la transcripción de sus genes objetivo, y su actividad es consecuencia de multitud de estímulos entre los que se incluyen el ion calcio, las ERO, insulina, tiroides y estrógenos, hipoxia, la demanda de ATP y las citokinas (Puigserver & Spiegelman, 2003).

Una de las funciones más importantes del PGC-1 $\alpha$  es la regulación respiratoria, la biogénesis mitocondrial y la expresión de los genes (Puigserver & Spiegelman, 2003). Mejorar la biogénesis mitocondrial es un aspecto esencial de la termogénesis adaptativa, especialmente en la grasa parda y el músculo esquelético, en el cual la PGC-1 $\alpha$  se expresa y se induce debido a las bajas temperaturas y a estímulos adrenérgicos. La exposición a bajas temperaturas induce a la proliferación mitocondrial (Puigserver & Spiegelman, 2003).

La PGC-1 $\alpha$  también interviene en la absorción de la glucosa (Puigserver & Spiegelman, 2003). El gasto energético requiere una mayor absorción y metabolización de la energía. La PGC-1 $\alpha$  estimula los genes de la oxidación de los ácidos grasos en las células cardíacas, asociándose con un incremento de la oxidación de dichos ácidos grasos en los adipocitos y en el corazón (Lehman et al., 2000). Los efectos de la PGC-1 $\alpha$  en la absorción de la glucosa y el metabolismo energético son particularmente interesantes en el caso de la diabetes ya que existen numerosos estudios que indican que índices de oxidación mitocondrial pueden afectar a la absorción de la glucosa. De hecho, al mismo tiempo que se producen los efectos de la PGC-1 $\alpha$  en la respiración mitocondrial en las células esqueléticas musculares, este coactivador induce la expresión del transportador de la glucosa regulado por la insulina GLUT-4, incrementando de esta manera la absorción de glucosa (Michael et al., 2001). La relativa sensibilidad a la insulina de este proceso de transporte, sin embargo, no tiende a aumentar. El efecto de la PGC-1 $\alpha$  sobre la expresión de la GLUT-4 es parcial y se realiza enlazándose a un regulador transcripcional muscular denominado MEF2 (factor potenciador específico de miocito 2) (Puigserver & Spiegelman, 2003).

Otra función destacable del PGC-1 $\alpha$  es la regulación de la biogénesis mitocondrial. Dicha regulación es un complejo proceso que requiere la síntesis e incorporación de proteínas y lípidos al retículo mitocondrial, así como la replicación del ADN mitocondrial (mt DNA) (Mootha et al., 2003). En un principio se pensaba que la PGC-1 $\alpha$  era el principal regulador de la biogénesis mitocondrial y ejercía dicha regulación mediante la coactivación de determinados factores de transcripción que se unían a promotores de diferentes grupos de genes mitocondriales codificados (Handschin & Spiegelman, 2008). Se conoce que el PGC-1 $\alpha$  interactúa con varios factores de transcripción, entre ellos miembros de la familia PPR, factores de respiración nuclear (NRF)-1 y (NRF)-2, el receptor  $\alpha$  de estrógenos (ERR- $\alpha$ ), así como el potenciador específico MEF2, la proteína O (FOXO) 1 y las proteínas reguladoras de esterol (SREBP)(Russell, 2005). Por ejemplo, PGC-1 $\alpha$  promueve la expresión de numerosas proteínas mitocondriales (NEMP) además del factor transcriptor mitocondrial A (TFAM), el cual estimula directamente la replicación del ADN mitocondrial (ADNmt) (Kelly & Scarpulla, 2004). La sobreexpresión de la PGC-1 $\alpha$  en mioblastos de cultivo y otras células estimula las subunidades de ARNm e incrementa la subunidad del citocromo oxidasa 4 (COXIV), los niveles

proteínas de citocromo c (Cyt C) y el ADNmt como adaptación para facilitar el incremento del uso de oxígeno (Kang & Ji, 2012).

La regulación mitocondrial del PGC-1 $\alpha$  depende del tejido y del estadio de desarrollo del mismo. La sobreexpresión de PGC-1 $\alpha$  durante los estados prenatales conlleva un aumento significativo en el número y tamaño de mitocondrias cardíacas que coincide con la sobreexpresión de los marcadores de los genes asociados a la biogénesis mitocondrial. Sin embargo, en ratones adultos, se observa un modesto incremento en el número de mitocondrias asociado a desequilibrios de la superestructura mitocondrial y a desarrollo de cardiomiopatías (Russell et al., 2004).

Ya conocemos que el ejercicio de resistencia puede incrementar el contenido mitocondrial y la capacidad respiratoria del músculo esquelético que tiene como consecuencia un menor uso de glucógeno y glucosa muscular, una gran dependencia de la oxidación de las grasas y menos acumulación de lactato en ejercicios submáximos (Kang & Ji, 2012). La PGC-1 $\alpha$  se considera un regulador importante del fenotipo asociado al ejercicio y de la transformación de fibras tipo II a fibras tipo I (Lin et al., 2002). En el músculo esquelético la expresión de la PGC-1 $\alpha$  está vinculada a la contracción muscular a través de la calmodulina dependiente de la proteína quinasa IV. Se sabe que la CamKIV y la calcineurina se activan mediante el calcio ion dentro del músculo en respuesta al ejercicio. El aumento de la señalización del calcio durante la contracción muscular activa varios factores de transcripción fundamentales como la proteína de unión a elementos de respuesta a AMPc (CREB) la cual es objetivo de CamKIV y de los potenciadores de miocitos (MEF) 2 (Handschin, 2010). Otro factor que regula PGC-1 $\alpha$  en relación al ejercicio es el p38 MAPK, el cual activa MEF2, activando a su vez el factor de transcripción activador tipo 2 (ATF2). P38 MAPK junto con ATF2 aumentan la expresión de PGC-1 $\alpha$ . La interacción ATF2-CREB constituye un principio para que PGC-1 $\alpha$  desempeñe su función de señalización. P38 MAPK también estimula la PGC-1 $\alpha$  mediante fosforilación en respuesta a la estimulación de citoquinas en las células musculares (Puigserver et al., 2001).

Finalmente, considerando que AMPK es un sensor metabólico carente de energía, AMPK se activa con el ejercicio debido a un aumento de la ratio AMP/ATP y el flujo del Ca<sup>2+</sup> durante la contracción muscular, potenciando la actividad de transcripción del PGC-1 $\alpha$ . La

activación de p38 MAPK tras la unión de CREB a PGC-1 $\alpha$  desempeña una función esencial en la activación de la expresión de PGC-1 $\alpha$  en respuesta al aumento de la actividad muscular (Kang & Ji, 2012).

El ejercicio de resistencia es un poderoso estímulo para la plasticidad muscular como la modificación de fibras glucolíticas a fibras oxidativas (Handschin, 2010). El PGC-1 $\alpha$  analizado en ratones muestra cambios de fibras oxidativas a glucolíticas. Cabe destacar que en el análisis de PGC-1 $\alpha$ , el músculo esquelético en animales muestra una disminución de la capacidad de resistencia y muestra un daño en la fibra muscular observándose elevados índices de inflamación después de una prueba en tapiz rodante (Handschin et al., 2007). Kang et al., (2009) examinaron la sensibilidad de la PGC-1 $\alpha$  al entorno redox durante un sprint, resaltando que reduciendo las ERO con allopurinol para inhibir la XO (xantina oxidasa), la mayor fuente de ERO en este tipo de ejercicio, disminuyó la expresión de la PGC-1 $\alpha$  y la ruta de señalización que controla la PGC-1 $\alpha$  además de la biogénesis mitocondrial.

### **2.3.2. Estrés oxidativo e inflamación asociados al ejercicio físico extenuante y su efecto sobre el proceso de remodelado**

Los osteocitos perciben el estímulo mecánico y producen las moléculas de señalización que son potentes reguladores del reclutamiento y actividad de los osteoblastos así como los osteoclastos y sus precursores (Bakker et al., 2006). Estos osteocitos que perciben la carga mecánica producen IL-6, la cual afecta tanto a los osteoclastos como los osteoblastos (Bakker et al., 2014). Cuando la carga mecánica está presente, los osteocitos producen factores que inhiben la osteoclastogénesis y/o disminuyen la producción de señales de estimulación de los osteoclastos. Los estímulos mecánicos afectan a la producción de citoquinas y moléculas de señalización como IL-6, RANKL, OPG y esclerontina. La IL-6 y RANKL estimulan la osteoclastogénesis mientras que la OPG la inhiben. Sin embargo, otros autores (Marques et al., 2013) establecen que un entrenamiento de 32 semanas no modificó significativamente los marcadores de remodelado óseo (Tabla 6), siendo estos marcadores muy similares entre grupos en los niveles basales (Marques et al., 2013).

**Tabla 6:** Marcadores proinflamatorios tras 32 semanas de entrenamiento. <sup>a</sup> Diferencias significativas entre grupos después del entrenamiento (Marques et al., 2013).

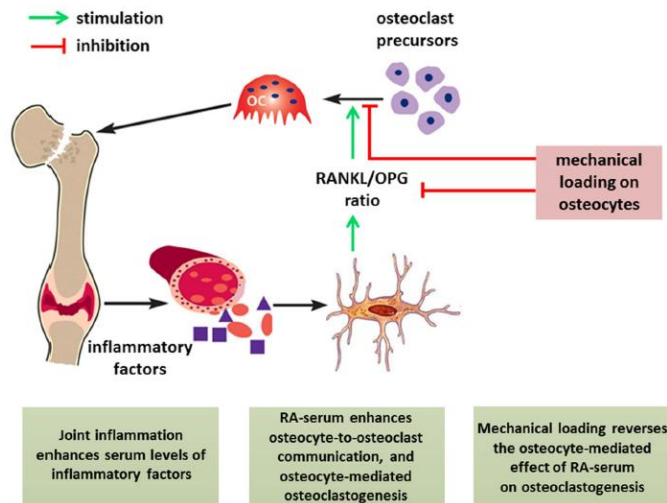
Serum bone-related and pro-inflammatory markers responses to 32 weeks of exercise training.

Variable	Women		ES	Men		ES	p (Group)	p (Time)	p (Interaction)
	Pre-training	Post-training		Pre-training	Post-training				
OC (ng/mL)	14.82 ± 3.64	15.43 ± 4.12	-0.17	14.08 ± 2.87	13.75 ± 2.80	0.12	0.195	0.717	0.225
CTX (ng/mL)	0.38 ± 0.14	0.38 ± 0.15	0.01	0.37 ± 0.12	0.36 ± 0.12	0.12	0.722	0.571	0.667
OC/CTX	42.91 ± 15.35	43.83 ± 12.55	-0.06	39.45 ± 7.92	40.67 ± 10.88	-0.15	0.309	0.450	0.915
OPG (pg/mL) <sup>a</sup>	514.61 ± 117.57	503.45 ± 118.85	0.09	432.80 ± 126.10	423.81 ± 107.64	0.07	0.018	0.294	0.909
RANKL (pg/mL)	29.64 ± 13.82	26.53 ± 14.64	0.23	27.20 ± 9.72	26.53 ± 9.89	0.07	0.722	0.090	0.269
OPG/RANKL	30.38 ± 39.60	31.49 ± 36.85	-0.03	17.64 ± 6.83	19.66 ± 12.32	-0.30	0.122	0.557	0.865
IL-6 (pg/mL)	1.18 ± 0.81	1.11 ± 0.91	0.09	1.62 ± 1.25	0.97 ± 0.84 <sup>b</sup>	0.52	0.538	0.042	0.013
TNF-α (pg/mL)	7.30 ± 2.46	7.28 ± 2.16	0.01	7.39 ± 2.05	7.99 ± 2.52	-0.30	0.538	0.164	0.149
IFN-γ (pg/mL)	0.75 ± 0.51	0.48 ± 0.36	0.54	0.63 ± 0.43	0.44 ± 0.21	0.45	0.393	0.002	0.393
hs-CRP (mg/L)	3.06 ± 2.27	2.54 ± 1.81	0.23	2.53 ± 1.95	1.63 ± 1.01	0.46	0.133	0.006	0.428

La IL-1β y el TNF-α reducen la respuesta fisiológica de los osteocitos a las cargas mecánicas. Las cargas mecánicas durante el ejercicio inhiben la inflamación inducida por la osteoclastogénesis evitando la pérdida de hueso (Figura 19) (Pathak et al., 2015). En estudios con animales, se ha relacionado la inflamación con la osteoporosis. Dicha relación se manifiesta primeramente en la diferenciación y actividad de las células responsables de la resorción, es decir, los osteoclastos, estableciendo que las citoquinas proinflamatorias suprimen la expresión de la osteoprotegenina (OPG) al mismo tiempo que estimulan la expresión del ligando receptor activador RANKL (Schett, 2011). La estimulación mecánica puede inhibir la formación y la actividad osteoclástica incrementando la ratio OPG/RANKL.

**Figura 19:** Modelo fisiológico que ilustra cómo la carga mecánica puede prevenir la pérdida de hueso provocada por la inflamación en la artritis reumatoide. La inflamación en la articulación aumenta los niveles de factores inflamatorios. La patología reumatoide mejora la comunicación osteocito-osteoblasto y los osteocitos mediadores de la osteoclastogénesis. Finalmente, la carga mecánica invierte el efecto mediador de los osteocitos en el proceso de osteoclastogénesis (Pathak et al., 2015).





La expresión del RANKL está inducida por citoquinas proinflamatorias, concretamente el factor de necrosis tumoral y las interleuquinas 1 y 17, lo cual pone de manifiesto los efectos del RANKL en el hueso. El factor de necrosis tumoral ejerce sus efectos en la osteoclastogénesis actuando directamente en los precursores de los osteoclastos y de forma indirecta sobrerregulando la producción de M-CSF y RANKL en las células mesenquimales (Lam et al., 2000).

Es probable que el TNF juegue un papel esencial en la resorción ósea interactuando con RANKL. También se ha sugerido que el TNF contribuye a la formación de los osteoclastos por la sobrerregulación de la expresión del receptor asociado tanto a los propios osteoclastos como a sus precursores (Herman et al., 2008).

La IL-6 puede sobrerregular el RANKL y de esta forma, indirectamente, favorecer la formación de los osteoclastos a través de la interacción con las células mesenquimales. Los efectos de la IL-6 sobre los osteoclastos son inhibitorios más que estimuladores. El efecto paradójico se explica por el hecho de que la IL-6 *per se* reprime los osteoclastos, sin embargo, el complejo IL-6 y su receptor soluble IL-6R estimulan la osteoclastogénesis (Sims et al., 2004).

Una de las consecuencias más relevantes de la menopausia y de la ooforectomía es el incremento de la formación de osteoclastos. Dicha formación tiene lugar cuando los macrófagos de la médula ósea (BMMs) son coestimulados por el factor receptor activador

RANKL y el factor macrófago estimulador M-CSF. Sin embargo, después de la menopausia TNF se produce en ingentes cantidades en la médula ósea regulando la formación de los osteoclastos (Weitzmann et al., 2006). TNF estimula la producción de RANKL y M-CSF, incrementa la capacidad de respuesta de los precursores de osteoclastos respecto a RANKL e induce citoquinas osteoclastogénicas como IL-1, IL-6 e IL-7 (Weitzmann et al., 2006).

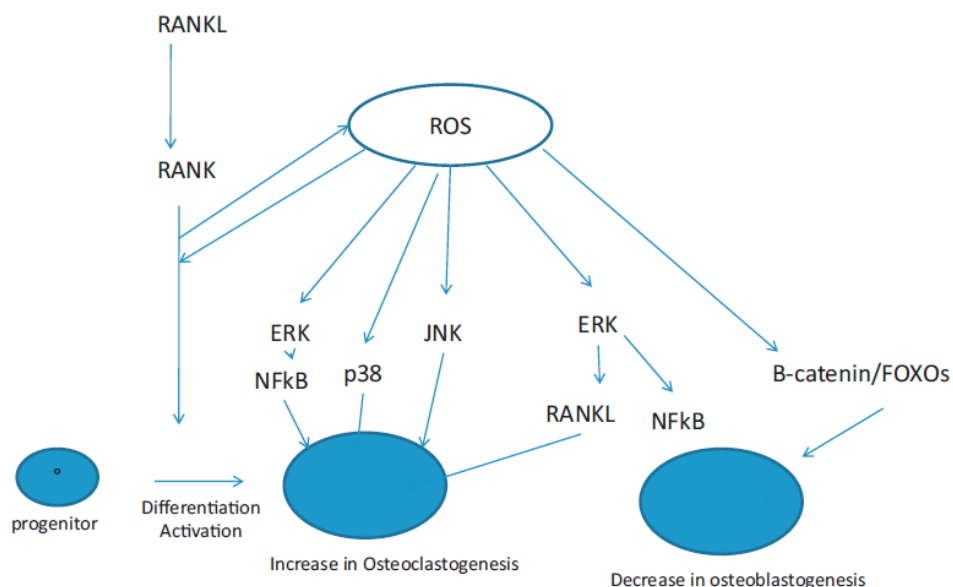
El ejercicio crónico manifiesta una forma de **estrés oxidativo** y, por lo tanto, puede alterar el equilibrio entre antioxidantes y pro-oxidantes (Finaud et al., 2006). Algunas rutas metabólicas, a través del ejercicio, pueden estimular la producción de ERO. La primera ruta comprende la pérdida de electrones de la mitocondria durante el ejercicio aeróbico, produciéndose un incremento del flujo de oxígeno lo que resulta en un aumento de producción de radicales libres. El ejercicio asociado fisiológicamente a las rutas metabólicas como aquellas involucradas en un daño muscular incorpora el consiguiente aumento de la actividad fagocítica (Finaud et al., 2006), La alteración de las proteínas que contienen hierro y la producción de xantina oxidasa pueden también dar lugar a un incremento del estrés oxidativo (Finaud et al., 2006). Además, la autooxidación de catecolaminas, las cuales son liberadas desde las glándulas adrenales en grandes cantidades durante el ejercicio, induce un incremento de radicales libres. Generalmente, el ejercicio puede tener efectos positivos o negativos dependiendo de la naturaleza de la carga, las características del entrenamiento y el nivel de condición física del individuo. El ejercicio aeróbico viene acompañado de un aumento del consumo de oxígeno que puede incrementar a su vez la actividad de las ERO. Sin embargo, dicho fenómeno no suele ocurrir con ejercicio a bajas intensidades (debajo del 60% del  $VO_2$ máx) (Finaud et al., 2006). En este caso, la capacidad antioxidante no se ve sobrepasada y el daño producido por las ERO no aparece (Finaud et al., 2006). El ejercicio regular y moderado incrementa la actividad de las proteasomas en el miocardio y disminuye los niveles de proteínas carboniladas y otras proteínas dañadas.

El ejercicio anaeróbico incluye una amplia variedad de actividades deportivas y existen numerosas rutas metabólicas a través de las cuales se puede incrementar el nivel de estrés oxidativo como la xantina, el metabolismo de los prostanoïdes, la isquemia/reperfusión y la capacidad respiratoria fagocítica (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Otra fuente importante de ERO en el ejercicio anaeróbico aparece durante la inflamación y el daño celular, los cuales se manifiestan en ejercicios de impacto y ejercicio excéntrico. Una liberación de

hierro de la hemoglobina o la ferritina puede amplificar la respuesta inflamatoria y el estrés oxidativo (Thirumalai et al., 2011). Las enzimas antioxidantes pueden activarse de forma selectiva durante una carga aguda de entrenamiento o de ejercicio extremo dependiendo del estrés oxidativo generado en los tejidos específicos y en la capacidad defensiva antioxidante (Thirumalai et al., 2011).

Alterar el equilibrio entre la resorción y la formación en favor de los osteoclastos conduce a un proceso de resorción patológica y, por tanto, a alteraciones óseas importantes (Banfi et al., 2008). Las ERO están implicadas en la apoptosis de los osteoblastos, osteocitos y en la osteoclastogénesis y, en consecuencia, en la resorción ósea (Almeida et al., 2007), además provocan un amplio rango de respuestas como la muerte celular a través de la activación de determinadas rutas metabólicas (Figura 20) (Bai et al., 2005). La triada molecular formada por la osteoprotegenina, el receptor activador RANK y el ligando del receptor activador RANKL juegan un papel fundamental en el remodelado óseo y en funciones importantes como el enlace molecular para el acoplamiento de los osteoblastos y osteoclastos (Filaire & Toumi, 2012).

**Figura 20:** Rutas de activación de la señalización de las ERO que afectan la génesis de los osteoblastos y osteoclastos. En los precursores de los osteoclastos, la activación inducida RANKL de RANK estimula la producción de ERO, la cual es esencial para la osteoclastogénesis. La resorción de hueso inducida por las ERO se produce mediante la modulación de quinasas y la actividad del factor de transcripción tanto en osteoblastos como en osteoclastos (Filaire & Toumi, 2012).



Los osteoclastos son células secretoras de ácido las cuales tienen altas demandas energéticas y contienen abundantes mitocondrias (Filaire & Toumi, 2012). La mitocondria y las ERO, particularmente el  $H_2O_2$  desempeñan un papel fundamental en la diferenciación y función de los osteoclastos. Las ERO incrementan la cantidad de osteoclastos y, por lo tanto, la resorción a través de la estimulación de la expresión de RANKL y TNF a través de la activación de ERK y NF- $\kappa$ B (Manolagas 2010).

El incremento de la actividad osteoclástica puede incrementar el anion superóxido y/o inhibir la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa con una consiguiente destrucción de hueso (Sheweita & Khoshhal, 2007).

Los osteoblastos pueden producir antioxidantes como la glutatión peroxidasa que protege contra las ERO, así como transformar el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) el cual está implicado en la reducción de la resorción ósea (Fuller et al., 2000). Bai et al., (2005) reportaron que  $H_2O_2$  suprimió el proceso de diferenciación de los osteoblastos que se manifestó en una reducción de los marcadores de diferenciación incluyendo el colágeno tipo I, ALP, el osteoprogenitor CFU-O y Runx2 (Bai et al., 2005). El  $H_2O_2$  inhibe la diferenciación celular de la línea celular preosteoblástica y de la línea estromal de la médula ósea que sufre la diferenciación osteoblástica (Mody et al., 2001).

### 3. COENZIMA Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>) y EJERCICIO

---

El daño inducido por el ejercicio se ha tratado utilizando diversas técnicas para mitigar la inflamación como la crioterapia, los antiinflamatorios no esteroideos y las vitaminas antioxidantes, pero sus resultados han sido poco consistentes (Al-Nawaiseh et al., 2016).

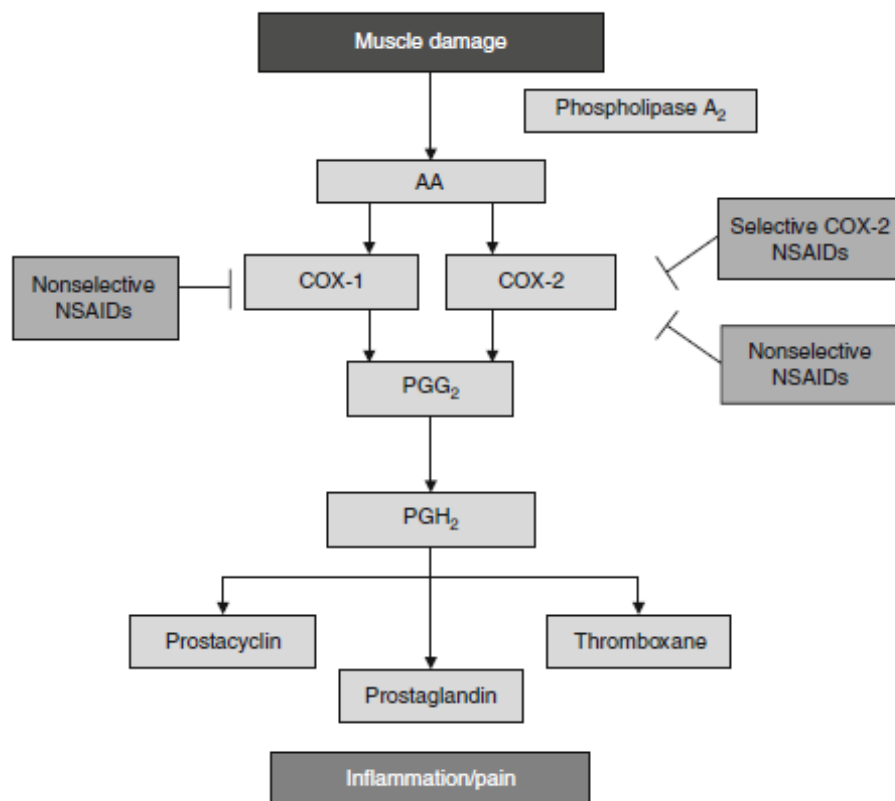
La suplementación con mezclas de antioxidantes reduce significativamente el estrés hormonal y las respuestas de las citoquinas a los ejercicios prolongados (Davidson & Gleeson, 2005). Thompson et al., (2003) estudiaron si la administración de vitamina C después de un ejercicio intenso influía en la recuperación. A pesar de que los indicadores de daño muscular permanecieron elevados (la mioglobina permaneció elevada 24 horas después del ejercicio y la CK hasta 72 horas) hubo suficiente tiempo para que la vitamina C surtiera efecto sobre estos marcadores, lo cual demostró que la administración de vitamina C inmediatamente después del ejercicio no afectaba a la permeabilidad de la membrana ni a la liberación de las proteínas musculares a la circulación sanguínea (Thompson et al., 2003).

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos se utilizan habitualmente para aliviar los síntomas derivados del daño muscular inducido por el ejercicio intenso y restaurar la función normal del músculo esquelético. Las isoformas ciclooxigenasas COX-1 y COX-2 se expresan en el músculo esquelético y tienen una función sobrerreguladora en respuesta al ejercicio, aunque es la isoforma COX-2 la que proporciona la primera respuesta inflamatoria (Schoenfeld, 2012) (Figura 21). Los efectos hipertróficos de estas isoformas están relacionados con la síntesis de varias prostaglandinas que estimulan la proliferación de células satélite e incrementan la síntesis proteica. Los antiinflamatorios no esteroideos bloquean las COX suprimiendo la producción de prostaglandinas, pudiendo afectar la regeneración y supercompensación musculares (Schoenfeld, 2012).

Durante un ejercicio prolongado, la molécula polipéptida mensajera IL-6 se genera en el interior del músculo y en el sistema nervioso central (Robson-Ansley et al., 2004). La concentración de esta molécula puede elevarse hasta 60 veces en una prueba de Maratón. Dicha molécula, por lo tanto, contribuye a la sensación de fatiga durante el ejercicio, estados

depresivos y la reducción de la concentración en respuesta a la IL-6 recombinante (rhIL-6) (Spath-Schwalbe et al., 1998). Sin embargo, los individuos con concentraciones elevadas de IL-6 experimentaron una inmediata desaparición de la sensación de fatiga cuando se les administró el anticuerpo receptor de la IL-6 el cual bloquea la señal de transducción de la IL-6 (Robson-Ansley et al., 2004).

**Figura 21:** Sistema simplificado de la ruta inflamatoria COX a consecuencia del daño provocado por el ejercicio y la aplicación de NSAID (Droga antiinflamatoria no esteroidea). El daño muscular provoca la activación de la fosfolipasa A<sub>2</sub> la cual se une al ácido araquidónico (AA) desde la membrana celular. AA se transforma en PGG<sub>2</sub> (Prostaglandina G<sub>2</sub>) por la acción de COX. Pgg<sub>2</sub> a su vez se transforma en PGH<sub>2</sub> el cual funciona como precursor de las prostaglandinas. La NSAID ejerce su acción inhibiendo el COX bloqueando la síntesis de las prostaglandinas y de este modo reduce la respuesta inflamatoria (Schoenfeld, 2012).



Un ejercicio fuera de lo habitual puede provocar daño muscular y una reducción en su capacidad de generar fuerza con efectos normalmente atribuidos a daños mecánicos generados durante el ejercicio. Sin embargo, también existe un daño muscular post-ejercicio que no está relacionado con un estrés mecánico continuado (MacIntyre et al., 1995). Este daño secundario está relacionado con a la inflamación como respuesta al daño muscular inicial

y que tal respuesta es la causa de la aparición tardía del daño muscular. Diversos autores afirman que los fagocitos pueden ser los responsables de este daño secundario, los cuales son incapaces de distinguir el tejido sano del dañado (MacIntyre et al., 1995).

Conocemos además que el ejercicio físico extenuante se caracteriza por producir un aumento de hasta 20 veces el consumo de oxígeno lo cual conlleva un aumento en la producción de las ERO. Dicha sobreproducción de ERO produce un desequilibrio favoreciendo los pro-oxidantes sobre los antioxidantes produciendo daño en determinados componentes biológicos como lípidos, proteínas y material genético (Frenette & Côté, 2000).

Tanto los macrófagos como los neutrófilos liberan un determinado número de agentes en el medio extracelular, incluidos los radicales superóxidos, dando como resultado un potencial desarrollo de las ERO durante el periodo post-ejercicio (Thompson et al., 2003). Estos desequilibrios han contribuido a considerar el efecto protector de la suplementación con antioxidantes y entre éstos destaca la CoQ<sub>10</sub>.

### 3.1. Generalidades de la CoQ<sub>10</sub>

La coenzima Q<sub>10</sub> (CoQ<sub>10</sub>), también denominada Ubiquinona, es una molécula versátil lipofílica e implicada en multitud de funciones en el organismo necesaria en la mitocondria como transportadora de protones y electrones en la cadena respiratoria mitocondrial (CRM). Es un compuesto de origen natural similar a las vitaminas (Bhagavan & Chopra, 2006). Debido a su distribución de origen natural también se conoce como Ubiquinona (Bhagavan et al., 2006). La CoQ<sub>10</sub> pertenece al grupo de compuestos que comparten un anillo de benzoquinona común, pero difiere en la longitud de la cadena lateral de isoprenoides (Bhagavan & Chopra, 2006). Esta cadena lateral está compuesta por 10 unidades de isoprenoides, por tanto, se le denomina CoQ<sub>10</sub> (Bhagavan & Chopra, 2006). La CoQ<sub>10</sub> también es parecida a la vitamina K en su estructura química pero no se la considera una vitamina porque se sintetiza en el organismo (Bhagavan & Chopra, 2006) (Tabla 7). Su nomenclatura química es 2,3-dimethoxy-5-metil-6-decapanil-1,4-benzoquinona la cual está en la configuración trans (natural) (Bhagavan & Chopra, 2006).

**Tabla 7:** Distribución del estado redox de la CoQ<sub>10</sub> en tejidos humanos (Bhagavan & Chopra, 2006).

Tissue	CoQ <sub>10</sub> (nmol/g)	Redox state (% reduced)
Heart	132.0	61.0
Kidney	77.0	75.0
Liver	63.6	95.0
Muscle	46.0	65.0
Brain	15.5	23.0
Intestine	13.3	95.0
Lungs	9.2	25.0
Plasma (μmol/l)	1.1	96.0*

La CRM proporciona a través de la fosforilación oxidativa, la capacidad de sintetizar ATP el cual es esencial para determinadas funciones celulares. Además, el pool mitocondrial de la CoQ<sub>10</sub> puede desempeñar otras funciones como la biosíntesis de la pirimidina, la actividad lipofílica antioxidante, la regulación de la permeabilidad mitocondrial y el mantenimiento de la temperatura corporal a través de su función como cofactor para la separación de proteínas mitocondriales (Echtay et al., 2000).

El organismo contiene alrededor de 2000 mg de CoQ<sub>10</sub> principalmente localizada en la mitocondria. La CoQ<sub>10</sub> es esencial para la producción de energía en la mitocondria, pero también, como se ha visto, funciona como antioxidante en las membranas celulares. (Ernster & Dallner, 1995). La CoQ<sub>10</sub> juega un rol esencial en la fosforilación oxidativa vía la cadena de transporte respiratoria para la producción mitocondrial de ATP. El ATP es la moneda energética generando el 96% de la energía generada por medios aerobios (Ernster & Dallner, 1995). Durante el transporte de electrones en la cadena respiratoria el ubiquinol y la ubiquinona se convierten continuamente una a la otra. La ubiquinona y el ubiquinol trabajan como catalizadores y realmente no se consumen (Siebrecht et al., 2015). Sin embargo, una pequeña parte de la CoQ<sub>10</sub> se destruye y se pierde a diario. Por lo tanto, la CoQ<sub>10</sub> debe ser sintetizada por el organismo o suministrada mediante la dieta. Los organismos con un elevado turnover energético especialmente el corazón y los músculos esqueléticos dependen del adecuado aporte de CoQ<sub>10</sub>. Si estos organismos son deficientes en CoQ<sub>10</sub> generan menos energía (Siebrecht et al., 2015).

Puesto que la CoQ<sub>10</sub> desempeña un papel fundamental en la producción energética por vía aeróbica, se ha observado una relación entre los niveles séricos de CoQ<sub>10</sub> y la mejora energética en los músculos implicados en el ejercicio. La CoQ<sub>10</sub> incrementa los niveles de



difosfoglicerato en los eritrocitos. Puesto que el 2,3 difosfoglicerato desplaza la curva de disociación de Hb-O<sub>2</sub> hacia la derecha, la entrega de O<sub>2</sub> a los músculos se incrementa a un nivel dado de PaO<sub>2</sub> (Kilmartin & Bernardi, 1973). Por lo tanto, la síntesis de ATP y la producción de lactato pueden mejorar como resultado del incremento de la oxigenación muscular. Esto no sólo puede ocurrir en el músculo esquelético, sino en los músculos cardíaco y respiratorio (Kilmartin & Bernardi, 1973).

El Sistema Nervioso Autónomo juega una función importante en el metabolismo energético. Un cambio o una reducción en la actividad del sistema nervioso simpático *per se* contribuye a la patogénesis de la obesidad (Peterson et al., 1988). Zheng & Moritani (2008) demostraron una mayor oxidación de las grasas en aquellos sujetos a los que se les administró CoQ<sub>10</sub> comparados con el grupo placebo, sugiriendo también que la estimulación del metabolismo de las grasas por parte de la CoQ<sub>10</sub> podría estar influida por la mejora de la actividad del sistema nervioso autónomo (Zheng & Moritani, 2008). Este aumento de la oxidación de las grasas y el incremento de la actividad del sistema nervioso simpático puede deberse a la mejora en el uso del O<sub>2</sub> en los tejidos periféricos dando como resultado una mejora del metabolismo de las grasas (Zheng & Moritani, 2008).

Además de su función mitocondrial, la CoQ<sub>10</sub> tiene funciones extramitocondriales como antioxidante liposoluble con la capacidad de restablecer las propiedades antioxidantes como la vitamina E (Ernster & Dallner, 1995), regulador de inflamomas con efectos antiinflamatorios, modulador de la mitofagia y regulador de las propiedades físico-químicas de las membranas celulares (Turunen et al., 2002).

Todas las funciones de la CoQ<sub>10</sub> son debidas a su estructura química particular basada en un anillo de benzoquinona conjugado con diez cadenas largas de isoprenoides. (Guaras et al., 2016). La CoQ<sub>10</sub> puede transportar hasta dos electrones y existe en dos estados redox: completamente oxidada (Ubiquinona), parcialmente reducida (semiquinona o ubisemiquinona) y completamente reducida (Ubiquinol). El estado redox de la CoQ<sub>10</sub> juega un papel esencial en la mitocondria actuando como un sensor clave metabólico que ajusta la configuración de los supercomplejos mitocondriales para combinar el perfil predominante (Guaras et al., 2016).

La CoQ<sub>10</sub> está presente en la mayoría de tejidos, sin embargo, su distribución no es homogénea localizándose sus mayores niveles en el corazón, hígado y músculos, y sus niveles más bajos en los pulmones y el colon (Turunen et al., 2004). Sorprendentemente, en el mismo tejido, las concentraciones de CoQ<sub>10</sub> pueden variar hasta ocho veces como ocurre en algunas regiones del cerebro (Runquist et al., 1995). Se desconoce, en cambio, si esta distribución heterogénea se debe a la diferente producción de CoQ<sub>10</sub> de los tejidos o a la peculiaridad de la masa mitocondrial o a ambas circunstancias.

En una amplia gama de desórdenes se han encontrado niveles anómalos de CoQ<sub>10</sub> tanto en deficiencia primaria como secundaria, por ejemplo, en trastornos mitocondriales (Sacconi et al., 2010).

La CoQ<sub>10</sub> posee un marcado perfil seguro mostrando un índice de efectos adversos bajo. No obstante, algunos ensayos clínicos muestran que el tratamiento con CoQ<sub>10</sub> puede causar náusea, acidez y malestar de estómago (o efectos similares en dosis de 1200 mg/día o en menores cantidades en pacientes con el trastorno de Huntington), infarto de miocardio (Langsjoen et al., 1994) y fallo cardiaco (Lampertico et al., 1993). Un posible efecto adverso de la CoQ<sub>10</sub> sería un descenso de la biosíntesis endógena y reducción sanguínea de los tejidos dando lugar a un efecto rebote si el suministro oral se suspende (Lampertico et al., 1993).

La contribución dietética mínima de la CoQ<sub>10</sub>, estimada se encuentra en torno a los 3-5 mg/día. El organismo principalmente depende de la síntesis endógena de esta coenzima (Weber et al., 1997). Los niveles plasmáticos normales de la CoQ<sub>10</sub> endógena oscilan entre 0.55-1.87 mg/L (Berthold et al., 2006). Sin embargo, estas medidas reflejan la ingesta dietética más que el estado de los tejidos. Además, la relación entre las cantidades plasmáticas y en tejidos de la CoQ<sub>10</sub> todavía no está esclarecida, y los niveles plasmáticos sólo deberían ser considerados como un sustituto del contenido de los tejidos (Folkers et al., 1985). De este modo, las células mononucleares sanguíneas (BMCs), los fibroblastos de la piel y las biopsias musculares pueden reflejar mejor los niveles en los tejidos de la CoQ<sub>10</sub>. Sin embargo, las determinaciones plasmáticas de CoQ<sub>10</sub> tienen un papel esencial en el tratamiento con esta coenzima y deberían ser consideradas después de 3-4 semanas de tratamiento, cuando las condiciones de equilibrio se alcanzan (Hosoe et al., 2007).

La deficiencia de CoQ<sub>10</sub> es inusual en individuos sanos porque la producción endógena normalmente es suficiente, sin embargo, debido a la escasa contribución de CoQ<sub>10</sub> de la dieta, su suplementación es la vía más rápida para incrementar los niveles y alcanzar las necesidades fisiológicas normales (Hosoe et al., 2007).

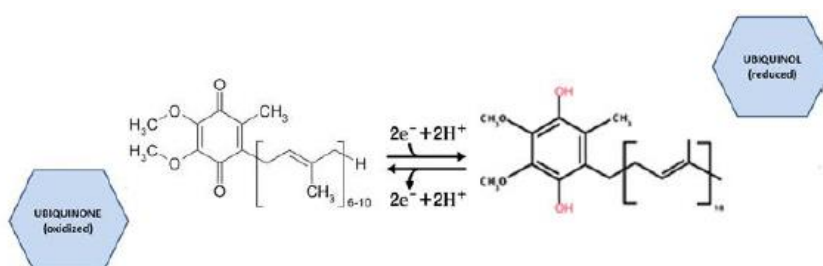
La biodisponibilidad de la forma cristalina de la CoQ<sub>10</sub> es baja e inconsistente en humanos debido a su baja solubilidad y elevado peso molecular. Las variables que afectan a la absorción incluyen el tipo de formulación, la dosis administrada y el intervalo de dosificación (Molyneux et al., 2007). Además, la absorción de la CoQ<sub>10</sub> se ve influenciada si el suplemento se administra con o sin comida, así como el tipo de alimentos ingeridos. De hecho, su absorción podría estar saturada en una única dosis diaria reduciendo su biodisponibilidad total. Por el contrario, bajas dosis diarias podrían mejorar su ingesta (Molyneux et al., 2007). Podría ser posible incrementar la eficacia del tratamiento en diversas condiciones mejorando su formulación para mejorar su biodisponibilidad. Por ejemplo, la idebenona es análoga a la CoQ<sub>10</sub> con un aumento de la solubilidad que comparte alguno de los beneficios de la CoQ<sub>10</sub> y constituye un tratamiento experimental en algunos desórdenes degenerativos. Además, la emulsión líquida mejora la biodisponibilidad de la CoQ<sub>10</sub> respecto a las formas sólidas facilitando su administración y su eficiencia terapéutica (Martinefski et al., 2017). Para maximizar los objetivos farmacológicos de la CoQ<sub>10</sub> se han realizado numerosos estudios como la reducción de su tamaño, mejora de la solubilidad y la creación de nuevos compuestos como liposomas, microesferas, nanopartículas, nanoemulsiones, y sistemas de auto emulsión (Zaki, 2016).

La CoQ<sub>10</sub> es soluble en grasa y como resultado tiene que ser emulsionada en un medio acuático en el intestino antes de ser absorbida por el organismo (Kaikkonen et al., 2000). Por lo tanto, su biodisponibilidad depende de la formulación de la CoQ<sub>10</sub> y la forma de su ingesta. Las grasas, los aceites y los agentes emulsionantes como la lecitina incrementan su biodisponibilidad (Kaikkonen et al., 2000). La Ubiquinona se presenta en un polvo cristalino soluble en agua. Su absorción sigue el mismo proceso que el de los lípidos y el mecanismo de absorción parece ser similar al de la vitamina E. Esto significa que, si se toman altas dosis de vitamina E compite contra la CoQ<sub>10</sub> por la absorción y, en consecuencia, disminuye la absorción de CoQ (Kaikkonen et al., 2000).

### 3.2. Ubiquinona vs Ubiquinol

El Ubiquinol (CoQH) es la forma reducida de la CoQ<sub>10</sub> y es la forma biológicamente activa de esta molécula en el organismo. Diversos estudios confirman que el CoQH es mucho más biodisponible y efectivo actuando más rápidamente en dosis más reducidas que su forma oxidada o ubiquinona (CoQoxi) ya que se encuentra en su forma activa y no necesita ser transformada por el organismo (Figura 22) (Díaz-Castro et al., 2015).

**Figura 22:** Conversión de Ubiquinona a ubiquinol (Díaz-Castro et al., 2015).



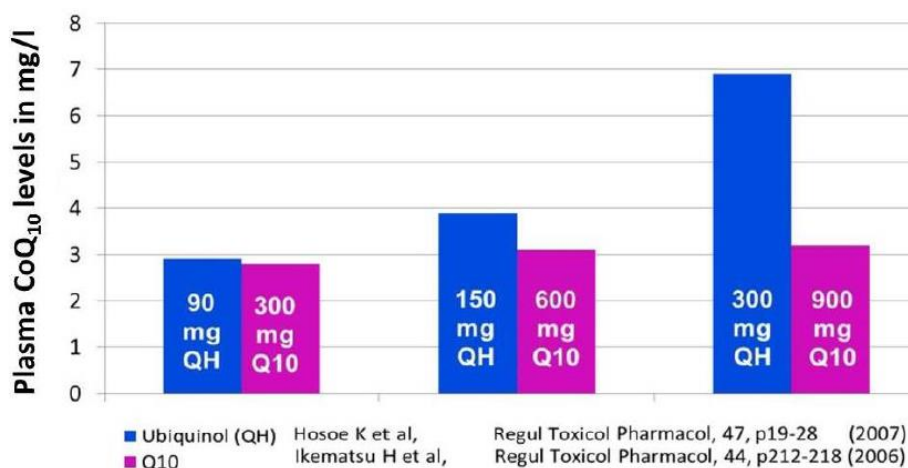
Una nueva forma desarrollada de CoQH (Kaneka QH) posee una excelente biodisponibilidad incrementándose hasta 4.7 veces los niveles de CoQ<sub>10</sub> en plasma después de una única dosis oral de CoQH en una dosis de 300mg, y aproximadamente un incremento de hasta 10 veces después de 28 días de tratamiento con CoQH a una dosis diaria de 300mg (Hosoe et al., 2007). El ubiquinol también tiene la capacidad ayudar a regenerar la vitamina E y vitamina C disminuidas. La CoQoxi, por otro lado, tiene que convertirse primero en ubiquinol para activar su efecto antioxidante. La CoQ<sub>10</sub> no se debe comparar con la multitud de antioxidantes solubles, los cuales se desplazan libremente en la sangre y no tienen una función específica. Junto con la vitamina E, la CoQ<sub>10</sub> tiene la tarea de proteger las membranas de las células lo cual le confiere una posición destacada entre los antioxidantes (Alf et al., 2013). Los niveles plasmáticos de 6-8 µg/ml se pueden alcanzar en seres humanos con 300 mg de ubiquinol (Hosoe et al., 2007).

Langsjoen & Langsjoen (2015) reportaron en un estudio donde se suplementó con ubiquinol y ubiquinona a sujetos sanos, que el ubiquinol es significativamente mejor absorbido que la ubiquinona lo cual es atribuido a la forma reducida de la CoQ<sub>10</sub>. Esto puede

ser debido en parte a la mayor polaridad del ubiquinol comparado con la ubiquinona (Langsjoen & Langsjoen, 2015). Asimismo, verificaron un incremento significativo del ubiquinol total durante la suplementación de ubiquinol, pero no durante la suplementación de la ubiquinona (Langsjoen et al., 2015). El ubiquinol total en plasma se reduce con la edad con un elevado nivel de estrés oxidativo asociado a determinadas condiciones de salud como la diabetes. Dicho descenso en plasma de ubiquinol total puede deberse a una mayor oxidación de ubiquinol en el organismo (Langsjoen & Langsjoen, 2015).

Se ha demostrado que existe una relación lineal entre los niveles plasmáticos de CoQ<sub>10</sub> y dosis de hasta 200-300 mg/día (Cooke et al., 2008), donde se observa un estancamiento. En humanos parece que existe una limitación para absorber CoQ<sub>10</sub>. En un estudio sobre personas con Parkinson sólo fue posible alcanzar niveles plasmáticos de 6mg/L con una dosis de 2.400-3.000 mg (Shults et al., 2002). Otros estudios demuestran que el QH es 2-4 veces más biodisponible que la CoQoxi. Una dosis oral de 300 mg de CoQoxi alcanza niveles de 3mg/L mientras que niveles plasmáticos similares se pueden alcanzar con 90 mg de QH (Hosoe et al., 2007) (Figura 23). Con 450-600 mg QH, se pueden alcanzar niveles de CoQ<sub>10</sub> de 6-8 mg/L (Langsjoen & Langsjoen, 2008).

**Figura 23:** Comparación de niveles plasmáticos de Q10 (CoQ<sub>10</sub>) después de una suplementación con CoQH o ubiquinona (Siebrecht et al., 2015).



Los mecanismos que subyacen detrás de la mayor disponibilidad de QH respecto de la CoQoxi no están completamente esclarecidos (Siebrecht et al., 2015). Probablemente, la CoQoxi deba reaccionar primero con la enzima CoQ<sub>10</sub>-reductasa, donde es reducida después

a ubiquinol antes de ser incorporada en las lipoproteínas, las cuales son liberadas posteriormente a la sangre. El QH como forma reducida de la CoQ<sub>10</sub> es independiente de esta enzima y puede ser inmediatamente incorporada en las lipoproteínas y de esta forma penetrar rápidamente en el torrente sanguíneo (Siebrecht et al., 2015).

### 3.2. CoQ<sub>10</sub> como suplemento durante la realización de ejercicio físico

Primero debemos indicar que los resultados mostrados en este apartado son principalmente referentes a estudios llevados a cabo con la forma oxidada de la CoQ<sub>10</sub>, dado que ha sido, hasta hace poco tiempo, la única forma de suplementar esta molécula. Así, salvo que se indique que se trata de la forma reducida (ubiquinol o QH) se tratará de suplementación con ubiquinona.

La CoQ<sub>10</sub> puede reducir el estrés oxidativo, la inflamación y el daño muscular (Díaz-Castro et al., 2012) y, por tanto, mejorar el rendimiento físico (Gökbel et al., 2010) debido a sus efectos ergogénicos. Existe, por tanto, una relación directa entre los niveles de CoQ<sub>10</sub> en sangre, el tejido muscular y el rendimiento físico (Cooke et al., 2008). También ha quedado demostrada la reducción del daño muscular (Kon et al., 2007).

Algunos informes han revisado los efectos de la suplementación de la CoQ<sub>10</sub> en el campo clínico y terapéutico en muchos trastornos como la deficiencia de CoQ<sub>10</sub>, miopatía asociada a la estatina, desórdenes neuromusculares y neurodegenerativos, cáncer o infertilidad masculina centrándose en trastornos cardiovasculares como el fallo cardíaco y la hipertensión (Sarmiento et al., 2016).

Sarmiento et al. (2016), analizaron los efectos de la CoQ<sub>10</sub> sobre el ejercicio postulando que la literatura disponible no permite unas conclusiones definitivas sobre los efectos de la CoQ<sub>10</sub> en el rendimiento físico encontrándose efectos positivos, neutrales y negativos en las ERO y la capacidad física (Sarmiento et al., 2016).

Probablemente, una de las razones que subyacen en estos resultados tan dispares radique en el uso de dosis inadecuadas (Glover et al., 2010). Otra razón de peso puede deberse a que la CoQ<sub>10</sub> no es eficazmente absorbida tras su ingestión. Además, se ha sugerido que a pesar de que la suplementación de esta molécula incrementa las concentraciones plasmáticas

de CoQ<sub>10</sub>, no necesariamente incrementa las concentraciones en la membrana mitocondrial (Zhou et al., 2005).

Díaz-Castro et al. (2012), sin embargo, estudiaron el efecto de una suplementación con CoQ<sub>10</sub> durante un ejercicio de alta intensidad. Postularon que la mayoría de los estudios se centran en el rendimiento y la actividad de los radicales libres en ejercicios de baja intensidad. Entre otros resultados, observaron un incremento en la actividad de la enzima catalasa (CAT) indicando una mejoría en la actividad antioxidante inducida por la suplementación de CoQ<sub>10</sub> (Díaz-Castro et al., 2012). La actividad de la CAT se ha asociado a una mayor resistencia al daño oxidativo (Beckman et al., 1998). Díaz-Castro et al., (2012) también observaron un significativo incremento en el estado antioxidante total debido a la suplementación con CoQ<sub>10</sub> y que coincide con otros estudios precedentes (Díaz-Castro et al., 2012, Ochoa et al., 2005).

Los estudios donde se han usado altas dosis de suplementación con QH han dado como resultado beneficios donde se han desarrollado una carga de trabajo a la máxima velocidad y fuerza máxima, es decir, trabajo que requiere la intervención de fibras rápidas tipo II que contienen menos mitocondrias y, por lo tanto, deberían ser menos dependientes de CoQ<sub>10</sub> ya que los músculos en estos casos producen energía por vía anaeróbica (Alf et al., 2013; Gökbel et al., 2010).

Por otro lado, si la CoQ<sub>10</sub> trabajara en las fibras tipo I resulta obvio que las concentraciones de CoQ<sub>10</sub> dentro de la mitocondria deberían ser mayores con el objeto de producir un incremento y una producción prolongada de ATP preferiblemente desde el metabolismo de los ácidos grasos a través de la  $\beta$ -oxidación lo cual mejoraría la capacidad aeróbica en los ejercicios de resistencia (Bonetti et al., 2000). En un estudio, hasta la extenuación muscular después del tratamiento de CoQ<sub>10</sub> en 28 ciclistas varones con 100 mg de CoQ<sub>10</sub> durante 8 semanas, hubo una diferencia estadísticamente significativa de +4% entre el tratamiento con CoQ<sub>10</sub> y el grupo placebo (Bonetti et al., 2000).

Existen varios mecanismos mediante los cuales la CoQ<sub>10</sub> (ubiquinol y la ubiquinona) pueden funcionar en atletas para mejorar el rendimiento físico (Siebrecht et al., 2015):

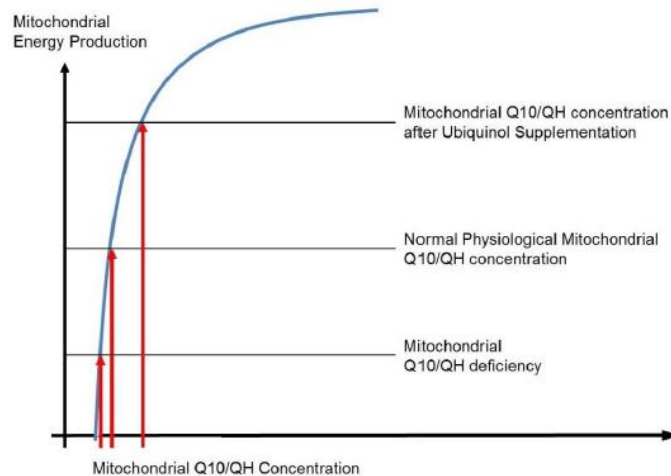
- Incremento de la producción de fosfocreatina: la administración de 100 mg de CoQ<sub>10</sub> durante un periodo de 6 meses incrementó significativamente la producción de fosfocreatina después de un ejercicio en pacientes con síndrome post-polio (Mizuno et al., 1997). Si esto pudiera considerarse un mecanismo potencial para atletas, todavía se desconoce

- Incremento del contenido muscular de CoQ<sub>10</sub>: la CoQ<sub>10</sub> trabaja en las mitocondrias de los músculos. Las fibras tipo I funcionan principalmente en un medio aerobio, por esta razón estos músculos tienen muchas mitocondrias en sus células. En la mitocondria, la CoQ<sub>10</sub> contribuye a la cadena de transporte de electrones lo cual facilita la producción de ATP en el músculo. Aquí surge la cuestión de si un incremento de la relación CoQoxi/QH en las fibras musculares tipo I puede incrementar la producción de ATP en el músculo y en consecuencia mejorar el rendimiento (Siebretch et al., 2015). Este sería el caso si la producción de la relación de CoQoxi/QH interviniera en el índice restrictivo de la producción de ATP de la cadena de transporte de electrones. La cuestión en este caso sería si es posible aumentar los niveles de CoQ<sub>10</sub> a través de suplementación oral de CoQ<sub>10</sub>, y si la CoQ<sub>10</sub> que alcanza el músculo está, en efecto, penetrando en la membrana mitocondrial dando lugar a un incremento en el metabolismo mitocondrial y, en consecuencia, de la producción de ATP (Siebretch et al., 2015). La absorción de CoQ<sub>10</sub> en la membrana mitocondrial está regulada de forma muy estricta y algunos científicos dudan de si la CoQ<sub>10</sub> mitocondrial se puede incrementar en humanos a través de la suplementación (Siebretch et al., 2015).

Lenaz afirmó en 1987 que la saturación de CoQ<sub>10</sub> en la mitocondria no se alcanza en condiciones normales y que los ligeros cambios mitocondriales de CoQ<sub>10</sub> pueden ocasionar cambios significativos en la producción energética mitocondrial (Figura 24) (Lenaz et al., 1991) lo cual indicaría que la mitocondria todavía tiene capacidad para absorber más CoQ<sub>10</sub> y de este modo incrementar el metabolismo.

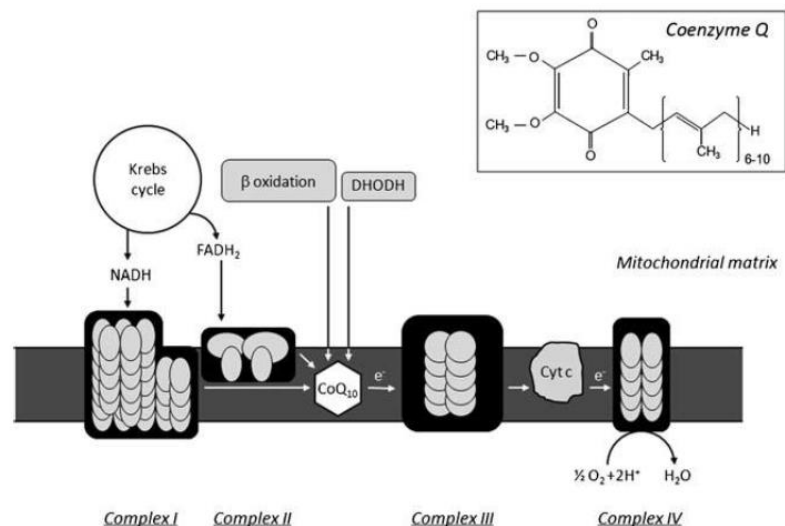


**Figura 24:** Producción energética mitocondrial como contenido de CoQ<sub>10</sub> (Lenaz et al., 1991)



Kon et al., (2007) mostraron que el contenido muscular de CoQ<sub>10</sub> incrementó en las fibras musculares de tipo I (slow-twitch) en ratas después de la administración con CoQ<sub>10</sub>. Otro efecto fue el descenso de la creatina kinasa (CK) cuyo aumento es inducido por el ejercicio, lo que indica que la CoQ<sub>10</sub> favorece una mejor función y protección de las membranas celulares, y reduce el daño muscular inducido por el estrés. Este mismo estudio demostró que los niveles de CoQ<sub>10</sub> en las slow-twitch se pueden incrementar con la suplementación de CoQ<sub>10</sub> al menos en modelos animales. Sin embargo, no existen datos similares en seres humanos que demuestren que el contenido muscular de la CoQ<sub>10</sub> puede incrementarse con la suplementación de CoQ<sub>10</sub> o con la QH (Kon et al., 2007). No obstante, Rosenfeldt et al., (2005) demostraron que el contenido de la CoQ<sub>10</sub> en el músculo cardíaco en pacientes sometidos a cirugía cardíaca se puede elevar con la suplementación de CoQ<sub>10</sub> lo cual produjo un eficaz incremento de la producción de ATP (Rosenfeldt et al., 2005).

**Figura 25:** Coenzyma Q<sub>10</sub> y el flujo de electrones en la cadena de transporte mitocondrial. La imagen representa el papel central de la CoQ<sub>10</sub> transportando electrones desde el complejo I y II al complejo III. También es fundamental como cofactor para varias deshidrogenasas mitocondriales como la DHODH (dihydroorotato deshidrogenasa) (Casarin et al., 2015)



Otro estudio en humanos con una dosis de 120mg de CoQ<sub>10</sub> que se suministró a atletas durante 20 días no incrementó el contenido muscular de CoQ<sub>10</sub> (Svensson et al., 1999). Para incrementar el contenido muscular de CoQ<sub>10</sub> parece que es necesario mantener los niveles en plasma de CoQ<sub>10</sub> tan elevados como sea posible por un periodo más prolongado de tiempo, de forma que el tejido muscular tenga el suficiente tiempo para absorber la CoQ del plasma. Se deberían tomar dosis mayores de 200-300mg de CoQ<sub>10</sub> al día o, preferiblemente, se debería tomar ubiquinol durante un periodo más largo, de al menos 4 y 12 semanas o incluso más para incrementar el contenido muscular de CoQ<sub>10</sub> (Svensson et al., 1999). Si es posible incrementar el contenido muscular de CoQ<sub>10</sub> significativamente con la suplementación de Ubiquinona o Ubiquinol o si tiene un fuerte impacto en el rendimiento físico aún no se conoce (Svensson et al., 1999).

En atletas, Cooke et al., (2008) demostraron que después de 14 días de administración de 200 mg, los niveles de CoQ<sub>10</sub> tendieron a incrementarse. Por otro lado, una dosis aguda de CoQ<sub>10</sub> incrementó la CoQ<sub>10</sub> muscular desde 1.2µg/mg a 1.6µg/mg, y donde el grupo placebo experimentó un descenso en la CoQ<sub>10</sub> muscular de 1.6µg/mg hasta 1.5µg/mg (Cooke et al., 2008). Esto podría deberse a que el ejercicio agudo desencadena una absorción de CoQ<sub>10</sub> en el músculo debido a un incremento en la absorción de grasas y lipoproteínas que también transportan la CoQ<sub>10</sub>. Después del ejercicio, los niveles musculares de CoQ<sub>10</sub> descienden de nuevo. Esto podría plantear el debate de si una suplementación de CoQ<sub>10</sub> podría elevar los niveles de plasma de la forma reducida tan alto como sea posible antes del ejercicio como para permitir al organismo absorber más QH dentro del músculo. Para elevar

el contenido muscular total de CoQ<sub>10</sub> parece ser que son necesarias dosis de CoQ<sub>10</sub> superiores a 200 mg al día o por un periodo mayor a 14 días (Cooke et al., 2008).

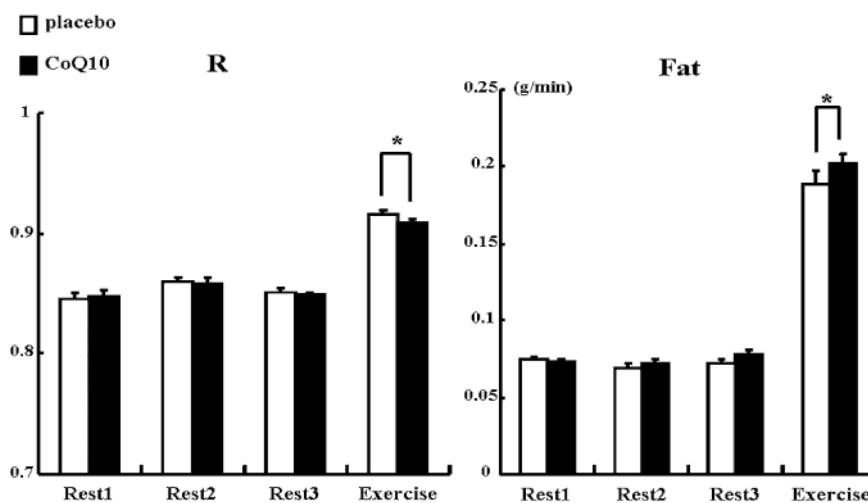
Otros ensayos clínicos muestran un efecto de la CoQ<sub>10</sub> en los músculos esqueléticos (parte del vasto lateral del cuádriceps) en individuos mayores (Linnane et al., 2002). Después de la suplementación de 300 mg de CoQ<sub>10</sub> al día durante cuatro semanas anterior a una operación de cadera, se analizaron muestras musculares para localizar cambios en los genes y en las proteínas en la composición de las fibras musculares. En los sujetos tratados con CoQ<sub>10</sub>, 47 genes experimentaron una regulación ascendente y 68 una regulación descendente en comparación con el grupo placebo. La expresión de 174 proteínas se vio inducida por la CoQ<sub>10</sub> mientras que 77 proteínas se vieron reducidas por la suplementación de CoQ<sub>10</sub>. Los tipos de fibras musculares también se vieron afectados por el tratamiento con CoQ<sub>10</sub>. Los individuos tratados con CoQ<sub>10</sub> mostraron una menor proporción de fibras tipo I y una alta proporción de fibras tipo IIb comparados con el grupo placebo (Linnane et al., 2002).

Las fibras tipo II son importantes para el desarrollo de la fuerza. Las personas mayores pierden especialmente este tipo de fibras conforme avanza la edad, por lo que parece lógico que se beneficiaran de la suplementación de CoQ<sub>10</sub>. Dicho efecto de CoQ<sub>10</sub> sería interesante para el desarrollo de la fuerza en atletas como halterófilos para acelerar el remodelado muscular hacia un mayor incremento de la fuerza (Linnane et al., 2002). Parece ser que la CoQ<sub>10</sub> estimula la creación de fibras musculares tipo II necesarias para un desarrollo rápido de la fuerza potencia y de la fuerza muscular (Linnane et al., 2002). Esto podría explicar por qué la suplementación con CoQ<sub>10</sub> (Ubiquinona o Ubiquinol) es más efectiva en disciplinas donde interviene la fuerza máxima (fibras musculares tipo II) y no en ejercicios de resistencia (fibras musculares tipo I) (Linnane et al., 2002).

Braun et al., (1991) midieron los cambios producidos por el ejercicio en los niveles de VO<sub>2</sub>máx y la peroxidación lipídica antes y después de un mes de suplementación con CoQ<sub>10</sub> (100mg/día) en doce ciclistas varones. Comparados con el grupo placebo no se detectaron diferencias significativas respecto al consumo máximo de oxígeno, consumo submáximo de oxígeno, ratio del intercambio respiratorio y frecuencia cardiaca (Braun et al., 1991). Roberts et al., (1990) tampoco detectaron ninguna modificación en el consumo máximo de oxígeno, volumen sistólico o gasto cardiaco en sujetos sedentarios después de una suplementación de

100 mg de CoQ<sub>10</sub> durante 4 semanas (Roberts, 1990). Todos estos datos sugieren que el protocolo de ejercicio seleccionado (desde moderada a elevada intensidad) para realizar el análisis no es tan sensible a los beneficios proporcionados por la CoQ<sub>10</sub> como lo sería un ejercicio cuya intensidad oscile entre baja y moderada. Zheng et al., (2008) en su estudio, determinaron que se puede confirmar la acción de la CoQ<sub>10</sub> sobre el metabolismo energético (Figura 26) y, por lo tanto, determinar sus efectos en ejercicios de baja intensidad. No obstante, este mismo autor confirma que la CoQ<sub>10</sub> incrementa la oxidación de las grasas junto con un incremento de la actividad del sistema nervioso autónomo (Figura 27) en un ejercicio de baja intensidad. El mecanismo no está totalmente esclarecido pero el tratamiento con CoQ<sub>10</sub> puede ser útil para sujetos con hiper lipidemia u obesidad ya que, como se ha visto, la CoQ<sub>10</sub> incrementa la lipólisis (Zheng et al., 2008).

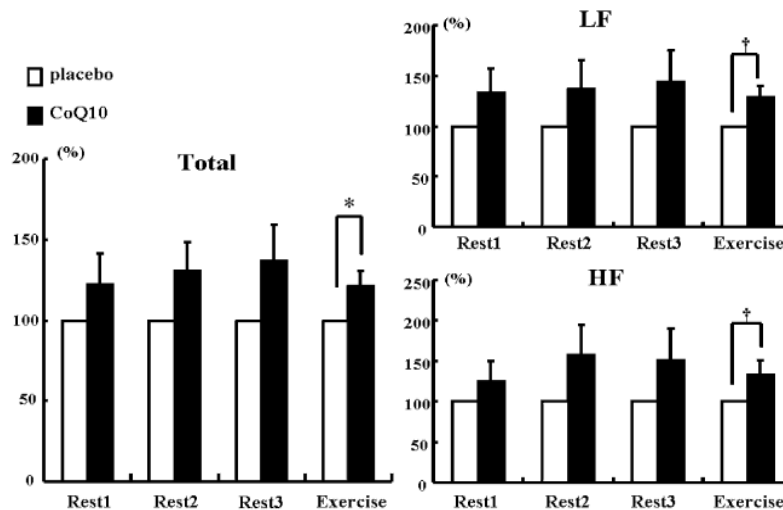
**Figura 26:** Modificaciones en el metabolismo energético después de la administración de CoQ<sub>10</sub> y placebo en reposo y durante el ejercicio. R: ratio de intercambio respiratorio; Fat: oxidación de las grasas (Zheng et al., 2008).



Shimomura et al., (1991) informaron que la suplementación con CoQ<sub>10</sub> disminuye el incremento de los marcadores de daño muscular (creatina kinasa: CK y lactato deshidrogenasa: LDH) (Shimomura et al., 1991). Okamoto et al., (1995) mostraron que la CoQ<sub>10</sub> protegía células musculares en cultivos de la estimulación eléctrica inducida por la liberación de LDH. Además, la administración exógena de CoQ<sub>10</sub> suprimió el daño oxidativo hepático después de una reperusión seguida de isquemia. Todos estos hallazgos determinan que la suplementación con CoQ<sub>10</sub> tiene la capacidad de reducir el daño en el tejido provocado

por un ejercicio extenuante estabilizando la membrana celular muscular además de incrementar la concentración total de CoQ<sub>10</sub> en los músculos de fibras lentas (Kon et al., 2007).

**Figura 27:** Modificaciones en la actividad del Sistema Nervioso Autónomo después de la administración de CoQ<sub>10</sub> y placebo en reposo y durante el ejercicio. Total: Total frecuencia del espectro; LF: baja frecuencia del espectro; HF: alta frecuencia del espectro (Zheng et al., 2008).



Otros efectos positivos sobre la suplementación de CoQ son los siguientes (Siebrecht et al., 2015):

1. La CoQ<sub>10</sub> es importante para las membranas de las células sanguíneas rojas. La suplementación con CoQ<sub>10</sub> puede incrementar el contenido de CoQ<sub>10</sub> en las células sanguíneas rojas y hacer la membrana más flexible y más resistente al estrés oxidativo (Littarru et al., 1994). Lo cual es importante ya que las células sanguíneas rojas son esenciales para el transporte de oxígeno y el funcionamiento de la membrana se necesita para una óptima transferencia de oxígeno.

2. La suplementación de CoQ<sub>10</sub> mejora la función endotelial e incrementa el flujo sanguíneo (Watts et al., 2002). Si estos mecanismos se producen durante el ejercicio, un aumento del flujo sanguíneo a los músculos sería esencial para asistir el metabolismo aeróbico, disminuir el incremento de radicales libres, disminuir las concentraciones de lactato y podría reducir el daño causado por el ejercicio.

3. La suplementación de CoQ<sub>10</sub> en animales y en células in vitro demuestra mejorar la actividad de las células inmunes y la respuesta celular a las vacunas. Un incremento de la

función inmune sería beneficioso para los atletas para reducir las infecciones del tracto respiratorio superior que suelen manifestarse después de un ejercicio extremo (Siebrecht et al., 2015).

4. Elevados niveles de ejercicio físico incrementan la producción de radicales libres especialmente en individuos no entrenados. Niveles elevados de radicales libres pueden afectar la función celular (Witt et al., 1992). De este modo, desarrollando los niveles antioxidantes con la CoQ<sub>10</sub> se podría reducir el estrés oxidativo inducido por el ejercicio y de este modo mejorar el rendimiento.

La misma dosis de ubiquinol administrada oralmente a atletas de diferentes pesos implica diferentes absorciones de QH por kilogramo de peso corporal. Por lo tanto, la dosis de CoQ<sub>10</sub> debería estar adaptada conforme al peso corporal o el peso de los músculos del sujeto. Dosis de 300 mg de QH mejoraron el rendimiento físico en atletas olímpicos alemanes (Alf et al., 2013).

### **3.3. Efectos de la CoQ<sub>10</sub> sobre el proceso de remodelado óseo y el metabolismo energético**

Como hemos visto, la CoQ<sub>10</sub> es una molécula clave para el proceso respiratorio de la mitocondria. También se ha visto sus efectos beneficiosos en la eliminación de los radicales libres y el descenso de los niveles de glucosa en pacientes diabéticos. Se ha demostrado su efecto antioxidante, sin embargo, existe escasa información disponible sobre el efecto de la CoQ<sub>10</sub> sobre el proceso de remodelado óseo. Aunque en pocas concentraciones la CoQ<sub>10</sub> actúa como un inhibidor de las ERO en la ruta de diferenciación de los osteoclastos (Moon et al., 2012) el mecanismo exacto por el cual la CoQ<sub>10</sub> influye el remodelado óseo se desconoce respecto a la diferenciación de los osteoclastos y osteoblastos.

Moon et al., (2013) mostraron que la CoQ<sub>10</sub> en bajas concentraciones (5μM) actúa como un inhibidor de la osteoclastogénesis a través de la supresión de las ERO. La CoQ<sub>10</sub> actúa como inhibidora de la diferenciación de los osteoclastos inducida por RANKL y mejora la diferenciación de los osteoblastos en la formación ósea. Por otro lado, la CoQ<sub>10</sub> en altas

concentraciones (por encima de los 10 $\mu$ M) altera la producción de ERO y disminuye las actividades de señalización inducidas por el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Además, la CoQ<sub>10</sub> impulsa la iniciación de marcadores osteoblastogénicos además de potenciar la mineralización de la matriz mejorando la formación ósea (Moon et al., 2013).

La influencia de la CoQ<sub>10</sub> en los marcadores óseos estudiados ha sido la siguiente:

El remodelado óseo es un indicador de la fortaleza del hueso. Los niveles en suero de OC indican asimismo modificaciones en el turnover óseo (Varela-López et al., 2017b). La resorción ósea también se relaciona con la inflamación, por lo tanto, los niveles plasmáticos de la OPN pueden darnos una idea sobre el estado proinflamatorio o desórdenes relacionados con la inflamación en la salud ósea. Respecto a la suplementación con CoQ<sub>10</sub>, no se han experimentado efectos sobre la OC ni sobre la OPN (Varela-López et al., 2017b).

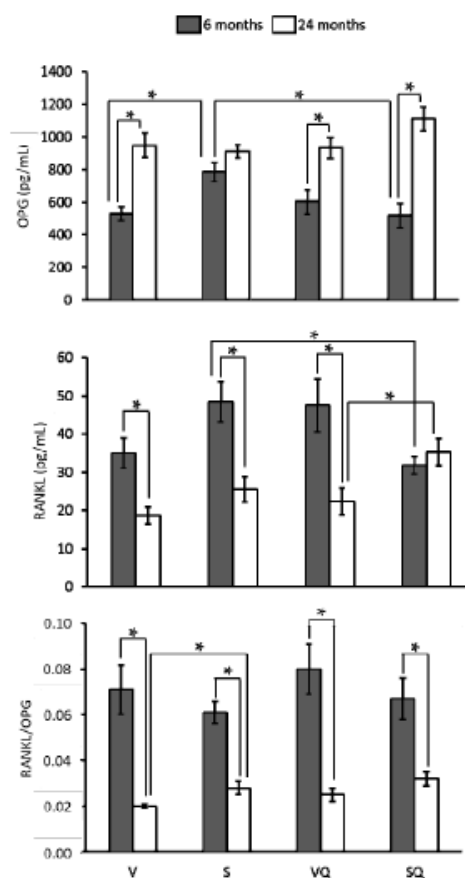
Otras de las hormonas que influyen en el metabolismo óseo son la ACTH y la PTH. Respecto a la PTH, esta hormona desempeña un doble rol en la masa ósea: por un lado, se sabe que esta hormona se libera cuando los niveles de calcio en sangre son bajos para inducir la resorción ósea y movilizar el calcio al torrente sanguíneo, por lo tanto, altos niveles de PTH se asocian a un índice mayor de resorción ósea (Poole et al., 2005). Por otro lado, niveles moderados de PTH durante periodos cortos de tiempo podrían incluso incrementar la masa ósea a pesar de incrementos puntuales en el índice de resorción (Silva et al., 2015). La suplementación de CoQ<sub>10</sub> sobre estas hormonas no arrojan conclusiones significativas (Varela-López et al., 2017b).

Respecto a la ACTH, el receptor de esta hormona, MC2R, se expresa tanto en osteoblastos como en células inflamatorias. En experimentos *in vitro* ha mostrado efectos anabólicos para la ACTH en osteoblastos a altas concentraciones, mientras que en bajas concentraciones inhibe la diferenciación de los osteoblastos (Isales et al., 2010). Este receptor es más potente en lugares donde existe una deposición ósea activa, es decir, la respuesta de la ACTH probablemente varía con la actividad osteoblástica o durante la diferenciación osteoblástica (Varela-López et al., 2017a). La suplementación en animales con CoQ<sub>10</sub> indica niveles en suero de ACTH significativamente mayores, sin embargo, esta diferencia no es

significativa en comparación con los animales que no reciben CoQ<sub>10</sub> (Varela-López et al., 2017a).

Como se ha estudiado, RANKL y la OPG constituyen dos proteínas antagonistas involucradas en la osteoclastogénesis. La OPG es un señuelo soluble receptor para RANKL antagonista en la interacción RANK-RANKL inhibiendo la osteoclastogénesis (Yasuda et al., 1998). Según Varela-López et al., (2017b) la OPG permanece invariable tras la suplementación de CoQ<sub>10</sub> (Varela-López et al., 2017b). Siguiendo a este autor, hemos de añadir que no existe ningún efecto estadísticamente significativo sobre el efecto de la CoQ<sub>10</sub> sobre la ratio RANKL/OPG (Figura 28).

**Figura 28:** Efecto de dieta en grasa y suplementación con CoQ<sub>10</sub> sobre los niveles de OPG, el activador receptor del factor nuclear  $\kappa\text{B}$  (RANKL) y la ratio RANKL/OPG en ratas de 6 y 24 meses (Valera-López et al., 2017a).



La CoQ<sub>10</sub> incrementa la diferenciación osteoblástica inicial a través del incremento de la actividad de la ALP y la diferenciación final de las células osteoblásticas (Moon et al., 2013). Para confirmar el efecto de la CoQ<sub>10</sub> sobre la diferenciación de los osteoblastos se valoró la



actividad de la ALP. La actividad de la ALP se incrementa significativamente a consecuencia de la suplementación de CoQ<sub>10</sub> (Moon et al., 2013). La CoQ<sub>10</sub> mejora la diferenciación celular osteoblástica a través del incremento de la actividad de la ALP (Moon et al., 2013).

Se sabe que la CoQ<sub>10</sub> es deficiente en el caso de la diabetes (Eriksson et al., 1999) y en algunos individuos con un reducido gasto energético y disfunciones en la musculatura esquelética (Amin et al., 2014).

Se ha demostrado que la CoQ<sub>10</sub> es eficaz para contrarrestar ciertas anomalías metabólicas relacionadas con la resistencia a la insulina (IR) y la diabetes. La capacidad mitocondrial respiratoria se ve reducida por el consumo de altas cantidades de grasas en la dieta. El efecto beneficioso de la CoQ<sub>10</sub> radica en su función de mantener la función mitocondrial y su capacidad para mejorar el perfil lipídico en suero, hígado y tejido muscular (Amin et al., 2014).

Los elevados niveles de FFAs (ácidos grasos) y la dislipidemia, son responsables, en parte, del desequilibrio entre la absorción y utilización de la glucosa con el consiguiente incremento de la producción de la misma (Amin et al., 2014). El descenso de los FFAs, TGs (triglicéridos) y CT (colesterol total) es consecuencia de la intervención de la CoQ<sub>10</sub> en la sensibilidad a la insulina gracias a la reducción de HOMA-IR (Índice de Resistencia a la Insulina) y del nivel de insulina (Amin et al., 2014).

Sbraccia et al., (1996) demostraron que en el caso de la resistencia a la insulina, la expresión de LAIR (Low Affinity Insulin Receptors) se correlaciona positivamente con la hiperinsulinemia y negativamente con la sensibilidad a la insulina. La CoQ<sub>10</sub>, mediante el incremento de la actividad de la tirosina Kinsasa y PI3K (fosfoionisita 3-kinasa) es la responsable de la mejora de la cascada de insulina. Estas dos enzimas son responsables de la autofosforilación estimulada de la insulina y su flujo, todo lo cual se produce paralelamente a la inhibición del contenido de LAIR y HAIR (receptores de insulina de alta afinidad) (Sbraccia et al., 1996).

La CoQ<sub>10</sub> también es considerada un regulador de los receptores de insulina, adiponectina y transportadores de glucosa (Singh et al., 1999). Otro estudio reportó que los

niveles CoQ<sub>10</sub> no variaron significativamente entre sujetos normales y obesos, concluyendo que la CoQ<sub>10</sub> no se correlaciona con la resistencia a la insulina. Eriksson et al., (1999) investigaron si la administración diaria de 200 mg de CoQ<sub>10</sub> durante 6 meses afectaría al metabolismo de la glucosa en pacientes con diabetes tipo II, concluyendo que no existe ningún efecto de la coenzima en el metabolismo de la glucosa (Eriksson et al., 1999). No obstante, la CoQ<sub>10</sub> reduce los niveles de glucosa sanguínea en pacientes con alteraciones en las arterias coronarias (Amin et al., 2014). Henriksen et al. (1999) determinaron que la suplementación con CoQ<sub>10</sub> no altera el control glucémico de la insulina de los pacientes con diabetes tipo I (Henriksen et al., 1999), es decir, la suplementación con CoQ<sub>10</sub> no mejora el control glucémico ni reduce las necesidades de insulina.

La suplementación con CoQ<sub>10</sub> podría proporcionar protección a las células  $\beta$  del páncreas, hígado y células endoteliales, produciendo una mejora en el metabolismo de las células y la acción de la insulina (Moradi et al., 2016).

Ya se ha visto como el PGC-1 $\alpha$  interactúa con factores de transcripción como el PPAR para así mediar sobre la termogénesis adaptativa, la biogénesis mitocondrial y los cambios de fibras del músculo esquelético (Wagner et al., 2012). Algunos estudios indican un aumento en la resistencia a la fatiga en músculos aislados en ratones transgénicos con sobreexpresión del PGC-1 $\alpha$ . Un incremento de la PGC-1 $\alpha$  se asocia con un aumento de la expresión de las fibras tipo I caracterizadas por un incremento de la biogénesis mitocondrial y, por lo tanto, de un metabolismo oxidativo como principal fuente de energía (Liang & Ward, 2006). El descenso de los niveles de PGC-1 $\alpha$  puede ocasionar un desajuste en la capacidad respiratoria mitocondrial aumentando la producción de ERO dando lugar a la depleción de glutatión (GSH) y a la aparición de estrés oxidativo (Wagner et al., 2012). Puesto que la ubiquinona desempeña un papel fundamental en la respiración celular, es bien conocida sus propiedades sobre los radicales libres.

La PGC-1 $\alpha$  en interacción con el factor 1 de respiración nuclear (NRF-1) coactiva el factor A de transcripción mitocondrial (TFAM o también llamado mtTFA) el cual es esencial para la replicación mitocondrial y la transcripción. En el estudio realizado por Wagner et al., (2012) se investigó el efecto de una suplementación de LA (ácido  $\alpha$ -lipólico) junto con la CoQ<sub>10</sub> sobre los niveles de PGC (Wagner et al., 2012). Los resultados obtenidos concluyeron en un

incremento de los niveles de TFAM ARNm. La combinación del ácido lipólico con la CoQ<sub>10</sub> resultó ser más potente que aplicadas separadamente respecto al incremento de la expresión de TFAM (Wagner et al., 2012).

Asimismo, en este estudio también se observó un incremento de los niveles celulares de GSH que al igual que la PGC, dichos niveles disminuyen con la edad lo que significa que el tratamiento puede prevenir la depleción de GSH (glutación). Los mecanismos que subyacen en el efecto que produce la CoQ<sub>10</sub> sobre el incremento de GSH pueden estar relacionados con el incremento de la absorción de cisteína (Wagner et al., 2012).

Siguiendo a Wagner, el tratamiento con CoQ<sub>10</sub> y LA, también aumentó significativamente la expresión de gamma GCS (gamma-glutamylcisteina-sintetasa), la cual limita la síntesis de GSH (Wagner et al., 2012). Es significativo que este tratamiento sobrerreguló la expresión de determinados genes diana como el Nrf2 (factor nuclear derivado de eritroide 2), por lo tanto, se determinaron los niveles de Nrf2 en respuesta a dicho tratamiento. Puesto que la CoQ<sub>10</sub> combinada con el LA incrementó los niveles de Nrf2, parece plausible que la inducción de GSH vía gamma GCS así como la inducción de la expresión de GST (glutación-S-transferasa) pudo haber ocurrido a través de un mecanismo dependiente de Nrf2 (Wagner et al., 2012). Todo lo anterior indica que la CoQ<sub>10</sub> (en combinación con la LA) induce la PGC e incrementa los niveles de glutación celular (Wagner et al., 2012).

El cortisol desempeña un papel fundamental en el sistema nervioso autónomo ayudando a a contrarrestar los efectos negativos del estrés (Raison et al., 2003). Mejora el metabolismo de la digestión, restringe la insulina, desempeña un papel fundamental en el metabolismo de la glucosa y desciende la respuesta inflamatoria (Raison et al., 2003). Shokouhayr et al., (2013) estudiaron los efectos de la suplementación con CoQ<sub>10</sub> sobre el cortisol en jugadores de fútbol sala durante una competición. Los resultados determinaron que los niveles de cortisol no fueron significativos. Emami (2020), después de suministrar CoQ<sub>10</sub> a un grupo de nadadores profesionales para observar sus efectos sobre las citoquinas inflamatorias y hormonas del estrés (catecolaminas y cortisol), reportó que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos (Emami, 2018). En otro estudio, Mizuno et al., (2008) estudiaron el efecto del suministro de CoQ<sub>10</sub> en 17 voluntarios hasta la

fatiga física. Estos autores tampoco encontraron que los niveles de cortisol diferían con el antioxidante (Mizuno et al., 2008).



## **BLOQUE II**

# **JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

---

## 4. JUSTIFICACIÓN

---

El ejercicio moderado constituye en elemento fundamental para la prevención de enfermedades cardiovasculares y la mejora de la salud en general. Es imprescindible que se planifiquen los estímulos de forma lógica y coherente según las características del individuo para que se obtengan los efectos deseados. No debemos confundir los términos ejercicio físico con actividad física y deporte, terminología que se ha aclarado en las páginas precedentes.

No obstante lo anterior, no es infrecuente que los estímulos aplicados en las sesiones de ejercicio no sean proporcionales a las demandas del organismo, produciéndose episodios de lesiones, sobrecargas, etc a consecuencia de no planificar adecuadamente las cargas de entrenamiento. Toda esta temática es competencia de los preparadores físicos y entrenadores personales que son los encargados de asegurar un equilibrio entre las cargas, las características fisiológicas del individuo y los objetivos.

El ejercicio extenuante puede provocar una alteración de las condiciones fisiológicas que dan lugar a un incremento de las Especies Reactivas de oxígeno (ERO) produciendo importantes disfunciones mitocondriales. También la inflamación se ve acentuada debido a la intervención de las citoquinas inflamatorias durante el ejercicio extenuante. Las pruebas extremas como ultramaratones pueden generar situaciones de cardiotoxicidad ya que estos eventos se asocian con cantidades significativas de troponina, un marcador de fallo cardiaco.

También se ha mostrado que el ejercicio tiene un efecto osteogénico sobre el hueso a consecuencia del estrés mecánico sobre todo en aquellos protocolos de entrenamiento caracterizados por repeticiones aleatorias favoreciendo la salud ósea. Sin embargo, cuando los efectos de la resorción sobrepasan los de la formación pueden dar lugar a la alteración del remodelado óseo.

La naturaleza del ejercicio que se practique incide directamente sobre la estructura ósea. Los deportes que implican un estrés mecánico elevan la densidad ósea mientras que aquellos deportes donde no se produce dicho estrés pueden alterar los procesos de formación y resorción, es decir, los efectos protectores de la formación se ven superados por los efectos

negativos de la resorción. En otras palabras, la salud ósea se ve fortalecida si la zona experimenta cargas mecánicas repetidas ya que el proceso de apoptosis de los osteocitos estimula las proteínas pro-osteoclásticas, el factor nuclear activador RANKL y el factor de crecimiento endotelial VEGF. Una vez el hueso es resorbido, el espacio resultante es completado con hueso mineralizado. Estos procesos implican que determinados biomarcadores óseos se vean alterados según las características del ejercicio. Dichos biomarcadores son: la adrenocorticotropina (ACTH), hormona paratiroidea (PTH), osteocalcina (OC), osteoprotegerina (OPG), esclerostina (SOST), osteopontina (OPN), insulina, leptina, cortisol, adrenalina, noradrenalina, fosfatasa alcalina (ALP) y PGC-1 $\alpha$ .

Atendiendo al marco definido hasta ahora, la CoQ<sub>10</sub> ha sido objeto de atención como suplementación al considerar su efecto protector ante ejercicios que puedan provocar daño muscular, estrés oxidativo e inflamación, incluso daños que se manifiestan post-ejercicio y que no están relacionados con un estrés mecánico continuado. El ejercicio extenuante favorece la producción de pro-oxidantes dañando diferentes estructuras biológicas y la CoQ<sub>10</sub> se presenta como un antioxidante liposoluble que reestablece las propiedades antioxidantes, tiene efectos antiinflamatorios y regula las propiedades químicas de las membranas celulares. Sin embargo, el ubiquinol, la forma reducida de la CoQ<sub>10</sub> posee una mayor biodisponibilidad puesto que no necesita ser transformada por el organismo. Langsjoen & Langsjoen (2014) reportaron cómo el ubiquinol es mucho mejor absorbido que la ubiquinona debido a su mayor polaridad. No obstante, en el campo concreto del remodelado óseo, no está clara la influencia de la CoQ<sub>10</sub> sobre el remodelado óseo. Se conoce que la CoQ<sub>10</sub> actúa como inhibidora de la osteoclastogénesis y de la diferenciación de los osteoclastos provocada por RANKL, y mejora la diferenciación de los osteoblastos en la formación ósea (Moon et al., 2013).

Por lo tanto, tomando como referencia lo dicho hasta ahora sobre el efecto del ejercicio físico sobre el remodelado óseo y el metabolismo energético, el uso de la CoQ<sub>10</sub> como suplemento protector del daño asociado a la realización de ejercicios físicos de alta intensidad y la escasa información existente sobre el efecto de la CoQ<sub>10</sub> sobre el proceso de remodelado óseo, especialmente cuando se asocia a un ejercicio extenuante, nos ha motivado a realizar este trabajo de investigación que persigue los objetivos expuestos a continuación.



## 5. OBJETIVOS

---

El **objetivo general** del presente estudio es:

Analizar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis diaria de 200 mg de ubiquinol en sujetos sanos físicamente activos puede afectar al proceso de remodelado óseo y el metabolismo energético durante la realización de un ejercicio físico intenso, evaluando diversos factores hormonales y nerviosos que presentan un efecto sobre estos procesos fisiológicos y que pueden verse afectados por el ejercicio físico intenso y/o la suplementación con ubiquinol.

Este objetivo general se divide en los siguientes objetivos específicos en base a las determinaciones realizadas.

**Primer objetivo específico:** Analizar si la realización de un protocolo de ejercicio de alta intensidad en individuos sanos entrenados puede afectar la concentración plasmática de diversos biomarcadores óseos (ACTH, OPG, OC, OPN, SOST, PTH y ALP).

**Segundo objetivo específico:** Analizar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis diaria de 200 mg de ubiquinol en sujetos sanos entrenados, puede afectar a la concentración plasmática de diversos biomarcadores óseos (ACTH, OPG, OC, OPN, SOST, PTH y ALP) tras la realización de un ejercicio de alta intensidad.

**Tercer objetivo específico:** Analizar si la realización de un protocolo de ejercicio de alta intensidad en individuos sanos entrenados puede afectar la concentración plasmática de otros factores hormonales y nerviosos que pueden afectar de modo indirecto al turnover óseo y de modo directo al metabolismo energético (Insulina, leptina, cortisol adrenalina, noradrenalina y PGC-1 $\alpha$ )

**Cuarto objetivo específico:** Analizar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis diaria de 200 mg de ubiquinol en sujetos sanos físicamente activos puede afectar la concentración plasmática de otros factores hormonales y nerviosos que pueden afectar de modo indirecto al turnover óseo y de modo directo al metabolismo

energético (Insulina, leptina, cortisol adrenalina, noradrenalina y PGC-1 $\alpha$ ) tras la realización de un ejercicio de alta intensidad.

# BLOQUE III

## MATERIAL Y MÉTODOS

---



## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

---

### 6.1. Diseño metodológico

#### 6.1.1. Tipo de estudio

Esta investigación es un ensayo clínico con diseño paralelo controlado por placebo, doble ciego y aleatorizado, con informe favorable del Comité de Ética en Investigación Humana (CEIH) de la Universidad de Granada (ref. 804) y registrado en la mayor base de datos de ensayos clínicos con número identificativo NCT01940627 del registro ClinicalTrials.gov.

Se ha usado la aleatorización por bloques, organizándose bloques de cuatro sucesos y se crearon todas las combinaciones posibles (6) asignando un número a cada combinación. A continuación, se utilizó el software SPSS 20.0 (SPSS Statistics for Windows 20.0.0. SPSS Inc., Chicago, IL, USA) para generar una secuencia aleatoria de 25 casos de los números asignados. Dicha distribución aleatoria de los grupos se realizó después de la captación de los participantes.

#### 6.1.2. Muestra poblacional

Los individuos que han participado en este estudio son todos varones pertenecientes al Cuerpo de Bomberos Granada (Parque de Bomberos Sur y Norte). Puesto que se buscaban sujetos con un nivel elevado de condición física y protocolos de entrenamientos controlados para asegurar la máxima homogeneidad respecto a los parámetros relacionados con el ejercicio, este colectivo se consideró, por tanto, el más idóneo para nuestro estudio.

### 6.1.3. Selección de la muestra

La captación de sujetos experimentales se realizó en el Parque de Bomberos Sur y Norte. El periodo de reclutamiento se llevó a cabo entre los meses Abril-Junio de 2017, al final del cual se reclutó a un total de 100 sujetos. Los criterios de inclusión y exclusión fueron los siguientes:

#### Criterios de inclusión

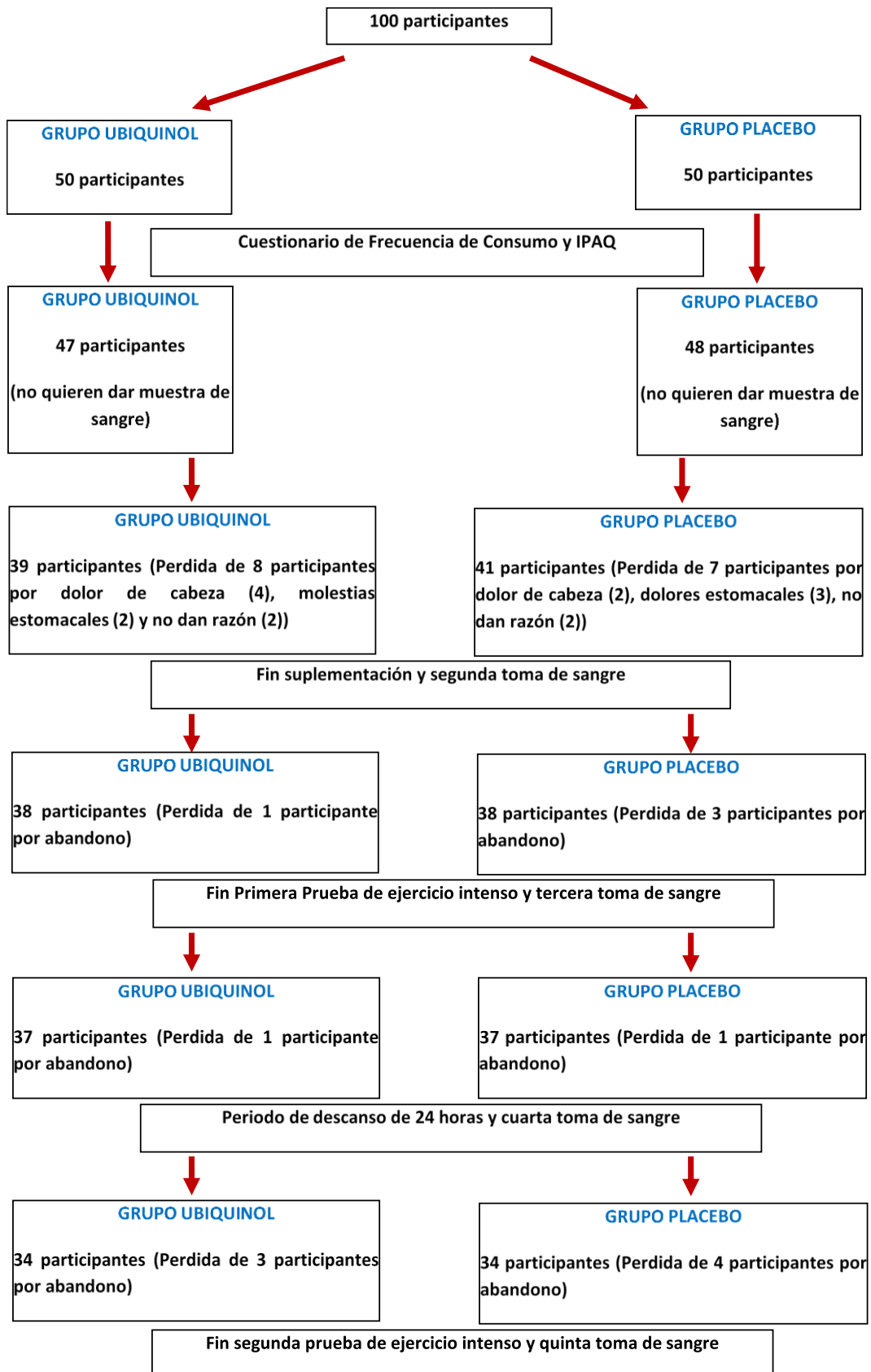
- Pertenecer al cuerpo de Bomberos de Granada y estar en servicio activo.
- Edad comprendida entre 31 y 45 años.
- Ser varón.
- Porcentaje de peso graso <15%.
- Capacidad de levantar su peso máximo.
- Estar físicamente activo y no ejecutar ejercicio extenuante de forma regular.

#### Criterios de exclusión

- Utilización de suplementos proteicos y/o antioxidantes.
- Uso de fármacos inmunosupresores o nefrotóxicos.
- Contraindicaciones absolutas o relativas en el reconocimiento médico.
- Padecer alguna enfermedad.
- No cumplir alguno de los criterios de inclusión mencionados anteriormente.

A lo largo del periodo de estudio se observa la existencia de pérdidas en ambos grupos por diferentes motivos como se observa en la figura 29.

Figura 29: Gráfico que refleja el abandono de participantes a lo largo del estudio.



## 6.2. Diseño experimental

El desarrollo experimental tuvo lugar en las dependencias de la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de la Universidad de Granada, entre los meses de Junio y Julio de 2017. Se organizaron dos grupos experimentales de 50 individuos. A un grupo (grupo ubiquinol, n=50) se le administró 200 mg de ubiquinol durante dos semanas. Al segundo grupo, (grupo placebo, n=50), se le administraron cápsulas de placebo idénticas a las del grupo experimental durante el mismo periodo.

Los participantes fueron informados de las características del Estudio (ver Anexo I) y otorgaron su consentimiento informado por escrito (Ver Anexo II). Posteriormente, se les realizó un electrocardiograma, un análisis de impedancia bioeléctrica, se les tomó la presión arterial y completaron un historial médico y de salud, un cuestionario nutricional y de frecuencia de consumo (ver Anexo III) y un cuestionario de actividad física (ver Anexo IV). Tras ello, se les extrajo la primera muestra sanguínea (T1), para así conocer el estado inicial de los sujetos; además se les extrajo una muestra sanguínea adicional para un examen de sangre rutinario, para descartar enfermedades, y se les entregó las cápsulas (28 en total, de 100 mg cada una) para la suplementación, en envases blancos sin ningún etiquetado que reflejase el contenido.

Tras el periodo de 2 semanas de suplementación, se les extrajo la segunda muestra sanguínea (T2), para así conocer el efecto inicial de la suplementación en las variables a estudiar, antes de la realización de la primera sesión de ejercicio intenso (E1), tras la cual se les extrajo la tercera muestra (T3) para evaluar las consecuencias del ejercicio y el efecto de la suplementación. La cuarta muestra (T4) se les tomó tras un periodo de descanso de 24 h y antes de iniciar la segunda sesión de ejercicio intenso, para evaluar el efecto de la suplementación sobre la capacidad de recuperación y, la quinta y última muestra (T5), fue extraída tras la realización de la segunda sesión de ejercicio intenso (E2), para, finalmente, evaluar el efecto de la suplementación tras episodios repetidos de ejercicio intenso.

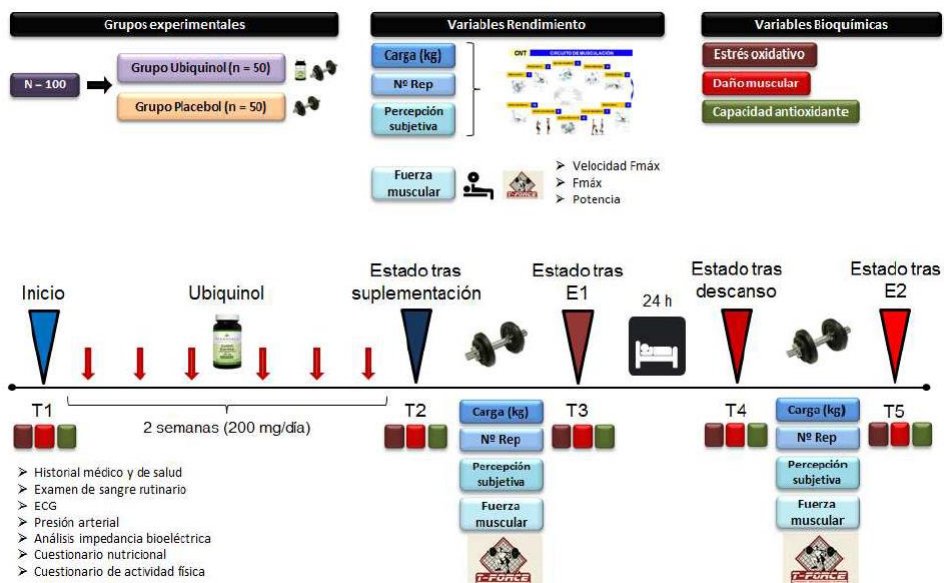
Previamente, se solicitó a los sujetos que ayunaran durante las 2 h previas a cada sesión de ejercicio, se abstuvieran de consumir cualquier otro suplemento nutricional y que mantuvieran su dieta regular y patrones de ejercicio durante todo el estudio. También se



exigió a los sujetos abstenerse de consumir cafeína o realizar ejercicio vigoroso en las 24 h previas a las sesiones de ejercicio. La duración del protocolo de entrenamiento junto con la suplementación tuvo una duración de tres semanas estructurándose del siguiente modo: día de inicio, dos semanas para la suplementación y una semana para las sesiones de ejercicio.

Debido a los recursos disponibles y al tamaño de la muestra, se organizaron 6 grupos que participaron en tres turnos, dos grupos por cada turno. En la figura 30 se muestra de manera esquemática el diseño experimental de este estudio:

Figura 30: Esquema del diseño experimental



### 6.2.1. Reconocimiento inicial

Con el objeto de obtener información sobre antecedentes familiares de enfermedad, antecedentes personales médicos y quirúrgicos, alergias, consumo de medicamentos, café, alcohol, tabaco y drogas, los sujetos fueron sometidos a una anamnesis realizada por personal médico especializado. Además, se les sometió a un electrocardiograma para determinar la frecuencia y el ritmo cardiacos descartando así la presencia de anomalías. También se valoró la presión sistólica y diastólica usando un tensiómetro de muñeca tipo OMRON HEM-6111 (Figura 31).

**Figura 31:** Tensiómetro de muñeca tipo OMRON HEM-6111.



Se practicó también una extracción de sangre para un análisis bioquímico (creatinina, glucosa, ácido úrico, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta bilirrubina total, fosfatasa alcalina, albúmina, fósforo, potasio, calcio, proteínas totales, HDL, LDL, gamma GT, transaminasas ALT y AST), así como un hemograma rutinario junto con otros parámetros e índices hematológicos para determinar el estado bioquímico y fisiológico de los sujetos con el objeto de descartar posibles enfermedades. Todos estos análisis se llevaron a cabo en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

### **6.2.2. Valoración nutricional y actividad física**

Con el objeto de eliminar cualquier contaminación que pudiera interferir significativamente en este ensayo, al comienzo de la fase experimental los sujetos rellenaron un cuestionario nutricional para registrar sus hábitos dietéticos durante cuatro días (incluyendo un día perteneciente al fin de semana) para valorar el estado nutricional de los sujetos. La información fue procesada con el software Nutriber® (v1.1.1.5.r5, FUNIBER, España).

También recibieron un cuestionario de ejercicio (International Physical Activity Questionnaire (IPAQ-SF) ampliamente utilizado para evaluar el estado de condición física.

Dicho instrumento es no invasivo, económico, de fácil administración, válido y fiable en poblaciones adultas (Papathanaiou et al., 2010), puesto que ha sido probado en diversos países con éxito. Se usó la versión corta en castellano, la cual comprende el ejercicio realizado durante los últimos siete días.

### 6.2.3. Análisis de impedancia bioeléctrica

En la fase experimental se utilizó un estadímetro portátil modelo SECA 213 para medir la altura de los sujetos. Se pesaron descalzos, en ropa interior usando una balanza digital calibrada (Tanita Body Composition Analyzer TB-300GS, Tanita Corp, Arlington Heights, IL) con la que se midieron, además, los siguientes parámetros: índice de masa corporal (IMC), porcentaje de masa magra y grasa, metabolismo basal, impedancia, masa magra y agua en kilogramos (Figura 32).

**Figura 32:** Instrumentos que se usaron para realizar las mediciones de peso y altura



#### 6.2.4. Protocolo de suplementación

Como se ha mencionado anteriormente, el grupo Ubiquinol (grupo de intervención) se suplementó con una dosis oral de 200 mg/día de Kaneka Ubiquinol (Kaneka Corporation, Osaka, Japón) durante dos semanas, consumiendo dos cápsulas al día de gelatina blanda color marrón las cuales contenían 100 mg de Ubiquinol, una después del desayuno y otra después de la cena. Los sujetos del grupo control (grupo placebo) ingirieron placebo siguiendo los mismos criterios de administración que el grupo Ubiquinol (Tabla 8).

**Tabla 8:** Las cápsulas de placebos eran completamente idénticas. Contenían los mismos componentes excepto el Ubiquinol y fueron suministradas también por Kaneka Corporation.

UBIQUINOL		PLACEBO	
Ingredientes		Ingredientes	
Ubiquinol	100 mg	Ubiquinol	0 mg
Aceite de canola (No-GMO)	225 mg	Aceite de canola (No-GMO)	325 mg
Monoleato de diglicerol (emulsionante)	96 mg	Monoleato de diglicerol (emulsionante)	96 mg
Cera de abejas	38 mg	Cera de abejas	38 mg
Lecitina (derivada de soja, No-GMO)	1 mg	Lecitina (derivada de soja, No-GMO)	1 mg
Cubierta de la cápsula		Cubierta de la cápsula	
Almidón alimentario modificado (maíz)	96 mg	Almidón alimentario modificado (maíz)	96 mg
Glicerol	75 mg	Glicerol	75 mg
Carragenano	31 mg	Carragenano	31 mg
Fosfato disódico	3 mg	Fosfato disódico	3 mg
Caramelo	5 mg	Caramelo	5 mg

#### 6.2.5. Protocolo de ejercicio físico físico

Una vez finalizado el periodo de suplementación (dos semanas) con Ubiquinol y placebo, los sujetos de la muestra se sometieron a un protocolo de ejercicio compuesto por dos sesiones idénticas de ejercicio físico intenso denominada sesión 1 (E1) y sesión 2 (E2), con un periodo de recuperación de 24 horas durante el cual los sujetos tenían prohibido realizar cualquier tipo de ejercicio o actividad física. Los sujetos tuvieron libre acceso al consumo de agua para asegurar una correcta hidratación. En cada sesión se ejecutaron dos sesiones de circuito de entrenamiento con pesas para provocar estrés mecánico y oxidativo en los participantes (Aniceto et al., 2015). La concentración de las dos sesiones en 48 horas fue intencionada para inducir fatiga.

Puesto que se buscaba inducir el mayor daño oxidativo y muscular para poder evaluar el efecto de la suplementación, se diseñaron sesiones exigentes en términos de actividad física. Para evitar cualquier tipo de lesión durante la misma, los sujetos realizaron un calentamiento estructurado en una fase general y otra más específica.

#### FASE GENERAL

- Ejercicios de movilidad articular y estiramientos generales de los músculos principales.
- 5 minutos en cicloergómetro.

#### FASE ESPECÍFICA

- Consistente en la realización de los ejercicios de la parte principal del protocolo a intensidad suave (Valor 4 de la escala OMNI-RES) (Robertson et al., 2003). Dicha fase tuvo una duración de unos 10' aproximadamente.

En la parte principal de cada sesión (E1 y E2) se realizaron dos series (S1 y S2) de un circuito organizado en diez ejercicios, con un intervalo de recuperación de 5' entre ambas series. Se seleccionaron ejercicios de articulaciones múltiples según lo recomendado por Kraemer & Ratames, (2004). Estos ejercicios implican una activación y coordinación neuronal más compleja, y debido a la mayor participación de la masa muscular (y la consiguiente cantidad de peso utilizado), estos ejercicios se han considerado generalmente como los ejercicios más eficaces para aumentar la fuerza y la potencia muscular (Kraemer & Ratames, 2004). El tiempo de descanso entre series permite la recuperación para poder completar el entrenamiento diseñado (Bird, et al., 2005).

Los ejercicios que se desarrollaron fueron los siguientes (Figura 33):

1. Prensa atlética
2. Press de banca
3. Remo sentado
4. Press hombros en máquina
5. Flexores en máquina
6. Press de banca
7. Escalón con mancuernas
8. Jalón al pecho con agarre prono
9. Envión con mancuernas

## 10. Extensores cuádriceps en máquina

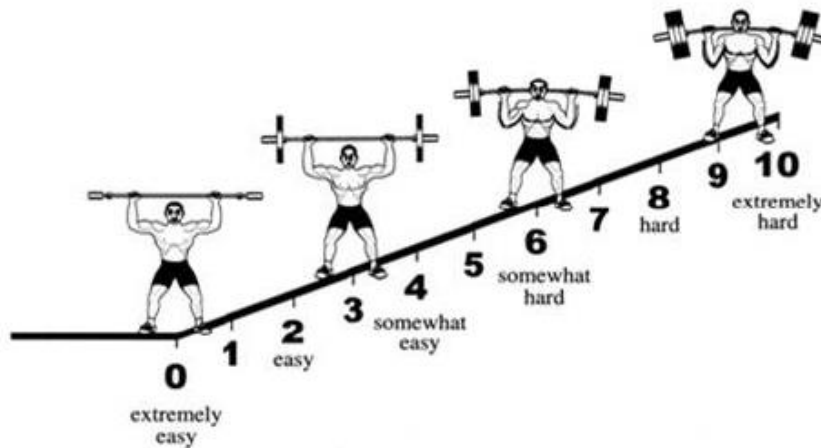
**Figura 33:** Representación esquemática de la distribución de las cargas durante el protocolo de aplicación



El desarrollo de la prueba consistió en realizar las máximas repeticiones durante 20'', maximizando la carga de trabajo progresivamente, con 40'' de pausa entre ejercicios. El esfuerzo fue de carácter aeróbico-anaeróbico y la carga mínima de trabajo fue de 60-70% de la fuerza dinámica máxima o repetición máxima (1RM) según lo recomendado por el American Colleague of Sport Medicine (Ratames et al., 2009).

No obstante, para ajustar la magnitud mínima de la carga de cada sujeto, una semana previa a la primera sesión de ejercicios se realizó una sesión preparatoria para ajustar la carga individualmente y determinar la mínima carga a desplazar (kg) para cada ejercicio en función de las repeticiones y los valores del esfuerzo percibido en la escala OMNI-RES entre 6 y 7 (Robertson et al., 2003) (Figura 34). Esta calificación del esfuerzo percibido se ha vuelto ampliamente utilizada para monitorizar programas de series múltiples porque se correlaciona con marcadores fisiológicos de estrés por ejercicio, como el lactato sanguíneo y la actividad muscular por electromiografía (Robertson et al., 2003). La principal ventaja de este método perceptual es el ajuste de las cargas de ejercicios de resistencia sin necesidad de realizar pruebas máximas y submáximas (de L. Lins-Filho et al., 2012). En hojas de registro se anotaron los datos de cada sujeto para usarlos como referencia durante la fase experimental.

**Figura 34:** Escala de percepción del esfuerzo OMNI-RES (Robertson et al., 2003)



### 6.3. Analítica realizada

#### 6.3.1. Extracción y preparación de muestras sanguíneas

En el diseño experimental se refirió la obtención de las cinco muestras sanguíneas de cada individuo. Como mencionamos anteriormente, la primera se obtuvo al inicio de la fase experimental (T1); la segunda (T2) se obtuvo al concluir el periodo de suplementación y previo al inicio de la primera sesión de ejercicio intenso (E1); la tercera (T3) tras la primera sesión de ejercicio intenso; la cuarta (T4) después de 24h de descanso y previo al inicio de la segunda sesión de ejercicio intenso (E2), y la quinta y última (T5) tras la segunda sesión.

Las muestras de sangre se obtuvieron mediante catéter venoso por personal médico especializado, practicándose la venopunción en una de las venas localizadas en la parte interior del codo. Cada muestra fue depositada en tres tubos, dos heparinizados (uno de 7 ml para obtener plasma y eritrocito (membrana y citosol) otro de 3 ml para obtener hemograma y un último no heparinado de 3 ml para obtener suero).

Las muestras se mantuvieron a temperatura ambiente para obtener el suero durante 30 minutos para la coagulación de la sangre y provocar el coágulo, para después ser

centrifugadas a 1750 g durante 10 minutos a 4°C en una centrifugadora GS-6R refrigerada Beckman (Beckman, Fullerton, CA, EE.UU) para retirar el suero utilizado para la bioquímica.

El plasma se obtuvo centrifugando inmediatamente las muestras sanguíneas durante 1 minutos a 1.750 g a 4°C en una centrifugadora GS-6R refrigerada Beckman (Beckman, Fullerton, CA, EE.UU) con el objeto de separar los sedimentos de las células rojas de la sangre del plasma y a continuación se congelaron a -80°C hasta su análisis.

Respecto a las fracciones citosólicas y de membrana de eritrocitos, se prepararon mediante centrifugación diferencial con hemólisis hipotónica y posteriores centrifugaciones diferenciales según el método Hanahan & Ekholm (1974). Las fracciones finales fueron divididas en partes alícuotas, posteriormente se congelaron con nitrógeno líquido almacenándose a -80°C hasta su posterior análisis.

Los participantes depositaron sus muestras de orina en recipientes esterilizados de recolección de muestras de orina inmediatamente antes de iniciar el calentamiento y después de las sesiones de ejercicio intenso. Justo después se alicuotaron en tubos para ser almacenadas a -80°C hasta su posterior análisis.

### **6.3.2. Determinación de la concentración plasmática de ACTH, PTH, OC, OPN, OPG, SOST, leptina e insulina.**

Se utilizó la tecnología Luminex xMAP (Millipore, Darmstadt, Germany), la cual está construida sobre tecnologías existentes y probadas, la citometría de flujo, uso de microesferas, tecnología láser, procesamiento de las señales digitales y la química tradicional del inmunoensayo. El sistema Luminex es la combinación de tres tecnologías xMAP básicas. La primera es la de microesferas xMAP, una familia de 100 microesferas de poliestireno de 5.6 micrómetros, coloreadas mediante fluorescencia, que actúan como identificador, y superficie sólida para desarrollar el ensayo. La segunda, es un instrumento basado en citometría de flujo, que integra componentes como láseres, óptica, fluidos avanzados y procesadores de señal digital de alta velocidad. El tercer componente es el software IS, diseñado para la adquisición de datos mediante "templates", con un sólido análisis de regresión de datos. Esta tecnología presenta ciertas ventajas como reducción de coste y trabajo, reducción de tiempo, resultados más reproducibles que con arrays sólidos y posible determinación de entre 1-100 analitos. En definitiva, se realizó un número elevado de determinaciones en un volumen pequeño de



muestras (25-50  $\mu$ l), lo cual es de gran importancia en este estudio. Se usó el panel de microesferas magnéticas para Human Bone Panel 1A (Millipore, USA, cat. no. HBNMAG-51K), que incluye determinaciones para hormona adrenocorticotropa (ACTH), hormona paratiroidea (PTH), osteocalcina (OC), osteopontina (OPN), osteoprotegerina (OPG), esclerostina (SOST), leptina e insulina. Este panel se basa en inmunoensayos en la superficie de esferas fluorescentes codificadas (microesferas), siguiendo las especificaciones del fabricante (50 eventos por perla, 50  $\mu$ l de muestra, configuración de compuerta: 8000-15000, tiempo de espera 60 segundos). La placa se leyó en el analizador LABScan 100 (Luminex Corporation, Texas, EE.UU.) con el software xPONENT para adquisición de datos. Los valores promedio para cada conjunto de muestras o estándares duplicados se encontraban dentro del 15 % de la media. Curva estándar: OPG, 30000 pg/ml; insulina, 250000 pg/ml; leptina, 200000 pg/ml; OC, 600000 pg/ml; OPN, 400 000 pg/ml; PTH, 20000 pg/ml. Las concentraciones de analitos en muestras de plasma se determinaron comparando la media de muestras duplicadas con la curva estándar para cada ensayo.

### 6.3.3. Fosfatasa alcalina (ALP)

La ALP se midió utilizando un analizador químico BS-200 (Shenzhen, China), con sistema de lavado automático con agua y detergente precalentados, sistema óptico de rejilla y barra mezcladora independiente, usando un reactivo líquido específico (Pointe Scientific, MI, EE. UU.) que mide la tasa de hidrólisis de varios ésteres de fosfato bajo condiciones específicas.

### 6.3.4. Adrenalina y Noradrenalina

La adrenalina y noradrenalina se determinaron usando un kit DRG® Cat Combi ELISA Catecholamine Combination (DRG, Marburg, Alemania). El kit de ensayo proporciona materiales para la medición cuantitativa de adrenalina y noradrenalina en orina y plasma. La adrenalina y la noradrenalina se extraen utilizando un gel de afinidad específico de cis-dioles, luego se acilan a N-aciladrenalina y nacilnoradrenalina y luego se convierten enzimáticamente durante el procedimiento de detección en N-acilmetanefrina y nacilnormetanefrina,

respectivamente. La adrenalina y la noradrenalina, respectivamente, están unidas a la fase sólida de la placa de microtitulación suministrada. La adrenalina y noradrenalina aciladas de la muestra y unidas a la fase sólida compiten por un número fijo de sitios de unión al antisuero. Cuando el sistema está en equilibrio, los complejos de antígeno libre y antígeno-antisuero libre se eliminan mediante lavado. El anticuerpo unido a la fase sólida de la catecolamina es detectado por un conjugado de IgG-peroxidasa usando TMB como sustrato. La reacción enzima-sustrato se termina por la adición de una solución de ácido sulfúrico y el cambio de color se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 450 nm en un lector de placas (Thermo Spectronic, Rochester, E.E.U.U.). La cantidad de anticuerpo unido a la catecolamina en fase sólida siendo inversamente proporcional a la concentración de catecolaminas de la muestra.

### **6.3.5. Cortisol**

El cortisol se determinó usando un kit DRG® Cat Cortisol ELISA (EIA-1887) (DRG, Marburg, Alemania). El kit de ensayo proporciona materiales para la medición cuantitativa de cortisol en suero y plasma. Se trata de un ensayo ELISA basado en el principio de unión competitiva. Los pocillos son cubiertos de un anticuerpo monoclonal específico para el cortisol. El cortisol de la muestra compite con el cortisol conjugado con peroxidasa, de manera que la cantidad de conjugado peroxidasa unida es inversamente proporcional a la cantidad de cortisol existente en la muestra. Para la determinación se ha seguido las instrucciones dadas por la casa comercial. La reacción final enzima-sustrato se termina por la adición de una solución de ácido sulfúrico y el cambio de color se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 450 nm en un lector de placas (Thermo Spectronic, Rochester, E.E.U.U.). Para el cálculo de la concentración se realiza una curva estándar con concentraciones de cortisol (0 ng/ml, 20 ng/ml, 50 ng/ml, 100 ng/ml, 200 ng/ml, 400 ng/ml y 800 ng/ml).

### 6.3.6. Coactivador de receptor y activado por proliferador de peroxisoma 1 $\alpha$ (PGC-1 $\alpha$ )

El Receptor activado por proliferador de peroxisomas-coactivador-1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) se midió utilizando un kit comercial (Cloud Clone Corp., TX, EE. UU.). La microplaca proporcionada en este kit ha sido prerrevestida con un anticuerpo específico para PGC-1 $\alpha$ . Los estándares o las muestras se agregan a los pocillos de la microplaca apropiados con un anticuerpo conjugado con biotina específico para PGC-1 $\alpha$ . A continuación, se agrega avidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) a cada pocillo de la microplaca y se incuba. Después de agregar la solución de sustrato 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), sólo los pocillos que contienen PGC-1 $\alpha$  conjugado con biotina, el anticuerpo y la avidina conjugada con enzima muestran un cambio de color. La reacción enzima-sustrato se termina por la adición de una solución de ácido sulfúrico y el cambio de color se mide espectrofotométricamente a una longitud de onda de 450 nm en un lector de placas (Thermo Spectronic, Rochester, E.E.U.U.).

### 6.4. Tratamiento estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados todas las variables fueron comprobadas para asegurar los criterios de normalidad y homogeneidad de la varianza mediante el test de Kolmogorov-Smirnof y Levene. Los resultados se muestran como la media aritmética  $\pm$  Desviación típica o estándar (DS).

Para la evaluación del efecto de la suplementación y la evolución en el tiempo de cada variable en cada grupo experimental, se realizó un modelo lineal general de varianza para medidas repetidas con un ajuste mediante el test de Bonferroni. Dicha prueba dio a conocer las diferencias dentro de un mismo grupo y entre grupos valorando de esta forma el efecto del tiempo y de la suplementación en cada grupo y en cada periodo de una forma robusta en términos de potencia. La prueba de t de Student no emparejada se usó para comparar las características generales de los sujetos en ambos grupos experimentales.

En todos los casos se ha tomado  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. El paquete estadístico SPSS versión 24.0 (IBM SPSS Statistics para Windows 24.0.0. SPSS INC., IL, USA) se usó para el análisis de los datos.

# BLOQUE IV

## RESULTADOS

---



## 7. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

### 7.1. Características generales de la población objeto de estudio

Si observamos la tabla que representa las características basales de ambos grupos (placebo y ubiquinol) (tabla 9), se puede comprobar que ambos grupos son homogéneos. Atendiendo a estos datos, en la muestra poblacional no se detectan diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos experimentales en las variables peso, talla, edad, frecuencia cardiaca basal (FCb), presión arterial sistólica (SBP) y presión arterial diastólica (DBP).

**Tabla 9:** Características basales de los sujetos experimentales. Los datos son Medias  $\pm$  DS. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ). IMC (Índice de Masa Corporal), PAS (Presión Arterial Sistólica), PAD (Presión Arterial Diastólica), FC (frecuencia cardiaca)

	Edad (años)	Talla (cm)	Peso (kg)	IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)	FC (ppm)
<b>Ubiquinol</b>	38.9 $\pm$ 1.4	175.4 $\pm$ 0.8	76.8 $\pm$ 1.5	25.0 $\pm$ 0.4	137.03 $\pm$ 2.2	81.42 $\pm$ 1.5	57.38 $\pm$ 1.8
<b>Placebo</b>	38.2 $\pm$ 7.7	174.4 $\pm$ 7.6	74.8 $\pm$ 9.8	74.8 $\pm$ 9.8	134.11 $\pm$ 13.16	79.08 $\pm$ 11.40	57.14 $\pm$ 9.22

### 7.2. Evaluación de las encuestas nutricionales, de la actividad física realizada y de la impedancia bioeléctrica

La tabla 10 muestra los resultados obtenidos tras el análisis de la encuesta nutricional. Se observa homogeneidad en ambos grupos, no encontrando diferencias significativas en el análisis nutricional de macro y micronutrientes.

**Tabla 10:** Resultados del análisis nutricional de macro y micronutrientes. Los datos son Medias  $\pm$  DS. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

	Ubiquinol	Placebo
<b>Aporte calórico (kcal/día)</b>	2959.9 ± 568.1	2843.7 ± 485.2
<b>Ingesta proteica (g/día)</b>	132.9 ± 28.5	128.6 ± 32.2
<b>Ingesta de grasas (g/día)</b>	106.2 ± 22.0	102.5 ± 22.7
<b>Ingesta de carbohidratos (g/día)</b>	368.2 ± 97.7	351.6 ± 75.0
<b>Ingesta de colesterol (mg/día)</b>	295.1 ± 86.6	277.2 ± 111.2
<b>Ingesta de fibra (g/día)</b>	27.8 ± 9.5	27.6 ± 10.9
<b>Vitamina C (mg/día)</b>	165.0 ± 71.8	144.4 ± 54.1
<b>Retinol (µg/día)</b>	1253.4 ± 483.2	1101.6 ± 402.2
<b>Vitamina E (mg/día)</b>	13.7 ± 5.2	12.8 ± 5.9

Respecto al cuestionario de ejercicio físico (IPAQ-SF) los resultados indican igualmente una gran homogeneidad entre ambos grupos (tabla 11). No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos experimentales.

Todos los sujetos de ambos grupos se clasificaron en la categoría 3 del HEPA Active (Health Enhancing Physical Activity), es decir, en el nivel más alto de condición física de este cuestionario.

**Tabla 11:** Resultados del Cuestionario Internacional de Actividad Física-Versión Corta (IPAQ-SF). Los datos son Medias ± EEM. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

	Ubiquinol	Placebo
<b>Actividad física vigorosa (días/semana)</b>	3.7 ± 0.3	3.5 ± 0.2
<b>Actividad física vigorosa (min/día)</b>	106.4 ± 9.4	107.3 ± 9.8
<b>Actividad física moderada (días/semana)</b>	3.9 ± 0.3	3.5 ± 0.3
<b>Actividad física moderada (min/día)</b>	89.2 ± 7.3	75.9 ± 4.9
<b>Caminatas (días/semana)</b>	5.0 ± 0.3	5.0 ± 0.3
<b>Caminatas (min/día)</b>	64.5 ± 6.7	54.2 ± 5.3
<b>Tiempo sentado (min/día)</b>	216.8 ± 17.9	208.5 ± 16.1

Los datos obtenidos en el análisis de impedancia bioeléctrica son mostrados en la tabla 12. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos respecto a



variables como el metabolismo basal, índice de masa corporal (IMC), % de masa magra, masa grasa y agua, mostrándose, por lo tanto, la homogeneidad de ambos grupos.

**Tabla 12:** Resultados Análisis de Impedancia Bioeléctrica. Los datos son Medias  $\pm$  EEM. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

	Ubiquinol	Placebo
<b>IMC</b>	24.8 $\pm$ 0.4	24.7 $\pm$ 0.4
<b>Metabolismo Basal (kcal)</b>	1733.7 $\pm$ 21.0	1718.0 $\pm$ 28.0
<b>Impedancia (<math>\Omega</math>)</b>	471.4 $\pm$ 6.8	495.3 $\pm$ 7.9
<b>% Masa grasa</b>	19.4 $\pm$ 0.7	19.3 $\pm$ 0.6
<b>Masa grasa (kg)</b>	15.2 $\pm$ 0.7	14.7 $\pm$ 0.7
<b>Masa magra (kg)</b>	60.7 $\pm$ 1.4	60.4 $\pm$ 1.1
<b>Agua (kg)</b>	45.3 $\pm$ 0.6	44.2 $\pm$ 0.8

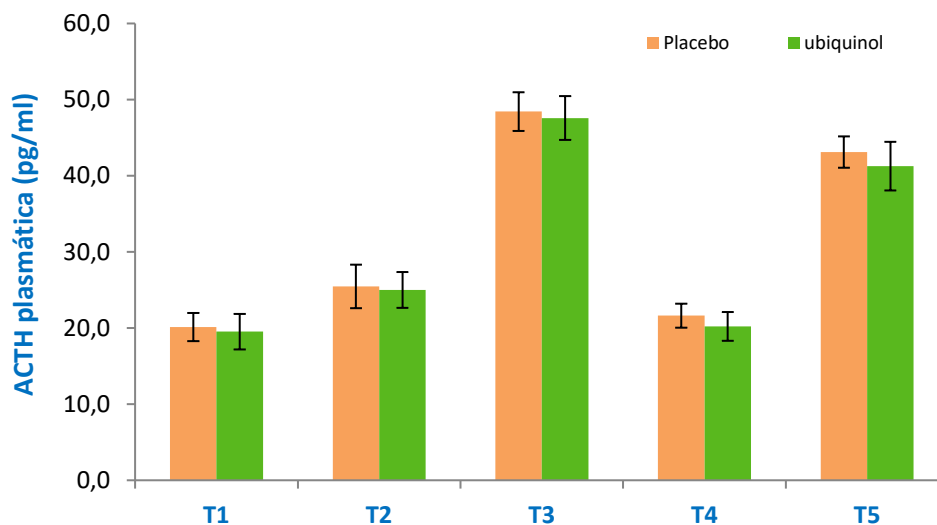


## 8. BIOMARCADORES ÓSEOS: ACTH, PTH, OC OPG, SOST, OPN y ALP

### 8.1. Adrenocorticotropina (ACTH)

En la figura 35 se muestran las concentraciones plasmáticas obtenidas en este estudio para la hormona adrenocorticotropina (ACTH). En relación a nuestro protocolo de actividad física, se observa un incremento en ambos grupos en las tomas T3 y T5, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a los valores encontrados en T1, T2 y T4. No se observan diferencias entre el grupo suplementado con ubiquinol y el no suplementado.

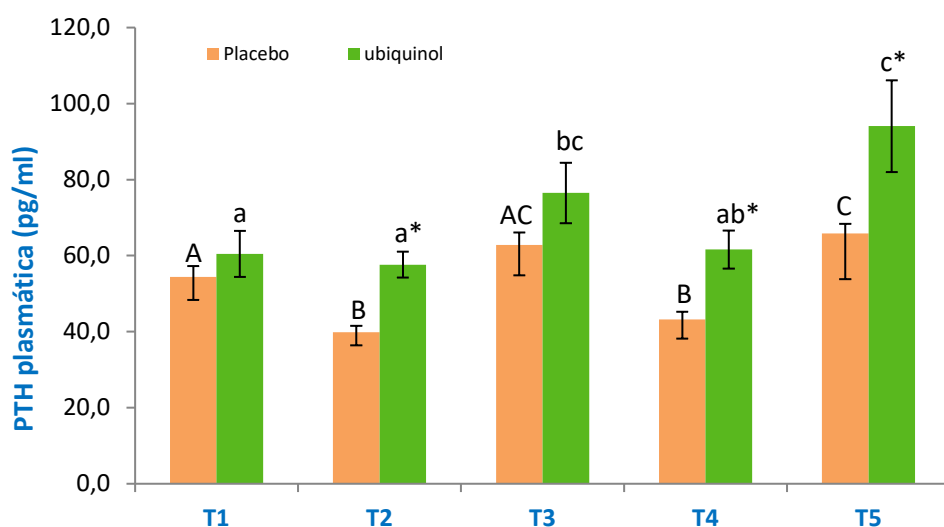
**Figura 35:** Concentración plasmática de la hormona adrenocorticotropina (ACTH) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



## 8.2. Parathormona (PTH)

Las concentraciones plasmáticas obtenidas tras la realización de nuestro protocolo de ejercicio físico intenso y la suplementación con ubiquinol son mostradas en la figura 36. En el grupo placebo se observa unas concentraciones bajas en las tomas T2 y T4, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a los valores encontrados en T1, T3 y T5, la máxima concentración se encuentra en la toma T5 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a T1, T2 y T4. El grupo suplementado con ubiquinol presenta una evolución durante el periodo de estudio diferente. Se observan concentraciones más elevadas en las tomas T3 y T5 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a los datos obtenidos en T1 y T2 en relación a T3, y con respecto a T1, T2 y T4, en relación a T5. Si observamos las diferencias entre grupos se observan mayores concentraciones en el grupo suplementado con ubiquinol en las tomas T2, T4 y T5, con valores estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ).

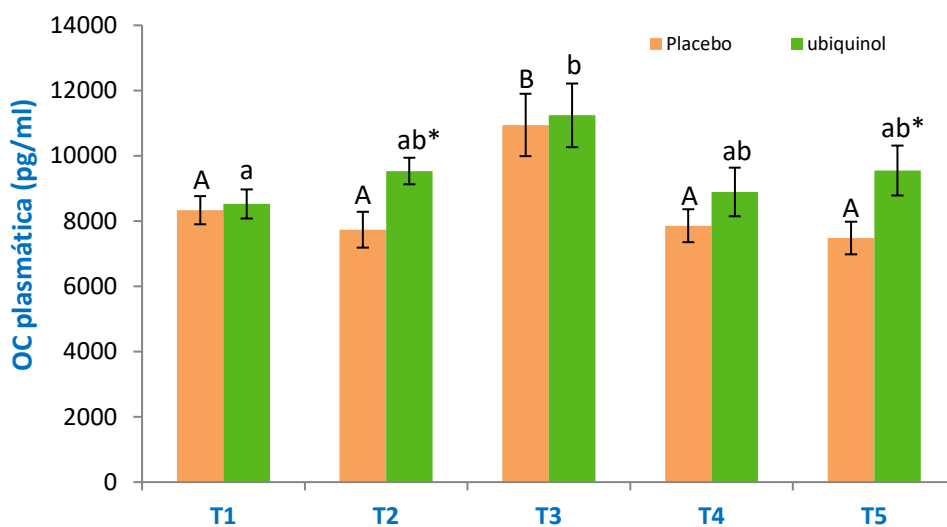
**Figura 36:** Concentración plasmática de la hormona paratiroidea (PTH) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



### 8.3. Osteocalcina (OC)

La concentración plasmática de osteocalcina en ambos grupos de estudio se muestra en la figura 37. En los dos grupos la concentración más alta se encuentra tras la finalización de la primera sesión de ejercicio de alta intensidad (T3). El grupo placebo T3 muestra diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al resto de tomas, pero en el grupo suplementado con ubiquinol durante dos semanas solo se observan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a la toma basal (T1). En lo referente a las diferencias entre grupos, hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en las tomas T2 y T4, con concentraciones plasmáticas mayores en el grupo suplementado.

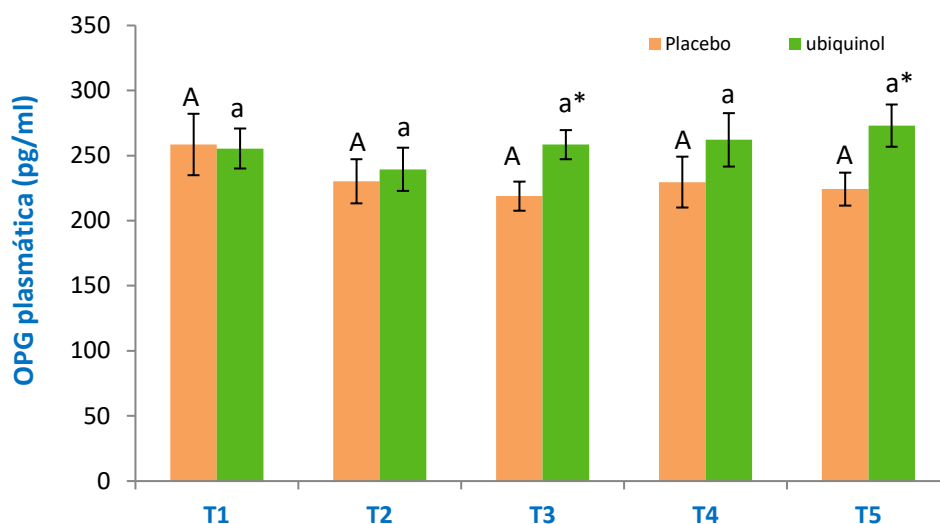
**Figura 37:** Concentración plasmática de osteocalcina (OC) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



#### 8.4. Osteoprotegerina (OPG)

La figura 38 muestra las concentraciones plasmáticas de osteoprotegerina (OPG) encontradas en ambos grupos de estudio. Tanto en el grupo suplementado con ubiquinol como en el grupo placebo se observa que el protocolo de ejercicio físico no induce diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre los distintos tiempos de toma de muestras. Sin embargo, sí observamos un efecto de la suplementación, dando concentraciones plasmáticas de esta molécula en las tomas T3 y T5 mayores que los encontrados en el grupo placebo, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

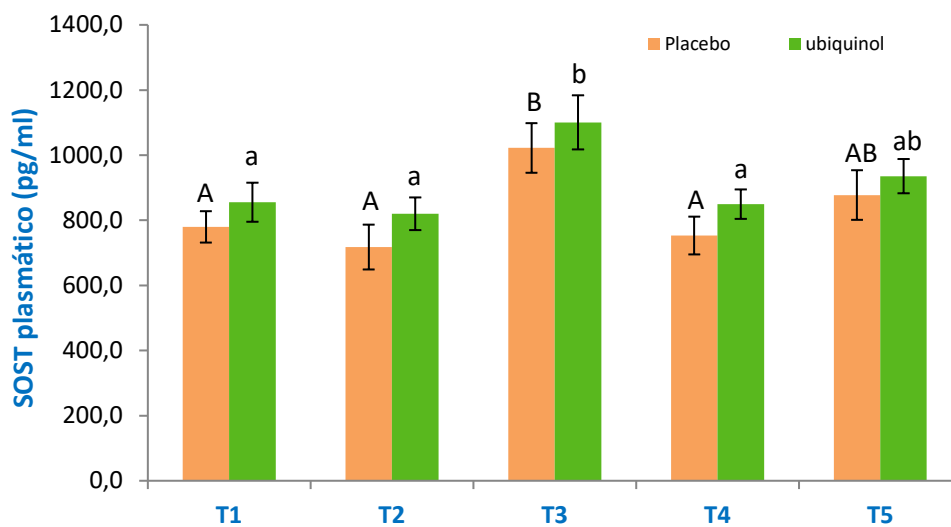
**Figura 38:** Concentración plasmática de osteoprotegerina (OPG) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



### 8.5. Esclerostina (SOST)

Los resultados obtenidos tras el análisis de las concentraciones plasmáticas de esclerostina (SOST) son mostrados en la figura 39. En esta figura se observa que el protocolo de ejercicio físico incrementa las concentraciones de SOST en ambos grupos con un máximo valor en la toma obtenida tras la finalización de la primera sesión de ejercicio (T3), con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a las concentraciones encontradas en T1, T2 y T4. En lo referente al efecto de la suplementación, no se observan diferencias significativas entre ambos grupos en ningún momento del estudio.

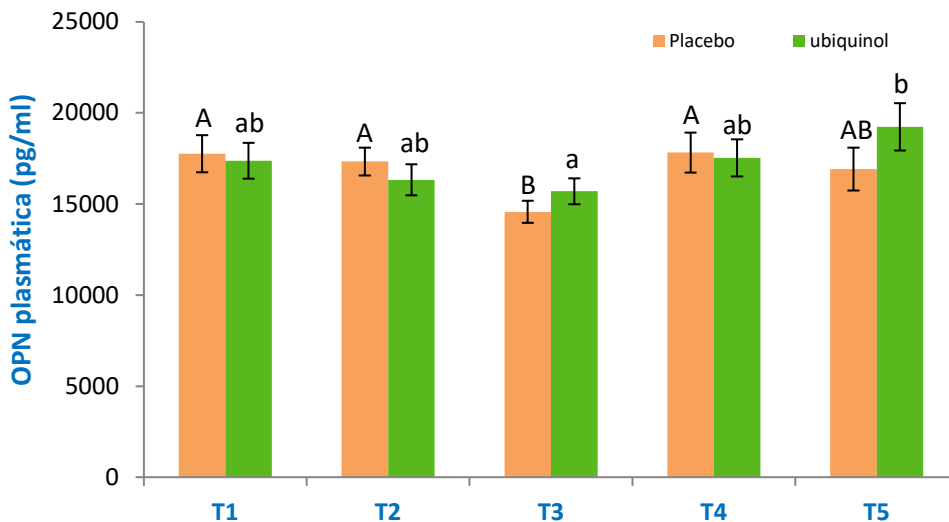
**Figura 39:** Concentración plasmática de esclerostina (SOST) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



### 8.6. Osteopontina (OPN)

Las concentraciones plasmáticas de osteopontina son mostradas en la figura 40. En relación a la evolución de estas concentraciones debidas al protocolo de ejercicio físico, se observa en el grupo control un mínimo valor en la toma T3, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a las concentraciones encontradas en T1, T2 y T4. En relación a esta evolución en el grupo suplementado se observa también un mínimo valor en T3, aunque solo presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con la muestra obtenida tras la finalización de la segunda sesión de ejercicio físico de alta intensidad. No se observaron diferencias significativas entre los grupos en ninguna de las tomas de muestra.

**Figura 40:** Concentración plasmática de osteopontina (OPN) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.

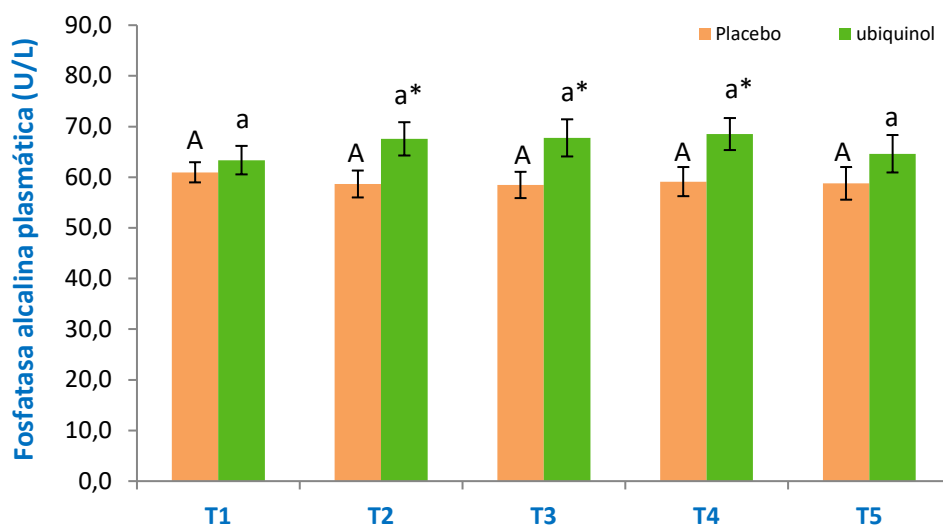




### 8.7. Fosfatasa alcalina (ALP)

Las concentraciones plasmáticas de fosfatasa alcalina no muestran variaciones a lo largo del protocolo de ejercicio físico intenso en ninguno de los dos grupos de estudio, como se muestra en la figura 41. Sin embargo, sí se observa un efecto de la suplementación con ubiquinol, dando lugar a concentraciones más elevadas en las tomas T2, T3 y T4, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a las concentraciones encontradas en el grupo placebo.

**Figura 41:** Concentración plasmática de fosfatasa alcalina (ALP) obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



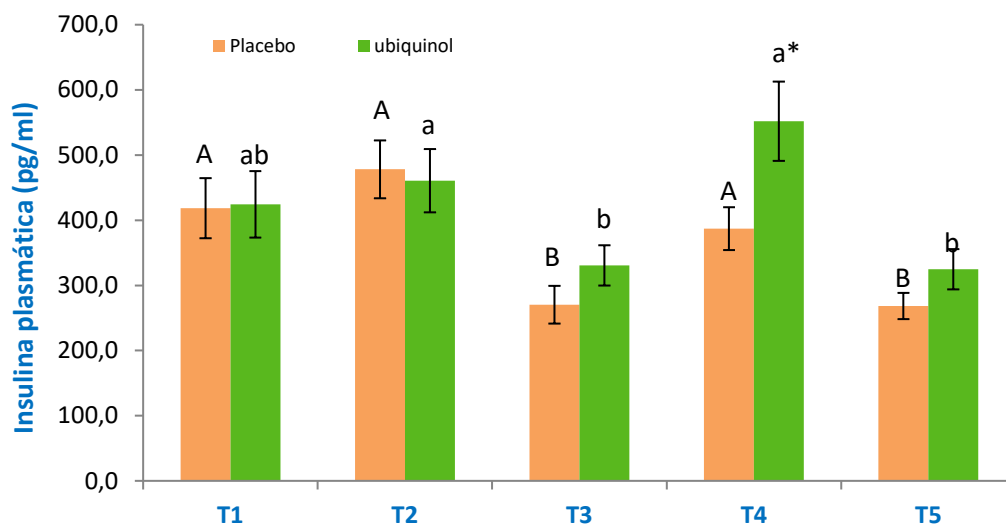


## 9. OTROS FACTORES HORMONALES Y NERVIOSOS RELACIONADOS CON EL REMODELADO ÓSEO Y EL METABOLISMO ENERGÉTICO

### 9.1. Insulina

Las concentraciones plasmáticas de insulina obtenidas en este estudio son mostradas en la figura 42. Se observa que en ambos grupos, placebo y ubiquinol, hay unas concentraciones más bajas en las tomas T3 y T5, tras la primera sesión de ejercicio intenso y tras la segunda sesión de ejercicio intenso, respectivamente. En el grupo placebo estos valores muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a las tomas T1, T2 y T4 y en el grupo suplementado con respecto a las tomas T2 y T4. Entre grupos se observa que la suplementación con ubiquinol durante dos semanas da lugar a un valor más alto de insulina en la toma T4, con diferencias estadísticamente significativas con respecto a los valores encontrados en esa misma toma en el grupo placebo.

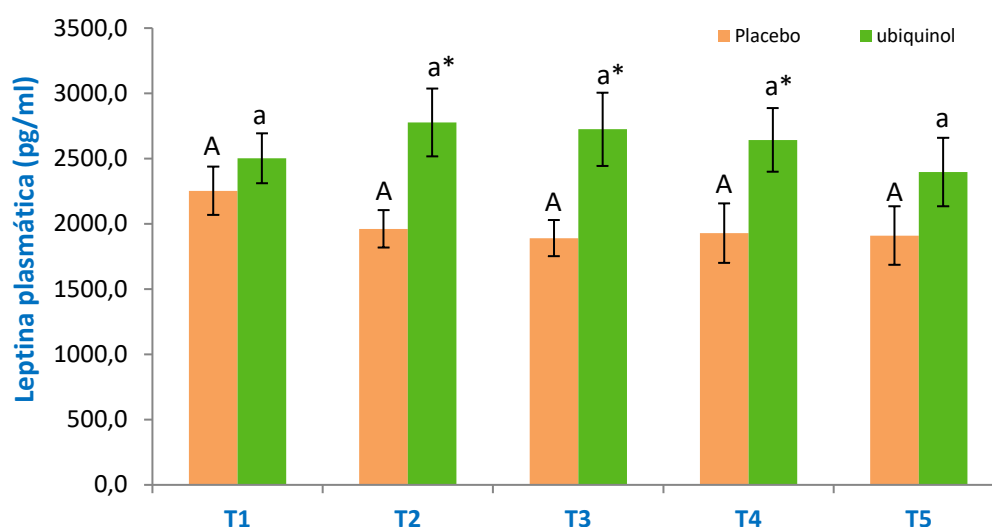
**Figura 42:** Concentración plasmática de insulina obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



## 9.2. Leptina

Las concentraciones plasmáticas de leptina se muestran en la figura 43. Ambos grupos muestran un mismo comportamiento en respuesta a la realización del ejercicio físico de alta intensidad sin que se muestren diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) entre ninguna de las tomas durante el estudio. Sin embargo, sí se observa un efecto de la suplementación de corta duración con ubiquinol dando lugar a concentraciones más altas en el grupo suplementado en las tomas T2, T3 y T4, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a las encontradas en el grupo placebo.

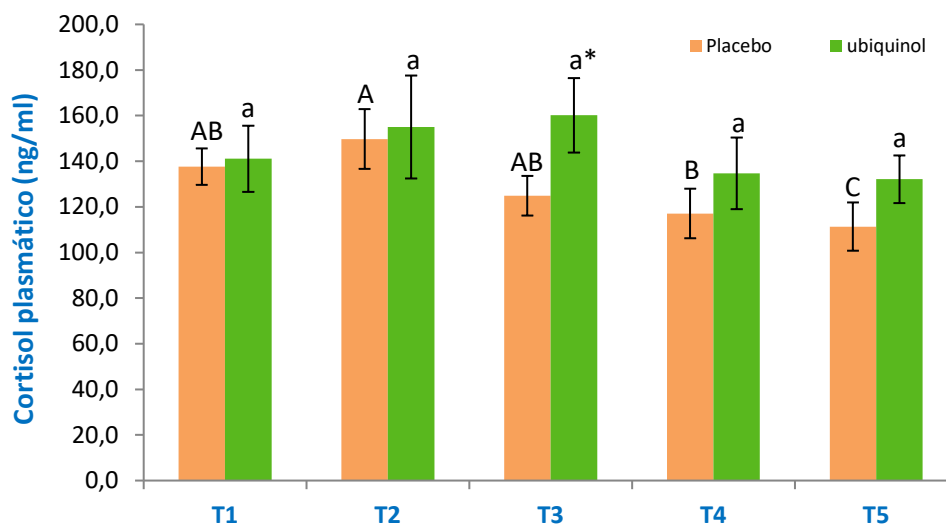
**Figura 43:** Concentración plasmática de leptina obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



### 9.3. Cortisol

Las concentraciones plasmáticas de cortisol obtenidas en la analítica realizada a ambos grupos de estudios se muestran en la figura 44. Como consecuencia del protocolo de ejercicio físico se observa en el grupo placebo un descenso en los valores de esta hormona conforme avanzamos en el estudio con concentraciones más bajas en las tomas T4 y T5, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a T2 y T5, para la toma T4, y con respecto a T1, T2, T3 y T4 para la toma T5. Sin embargo, el grupo suplementado con ubiquinol no muestra diferencias estadísticamente significativas a lo largo del estudio. En lo referente a la existencia de diferencias entre los dos grupos en un mismo periodo de tiempo o toma, se observa una mayor concentración en el grupo suplementado en la toma T3, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) a las encontradas en el grupo placebo.

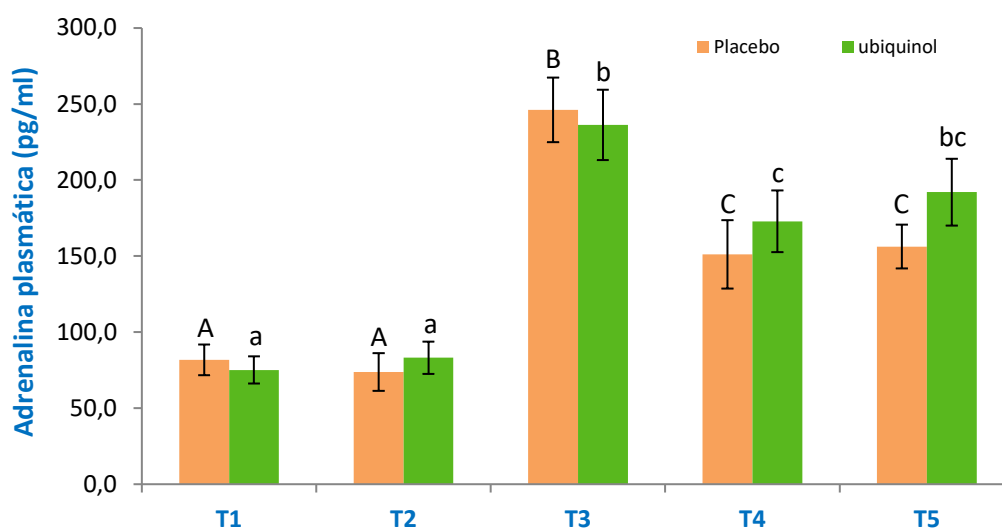
**Figura 44:** Concentración plasmática de la hormona cortisol obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



#### 9.4. Adrenalina

La figura 45 muestra la concentración plasmática de adrenalina. En ambos grupos se observan concentraciones más altas en las tomas T3, T4 y T5 con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a las tomas T1 y T2. La mayor concentración se encuentra en la toma T3, la cual además presenta diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto a los valores encontrados en las tomas T4 y T5. No se observan diferencias entre grupos para una toma específica.

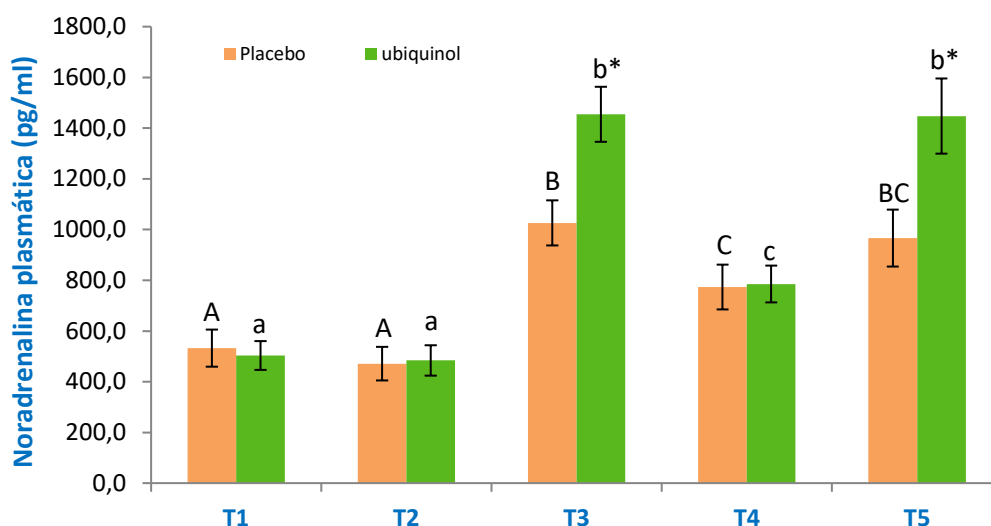
**Figura 45:** Concentración plasmática de adrenalina obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



### 9.5. Noradrenalina

Al igual que se ha observado para la adrenalina, el protocolo de ejercicio intenso realizado aumenta los niveles de noradrenalina en ambos grupos en las tomas T3, T4 y T5, las cuales coinciden con las tomas obtenidas tras la primera sesión de ejercicio físico intenso, con diferencias estadísticamente significativas respecto a las concentraciones obtenidas en las tomas T1 y T2 (figura 46). Sin embargo, se observan diferencias entre los grupos en esta evolución. En el grupo control, las concentraciones obtenidas en T3 muestra diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) con las obtenidas en T4 y en el grupo suplementado son las tomas T3 y T5 las que muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a la toma T4. En relación a la existencia de diferencias entre los grupos de estudio en una toma específica, se observa que la suplementación con ubiquinol da lugar a una mayor concentración de noradrenalina en las tomas T3 y T5 tras la primera sesión de ejercicio físico intenso y tras la segunda sesión de ejercicio físico intenso, respectivamente, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a las concentraciones encontradas en el grupo placebo.

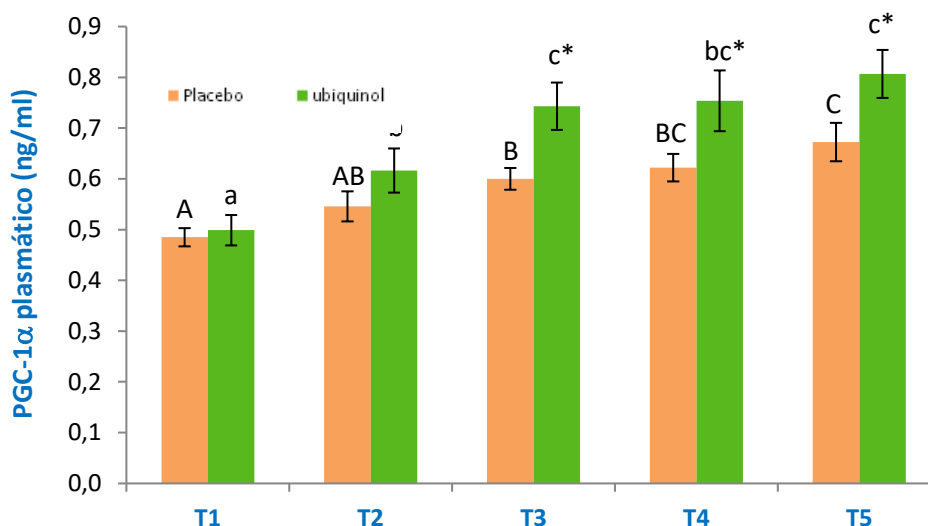
**Figura 46:** Concentración plasmática de noradrenalina obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.



### 9.6. Proteína 1 $\alpha$ coactivadora del receptor y activado por el proliferador de peroxisomas (PGC1- $\alpha$ )

La figura 47 muestra las concentraciones plasmáticas de PGC-1 $\alpha$  obtenidas en este estudio. En ambos grupos se observa una evolución similar a lo largo del estudio con máximas concentraciones tras la realización de las sesiones de ejercicio físico intenso. El grupo placebo muestra una máxima concentración en la toma T5, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a las concentraciones observadas en las tomas T1, T2 y T3 y en la toma T3 respecto a la toma T1. Esta evolución también se observa en el grupo suplementado con ubiquinol, aunque en este grupo las tomas T3 y T5 tras la realización de la primera sesión y segunda sesión, respectivamente, muestran diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a los valores encontrados en las tomas T1 y T2. La suplementación de corta duración con ubiquinol también da lugar a un aumento en la concentración de noradrenalina en las tomas T3, T4, T5 respecto a los valores encontrados en el grupo placebo, con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

**Figura 47:** Concentración plasmática de PGC-1 $\alpha$  obtenida en este estudio. Los resultados se expresan como media  $\pm$  EEM. \* indica diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p < 0.005$ ). La existencia de letras diferentes en cada grupo indica diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.005$ ) (Control (A, B, C, D, E); Ubiquinol (a, b, c, d, e)). T1: antes de la suplementación (valor basal); T2: después de la suplementación (2 semanas) y antes de la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T3: tras finalizar la primera sesión de ejercicio físico de alta intensidad; T4: después de 24 horas de descanso y antes de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad; T5: después de la segunda sesión de ejercicio de alta intensidad.





# BLOQUE V

## DISCUSIÓN

---



En el presente estudio se ha evaluado el efecto de una suplementación de corta duración (2 semanas) con Ubiquinol (200 mg/día) tras la realización de un protocolo de ejercicio físico intenso que consistió en 2 sesiones idénticas con un período de descanso de 24 horas entre ambas. El estudio se ha realizado con una muestra de 100 sujetos físicamente activos, varones, pertenecientes al Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada. Como se ha comentado en apartados anteriores, el ejercicio físico agudo extenuante o no programado puede inducir alteraciones del metabolismo óseo, lo cual puede conllevar efectos perjudiciales para la salud. Según el Colegio Americano de Medicina Deportiva (ACSM), el ejercicio de fuerza entre moderado e intenso está recomendado para conservar o mejorar la masa ósea en adultos (Kohrt et al., 2004). El ejercicio afecta positivamente a la fuerza, densidad, geometría cortical y microarquitectura trabecular del hueso (Joo et al., 2003). El efecto del ejercicio sobre el hueso puede ser directo (dependiendo del tipo, duración y carga) o indirecto dependiendo de las rutas metabólicas endocrinas (Lombardi et al., 2016). El ejercicio interactúa con el hueso como un elemento protector ante algunas enfermedades óseas como la osteopenia y la osteoporosis, las cuales se caracterizan por un micro deterioro de la masa ósea y, por lo tanto, un incremento de sufrir fractura ósea (Gómez-Bruton et al., 2017). Sin embargo, situaciones continuas de alta intensidad o ejercicio extenuante, como puede suceder con deportistas de élite, puede tener un efecto negativo en el tejido óseo, por lo que este grupo debe prestar especial atención a su salud ósea, tanto por posibles daños a largo como a corto plazo (Sale et al., 2019).

En este sentido, los entrenamientos durante periodos extensos de tiempo, inducen efectos negativos en la densidad mineral ósea, junto con un bajo nivel de formación ósea, así como una alteración en los procesos de resorción y formación (Creighton et al., 2000). Los protocolos de entrenamiento que se caracterizan por pocas repeticiones y varias sesiones, y aquellos que tienen un intervalo de tiempo amplio entre cada carga son más efectivos para la densidad ósea que la repetición de un único estímulo (Robling et al., 2002) o con intervalos cortos de tiempo en cada carga (Umemura et al., 2002) porque la mecanosensibilidad del hueso tiende a disminuir y requiere un periodo de recuperación más dilatado después de cada carga. Un indicador significativo de la influencia del ejercicio en el remodelado óseo lo determinan las fracturas óseas (Hughes et al., 2018). Las fracturas generadas por estrés mecánico son comunes y provocan lesiones que se producen generalmente en el tren inferior

de atletas, siendo la tibia, el peroné, los metatarsos, el fémur y la pelvis los huesos más susceptibles de sufrir roturas durante estos protocolos de entrenamiento (Lee, 2011). Básicamente, las fracturas por estrés se originan cuando los efectos negativos transitorios de la resorción ósea superan los efectos protectores de la formación, es decir, uno de los objetivos del remodelado óseo es la reparación del daño ocasionado por la fatiga. La eliminación de estos microdaños se denomina remodelado dirigido el cual da lugar a una porosidad temporal que puede contribuir a que se produzca una fractura. Por otra parte, el ejercicio interactúa con el hueso como un elemento protector ante algunas enfermedades óseas como la osteopenia y la osteoporosis, las cuales se caracterizan por un micro deterioro de la masa ósea y, por lo tanto, un incremento de sufrir fracturas (Gómez-Bruton et al., 2017). Aquellos ejercicios que implican soportar el peso del propio cuerpo muestran ser considerablemente más efectivos para mejorar el contenido y la densidad mineral.

El efecto del ejercicio realizado en este estudio tiene un marcado efecto en el turnover óseo con una clara incidencia en los marcadores de formación como indican otros autores (Holdsworth et al., 2018). El turnover óseo es un proceso profundamente influido por el ejercicio tanto directa (la carga constituye el factor determinante para la densidad mineral ósea) como indirectamente, mediante la activación de determinados ejes endocrinos (Lombardi et al., 2016). Las moléculas de señalización específicas secretadas por el músculo (mioquinas) y el tejido adiposo (adipoquinas) a consecuencia del ejercicio están involucradas en la sutil regulación ósea en respuesta a la disponibilidad energética (Lombardi et al., 2016). Además, el hueso regula el metabolismo óseo comunicando sus necesidades energéticas gracias a la osteocalcina que actúa sobre las células  $\beta$  y los adipocitos (Lombardi et al., 2014).

Por tanto, al estudiar el metabolismo óseo, éste debe ser considerado como parte de un sistema complejo que incluye mecanismos de origen central (sistema nervioso), hormonal (sistema endocrino) y local (del propio osteoide) (Isales et al., 2010; Lombardi et al., 2016; Sale et al., 2019).

El protocolo de ejercicio realizado en el presente estudio es de alta intensidad (se ha conseguido un aumento de lactato del 290% tras la primera prueba de ejercicio y 350% tras la segunda prueba de ejercicio) e induce daño muscular (aumento de mioglobina del 358%

después de la primera y 387% tras la segunda prueba de ejercicio, además de niveles aumentados de CK-MM del 158% después de la primera sesión de ejercicio y del 196% después de la segunda) (Sarmiento et al., 2016b). Estos aumentos fueron similares a los observados en otras pruebas de ejercicio extenuantes (Aboodarda, 2011). También hemos comprobado que nuestra suplementación con ubiquinol aumenta efectivamente los niveles de CoQ<sub>10</sub> plasmáticos hasta cinco veces (Sarmiento et al., 2016b).

El protocolo de ejercicio también mostró un claro efecto sobre el turnover óseo, con una mayor incidencia en los biomarcadores de formación, como han indicado otros autores (Holdsworth et al., 2019). Nuestro ejercicio aumentó ACTH, PTH, OC y disminuyó OPN (relacionado con una mayor formación ósea) y aumento de SOST (relacionado con la reabsorción). Además, nuestro protocolo de ejercicio aumentó la adrenalina, noradrenalina y PGC-1 $\alpha$ , y disminuyó la insulina, mostrando que todos estos resultados indican un efecto positivo en la movilización de glucosa, ácidos grasos y metabolismo energético (Diaz-Castro, et al., 2020).

La ACTH estimula la expresión de la fosfatasa alcalina, OC y los genes Runx2 (Factor de transcripción 2 relacionado con Runt), así como la citoquina de diferenciación de los osteoclastos (RANKL) y su receptor soluble OPG (Zaidi et al., 2010). Los efectos de la ACTH en la diferenciación de los osteoblastos se producen durante los últimos estadios de la diferenciación. Los efectos de la ACTH se producen a través de la sobrerregulación de la expresión del gen Runx2 (Zaidi et al., 2010). El ejercicio prolongado a intensidades submáximas estimula la secreción del cortisol y la ACTH (Inder et al., 1995) y cargas repetidas de entrenamiento pueden dar lugar a incrementos basales de niveles de ACTH (Inder et al., 1995; Luger et al., 1987) mientras que el ejercicio combinado de resistencia aeróbico moderado-agudo produce un incremento de la secreción de ACTH-cortisol (Ferdinand et al., 2017). El ejercicio submáximo provoca una fuerte activación del eje HPA (eje hipotalámico-pituitario-adrenal) mejorando la secreción regular tanto de la ACTH como del cortisol junto con un incremento de la unión bidireccional de la ACTH y el cortisol (Ferdinand et al., 2017). No obstante, los sujetos desentrenados experimentan una respuesta más aguda por parte de la ACTH y el cortisol respecto a los entrenados, aunque el entrenamiento intenso de resistencia disminuye la respuesta de la ACTH en ambos grupos (Ferdinand et al., 2017).

El ejercicio, especialmente el ejercicio extenuante o de alta intensidad, puede provocar un descenso en los niveles totales de Ca ionizado, lo cual constituye un desencadenante para la secreción de PTH (Barry et al., 2011). La PTH protege el Ca sérico a través de la absorción intestinal de Ca, inhibiendo la excreción renal del mismo, y de esta manera estimulando la movilización del Ca del esqueleto (Bouassida et al., 2006; Sherk et al., 2017). La PTH es una de las principales hormonas involucradas en el metabolismo del calcio y posee funciones catabólicas y anabólicas en el hueso (Isales et al., 2010; Silva et al., 2011). Un incremento continuo en la producción de esta hormona, como se ha observado en situaciones patológicas, estimula el proceso de resorción ósea (a través de la inducción del receptor de activación para el factor nuclear ligando  $\kappa\beta$  (RANKL) y la inhibición de la OPG) (Bouassida et al., 2009; Silva et al., 2015; Sherk et al., 2017), mientras que incrementos intermitentes como aquellos asociados al ejercicio muestran un claro efecto anabólico en el tejido óseo (Bouassida et al., 2009). Este efecto positivo en la formación ósea que se debe a varios mecanismos, estimula la diferenciación y la proliferación de los osteoblastos, estimula los niveles de OC y descende los niveles de SOST (Bouassida et al., 2009; Silva et al., 2015). El gen Runx2 es el gen principal para la diferenciación de los osteoblastos, el cual se puede ver estimulado por la acción de la PTH (Locklin et al., 2003). Esta hormona, como se ha visto, induce variaciones del RANKL y la ratio RANKL/OPG. Por ejemplo, un tratamiento continuo de PTH produce en la expresión génica RANK ligando (RANKL) un incremento, mientras que en la OPG, genera una disminución, resultando un incremento 25 veces la ratio RANKL/OPG estimulando la osteoclastogénesis (Locklin et al., 2003). El suministro intermitente de PTH genera la diferenciación de los osteoblastos (Locklin et al., 2003). Además, el efecto beneficioso de la PTH se ha asociado con un flujo sanguíneo al hueso produciendo un efecto vasodilatador (Prisby, 2017). Dicho aspecto es interesante dada la importancia de un adecuado aporte sanguíneo para una correcta formación del hueso y el hecho de observarse vasodilatación y angiogénesis de los vasos sanguíneos óseos durante el ejercicio (Prisby, 2017).

También debemos resaltar la capacidad de los osteocitos para regular la actividad anabólica de la ruta señalizadora Wnt/ $\beta$ -catenina (Tu et al., 2015). Esta ruta de señalización se activa a consecuencia de cargas mecánicas producidas por el ejercicio físico para generar la osteogénesis y la formación ósea, tanto por estimulación directa del factor de transcripción óseo Runx2 (Gaur et al., 2005) como por la interferencia de la PTH o la ruta de señalización de

las BMPs (Baron & Kneissel, 2013). La PTH circulante generada por el ejercicio conlleva una disminución de la esclerostina (proteína anti-anabólica) en los osteocitos (Gardinier et al., 2016) junto con un aumento del factor de crecimiento 23 (FGF-23) (Gardinier et al., 2016) que controla la homeostasis de la fosfatasa y el metabolismo de la vitamina D (Quarles, 2012). La SOST actúa como antagonista de la ruta de señalización de WNT en la familia de los osteoblastos, regulando negativamente la formación ósea (Holdsworth et al., 2019).

En nuestro estudio, la suplementación de ubiquinol produce un incremento intermitente de PTH lo cual mejora su efecto sobre el hueso. Además, el grupo de investigación de Sarmiento y cols. mostró un efecto vasodilatador con una suplementación de ubiquinol mediante el incremento del óxido nítrico (NO), el cual podría mejorar su efecto benéfico sobre el tejido óseo (Sarmiento et al., 2016b).

El proceso de remodelado óseo requiere un equilibrio entre la formación y la resorción (Díaz-Castro et al., 2020). La señalización OPG/RANK es la ruta clave para la regulación del equilibrio entre la resorción y la formación. RANKL se une a su receptor RANK para producir la diferenciación, función y activación de los osteoclastos, mientras que la OPG actúa como un señuelo receptor de RANKL y de esta forma inhibir la activación de los osteoclastos y la resorción ósea (Kenkre & Basset, 2018). La OPG se expresa ampliamente en células vasculares del tejido muscular liso (VSMCs) y células endoteliales, y su secreción está relacionada con citoquinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL- $\beta$ ). Los modelos animales con deficiencia de OPG desarrollan tanto osteoporosis como calcificaciones vasculares lo cual sugiere que la OPG desempeña un papel clave en la mineralización esquelética evitando la mineralización de los vasos sanguíneos (Bucay et al., 1998). Nuestro protocolo de ejercicio no produjo ningún efecto en la OPG, aunque en otros estudios los resultados han resultado ser contradictorios (Dekker et al., 2017). Por otro lado, se observó un aumento con la suplementación de ubiquinol que podría tener un efecto beneficioso sobre la formación ósea (Kenkre & Bassett, 2018).

Nuestro protocolo de ejercicio muestra un aumento en los niveles de esclerostina, especialmente tras la realización de la primera sesión de ejercicio. Diversas investigaciones muestran a la esclerostina como una hormona que actúa inhibiendo la formación ósea en todo

el linaje de los osteoblastos: control y reclutamiento de la proliferación de las células osteoprogenitoras, inhibición de la diferenciación osteogénica, regulación negativa de la actividad osteoblástica, mantenimiento del revestimiento celular, eliminación de la diferenciación de los osteoblastos tardíos y regulación del periodo vital de los osteocitos, su forma y conexión (Sutherland et al., 2004; Krause et al., 2010; Atkins et al., 2011; Holdsworth et al., 2019).

Otro efecto interesante de la suplementación de ubiquinol en este estudio es el efecto en la ALP. Dicha hormona es uno de los biomarcadores del metabolismo óseo más utilizados indicando actividad osteoblástica (Holdsworth et al., 2018). En relación al ejercicio, no se observa ningún efecto en este marcador óseo, aunque en la literatura existe cierta controversia sobre el efecto del ejercicio en la alcalina fosfatasa (Holdsworth et al., 2018). Junto con la ALP, la OC refleja el nuevo hueso sintetizado (Bouassida et al., 2006), mientras que la PTH puede incrementar la ALP y la expresión de la OC (Locklin et al., 2003). La OC es una proteína no colágena de origen osteoblástico implicada en la formación ósea y representada en la matriz extracelular ósea (Ducy et al., 1996), siendo sus niveles correlacionados con el número de osteoblastos y la formación ósea, así como con la proporción de la generación de nuevo hueso (Lombardi et al., 2012). La PTH, la ALP y la OC que incrementaron con la suplementación de ubiquinol reflejan el índice de formación ósea y coinciden con incrementos significativos en la masa ósea (Matar et al., 2016), por lo tanto, a la luz de estos resultados podemos afirmar que el consumo de ubiquinol durante el ejercicio incrementó el índice de turnover óseo (Díz-Castro et al., 2020).

Además de los efectos sobre el hueso de la OC, se ha descrito que esta hormona favorece la adaptación al ejercicio desempeñando un papel esencial en el metabolismo energético actuando sobre el metabolismo de la glucosa y las grasas, la estimulación de la insulina (loop hueso-páncreas) (Moser & Van der Eerden, 2019), la proliferación de las células pancreáticas y la inducción de la adiponectina (Confavreux et al., 2009; Lombardi et al., 2016; Holdsworth et al., 2018) y en las capacidades cognitiva y muscular (Moser & Van der Eerden, 2019). Con la administración de OC la actividad de la insulina incrementa, los niveles de azúcar disminuyen, la tolerancia a la glucosa aumenta y se produce una mayor sensibilidad a la insulina con unos niveles normales de glucagón (Lee et al., 2007). Esta anomalía se produce



mayormente por el aumento de masa de los islotes pancreáticos y células  $\beta$ , lo cual significa que la OC puede incrementar la secreción de la insulina y la sensibilidad a la insulina en algunos tejidos como los músculos y el tejido adiposo. Este incremento de la sensibilidad a la insulina se produce por medio de la adiponectina, la cual se regula a su vez mediante la ucOC (osteocalcina descarboxilada) (Ferron et al., 2008). La osteocalcina carborsilada se almacenaría en la matriz ósea y liberaría durante la resorción (Ivaska et al., 2004). Los osteoblastos secretarían protones y descenderían el nivel del PH durante la resorción, lo cual facilitaría la descarboxilación de la osteocalcina y la forma activa de la osteocalcina entraría en circulación para estimular la proliferación de las células  $\beta$  y la secreción de la insulina (Ferron et al., 2010).

Por otra parte, la insulina puede estimular la resorción ósea sin actuar directamente sobre los osteoclastos, sino sobre los osteoblastos. La señalización de la insulina puede disminuir la expresión de la osteoprotegerina (OPG) en los osteoblastos a través de su unión con el INSR (receptor de la insulina) (Ferron et al., 2010). La OPG, un regulador clave de los osteoclastos, junto con el receptor activador del factor nuclear del ligando K (RANKL) a través del receptor activador del factor nuclear K (RANK) regula la diferenciación y la actividad de los osteoclastos (Boyce et al., 2008; Pérez-Sayáns et al., 2010). Como hemos comentado antes, los osteoclastos secretan protones creando un ambiente ácido que facilita la descarboxilación de la OC y el aumento de ucOC. Este aumento, a su vez, incrementa la proliferación de células  $\beta$ , la secreción y la sensibilidad de la insulina (Ferron et al., 2010; Yoshikawa et al., 2011; Yoshizawa et al., 2012; Shao et al., 2015). De esta forma, la señalización de la insulina y la OC forman un bucle que se retroalimenta a sí mismo, en el cual la insulina afecta a los osteoblastos y, en consecuencia, incrementa su propia secreción y sensibilidad a través de la ucOC. La señalización de la insulina puede reducir la expresión de la OPG en los osteoblastos uniéndose con INSR (Ferron et al., 2010).

La respuesta metabólica a las diferentes formas de ejercicio es distinta, sin embargo, en casi todas las formas de ejercicio, independientemente de la intensidad y la duración, las concentraciones de glucosa sanguínea se mantienen en un estrecho rango (~70-110mg/dcl.) (Riddell et al., 2017). Durante el ejercicio aeróbico, la secreción de insulina desciende mientras que el glucagón aumenta para facilitar la liberación de glucosa del hígado y satisfacer las

necesidades de glucosa de los músculos físicamente activos (Camacho et al., 2005). El ejercicio puede incrementar la absorción de glucosa en el músculo hasta 50 veces, un fenómeno que tiene lugar independientemente de la señalización de la insulina, por lo que el descenso de la insulina circulante no se limita al abastecimiento de glucosa de los músculos activos (Riddell et al., 2017). Aunque el principal factor decisivo de producción de glucosa durante el ejercicio aeróbico es un incremento de las concentraciones de glucagón, el control neuronal de liberación de la glucosa y otras hormonas contrarreguladoras también tienen una función de apoyo (Coker & Kjaer, 2005). Una duración prolongada del ejercicio implica una disminución de la dependencia del glucógeno muscular en favor de la dependencia de la oxidación lipídica y la glucosa procedente del plasma (Coyle, 1995). Si las concentraciones de insulina durante el ejercicio aeróbico prolongado no descienden, el aumento de las hormonas contrarreguladoras es menos eficaz en la promoción de glucosa hepática que cuando descienden (Camacho et al., 2005).

El músculo esquelético es uno de los lugares donde se realiza la absorción y la eliminación de la glucosa. El ejercicio produce un impacto en el esqueleto y mejora la sensibilidad a la insulina (Levinger et al., 2017). Por lo tanto, el ejercicio puede mediar, en parte, en la interacción entre el músculo, el hueso y el metabolismo de la glucosa (Levinger et al., 2017). El ejercicio también incrementa los marcadores de remodelado óseo y la osteocalcina descarboxilada tanto en hombres como en mujeres (Levinger et al., 2014). La reducción de los niveles de glucosa sérica después de un ejercicio aeróbico intenso está relacionada con la OC sin T2DM (diabetes mellitus tipo 2) (Levinger et al., 2011). En sujetos con T2DM los porcentajes de OC y ucOC se correlacionan con los porcentajes de los niveles de glucosa después del ejercicio, lo cual podría explicarse por la existencia de un mecanismo de retroalimentación mediante el cual, tanto el ejercicio moderado como a altas intensidades puede incrementar los niveles circulantes de OC acompañado por mejoras en la homeostasis de la glucosa y la sensibilidad a la insulina (Levinger et al., 2011; Levinger et al., 2014; Levinger et al., 2016).

El efecto que produce el ejercicio de fuerza en la composición corporal (como el incremento de la masa muscular y la reducción de la masa grasa, así como el impacto que produce en la secreción de adipocina, la sensibilidad en la insulina y el transporte de glucosa)

produce una reducción en la proteína reactiva C, la insulina y el nivel de glucosa en ayunas (Ashton et al., 2017). Estas mejoras en el funcionamiento metabólico después de un ejercicio de fuerza podrían tener implicaciones importantes para prevenir el síndrome metabólico, la T2DM y los trastornos cardiovasculares (Ashton et al., 2017). Asimismo, se detectan mejoras en la función endotelial con programas de fuerza de 7 a 23 semanas de duración debidas al metabolismo de óxido nítrico resultante de las contracciones musculares, la frecuencia cardíaca de reposo y los cambios en la presión sanguínea durante el ejercicio de fuerza (Vona et al., 2009)

No obstante, el efecto del ejercicio en los niveles de OC total no está tan claro. Los programas que incluyen terapias de dieta y ejercicio incrementan la circulación de OC y reducen la masa ósea (Fernández-Real et al., 2009). Este aumento en la OC está relacionado con la reducción de la masa grasa visceral y el aumento de la masa magra y la fuerza muscular (Levinger et al., 2017). Además, los niveles de OC al final del ejercicio están relacionados con el incremento a la sensibilidad a la insulina y relacionados negativamente con los niveles basales de triglicéridos (Levinger et al., 2017).

Por otro lado, la señalización de la insulina puede afectar a los huesos. El receptor de la insulina INSR es fundamental para la supervivencia de los osteoblastos, su proliferación y diferenciación (Fulzele et al., 2007). Como ya se ha visto, Runx2 es un factor de transcripción esencial para la diferenciación osteoblástica y la morfogénesis esquelética (Shao et al., 2015). La expresión de Runx2 desciende en los osteoblastos que carecen de INSR (Fulzele et al., 2007), sin embargo, la insulina no regula directamente la actividad de Runx2, en su lugar, la insulina reduce Twist2, un inhibidor de la actividad de Runx2 (Bialek et al., 2004) para suprimir la actividad de Runx2 (Fulzele et al., 2010).

Dada la importancia de la glucosa durante el ejercicio y la implicación de la osteocalcina en la regulación de la glucosa, existe un vínculo entre ellas, con un incremento asociado al ejercicio (Moser & Van der Eerden, 2019), que resulta en un acuerdo con aquellos reportados en el presente estudio, que son mejorados por la suplementación de ubiquinol (Díaz-Castro et al., 2020).

La leptina es una adipoquina asociada con la regulación de la supresión del apetito, la homeostasis energética, inmunología, y la respiración además de otras acciones biológicas (Bouassida et al., 2010). La leptina regula el metabolismo energético mediante su efecto directo en el sistema nervioso central y el tejido muscular esquelético (Bouassida et al., 2009). La relación entre la leptina y el tejido óseo es compleja y controvertida (Giudici et al., 2017) y parece actuar a través de rutas centrales y el sistema nervioso autónomo (Confavreux et al., 2009; Lombardi et al., 2012). Se han sugerido dos rutas de acción en el turnover óseo: una ruta periférica directa, con estimulación sobre la formación ósea y el crecimiento (diferenciación de osteoblastos, inhibición de apoptosis, incremento de la mineralización y la estimulación de la expresión de la OPG) y una ruta indirecta central que funciona a través del hipotálamo y reduce la formación ósea, aunque estudios recientes han demostrado un efecto en la resorción de esta ruta hipotalámica (Giudici et al., 2017). Sin embargo, aunque sus efectos en el metabolismo energético son evidentes, la influencia sobre el tejido óseo no está clara, indicando que podría ser efectiva sólo en situaciones extremas (Giudici et al., 2017). En este sentido, los niveles basales circulantes de leptina pueden ser un indicador útil de cansancio extremo y recuperación en atletas, los mecanismos que contribuyen a regular la leptina requieren investigaciones adicionales (Joro et al., 2016).

La leptina también tiene un claro efecto sobre la insulina (Confavreux et al., 2009; Lombardi et al., 2012) y mejora la expresión de la noradrenalina (Giudici et al., 2017). La reducción de la insulina asociada al deporte (Saltiel & Kahn, 2001), reduce la neoglucogénesis e incrementa la biodisponibilidad de la glucosa y de los ácidos grasos, un efecto que se mejora por el aumento de la adrenalina y la noradrenalina (Kim et al., 2015). De hecho, el ejercicio extenuante intensifica la producción de glucosa con escasos cambios en la producción de insulina, siendo dichos casos más evidentes en el glucagón y especialmente en la adrenalina y la noradrenalina (Kreisman et al., 2003). De este modo, un incremento en la noradrenalina asociado al ejercicio constituye un claro efecto en estimular la glicogénesis y la lipólisis (Kim et al., 2015), pero también manifiesta un efecto sobre el metabolismo óseo al incrementar la PTH para favorecer los procesos de resorción ósea gracias a los receptores  $\beta$ 2-andrenérgicos existentes en los osteoblastos y en los osteoclastos (Giudici et al., 2017). Sin embargo, estudios recientes demuestran la existencia de receptores  $\alpha$  involucrados en los procesos de formación y la importancia en los osteoblastos de transportadores de noradrenalina cuya inhibición

produce pérdida de hueso (Ma et al., 2013), lo cual implica una compleja y controvertida relación con el tejido óseo.

Puesto que la leptina inhibe el apetito y favorece el gasto energético y la fertilidad (Auwerx & Staels, 1998) podría ser la clave para determinar si existe un vínculo entre el remodelado óseo y el metabolismo energético durante el ejercicio. En primer lugar, vamos a determinar la relación entre obesidad, leptina y masa ósea:

Los ratones ob/ob deficientes en leptina muestran una alta masa ósea a consecuencia de un gran incremento en los parámetros de formación ósea que superan el incremento del número de osteoclastos y los parámetros de resorción ósea también observados en este tipo de animales (Ducy et al., 2000). Este incremento en la resorción ósea es un fenómeno normal puesto que los ratones ob/ob tienen hipogonadismo, sin embargo, los ratones deficientes en leptina presentan hipogonadismo y al mismo tiempo un alto índice de masa ósea, pero una elevada masa ósea no es consecuencia de la obesidad sino de la ausencia de leptina (Ducy et al., 2000) puesto que los ratones sin adipocitos no sólo están delgados sino que tienen deficiencia en leptina. Tanto las células musculares como los adipocitos secretan leptina (Hamrick, 2017). Las extremidades posteriores de las ratas que no han experimentado cargas mecánicas experimentan una reducción de los niveles de leptina y la terapia de sustitución de la leptina inhibe la pérdida de hueso trabecular debido a un incremento de la resorción ósea (Baek & Bloomfield, 2009). El alcance para el cual la leptina derivada de la grasa o el músculo contribuye a los niveles séricos de leptina en ausencia de carga se desconoce, pero es posible que la leptina derivada del músculo puede estar implicada en la reducción general de leptina circulante que tiene lugar en ausencia de carga mecánica (Bettis et al., 2018).

La leptina actúa únicamente a través de un sistema de transmisión neuronal que regula la masa ósea (Confavreux et al., 2009). Mientras que la supresión del receptor de la leptina en los osteoblastos no afecta la masa ósea, su eliminación de las neuronas sintetiza la alta densidad ósea observada en los ratones ob/ob (Shi et al., 2018). La leptina inhibe el apetito y la masa ósea a través de dos rutas hipotalámicas y las conexiones neuronales a través del núcleo ventromedial hipotalámico (VMH) están implicadas en el control central de la masa ósea a través de esta hormona (Confavreux et al., 2009).

El tono simpático, bajo el control de la leptina, se dirige a las células de los osteoblastos para inhibir la acumulación de masa ósea mediante dos mecanismos complementarios: disminuye la formación y favorece la resorción (Elefteriou et al., 2005). La leptina regula la resorción ósea porque afecta la expresión de otros genes que controlan la resorción (Elefteriou et al., 2005). La señalización de la leptina regula la resorción ósea a través de dos mecanismos antagónicos. El primero se produce mediante la ruta nerviosa simpática para incrementar la expresión de RANKL en los osteoblastos. La segunda reduce la resorción ósea a través del CART (Transcripción regulada de la cocaína y anfetamina) para reducir la expresión del RANKL en los osteoblastos a través de una ruta que todavía no se ha descifrado. El análisis de ratones manipulados genéticamente que no tienen genes reguladores de la leptina demostró que el neuropéptido CART, el cual no regula el apetito cuando los ratones se alimentan con una dieta normal, inhibe la diferenciación osteoclástica bajo el control de la leptina a través de un mecanismo que aún no se ha comprendido (Elefteriou et al., 2005).

El hecho de que la información de la leptina se transmite a través del hipotálamo ofrece la posibilidad de modulación a través de otros sistemas involucrados en el metabolismo energético como los esteroides, estrés y sueño. El propio osteoblasto ofrece otro nivel de modulación en la integración del ejercicio físico, es decir, los osteoblastos reciben información que expresa el gasto energético y la energía disponible (Confavreux et al., 2009).

La molécula PGC-1 $\alpha$  está involucrada en la regulación de una amplia variedad de procesos incluyendo la adipogénesis, el metabolismo de los lípidos, la sensibilidad a la insulina y la inflamación. Dicha molécula interactúa con receptores nucleares y factores de transcripción para activar la transcripción de sus genes objetivo. Es sensible a múltiples estímulos incluyendo el ión calcio, el estrés oxidativo (estimula la expresión génica de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa así como la expresión de proteínas separadas), la insulina, la hormona de estrógenos y tiroides, hipoxia, la demanda de ATP y a las citoquinas (Puigserver & Spiegelman, 2003; Kang & Ji, 2012). En el músculo esquelético la PGC-1 $\alpha$  parece regular la modificación del cambio de fibras (favoreciendo el cambio de fibras glucolíticas a fibras oxidativas), el transporte de glucosa y el uso de lípidos (Kim, 2016), así como el incremento de la oxidación de los ácidos grasos en el músculo esquelético debido a su rol en el transporte de glucosa al músculo esquelético y la

biogénesis mitocondrial (Kang & Ji, 2012). En relación al efecto de esta molécula sobre el remodelado óseo, se ha observado que su pérdida en las células mesenquimales conduce a un incremento de la masa ósea, debido a una disminución en los procesos de formación y a un incremento de la adipogénesis en la médula ósea (Kang & Ji, 2012), siendo este efecto positivo en el hueso en relación al estrés oxidativo y a la inflamación (Yu et al., 2018). En el presente estudio, la expresión de la PGC-1 $\alpha$  incrementó después del ejercicio especialmente con la suplementación de ubiquinol, lo cual puede ser debido de una mejora de la sensibilidad a la insulina y de las funciones mitocondriales (King & Ji, 2012; Wagner et al., 2012). Cabe destacar que los efectos resultantes de ambos factores plantean la posibilidad de que el ejercicio con suplementación de ubiquinol podría tener un efecto significativo para mejorar el transporte de la glucosa, la oxidación de los ácidos grasos y las funciones mitocondriales del músculo esquelético, es decir, desempeñando un efecto ergogénico para el propio músculo.

Con el presente estudio se muestra por primera vez los efectos beneficiosos del ubiquinol en el hueso y en el metabolismo energético, considerados como positivos sobre el rendimiento y la recuperación muscular después de una carga de trabajo (especialmente de alta intensidad). El ejercicio implica muchos procesos relacionados con el hueso, incluyendo la regulación trabecular durante el remodelado óseo, así como la alteración de aquellas señales que pueden ser perjudiciales para los huesos. La suplementación con ubiquinol es capaz de mejorar el turnover óseo y bloquear determinados efectos perjudiciales para el mismo, mejorando el metabolismo del hueso durante un ejercicio extremo. Aparte de estos efectos, el ubiquinol incrementó la OC, el PGC-1 $\alpha$  y la leptina favoreciendo la adaptación al ejercicio y mejorando el cambio de fibras musculares favoreciendo el cambio de fibras glucolíticas a fibras oxidativas. Asimismo, el ubiquinol también favorece el transporte de glucosa y la utilización de los lípidos en el músculo esquelético a consecuencia de su papel en el transporte de glucosa y en la biogénesis mitocondrial, lo cual supone una ventaja ergogénica y fisiológica para el músculo esquelético. Debemos añadir que el ubiquinol mejora la reposición del glucógeno muscular después del ejercicio y, por consiguiente, la recuperación. Además, el aumento de noradrenalina registrado después de las pruebas de ejercicio en el grupo de ubiquinol indica una estimulación de la captación y depuración de glucosa, lo que mejora la capacidad de cambiar a niveles más altos de uso de carbohidratos musculares, (Kreisman et al., 2003) lo que representa también una ventaja metabólica para

las miofibras, porque la hiperglucemia posterior al ejercicio inducida por la noradrenalina es necesaria para la repleción de glucógeno muscular (Marliss et al., 1992).

Toda esta información nos lleva a confirmar los efectos beneficiosos de la suplementación de ubiquinol sobre el proceso de remodelado óseo y el metabolismo energético en atletas durante un ejercicio intenso.



# BLOQUE VI.

## CONCLUSIONES

---



Los resultados obtenidos en esta investigación nos permiten extraer las conclusiones que exponemos a continuación:

### PRIMERA

El protocolo de ejercicio intenso utilizado en esta investigación ha mostrado un efecto claro sobre el turnover óseo, con una mayor incidencia en los biomarcadores de formación ósea. Nuestro protocolo de actividad física aumentó la ACTH, la PTH, la osteocalcina y disminuyó la OPN (relacionada con una mayor formación ósea) y aumento de SOST (relacionado con la resorción). Además, este protocolo de ejercicio también aumentó la adrenalina, la noradrenalina, la PGC-1 $\alpha$  y disminuyó la insulina, mostrando todos estos resultados un efecto positivo en la movilización de glucosa, ácidos grasos y el metabolismo energético.

### SEGUNDA

La suplementación con ubiquinol a corto plazo indujo un mayor aumento en la concentración de PTH, mostrando un claro efecto anabólico para el tejido óseo. Este efecto positivo sobre la formación ósea se debe a diversos mecanismos, estimula la diferenciación y proliferación de los osteoblastos, estimula los niveles de OC y disminuye la SOST. Además, ese efecto beneficioso de la PTH se ha asociado con un aumento en el flujo sanguíneo al hueso que muestra un efecto vasodilatador local. Este aspecto es interesante dada la importancia de un suministro sanguíneo adecuado para una correcta formación ósea y el hecho de haber observado vasodilatación y angiogénesis de los vasos sanguíneos óseos durante el ejercicio.

### TERCERA

La suplementación con ubiquinol a corto plazo incrementó la concentración en sangre de fosfatasa alcalina, uno de los biomarcadores del metabolismo óseo más utilizados y que indica un incremento en la actividad osteoblástica y por tanto una mejora del proceso de formación ósea.

#### CUARTA

Nuestros resultados muestran un aumento en osteocalcina (OC) asociado a nuestro protocolo de ejercicio, así como un incremento en su concentración en el grupo suplementado con ubiquinol. Este efecto sobre la OC es doblemente interesante, dado que esta proteína no colágena participa activamente en la formación de hueso, correlacionando sus niveles con el número de osteoblastos y formación ósea, así como en la proporción de nueva generación ósea y además favorece la adaptación al ejercicio, presentando un papel crítico en el metabolismo energético induciendo una movilización de sustratos como glucosa y ácidos grasos, gracias a sus efectos sobre la estimulación de insulina, proliferación pancreática, inducción de adiponectina, entre otros.

#### QUINTA

La suplementación con ubiquinol a corto plazo indujo un aumento de leptina, hormona involucrada, junto a la OC, en el vínculo fisiológico entre el recambio óseo y metabolismo energético. La Leptina actúa a través de una vía periférica directa con estimulación de la formación ósea, diferenciación de osteoblastos, inhibición de la apoptosis, aumento de la mineralización e inducción de la expresión de OPG. Además, tiene un efecto claro sobre la insulina, aumentando la biodisponibilidad de glucosa y ácidos grasos, un efecto que se ve reforzado por el aumento de adrenalina y noradrenalina. Siendo por lo tanto este resultado de gran interés, tanto en lo relacionado con el rendimiento y capacidad muscular como con el turnover óseo.

#### SEXTA

Los resultados obtenidos en esta investigación han registrado un aumento en la concentración plasmática de PGC-1 $\alpha$  asociado al ejercicio, así como un aumento adicional tras la suplementación con ubiquinol a corto plazo. Este resultado muestra un claro efecto del ubiquinol sobre la funcionalidad muscular y el metabolismo energético, al ser esta molécula un factor importante involucrado en la regulación de adipogénesis, metabolismo de los lípidos, sensibilidad a la insulina e inflamación. Además, en el músculo esquelético, también regula la regeneración de fibras musculares (favoreciendo el intercambio de fibras glucolíticas a fibras oxidativas), transporte de glucosa, utilización de lípidos y biogénesis mitocondrial.

Además, La PGC-1 $\alpha$  mejora el recambio óseo, debido a su efecto sobre el estrés oxidativo y la inflamación.

## GENERAL

Este es el primer estudio que muestra los efectos beneficiosos del ubiquinol sobre el metabolismo óseo y energético durante el ejercicio extenuante, los cuales podrían tener un alto interés en el rendimiento físico y la recuperación muscular durante el ejercicio (especialmente de alta intensidad). La suplementación con ubiquinol a corto plazo modula el turnover óseo (especialmente la formación de hueso) y bloquea algunos efectos perjudiciales específicos, mejorando así el metabolismo óseo durante el ejercicio extenuante. Adicionalmente a los efectos óseos, el ubiquinol aumentó la OC, el PGC-1 $\alpha$ , la insulina, la leptina y la noradrenalina (que pueden ejercer efectos positivos sobre el cambio de fibras musculares esqueléticas), el transporte de glucosa y la utilización de lípidos en el músculo esquelético, la biogénesis mitocondrial así como la fusión, reposición y recuperación de glucógeno muscular, representando una ventaja ergogénica y fisiológica para el músculo esquelético.

## **BLOQUE VII.**

# **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---

1. Abbasi, A., Hauth, M., Walter, M., Hudemann, J., Wank, V., Niess, A.M. & Northoff, H. (2014). Exhaustive exercise modifies different gene expression profiles and pathways in LPS-stimulated and un-stimulated whole blood cultures. *Brain, Behavior, and Immunity* 39:130–41. DOI: 10.1016/j.bbi.2013.10.023.
2. Aboodarda, S.J., George, J., A.H., & Thompson, M. (2011). Muscle strength and damage following two modes of variable resistance training. *Journal of Sport Science & Medicine*. 10(4), 635-642.
3. Adams, O.P. (2013) The impact of brief high-intensity exercise on blood glucose levels. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*. 6:113-22. DOI: 10.2147/DMSO.S29222.
4. Agerbaek, M.O., Eriksen, E.F., Kragstrup, J., Mosekilde, L & Melsen, F. (1991) A reconstruction of the remodelling cycle in normal human cortical iliac bone. *Bone and mineral*. 12(2): 101-12. DOI: 10.1016/0169-6009(91)90039-3.
5. Aitken, S.J., Landao-Bassonga, E., Ralston, S.H. & Idris, A.I. (2009). Beta2-adrenoreceptor ligands regulate osteoclast differentiation in vitro by direct and indirect mechanisms. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 482(1-2):96-103. DOI: 10.1016/j.abb.2008.11.012.
6. Alf, D., Schmidt, M.E. & Siebrecht, S.C. (2013) Ubiquinol supplementation enhances peak power production in trained athletes: a double-blind, placebo controlled study. *Journal of The International Society Of Sports Nutrition* 10:24. DOI: 10.1186/1550-2783-10-24.
7. Almeida, M., Han, L., Martín-Millán, M., Plotkin, L.I., Stewart, S.A., Roberson, P.K., Koustein, S., O'Brien, C., Bellido, T., Parfitt, A.M., Weinstein, R.S., Jilka, R.L. & Manolagas, S.C. (2007). Skeletal involution by age-associated oxidative stress and its acceleration by loss of sex steroids. *The Journal of Biological Chemistry* 282(37):27285-97. DOI: 10.1074/jbc.M702810200.
8. Amin, M. M., Asaad, G. F., Abdel Salam, R. M., El-Abhar, H. S., & Arbid, M. S. (2014). Novel CoQ10 antidiabetic mechanisms underlie its positive effect: modulation of insulin and adiponectine receptors, Tyrosine kinase, PI3K, glucose transporters, sRAGE and visfatin in insulin resistant/diabetic rats. *PloS one*, 9(2), e89169. DOI: 10.1371/journal.pone.0089169.
9. Al-Nawaiseh, A. M., Pritchett, R.C. & Bishop, P.A. (2016). Enhancing Short-Term Recovery After High-Intensity Anaerobic Exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*. 30(2): 320-5. DOI: 10.1519/JSC.0000000000001060.
10. Alp, A. (2016). Bone-specific alkaline phosphatase and exercise. *Biomarkers in Bone Disease*. 1-19. DOI: 10.1007/978-94-007-7745-3\_22-1.

11. Amrein, K., Amrein, S., Drexler, C., Dimai, H.P., Dobing, H., Pfeifer, K., Tomaschitz, A., Pieber, T.R. & Fahrleitner-Pammer, A. (2011) Sclerostin and Its Association with Physical Activity, Age, Gender, Body Composition, and Bone Mineral Content in Healthy Adults. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 97(1):148–154. DOI: 10.1210/jc.2011-2152.
12. Anderson, H.C. (2003). Matrix vesicles and calcification. *Current Rheumatology Reports* 5(3)222–6. DOI: 10.1007/s11926-003-0071-z.
13. Andersson, D.D., Hillberry, B.M., Teegarden, D., Proulx, W.R., Weaver, C.M., & Yoshikawa, T. (1996) Biomechanical analysis of an exercise program for forces and stresses in the hip joint and femoral neck. *Journal of Applied Biomechanics* 12(3):292–312. DOI: 10.1123/jab.12.3.292.
14. Aniceto, R. R., Ritti-Dias, R. M., dos Prazeres, T. M. P., Farah, B. Q., de Lima, F. F. M., & do Prado, W. L. (2015). Rating of Perceived Exertion During Circuit Weight Training: A Concurrent Validation Study. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 29(12):3336-42. DOI: 10.1519/JSC.0000000000000998.
15. Ashton, R.E., Tew, G.A., Aning, J.J., Gilbert, S.E., Lewis, L. & Saxton, J.M. (2017). Effects of short-term, medium-term and long-term resistance exercise training on cardiometabolic health outcomes in adults: systematic review with meta-analysis. *British Journal of Sport Medicine*. 54(6):341-348. DOI: 10.1136/bjsports-2017-098970.
16. Atkins, G.J., Rowe, P.S., Lim, H.P., Welldom, K.J., Ormsby, R., Wijenayaka, A.S., Zelenchuk, L., Evodokiou, A. & Findlay, D.M. (2011). Sclerostin is a locally acting regulator of late-osteoblast/preosteocyte differentiation and regulates mineralization through a MEPE-ASARM-dependent mechanism†. *Journal of Bone and Mineral Research*. 26(7):1425-36. DOI: 10.1002/jbmr.345.
17. Auwerx, J. & Staels, B. (1998). Leptin. *Lancet*. 351(9104):737-42. DOI: 10.1016/S0140-6736(97)06348-4.
18. Baek, K. & Bloomfield, S.A. (2009) Beta-adrenergic blockade and leptin replacement effectively mitigate disuse bone loss. *Journal of Bone and Mineral Research: the Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 24:792–799. DOI: 10.1359/jbmr.081241.
19. Bai, X.C., Lu, D., Liu, A.L., Zhang, Z-m., Li, X-m., Zou, Z-p., Zeng, W-s., Cheng, B-l. & Luo, S-q. (2005). Reactive oxygen species stimulates receptor activator of NF-kappaB ligand expression in osteoblast. *The Journal of Biological Chemistry* 280(17):17497–506. DOI: 10.1074/jbc.M409332200.
20. Bakker, A.D., Klein-Nulend, J., Tanck, E., Heyligers, I.C., Albers, G.H., Lips, P. & Burger, E.H. (2006). Different responsiveness to mechanical stress of bone cells from osteoporotic versus osteoarthritic donors. *Osteoporosis International* 17(6):827–833. DOI: 10.1007/s00198-006-0072-7.



21. Bakker, A.D., Kulkarni, R.N., Klein-Nulend, J. & Lems, W.F. (2014) IL-6 alters osteocyte signaling toward osteoblasts but not osteoclasts. *Journal of Dental Research* 93(4):394–399. DOI: 10.1177/0022034514522485.
22. Banfi, G., Iorio, E.L. & Corsi, M.M. (2008). Oxidative stress, free radicals and bone remodeling. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 46(11):1550–5. DOI: 10.1515/CCLM.2008.302.
23. Banfi, G., Lombardi, G., Colombini, A. & Lippi, G. (2010). Bone metabolism markers in sport medicine. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*. 40(8):97-714. DOI: 10.2165/11533090-000000000-00000.
24. Bao, X., Lu, C.M., Liu, F., Gu, Y., Dalton, N.D., Zhu, B.Q., Foster, E., Chen, J., Karliner, J.S., Ross J., Simpson, P.C., Ziegler, M.G. (2007). Epinephrine is required for normal cardiovascular responses to stress in the phenylethanolamine N-methyltransferase knockout mouse. *Circulation* 116(9):1024-31. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.696005.
25. Baron, R. & Kneissel, M. (2013). WNT Signaling in Bone Homeostasis and Disease: From Human Mutations to Treatments. *Nature Medicine*. 19(2):179-92. DOI: 10.1038/nm.3074.
26. Barry, D.W., Hansen, K.C., van Pelt, R.E., Witten, M., Wolfe, P. & Kohrt, W.M. (2011). Acute calcium ingestion attenuates exercise-induced disruption of calcium homeostasis. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 43(4):617-23. DOI: 10.1249/MSS.0b013e3181f79fa8.
27. Beckman, K.B. & Ames, B.N. (1998). The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews* 78(2):547–581. DOI: 10.1152/physrev.1998.78.2.547.
28. Bellido, T., Saini, V. & Pajevic, P.D. (2012). Effects of PTH on osteocyte function. *Bone*. 54(2): 250–7. DOI: 10.1016/j.bone.2012.09.016.
29. Bellido, T., Saini, V. & Pajevic, P.D. (2013). Effects of PTH on osteocyte function. *Bone* 2013, 54:250-257. DOI: 10.1016/j.bone.2012.09.016.
30. Bennell, K.L., Malcolm, S.A., Brukner, P.D., Green, R.M., Hopper, J.L., Wark, J.D., & Ebeling, P.R. (1998) A 12-month prospective study of the relationship between stress fractures and bone turnover in athletes. *Calcified Tissue International* 63(1):80–5. DOI: 10.1007/s002239900493.
31. Bergman, G., Graichen, F. & Rohlman, A. (1993) Hip joint loading during walking and running, measured in two patients. *Journal of Biomechanics* 26(8):969–90. DOI: 10.1016/0021-9290(93)90058-m.

32. Bergström, I., Parini, P., Gustafsson, S.A., Andersson, G. & Jonas Brinck J. (2011). Physical training increases osteoprotegerin in postmenopausal women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*. 30(2):202-7. DOI: 10.1007/s00774-011-0304-6.
33. Berkner, K.L. (2005). The vitamin K-dependent carboxylase. *Annual Review of Nutrition*. 25:127-49. DOI: 10.1146/annurev.nutr.25.050304.092713.
34. Berthold, H.K., Naini, A., Di, Mauro, S., Hallikainen, M., Gylling, H., Krone, W., Gouni-Berthold, I. (2006). Effect of ezetimibe and/or simvastatin on coenzyme Q10 levels in plasma: a randomised trial. *Drug Safety* 29(8):703-12. DOI: 10.2165/00002018-200629080-00007.
35. Bettis, T., Kim, B-J. & Hamrick, M.W. (2018). Impact of Muscle Atrophy on Bone Metabolism and Bone Strength: Implications for Muscle-Bone Crosstalk With Aging and Disuse. *Osteoporosis International*. 29(8):1713-1720. DOI: 10.1007/s00198-018-4570-1.
36. Bhagavan, H. & Chopra, R. K. (2006). Coenzyme Q10: Absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research* 40(5): 445–53. DOI: 10.1080/10715760600617843.
37. Bialek, P., Kern, B., Yang, X., Schrock, M., Sosic, D., Hong, N., Wu, H., Yu, K., Ornitz, D.M., Olson, E.N., Justice, M.J. & Karsenty, G. (2004). A Twist Code Determines the Onset of Osteoblast Differentiation. *Developmental Cell*. 6(3): 423-435. DOI: 10.1016/S1534-5807(04)00058-9.
38. Bird, S. P., Tarpenning, K. M., & Marino, F. E. (2005). Designing resistance training programmes to enhance muscular fitness: a review of the acute programme variables. *Sports Medicine* (Auckland, N.Z.), 35(10): 841–851. DOI: 10.2165/00007256-200535100-00002.
39. Blair, S.N., Kohl, H.W., Gordon, N.F. & Paffenbarguer Jr., R.S. (1992) How much physical activity is good for health? *Annual Review of Public Health*. 13:99-126. DOI: 10.1146/annurev.pu.13.050192.000531.
40. Boivin, G. & Meunier, P.J. (2002). The degree of mineralization of bone tissue measured by computerized quantitative contact microradiography. *Calcified Tissue International* 70(6):503-11. DOI: 10.1007/s00223-001-2048-0.
41. Bonetti, A., Solito, F., Carosino, G., Bargossi, A.M. & Fiorella, P.L. (2000) Effect of ubidecarenone oral treatment on aerobic power in middle-aged trained subjects. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. 40(1):51-57.
42. Bonewald, L.F. (2011) The amazing osteocyte. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 26(2) 229-38. DOI: 10.1002/jbmr.320.

43. Bouassida, A., Chamari, K., Zaouali, M., Feki, Y., Zbidi, A., & Tabka, Z. (2010). Review on leptin and adiponectin responses and adaptations to acute and chronic exercise. *British Journal of Sports Medicine* 44(9): 620–630. DOI:10.1136/bjism.2008.046151.
44. Bouassida, A., Chatard, J.-L., Chamari, K., Zaouali, M., Feki, Y., Gharbi, N., Zbidi, A. & Tabka, Z. (2009). Effect of energy expenditure and training status on leptin response to sub-maximal cycling. *Journal of Sports Science & Medicine* 8(2):190-6. eCollection 2009.
45. Bouassida, A., Latiri, I., Bouassida, S., Zalleg, D., Zaouali, M., Feki, Y., Gharbi, N., Zbidi, A., & Tabka, Z. (2006) Parathyroid hormone and physical exercise: a brief review. *Journal of Sports Science and Medicine* 5(3):367– 374.
46. Boyce, B. & Xing, L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Research & Therapy*. 9(1):S1. DOI: 10.1186/ar2165.
47. Boyce, B.F. & Xing, L. (2008). Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modelling and remodelling. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 473(2):139-146 DOI: 10.1016/j.abb.2008.03.018.
48. Boyce, B.F., Hughes, D.E., Wright, K.R., Xing, L. & Dai, A. (1999). Recent advances in bone biology provide insight into the pathogenesis of bone diseases. *Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology* 79(2):83-94. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2020.107473.
49. Brahm, H., Piehl-Aulin, K. & Ljunghall, S. (1997) Bone metabolism during exercise and recovery: the influence of plasma volume and physical fitness. *Calcified Tissue International* 61(3): 192-8. DOI: 10.1007/s002239900322.
50. Braun, B., Clarkson, P.M., Freedson, P.S. & Kohl, R.L. (1991). Effects of coenzyme Q10 supplementation and exercise performance, VO<sub>2</sub> max, and lipid peroxidation in trained subjects. *International Journal of Sport Nutrition* 1(4):353–65. DOI: 10.1123/ijns.1.4.353.
51. Bucay, N., Sarosi, I., Dunstan, C.R., Morony, S., Tarpley, J., Capparelli, C., Scully, S., Tan, H.L., Xu, W., Lacey, D.L., Boyle, W.J. & Simonet, W.S. (1998). Osteoprotegerin-Deficient Mice Develop Early Onset Osteoporosis and Arterial Calcification. *Genes & Development*. 12(9):1260-8. DOI: 10.1101/gad.12.9.1260.
52. Caidahl, K., Ueland. T. & Aukrust, P. (2010) Osteoprotegerin: A biomarker with many faces. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 30(9):1684- 6. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.208843.
53. Camacho, R. C., Galassetti, P., Davis, S. N., & Wasserman, D. H. (2005). Glucoregulation during and after exercise in health and insulin-dependent diabetes. *Exercise and sport sciences reviews*, 33(1), 17–23.

54. Capulli, M., Paone, R. & Rucci, N. (2014). Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 561(1):3-12. DOI: 10.1016/j.abb.2014.05.003.
55. Cardoso, L., Herman, B.C., Verborgt, O., Laudier, D., Majeska, R.J. & Schaffler, M.B. (2009) Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue. *Journal of Bone and Mineral Research* 24(4):597–605. DOI: 10.1359/jbmr.081210.
56. Casarin, A., Jimenez-Ortega, J.C., Trevisson, E., Pertegato, V., Doimo, M., Ferrero-Gomez, M.L., Abbadì, S., Artuch, R., Quinzi, C., Hirano, M., Basso, G., Ocaña, C.S., Navas, P. & Salviati, L. (2015). Functional characterization of human COQ4, a gene required for Coenzyme Q10 biosynthesis. *Biomechanical and Biophysical Research Communications*. 372(1):35-39. DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.04.172.
57. Caspersen, C.J., Powell, K.E. & Christenson, G.M. (1985). Physical Activity, Exercise, and Physical Fitness: Definitions and Distinctions for Health-Related Research. *Public Health Reports*. 100(2):126-31.
58. Chirtel, S.J., Barbee, R.W. & Stainsby, W.N. (1984) Net O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, lactate and acid exchanges by muscle during progressive working concentrations. *Journal of Applied Physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*. 56(1): 161-5. DOI: 10.1152/jappl.1984.56.1.161.
59. Clarke, B. (2008) Normal bone anatomy and physiology. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* 3:S131–9. DOI: 10.2215/CJN.04151206.
60. Coker, R.K. & Kjaer, M. (2005). Glucoregulation During Exercise : The Role of the Neuroendocrine System. *Sport Medicine* 35(7):575-83. DOI: 10.2165/00007256-200535070-00003.
61. Confavreux, C.B., Levine, R. & Karsenty, G. (2009). A paradigm of integrative physiology, the crosstalk between bone and energy metabolisms. *Molecular Cell Endocrinology*. 310(0): 21–29. DOI: 10.1016/j.mce.2009.04.004.
62. Cooke, M., Iosia, M., Buford T., Shelmadine, B., Hudson, G., Kerksick, C., Rasmussen, C., Greenwood, M., Leutholtz, B., Darryn, Willoughby, D. & Kreider, R. (2008). Effects of acute and 14-day coenzyme Q10 supplementation on exercise performance in both trained and untrained individuals. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 5:8. DOI: 10.1186/1550-2783-5-8.
63. Cooper, M.S. (2008). 11beta-Hydroxysteroid dehydrogenase: a regulator of glucocorticoid response in osteoporosis. *Journal of Endocrinological Investigation*. 31(7 Suppl): 16–21.

64. Cosman, F., Nieves, J., Zion, M., Woelfert, L., Luckey, M. & Lindsay, R. (2005). Daily and cyclic parathyroid hormone in women receiving alendronate. *The New England Journal of Medicine*. 11:353(6):566-75. DOI: 10.1056/NEJMoa050157.
65. Cousineau, D., Ferguson, R.J., Champlain, J., Cote, P. & M Bourassa. (1977). Chatecolamines in coronary sinus during exercise in man before and after training. *Journal of Applied physiology, environment and exercise physiology* 43(5):801-6. DOI: 10.1152/jappl.1977.43.5.801.
66. E.F., Coyle. (1995). Substrate Utilization During Exercise in Active People. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 61(4 Suppl):968S-979S. DOI: 10.1093/ajcn/61.4.968S.
67. Creighton, D., Morgan, A.L., Boardley, D. & Brolinson, G. (2000) Weight-bearing exercise and markers of bone turnover in female athletes. *Journal of Applied Physiology* 90(2): 565–70. DOI: 10.1152/jappl.2001.90.2.565.
68. Cunha, J. S., Ferreira, V.M., Maquigussa, E., Naves, M.A. & Boim M.A. (2014). Effects of high glucose and high insulin concentrations on osteoblast function in vitro. *Cell and Tissue Resarch*. 358, 249–256. DOI: 10.1007/s00441-014-1913-x.
69. Currey, J.D. (2003). The many adaptations of bone. *Journal of Biomechanics* 30(10): 1487–95. DOI: 10.1016/s0021-9290(03)00124-6.
70. Dallas, S.L., Prideaux, M. & Bonewald, L.Y. (2013). The osteocyte: an endocrine cell and more. *Endocrine Reviews* 34(5):658–690. DOI: 10.1210/er.2012-1026.
71. Davidson, G. & Gleeson, M. (2005) Influence of Acute Vitamin C and/or Carbohydrate Ingestion on Hormonal, Cytokine, and Immune Responses to Prolonged Exercise. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 15(5): 465-79. DOI: 10.1123/ijsnem.15.5.465.
72. Davis, J.M., Murphy, E.A., Carmichael, M.D., Zielinski, M.R., Groschwitz, C.M., Brown, A.S., Gangemi, J.D., Ghaffar, A. & Mayer, E.P. (2007). Curcumin effects on inflammation and performance recovery following eccentric exercise-induced muscle damage. *American Journal of Physiology. Regulatory Integrative and Comparative Physiology*. 292(6):R2168-73. DOI: 10.1152/ajpregu.00858. 2006.
73. Dekker, J., Nelson, K., Kurgan, N., Falk, B., Josse, A. & Klentrou, P. (2017). Wnt Signaling–Related Osteokines and Transforming Growth Factors Before and After a Single Bout of Plyometric Exercise in Child and Adolescent Females. *Pediatric Exercise Science*. 29(4):1-29. DOI: 10.1123/pes.2017-0042.
74. de L. Lins-Filho, O., Robertson, R. J., Farah, B. Q., Rodrigues, S. L. C., Cyrino, E. S., & Ritti-Dias, R. M. (2012). Effects of Exercise Intensity on Rating of Perceived Exertion During a Multiple-Set Resistance Exercise Session. *The Journal of Strength & Conditioning Research*. 26(2):466-72. DOI: 10.1519/JSC.0b013e31822602fa.

75. Delaissé, J.M., Andersen, T.L., Engsig, M.T., Henriksen, K., Troen, T. & Blavier L. (2003). Matrix metalloproteinases (MMP) and cathepsin K contribute differently to osteoclastic activities. *Microscopy Research and Technique* 61(6): 504-13. DOI: 10.1002/jemt.10374.
76. Delaissé, J.M., Engsig, M.T., Everts, V., del Carmen Ovejero, M., Ferreras, M., Lund, L., Vu, TH, Werb, Z., Winding, B., Lochter, A., Karsdal, M.A., Troen, T., Kirkegaard, T., Lenhard, T., Heegaard, A.M., Neff, L., Baron, R. & Foged, N.T. (2000) Proteinases in bone resorption: obvious and less obvious roles. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*. 291(2):223–34. DOI: 10.1016/s0009-8981(99)00230-2.
77. Delgado-Calle, J., Sato, A.Y. & Bellido, T. (2017) Role and mechanism of action of sclerostin in bone. *Bone* 96:29–37. DOI: 10.1016/j.bone.2016.10.007.
78. Dempsey, J.A., Blain, G.M., & Amann, M. (2014). Are type III-IV muscle afferents required for a normal steady-state exercise hyperpnoea in humans? *The Journal Physiology*. 592(3): 463–74. DOI: 10.1113/jphysiol.2013.261925
79. Denhardt, DT. & Noda, M. (1998) Osteopontin expression and function: Role in bone remodeling. *Journal of Cellular Biochemistry*. 30–31(S30-31):92–102. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4644(1998)72:30/31+<92::AID-JCB13>3.0.CO;2-A.
80. Deschenes, M.R., Maresh, C.M., Armstrong, L.E., Covault, J., Kraemer, W.J. & Crivello, J.F. (1994). Endurance and resistance exercise induce muscle fiber type specific responses in androgen binding capacity. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 50(3-4):175-9. DOI: 10.1016/0960-0760(94)90026-4.
81. Desgorces, F.D., Chennaoui, M., Gomez-Merino, D., Drogou, C. and Guezennec, C.Y. (2004). Leptin response to acute prolonged exercise after training in rowers. *European Journal of Applied Physiology* 91(5-6), 677-681. DOI: 10.1007/s00421-003-1030-0.
82. Díaz-Castro, J., Guisado, R., Kajarabille, N., García, C., Guisado, I.M., de Teresa, C. & Ochoa, J.J. (2012). Coenzyme Q10 supplementation ameliorates inflammatory signaling and oxidative stress associated with strenuous exercise. *European Journal of Nutrition* 51(7):791-799. DOI: 10.1007/s00394-011-0257-5.
83. Díaz-Castro, J., Kajarabille, N., Pulido Morán, M., Moreno-Fernández, J., Hijano, S. & Ochoa, J.J. (2015). Coenzyme Q10 and ubiquinol. Effects on oxidative stress and inflammation associated with strenuous exercise. In: Coenzyme Q10: From Fact to Fiction. Editor: Iain P. Hargreaves. © 2015 Nova Science Publishers, Inc. 323-335.
84. Díaz-Castro., J., Mira-Rufino, P.J., Moreno-Fernández, J., Chiroso, I., Chiroso, L., Guisado, R. & Ochoa, J. (2020). Ubiquinol supplementation modulates energy metabolism and bone turnover during high intensity exercise. *Food & Function*. DOI: 10.1039/D0FO01147A.

85. DiPietro, L., Dziura, J., Yeckel, C.W. & Neufer, P.D. (2006). Exercise and improved insulin sensitivity in older women: evidence of the enduring benefits of higher intensity training. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* DOI: 10.1152/jappphysiol.00474.2005.
86. Dook, J., James C., Henderson, N, & Price, R. (1997). Exercise and bone mineral density in mature female athletes. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 29(3): 291–6. DOI: 10.1097/00005768-199703000-00002.
87. Douglas, P.S., O’Toole, M.L., Hiller, W.D., Hackney, K. & Reicher, N. (1987) Cardiac fatigue after prolonged exercise. *Circulation*. 76(6):1206-13. DOI: 10.1161/01.cir.76.6.1206.
88. Ducy, P. Desbois, C., Boyce, B., Pinero, G., Story, B., Dunstan, C., Smith, E., Bonadio, J., Goldstein, 1 S., Gundberg, C., Bradley, A. & Karsenty G. (1996) Increased bone formation in osteocalcin-deficient 2 mice. *Nature* 382, 448–452. DOI: /10.1038/382448a0.
89. Ducy, P., Amling, M., Takeda, S., Priemel, M., Schilling, A.F., Beil, F.T., Shen. J., Vinson, C., Rueger, J.M. & Karsenty G. (2000). Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*. 100:197–207. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)81558-5.
90. Ducy, R., Zhang, R., Geoffroy, V., Ridall, A.L. & Karsenty, G. (1997). *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 89(5):747–54. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80257-3.
91. Duong, L.T., Lakkakorpi, P., Nakamura, I. & Rodan, G. (2000). Integrins and signalling in osteoclast function. *Matrix Biology* 19(2):97-105. DOI: 10.1016/S0945-053X(00)00051-2.
92. Echtay, K.S, Winkler, E. & Klingenberg, M. (2000). Cytochrome c is an obligatory cofactor for uncoupling protein function. *Nature*. 408(6812):609-13. DOI: 10.1038/35046114.
93. Eijssvogels, T.M., Molossi, S., Lee, D.C., Emery, M.S. & Thompson, P.D. (2016). Exercise at the extremes the amount of exercise to reduce cardiovascular events. *Journal of the American College of Cardiology*. 67(3):316-29. DOI: 10.1016/j.jacc.2015.11.034.
94. Eleftheriou, F., Ahn, J.D., Takeda, S., Starbuck, M., Yang, X., Liu, X., Kondo, H., Richards, W.G., Bannon, T.W., Noda, M., Clement, K., Vaisse, C. & Karsenty, G. (2005). Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART. *Nature*. 434 (7032):514–20. DOI: 10.1038/nature03398.
95. Eliakim, A., Raisz, L.G., Brasel, J.A. & Cooper, D.M. (1997). Evidence for increased bone formation following a brief endurance-type training intervention in adolescent males.

*Journal of Bone and Mineral Research* 12(10): 1708-13. DOI: 10.1359/jbmr.1997.12.10.1708.

96. Ellison, G.M., Waring, C.D., Vicinanza, C., & Torella, D. (2012). Physiological cardiac remodelling in response to endurance exercise training: cellular and molecular mechanisms. *Heart (British Cardiac Society)*. 98(1): 5–10. DOI: 10.1136/heartjnl-2011-300639.
97. Emami A. (2020). The Impact of Pre-Cooling and CoQ<sub>10</sub> Supplementation on Mediators of Inflammatory Cytokines in Elite Swimmers. *Nutrition and cancer*, 72(1), 41–51. DOI: 10.1080/01635581.2019.1614200.
98. Epstein, S. (1988). Serum and urinary markers of bone remodeling: assessment of bone turnover. *Endocrine Reviews* 9(4): 437-49. DOI: 10.1210/edrv-9-4-437.
99. Eriksen, E.F., Axelrod D.W., Melsen, F. (1994). Bone Histomorphometry, New York, Raven Press, 1994, pp 1–12.
100. Eriksen, E.F., Melsen, F. & Mosekilde, L. (1984) Reconstruction of the resorptive site in iliac trabecular bone: a kinetic model for bone resorption in 20 normal individuals. *Metabolic bone disease & related research* 5(5): 235-42. DOI: 10.1016/0221-8747(84)90065-1.
101. Eriksen, F. (2010) Cellular mechanisms of bone remodeling. *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*. 11(4):219–227. DOI: 10.1007/s11154-010-9153-1.
102. Eriksson, J.G., Forsén, T.J., Mortensen, S.A. & Rohde, M. (1999). The effect of coenzyme Q10 administration on metabolic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *Biofactors*. 9(2-4): 315-8. DOI: 10.1002/biof.5520090229.
103. Ernster, L. & Dallner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et biophysica acta*. 1271(1): 195-204. DOI: 10.1016/0925-4439(95)00028-3.
104. Esparza-Guerrero, Y., Nava-Valdivia, C.A., Saldaña-Cruz, A.M., Vásquez-Jiménez, J.C., Farias-Cuevas, K.P., Enríquez-Luna, A., Gómez-Nava, J.I., González-López, L. & Corona-Sánchez, E.G. (2016) El sistema RANK/RANKL/OPG y sus implicaciones clínicas en la osteoporosis. *El Residente*. 11(3):99-104.
105. Evans, R.K., Negus, C.H., Centi, A.J., Spiering, B.A., Kraemer, W.J. & Nindl, B.C. (2012). Peripheral QCT sector analysis reveals early exercise-induced increases in tibial bone mineral density. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions*. 12(3):155–64.



106. Everts, V., Delaissé, J.M., Korper, W., Jansen, D.C., Tigchelaar-Gutter, W., Saftig, P. & Beertsen, W. (2002). The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation," *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone Mineral Research*. 17(1):77–90. DOI: 10.1359/jbmr.2002.17.1.77.
107. Fehling, P.C., Alekel, L., Clasey, J. & Stillman, R.J. (1995). A comparison of bone mineral densities among female athletes in impact loading and active loading sports. *Bone* 17(3):205-10. DOI: 10.1016/8756-3282(95)00171-9.
108. Ferdinand, R., Yang, J.R., Olson, T.P., Joyner, M.J., Takahashi, P.Y. & Veldhuis, J.D. (2017). Enhanced Coupling Within Gonadotropic and Adrenocorticotrophic Axes by Moderate Exercise in Healthy Men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 102(7): 2482-2490. DOI: 10.1210/jc.2017-00036.
109. Fernández-Real, J.M., Izquierdo, M., Ortega, F., Gosortiaga, E., Gómez-Ambrosi, J., Moreno-Navarrete, J.M., Frühbeck, G., Martínez, C., Idoate, F., Salvador, J., Forga, L., Ricart, W. & Ibáñez, J. (2009). The relationship of serum osteocalcin concentration to insulin secretion, sensitivity, and disposal with hypocaloric diet and resistance training. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 94(1):237-45. DOI: 10.1210/jc.2008-0270.
110. Ferron, M., Hinoi, E., Karsenty, G. & Ducy, P. (2008). Osteocalcin differentially regulates  $\beta$ -cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States in America*. 105(13):5266-70. DOI: 10.1073/pnas.0711119105.
111. Ferron, M. & Lacombe, J. (2014). Regulation of energy metabolism by the skeleton: osteocalcin and beyond. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 561:137-46. DOI: 10.1016/j.abb.2014.05.022.
112. Ferron, M., McKee, M., Lavine, R., Ducy, P. & Karsenty, G. (2012). Intermittent injections of osteocalcin improve glucose metabolism and prevent type 2 diabetes in mice. *Bone* 50(2):568-75. DOI: 10.1016/j.bone.2011.04.017.
113. Ferron, M., Wei, J., Yoshizawa, T., De Fattore, A., DePinho, R.A., Teti, A., Ducy, P. & Karsenty, G. (2010). Insulin Signaling in Osteoblasts Integrates Bone Remodeling and Energy Metabolism. *Cell*. 142(2): 296-308. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.003.
114. Filaire, E. & Toumi, H. (2012). Reactive oxygen species and exercise on bone metabolism: friend or enemy? *Joint Bone Spine*. 79(4): 341-6. DOI: 10.1016/j.jbspin.2012.03.007.
115. Finaud, J., Lac, G. & Filaire, E. (2006). Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Medicine* 36(4):327–58. DOI: 10.2165/00007256-200636040-00004.

116. Finck, B. N., & Kelly, D. P. (2006). PGC-1 coactivators: inducible regulators of energy metabolism in health and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 116(3), 615–622. DOI: 10.1172/JCI27794.
117. Fisher-Wellman, K. & Bloomer, R.J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30-year review. *Dynamic Medicine* 8:1. DOI: 10.1186/1476-5918-8-1.
118. Florencio-Silva, R., da Silva Sasso, G-R., Sasso-Cerri, E., Simoes, M.J. & Cerri, P.S. (2015). Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells. *BioMed Research International*. 2015:421746. DOI: 10.1155/2015/421746.
119. Folkers, K., S. Vadhanavikit & S.A. Mortensen (1985). Biochemical rationale and myocardial tissue data on the effective therapy of cardiomyopathy with coenzyme Q10. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 82(3):901-4. DOI: 10.1073/pnas.82.3.901.
120. Frankenhaeuser, M. (1991). The psychophysiology of workload, stress, and health: Comparison between the sexes. *Annals of Behavioral Medicine* 13(4), 197–204. DOI: 10.1093/abm/13.4.197.
121. Friedman, B. & Kindermann, W. (1989). Energy metabolism and regulatory hormones in women and men during endurance exercise. *European Journal of Applied and Occupational Physiology* 59(1-2):1-9. DOI: 10.1007/BF02396572.
122. Frenette, J., & Côté, C. H. (2000). Modulation of structural protein content of the myotendinous junction following eccentric contractions. *International Journal of Sports Medicine*, 21(5), 313–320. DOI: 10.1055/s-2000-3774.
123. Frost, H.M. (2003). Bone's mechanostat: a 2003 update. *The Anatomical Record* 275(2):1081-101. DOI: 10.1002/ar.a.10119.
124. Frost, HM. (1990) Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodelling problem. *The Anatomical record*. 1990; 226: 414-22. DOI: 10.1002/ar.1092260403.
125. Fuchs, R.K., Allen, M.R., Ruppel, M.E., Diab, T., Phipps, R.J., Miller, L.M. & Burr, D.B. (2008). In situ examination of the time-course for secondary mineralization of Haversian bone using synchrotron Fourier transform infrared microspectroscopy. *Matrix Biology: Journal of the International Society for Matrix Biology* 27(1):34–41. DOI: 10.1016/j.matbio.2007.07.006.
126. Fuller, K., Lean, J.M., Bayley, K.E., Wani, M.R. & Chambers, T.J. (2000). A role for TGF- $\beta$  in osteoclast differentiation and survival. *Journal of Cell Science* 113 (Pt 13):2445–53.

127. Fulzele, K., DiGirolamo, D.J., Liu, Z., Xu, J., Messina, J.L. & Clemens, T.L. (2007). Disruption of the insulin-like growth factor type 1 receptor in osteoblasts enhances insulin signaling and action. *The Journal of Biological Chemistry*. 282(35):25649-25658 DOI: 10.1074/jbc.m700651200.
128. Fulzele, K., Riddle, R.C., DiGirolamo, D.J., Cao, X., Wan, C., Chen, D., Faugere, M.C., Aja, S., Hussain, M.A., Brüning, J.C. & Clements, T.L. (2010) Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. *Cell* 142(2):309–19. DOI: 10.1016/j.cell.2010.06.002
129. Galbo, H. (1983). Hormonal and metabolic adaptation to exercise, pp. 1-116, 1<sup>st</sup> edition. Stuttgart and New York: Thieme-Stratton Inc.
130. Gannagé-Yared, M.H., Fares, F., Semaan, M., Khalife, S. & Jambart, S. (2006). Circulating osteoprotegerin is correlated with lipid profile, insulin sensitivity, adiponectin and sex steroids in an ageing male population. *Clinical Endocrinology*. 64(6):652-8. DOI: 10.1111/j.1365-2265.2006.02522.x.
131. Gannagé-Yared, M.H., Yaghi, C., Habre, B., Khalife, S., Nou, R., Germanos-Haddad, M. & Trak-SMAYRA, V. (2008). Osteoprotegerin in relation to body weight, lipid parameters insulin sensitivity, adipocytokines, and C-reactive protein in obese and non-obese young individuals: results from both cross-sectional and interventional study. *European Journal of Endocrinology*. 158(3):353-9. DOI: 10.1530/EJE-07-0797.
132. Garber, C.E., Blissmer, B., Deschenes, M.R., Franklin, B.A., Lamonte, M.J., Lee, I.M., Nieman, D.C. & Swain, D.P., American College of Sports Medicine. (2011). American College of Sports Medicine position stand. Quantity and Quality of Exercise for Developing and Maintaining Cardiorespiratory, Musculoskeletal, and Neuromotor Fitness in Apparently Healthy Adults: Guidance for Prescribing Exercise. *Medicine and science in sports and exercise*. 43:1334-59. DOI: 10.1249/MSS.0b013e318213fefb.
133. García-Martín, A., Reyes-García, R., Ávila-Rubio, V. & Muñoz-Torres, M. (2013). Osteocalcin: A link between bone homeostasis and energy metabolism. *Endocrinología y Nutrición: Órgano de la Sociedad Española de Endocrinología y Nutrición* 60(5):260-3. DOI: 10.1016/j.endonu.2012.06.008.
134. García-Sáinz, J.A. (1995). Adrenaline and its receptors: one hundred years of research. *Archives of Medical Research* 26(3):205-12.
135. Gardinier, J.D., Al-Omaishi, S., Morris, M.D. & Kohn, D.H. (2016). PTH signaling mediates perilacunar remodeling during exercise. *Matrix Biology*. 52-54:162-175. DOI: 10.1016/j.matbio.2016.02.010.
136. Gatti, R. & De Palo, E.F. (2011). An update: salivary hormones and physical exercise. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 21(2):157-169 DOI: 10.1111/j.1600-0838.2010.01252.x.

137. Gaur, T., Lengner, C.J., Hovhannisyan, H., Bhat, R.A., Bodine, P.V.N., Komm, B.S, Javed, A., van Wijnen, A.J., Stein, J.L., Stein, G.S. & Lian, J.B. (2005). Canonical WNT Signaling Promotes Osteogenesis by Directly Stimulating Runx2 Gene Expression. *The Journal of Biology Chemistry*. 280(39):33132-40. DOI: 10.1074/jbc.M500608200.
138. Giudici, K.V., Kindler, J.M., Martin, B.R., Laing, E.M., McCabe, G.P., Hausman, D.B., Martini, L.A., Lewis, R.D., Weaver, C.M., Peacock, M. & Gallant, K.M.H. (2017). Associations Among Osteocalcin, Leptin and Metabolic Health in Children Ages 9-13 Years in the United States. *Nutrition & Metabolism*. 14:25. DOI: 10.1186/s12986-017-0171-9.
139. Glover, E.I., Martin, J., Maher, A, Thornhill, R.E., Moran, G.R. & Tarnopolsky, M.A. (2010). A randomized trial of coenzyme Q10 in mitochondrial disorders. *Muscle Nerve* 42(5): 739-48. DOI: 10.1002/mus.21758.
140. Gökbel, H., Gül, I., Belviranl, M. & Okudan N. (2010). The effects of coenzyme Q10 supplementation on performance during repeated bouts of supramaximal exercise in sedentary men. *Journal of Strength and Conditioning Research* 24(1):97-102. DOI: 10.1519/JSC.0b013e3181a61a50.
141. Goldring, S.R. (2015) The osteocyte: key player in regulating bone turnover. *RMD open*. 2015; 1. DOI: 10.1136/rmdopen-2015-000049.
142. Gómez-Bruton, A., Matute-Llorente, A., González-Agüero, A., Casajús, J.A. & Vicente-Rodríguez, G. (2017). Plyometric exercise and bone health in children and adolescents: a systematic review. *World Journal of paediatrics*. 13(2):112-121. DOI: 10.1007/s12519-016-0076-0.
143. González-Alonso, J., Crandall, C.G., & Johnson, J.M. (2008). The cardiovascular challenge of exercising in the heat. *The Journal of Physiology*. 586(1), 45–53. DOI: 10.1113/jphysiol.2007.142158.
144. Greenspan, S.L., Bone, H.G., Ettinger, M.P., Hanley, D.A., Lindsay, R., Zanchetta, J.R., Blosch, C.M., Mathisen., A.L., Morris, S.A. & Marriott, T.B. (2007). Effect of recombinant human parathyroid hormone (1–84) on vertebral fracture and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis: a randomized trial. *Annals of Internal Medicine*. 146(5):326-339. DOI: 10.7326/0003-4819-146-5-200703060-00005.
145. Grigoriadis, A.E., Heersche, J.N. & Aubin, J.E. (1988). Differentiation of muscle, fat, cartilage, and bone from progenitor cells present in a bone-derived clonal cell population: effect of dexamethasone. *The Journal of Cell Biology*. 10(6): 2139–51. DOI: 10.1083/jcb.106.6.2139.
146. Guaras, A., Perales-Clemente, E., Calvo, E., Acin-Pérez, R., Loureiro-López, M., Pujol, C., Martínez-Carrasco, I., Núñez, E., García-Marqués, F., Rodríguez-Hernández, M.A., Cortés, A., Díaz, F., Pérez-Martos, A., Moraes, C.T., Fernández-Silva, P.,

- Trifunovic, A., Navas, P., Vázquez, J. & Enriquez, J.A. (2016). The CoQH<sub>2</sub>/CoQ ratio serves as a sensor of respiratory chain efficiency. *Cell Reports*. 15(1):197-209. DOI: 10.1016/j.celrep.2016.03.009.
147. Hamrick, M.W. (2017). Role of the cytokine-like hormone leptin in muscle-bone crosstalk with aging. *The Journal of Bone Metabolism* 24:1–8. DOI: 10.11005/jbm.2017.24.1.1.
148. Handschin, C., Chin, S., Li, P., Liu, F., Maratos-Flier, E., Lebrasseur, N. K., Yan, Z., & Spiegelman, B. M. (2007). Skeletal muscle fiber-type switching, exercise intolerance, and myopathy in PGC-1alpha muscle-specific knock-out animals. *The Journal of biological chemistry*, 282(41), 30014–30021. DOI: 10.1074/jbc.M704817200.
149. Handschin C. (2010). Regulation of skeletal muscle cell plasticity by the peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator 1 $\alpha$ . *Journal of receptor and signal transduction research*, 30(6), 376–384. DOI: 10.3109/10799891003641074.
150. Handschin, C., & Spiegelman, B. M. (2008). The role of exercise and PGC1alpha in inflammation and chronic disease. *Nature*, 454(7203), 463–469. DOI: 10.1038/nature07206
151. Hatori, M., Hasegawa, A., Adachi, H., Shinozaki, A., Hayashi, R., Okano, H., Mizunuma, H. & Murata, K. (1995) The effects of walking at the anaerobic threshold level on vertebral bone loss in postmenopausal women. *Calcified Tissue International International* 52(6): 411–4. DOI: 10.1007/bf00571327.
152. Hautala, A.J., Kiviniemi, A.M., Makikallio, T., Koistinen, P., Rynänen, O.P., Martikainen, J.A., Deppanèn, T., Huikuri, H.V. & Tulppo, M.P. (2016) Economic evaluation of exercise-based cardiac rehabilitation in patients with a recent acute coronary syndrome. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sport*. 27(11):1395-1403. DOI: 10.1111/sms.12738.
153. Hawley, J.A., Hargreaves, M., Joyner, M.J. & Zierath, J.R (2014). Integrative biology of exercise. *Cell* 159(4): 738–49. DOI: 10.1016/j.cell.2014.10.029.
154. Heinonen, A., Oja, P., Sievanen, H., Pasanen M., & Vuori, I. (1998) Effect of Two Training Regimens on Bone Mineral Density in Healthy Perimenopausal Women: A Randomized Controlled Trial. *American Society for Bone and Mineral Research* 13(3): 483-90. DOI: 10.1359/jbmr.1998.13.3.483.
155. Hellsten, Y., Nyberg, M., Jensen, L.G., & Mortensen, S.P. (2012). Vasodilator interactions in skeletal muscle blood flow regulation. *The Journal of Physiology*. 590(24), 6297–305. DOI: 10.1113/jphysiol.2012.240762.

156. Bhagavan, H.N. & Chopra, R.J. (2006). Coenzyme Q10: Absorption, tissue, uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research* 40(5):445-53. DOI: 10.1080/10715760600617843.
157. Henriksen, J.E., Andersen, C.B., Hother-Nielsen, O., Vaag, A, Mortensen, S.A. & Beck-Nielsen, H. (1999). Impact of ubiquinone (coenzyme Q10) treatment on glycaemic control, insulin requirement and well-being in patients with Type 1 diabetes mellitus. *Diabetic Medicine: a Journal of the British Diabetic Association* 16(4):312-8. DOI: 10.1046/j.1464-5491.1999.00064.x.
158. Henriksen, K., Leeming, D.J., Byrjalsen, I., Nielsen, R.H., Sorensen, M.G., Dziegiel, M.H., Martin, T.J., Christiansen, C., Qvist, P. & Karsdal, M.A. (2007) Osteoclasts prefer aged bone. *Osteoporos International: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 18(6):751–9. DOI: 10.1007/s00198-006-0298-4.
159. Herman, S., Müller, R.B., Kronke, G., Zwerina, J., Redlich, K., Hueber, A.J., Gelse, H., Neumann, E., Ladner-Müller, U. & Schett, G. (2008). Induction of osteoclast-associated receptor, a key osteoclast costimulation molecule, in rheumatoid arthritis. *Arthritis and Rheumatism* 58:3041–50. DOI: 10.1002/art.23943.
160. Hesmati, H.M., Riggs, B.L., Burritt, M.F., McAlister, C.A., Wollan, P.C. & Khosla, S. (1998). Effects of the circadian variation in serum cortisol on markers of bone turnover and calcium homeostasis in normal postmenopausal women. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 83(3):751-6. DOI: 10.1210/jcem.83.3.4627.
161. Hickey, M.S., Carey, J.O., Azebedo, J.L., Houmard, J.A., Pories, W.J., Israel, R.G. & Dohm, G.L. (1995). Skeletal muscle fiber composition is related to adiposity and in vitro glucose transporter rate in humans. *The American Journal of Physiology*. 268(3 Pt 1): E453-7. DOI: 10.1152/ajpendo.1995.268.3.E453.
162. Hickson, R. C., and J. R. Marone. Exercise and inhibition of glucocorticoid-induced muscle atrophy. In: *Exercise and Sport Sciences Reviews*. Baltimore, MD:Williams &Wilkins, 1993, vol.21, p. 135–167.
163. Hinton, P.S., Rector, R.S. & Thomas, T.R. (2006). Weight-bearing, aerobic exercise increases markers of bone formation during short-term weight loss in overweight and obese men and women. *Metabolism: clinical and experimental*. 55(12):1616-8. DOI: 10.1016/j.metabol.2006.07.023.
164. Hodsman, A.B., Fraher, L.J., Ostbye, T., Adachi, J.D. & Steer, B.M. (1993) An evaluation of several biomechanical markers for bone formation and resorption in a protocol utilizing cyclical parathyroid hormone and calcitonin therapy for osteoporosis. *The Journal of Clinical Investigation* 91(3): 1138-48. DOI: 10.1172/JCI116273.

165. Holdsworth, G., Greenslade, K., Jose, J., Stencel, Z., Kirby, H., Moore, A., Ke, H.Z. & Robinson, M.K. (2018). Dampening of the Bone Formation Response Following Repeat Dosing With Sclerostin Antibody in Mice Is Associated With Up-Regulation of Wnt Antagonists. *Bone*. 107:93-103. DOI: 10.1016/j.bone.2017.11.003.
166. Holdsworth, G., Roberts, S.J. & Zhu Ke, H. (2019). Novel actions of sclerostin on bone. *Journal of Molecular Endocrinology* 62(2): R167-R185. DOI: 10.1530/JME-18-0176.
167. Holecki, M., Zahorska-Markiewicz, B., Janowska, J., Nieszporek, T., Wojaczynska-Stanek, K., Zak-Golab, A. & Wiecek, A. (2007). The influence of weight loss on serum osteoprotegerin concentration in obese perimenopausal women. *Obesity*. 15(8):1925-9. DOI: 10.1038/oby.2007.229.
168. Holloszy, J.O. (2005) Exercise-induced increase in muscle insulin sensitivity. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)* 99(1): 338-43. DOI: 10.1152/jappphysiol.00123.2005.
169. Hosoe, K, Kitano, M., Kishida, H., Kubo, H., Fujii, K. & Kithara, M. (2007). Study on safety and bioavailability of ubiquinol (Kaneka QH) after single and 4-week multiple oral administration to healthy volunteers. *Regulatory Toxicology and Pharmacology: RTP*. 47(1):19-28. DOI: 10.1016/j.yrtph.2006.07.001.
170. Hough, F.S., Pierroz, D.D., Cooper, C., Ferrari, S.L., IOF CSA Bone and Diabetes Working Group. (2016) Mechanisms in endocrinology: mechanisms and evaluation of bone fragility in type 1 diabetes mellitus. *European Journal of Endocrinology* 174(4):R127-38. DOI: 10.1530/EJE-15-0820.
171. Huang, S., Kaw, M., Harris, M.T., Ebraheim, N., McInerney, M.F., Najjar, S.M. & Lecka-Czernik, B. (2010) Decreased osteoclastogenesis and high bone mass in mice with impaired insulin clearance due to liver-specific inactivation to CEACAM1. *Bone* 46(4):1138-1145. DOI: 10.1016/j.bone.2009.12.020
172. Hughes, J.M., Gaffney-Stromber, E., Guerriere, K.I., Taylor, K.M., Popp, K.L., Xu, C., Unnikrishnan, G., Staab, J.S., Matheny Jr., R.W., McClung, J.P., Reifman, J. & Bouxsein, M.L. (2018) Changes in tibial bone microarchitecture in female recruits in response to 8 weeks of U.S. Army Basic Combat Training. *Bone* 113:9-16. DOI: 10.1016/j.bone.2018.04.021.
173. Hughes, J.M., Popp, K.L., Yanovich, R., Bouxsein, M.L. & Matheny Jr, R.J. (2017). The role of adaptive bone formation in the etiology of stress fracture. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, NJ.)* 242(9): 897-906. DOI: 10.1177/1535370216661646.
174. Hughes, V.A., Fiatarone, M.A., Fielding, R.A., Khan, B.B., Ferrara, C.M., Shepherd, P., Fisher, E.C., Wolfe, R.R., Elahi, D. & Evans, W.J. (1993). Exercise increases muscle GLUT-4 levels and insulin action in subjects with impaired glucose tolerance. *The*

- American Journal of Physiology.* 264(6 Pt 1): E855-62. DOI: 10.1152/ajpendo.1993.264.6.E855.
175. Hwang, Y.C., Jeong, I.K., Ahn, K.J. & Chung, H.Y. (2012). Circulating osteocalcin level is associated with improved glucose tolerance, insulin secretion and sensitivity independent of the plasma adiponectin level. *Osteoporos International.* 23(4):1337-42. DOI: 10.1007/s00198-011-1679-x.
176. Inder, W.J., Hellemans, J., Ellis, M.J., Evans, M.J., Livesey, J.H. & Donald, R.A. (1995). Elevated Basal Adrenocorticotropin and Evidence for Increased Central Opioid Tone in Highly Trained Male Athletes. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 80(1): 244-8. DOI: 10.1210/jcem.80.1.7829620.
177. Isales, C.M., Zaidi, M. & Blair, H.C. (2010) ACTH is a novel regulator of bone mass. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1192:110-6. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.05231.x.
178. Ishijima, M., Tsuji, K., Rittling, R.S., Yamashita, T., Kurosawa, H., Denhardt, D.T., Nifuji, A. & Noda, M. (2002) Resistance to Unloading-Induced Three-Dimensional Bone Loss in Osteopontin-Deficient Mice. *The Journal of Bone and Mineral Research* 17(4):661-7. DOI: 10.1359/jbmr.2002.17.4.661
179. Ishizuka, K., Hirukawa, K., Nakamura, H., Togari, A. (2005). Inhibitory effect of CGRP on osteoclast formation by mouse bone marrow cells treated with isoproterenol. *Neuroscience Letters* 379(1):47–51. DOI: 10.1016/j.neulet.2004.12.046.
180. Ivaska, K.K., Hentunen, T.A., Vääräniemi, J., Ylipahkala, H., Pettersson, K. & Väänänen, H.K. (2004). Release of Intact and Fragmented Osteocalcin Molecules From Bone Matrix During Bone Resorption in Vitro. *The Journal of Biological Chemistry.* 279(18):18361-9. DOI: 10.1074/jbc.M314324200.
181. Joo, Y.I., Sone, T., Fukunaga, M., Lim, S.G., Onodera, S. (2003). Effects of endurance exercise on three-dimensional trabecular bone microarchitecture in young growing rats. *Bone* 33(4):485–493. DOI: 10.1016/s8756-3282(03)00212-6.
182. Joro, R., Uusitalo, A., DeRuisseau, K.C. & Mustafa, A. (2016). Changes in Cytokines, Leptin, and IGF-1 Levels in Overtrained Athletes During a Prolonged Recovery Phase: A Case-Control Study. *Journal of Sport Sciences.* 35(23):2342-2349. DOI: 10.1080/02640414.2016.1266379.
183. Kaikkonen, J., Nyyssönen, K., Tomasi, A., Iannone, A., Tuomainen, T.P., Porkkala-Sarataho, E. & Salonen, J.T. (2000). Antioxidative efficacy of parallel and combined supplementation with coenzyme Q10 and d-alpha-tocopherol in mildly hypercholesterolemic subjects: a randomized placebo-controlled clinical study. *Free Radical Research* 33(3):329-40. DOI: 10.1080/10715760000301501.



184. Kang, C. & Ji, L.L. (2012). Role of PGC-1 $\alpha$  signalling in skeletal muscle health and disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1271(1): 110-117 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06738.x.
185. Kang, C., O'Moore, K. M., Dickman, J. R., & Ji, L. L. (2009). Exercise activation of muscle peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1 $\alpha$  signaling is redox sensitive. *Free radical biology & medicine*, 47(10), 1394–1400. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.08.007.
186. Karaarslan, S., Büyükyazi, G., Taneli, F., Ulman, C., Tikiz, C., Gümüşer, G.G, & Şahan, P. (2010). Effects of different intensity resistance exercise programs on bone turnover markers, osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa  $\beta$  ligand in post-menopausal women. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences* 30(1):123-134. DOI: 10.5336/medsci.2008-8721.
187. Karamouzis, I., Karamouzis, M., Vrabas, I.S., Christoulas, K., Kyriazis, N., Giannoulis, E. and Mandroukas, K. (2002) The effects of marathon swimming on serum leptin and plasma neuropeptide Y levels. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 40(2), 132-136. DOI: 10.1515/CCLM.2002.023.
188. Karsdal, M.A., Martin, T.J., Bollerslev, J., Christiansen, C. & Henriksen, K. (2007). Are nonresorbing osteoclasts sources of bone anabolic activity? *Journal of Bone and Mineral Research*. 22(4):487–94. DOI: 10.1359/JBMR.070109.
189. Karsenty, G., & Wagner, E. F. (2002). Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Developmental Cell*, 2(4), 389–406. DOI: 10.1016/s1534-5807(02)00157-0
190. Keijiro, M., Kamimura, M., Uchiyama, S., Ikegami, S., Nakamura, Y. & Kato, H. (2015). Elevation of serum alkaline phosphatase (ALP) level in postmenopausal women is caused by high bone turnover. *Aging Clinical and Experimental Research* 27(4):413-8. DOI: 10.1007/s40520-014-0296-x.
191. Kelly, D. P., & Scarpulla, R. C. (2004). Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes & Development*, 18(4), 357–368. DOI: 10.1101/gad.1177604
192. Kenkre, J.S. & Bassett, J. (2018) The bone remodelling cycle. *Annals of Clinical Biochemistry*. 55(3):308-327. DOI: 10.1177/0004563218759371.
193. Kennedy, O.D., Laudier, D.M., Majeska, R.J., Sun, H.B. & Schaffler, M.B. (2014) Osteocyte apoptosis is required for production of osteoclastogenic signals following bone fatigue in vivo. *Bone* 2014;64:132–7. DOI: 10.1016/j.bone.2014.03.049.

194. Kiechl, S., Schett, G., Wenning, G., Redlich, K., Oberhollenzer, M., Mayr, A., Santer, P., Smolen, J., Poewe, J. & Willet, J. (2004). Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation*. 109(18):2175-80. DOI: 10.1161/01.CIR.0000127957.43874.BB.
195. Kilmartin, J.V. & Bernardi, R.L. (1973) Interaction of hemoglobin with Hydrogen ions, carbon dioxide and organic phosphates. *Physiological Reviews*. 53(4): 836-890. DOI: 10.1152/physrev.1973.53.4.836.
196. Kim, J.C. (2016). The effect of exercise training combined with PPAR $\gamma$  agonist on skeletal muscle 1 glucose uptake and insulin sensitivity in induced diabetic obese Zucker rats. *Journal of Exercise Nutrition*. 20(2):42-50. DOI: 10.20463/jenb.2016.06.20.2.6.
197. Kim, S.W., Pajevic, P.D., Selig, M., Barry, K.J., Yang, J.Y., Shin, C.S., Baek, W.Y., Kim, J.E. & Kronenberg, H.M. (2012). Intermittent parathyroid hormone administration converts quiescent lining cells to active osteoblasts. *Journal of Bone and Mineral Research*. 27(10):2075-2084. DOI: 10.1002/jbmr.1665.
198. Kim, S-S-, Ju, S-B. & Park, G.D. (2015). Changes in stress hormone levels with the application of vibrations before resistance exercises at different intensities. *Journal of Physical Therapy Science*. 27(9):2845-2847. DOI: 10.1589/jpts.27.2845.
199. Kjaer, M., Christensen, N.J., Sonne, B., Richter, E.A. & Galbo, H. (1985). Effect of exercise on epinephrine turnover in trained and untrained male subjects. *The Journal of Applied Physiology* 59(4):1061-7. DOI: 10.1152/jappl.1985.59.4.1061.
200. Kohrt, W., Bloomfield, S., Little, K., Nelson, M., Yingling, V. (2004) Physical Activity and Bone Health. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 36(11): 1985-1996. DOI: 10.1249/01.MSS.0000142662.21767.58
201. Kolt, G., George, E.S., Rebar, A.L., Duncan, M.D., Vandelanotte, C., Caperchione, C.M., Maeder, A.J., Tague, R., Savage, T.N., Itallie, A.V., Mawella, N.R., Hsu, W.W., Mummery, W.K. & Rosenkranz, R.R. (2017) Associations between quality of life and duration and frequency of physical activity and sedentary behaviour: Baseline findings from the WALK 2.0 randomised controlled trial. *Plos One* 12(6):e0180072. DOI: 10.1371/journal.pone.0180072
202. Kon, M., Tanabe, K., Akimoto, T., Kimura, F., Tanimura, Y., Shimizu, K., Okamoto, T. & Kono, I. (2008). Reducing exercise-induced muscular injury in kendo athletes with supplementation of coenzyme Q10. *The British Journal of Nutrition* 100(4):903–9. doi: 10.1017/S0007114508926544.
203. Kostenuik, P.J. (2005) Osteoprotegerin and RANKL regulate bone resorption, density, geometry and strength. *Current Opinion in Pharmacology* Opin Pharmacol 5(6):618–25. DOI: 10.1016/j.coph.2005.06.005.

204. Kostrezewa, E., Ejikemans, M.J. & Kas, M.J. (2013). The expression of excessive exercise co-segregates with the risk of developing an eating disorder in women. *Psychiatry Research* 210(3):1123–8. DOI: 10.1016/j.psychres.2013.08.050 .
205. Kraemer, W. J., & Ratames, N. A. (2004). Fundamentals of Resistance Training: Progression and Exercise Prescription. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 36(4):674-88. DOI: 10.1249/01.mss.0000121945.36635.61.
206. Kraemer, W. J., Fleck, S.J. & Evans, W.J. (1996). Strength and power training: physiological mechanisms of adaptation. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 24:363–397.
207. Kraemer, W.J., Häkkinen, K., Newton, R.U., Nindl, B.C., Volek, J.S., McCormick, M., Gotshalk, L.A., Gordon, S.E., Fleck, S.J., Campbell, W.W., Putukian, M. & Evans, W.J. (1999). Effects of heavy-resistance training on hormonal response patterns in younger vs. older men. *Journal of Applied Physiology* 87(3):982-92. DOI: 10.1152/jappl.1999.87.3.982.
208. Krause, C., Korchynskyi, O., Roojij, K., Weidauer, S.E., Gorter, D.J.J., van Bezooijen, R.L., Hatsell, S., Economides, A.N., Mueller, T.D., Löwik, C.W.G.M. & ten Dijke, P. (2010). Distinct Modes of Inhibition by Sclerostin on Bone Morphogenetic Protein and Wnt Signaling Pathways. *The Journal of Biological Chemistry*. 285(53):41614-26. DOI: 10.1074/jbc.M110.153890.
209. Kreisman, S.H., Mew, N.A., Halter, J.B., Vranic, M & Marliss, E.B. (2001). Norepinephrine infusion during moderate intensity exercise increase glucose production and uptake. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 86(5):2118-24. DOI: 10.1210/jcem.86.5.7476.
210. Kreisman, S.H.1, Halter, J.B., Vranic, M. & Marliss, E.B. (2003) Combined infusion of epinephrine and 1 norepinephrine during moderate exercise reproduces the glucoregulatory response of intense 2 exercise. *Diabetes*. 52(6):1347-54. DOI: 10.2337/diabetes.52.6.1347.
211. Kristoffersson, A., Hultdin, J., Holmlund, I., Thorsen, K. & Lorentzon, R. (1995) Effects of short-term maximal work on plasma calcium, parathyroid hormone, osteocalcin and biochemical markers of collagen metabolism. *International Journal of Sports Medicine* 16(3), 145-149. DOI: 10.1055/s-2007-972982.
212. Kon, M., Kimura, F., Akimoto, T., Tanabe, K., Murase, Y., Ikemune, S., & Kono, I. (2007). Effect of Coenzyme Q10 supplementation on exercise-induced muscular injury of rats. *Exercise immunology review*, 13, 76–88.
213. Kumar, A. (2004). Anaerobic threshold: its concept and role in endurance sport. *Malaysian Journal of Medicine Science*. 11(1): 24-236.

214. Lam, J., Takeshita, S., Barker, J.E., Kanagawa, O., Ross, F.P. & Teitelbaum, S.L. (2000) TNF alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *The Journal of Clinical Investigation* 106(2):1481–8. DOI: 10.1172/JCI11176.
215. Lampertico, M. & Comis, S. (1993). Italian multicentre study on the efficacy and safety of coenzyme Q10 as adjuvant therapy in heart failure. *The Clinical Investigator*. 71(8 Suppl): S129-33. DOI: 10.1007/bf00226853.
216. Langsjoen, P. H., & Langsjoen, A. M. (2014). Comparison study of plasma coenzyme Q10 levels in healthy subjects supplemented with ubiquinol versus ubiquinone. *Clinical pharmacology in drug development*, 3(1), 13–17. DOI: 10.1002/cpdd.73.
217. Langsjoen, H., Langsjoen, P., Langsjoen, P., Willis, R. & Folkers, K. (1994). Usefulness of coenzyme Q10 in clinical cardiology: A long-term study. *Molecular Aspects of Medicine*. 15 Suppl: s165-75. DOI: 10.1016/0098-2997(94)90026-4.
218. Langsjoen, P.H. & Langsjoen, A.M. (2008). Supplemental ubiquinol in patients with advanced congestive heart failure. *Biofactors*. 32(1-4):119–128. DOI: 10.1002/biof.5520320114.
219. Langsjoen, P.H. & Langsjoen, M.A. (2015). Statin-Induced Coenzyme Q10 depletion: Clinical Consequences and therapeutic implications in skeletal and myocardial myopathies. n book: Coenzyme Q10: From Fact to Fiction., Chapter: 13., Publisher: Nova Science Publishers, Inc., Editors: Iain P. Hargeaves, April K. Hargeaves, pp.237-251.
220. Lavie, C.J., Lee, D.C., Sui, X., Arena, R., O’Keefe, J.H., Church, T.S., Milani, R.V. & Blair, S.N. (2015). Effects of Running on Chronic Diseases and Cardiovascular and All-Cause Mortality. *Mayo Clinic Proceedings*. 90(11):1541-52. DOI: 10.1016/j.mayocp.2015.08.001.
221. Lee, D. (2011). Stress fractures, active component, U.S. Armed Forces, 2004-2010. *MSMR* 18 (5): 8–11.
222. Lee, N.K., Sowa, H., Hinio, E., Ferron, M., Ahn, J.D., Confavreux, C., Dacquin, R., Mee, P.J., Mckee, M.D., Jung, D.Y., Zhang, Z., Kim, J.K., Mauvais-Jarvis, F., Ducy, P. & Karsenty, G. (2007). Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 130(3):456–69. DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.047.
223. Lehmann, M., Schmid, P. & Keul, J. (1985). Plasma catecholamine and blood lactate accumulation during incremental exhaustive exercise. *International Journal of Sport Medicine* 6(2):78-81. DOI: 10.1055/s-2008-1025817.
224. Lenaz, G., Fato, R., Castelluccio, C., Battino, M., Cavazzoni, M., Rauchova, H., et al. Coenzyme Q saturation kinetics of mitochondrial enzymes: Theory, experimental

- aspects and biomedical implications. Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q, (Vol 6), K Folkers, T Yamagami and GP Littarru, eds, Elsevier, Amsterdam. 1991. p. 11–8.
225. Levinger, I., Seeman, E., Jerumus, G., McConell, G.K., Mark, S., Rybchyn, M.S., Cassar, S., Byrnes, E., Seling, S., Rebecca, S., Mason, R.S., Ebeling, P.R. & Brennan-Speranza, T.C., (2016). Glucose-loading Reduces Bone Remodeling in Women and Osteoblast Function in Vitro. *Physiological Reports*. 4(3):e12700. DOI: 10.14814/phy2.12700.
226. Levinger, I., Zebane, R., Jerumus, G., Hare, D.L., Seling, S. & Seeman, E., (2011). The Effect of Acute Exercise on Undercarboxylated Osteocalcin in Obese Men. *Osteoporosis International: a Journal Established as result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 22(5):1621-6. DOI: 10.1007/s00198-010-1370-7.
227. Levinger, I., Brennan-Sparza, T.C., Zulli, A., Parker, L., Lewis, J.R. & Yeap, B.B. (2017). Multifaceted Interaction of Bone, Muscle, Lifestyle Interventions and Metabolic and Cardiovascular Disease: Role of Osteocalcin. *Osteoporosis International: a Journal Established as result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 28(8):2265-2273. DOI: 10.1007/s00198-017-3994-3.
228. Levinger, I., Jerumus, G., Stepto, N.K., Parker, L., Serpiello, F.R., McConell, G.K., Anderson, M., Hare, D.L., Byrnes, E., Ebeling, P.R. & Seeman, E. (2014). The Effect of Acute Exercise on Undercarboxylated Osteocalcin and Insulin Sensitivity in Obese Men. *Journal of Bone and Mineral Research*. 29(12):2571-2576 DOI: 10.1002/jbmr.2285.
229. Lehman, J. J., Barger, P. M., Kovacs, A., Saffitz, J. E., Medeiros, D. M., & Kelly, D. P. (2000). Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1 promotes cardiac mitochondrial biogenesis. *The Journal of clinical investigation*, 106(7), 847–856. DOI: 10.1172/JCI10268.
230. Li, H., Miao, W., Ma, J., Xv, Z., Bo, H., Li, J., Zhang, Y. & Ji, L.L. (2016) Acute Exercise-Induced Mitochondrial Stress Triggers an Inflammatory Response in the Myocardium via NLRP3 Inflammasome Activation with Mitophagy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016:1987149. DOI: 10.1155/2016/1987149.
231. Liang, H., & Ward, W. F. (2006). PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Advances in physiology education*, 30(4), 145–151. DOI: 10.1152/advan.00052.2006.
232. Lihn, A.S., Pedersen, S.B. & Richelsen, B. (2005) Adiponectin: action, regulation and association to insulin sensitivity. *Obesity Reviews*. 6(1):13-21. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2005.00159.x.

233. Lin, C., Jiang, X., Dai, Z., Guo, X., Weng, T., Wang, J., Li, Y., Feng, G., Gao, X. & He, L. (2009) Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 24(10):1651–61. DOI: 10.1359/jbmr.090411.
234. Lin, J., Wu, H., Tarr, P. T., Zhang, C. Y., Wu, Z., Boss, O., Michael, L. F., Puigserver, P., Isotani, E., Olson, E. N., Lowell, B. B., Bassel-Duby, R., & Spiegelman, B. M. (2002). Transcriptional co-activator PGC-1 alpha drives the formation of slow-twitch muscle fibres. *Nature*, 418(6899), 797–801. DOI: 10.1038/nature00904
235. Linnane, A.W., Kopsidas, G., Zhang, C., Yarovaya, N., Kovalenko, S., Papakostopoulos, P., Eastwood, H., Graves, S., Richardson, M. (2002). Cellular redox activity of CoQ10: effect of CoQ10 supplementation on human skeletal muscle. *Free Radical Research* 36(4):445-53. DOI: 10.1080/10715760290021306.
236. Littarru, G.P., Battino, M., Tomasetti, M., Mordente, A., Santini, S., Oradei, A., Manto, A. & Ghirlanda, G. (1994). Metabolic implications of Coenzyme Q10 in red blood cells and plasma lipoproteins. *Molecular Aspects of Medicine*15(1):s67-s72. DOI: 10.1016/0098-2997(94)90014-0.
237. Locklin, R.M., Khosa, S., Turner, R.T. & Riggs, B.L. (2003). Mediators of the biphasic responses of the bone to intermittent and continuously administered parathyroid hormone. *Journal of Cellular Biochemistry* 89(1):180-90. DOI: 10.1002/jcb.10490.
238. Lombardi, G., Corsetti, R., Lanteri, P., Grasso, D., Vianello, E., Marazzi, M.G., Graziani, R., Colombini, A., Galliera, E., Corsi Romanelli, M.M. & Banfi G. (2014). Reciprocal regulation of calcium-/phosphate-regulating hormones in cyclists during the Giro d'Italia 3-week stage race. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sport*.24(5):779-87. DOI: 10.1111/sms.12080.
239. Lombardi, G., Lanteri, P., Graziani, R., Colombini, A., Banfi, G. & Corsetti, R. (2012). Bone and Energy Metabolism Parameters in Professional Cyclists during the Giro d'Italia 3-Weeks Stage Race. *Plos One*. 7(7): e42077. DOI: 10.1371/journal.pone.0042077.
240. Lombardi, G., Sanchis-Gomar, F., Perego, S., Sansoni, V. & Banfi, G. (2016). Implications of Exercise-Induced Adipo-Myokines in Bone Metabolism. *Metabolism* 54(2):284-305. DOI: 10.1007/s12020-015-0834-0. Epub 2015 Dec 30.
241. López-Delgado, L., Riancho-Zarrabeitia, L., García-Unzueta, M.T., Tenorio, J.A., García-Hoyos, M., Lapunzia, P., Valero, C. & Riancho, J.A. (2018). Abnormal bone turnover in individuals with low serum alkaline phosphatase. *Osteoporosis International* 29(9):2147-2150. DOI: 10.1007/s00198-018-4571-0.
242. Luger, M.D., Patricia, A., Deuster, P., Susan, B., Kyle, M.A., William, T., Galluccu, B.S., Lesley, C., Montgomery, M.S., Philip, W., Gold, M.D., Loriaux, L., & George, P.

- (1987) Acute Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Responses to the stress of Treadmill Exercise. Physiologic Adaptations to Physical Training. *New England Journal of Medicine*. 316(21): 1309-15. DOI: 10.1056/NEJM198705213162105.
243. Ma, Y., Krueger, J.J., Redmon, S.N., Uppuganti, S., Nayman, J.S., Hahn, M.K. & Elefteriou, F. (2013). Extracellular Norepinephrine Clearance by the Norepinephrine Transporter Is Required for Skeletal Homeostasis. *The Journal of Biological Chemistry*. 288 (42), 30105-30113. DOI: 10.1074/jbc.M113.481309.
244. Marliss, E.B., Simantirakis, E., Miles, P.D., Hunt, R., Gougeon, R., Purdon, C., Halter, J.B. & Vranic, M., (1992). Glucose turnover and its regulation during intense exercise and recovery in normal male subjects. *Clinical and Investigative Medicine*. 15(5):406-19.
245. McAllister, M.J., Webb, H.E., Tidwell, D.K., Smith, J.W., Fountain, B.J., Schilling, M.W. & Williams Jr., R.D. (2016). Exogenous Carbohydrate Reduces Cortisol Response from Combined Mental and Physical Stress. *International Journal of Sports Medicine* 37(14):1159-1165. DOI: 10.1055/s-0042-113467.
246. McDougall, J.D., Webber, C.E., Martin, J., Ormerod, S., Chesley, A., Younglai, E.V., Gordon, C.L. & Blimkie, C.J. (1992). Relationship among mileage, bone density and serum testosterone in male runners. *Journal of Applied Physiology*, 73(3) 1165-1170. DOI: 10.1152/jappl.1992.73.3.1165.
247. MacIntyre, D. L., Reid, W. D., & McKenzie, D. C. (1995). Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*, 20(1), 24–40. DOI: 10.2165/00007256-199520010-00003.
248. Maimoun, L., Simar, D., Malatesta, D., Caillaud, C., Peruchon, E., Couret, I., Rossi, M. & Mariano-Goulart, D. (2005). Response of bone metabolism related hormones to a single session of strenuous exercise in active elderly subjects. *British Journal of Sports Medicine* 39(8): 497-502. DOI: 10.1136/bjism.2004.013151.
249. Malm, H.T., Ronni-Sivula, H.M., Viinikka, L.U. & Ylikorkala, O.R. (1993). Marathon running accompanied by transient decreases in urinary calcium and serum osteocalcin levels. *Clinical Investigations* 52(3):209–11. DOI: 10.1007/BF00298720.
250. Manolagas, S.C. (2006). Choreography from the tomb: an emerging role of dying osteocytes in the purposeful, and perhaps not so purposeful, targeting of bone remodelling. *International Bone and Mineral Society Knowledge Environment*. 3(1):5-14. DOI:10.1138/20060193.

251. Manolagas, S.C. (2010). From estrogen-centric to aging and oxidative stress: a revised perspective of the pathogenesis of osteoporosis. *Endocrine Reviews*. 31(3):266–300. DOI: 10.1210/er.2009-0024.
252. Manolagas, S.C. (2018). Normal skeletal development and regulation of bone formation and resorption. In: Drezner MK and Mulder JE (eds) *Up to Date*. Waltham, MA: UpToDate.
253. Manson, J.E., Greenland, P., LaCroix, A.Z., Stefanik, M.L., Mouton, C.P., Oberman, A., Perri, M.G., Sheps, D.S., Pettinger, M.B. & Siscovick, D.S. (2002). walking compared with vigorous exercise for the prevention of cardiovascular events in women. *The New England Journal of Medicine*. 347(10):716-25. DOI: 10.1056/NEJMoa021067.
254. Mantzoros, C.S., Liolios, A.D., Tritos, N.A., Kaklamani, V.G., Doulgerakis, D.E., Griveas, I., Moses, A.C. & Flier, J.S. (1998). Circulating insulin concentrations, smoking, and alcohol intake are important independent predictors of leptin in young healthy men. *Obesity Research* 6(3):179-86. DOI: 10.1002/j.1550-8528.1998.tb00335.x.
255. Marques, E.A., Mota, J., Viana, J.L., Tuna, D., Figueiredo, P., Guimaraes, J.T. & Carvalho, J. (2013). Response of bone mineral density, inflammatory cytokines, and biochemical bone markers to a 32-week combined loading exercise programme in older men and women. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 57(2): 226-33. DOI: 10.1016/j.archger.2013.03.014.
256. Martinefski, M., Samassa, P., Buontempo, F., Hocht, C., Lucangioli, S. & Tripodi, V. (2017). Relative bioavailability of coenzyme Q10 formulation for paediatric individualized therapy. *The Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 69(5): 567-573. DOI: 10.1111/jphp.12613.
257. Matar, M., Al-Shaar, L., Maalouf, J., Nabulsi, M., Arabi, A., Choucair, M., Tamim, H., El-Hajj, Fuleihan, E. G-H. (2016). The Relationship Between Calciotropic Hormones, IGF-1, and Bone Mass Across 5 Pubertal Stages. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 101(12):4860-4870. DOI: 10.1210/jc.2016-3071.
258. Mathis, S.L., Farley, R.S., Fuller, D.K., Jetton, A.E. & Caputo, J.L. (2013). The Relationship between Cortisol and Bone Mineral Density in Competitive Male Cyclists. *Journal of Sports Medicine* 2013:896821. DOI: 10.1155/2013/896821.
259. Mattson, M.P. (2012). Energy intake and exercise as determinants of brain health and vulnerability to injury and disease. *Cell Metabolism* 16(6): 706–22. DOI: 10.1016/j.cmet.2012.08.012.
260. Michael, L. F., Wu, Z., Cheatham, R. B., Puigserver, P., Adelmant, G., Lehman, J. J., Kelly, D. P., & Spiegelman, B. M. (2001). Restoration of insulin-sensitive glucose transporter (GLUT4) gene expression in muscle cells by the transcriptional coactivator



- PGC-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(7), 3820–3825. DOI: 10.1073/pnas.061035098.
261. Miller, S.C., de Saint-Georges, L., Bowman, B.M. & Jee, W.S. (1989). Bone lining cells: structure and function. *Scanning Microscopy* (3): 953–60.
262. Miyamoto, T. (2006). The dendritic cell-specific transmembrane protein DC-STAMP is essential for osteoclast fusion and osteoclast bone-resorbing activity. *Modern Rheumatology*. 16(6):341–2. DOI: 10.1007/s10165-006-0524-0.
263. Mizuno, M., Quistorff, B., Theorell, H., Theorell, M. & Chance, B. (1997). Effects of oral supplementation of CoQ<sub>10</sub> on 31P-NMR detected skeletal muscle energy metabolism in middle-aged post-polio subjects and normal volunteers. *Molecular Aspects of Medicine* 18 Suppl:S291-8. DOI: 10.1016/s0098-2997(97)00001-0.
264. Mizuno, K., Tanaka, M., Nozaki, S., Mizuma, H., Ataka, S., Tahara, T., Sugino, T., Shirai, T., Kajimoto, Y., Kuratsune, H., Kajimoto, O., & Watanabe, Y. (2008). Antifatigue effects of coenzyme Q10 during physical fatigue. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 24(4), 293–299. DOI: 10.1016/j.nut.2007.12.007.
265. Mody, N., Parhami, F., Saraflan T.A. & Demer, L.L. (2001). Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radical Biology & Medicine* 31(4): 509–19. DOI: 10.1016/s0891-5849(01)00610-4.
266. Mohan, S. & Baylink, D.J. (1996). Insulin-like growth factor system components and the coupling of bone formation to resorption. *Hormone Research*. 45 Suppl 1:59–62. DOI: 10.1159/000184833.
267. Molyneux, S., Florkowski, C., McGrane, Y., Lever, M. & George, P. (2007). Concentration response to the coenzyme Q10 supplement Q-Gel in human volunteers. *Nutrition Research*. 27(6): 307-312. DOI: 10.1016/j.nutres.2007.04.011.
268. Moon, H.J., Ko, W.K, Jung, M.S., Kim, J.H., Lee, W.J., Park, K.S., Heo, J.K., Bang, J.B. & Kwon, I.K. (2013). Coenzyme q10 regulates osteoclast and osteoblast differentiation. *Journal of Food Science*. 78(5): H785-891. DOI: 10.1111/1750-3841.12116.
269. Moon, H.J., Ko, W.K., Han, S.W., Kim, D.S., Hwang, Y.S., Park, H.K. & Kwon, I.K. (2012). Antioxidants, like coenzyme Q10, selenite, and curcumin, inhibited osteoclast differentiation by suppressing reactive oxygen species generation. *Biomechanical and Biophysical Research Communications*. 418(2): 247-53. DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.01.005.
270. Moradi, M., Haghghatdoost, F., Feizi, A., Larijani, B. & Azadbakht, L. (2016). Effect of Coenzyme Q10 Supplementation on Diabetes Biomarkers: a Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. *Archives of Iranian Medicine* 19(8):588-96.

271. Moser, S.C. & van der Eerden, B.C.J. (2019). Osteocalcin—A Versatile Bone-Derived Hormone. *Frontiers in Endocrinology*. 9, 794. DOI: 10.3389/fendo.2018.00794.
272. Mootha, V. K., Lindgren, C. M., Eriksson, K. F., Subramanian, A., Sihag, S., Lehar, J., Puigserver, P., Carlsson, E., Ridderstråle, M., Laurila, E., Houstis, N., Daly, M. J., Patterson, N., Mesirov, J. P., Golub, T. R., Tamayo, P., Spiegelman, B., Lander, E. S., Hirschhorn, J. N., Altshuler, D., ... Groop, L. C. (2003). PGC-1 $\alpha$ -responsive genes involved in oxidative phosphorylation are coordinately downregulated in human diabetes. *Nature Genetics*, 34(3), 267–273. DOI: 10.1038/ng1180
273. Motyl, K.J., McCabe, L.R. & Schwartz, A.V. (2010). Bone and glucose metabolism: a two-way street. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 503(1):2-10. DOI: 10.1016/j.abb.2010.07.030.
274. Nakamura, Y., Tanaka, T., Wakimoto, Y., Noda, K. & Kuwahara, Y. (1991) Alkaline phosphatase activity in the osteoclasts induced by experimental tooth movement. *Journal of Electron Microscopy* 40(6):403–406. DOI: 10.1093/oxfordjournals.jmicro.a050916
275. Nakchbandi, I.A., Lang, R., Kinder, B. & Insogna, K.L. (2008). The role of the receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand/ osteoprotegerin cytokine system in primary hyperparathyroidism. *Journal of Clinical Endocrinology Metabolism*. 93(3):967-973. DOI: 10.1210/jc.2007-1645.
276. Nelson, M.E., Rejeski, W.J., Blair, S.N., Duncan, P.W., Judge, J.O., King, A.C., Macera, C.A. & Castaneda-Sceppa, C. (2007). Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Medicine and Science in Sport and Exercise*. DOI: 10.1249/mss.0b013e3180616aa2.
277. Nishiyama, S., Tomoeda, S., Ohta, T., Higuchi, A. & Matsuda, I. (1988) Differences in basal and postexercise osteocalcin levels in athletic and nonathletic humans. *Calcified Tissue International*. 43(3):150–4. DOI: 10.1007/bf02571312.
278. Ochoa, J.J., Quiles, J.L., Huertas, F.J. & Mataix, J. (2005) Coenzyme Q10 protects from aging-related oxidative stress and improves mitochondrial function in heart of rats fed a polyunsaturated fatty acid (PUFA)-rich diet. *The Journals of Gerontology* 60(8):970–975. DOI: 10.1093/gerona/60.8.970.
279. Okamoto, T., Kubota, N., Takahata, K., Takahashi, T. & Kishi, T. (1995). Protective effect of coenzyme Q10 on cultured skeletal muscle cell injury induced by continuous electric field stimulation. *Biomechanical and Biophysical Research Communications* 216(3):1006-1012. DOI: 10.1006/bbrc.1995.2720.

280. Okoshi, M.P., Cezar, M.D.M. & Okoshi, K. (2018). Adrenaline: More than a century after its discovery and still a mystery. *International Journal of Cardiology* 253:124-125. DOI: 10.1016/j.ijcard.2017.11.002.
281. Pandey, A., LaMonte, M., Klein, L., Ayers, C., Pstay, B.M., Eaton, C.B., Allen, N.B., de Lemos, J.A., Carnethon, M., Greenland, P. & Berry, J.D. (2017) Relationship Between Physical Activity, Body Mass Index, and Risk of Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology* 69(9): 1129–1142. DOI: 10.1016/j.jacc.2016.11.081.
282. Parfitt, A.M. (1987). Bone remodeling and bone loss: understanding the pathophysiology of osteoporosis. *Clinical Obstetrics and Gynecology* 30(4):789–811. DOI: 10.1097/00003081-198712000-00004.
283. Pathak, J.L., Bravenboer, N., Luyten, F.P., Verscheueren, P., Lems, W.F., Klein-Nulen, J. & Bakker, a.d. (2015). Mechanical loading reduces inflammation-induced human osteocyte-to-osteoclast communication. *Calcified Tissue International* 97(2):169-78. DOI: 10.1007/s00223-015-9999-z.
284. Pérez-Sáyans, M., Somoza-Martín, J.M., Barros-Angueira, Francisco, Gándara Rey, J.M. & García-García, A. (2010). RANK/RANKL/OPG role in distraction osteogenesis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology*, vol. 109, no. 5, pp. 679–686. DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.10.042.
285. Peterson, H.R., Rothschild, M., Weinberg, C.R., Fell, R.D., McLeish, K.R. & Pfeifer, M.A. (1988). Body fat and the activity of the autonomic nervous system. *The New England Journal of Medicine*. 318(17): 1077-83. DOI: 10.1056/NEJM198804283181701.
286. Pittas, A.G., Harris, S.S., Eliades, M., Stark, P. & Dawson-Hughes, B. (2009). Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 94(3):827-32. DOI: 10.1210/jc.2008-1422.
287. Plomteux, G. & Reginster, N. (1980). Measurement of the hepatic, intestinal and bony fractions of the serum alkaline phosphatase. *Annales de Biologie Clinique* 38:215-222.
288. Poole, K.E. & Reeve, J. (2005) Parathyroid hormone - abone anabolic and catabolic agent. *Current Opinion in Pharmacology* 5(6): 612-7. DOI: 10.1016/j.coph.2005.07.004.
289. Prisby, R.D. (2017). Mechanical, Hormonal and Metabolic Influences on Blood Vessels, Blood Flow and Bone. *The Journal of Endocrinology*. 235(3):R77-R100. DOI: 10.1530/JOE-16-0666.

290. Proff, P. & Römer, P. (2009). The molecular mechanism behind bone remodelling: a review. *Clinical Oral Investigation* 13(4):355-62. DOI: 10.1007/s00784-009-0268-2.
291. Puigserver, P., Rhee, J., Lin, J., Wu, Z., Yoon, J. C., Zhang, C. Y., Krauss, S., Mootha, V. K., Lowell, B. B., & Spiegelman, B. M. (2001). Cytokine stimulation of energy expenditure through p38 MAP kinase activation of PPARgamma coactivator-1. *Molecular cell*, 8(5), 971–982. DOI: 10.1016/s1097-2765(01)00390-2.
292. Puigserver, P. & Spiegelman, B. (2003). Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1 alpha (PGC-1 alpha): transcriptional coactivator and metabolic regulator. *Endocrine Reviews* 24(1):78-90. DOI: 10.1210/er.2002-0012.
293. Quarles L.D. (2012). Role of FGF23 in Vitamin D and Phosphate Metabolism: Implications in Chronic Kidney Disease. *Experimental Cell Research*. 318(9):1040-8. DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.02.027.
294. Raff, H., Raff, J.L., Duthie, E.H., Wilson, C.R., Sasse, E.A., Rudman, I. & Mattson, D. (1999). Elevated salivary cortisol in the evening in healthy elderly men and women: correlation with bone mineral density. *The Journals of Gerontology* 54(9):M479-83. DOI: 10.1093/gerona/54.9.m479.
295. Raison, C. L., & Miller, A. H. (2003). When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *The American journal of psychiatry*, 160(9), 1554–1565. DOI: 10.1176/appi.ajp.160.9.1554.
296. Rasmussen, P. (1968). The role of bone tissue in calcium homeostasis. *Den Norske Tannlaegeforenings Tidende*. 78(10):713-25.
297. Ratames, N.A., Alvar, B.A., Evetoch, T.K., Housh, T.J., Kibler, W.B., Kraemer, W.J., Triplett, N.T. American College of Sports Medicine. (2009) American College of Sports Medicine position stand. Progression models in resistance training for healthy adults. (2009). *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(3), 687–708. DOI: 10.1249/MSS.0b013e3181915670
298. Reinholt, F.P., Hulthén, K., Oldberg, A. & Heinegård, D. (1990) Osteopontin—a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 87(12):4473-5. DOI: 10.1073/pnas.87.12.4473.
299. Reis, J.P., Macera, C.A., Araneta, M.R., Lindsay, S.P., Marshall, S.J. & Windgard, D.L. (2009). Comparison of Overall Obesity and Body Fat Distribution in Predicting Risk of Mortality. *Obesity Journal*. *Obesity (Silver Spring, Md.)* 17(6): 1232–9. DOI: 10.1038/oby.2008.664.

300. Riddell, M.C., Gallen, I.W., Smart, C.E., Taplin, C.E., Adolfsson, P., Lumb, A.N., Kowalski, A., Rabasa-Lhoret, R., McCrimmon, R.J., Hume, C., Annan, F., Fournier, P.A., Graham, C., Bode, B., Galassetti, P., Jones, T.W., San Millán, I., Heise, T., Peters, A.L., Petz, A. & Laffel, M.L. (2017). Exercise Management in Type 1 Diabetes: A Consensus Statement. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*. 5(5):377-390. DOI: 10.1016/S2213-8587(17)30014-1.
301. Roberts, J. (1990). The effects of Q10 on exercise performance. *Medicine Science Sports Exercise*. 22(2): S87.
302. Robling, A.G., Castillo, A.B. & Turner, C.H. (2006). Biomechanical and molecular regulation of bone remodelling. *The Annual Review of Biomedical Engineering*. 8:455–98. DOI: 10.1146/annurev.bioeng.8.061505.095721.
303. Robling, A.G., Hinant, F.M., Burr, D.B. & Turner, C.H. (2002). Shorter, more frequent mechanical loading sessions enhance bone mass. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 34(2): 196–202. DOI: 10.1097/00005768-200202000-00003.
304. Robling, A.G., Niziolek P.J., Baldrige, L.A., Condon, K.W., Allen, M.R., Alam, I., Mantila, S.M., Gluhak-Heinrich, J., Bellido, T.M., Harris, S.E. & Turner, C.H. (2008). Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *The Journal of Biological Chemistry*. 283(9):5866-75. DOI: 10.1074/jbc.M705092200.
305. Robson-Ansley, P.J., de Milander, L., Collins, M. & Noakes, T.D. (2004). Acute interleukin-6 administration impairs athletic performance in healthy, trained male runners. *Canadian Journal of Applied Physiology*. 29(4): 411-8. DOI: 10.1139/h04-026.
306. Rochefort, G.Y., Pallu, S. & Benhamou, C.L. (2010). Osteocyte: the unrecognized side of bone tissue. *Osteoporosis International: A journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA* 21(9):1457–69. DOI: 10.1007/s00198-010-1194-5.
307. Rodan, G.A. & Martin, T.J. (1981). Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption: a hypothesis. *Calcified Tissue International* 33(4):349-51. DOI: 10.1007/bf02409454.
308. Rosenfeldt, F., Marasco, S., Lyon, W., Wowk, M., Freya, S., Bailey, M., Esmore, D., Davis, B., Pick, A., Rabinov, M., Smith, J., Nagley, P. & Pepe, S. (2005). Coenzyme Q10 therapy before cardiac surgery improves mitochondrial function and in vitro contractility of myocardial tissue. *The Journal Thoracic and Cardiovascular Surgery* 129(1): p. 25-32. DOI: 10.1016/j.jtcvs.2004.03.034.
309. Runquist, M., Parmryd, I., Thelin, A., Chojnacki, T. & Dallner, G. (1995). Bistribution of branch point prenyltransferases in regions of bovine brain. *Journal of Neurochemistry*. 65(5): 2299-306. DOI: 10.1046/j.1471-4159.1995.65052299.x.

310. Russell A. P. (2005). PGC-1alpha and exercise: important partners in combating insulin resistance. *Current diabetes reviews*, 1(2), 175–181. DOI: 10.2174/1573399054022811.
311. Russell, L. K., Mansfield, C. M., Lehman, J. J., Kovacs, A., Courtois, M., Saffitz, J. E., Medeiros, D. M., Valencik, M. L., McDonald, J. A., & Kelly, D. P. (2004). Cardiac-specific induction of the transcriptional coactivator peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha promotes mitochondrial biogenesis and reversible cardiomyopathy in a developmental stage-dependent manner. *Circulation research*, 94(4), 525–533. DOI: 10.1161/01.RES.0000117088.36577.EB.
312. Sacconi, S., Trevisson, E. Salviati, L., Ayme, S., Rigal, O., Redondo, A.G. & Desnuelle, C. (2010). Coenzyme Q10 is frequently reduced in muscle of patients with mitochondrial myopathy. *Neuromuscular Disorders*. 20(1): 44-48. DOI: 10.1016/j.nmd.2009.10.014.
313. Sale, C., Elliott-Sale, K.J. (2019). Nutrition and Athlete Bone Health. *Sports Medicine*. 49:139–151. DOI: 10.1007/s40279-019-01161-2.
314. Saltiel, A.R. & Kahn, C.R. (2001). Insulin Signalling and the Regulation of Glucose and Lipid Metabolism. *Nature*. 414(6865):799-806. DOI: 10.1038/414799a.
315. Sarmiento, A., Díaz-Castro, J., Pulido-Moran, M., Kajarabille, N., Guisado, R. & Ochoa, J.J. (2016). Coenzyme Q10 supplementation and exercise in healthy humans: A systematic review. *Current Drug Metabolism* 17(4): 345-58. DOI: 10.2174/1389200216666151103115654.
316. Sarmiento, A., Diaz-Castro, J., Pulido-Moran, M., Moreno-Fernandez, J., Kajarabille, N., Chiroso, I., Guisado, I.M., Chiroso, L.J., Guisado, R., Ochoa, J.J. (2016b). Short-term ubiquinol supplementation reduces oxidative stress associated with strenuous exercise in healthy adults: A randomized trial. *Biofactors*. 42(6):612-622. DOI: 10.1002/biof.1297.
317. Sbraccia, P., D'Adamo, M., Leonetti, F., Caiola, S., Iozzo, P., Giaccari, A., Buongiorno, A., & Tamburrano, G. (1996). Chronic primary hyperinsulinaemia is associated with altered insulin receptor mRNA splicing in muscle of patients with insulinoma. *Diabetologia*, 39(2), 220–225. DOI: 10.1007/BF00403966.
318. Schafer, A.L., Sellmeyer, D.E., Schwartz, A.V., Rosen, C.J., Vittinghoff, E., Palermo, L., Bilezikian, J.P., Shoback, D.M. & Black, D.M. (2011). Change in undercarboxylated osteocalcin is associated with changes in body weight, fat mass, and adiponectin: parathyroid hormone (1---84) or alendronate therapy in postmenopausal women with osteoporosis (the PaTH Study). *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 96(12):E1982-9. DOI: 10.1210/jc.2011-0587.

319. Schaffler, M.B., Cheung, W.-Y., Majeska, R. & Kennedy, O. (2014). Osteocytes: master orchestrators of bone. *Calcified Tissue International* 94(1):5–24. DOI: 10.1007/s00223-013-9790-y.
320. Schett, G. (2011). Effects of inflammatory and anti-inflammatory cytokines on the bone. *European Journal of Clinical Investigation*. 41(12): 361-6. DOI: 10.1111/j.1365-2362.2011.02545.x.
321. Schoenfeld, B.J. (2012). The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs for exercise-induced muscle damage: implications for skeletal muscle development. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)*. 42(12): 107-28. DOI: 10.1007/bf03262309.
322. Schoppet, M., Preissner, K.T. & Hofbauer, L.C. (2002). RANK Ligand and Osteoprotegerin Paracrine Regulators of Bone Metabolism and Vascular Function. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 22(4):549-53. DOI: 10.1161/01.atv.0000012303.37971.da.
323. Schoppet, M., Sattler, A.M. & Schaefer, J.R. (2003). Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 88(3):1024-1028 DOI: 10.1210/jc.2002-020775.
324. Schwetz, T.A., Reissaus, C.A. & Piston, D.W. (2014). Differential stimulation of insulin secretion by GLP-1 and kisspeptin-10. *Plos One* 9(11):e113020. DOI: 10.1371/journal.pone.0113020.
325. Scott, J.P.R., Sale, C., Greeves, J.P., Casey, A., Dutton, J. & Fraser, W. (2010). The effect of training status on the metabolic response of bone to an acute bout of exhaustive treadmill running. *The Journal Clinical Endocrinology and Metabolism* 95(8):3918-25. DOI: 10.1210/jc.2009-2516.
326. Seefried, L., Baumann, J., Hemsley, S., Hofmann, C., Kunstmann, E., Kiese, B., Huang, Y., Chivers, S., Valentin, M.A., Borah, B., Roubenoff, R., Junker, U. & Jakob, F. (2017). Efficacy of anti-sclerostin monoclonal antibody BPS804 in adult patients with hypophosphatasia. *The Journal of Clinical Investigation*. 127:2148–2158. DOI: 10.1172/JCI83731.
327. Seibel, M.J. (2005). Biochemical markers of bone turnover: part I: biochemistry and variability. *The Clinical Biochemist Reviews* 26: 97-122.
328. Seiler, K.S. & Kjerland, G.O. (2006). Quantifying training intensity distribution in elite endurance athletes: is there evidence for an “optimal” distribution? *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sport*. 16(1): 49–56. DOI: 10.1111/j.1600-0838.2004.00418.x.
329. Shao, J., Wang, Z., Yang, T., Ying, H., Zhang, Y. & Liu, S. (2015). Bone regulates glucose metabolism as an endocrine organ through osteocalcin. *International Journal of Endocrinology*. 2015: 967673. DOI: 10.1155/2015/967673.

330. Sherk, V., Wherry, S., Barry, D., Shea, K., Wolfe, P. & Kohrt, W. (2017). Calcium Supplementation Attenuates Disruptions in Calcium Homeostasis during Exercise. *Medicine & Science in Sport Medicine & Exercise*. 49(7):1437–1442. DOI: 10.1249/MSS.0000000000001239.
331. Sheweita, S.A. & Khoshhal, K.L. (2007). Calcium metabolism and oxidative stress in bone fractures: role of antioxidants. *Current Drug Metabolism* 8(5):519–25. DOI: 10.2174/138920007780866852.
332. Shi, Y., Yadav, V.K., Suda, N., Liu, X.S., Guo, X.E., Myers, M.G. Jr. & Karsenty, G. (2018). Dissociation of the neuronal regulation of bone mass and energy metabolism by leptin in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 105:20529–33. DOI: 10.1073/pnas.0808701106.
333. Shimomura, Y., Suzuki, M., Sugiyama, S., Hanaki, Y., Ozawa, T. (1991). Protective effect of coenzyme Q10 on exercise-induced muscular injury. *Bopmechanical and Biophysical Research Communications* 176(1):349-55. DOI: 10.1016/0006-291X(91)90931-V.
334. Singh, R.B., Niaz, M.A., Rastogi, S.S., Shukla, P.K. & Thakur, A.S. (1999). Effect of hydrosoluble coenzyme Q10 on blood pressures and insulin resistance in hypertensive patients with coronary artery disease. *Journal of Human Hypertension* 13(3):203-8. DOI: 10.1038/sj.jhh.1000778.
335. Shiotsu, Y., Yanagita, M. (2018) Comparisons of low-intensity versus moderate-intensity combined aerobic and resistance training on body composition, muscle strength and functional performance in older women. *Menopause*. 25(6):668-675. DOI: 10.1097/GME.0000000000001060.
336. Shokouhayr, S., Nikbakht, H. & Ghazalian, F. (2012). The effects of coenzyme Q10 supplementation during football competition on serum lymphocyte and cortisol on the male players. *European Journal of Experimental Biology*. 3(4):150-17.
337. Shults, C.W., Oakes, D., Kieburtz, K., Beal, M.F., Haas, R., Plumb, S., Juncos, J.L., Nutt, J., Shoulson, I., Carter, J., Kompoliti, K., Perlmutter, J.S., Reich, S., Stern, M., Watts, R.L., Kurlan, R., Molho, E., Harrison, M. & Lew, M. Parkinson Study Group (2002). Parkinson Study Group. Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Archives of Neurology* 59(10):1541–50. DOI: 10.1001/archneur.59.10.1541.
338. Siebrecht, S., Leong-Chang, D.Y., Rosenfeld, F. & Lin, K.W. (2015). Coenzyme Q10 and ubiquinol for physical performance. In: *Coenzyme Q10: From Fact to Fiction*. Editor: Iain P. Hargreaves. © 2015 Nova Science Publishers, Inc. 293-321.



339. Silva, B.C. & Bilezikian, J.P. (2015). Parathyroid hormone: anabolic and catabolic actions on the skeleton. *Current Opinion in Pharmacology* 22:41-50. DOI: 10.1016/j.coph.2015.03.005.
340. Silva, B.C., Costa, A.G., Cusano, N.E., Kousteni, S. & Bilezikian, J.P. (2011). Catabolic and anabolic actions of parathyroid hormone on the skeleton. *Journal of endocrinological investigation* 34(10):801-10. DOI: 10.3275/7925.
341. Simonet, W.S., Lacey, D.L., Dunstan, C.R., Kelley, M., Chang, M.S., Luthy, R., Nguyen, H.Q., Wooden, S., Bennett, L., Boone, T., Shimamoto, G., DeRose, M., Elliott, R., Colombero, A., Tan, H.L., Trail, G., Sullivan, J., Davy, E., Bucay, N., Renshaw-Gegg, L., Hughes, T.M., Hill, D., Pattison, W., Campbell, P., Sander, S., Van, G., Tarpley, J., Derby, P., Lee, R. & Boyle, W.J. (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 89(2):309-19. DOI: 10.1016/s0092-8674(00)80209-3.
342. Simpson, K., Redmond, J.E., Cohen, B.S., Hendrickson, N.R., Spiering, B.A., Steelman, R., Knapik, J.J. & Sharp, M.A. (2013). Quantification of physical activity performed during US Army Basic Combat Training. *US Army Medical Department Journal* 55–65.
343. Sims, N.A. & Chia, L.Y. (2012). Regulation of sclerostin expression by paracrine and endocrine factors. *Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism*. 10(2):98-107. DOI: 10.1007/s12018-011-9121-7.
344. Sims, N.A., Jenkins, B.J., Quinn, J.M., Nakamura, A., Glatt, M., Gillespie, M.T., Ernst, M. & Martin, T.J. (2004). Glycoprotein 130 regulates bone turnover and bone size by distinct downstream signaling pathways. *The Journal of Clinical Investigation* 113(3):379–89. DOI: 10.1172/JCI19872.
345. Sinha, M.K., Sturis, J., Ohannesian, J., Magosin, S., Stephens, T., Heiman, M.L., Polonsky, K.S. & Caro, J.F. (1996). Ultradian oscillations of leptin secretion in humans. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 228(3):733-8. DOI: 10.1006/bbrc.1996.1724.
346. Spath-Schwalbe, E., Hansen, K., Schmidt, F., Schrezenmeier, H., Marshall, L., Burger, K., Fehm, H.L. & Born, J. (1998). Acute effects of recombinant human interleukin-6 on endocrine and central nervous sleep functions in healthy men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 83(5):1573-1579. DOI: 10.1210/jcem.83.5.4795.
347. Sodek, J. & McKee, M.D. (2000) Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology 2000* 24:99-126. DOI: 10.1034/j.1600-0757.2000.2240106.x.

348. Sokoll, L.J. & Sadowski, J.A. (1996). Comparison of biochemical indexes for assessing vitamin K nutritional status in a healthy adult population. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 63(4):566-73. DOI: 10.1093/ajcn/63.4.566.
349. Staron, R. S., Karapondo, D.L., Kraemer, W.J., Fry, A.C., Gordon, S.E., Falkel, J.E., Hagerman, F.C. & Hikida, R.S. (1994). Skeletal muscle adaptations during early phase of heavy-resistance training in men and women. *Journal of Applied Physiology* 76(3):1247-55. DOI: 10.1152/jappl.1994.76.3.1247.
350. Subotnick, S.I. (1985). The biomechanics of running: Implications for prevention of foot injuries. *Sports Medicine (Auckland, N.Z.)* 2(2):144-53. DOI: 10.2165/00007256-198502020-00006.
351. Sutherland, M.K., Geoghegan, J.C., Yu, C., Turcott, E., Skonier, J.E., Winkler, D.G. & Latham, J.A. (2004). Sclerostin Promotes the Apoptosis of Human Osteoblastic Cells: A Novel Regulation of Bone Formation. *Bone*. 35(4):828-35. DOI: 10.1016/j.bone.2004.05.023.
352. Svensson, M., Malm, C, Tonkonogi, M., Ekblom, B., Sjödin, B., Sahlin, K. (1999). Effect of Q10 supplementation on tissue Q10 levels and adenine nucleotide catabolism during highintensity exercise. *International Journal o Sport Nutrition* 9(2):166-80. DOI: 10.1123/ijsn.9.2.166.
353. Taichman, R.S. (2005). Blood and bone: Two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem cell niche. *Blood* 105(7): 2631-9. DOI: 10.1182/blood-2004-06-2480.
354. Takeda, S., Elefteriou, F., Levasseur, R., Liu, X, Zhao, L., Parker, K.L., Armstrong, D., Ducy, P. & Karsenty, G. (2002). Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 111(3):305-17. DOI: 10.1016/s0092-8674(02)01049-8.
355. Takeda, S (2009). Osteoporosis: a neuroskeletal disease? *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 41:455-9. DOI: 10.1016/j.biocel.2008.08.002.
356. Takeuchi, T., Tsuboi, T., Arai, M, Togari, A. (2001). Adrenergic stimulation of osteoclastogenesis mediated by expression of osteoclast differentiation factor in MC3T3-E1 osteoblast-like cells. *Biochemical Pharmacology* 61:579-86. DOI: 10.1016/s0006-2952(00)00591-8.
357. Tanasescu, M., Leitzmann, M.F., Rimm, E.B., Willet, W.C., Stampfer, M.J. & Hu, F.B. (2002). Exercise Type and Intensity in Relation to Coronary Heart Disease in Men. *The Journal of the American Medical Association (JAMA)*. 288(16): 1994-2000. DOI: 10.1001/jama.288.16.1994.
358. Tartaglia, L.A. (1997). The leptin receptor. *Journal of Biological Chemistry* 272(10):6093-6. DOI: 10.1074/jbc.272.10.6093.

359. Teitelbaum, S.L. & Ross, F.P. (2003). Genetic regulation of osteoclast development and function. *National Reviews Genetics*. 4(8):638-49. DOI: 10.1038/nrg1122.
360. Thirumalai, T., Theresa, S.V., Elumalai, E.K. & David, E. (2011). Intense and exhaustive exercise induce oxidative stress in skeletal muscle. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 1(1):63–66. DOI: 10.1016/S2222-1808(11)60016-9.
361. Thompson, D., Williams, C., García-Roves, P., McGregor, S.J., McArdle, F. & Jackson, M.J. (2003). Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 89(3-4): 393-400. DOI: 10.1007/s00421-003-0816-4.
362. Thrailkill, K.M., Lumpkin Jr., C.K., Bunn, R.C., Kemp, S.F. & Fowlkes, J.L. (2005). Is insulin an anabolic agent in bone? Dissecting the diabetic bone for clues. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 289(5):E735–45. DOI: 10.1152/ajpendo.00159.2005.
363. Togari, A., Arai, M. (2008). Pharmacological topics of bone metabolism: the physiological function of the sympathetic nervous system in modulating bone resorption. *Journal of Pharmacological Sciences*. 106: 542–6. DOI: 10.1254/jphs.fm0070227.
364. Togari, A., Arai, M., Kondo, H., Kodama, D. & Niwa, Y. (2011). The neuro-osteogenic network: The sympathetic regulation of bone resorption. *Japanese Dental Science Review* 48(2): 61-70. DOI: 10.1016/j.jdsr.2011.12.002.
365. Tsai, J.N., Uihlein, A.V., Burnett-Bowie, S.A., Neer, R.M., Zhu, Y. Derrico, N., Lee, H., Bouxein, M.L. & Leder, B.Z. (2015) Comparative effects of teriparatide, denosumab, and combination therapy on peripheral compartmental bone density, microarchitecture, and estimated strength: the DATA-HRpQCT Study. *Journal of Bone and Mineral Research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 30 (1): 39–45. DOI: 10.1002/jbmr.2315.
366. Tsuji, K., Maeda, T., Kawane, T., Matsunuma, A. & Horiuchi, N. (2010). Leptin stimulates fibroblast growth factor 23 expression in bone and suppresses renal 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 synthesis in leptin-deficient mice. *Journal of the Bone and Mineral Research* 25(8):1711-23. DOI: 10.1002/jbmr.65.
367. Tu, X., Delgado-Calle, J., Condon, K.W., Maycas, M., Zhang, H., Carlesso, N., Taketo, M.M., Burr, D.B., Plotkin, L.I. & Bellido, T. (2015). Osteocytes Mediate the Anabolic Actions of Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin Signaling in Bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 112(5):E478-86. DOI: 10.1073/pnas.1409857112.

368. Turner, R.T., Karla, S.T., Wong, C.P., Philbrick, K.A., Lindenmaier, L.B., Boghossian, S. & Iwaniec, U. (2013). Peripheral leptin regulates bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research* 28(1): 22-34. DOI: 10.1002/jbmr.1734.
369. Turunen, M., Olsson, J. & Dallner, G. (2004). Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica*. 1660(1-2):171-99. DOI: 10.1016/j.bbamem.2003.11.012.
370. Turunen, M., Swiezewska, E., Chojnacki, T., Sindelar, P. & Dallner, G. (2002). Regulatory aspects of coenzyme Q metabolism. *Free Radical Research*. 36(4): 437-443. DOI: 10.1080/10715760290021298.
371. Umemura, Y., Sogo, N. & Honda, A. (2002). Effects of intervals between jumps or bouts on osteogenic response to loading. *Journal of Applied Physiology*. 93(4): 1345-8. DOI: 10.1152/jappphysiol.00358.2002.
372. Upadhyay, J., Farr, O. & Mantzoros, C. (2016). The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism* 64(1):105-13. DOI: 10.1016/j.metabol.2014.10.021.
373. Väänänen, H.K. & Laitala-Leinonen, T. (2008). Osteoclast lineage and function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 473(2):132-8. DOI: 10.1016/j.abb.2008.03.037.
374. Varela-López, A., Ochoa, J.J., Llamas-Elvira, J.M., López-Frías, M., Planells, E., Speranza, L., Battino, M. & Quiles, J.L. (2017). Loss of Bone Mineral Density Associated with Age in Male Rats Fed on Sunflower Oil Is Avoided by Virgin Olive Oil Intake or Coenzyme Q Supplementation. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(7): E1397. DOI: 10.3390/ijms18071397.
375. Varela-López, A., Ochoa, J.J., Llamas-Elvira, J.M., López-Frías, M., Planells, E., Ramírez-Tortosa, M., Ramírez-Tortosa, C.L., Giampieri, F., Battino, M. & Quiles, J.L. (2017). Age-Related Loss in Bone Mineral Density of Rats Fed Lifelong on a Fish Oil-Based Diet Is Avoided by Coenzyme Q10 Addition. *Nutrients*. 9(2): E176. DOI: 10.3390/nu9020176.
376. Vicent, K.R. & Braith, R.W. (2002). Resistance exercise and bone turnover in elderly men and women. *Medicine and Science in Sport and Exercise*. 34(1):17-23. DOI: 10.1097/00005768-200201000-00004.
377. Vona, M., Codeluppi, G.M., Iannino, T., Ferrari, F., Bogouslavsky, J. & von Segesser, L.K. (2009). Effects of different types of exercise training followed by detraining on endothelium-dependent dilation in patients with recent myocardial infarction. *Circulation*. 119(12):1601-8. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.821736.
378. Wagner, A., Wolf, I., Birringer, M., Sancak, Ö, Barella, L. & Rimbach, G. (2012). A Combination of Lipoic Acid Plus Coenzyme Q10 Induces PGC1 $\alpha$ , a Master Switch of

- Energy Metabolism, Improves Stress Response, and Increases Cellular Glutathione Levels in Cultured C2C12 Skeletal Muscle Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2012(2-3):835970. DOI: 10.1155/2012/835970.
379. Wang, Y.H., Liu, Y. & Rowe, D.W. (2007). Effects of transient PTH on early proliferation, apoptosis, and subsequent differentiation of osteoblast in primary osteoblast cultures. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*. 292(2):E594-E603. DOI: 10.1152/ajpendo.00216.2006.
380. Warnes, T.W. (1972). Alkaline phosphatase. *Gut* 13:926-937. DOI: 10.1136/gut.13.11.926.
381. Wassermann, K., Whipp, B.J., Koyal, S.N., & Beaver, W.L. (1973). Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *Journal of Applied Physiology*. 35(2): 236-43. DOI: 10.1152/jappl.1973.35.2.236.
382. Watts, G.F., Playford, D.A., Croft, K.D., Ward, N.C., Mori, T.A. & Burke, V. (2002). Coenzyme Q(10) improves endothelial dysfunction of the brachial artery in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 45(3):420–426. DOI: 10.1007/s00125-001-0760-y.
383. Weinberg, R. (2013). Goal setting in sport and exercise: research and practical applications. *Revista da Educação Física/UEM*. 24(2):171-179. DOI: 10.4025/reveducfis.v24.2.17524.
384. Weitzmann, M.N. & Pacifici, R. (2006). Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *The Journal of Clinical Investigation* 116(5):1186–1194. DOI: 10.1172/JCI28550.
385. Wetterwald, A., Hoffstetter, M.G., Cecchini, B., Lanske, C., Wagner, H., Fleisch, H. & Atkinson, M. (1996). Characterization and cloning of the E11 antigen, a marker expressed by rat osteoblasts and osteocytes. *Bone* 18:125-132. DOI: 10.1016/8756-3282(95)00457-2.
386. Weber, C., Bysted, A. & Holmer, G. (1997). Coenzyme Q10 in the diet-daily intake and relative bioavailability. *Molecular Aspects of Medicine* 18 Suppl:S251-4. DOI: 10.1016/s0098-2997(97)00003-4.
387. Wiczorek-Baranowska, A., Nowak, A. & Pilaczyńska-Szcześniak, Ł. (2012). Osteocalcin and glucose metabolism in postmenopausal women subjected to aerobic training program for 8 weeks. *Metabolism: Clinical and Experimental* 61(4):542-5. DOI: 10.1016/j.metabol.2011.08.011.
388. Witt, E.H., Reznick, A.Z., Viguie, C.A., Starke-Reed, P. & Packer, L. (1992). Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *The Journal of Nutrition*. 122(3 Suppl):766-73. DOI: 10.1093/jn/122.suppl\_3.766.

389. Woitge, H.W., Friedman, B., Suttner, S., Farahmad, I., Müller, M., Schmidt-Gayk, H., Baertsch, P., Ziegler, R. & Seibel, M.J. (1998) Changes in Bone Turnover Induced by Aerobic and Anaerobic Exercise in Young Males. *Journal of Bone and Mineral Research: The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research* 13(12):1979-804. DOI: 10.1359/jbmr.1998.13.12.1797.
390. Xiang, G.D., Xu, L., Zhao, L.S., Yue, L. & Hou, J. (2006). The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes. *Diabetes*. 55(7):2126-31. DOI: 10.2337/db06-0231.
391. Xiao, Z., Zhang, S., Mahlios, J., Zhou, G., Magenheimer, B.S., Guo, D., Dallas, S.L., Maser, R., Calvet, J.P., Bonewald, L. & Quarles, L.D. (2006). Cilia-like structures and polycystin-1 in osteoblasts/osteocytes and associated abnormalities in skeletogenesis and Runx2 expression. *The Journal of Biological Chemistry*. 281(41):30884–95. DOI: 10.1074/jbc.M604772200.
392. Xiong, J. & O'Brien, C.A. (2012). Osteocyte RANKL: new insights into the control of bone remodeling. *Journal of Bone and Mineral Research*. 27(3):499-505. DOI: 10.1002/jbmr.1547.
393. Xiong, J., Piemontese, M., Onal, M., Campbell, J., Goellner, J.J., Dusevich, V., Bonewald, L., Manolagas, S.C. & O'Brien, C.A. (2015). Osteocytes, not osteoblasts or lining cells, are the main source of the RANKL required for osteoclast formation in remodeling bone. *PLoS One*. 10(9):e0138189. DOI: 10.1371/journal.pone.0138189.
394. Xiong, J., Piemontese, M., Thostenson, J.D., Weinstein, R.S., Manolagas, S.C. & O'Brien, C.A. (2014). Osteocyte-derived RANKL is a critical mediator of the increased bone resorption caused by dietary calcium deficiency. *Bone*. 66:146-154. DOI: 10.1016/j.bone.2014.06.006.
395. Yang, J., Zhang, X., Wang, W. & Liu, J. (2010). Insulin stimulates osteoblast proliferation and differentiation through ERK and PI3K in MG-63 cells. *Cell Biochemistry and Function*. 28(4):334–41. DOI: 10.1002/cbf.1668.
396. Yasuda, H., Shima, N., Nakagawa, N., Yamaguchi, K., Kinosaki, M., Mochizuki, S.I., Tomoyasu, A., Yano, K., Goto, M., Murakami, A., Tsuda, E., Morinaga, A., Higashio, K., Udagawa, N., Takahashi, N. & Suda, T. (1998). Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 95(7):3597-602. DOI: 10.1073/pnas.95.7.3597.
397. Yavropoulou, M.P. & Yovos J.G. (2008). Osteoclastogenesis—current knowledge and future perspectives. *Journal of Musculoskeletal & Neuronal Interactions* 8(3):204-16.

398. Yoshida, T., Chida, M., Ichioka, M. & Suda Y. (1987). Blood lactate parameters related to aerobic capacity and endurance performance. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 56(1):7-11. DOI: 10.1007/bf00696368.
399. Yoshikawa, Y., Kode, A., Xu, L., Mosailou, I., Silva, B.C., Ferron, M., Clemens, T.L., Economides, A.N. & Koustein, S. (2011). Genetic Evidence Points to an Osteocalcin-Independent Influence of Osteoblasts on Energy Metabolism. *Journal of Bone and Mineral Research*. 26(9):2012-25. DOI: 10.1002/jbmr.417.
400. Yoshiko, Y. Candelieri, G.A., Maeda, N. & Aubin, J.E. (2007). Osteoblast autonomous Pi regulation via Pit1 plays a role in bone mineralization. *Molecular and Cellular Biology*. 27(12):4465–74. DOI: 10.1128/MCB.00104-07.
401. Yoshizawa, T. (2012). Diabetes Mellitus and Osteoporosis. Insulin Signaling and bone/glucose/energy Metabolism. *Clinical Calcium*. 22(9):1367-73.
402. Yu, B., Hou, L., Liu, Y., Deng, P., Szymanski, J., Li, J., Xianghang, L., Hong, C., Lin, J. & Wang, C.-Y. (2018). PGC-1 $\alpha$  Controls Skeletal Stem Cell Fate and Bone-Fat Balance in Osteoporosis and Skeletal Aging by Inducing TAZ. *Cell Stem Cell* 23(2): 193-209.e5. DOI: 10.1016/j.stem.2018.06.009.
403. Zafeiridis, A., Smilios, I., Considine, R.V. and Tokmakidis, S.P. (2003). Serum leptin responses following acute resistance exercise protocols. *Journal of Applied Physiology* 94, 591-597. DOI: 10.1152/jappphysiol.00330.2002.
404. Zagrodna, A., Jozkow, P., Medras, M., Majda, M., Stowinska-Lisowska & M. (2016) Sclerostin as a novel marker of bone turnover in athletes. *Biology of Sport*. 33(1):83-87. DOI: 10.5604/20831862.1194125.
405. Zaidi, M., Sun, Li., Robinson, L.J., Tourkova, I.L., Liu, Li., Wang, Y., Zhu, L.L., Liu, X., Li, J., Peng, Y., Yang, G., Shi, X., Levine, A., Iqbal, J., Yaroslavsky, B.B., Isales, C. & Blair, H.C. (2010). ACTH protects against glucocorticoid-induced osteonecrosis of bone. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 107(19):8782-7. DOI: 10.1073/pnas.0912176107.
406. Zaki, N.M. (2016). Strategies for oral delivery and mitochondrial targeting of CoQ<sub>10</sub>. *Drug Delivery*. 23(6): 1868-1881. DOI: 10.3109/10717544.2014.993747.
407. Zhang, K., Barragan-Adjemian, C., Ye, L., Khota, S., Dallas, M., Lu, Y., Zhao, S., Harris, M., Harris, S.E., Feng, J.Q. & Bonewald, L. (2006). E11/gp38 selective expression in osteocytes: regulation by mechanical strain and role in dendrite elongation. *Molecular and Cellular Biology*, vol. 26(12) 4539–4552. DOI: 10.1128/MCB.02120-05.
408. Zheng, A., Moritani, T. (2008). Influence of CoQ<sub>10</sub> on autonomic nervous activity and energy metabolism during exercise in healthy subjects. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 54(4):286-90. DOI: 10.3177/jnsv.54.286.

409. Zhong, Q., Sridhar, S., Ruan, L., Ding, K.H., Xie, D., Insogna, K., Kang, B., Xu, J., Bollag, R.J. & Isaacs, C.M. (2005). Multiple melanocortin receptors are expressed in bone cells. *Bone* 36(5): 820–31. DOI: 10.1016/j.bone.2005.01.020.
410. Zhou, S., Zhang, Y., Davie, A., Marshall-Gradisnik, S., Hu, H., Wang, J. & Brushett, D. (2005). Muscle and plasma coenzyme Q10 concentration, aerobic power and exercise economy of healthy men in response to four weeks of supplementation. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness* 45(3):337-46.
411. Ziegler, S., Niessner, A., Richter, B., Wirth, S., Billensteiner, E., Woloszczuk, W., Slany, J. & Geyer, G. (2005). Endurance running acutely raises plasma osteoprotegerin and lowers plasma receptor activator of nuclear factor. *Metabolism: Clinical and Experimental*. 54(7):935-8. DOI: 10.1016/j.metabol.2005.02.009.
412. Zofkova, I., Matucha, P., (2014). New insights into the physiology of bone regulation: the role of neurohormones. *Physiological Research*. 63(4): 421-7. DOI: 10.33549/physiolres.932668.
413. Zouhal, H., Jacob, C., Delamarche, P. & Delamarche-Gratas, A. (2008). Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Medicine* 38(5):401-23. DOI: 10.2165/00007256-200838050-00004.



# ANEXOS

---



## ANEXO I

### HOJA INFORMATIVA PARA EL VOLUNTARIO

#### “EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN A CORTO PLAZO CON UBIQUINOL SOBRE EL PROCESO DE REMODELADO ÓSEO Y OTROS PARÁMETROS HORMONALES Y NERVIOSOS ASOCIADOS AL EJERCICIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDAD”

Proyecto llevado a cabo entre la Fundación Empresa-Universidad de Granada y la empresa KANEKA Corporation y dirigido por el Dr. Julio José Ochoa Herrera.

**Objetivo:** evaluar el efecto de una suplementación corto plazo con ubiquinol sobre la agresión oxidativa, señal inflamatoria, fuerza y resistencia en sujetos sometidos a un ejercicio de alta intensidad o extenuante.

**Metodología:** Se consumirá durante dos semanas 200 mg/día de ubiquinol en forma de capsulas blandas. Tras estas dos semanas se realizarán dos pruebas de ejercicio intenso con un periodo de descanso entre las pruebas de 24 horas. Se obtendrán muestras de sangre y orina al inicio del estudio, antes de la realización de la primera prueba de ejercicio intenso, tras la finalización de la misma, tras un descanso de 24 horas y tras la finalización de la segunda prueba de ejercicio intenso. Al inicio de la suplementación se realizará una sesión de preparación para adaptar la carga de trabajo a cada participante y en base a esos datos se realizará un protocolo de ejercicio intenso basado en un circuito de musculación de 10 ejercicios (2 series), que es el que se llevará a cabo en las pruebas físicas intensas a realizar. También se suministrará al inicio un recordatorio de consumo de alimentos de 96 horas, lo que nos permitirá conocer o evaluar el estado nutricional.

**Uso de las muestras biológicas:** Las muestras biológicas obtenidas serán utilizadas para conocer el estado bioquímico y hematológico del participante antes y después de la suplementación con ubiquinol y antes y después de la realización de las pruebas de ejercicio intenso. También se determinará con estas muestras biológicas el estado oxidativo e inflamatorio y de daño muscular en los momentos comentados anteriormente. Una vez finalizado el estudio y realizadas las determinaciones del proyecto, las muestras biológicas serán destruidas siguiendo la normativa vigente sobre el tratamiento de residuos biológicos.

**Toma del ubiquinol:** Se recomienda repartir la dosis a lo largo del día y acompañarla de comidas, por ejemplo, una capsula en el desayuno y otra en la comida.

**Beneficios esperados:** Entre los beneficios esperados se encuentra una disminución de la agresión oxidativa, y la señalización inflamatoria asociada a un ejercicio físico de alta intensidad y, por lo tanto, una disminución en el daño muscular asociado a este tipo de ejercicio físico, lo cual podría mejorar aspectos relacionados con la resistencia y la fatiga muscular. Además se obtendrá una información completa sobre el estado físico, nutricional y bioquímico del participante.

**Incomodidades y riesgos derivados del estudio:** al proceder a la extracción de las muestras de sangre, el voluntario podría notar síntomas como picor, rubor, escozor, dolor etc... en la zona del pinchazo. No se espera ningún otro riesgo o incomodidad.

**Posibles acontecimientos adversos:** no se esperan. El ubiquinol está recogido como principio activo en el *Vademécum*, indicado como suplemento nutricional de venta en parafarmacia e inocuo a la dosis utilizada en este estudio, incluso en dosis diez veces superiores a la utilizada no se han detectado signos de toxicidad.

**Carácter voluntario de su participación:** la participación es voluntaria así como la posibilidad de retirarse del estudio en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación participante-investigador.

**Accesibilidad del participante a su información:** Como se recogen en diversos artículos de la Ley de Investigación Biomédica, todos los participantes, si así lo desean, tendrán acceso a todos los resultados obtenidos con sus muestras biológicas, así como, si así lo desean, no les serán comunicados los datos obtenidos.

**Personas que tendrán acceso a los datos:** los datos serán tratados según establece la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal. Los investigadores de este estudio garantizan la confidencialidad de los datos. Cada voluntario contará con una clave de identificación y sólo tendrán acceso a sus datos los responsables del mismo: Dr. Julio J. Ochoa Herrera.

**Cualquier aspecto que establezca dudas y preguntas para el participante, podrá consultarse antes, durante y después del estudio a los organizadores del mismo (teléfonos 65824100 exts. 20317; 20303).**

## ANEXO II

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### HOJA DE ADMISIÓN EN EL ESTUDIO

**Título del proyecto: “EFECTO DE UNA SUPLEMENTACIÓN A CORTO PLAZO CON UBIQUINOL SOBRE EL PROCESO DE REMODELADO ÓSEO Y OTROS PARÁMETROS HORMONALES Y NERVIOSOS ASOCIADOS AL EJERCICIO FÍSICO DE ALTA INTENSIDAD”**

Yo,.....  
 .....(Nombre y apellidos del voluntario),

con DNI.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con los responsables sobre el estudio.

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que me puedo retirar del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y mi autorización para obtener las muestras biológicas indicadas en el proyecto.

• Fecha:

Firmado:



## ANEXO III

### CUESTIONARIO NUTRICIONAL

#### INSTRUCCIONES:

1. Esta encuesta consiste en recordar y/o anotar todos los alimentos consumidos durante 4 días, tres de los cuales pueden ser cualquier día entre el lunes y el viernes, y el cuarto debe de ser un día de fin de semana (sábado o domingo).
2. Para cada día debe de rellenar una tabla distinta, indicando en primer lugar la fecha y el día de la semana al que se refiere.
3. La tabla está dividida en 5 apartados: desayuno, media mañana, comida, merienda y cena.
4. La tabla consta de 4 columnas:

#### COLUMNA 1: ALIMENTOS

En cada fila de esta columna deberá anotar el nombre de los alimentos y bebidas consumidos, sin olvidar los que se hayan tomado entre horas (refrescos, tapas, caramelos,...). Indicar sólo un alimento por fila.

Debe de anotar también el tipo de alimento.

#### Ejemplos

- Si consume carne, indique si es cerdo, ternera, pollo (pechuga, muslo),...
- Si consume pescado, indique si son boquerones, merluza, sardinas,...
- Nombre de las verduras: tomates, zanahorias, coliflor,...
- Tipo de aceite: oliva, girasol,...
- Pan blanco, integral, de molde,...
- Indique también si le echa azúcar, aceite, ...

Si es un alimento elaborado con varios ingredientes, indique el nombre de todos los ingredientes que lo componen, cada uno de los ingredientes debe ir en una fila diferente:

Ejemplo:

- Si usted come una ensalada con lechuga, tomate, cebolla, pepino,... deberá indicar en una fila la lechuga, en otra fila el tomate,... y anotar las cantidades de cada ingrediente por separado.

#### **COLUMNA 2: PREPARACIÓN**

En esta columna deberá indicar la forma de preparación de los alimentos indicados en la columna anterior. Ejemplo: crudo, a la plancha, cocido, al horno, frito,...

#### **COLUMNA 3: MEDIDA CASERA**

Indique la cantidad del alimento consumido utilizando una medida casera como puedan ser:

- Cucharita de postre
- Cuchara
- Vaso pequeño
- Vaso
- Número o porción de una pieza y su tamaño: (Ejemplo: un plátano, un filete pequeño, un cuarto de cebolla...).

#### **COLUMNA 4: CANTIDAD EN GRAMOS:**

En esta columna debe de indicar, si la conoce, la cantidad en gramos del alimento ingerido. Para ello puede ayudarse de la cantidad indicada en el envase. Es importante que al menos rellene una de estas dos últimas columnas para cada alimento o ingrediente.



Ejemplo :

ALIMENTOS	PREPARACIÓN	MEDIDA CASERA	CANTIDAD (gramos)
<b>Comida:</b>			
Patatas	fritas	Medio plato	
Filete de pechuga de pollo	plancha	Dos filetes	250 gramos
Pan blanco		Un bollo	60 gramos
Yogur natural azucarado		Un yogur	125 gramos
Melocotón		Una pieza	

5. Al final de cada tabla encontrará un casillero de **Incidencias** donde debe anotar si a lo largo de ese día ha tomado alguna medicación fuera de la habitual o si sufre alguna dolencia leve como pueda ser un dolor de cabeza, dolor de estómago...

Muchas gracias por su colaboración en este estudio.

Código	
--------	--

## EVALUACIÓN DE LA INGESTA NUTRICIONAL

### DATOS PERSONALES:

Nombre:

Edad:

1. ¿Alguno de los días recogidos en la encuesta comió o cenó fuera de casa?

DIA 1

DIA 2

DIA 3

DIA 4

Sí, una vez.

Sí, dos veces

No

2. ¿Considera que la dieta consumida en los días indicados fue la habitual?

DIA 1

DIA 2

DIA 3

DIA 4

Sí, fue un día habitual

La comida fue especial

La cena fue especial

Todas las comidas fueron especiales

3. ¿Realiza en la actualidad alguna dieta o régimen?

Sí

No

En caso afirmativo indique el motivo:

4. ¿Está tomando vitaminas o suplementos dietéticos?

Sí

No

En caso afirmativo indique el nombre y la cantidad diaria:

<b>DÍA 1</b>	Fecha:		
	Día de la semana:		
<b>ALIMENTOS</b>	<b>PREPARACIÓN</b>	<b>MEDIDA CASERA</b>	<b>CANTIDAD (gramos)</b>
<b>Desayuno:</b>			
<b>Media mañana:</b>			
<b>Comida:</b>			
<b>Merienda:</b>			
<b>Cena:</b>			
<b>Incidencias:</b>			

<b>DÍA 2</b>	Fecha:		
	Día de la semana:		
<b>ALIMENTOS</b>	<b>PREPARACIÓN</b>	<b>MEDIDA CASERA</b>	<b>CANTIDAD (gramos)</b>
<b>Desayuno:</b>			
<b>Media mañana:</b>			
<b>Comida:</b>			
<b>Merienda:</b>			
<b>Cena:</b>			
<b>Incidencias:</b>			

<b>DÍA 3</b>	Fecha:		
	Día de la semana:		
<b>ALIMENTOS</b>	<b>PREPARACIÓN</b>	<b>MEDIDA CASERA</b>	<b>CANTIDAD (gramos)</b>
<b>Desayuno:</b>			
<b>Media mañana:</b>			
<b>Comida:</b>			
<b>Merienda:</b>			
<b>Cena:</b>			
<b>Incidencias:</b>			

<b>DÍA 4</b>	Fecha:		
	Día de la semana:		
<b>ALIMENTOS</b>	<b>PREPARACIÓN</b>	<b>MEDIDA CASERA</b>	<b>CANTIDAD (gramos)</b>
<b>Desayuno:</b>			
<b>Media mañana:</b>			
<b>Comida:</b>			
<b>Merienda:</b>			
<b>Cena:</b>			
<b>Incidencias:</b>			

## ANEXO IV

## FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS

DURANTE EL ÚLTIMO AÑO, ¿CON QUÉ FRECUENCIA CONSUMIÓ LOS SIGUIENTES ALIMENTOS?:

ALIMENTOS	NUNCA	VECES/ DÍA	VECES/ SEMANA	VECES/ MES	VECES/ AÑO
<b>CARNES</b>					
Pollo / carne de aves					
Ternera / toro					
Cerdo					
Cordero					
Conejo					
Jamón serrano					
Jamón york					
Embutidos (chorizo, salchichas, mortadela, chóped, etc.)					
Hígado, riñón, corazón, sesos					
<b>PESCADO Y MARISCO</b>					
Pescado blanco (merluza, pescada, lenguado, rape, etc.)					
Pescado azul (atún, sardina, boquerón, caballa, aguja,					
Pescado en conserva					
Calamares, chopitos, pulpo, sepia o choco, etc.					
Mariscos (gambas, langostinos, almejas, mejillones, etc.)					
Peces de río (trucha, salmón, etc.)					
<b>HUEVOS</b>					
Huevo frito, cocido, tortilla, etc.					
<b>LEGUMBRES</b>					
Lentejas					
Garbanzos					
Judías blancas / chícharos					
Guisantes					
<b>CEREALES</b>					
Pan blanco					
Pan integral					
Pan de molde					
Arroz (en todas sus modalidades )					

ALIMENTOS	NUNCA	VECES/ DIA	VECES/ SEMANA	VECES/ MES	VECES/ AÑO
Pasta (fideos, macarrones, pizza, etc.)					
Patatas (fritas, cocidas, asadas, en tortilla, etc.)					
<b>LÁCTEOS</b>					
Leche entera					
Leche semidesnatada					
Leche desnatada					
Leche condensada					
Yogur entero					
Yogur desnatado					
Natillas/flan					
Queso fresco					
Queso manchego, bola.					
Queso en porciones					
Queso fundido					
Helados					
<b>GRASAS</b>					
Mantequilla					
Margarina					
Tocino, manteca					
Mayonesa					
Aceite oliva virgen					
Aceite oliva refinado (no virgen)					
Aceite de orujo (oliva)					
Aceite mezcla virgen-refinado					
Aceite de semillas (girasol, otros)					
Aceitunas					
<b>VERDURAS</b>					
Lechuga					
Tomate (natural, frito, en ensaladas, etc.)					
Pimiento ( " " " )					)
Zanahoria					
Judías verdes					



ALIMENTOS	NUNCA	VECES/ DIA	VECES/ SEMANA	VECES/ MES	VECES/ AÑO
Cebolla					
Col / coliflor					
Acelgas / espinacas					
Espárragos					
Habas frescas					
Champiñón y setas					
<b>FRUTAS</b>					
Manzanas					
Peras					
Naranjas / mandarinas					
Plátanos					
Melocotón					
Fresas					
Uvas					
Melón / sandía					
En conserva					
<b>DULCES Y PASTELES</b>					
Azúcar/miel					
Mermelada					
Chocolate / cacao					
Galletas / pastas / pasteles/ bollería / dulces / caramelos					
<b>BEBIDAS</b>					
Zumos de frutas envasados					
Refrescos ( cola y similares )					
Cerveza / sidra					
Vino					
Ron / Ginebra / Coñac / Anís / whisky / licores					
<b>FRUTOS SECOS</b>					
Almendras, avellanas, cacahuetes, nueces, etc.					)



## ANEXO V

## CUESTIONARIO INTERNACIONAL DE ACTIVIDAD FÍSICA (IPAQ-SF)

NOMBRE Y APELLIDOS: _____	
SEXO: VARÓN <input type="checkbox"/>	MUJER <input type="checkbox"/>
EDAD: _____	PROFESIÓN: _____
CORREO ELECTRÓNICO: _____	TELÉFONO: _____

Estamos interesados en saber acerca de la clase de actividad física que usted realiza como parte de su vida diaria. Las preguntas que aparecen a continuación hacen referencia al tiempo que usted ha empleado para ser físicamente activo(a) en los **últimos 7 días**. Por favor responda cada pregunta a pesar de que usted no se considere una persona físicamente activa. Por favor, piense en aquellas actividades que usted realiza como parte del trabajo, en el jardín y en la casa, para ir de un sitio a otro, y en su tiempo libre de descanso, ocio, ejercicio o deporte.

Piense acerca de todas aquellas actividades **vigorosas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **vigorosas** son las que requieren un esfuerzo físico fuerte y le hacen respirar mucho más fuerte de lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos durante 10 minutos continuos.

1. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días realizó usted actividades físicas **vigorosas** como levantar objetos pesados, excavar, aeróbicos, o pedalear rápido en bicicleta?

\_\_\_\_\_ días por semana

Ninguna actividad física vigorosa

➔ **Pase a la pregunta 3**

2. ¿Cuánto tiempo en total usualmente le tomó realizar actividades físicas **vigorosas** en uno de esos días que las realizó?

\_\_\_\_\_ horas por día

\_\_\_\_\_ minutos por día

No sabe/No está seguro(a)

Piense acerca de todas aquellas actividades **moderadas** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado y le hace respirar algo más fuerte que lo normal. Piense *solamente* en esas actividades que usted hizo por lo menos durante 10 minutos continuos.

3. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días hizo usted actividades físicas **moderadas** tal como cargar objetos livianos, pedalear en bicicleta a paso regular, o jugar dobles de tenis? No incluya caminatas.

\_\_\_\_\_ **días por semana**

Ninguna actividad física moderada



***Pase a la pregunta 5***

4. Usualmente, ¿Cuánto tiempo dedica usted en uno de esos días haciendo actividades físicas **moderadas**?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

Piense acerca del tiempo que usted dedicó a caminar en los **últimos 7 días**. Esto incluye trabajo en la casa, caminatas para ir de un sitio a otro, o cualquier otra caminata que usted hizo únicamente por recreación, deporte, ejercicio, o placer.

5. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuántos días caminó usted por al menos 10 minutos continuos?

\_\_\_\_\_ **días por semana**

No caminó



***Pase a la pregunta 7***

6. Usualmente, ¿Cuánto tiempo gastó usted en uno de esos días **caminando**?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)

La última pregunta se refiere al tiempo que usted permaneció **sentado(a)** durante los **últimos 7 días**. Incluya el tiempo que permaneció sentado(a) en el trabajo, en casa, estudiando, y en su tiempo libre. Esto puede incluir tiempo sentado(a) en un escritorio, visitando amigos(as), leyendo o permaneciendo sentado(a) o acostado(a) mirando la televisión.

7. Durante los **últimos 7 días**, ¿Cuánto tiempo permaneció **sentado(a)** en un **día en la semana**?

\_\_\_\_\_ **horas por día**

\_\_\_\_\_ **minutos por día**

No sabe/No está seguro(a)



