



**Universidad de Granada**

**DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGÍA. FACULTAD DE FARMACIA**

**Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos "José Mataix Verdú"**

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

**Línea de investigación: Nutrición humana y experimental en situaciones fisiológicas y patológicas**

**“Efecto de una suplementación de corta duración con Ubiquinol sobre indicadores de estrés oxidativo y funcionalidad muscular asociados a un ejercicio físico intenso”**

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

**Álvaro Sarmiento Ramírez**

**Granada, 2017**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: Álvaro Sarmiento Ramírez  
ISBN: 978-84-9163-758-5  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/49373>



UGR

Universidad  
de Granada

**Dr. D. JULIO JOSÉ OCHOA HERRERA, Profesor Titular del Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada;**

**INFORMA:**

Como Director de la Tesis y hasta donde mi conocimiento alcanza, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando 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

En Granada, a 2 de Noviembre de 2017.





ugr

Universidad  
de Granada

**Dr. D. RAFAEL GUIADO BARRILAO, Catedrático de Escuela Universitaria y Profesor Titular del Departamento de Enfermería de la Universidad de Granada;**

**INFORMA:**

Como Director de la Tesis y hasta donde mi conocimiento alcanza, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando 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.: Rafael Guisado Barrilao

En Granada, a 2 de Noviembre de 2017.



El Doctorando ÁLVARO SARMIENTO RAMÍREZ, y los directores de la presente Tesis, Dr. D. JULIO JOSÉ OCHOA HERRERA y Dr. D. RAFAEL GUISADO BARRILAO, garantizamos, al firmar esta Tesis Doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la Tesis y, hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Directores de la Tesis



Fdo.: Julio José Ochoa Herrera

Doctorando



Fdo.: Álvaro Sarmiento Ramírez



Fdo.: Rafael Guisado Barrilao

En Granada, a 2 de Noviembre de 2017.





*A mis padres.*

*A mis hermanos.*



## AGRADECIMIENTOS

---

Una vez llegado el final de este arduo camino que inicié hace algunos años, me complace dedicarles unas palabras de agradecimiento a aquellas personas que, de una forma u otra, han colaborado en la consecución de todo este proceso, el cual ha supuesto todo un reto para mí.

Primeramente, me gustaría agradecerles a mis directores, el Dr. D. Julio José Ochoa Herrera y el Dr. D. Rafael Guisado Barrilao, todo el apoyo y generosidad mostrados durante todo este camino. Gracias Julio, por haberme enriquecido con sus conocimientos, por la confianza depositada en mí, y por su paciencia. Gracias Rafa, porque usted fue quien me ofreció su apoyo y confianza para iniciarme en este mundo de la investigación, por todo lo que he aprendido de usted, por su predisposición, siempre amable, por la ayuda que me ha prestado siempre, y por ser un auténtico ejemplo en el desempeño profesional; por todo ello le estaré eternamente agradecido.

Gracias también a todo el equipo que ha formado parte de este proyecto de investigación, especialmente a ti, Javier Díaz Castro, porque contigo todo siempre es más fácil.

Gracias a todos los voluntarios del Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada (Parque de Bomberos Sur y Bomberos Parque Norte) que han participado altruistamente en este proyecto, por su predisposición, su esfuerzo, y su amabilidad.

Finalmente, gracias a mi familia, a mis padres y hermanos, por brindarme un hogar lleno de amor, por los valores que me habéis inculcado y por mostrarme que el esfuerzo siempre tiene su recompensa; gracias por estar siempre ahí, para todo, y tener yo esa certeza siempre presente.



*"No es más fuerte quien menos veces cae en la vida,  
sino quien más veces se levanta tras la caída"*

Manuel Ant



## **ÍNDICE GENERAL**

---





<b>RESUMEN</b>	I
<b>LISTADO DE ABREVIATURAS</b>	V
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	XI
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	XIII

## **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS**

<b>1. Ejercicio físico y salud</b>	1
1.1. Breve aclaración conceptual	1
1.2. Efectos beneficiosos del ejercicio físico	2
1.3. Adaptaciones fisiológicas inducidas por el ejercicio físico	5
<b>2. Ejercicio físico extenuante o no programado</b>	12
2.1. Efectos sobre el estrés oxidativo	14
2.2. Efectos sobre el daño muscular	19
2.3. Efectos sobre la inflamación	24
2.4. Efectos sobre el rendimiento	27
<b>3. El uso de suplementos antioxidantes y ejercicio físico</b>	32
<b>4. La Coenzima Q10</b>	36
4.1. Estructura molecular, localización y formas	36
4.2. Funciones relacionadas con la bioenergética celular	39
4.2.1. Transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial	39
4.2.2. Función reguladora en el sistema redox de la membrana plasmática	40
4.3. Función antioxidante	41
4.4. Otras funciones	44
4.4.1. Cofactor para la función de proteínas desacoplantes	44
4.4.2. Señalización celular y expresión génica	44
4.4.3. Prevención de la apoptosis o muerte celular programada	47
4.4.4. Efectos anti-inflamatorios	48
4.4.5. Mantenimiento del pH en la membrana lisosomal	49
4.5. Biosíntesis de Coenzima Q	49
4.6. Aspectos relacionados con la suplementación oral	53
4.6.1. Absorción y transporte de Coenzima Q10	53
4.6.2. Respuesta plasmática/sérica a la Coenzima Q10/Ubiquinol administrados oralmente y captación en tejidos	54
4.6.3. Ubiquinol versus Ubiquinona	56
4.6.4. Seguridad y dosis de Coenzima Q10/Ubiquinol en atletas/deportistas	57
4.7. Suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol y ejercicio físico	59
4.7.1. Efectos de la suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol sobre el estrés oxidativo e inflamación inducidos por el ejercicio	62
4.7.2. Efectos de la suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol sobre el daño muscular inducido por el ejercicio	67
4.7.3. Efectos de la suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol sobre el rendimiento en el ejercicio	68

## **CAPÍTULO II. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

<b>1. Justificación</b>	77
<b>2. Hipótesis de estudio</b>	79
<b>3. Objetivos</b>	80

**CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS**

<b>1. Diseño metodológico</b>	83
1.1. Tipo de estudio	83
1.2. Muestra poblacional	83
1.2.1. Selección de la muestra	84
1.3. Diseño experimental	86
1.3.1. Reconocimiento inicial	87
1.3.2. Valoración nutricional y de actividad física	88
1.3.3. Análisis de impedancia bioeléctrica	89
1.3.4. Protocolo de suplementación	90
1.3.5. Protocolo de ejercicio físico intenso	90
<b>2. Procedimientos y evaluaciones</b>	93
2.1. Extracción y preparación de muestras sanguíneas y de orina	93
2.2. Determinación de los marcadores bioquímicos de estrés oxidativo	94
2.2.1. Daño oxidativo en plasma	94
2.2.1.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)	94
2.2.1.2. Peróxidos de lípidos	96
2.2.1.3. LDL-oxidada	98
2.2.1.4. Proteínas Carbonilo	99
2.2.2. Daño oxidativo de membrana de eritrocitos	101
2.2.2.1. Peróxidos de lípidos	101
2.2.2.2. Proteínas carbonilo (PC)	102
2.2.3. Daño oxidativo en orina	102
2.2.3.1. Isoprostanos	102
2.2.3.2. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)	103
2.3. Determinación de los marcadores bioquímicos de defensa antioxidante	103
2.3.1. Capacidad antioxidativa plasmática total (ORAC)	103
2.3.2. Antioxidantes liposolubles en plasma (Retinol, $\beta$ -caroteno, Tocoferol, Coenzima Q9 y Coenzima Q10)	105
2.3.3. Antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos (Vitamina E y Coenzima Q10)	107
2.3.4. Enzimas citosólicas antioxidantes (CAT, SOD y GPx)	108
2.4. Determinación de los marcadores bioquímicos de daño muscular	109
2.4.1. Lactato (Lac)	109
2.4.2. Óxido Nítrico (NO)	110
2.4.3. Isoforma de la creatina quinasa asociada al músculo esquelético (CK-MM)	111
2.4.4. TNNI1 y TNNI2	111
2.4.5. Mioglobina (MB)	112
2.5. Evaluación de parámetros de rendimiento	113
2.5.1. Carga, número de repeticiones y percepción del esfuerzo	113
2.5.2. Fuerza muscular en press banca (Máquina Smith)	113
2.6. Método estadístico	115

**CAPÍTULO IV. RESULTADOS**

<b>1. Descripción de la población</b>	119
1.1. Características basales	119
1.2. Valoración nutricional y de actividad física	119
1.3. Análisis de impedancia bioeléctrica	120
<b>2. Marcadores bioquímicos de estrés oxidativo</b>	121
2.1. Daño oxidativo en plasma	121

## ÍNDICE GENERAL

2.1.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)	121
2.1.2. Peróxidos de lípidos	122
2.1.3. LDL-oxidada	123
2.1.4. Proteínas Carbonilo	124
2.2. Daño oxidativo en membrana de eritrocitos	125
2.2.1. Peróxidos de lípidos	125
2.2.2. Proteínas carbonilo (PC)	126
2.3. Daño oxidativo en orina	127
2.3.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)	127
2.3.2. Isoprostanos	128
<b>3. Marcadores bioquímicos de defensa antioxidante</b>	129
3.1. Capacidad antioxidativa plasmática total (ORAC)	129
3.2. Antioxidantes liposolubles en plasma (Retinol, $\beta$ -caroteno, Tocoferol, Coenzima Q9 y Coenzima Q10)	130
3.3. Antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos (Vitamina E y Coenzima Q10)	132
3.4. Enzimas citosólicas antioxidantes (CAT, SOD y GPx)	133
<b>4. Marcadores bioquímicos de daño muscular</b>	135
4.1. Lactato (Lac)	135
4.2. Óxido Nítrico (NO)	136
4.3. Isoforma de la creatina quinasa asociada al músculo esquelético (CK-MM)	137
4.4. TNNI1 y TNNI2	138
4.5. Mioglobina (MB)	140
<b>5. Parámetros de rendimiento</b>	141
5.1. Carga, número de repeticiones y percepción del esfuerzo	141
5.2. Fuerza muscular en press banca (Máquina Smith)	144

## CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

---

<b>1. Efecto de la suplementación sobre marcadores bioquímicos de estrés oxidativo y defensa antioxidante</b>	151
<b>2. Efecto de la suplementación sobre marcadores bioquímicos de daño muscular</b>	160
<b>3. Efecto de la suplementación sobre el rendimiento físico</b>	164

<b>CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES</b>	171
----------------------------------	-----

---

<b>CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	175
---	-----

---

## ANEXOS

---

<b>ANEXO I</b>	215
<b>ANEXO II</b>	217
<b>ANEXO III</b>	218
<b>ANEXO IV</b>	226
<b>ANEXO V</b>	229



**RESUMEN**

---



## RESUMEN

La práctica de actividad física y/o ejercicio físico regular, con una intensidad, duración y frecuencia adecuadas, produce numerosas adaptaciones en el organismo que son, en general, beneficiosas para la salud y el bienestar, configurándose como un medio eficaz para la prevención de enfermedades y para mejorar la calidad de vida de las personas.

Sin embargo, los efectos beneficiosos del ejercicio se pierden o disminuyen con la realización de un ejercicio físico extenuante o no programado, ya que este tipo de ejercicio induce a un aumento en la generación de especies reactivas del nitrógeno y del oxígeno (RONS) que puede exceder la capacidad protectora del sistema antioxidante y conducir a un estado de estrés oxidativo, además de producir daño muscular e incrementar los niveles de mediadores pro-inflamatorios y citoquinas circulantes, provocando, de este modo, una desregulación en los diferentes sistemas y tejidos del organismo que puede derivar en consecuencias perjudiciales para la salud, además de afectar, por ende, al rendimiento físico.

En este contexto, se ha investigado ampliamente la capacidad del uso de suplementos antioxidantes exógenos para mantener el equilibrio oxidativo en estados de estrés durante el ejercicio. Existe evidencia científica al respecto, que apoya la capacidad de los compuestos antioxidantes para paliar el daño oxidativo y muscular, así como para ofrecer una ayuda ergogénica para mejorar el rendimiento y, la Coenzima Q10 (CoQ10) se configura como una de las sustancias empleadas para tal efecto, ya que posee propiedades relacionadas con la actividad antioxidante y la bioenergética celular, siendo un cofactor esencial en la fosforilación oxidativa mitocondrial y en la producción de ATP.

Sin embargo, el número de estudios al respecto es escaso y la inmensa mayoría ha empleado la forma oxidada de la CoQ10 (ubiquinona). El ubiquinol, la forma reducida, se produce naturalmente en el cuerpo humano y, varios estudios han demostrado que posee una mayor biodisponibilidad y es más eficaz, de forma más rápida y con dosis más bajas que la tradicional ubiquinona, ya que se encuentra en su forma activa y no tiene que ser convertido por el organismo

Por tanto, en el presente estudio se ha evaluado el *Efecto de una suplementación de corta duración con Ubiquinol sobre indicadores de estrés oxidativo y funcionalidad muscular asociados a un ejercicio físico intenso* en sujetos sanos entrenados.

Para ello, se ha empleado una muestra inicial de 100 participantes, varones sanos pertenecientes al Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada con niveles altos de actividad física, que fueron divididos en dos grupos de 50 sujetos cada uno: Grupo Ubiquinol (grupo de intervención) y Grupo Placebo (grupo control). Ambos grupos fueron suplementados con una dosis oral de 200 mg/día de Kaneka Ubiquinol

(Kaneka Corporation, Osaka, Japan) o placebo, respectivamente. El protocolo de ejercicio físico llevado a cabo consistió en la realización de dos sesiones de ejercicio físico intenso o extenuante idénticas (circuito de musculación de 10 ejercicios; 2 series) con un período de descanso de 24 h entre ambas. La dinámica de trabajo en cada ejercicio consistió en realizar el máximo número de repeticiones durante 20 s, maximizando la carga de trabajo, con 40 s de recuperación entre ejercicios. La carga de trabajo mínima correspondió, aproximadamente, con el 60-70% de la fuerza dinámica máxima o repetición máxima (1RM), y el esfuerzo realizado fue de carácter anaeróbico-aeróbico.

Se tomaron muestras de sangre y orina de los participantes antes del inicio de la suplementación (valor basal) (T1), después del período de suplementación (2 semanas) (T2), tras la primera sesión de ejercicio físico intenso (T3), después del período de descanso de 24 h (T4) y, finalmente, tras completar la segunda sesión de ejercicio físico intenso (T5).

Se ha evaluado el efecto de la suplementación sobre: 1) marcadores bioquímicos de daño oxidativo en plasma (8-OHdG, peróxidos de lípidos, Ox-LDL y PC), membrana de eritrocitos (peróxidos de lípidos y PC) y orina (8-OHdG e Isoprostanos); 2) marcadores bioquímicos de defensa antioxidante en plasma (ORAC), liposolubles en plasma (retinol, caroteno, vitamina E, coenzima Q9 y coenzima Q10), liposolubles en membrana de eritrocitos (vitamina E y coenzima Q10) y enzimas citosólicas antioxidantes (CAT, SOD y GPx); 3) marcadores bioquímicos de daño muscular en plasma (Lac, NO, CK-MM, TNNI1, TNNI2 y MB); y 4) parámetros de rendimiento, valores promedio de cada serie (carga o peso desplazado, nº de repeticiones y percepción del esfuerzo), y fuerza muscular desarrollada en press banca en máquina Smith (fuerza máxima, potencia y velocidad de potencia máxima).

Los resultados obtenidos revelan la gravedad y el carácter acumulativo del daño oxidativo y muscular inducido por el protocolo de ejercicio intenso llevado a cabo, ya que en ambos grupos experimentales se registraron incrementos significativos tras la realización de la segunda sesión de ejercicio (T5) respecto a los valores basales (T1) en las siguientes variables: peróxidos de lípidos, Ox-LDL y PC en plasma, peróxidos de lípidos en membrana de eritrocitos, isoprostanos en orina, Lac, NO, MB, CK-MM, TNNI1 y TNNI2.

Respecto a los resultados conseguidos en las variables de daño oxidativo y defensa antioxidante, el grupo suplementado con ubiquinol, en comparación con el placebo, registró una reducción en la concentración de isoprostanos en orina tras la primera sesión de ejercicio (T3) y tras la recuperación (T4), en 8-OHdG en orina tras recuperación (T4) y en plasma tras la segunda sesión de ejercicio (T5), en peróxidos de lípidos y PC en membrana de eritrocitos tras la segunda sesión de ejercicio (T5), por lo



## RESUMEN

que estos resultados resaltan el efecto antioxidante y protector del ubiquinol durante el ejercicio.

La suplementación con ubiquinol también disminuyó la Ox-LDL en T4, revelando un efecto protector en la oxidación de las lipoproteínas y, asimismo, un efecto positivo en la capacidad antioxidante total en plasma en T2 y T4, que a su vez puede resultar de su efecto sobre los antioxidantes liposolubles plasmáticos, en particular tocoferol y CoQ10, mostrando, además, un efecto positivo sobre la isoforma Q9 en plasma y CoQ10 en membrana eritrocitaria. El ubiquinol también mostró un efecto sobre la actividad de la CAT tras la suplementación (T2).

Asimismo, los niveles de NO en el grupo suplementado con ubiquinol se mantuvieron dentro de un intervalo estrecho, obteniéndose un incremento significativo respecto al placebo en T5, lo cual presupone una acción vasodilatadora debida al ubiquinol, que ayuda tanto al rendimiento físico como al suministro de nutrientes en la recuperación muscular. En cuanto a los resultados obtenidos en los biomarcadores de daño muscular en plasma, la suplementación con ubiquinol redujo la concentración de MB en T2 y T5, de CK-MM en T5, de TNNI1 en T2 y TNNI2 en T3, por lo que también ha resultado eficaz en paliar el daño muscular inducido por el ejercicio.

Finalmente, en referencia a los parámetros de rendimiento evaluados, se han registrado incrementos en el grupo suplementado, tanto en variables como la carga (peso desplazado en kg) y el número de repeticiones, en ambas series de la segunda y primera sesión de ejercicio, respectivamente, así como mejoras en la fuerza muscular, potencia y velocidad de potencia máxima desarrollada en el ejercicio de press banca en máquina Smith en algún punto. Además, la suplementación ha producido mejoras en variables de componente psicológico como la percepción del esfuerzo realizado, concretamente durante la primera serie de la primera sesión de ejercicio intenso.

Por consiguiente, en base a los resultados obtenidos en el presente estudio se concluye que el estrés oxidativo inducido por el ejercicio extenuante es acumulativo y aumenta transitoriamente en sesiones posteriores de ejercicio, y que una suplementación de corta duración (2 semanas) con ubiquinol (200 mg/día), previa a la realización de un ejercicio físico intenso, parece tener un efecto modulador en el daño oxidativo y muscular, puede mejorar la defensa antioxidante y aumentar el NO plasmático, hechos que podrían mejorar la función endotelial, el suministro de sustrato energético y la recuperación muscular y, además, puede producir mejoras en el rendimiento físico durante el ejercicio debido a su potencial ergogénico.



## LISTADO DE ABREVIATURAS

---

1RM: Repetición máxima. Del inglés *“One-Repetition Maximum”*.

8-OHdG: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina.

µg: Microgramo(s).

µl: Microlitro(s)

°C: Grados centígrados.

ACSM: American College of Sports Medicine. Traducción: Colegio Americano de Medicina Deportiva).

ADN: Ácido desoxirribonucleico.

AHA: American Heart Association. Traducción: Asociación Americana del Corazón).

ALS: Aldolasa.

AMA: Agencia Mundial Antidopaje.

AMP: Adenosín monofostato.

ARNm: ARN mensajero.

AST: Aspartato aminotransferasa.

ATP: Adenosín trifosfato. Del inglés *“Adenosine Triphosphate”*.

bar: Bar(ias). Unidad de presión.

BSA: Albúmina de suero bovino. Del inglés *“Bovine serum albumin”*.

CAT: Catalasa.

Ca<sup>2+</sup>: Ion Calcio.

CA III: Anhídrido carbónico III.

CK: Creatina quinasa.

CK-BB: Isoforma cerebral de la creatina quinasa.

CK-MB: Isoforma asociada al tejido cardíaco de la creatina quinasa. Subunidad B (células nerviosas) y subunidad M (músculo).

CK-MM: Isoforma asociada al músculo esquelético de la creatina quinasa.

Cl<sup>-</sup>: Ion cloruro.

CoQ: Coenzima Q.

CoQ10: Coenzima Q10.

CoQH: Ubisemiquinona.

CoQH2: Ubiquinol.

CRP: Proteína C reactiva. Por sus siglas en inglés "*C-reactive protein*".

Da: Dalton (Unidad de masa atómica y/o molecular).

DBP: Presión arterial diastólica. Del inglés "*Diastolic Blood Pressure*".

DO: Densidad óptica.

DOMS: Dolor muscular de aparición tardía. Del inglés "*Delayed Onset Muscular Soreness*".

DS: Desviación típica o estándar.

ECV: Enfermedad cardiovascular.

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético. Del inglés "*Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate*".

ELISA: Ensayo competitivo de inmunoabsorción enzimática. Del inglés "*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*".

eNOS: Óxido nítrico sintasa endotelial. Del inglés "*endothelial Nitric Oxide Synthase*".

FC: Frecuencia cardiaca.

FPP: Farnesil pirofosfato.

F<sub>2</sub>-IsoPS: F<sub>2</sub>-Isoprostanos.

FRAP: Potencial reductor/antioxidante férrico. Del inglés "*Ferric Reducing Ability of Plasma*".

GMO: Alimentos genéticamente modificados. Del inglés "*Genetically Modified Foods*".

GPx: Glutatión peroxidasa.

GSH: Glutatión.

GXT: Prueba de esfuerzo graduada. Del inglés "*Grade Exercise Test*".

h: hora(s).

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

HDL: Lipoproteínas de alta densidad. Del inglés "*High Density Lipoprotein*".

HMG-CoA: 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A.

HO-1: Hemooxigenasa 1.

HRP: Peroxidasa del rábano. Del inglés "*Horseradish Peroxidase*".

Hz: Hercio o hertz.

IκB: Inhibidores de kappa B.

IPP: Isopentenil pirofosfato.

IL-1: Interleucina 1.

IL-1RA: Antagonista del receptor de interleucina 1.

IL-1β: Interleucina 1 beta.

IL-6: Interleucina 6.

IL-8: Interleucina 8.

IL-10: Interleucina 10.

IMC: Índice de masa corporal.

K<sup>+</sup>: Ion potasio.

kg: Kilogramo(s).

KM: Constante de Michaelis.

kV: Kilovoltio(s).

l: Litro(s).

Lac: Lactato.

LDL: Lipoproteínas de baja densidad. Del inglés "*Low Density Lipoprotein*".

LDH: Lactato deshidrogenasa.

LPS: Lipopolisacáridos.

MB: Mioglobina.

MDA: Malondialdehído.

MET(s): Unidad de medida del índice metabólico. Equivale a 58 W/m<sup>2</sup> (50 kcal/h·m<sup>2</sup>).

mg: miligramo(s).

min: minuto(s).

ml: Mililitro(s).

mM: Milimolar.

mmHg: Milímetros de Mercurio.

mmol: Milimol(es).

MRM: Monitorización de múltiples reacciones. Del inglés *“Multiple Reaction Monitoring”*.

ms: Milisegundo(s).

N: Newton(s).

Na<sup>+</sup>: Ion sodio.

NAD<sup>+</sup>: Nicotinamida adenina dinucleótido en su forma oxidada.

NADH: Nicotinamida adenina dinucleótido en su forma reducida.

NAD(P)H: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida.

NF-κB1: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas 1.

NFκB: Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas.

nm: Nanómetro(s).

nmol: Nanomol(es).

NO: Óxido nítrico. Del inglés *“Nitric Oxid”*.

NQO1: NAD(P)H deshidrogenasa [quinona] 1.

Nrf2: Factor nuclear derivado de eritroides 2.

O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Anión superóxido.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

ORAC: Capacidad de absorción de radicales de oxígeno. Del inglés *“Oxygen Radical Absorbance Capacity”*.

Ox-LDL: Lipoproteínas de baja densidad oxidadas. Del inglés "*Oxidized Low-Density Lipoprotein*".

P<sub>i</sub>: Fosfato inorgánico.

PBS: Tampón fosfato salino. Del inglés "*Phosphate Buffered Saline*".

PC: Proteínas carbonilo.

PCr: Fosfocreatina.

pg: Picogramo.

ppm: Pulsaciones por minuto.

ROS: Especies reactivas del oxígeno. Del inglés "*Reactive Oxygen Species*".

RNS: Especies reactivas del nitrógeno. Del inglés "*Reactive Nitrogen Species*".

RONS: Especies reactivas del nitrógeno y del oxígeno. Del inglés "*Reactive Nitrogen and Oxygen Species*".

s: segundo(s).

SBP: Presión arterial sistólica. Del inglés "*Systolic Blood Pressure*".

SNC: Sistema nervioso central.

SNP: Sistema nervioso periférico.

SOD: Superóxido dismutasa.

TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Del inglés "*Thiobarbituric Acid Reactive Substances*".

TEAC: Capacidad antioxidante equivalente de Trolox. Del inglés "*Trolox Equivalent Antioxidant Capacity*".

TLR-4: Proteína de Receptores tipo Toll 4. Del inglés "*Toll-like receptor 4*".

TMB: Tetrametilbencidina.

TNF- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral alfa. Del inglés "*Tumor Necrosis Factor Alpha*".

TNI: Troponina I.

TNNI1: Gen de Troponina I de tipo 1 (músculo esquelético, contracción lenta).

TNNI2: Gen de Troponina I de tipo 2 (músculo esquelético, contracción rápida).

TNT: Troponina T.

TRAP: Protocolo de amplificación repetido de telomerasa. Del inglés *“Telomerase Repeated Amplification Protocol”*.

UCPs: Cofactor para la función de proteínas desacoplantes. Del inglés *“Uncoupling Cofactor for Proteins function”*.

UPLC-MS/MS: Espectrometría de masas en tándem de cromatografía líquida de ultra rendimiento. Del inglés *“Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry”*.

VDAC: Canal aniónico dependiente de voltaje. Del inglés *“Voltage-dependent anion channel”*.

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad. Del inglés *“Very Low Density Lipoprotein”*.

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

W: Vatios. Del inglés *“Watts”*.



## ÍNDICE DE TABLAS

---

### **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS**

Tabla I. Evidencia de la relación dosis-respuesta entre la actividad física y/o ejercicio regular y la salud. Fuente: Adaptado de Bhagavan & Chopra (2006).

Tabla II. Beneficios de la práctica de actividad física y/o ejercicio regular. Fuente: Adaptado de American College of Sports Medicine (2014).

Tabla III. Manifestaciones comunes de fatiga durante el ejercicio o la competencia deportiva. Fuente: Adaptado de Knicker et al. (2011).

Tabla IV. Resumen de los posibles sitios donde se produce la fatiga asociada al ejercicio. Fuente: Adaptado de Ament & Verkerke (2009).

Tabla V. Suplementos nutricionales más comunes en el ámbito del ejercicio físico. Fuente: Adaptado de Burke et al. (2009).

Tabla VI. Distribución y estado redox de CoQ10 en tejidos humanos. Fuente: Adaptado de American College of Sports Medicine (2014).

### **CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS**

Tabla VII. Composición de las cápsulas de ubiquinol y placebo.

### **CAPÍTULO IV. RESULTADOS**

Tabla VIII. Características basales de los sujetos experimentales.

Tabla IX. Resultados del análisis nutricional de macro y micronutrientes.

Tabla X. Resultados del Cuestionario Internacional de Actividad Física-Versión Corta (IPAQ-SF).

Tabla XI. Resultados Análisis de Impedancia Bioeléctrica.

Tabla XII. Efecto del ejercicio y la suplementación con ubiquinol sobre antioxidantes liposolubles en plasma.

Tabla XIII. Efecto del ejercicio y la suplementación con ubiquinol sobre antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos.



## ÍNDICE DE FIGURAS

---

### **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS**

Figura 1. Modelo de dos niveles de sistemas de control en respuesta al ejercicio. Fuente: Adaptado de Walz (2005).

Figura 2. Respuestas fisiológicas producidas por la práctica de ejercicio físico agudo. Fuente: Adaptado de Hawley et al. (2014).

Figura 3. Adaptaciones a largo plazo de los órganos humanos a las exposiciones repetidas de ejercicio de resistencia. Fuente: Adaptado de Heinonen et al. (2014).

Figura 4. Mecanismos potenciales del incremento en la producción de RONS relacionados con el ejercicio. Fuente: Adaptado de Bloomer & Goldfarb (2004).

Figura 5. Respuesta de las citoquinas al ejercicio. Fuente: Córdova (2010).

Figura 6. Activación endotelial de citoquinas durante el ejercicio. Fuente: Adaptado de Butterfield et al. (2006).

Figura 7. Tres niveles de evaluación/medición de la fatiga/rendimiento. Fuente: Adaptado de Knicker et al. (2011).

Figura 8. Formas redox alternativas de la Coenzima Q. Fuente: Varela-López et al. (2016).

Figura 9. Rol de la Coenzima Q en la cadena respiratoria mitocondrial. Fuente: Varela-López et al. (2016).

Figura 10. Representación esquemática de la acción antioxidante de la CoQ para prevenir la peroxidación lipídica.

Figura 11. Efectos estimulantes (→) o inhibitorios (⊥) de la Coenzima Q sobre la expresión génica. Fuente: Varela-López et al. (2016).

Figura 12. La vía del mevalonato y los pasos terminales en la síntesis de CoQ, colesterol, dolicol y proteínas isopreniladas. Fuente: Bentinger et al. (2010).

Figura 13. Potenciales efectos de la suplementación con Coenzima Q10 en el ejercicio físico.

### **CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS**

Figura 14. Diagrama de flujo de los participantes del estudio.

Figura 15. Representación esquemática del diseño experimental del estudio.

Figura 16. Tensiómetro digital de muñeca utilizado para tomar la presión arterial.

Figura 17. Analizador de composición corporal Tanita TBF-300GS y estadímetro SECA 213 utilizados para pesar y medir a los sujetos.

Figura 18. Circuito de ejercicios de musculación.

Figura 19. Escala de percepción del esfuerzo OMNI-RES. Fuente: Robertson et al. (2003).

Figura 20. Disposición para la carga de la muestra en triplicados.

Figura 21. Curva estándar típica en todo el rango del ensayo a la respuesta de absorbancia a la concentración de 8-OHdG en ng/ml.

Figura 22. Curva estándar típica en todo el rango del ensayo a la respuesta de absorbancia a la concentración de proteínas carbonilo en nmol/mg.

Figura 23. Curva estándar típica en todo el rango del ensayo a la respuesta de absorbancia a la concentración de peróxidos de hidrógeno en  $\mu\text{mol/l}$ .

Figura 24. Principio del ensayo para la determinación de ORAC.

Figura 25. Equipo UPLC Acquity H-Class acoplado a un detector de triple cuadrupolo Xevo TQ-S.

Figura 26. Press banca en Máquina Smith.

Figura 27. Dispositivo de desplazamiento lineal utilizado (T -Force System, Ergotech).

#### **CAPÍTULO IV. RESULTADOS**

Figura 28. Gráfico concentración de 8-OHdG en plasma (ng/ml) en cada toma de muestra.

Figura 29. Gráfico concentración de peróxidos de lípidos en plasma ( $\mu\text{M}$ ) en cada toma de muestra.

Figura 30. Gráfico concentración de LDL-oxidada en plasma (U/l) en cada toma de muestra.

Figura 31. Gráfico concentración de Proteínas Carbonilo en plasma (nmol/mg) en cada toma de muestra.

Figura 32. Gráfico concentración de peróxidos de lípidos en membrana de eritrocitos ( $\mu\text{M}$ ) en cada toma de muestra.

Figura 33. Gráfico concentración de proteínas carbonilo en membrana de eritrocitos (nmol/mg) en cada toma de muestra.

Figura 34. Gráfico concentración de 8-OHdG en orina (ng/ml) en cada toma de muestra.

Figura 35. Gráfico concentración de Isoprostanos (15-F2t) en orina (ng/ml) en cada toma de muestra.

Figura 36. Gráfico capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) (mmoles de Trolox equivalentes/l) en cada toma de muestra en plasma.

Figura 37. Gráfico catalasa citosólica (U/ml) en cada toma de muestra.

Figura 38. Gráfico superóxido dismutasa citosólica (U/ml) en cada toma de muestra.

Figura 39. Gráfico glutatión peroxidasa (U/ml) en cada toma de muestra.

Figura 40. Gráfico lactato (mmol/l) en cada toma de muestra.

Figura 41. Gráfico óxido nítrico (NO) ( $\mu\text{M}$ ) en cada toma de muestra.

Figura 42. Gráfico CK-MM (ng/ml) en cada toma de muestra.

Figura 43. Gráfico TNNI1 (pg/ml) en cada toma de muestra.

Figura 44. Gráfico TNNI2 (pg/ml) en cada toma de muestra.

Figura 45. Gráfico concentración de mioglobina (ng/ml) en cada toma de muestra.

Figura 46. Gráfico promedio carga desplazada (kg) en cada serie (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

Figura 47. Gráfico promedio número de repeticiones en cada serie (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

Figura 48. Gráfico promedio percepción del esfuerzo Escala OMNI-RES (Robertson et al., 2003) en cada serie (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

Figura 49. Gráfico fuerza máxima (N) desarrollada en press banca en máquina Smith en cada ejercicio (2 y 6) de cada serie (S1 y S2) en cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

Figura 50. Gráfico potencia (W) desarrollada en press banca en máquina Smith en cada ejercicio (2 y 6) de cada serie (S1 y S2) en cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

Figura 51. Gráfico velocidad de máxima potencia (m/s) desarrollada en press banca en máquina Smith en cada ejercicio (2 y 6) de cada serie (S1 y S2) en cada sesión de ejercicio (E1 y E2).



**CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL:  
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA Y ANTECEDENTES  
BIBLIOGRÁFICOS**

---





## 1. Ejercicio físico y salud

---

### 1.1. Breve aclaración conceptual

Primeramente, se hace necesario proporcionar una definición básica de los términos “actividad física” y “ejercicio físico”, ya que ambos conceptos se utilizan a menudo indistintamente en su forma más amplia, tanto en los distintos medios de comunicación como incluso, en ocasiones, en el ámbito científico. Por tanto, es importante reconocer que la orientación de ambos conceptos tiende a diferenciarlos, aunque presentan una serie de elementos comunes.

“**Actividad física**” se refiere a cualquier movimiento corporal producido por el músculo esquelético que se traduce en un gasto energético por encima del gasto metabólico basal (Caspersen et al., 1985). En consecuencia, el gasto energético refleja la intensidad de la actividad física realizada (Lamonte & Ainsworth, 2001).

El término “**ejercicio físico**”, en cambio, se considera una subcategoría de la actividad física, y se define como una actividad física planificada, estructurada, repetitiva, y con objetivos, en el sentido de que persigue la mejora o el mantenimiento de uno o más componentes de la condición física (Caspersen et al., 1985).

A continuación, durante el desarrollo del presente texto, se hará referencia a ambos conceptos de forma diferenciada, aunque en la literatura científica consultada, en ocasiones, no se ha tenido en cuenta dicha diferenciación conceptual, intercambiándose ambos conceptos.

Por otro lado, “**condición física**” o “**aptitud física**” se define como la capacidad de realizar una actividad física y hace referencia a una amplia gama de cualidades fisiológicas y psicológicas (Ortega et al., 2008), considerándose como una medida integrada por la mayoría, si no todas, las funciones corporales (locomotora, cardio-respiratoria, hemato-circulatoria, psiconeurológica y endocrino-metabólica) que participan en el rendimiento de la actividad física diaria y/o el ejercicio físico (Ortega et al., 2008).

Es interesante apuntar también que, independientemente de que una adecuada condición física se logre a través de la práctica de actividad física espontánea o realizando ejercicio físico regular, ésta puede conferir una capacidad de recuperación o resistencia, “*resilience*” en inglés, que se define como la capacidad de resistir, recuperarse y crecer ante la presencia de factores estresantes y las demandas cambiantes (Silverman & Deuster, 2014).

## 1.2. Efectos beneficiosos del ejercicio físico

La práctica de actividad física y ejercicio físico regular, en la cantidad y forma adecuadas, proporciona numerosos beneficios para la salud y se configura como un medio eficaz para la prevención de enfermedades. La evidencia científica de este hecho está basada en numerosos estudios, tanto epidemiológicos, como clínicos y fisiológicos (Fentem, 1994) y, en las últimas décadas, la evidencia acumulada al respecto es cada vez mayor. Por tanto, actualmente no hay duda de que el impacto del ejercicio físico en la salud humana es profundo e inequívoco (Neufer et al., 2015).

De forma directa y específica, el ejercicio físico mantiene y mejora la función músculo-esquelética, osteo-articular, cardiovascular, respiratoria, endocrino-metabólica, inmunológica y psico-neurológica y, de forma indirecta, dicha optimización en la funcionalidad orgánica contribuye a alcanzar una mejor respuesta adaptativa, lo cual se traduce en un estado de salud capaz de ofrecer una mayor resistencia ante la enfermedad.

Efectivamente, un estado de condición física óptimo, logrado a través de la práctica de ejercicio físico regular y/o actividad física espontánea, confiere una capacidad de resistencia al organismo al inducir beneficios, tanto psicológicos como fisiológicos, protegiendo de conductas potencialmente adversas y de las consecuencias metabólicas de eventos estresantes, además de prevenir el padecimiento y desarrollo de numerosas enfermedades crónicas (Silverman & Deuster, 2014).

Asimismo, el ejercicio físico es utilizado cada vez más como terapia adyuvante en una amplia gama de enfermedades humanas, como consecuencia de las documentadas mejoras que produce en la función cardíaca, la capacidad oxidativa muscular, la salud metabólica, la homeostasis de glucosa y lípidos, la prevención de la obesidad, la respuesta inflamatoria, la masa y fuerza muscular, el dolor articular, la funcionalidad del movimiento, la depresión, la ansiedad y cognición (Bamman et al., 2014).

Se ha señalado que el principal resultado de la práctica de ejercicio físico regular es el logro de una capacidad cardio-respiratoria de moderada a alta (>8 unidades de medida del índice metabólico; METs), lo cual reduce el riesgo de padecer eventos cardiovasculares y de mortalidad por cualquier causa (Kodama et al., 2009). Además, un estilo de vida activo (es decir, que confiera una alta capacidad aeróbica) presenta una relación inversamente proporcional con respecto a la presencia de problemas de salud relacionados con el estrés y el desarrollo de enfermedades/trastornos crónicos (Silverman & Deuster, 2014). De hecho, existe una fuerte evidencia epidemiológica que asocia la práctica de ejercicio físico regular con

tasas reducidas de mortalidad por enfermedad cardiovascular (ECV), hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome metabólico, diabetes tipo 2, cáncer de mama y de colon, depresión y caídas (Garber et al., 2011; Lee et al., 2012). Esta evidencia apoya la hipótesis de una relación inversa existente entre la práctica de actividad física regular y/o ejercicio y una mortalidad prematura. Para muchas de estas enfermedades y condiciones de salud, también se ha determinado una fuerte evidencia en la relación dosis-respuesta (véase en Tabla I) como resultado de numerosos estudios de laboratorio, así como a gran escala, poblacionales y observacionales (ACSM, 2014).

Tabla I. Evidencia de la relación dosis-respuesta entre la actividad física y/o ejercicio regular y la salud.

<b>Evidencia de la relación dosis-respuesta entre la actividad física y/o ejercicio regular y la salud</b>		
<b>Variable</b>	<b>Evidencia de relación inversa dosis-respuesta</b>	<b>Nivel de evidencia</b>
Todas las causas de mortalidad	Sí	Alto
Salud cardio-respiratoria	Sí	Alto
Salud metabólica	Sí	Moderado
<b>Balance energético:</b>		
Mantenimiento de peso	Datos insuficientes	Limitado
Pérdida de peso	Sí	Alto
Mantenimiento de peso tras pérdida de peso	Sí	Moderado
Obesidad abdominal	Sí	Moderado
<b>Salud músculo-esquelética:</b>		
Ósea	Sí	Moderado
Articular	Sí	Alto
Muscular	Sí	Alto
Salud funcional	Sí	Moderado
Cáncer de colon y mama	Sí	Moderado
<b>Salud mental:</b>		
Angustia y depresión	Sí	Moderado
<b>Bienestar:</b>		
Ansiedad, salud cognitiva y calidad del sueño	Datos insuficientes	Limitado

El nivel de evidencia se ha establecido atendiendo a la clasificación siguiente:

“Alto”: Fuerte evidencia, consistente entre los estudios y poblaciones.

“Moderado”: Moderado o razonable, razonablemente consistente.

“Limitado”: Débil o limitado, inconsistente entre los estudios y poblaciones.

Adaptado de American College of Sports Medicine (2014).

Igualmente, como se ha mencionado anteriormente, es importante tener en cuenta que la capacidad aeróbica o capacidad cardio-respiratoria presenta una relación inversa con el riesgo de muerte prematura por cualquier causa, especialmente por ECV, y que altos niveles se asocian con numerosos beneficios para la salud (véase en Tabla II).

Tabla II. Beneficios de la práctica de actividad física y/o ejercicio regular.

<b>Beneficios de la práctica de actividad física y/o ejercicio regular</b>	
<b>Mejoras en la función cardiovascular y respiratoria</b>	
➤	Incremento del consumo máximo de oxígeno (VO <sub>2</sub> máx) que resulta de adaptaciones tanto a nivel central como periférico.
➤	Disminución de la ventilación por minuto a una intensidad submáxima absoluta dada.
➤	Reducción del consumo de oxígeno del miocardio a una intensidad submáxima absoluta dada.
➤	Disminución de la frecuencia cardíaca y presión arterial a una intensidad submáxima dada.
➤	Incremento de la densidad capilar en el músculo esquelético.
➤	Aumento del umbral de ejercicio para la acumulación de lactato en la sangre.
➤	Aumento del umbral de ejercicio ante la presencia de signos o síntomas de enfermedad ( <i>p. e.</i> , angina de pecho, cardiopatía isquémica por alteraciones del segmento ST, enfermedad arterial periférica y claudicación).
<b>Reducción de los factores de riesgo cardiovascular</b>	
➤	Reducción de la presión diastólica y sistólica en reposo.
➤	Incremento de la concentración sérica de lipoproteínas de alta densidad del colesterol (HDL-c) y disminución sérica de los triglicéridos.
➤	Reducción de la grasa corporal total e intra-abdominal.
➤	Reducción de las necesidades insulínicas, mejora de la tolerancia a la glucosa.
➤	Reducción de la adhesividad y agregación plaquetaria.
➤	Reducción de la inflamación.
<b>Disminución de la morbi-mortalidad</b>	
➤	Prevención primaria ( <i>p.e.</i> , intervenciones para prevenir la aparición inicial).
➤	Unos altos niveles de actividad física y/o ejercicio o una condición física óptima están asociados con unos índices menores de defunción por enfermedades arteriales coronarias.
➤	Unos altos niveles de actividad física y/o ejercicio o una condición física óptima están asociados con una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, cardiopatía coronaria, infarto, diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico, fracturas óseas, cáncer de colon y de mama, y enfermedades vesiculares.
➤	Prevención secundaria ( <i>p.e.</i> , intervenciones después de un evento cardíaco para prevenir otro).
➤	En base a los resultados obtenidos en meta-análisis (datos agrupados entre los estudios), la defunción por eventos cardiovasculares, y por cualquier causa, se redujo en pacientes con post-infarto de miocardio que participaron en un programa de entrenamiento con ejercicios de rehabilitación cardíaca, especialmente como componente de la reducción de los factores de riesgo multifactorial.
➤	Ensayos aleatorios controlados de rehabilitación cardíaca donde se aplicó un entrenamiento, en pacientes con post-infarto de miocardio, apoyan una reducción en la tasa de re-infarto.
<b>Otros beneficios</b>	
➤	Disminución de la ansiedad y depresión.
➤	Mejora de la función cognitiva.
➤	Mejora de las funciones físicas e independencia en personas mayores.
➤	Mejora de las sensaciones de bienestar.
➤	Mejora de la realización de un trabajo físico, recreacional y actividades deportivas.
➤	Reducción del riesgo de caídas y, lesiones producidas por éstas, en personas mayores.
➤	Prevención o mitigación de las limitaciones funcionales en personas mayores.
➤	Terapia efectiva para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas en personas mayores.

Adaptado de American College of Sports Medicine (2014).

Además, se ha demostrado que el ejercicio físico ayuda a aumentar la masa muscular durante el desarrollo y preservar la función músculo-esquelética durante el envejecimiento (Christianson & Sen, 2013). Conjuntamente, en relación a los programas de ejercicio físico adaptados, aunque a menudo ignorados, se ha

determinado que son esenciales para la optimización de la salud en las personas con una amplia variedad de discapacidades (Peterson et al., 2012).

La comprensión de la hipótesis respecto a la morbilidad, postula que los hábitos de vida preventivos, entre los que se incluye el ejercicio físico regular, pospondrán la discapacidad, al menos, tanto como la mortalidad, comprimiendo así la morbilidad entre un inicio más tardío y la edad de defunción (Chakravarty et al., 2008).

Por otra parte, existe una evidencia indiscutible de que una inadecuada condición física y una escasa actividad física se configuran como una de las principales causas del padecimiento de enfermedades crónicas no transmisibles, como por ejemplo, enfermedades cardiovasculares, derrames cerebrales, diabetes tipo 2, enfermedades respiratorias crónicas, y algunos tipos de cáncer que, en su conjunto, representan aproximadamente el 60% de las muertes que se producen en todo el mundo (Daar et al., 2007; Booth et al., 2012). La inactividad física en ambientes contemporáneos obesogénicos es precursora de adaptaciones negativas que causan el padecimiento de enfermedades crónicas, hecho que se está convirtiendo en un importante problema de salud pública. De hecho, la inactividad física se postula como la cuarta causa de muerte en todo el mundo (Kohl et al., 2012) y, por tanto, un estilo de vida sedentario puede ser considerado como la mayor amenaza para la salud en el siglo XXI (Lavie et al., 2015).

### **1.3. Adaptaciones fisiológicas inducidas por el ejercicio físico**

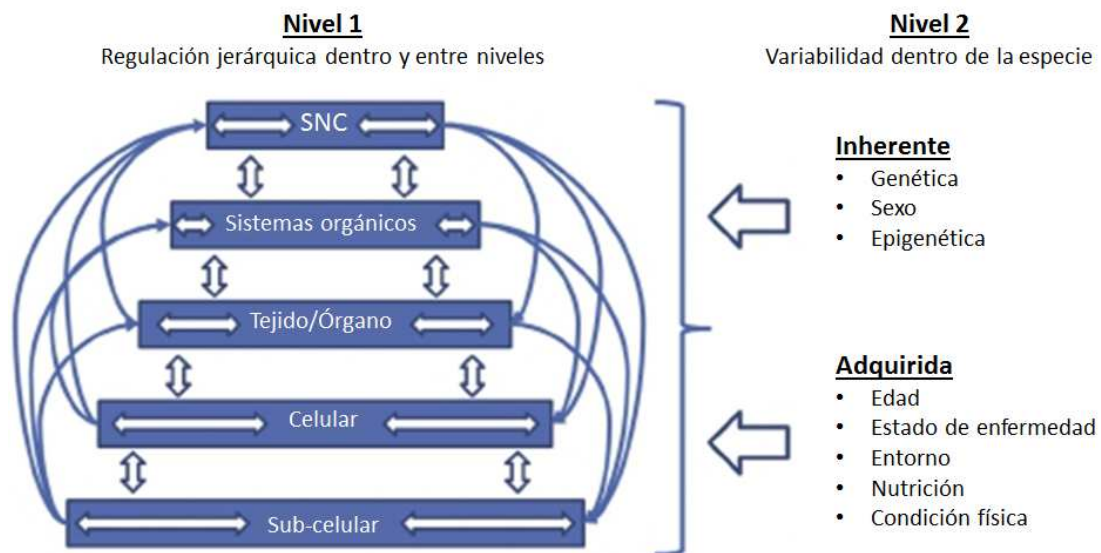
A pesar de la evidencia indiscutible de los beneficios conferidos por la práctica de actividad física o ejercicio físico regular, los mecanismos moleculares exactos por los que se promueven estos beneficios en la salud humana siguen siendo poco conocidos y se constituyen como un ámbito de estudio muy complejo, aunque es reseñable que la ciencia actual ha añadido a nuestro conocimiento una mayor comprensión sobre estos procesos biológicos, así como el perfil de ejercicio (tipo, intensidad, volumen y frecuencia) que se asocia con una mejora de la salud y de la calidad de vida de las personas.

El ejercicio representa un reto importante para la homeostasis de todo el cuerpo y, en un intento de responder a este desafío, las respuestas agudas y adaptativas que se producen en miríada, a nivel celular y en los distintos sistemas, persiguen minimizar estas disrupciones generalizadas. Por tanto, cualquier incremento en la actividad física requiere una respuesta fisiológica coordinada para atender a la demanda producida por la actividad. El ejercicio provoca en todo el cuerpo cambios en numerosas células, tejidos y órganos, como respuesta al aumento de la actividad

metabólica inducida por la contracción del músculo esquelético y, para afrontar este reto, la premisa fundamental radica en que estas respuestas a nivel corporal operan simultáneamente, de forma integrada, implicando a los sistemas cardiovascular, respiratorio, nervioso y hormonal, para mitigar los cambios homeostáticos generados por el aumento de los requerimientos energéticos y por la demanda de oxígeno generada a nivel muscular, y así mantener un determinado nivel de actividad (Hawley et al., 2014).

En este sentido, Walz (2005) propone un marco conceptual de dos niveles que expone la naturaleza integradora y jerárquica de control de red en respuesta al ejercicio (véase Figura 1). El *primer nivel* abarca los diferentes niveles verticales en los que se ejerce el control jerárquico, así como los mecanismos moleculares que median la intercomunicación entre sistemas para mantener la homeostasis en un estado saludable. Una amplia comprensión de los mecanismos reguladores integrados que operan dentro (es decir, horizontal) y entre los niveles (es decir, vertical) representa un modelo a partir del cual se pueden formular hipótesis y probarlas experimentalmente. El *segundo nivel* está compuesto por factores que contribuyen a la variabilidad, tanto inherente (genética, sexo, altura, etc.) como adquirida (edad, entorno, condición física, estado de enfermedad, etc.) entre los individuos que, a su vez, condiciona el primer nivel.

Figura 1. Modelo de dos niveles de sistemas de control en respuesta al ejercicio.



Adaptado de Walz (2005).

La práctica de actividad física o ejercicio abarca numerosos elementos más allá de la mera y simple contracción muscular. La decisión de iniciar el movimiento tiene lugar en la corteza motora del cerebro (Kayser, 2003) y, el esfuerzo volitivo generado en la corteza motora se dirige a la médula espinal para reclutar unidades motoras, lo que resulta en patrones específicos de movimiento (Hawley et al., 2014).

Simultáneamente, con la activación voluntaria de un movimiento muscular, no sólo se activa el sistema nervioso simpático y se deprime la rama parasimpática para coordinar la respuesta ventilatoria y cardiovascular asociada, resultando en un aumento del gasto cardíaco y, por lo tanto, del suministro de oxígeno a través del flujo sanguíneo al contraer los músculos esqueléticos y del miocardio, sino que también se actúa en el tejido cutáneo, para disipar el exceso de calor, mientras que se produce una vasoconstricción en otros órganos, especialmente en los lechos vasculares espláncnicos (Laughlin et al., 2012).

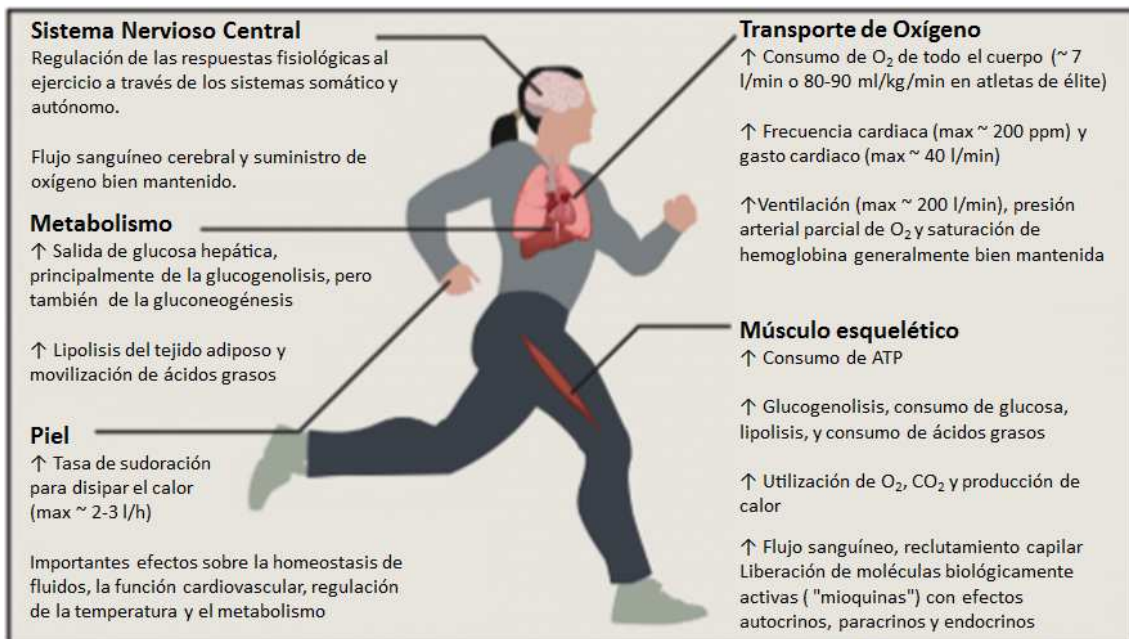
Inmediatamente después del inicio del ejercicio, las entradas aferentes al contraer los músculos esqueléticos, y en otros órganos, afinan las respuestas hemodinámicas para satisfacer las mayores necesidades metabólicas producidas por el ejercicio. Para facilitar el suministro de oxígeno, se produce un leve aumento en la hemoglobina arterial y, en los seres humanos, este aumento se produce, principalmente, como resultado de la hemoconcentración debida a una extravasación de fluidos (Nielsen et al., 1997).

El flujo arterial de sustratos energéticos se mantiene relativamente constante y cercano a los niveles de reposo, y esta respuesta se activa y es mantenida por una insulina circulante baja y un incremento en los niveles de glucagón y epinefrina, con una elevación simultánea de la glucosa hepática que corresponde a la utilización de la glucosa en los tejidos activados por el ejercicio (Hargreaves, 1997; Coker & Kjaer, 2005).

Sin embargo, también se están utilizando el glucógeno muscular y los ácidos grasos almacenados y, a medida que aumenta la intensidad del ejercicio, se produce una elevación en los niveles circulantes de lactato y una mayor contribución de éste al metabolismo energético y, con el aumento de la duración del ejercicio, la utilización de los ácidos grasos libres liberados por el tejido adiposo también aumenta sustancialmente (Heinonen et al., 2014).

Todas estas respuestas fisiológicas generales, producidas como resultado de la práctica de ejercicio físico agudo, se ilustran en la Figura 2.

Figura 2. Respuestas fisiológicas producidas por la práctica de ejercicio físico agudo.



Adaptado de Hawley et al. (2014).

Tras el cese del ejercicio, el flujo sanguíneo en los miembros o extremidades permanece elevado por encima de los niveles de reposo para restaurar la deuda metabólica y eliminar los subproductos metabólicos acumulados y, asimismo, es probable que para disipar el exceso de producción de calor provocado por el ejercicio (Heinonen et al., 2011).

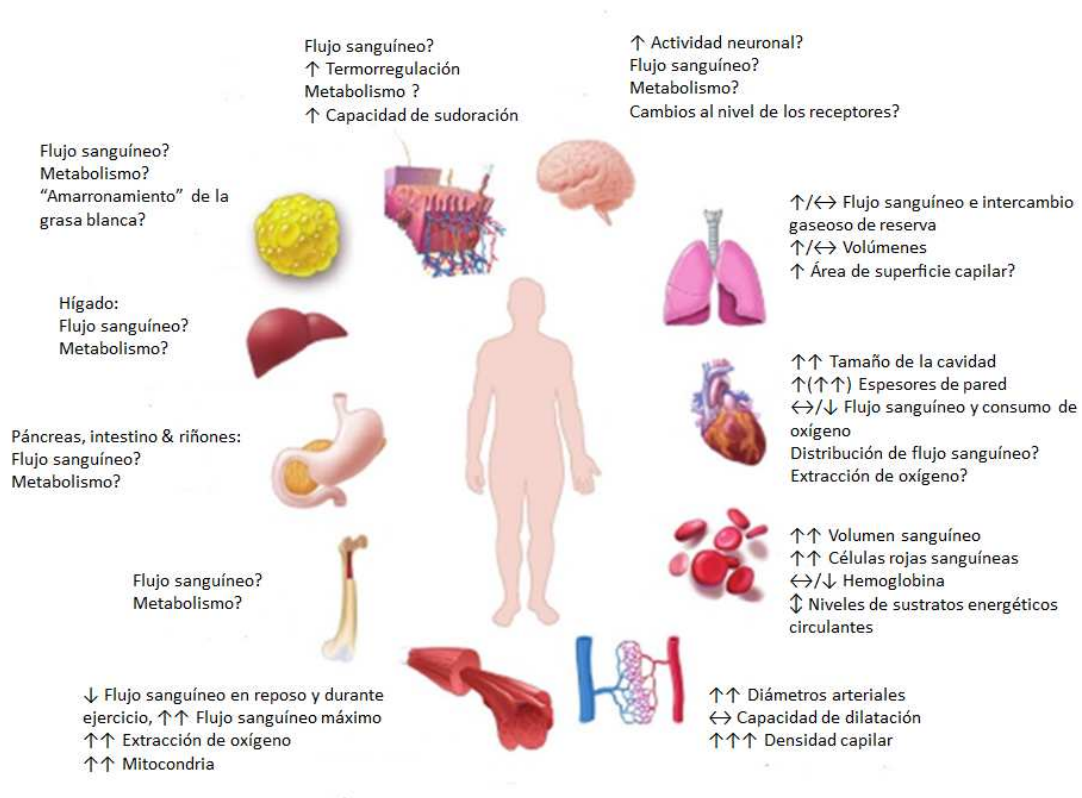
Mientras que algunas de estas respuestas fisiológicas han sido estudiadas en los tejidos que tienen funciones biomecánicas y metabólicas evidentes durante la realización de ejercicio físico, como por ejemplo, músculo esquelético, corazón, pulmón, tejido adiposo, hígado, sistema vascular y endocrino, se sabe mucho menos acerca de las adaptaciones agudas y a largo plazo que se producen en las células y tejidos que no se suelen distinguir como responsables primarios, como por ejemplo, cerebro, riñón, colon, páncreas, células inmunitarias, leucocitos, etc. (Farrell et al., 2012).

Debido a las exposiciones repetidas a las alteraciones hemodinámicas y hormonales producidas por el ejercicio físico agudo, la práctica de ejercicio a largo plazo es capaz de producir efectos fisiológicos en numerosos órganos. Estas adaptaciones, sobre todo en respuesta a la práctica de ejercicio de resistencia, se resumen en la Figura 3.



## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Figura 3. Adaptaciones a largo plazo de los órganos humanos a las exposiciones repetidas de ejercicio de resistencia.



Adaptado de Heinonen et al. (2014).

Las principales adaptaciones fisiológicas y estructurales a largo plazo implican un incremento en las capacidades relacionadas con el flujo sanguíneo y el consumo de oxígeno que, básicamente, aumentan en todos los sistemas orgánicos del cuerpo humano, especialmente en el corazón y en el músculo esquelético (Heinonen et al., 2014).

Un incremento en los volúmenes pulmonares y una mayor capacidad ventilatoria se relacionan directamente con una adecuada capacidad aeróbica, especialmente en sujetos altamente entrenados en deportes de resistencia, lo cual podría ser el resultado de una remodelación pulmonar (Butler et al., 2012) y su vascularización (Heinonen et al., 2013), aunque no se ha esclarecido si es, en su mayor parte, determinado genéticamente o como resultado de una adaptación al ejercicio, ya que la evidencia disponible proviene principalmente de estudios transversales.

Asimismo, un nivel de condición física óptimo es facilitado por un incremento en la capacidad de transporte de oxígeno por medio de un aumento en la masa de glóbulos rojos, provocado por el entrenamiento a largo plazo, aunque el hematocrito disminuye ligeramente debido a un aumento aún mayor en el volumen plasmático

(Oscai et al., 1968). Además, el ejercicio, a largo plazo provoca cambios favorables en el perfil lipídico circulante y en los niveles de aminoácidos séricos en adultos físicamente activos (Kujala et al., 2013) y, también provoca adaptaciones estructurales en los vasos sanguíneos mediante el aumento de su diámetro para que sea posible acomodar el aumento de la capacidad de aportación total de sangre (Laughlin et al., 2012). Sin embargo, a pesar de que la dilatación mediada por el flujo es generalmente mejorada por la práctica de ejercicio en pacientes con disfunción endotelial, por lo general no aumenta en sujetos sanos e, incluso, puede verse afectada ligeramente en atletas altamente entrenados en resistencia (Green et al., 2013; Green et al., 2012). Del mismo modo, la presión arterial en reposo se puede reducir mediante la práctica de ejercicio en sujetos hipertensos, pero sigue manteniéndose en patrones normales en sujetos normotensos (DeMaria et al., 1978), ya que los factores reguladores del tono de los vasos sanguíneos son ajustados para limitar una disminución de la resistencia periférica.

Por otro lado, los efectos del ejercicio a largo plazo a nivel óseo y sobre los órganos internos y el cerebro, en gran parte permanecen no caracterizados aún, aunque, por ejemplo, se ha demostrado que un estilo de vida físicamente activo conduce a un mayor rendimiento cognitivo y a un retraso y/o no aparición de trastornos neurológicos en los seres humanos (Loprinzi et al., 2013).

A nivel óseo, se ha señalado que la exposición repetida a la tensión mecánica provocada por el ejercicio mejora las características físicas del hueso (Heinonen et al., 2014) y se ha demostrado que el ejercicio estimula la formación ósea y limita ligeramente la reabsorción ósea por las observaciones llevadas a cabo con respecto a las hormonas y los biomarcadores óseos circulantes (Tartibian et al., 2011; Maurel et al., 2013). Además, el hueso juega un papel importante en la liberación de células precursoras (vasculares) en la circulación, y hay evidencia de que el ejercicio puede mejorar esta movilización de las células madre de la médula ósea, posiblemente a través del óxido nítrico (Laufs et al., 2004).

Respecto a las adaptaciones producidas en los órganos internos como resultado de la práctica continuada de ejercicio, se ha señalado que es probable, aunque ha de ser investigado aún, que el ejercicio conduce a mejoras en la sensibilidad a la insulina hepática similares a las producidas por la cirugía bariátrica en sujetos obesos y diabéticos (Immonen et al., 2014). Esta cuestión es importante, ya que la sensibilidad hepática a la insulina desempeña un papel fundamental en el control del metabolismo de todo el organismo. Esta misma circunstancia se ha observado en el páncreas y en el intestino, donde la resistencia a la insulina también está presente en la obesidad (Heinonen et al., 2014). Igualmente, se ha demostrado que el entrenamiento de resistencia disminuye la actividad nerviosa simpática renal en hombres normotensos

sedentarios, lo cual se asocia con una disminución en la resistencia vascular renal, aunque no cardíaca (Meredith et al., 1991).

Por otra parte, aunque es bien sabido que la práctica de ejercicio puede conducir a una reducción de la masa grasa y a adaptaciones biológicas asociadas, incluyendo un aumento en la densidad capilar debido a la reducción del tamaño de las células grasas, el tejido adiposo, como órgano endocrino, puede, sin embargo, secretar diversas adipoquinas que pueden desencadenar funciones fisiológicas importantes en otros tejidos en el cuerpo (Thompson et al., 2012), lo cual puede ser modulado por el entrenamiento de resistencia (Boström et al., 2013).

La mayoría de los beneficios para la salud conferidos por la práctica de ejercicio a largo plazo, se cree que surgen de cambios adaptativos en la actividad y/o cantidad de proteínas implicadas en los procesos metabólicos, fisiológicos y biomecánicos específicos, como por ejemplo, la función respiratoria mitocondrial, el ciclo del calcio, la función/eficiencia contráctil y el uso de sustratos; y estas adaptaciones, en gran parte, se producen a través de los cambios en la transcripción de genes y la traducción de proteínas, así como modificaciones post-traduccionales (Neufer et al., 2015). Debido a que los desafíos energéticos y mecánicos impuestos por el ejercicio son de naturaleza transitoria, también lo son las respuestas celulares adaptativas siguientes, que se producen principalmente durante las horas siguientes al ejercicio (Booth & Neufer, 2012).

Igualmente, se ha señalado que las adaptaciones al ejercicio resultan del efecto acumulativo de incrementos transitorios en las transcripciones en el ARNm que codifican varias proteínas después de cada sesión de ejercicio (Hawley et al., 2014). Estas exposiciones repetidas en la expresión del ARNm parecen ser esenciales para impulsar la respuesta adaptativa intracelular al entrenamiento físico (Perry et al., 2010). Otro nivel de regulación del ARNm y de la cantidad de proteínas en las adaptaciones al ejercicio, implica alteraciones en el estado de metilación del ADN (Barrès et al., 2012), modificaciones de las histonas (McGee & Hargreaves, 2011) y la expresión del micro-ARN (Zacharewicz et al., 2013).

Por tanto, una adecuada práctica de ejercicio a largo plazo, con una suficiente intensidad, duración y frecuencia, produce numerosas adaptaciones en el cuerpo humano, que son, en general, beneficiosas para la salud y el bienestar (Fiuza-Luces et al., 2013).

## 2. Ejercicio físico extenuante o no programado

---

A pesar de los consabidos beneficios que reporta el ejercicio físico regular sobre la salud, cuando es planificado, adaptado y controlado de forma adecuada, es necesario apuntar la creciente evidencia que sugiere que el ejercicio, en diferentes intensidades, presenta distintos efectos en el organismo y que estos efectos son muy variables dependiendo de la naturaleza, volumen e intensidad del ejercicio.

La Organización Mundial de la Salud (OMS), el Colegio Americano de Medicina Deportiva (ACSM) y la Asociación Americana del Corazón (AHA) publicaron una serie de directrices para la realización de actividad y/o ejercicio físico basadas en la evidencia científica existente, recomendando al menos 150 minutos de intensidad moderada o 75 minutos de actividad aeróbica de intensidad vigorosa por semana, o una combinación equivalente de ambas (OMS, 2010; Haskell et al., 2007). De hecho, existe una convincente evidencia sobre la beneficiosa relación existente entre el ejercicio de intensidad moderada y la salud (Haskell et al., 2007; Lee et al., 2014), sin embargo, los efectos beneficiosos del ejercicio se pierden o disminuyen con la realización de un ejercicio físico extenuante, ya que este tipo de ejercicio induce a la fatiga, que lleva consigo una disminución del rendimiento, alteraciones de varios procesos hormonales, aumento de la susceptibilidad a la infección, y un aumento de la producción de radicales libres que puede llegar a un punto en el que se puede superar el sistema de defensa antioxidante y conducir a un estado de estrés o daño oxidativo (Radak et al., 2008; Eijsvogels et al., 2016).

El ejercicio físico extenuante, especialmente cuando se realiza esporádicamente y sin el debido entrenamiento, causa daño estructural en las células musculares y reacciones inflamatorias a nivel muscular (Li et al., 2016), además, puede provocar daños en el músculo cardíaco (Ortega et al., 2006) y alterar los lípidos plasmáticos (Ruíz et al., 2004) y, cuando es prolongado, incluso puede alterar los procesos fisiológicos normales, incluyendo daño muscular grave, desequilibrio en los niveles de líquidos y electrolitos, cambios en la función inmune, alteraciones en los sistemas fibrinolíticos y de coagulación, daños en el ADN, un aumento en los biomarcadores estructurales y funcionales de estrés miocárdico, así como un mayor riesgo de golpe de calor y muerte súbita cardíaca (König et al., 2007; Neubauer et al., 2008; Kupchak et al., 2014; Schmieid & Borjesson, 2014).

La evidencia científica acumulada sugiere que las prácticas de ejercicio que son ideales para la promoción de la salud y la longevidad pueden diferir de los programas de entrenamiento de altos volúmenes y alta intensidad utilizados para el desarrollo de un rendimiento cardíaco máximo y una excelente capacidad cardiorrespiratoria en el deporte de élite (O'Keefe et al., 2014). Esto es debido a que las consecuencias de la

práctica de un ejercicio físico extenuante en sujetos no entrenados pueden ser perjudiciales para la salud, especialmente, teniendo en cuenta que el número de los denominados, coloquialmente, “guerreros de fin de semana”, está incrementándose en los últimos años. De hecho, la participación en eventos o carreras de resistencia ha crecido en popularidad, como lo demuestra el notable aumento en el número de participantes en maratones, triatlones y carreras de ciclismo en las últimas 3 décadas (Knechtle et al., 2011).

Además, en las últimas décadas, la participación en este tipo de eventos se ha convertido en un hecho cada vez más atractivo para millones de atletas no profesionales, o “*amateurs*”, en todo el mundo. Teniendo en cuenta la cohorte de los atletas que participan en estos eventos, sólo hay un pequeño número de atletas profesionales con altas prestaciones de edades comprendidas entre los 18 y los 35 años, que son generalmente sanos y, que de forma continua están bajo supervisión médica y con el apoyo de instructores o entrenadores con experiencia; por el contrario, como se ha apuntado, el número de participantes recreativos, no de élite, incluyendo a personas de todas las edades, está aumentando continuamente; de hecho, las características demográficas de los participantes están cambiando rápidamente (Predel, 2014). De acuerdo con un análisis demográfico del perfil de estos participantes, la mayoría son corredores varones aficionados de mediana edad que compiten con altas exigencias de rendimiento (Leyk et al., 2009).

Este hecho es de especial importancia para la salud, ya que un gran número de este tipo de participantes está expuesto a volúmenes e intensidades de ejercicio muy por encima de las recomendaciones propuestas en las guías internacionales expuestas anteriormente. Además, los requerimientos, en cuanto al estado de condición física y salud y, por tanto, preparación previa, en este tipo de eventos deportivos son muy altos, ya que el volumen e intensidad que los caracteriza son considerables.

Los riesgos y las consecuencias a nivel fisiológico que un ejercicio físico extenuante puede entrañar, comentados anteriormente y, especialmente en sujetos no entrenados o no preparados físicamente de forma adecuada para soportar o lidiar con la carga que estos eventos supone para el organismo, son necesarios tenerlos muy presentes por las derivaciones que pueden acarrear para la salud en este tipo de participantes. De hecho, informes recientes sugieren que, sorprendentemente, altos volúmenes de ejercicio aeróbico pueden ser tan perjudiciales para la salud cardiovascular como la propia inactividad física (Eijsvogels et al., 2016).

A continuación, se analizarán de forma pormenorizada los efectos del ejercicio físico extenuante sobre el estrés oxidativo, daño muscular e inflamación, así como los efectos de la fatiga sobre parámetros de rendimiento.

## 2.1. Efectos sobre el estrés oxidativo

El ejercicio físico provoca numerosos cambios fisiológicos en los sistemas del organismo y, quizás, el cambio más importante sea provocado por un incremento del ritmo respiratorio y, por tanto, de la utilización del oxígeno por el organismo (Kumar & Naidu, 2002). Existe una evidencia creciente de que el ejercicio físico extenuante aumenta el consumo de oxígeno en los tejidos y sistemas del organismo hasta en 20 veces respecto a valores basales (Xiao, 2015). La mayor parte del oxígeno consumido se utiliza en la mitocondria como sustrato metabólico y para la producción de adenosín trifosfato (ATP), reduciéndose finalmente a agua; sin embargo, una pequeña fracción de oxígeno (2-5%) se puede convertir en varios productos intermedios que incluyen el anión radical superóxido ( $O_2^-$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), y el radical hidroxilo ( $OH^-$ ), que se filtran posteriormente en la cadena de transporte de electrones (Xiao, 2015).  $O_2^-$  y  $OH^-$ , por definición, son radicales libres, ya que contienen un electrón no apareado en su estructura atómica, constituyéndose como moléculas altamente reactivas e inestables, mientras que el  $H_2O_2$  no lo es, aunque es un compuesto altamente polar y, además, puede atravesar fácilmente las membranas. En conjunto, se clasifican como especies reactivas del oxígeno (ROS) (Ji, 1995).

Asimismo, se ha demostrado que los músculos contráctiles también producen óxido nítrico (NO), la molécula predominante de las especies reactivas de nitrógeno (RNS) (Balon & Nadler 1994). Desde entonces, varios artículos de revisión han confirmado la participación del músculo esquelético en la producción tanto de ROS como de RNS (Powers & Jackson, 2008; Jackson, 2009; Powers et al., 2011). Tanto a los propios radicales como a las especies no radicales creadas a través de la interacción con los radicales libres, se les denomina colectivamente especies reactivas del oxígeno/nitrógeno (RONS) (Valko et al., 2007).

La eliminación de ROS es administrada por una serie de sistemas antioxidantes en el organismo (por ejemplo, la catalasa o la regulación del glutatión), y el equilibrio de ROS y antioxidantes se denomina "estado redox". La desregulación de los procesos del estado redox en la captación de radicales en biomoléculas clave, tales como proteínas, lípidos y ADN, es un proceso que puede dañarlas e incapacitar su funcionamiento, pudiendo dar lugar a un estado de "estrés oxidativo", que es definido como "un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes en favor de los oxidantes, dando lugar a una interrupción de la señalización redox y el control y/o daño molecular" (Sies, 2015).

En las décadas de 1980 y 1990 surgieron las primeras teorías que dieron lugar a la creencia de que la producción de ROS era la principal consecuencia negativa del ejercicio físico. Por otra parte, comenzó a surgir la evidencia de que una serie de

situaciones clínicas, tales como las enfermedades del corazón, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad del intestino irritable, la diabetes y el envejecimiento, que eran una consecuencia de la producción excesiva de ROS y del daño de los radicales libres (Sies, 1985; Powers & Jackson 2008; Jackson, 2009; Tsutsui et al., 2011).

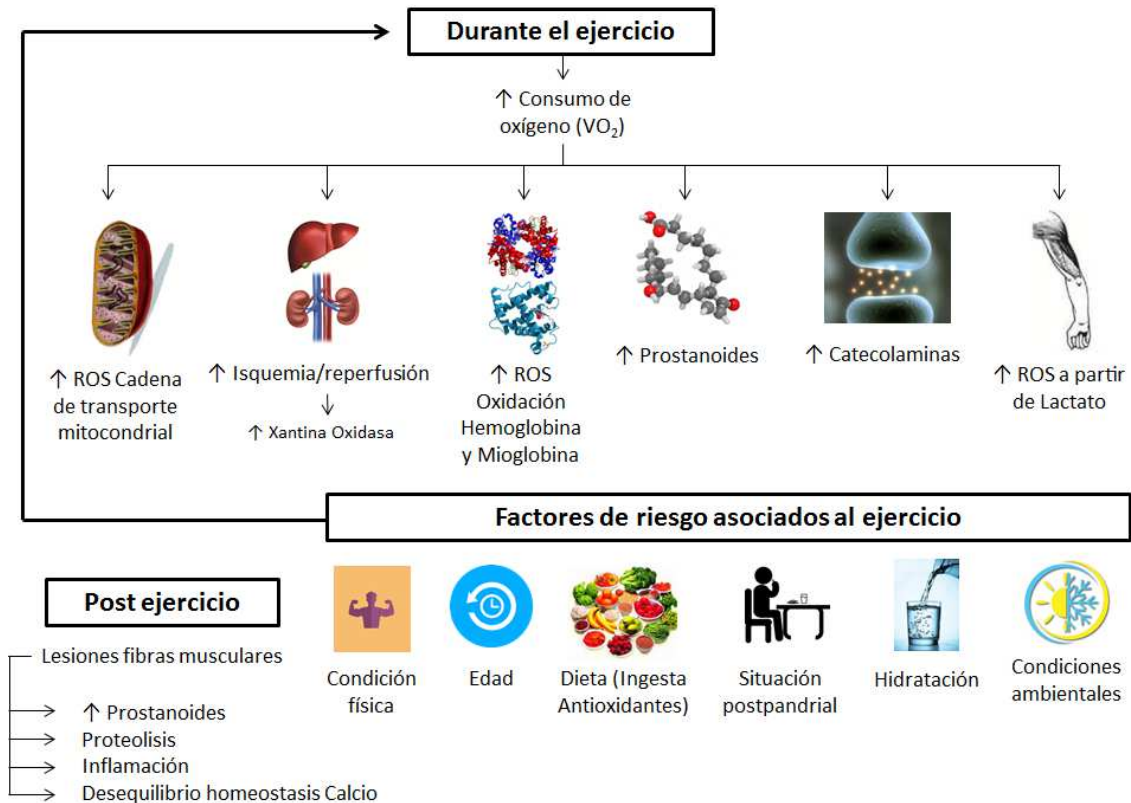
Por tanto, se ha demostrado que una acumulación excesiva de RONS puede inducir daños en todas las macromoléculas celulares, tales como lípidos, proteínas y ADN, lo cual puede provocar efectos adversos en la salud y el bienestar (Aguiló et al., 2005; Misra et al., 2009). De hecho, se ha sugerido que el estrés oxidativo desempeña un rol primario o secundario en el desarrollo de múltiples enfermedades humanas (>100) agudas y crónicas (Dalle-Donne et al., 2006).

Es necesario apuntar que las RONS no son intrínsecamente nocivas, sin embargo, en respuesta a una exposición crónica a la producción excesiva y/o ectópica de estas, el organismo puede llegar a un desequilibrio (radicales libres > defensas), resultando en un cambio en el equilibrio redox intracelular hacia un entorno más oxidante que, a su vez, puede promover el daño oxidativo, la inflamación, y la enfermedad. Por otro lado, en concordancia con el principio de hormesis, un bajo grado de estrés oxidativo resulta necesario para provocar adaptaciones fisiológicas al ejercicio (Bjelakovic et al., 2007).

El primer estudio que documentó estrés oxidativo inducido por el ejercicio físico agudo en seres humanos fue publicado por Dillard et al., en 1978, y este trabajo reveló que 60 minutos de ejercicio de resistencia en cicloergómetro con una intensidad del 50% del consumo máximo de oxígeno ( $VO_2$ máx) aumentó los niveles de pentano espirado, un biomarcador de la peroxidación lipídica. Los autores concluyeron que el ejercicio promueve un aumento de la producción de oxidantes, pero la fuente de este aumento, sin embargo, no fue identificada.

Desde esta primera observación, numerosos estudios posteriores realizados tanto en modelos animales como humanos, han demostrado que distintos modelos de ejercicio resultan en un aumento de los biomarcadores de daño oxidativo en sangre y músculo esquelético, aunque también se postula que puede producirse en otros tejidos como el músculo cardíaco, hígado y cerebro y, este aumento, depende del tipo de ejercicio realizado (aeróbico, anaeróbico), duración e intensidad, niveles de consumo de oxígeno, estrés mecánico que soporten los tejidos, tipo de contracción predominante, condiciones ambientales, así como de condicionantes individuales como el estado de condición física, la edad y la dieta (Jackson, 2009) (ver Figura 4).

Figura 4. Mecanismos potenciales del incremento en la producción de RONS relacionados con el ejercicio.



Adaptado de Bloomer & Goldfarb (2004).

La mayoría de estudios que han investigado el estrés oxidativo en el ejercicio físico agudo en humanos han empleado protocolos de ejercicio aeróbico, siendo las pruebas de esfuerzo máximas o submáximas en tapiz rodante o cicloergómetro las más utilizadas en laboratorio, constituyéndose la prueba de esfuerzo graduado (GXT) como la más empleada para inducir estrés oxidativo.

En cuanto a aquellos estudios que han empleado protocolos de corta a moderada duración ( $\leq 2$  horas), varios han documentado un incremento en sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), marcadores de la peroxidación lipídica, tanto en pruebas de esfuerzo submáximas (Meijer et al., 2002; Vincent et al., 2004; Nikolaidis et al., 2007), como máximas (Steinberg et al., 2007; Michailidis et al., 2007; Souza-Silva et al., 2015). Otros estudios (Bailey et al., 2001; Di Massimo et al., 2004; Goldfarb et al., 2007; Park & Kwak, 2016) han notificado, tras la realización de un GXT, un aumento significativo en malondialdehído (MDA) que, junto con TBARS constituyen los marcadores de la peroxidación lipídica más utilizados.

Algunas investigaciones (Wetzstein et al., 1998; Tozzi-Ciancarelli et al., 2002; Di Massimo et al., 2004) han informado, por otro lado, de un incremento en lipoproteínas de baja densidad oxidadas (Ox-LDL), otro marcador de la peroxidación lipídica.



También, un incremento en la concentración de F<sub>2</sub>-Isoprostanos (F<sub>2</sub>-IsoPS), un compuesto de prostaglandina generado in vivo por la peroxidación no enzimática del ácido araquidónico presente en los fosfolípidos de las membranas celulares, ha sido registrado en otros estudios (Waring et al., 2003; Goto et al., 2007), siendo su incremento dependiente de la intensidad del ejercicio (Goto et al., 2007).

Asimismo, se ha observado una correlación positiva significativa entre el aumento en la concentración de lactato (Lac) en el plasma sanguíneo después del ejercicio y el aumento en el estado oxidativo total plasmático, expresado a través de la concentración de peróxidos de lípidos (Wiecek et al., 2015).

Como se ha comentado anteriormente, el ADN también se encuentra sometido al ataque de RONS y, usualmente, el producto 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) es utilizado como indicador de la oxidación del ADN inducida por el ejercicio. Hay estudios que han informado de un incremento significativo de 8-OHdG tras la realización de un protocolo de ejercicio de 60 minutos al 70% del VO<sub>2</sub>máx en cicloergómetro (Orhan et al., 2004) así como tras un GXT (Fogarty et al., 2013).

La formación y acumulación de proteínas carbonilo (PC) es otro de los indicadores comúnmente usados para determinar la oxidación de las proteínas en relación con el ejercicio y, existen varios estudios que han registrado un aumento significativo de éstas tras la realización de protocolos de ejercicio aeróbico (Bloomer et al., 2007; Michailidis et al., 2007; Nikolaidis et al., 2007; Goldfarb et al., 2007; Zalavras et al., 2015), siendo el incremento dependiente de la duración del ejercicio (Bloomer et al., 2007) y permaneciendo elevada su concentración incluso durante las 8 horas posteriores al ejercicio (Michailidis et al., 2007).

La medición de la capacidad antioxidante del organismo también es utilizada como un marcador para determinar el estrés oxidativo y, suele ser evaluada mediante la aplicación de varios ensayos, como la capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC), el potencial reductor/antioxidante férrico (FRAP), el protocolo de amplificación repetido de telomerasa (TRAP) o la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), y/o la medición de los cambios en la concentración de enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPx) o catalasa (CAT).

Algunos estudios han determinado una reducción temporal de la capacidad antioxidante durante e inmediatamente después del ejercicio (Tozzi-Ciancarelli et al., 2002; Di Massimo et al., 2004; Watson et al., 2005; Steinberg et al., 2007), tras lo cual, los niveles aumentan por encima de condiciones basales durante el período de recuperación (Watson et al., 2005; Steinberg et al., 2007). Por tanto, el sistema de defensa antioxidante se puede reducir temporalmente en respuesta a un aumento de la producción de RONS, pero puede aumentar durante el período de recuperación, como resultado de la agresión inicial pro-oxidante. La actividad enzimática

antioxidante responde de una manera similar, apareciendo, por ejemplo, un estudio donde se registró un incremento significativo de SOD, GPx y CAT tras la realización de un test submáximo (Buczynski et al., 1991); sin embargo, en otro estudio se informó de una disminución en SOD (Tozzi-Ciancarelli et al., 2002); por consiguiente, los resultados de estas variables parece que son dependientes del tiempo de muestreo, así como de la duración e intensidad del ejercicio realizado.

El estrés oxidativo en el ejercicio también ha sido evaluado mediante los niveles circulantes de antioxidantes individuales como la vitamina E y/o C, existiendo algunos estudios que han informado de una disminución transitoria de éstos (Kawai et al., 2000; Bloomer et al., 2006) o de un incremento inmediato post-ejercicio (Watson et al., 2005) en protocolos de ejercicio aeróbico. Además, en otro estudio se ha informado de una disminución en los niveles de vitamina C reducida post-ejercicio (Steinberg et al., 2007).

Por otro lado, la idea de que el estrés oxidativo inducido por el ejercicio representa un contribuyente potencial para el desarrollo y/o progresión de distintas enfermedades recibe una atención considerable cuando es de larga duración (> 2 horas) (Knez et al., 2006) y, el estrés oxidativo inducido por este tipo de ejercicio, generalmente, ha sido evaluado en participantes de eventos como una maratón o media maratón, ultramaratón, triatlón, duatlón, iron-man, carreras de larga duración o rutas de ciclismo.

Está bien establecido que este tipo de eventos de “ultra-resistencia” dan lugar a la formación de RONS (Turner et al., 2011) y, como consecuencia de ello, tiene lugar un aumento considerable en los niveles de sustancias pro-oxidantes capaz de debilitar los sistemas antioxidantes del organismo (Vassalle et al., 2014). Por ejemplo, en un estudio (Mrakic-Sposta et al., 2015) se confirmó que una ultramaratón de montaña provoca un daño oxidativo acusado, puesto de manifiesto por la sobreproducción de ROS, así como por los cambios registrados en las citoquinas y en los parámetros hematológicos y de orina estándar evaluados.

También se ha demostrado que el ejercicio anaeróbico agudo se constituye como un estímulo suficiente para provocar un aumento en la formación de RONS (Bailey et al., 2007). El aumento en la concentración de adenosín monofosfato/adenosín trifosfato (AMP/ATP) conduce a un aumento en el metabolismo de la purina (tras el ejercicio anaeróbico) que implica a la xantina oxidasa (XO), derivando en una producción excesiva de ROS (Powers & Jackson, 2008). El ejercicio anaeróbico también provoca un aumento en la concentración de peróxidos de lípidos y de la capacidad antioxidante total plasmática, lo que favorece una disrupción en el equilibrio pro-oxidante/antioxidante (Taito et al., 2013).

Por otra parte, las distintas disciplinas deportivas, a menudo, poseen componentes tanto de carácter aeróbico como anaeróbico, y se llevan a cabo, normalmente, en un entorno cambiante, sin control. Algunas investigaciones han examinado el estrés oxidativo experimentado en distintos deportes como el fútbol americano, el baloncesto, el fútbol, el rugby, carreras de motocross, deportes de combate, esquí alpino o escalada profesional. Por ejemplo, un estudio observó un aumento en la peroxidación lipídica, registrando un incremento en los peróxidos totales y anticuerpos contra Ox-LDL, después de un partido de fútbol americano profesional (Schippinger et al., 2002). Incrementos similares, en marcadores de la peroxidación lipídica, también se han observado después de un partido de rugby (Chang et al., 2002) y de fútbol (Kingsley et al., 2005), registrándose un mayor incremento en los jugadores de rugby no entrenados en comparación con los entrenados (Chang et al., 2002).

Por tanto, actualmente, debido a la extensa producción científica al respecto, parece que los distintos tipos de ejercicio, tanto aeróbico como anaeróbico, poseen el potencial de aumentar la producción de RONS favoreciendo un estado de estrés oxidativo, y éste puede ser más acusado aún en sujetos no entrenados de forma adecuada o si el ejercicio es extenuante o de larga duración.

### **2.2. Efectos sobre el daño muscular**

El ejercicio físico y, especialmente si es extenuante, también puede provocar daño localizado en el tejido muscular como consecuencia de factores mecánicos y/o metabólicos (Brancaccio et al., 2010; Koch et al., 2014).

El estrés mecánico localizado en el músculo durante el ejercicio, es inducido, en gran medida, por el estiramiento de los sarcómeros, lo cual provoca trastornos en el aparato contráctil, en el citoesqueleto muscular y en proteínas asociadas al sarcolema (Fridén & Lieber, 2001).

En cambio, el estrés metabólico a nivel muscular durante el ejercicio es debido a la formación de radicales libres y a la sobrecarga del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) (Koch et al., 2014). El incremento en el consumo de oxígeno durante el ejercicio conduce a un aumento en la actividad de la cadena de transporte de electrones, un incremento de semiquinona en la mitocondria y de xantina oxidasa en las células endoteliales de los capilares (Su et al., 2010), todo lo cual puede conducir a un aumento de la producción de radicales libres y al consiguiente daño en las membranas celulares. Además, el músculo puede experimentar un estado como de isquemia/reperfusión en la transición del ejercicio a

la recuperación (Tamaki et al., 1994), lo que podría aumentar aún más la producción de radicales libres (Jassem et al., 2002).

En general, el daño muscular puede ser inducido tanto por contracciones musculares estáticas (isométricas) como dinámicas (concéntricas y excéntricas) (Clarkson et al., 1986). Sin embargo, hay pruebas sustanciales de que las acciones musculares excéntricas resultan en un mayor daño muscular que las acciones isométricas o concéntricas (Brancaccio et al., 2008; Vissing et al., 2008; DiPasquale et al., 2011).

Los principales factores atribuidos al mayor daño de las contracciones excéntricas son los valores pico más altos registrados por éstas (Enoka, 1996), y la reducción en la activación de unidades motoras para una fuerza dada (Enoka, 1996; Kellis & Baltzopoulos, 1998), los cuales inducen a un mayor estrés mecánico a nivel muscular (Enoka, 1996). Otros aspectos importantes son que el ATP no es necesario para separar los enlaces cruzados formados durante la contracción muscular excéntrica y la mayor longitud de las fibras durante este tipo de contracción (Enoka & Fuglevand, 2001).

Independientemente del tipo de contracción, el daño muscular puede ser específicamente localizado en sólo unas macromoléculas de tejido o, en cambio, dar lugar a grandes desgarros en los discos Z (Lieber & Fridén, 1988), en el sarcolema (Takekura et al., 2001), en la lámina basal (Koskinen et al., 2001), y en el tejido conectivo fibroso de sostén (Stauber et al., 1990), así como en los elementos contráctiles y en el citoesqueleto (Roth et al., 2000).

Básicamente, las condiciones que pueden inducir daño muscular son la realización de ejercicios no habituales o de mayor intensidad o duración que aquellos a los que el sujeto está adaptado (Tee et al., 2007). Los síntomas son comunes y fácilmente caracterizados, e incluyen rigidez muscular e inflamación, disminución de la fuerza de la contracción muscular y dolor muscular de aparición tardía (Byrne et al., 2004). Estos síntomas pueden ocurrir como resultado de una lesión o cuando el músculo produce un mayor trabajo físico del que se utiliza para la producción (Brancaccio et al., 2010).

Por otro lado, los niveles séricos de enzimas intramusculares o proteínas son marcadores del estado funcional del tejido muscular. El daño muscular es frecuentemente caracterizado por un incremento en los niveles de creatina quinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH), aldolasa (ALS), mioglobina (MB), troponina (TNI), aspartato aminotransferasa (AST), o anhídrido carbónico III (CA III), constituyéndose como los marcadores séricos más útiles de daño muscular (Brancaccio et al., 2010).

Cuando la intensidad del ejercicio está dentro de un rango metabólico normal, el tejido muscular no registra cambios significativos en la permeabilidad de las

membranas celulares, sin embargo, cuando la intensidad del ejercicio supera este rango, se producen cambios en la permeabilidad y las enzimas y proteínas intracelulares son vertidas en el líquido intersticial para, posteriormente, ser absorbidas por el sistema linfático y, finalmente, introducirse en el torrente circulatorio (Bijsterbosch et al., 1985).

También se ha apuntado que la apoptosis en el tejido muscular posterior al ejercicio vigoroso o extenuante puede ser provocada por el aumento de sustancias pro-oxidantes; por tanto, el estado antioxidante total también se puede utilizar para evaluar el nivel de estrés muscular mediante otros marcadores (Liu et al., 2000), como algunos de los señalados en el apartado anterior.

Uno de los primeros estudios que registró daño muscular inducido por el ejercicio se publicó a principios del siglo XX (Hough, 1900), en el cual se registró dolor muscular de aparición tardía tras la realización de ejercicio, sugiriéndose que el dolor era el resultado de microlesiones musculares. Desde entonces, la producción científica al respecto no ha hecho más que incrementarse, especialmente durante las últimas décadas.

Niveles altos de daño muscular, evaluado por medio de la concentración de enzimas séricas, se han registrado tras la realización de eventos competitivos de resistencia de larga duración, tales como una maratón (Jastrzębski et al., 2015), ultramaratón (Shin et al., 2016) o un triatlón (Arecas et al., 2015). Además, en este tipo de eventos, si aparecen contracciones musculares excéntricas, como por ejemplo en una carrera de descenso, se puede inducir a incrementos mayores en la actividad enzimática sérica (Park & Lee, 2015).

La CK sérica ha sido propuesta como uno de los mejores indicadores indirectos de daño muscular debido a su facilidad de identificación y el costo relativamente bajo de ensayos para cuantificarla (Koch et al., 2014). Tres isoformas citoplasmáticas han sido identificadas, CK-MM, CK-MB y CK-BB, que proporcionan información específica sobre el principal tipo de tejido dañado, ya sea músculo esquelético, miocardio o tejido cerebral, respectivamente. La CK-MM se encuentra en varios dominios de las miofibras donde el consumo de ATP es alto, y es uno de los marcadores de daño muscular más frecuentemente utilizado en el ámbito del ejercicio.

Es de suponer que, un volumen mayor de ejercicio produciría un mayor trauma a nivel muscular y, por tanto, un incremento en la actividad de CK sérica. Algunas investigaciones (Machado et al., 2011; Machado et al., 2012) corroboran este hecho, observando una relación positiva entre el volumen de carga en una serie de ejercicios de musculación y resistencia, y la actividad de la CK sérica; aunque, sin embargo, la correlación entre ambos parece ser generalmente suave (Machado et al., 2012).

Por otra parte, en varios estudios (Mayhew et al., 2005; Machado et al., 2010; Rodrigues et al., 2010) se ha informado de que los intervalos de descanso cortos entre series (60 s), frente a más largos (180 s) en protocolos de ejercicio de resistencia intensos, inducen a un mayor aumento en la CK sérica. También se ha apuntado que la velocidad de contracción puede ser un factor determinante en los niveles de CK; por ejemplo, un estudio registró que una velocidad rápida de contracción excéntrica ( $210^{\circ}\cdot s^{-1}$ ) produce un incremento 4,5 veces superior de CK respecto a una velocidad de contracción más lenta ( $30^{\circ}\cdot s^{-1}$ ) bajo la misma tensión (Chapman et al., 2006).

Además, varios estudios (Jamurtas et al., 2005; Saka et al., 2009; Chen et al., 2011; Machado et al., 2013) han informado de una mayor percepción del dolor e incrementos mayores de CK en ejercicios con contracción excéntrica realizados con la musculatura de la parte superior del cuerpo en comparación con la de la parte inferior, lo cual, probablemente, pueda ser debido a que estamos más expuestos a acciones excéntricas en actividades diarias usando la musculatura de la parte inferior del cuerpo que la de la parte superior del cuerpo, como al bajar escaleras o sentarse (Jamurtas et al., 2005). Incluso un estudio (Chen et al., 2011) observó diferencias en los marcadores de daño muscular no sólo entre la parte superior e inferior del cuerpo, sino también entre la musculatura agonista y antagonista en una misma articulación; por ejemplo, los flexores de la rodilla registraron mayores incrementos en comparación con los extensores.

El pico máximo de CK sérica, aproximadamente dos veces por encima de valores basales, se produce 8 horas después del entrenamiento de la fuerza (Hurley et al., 1995), y el aumento de CK después del ejercicio excéntrico se asocia con lesiones musculares, con un aumento pronunciado entre 2 y 7 días después del ejercicio (Serrão et al., 2003). Después de un ejercicio prolongado, la actividad total de CK en suero se incrementa notablemente durante las 24 horas posteriores al ejercicio si los sujetos descansan, sin embargo, si el sujeto continúa entrenando, puede permanecer elevada durante mucho más tiempo (Stäubli et al., 1985). Normalmente, sólo la CK-MM está presente en el suero, pero tras un ejercicio vigoroso y prolongado puede aumentar la concentración sérica de las tres isoformas de la CK en ausencia de daño miocárdico (Noakes et al., 1983).

También, después de un esfuerzo, la MB puede aumentar a los 30 minutos (Ascensão et al., 2008), y permanecer elevada durante 5 días, probablemente debido a procesos inflamatorios de bajo grado (Neubauer et al., 2008). Las actividades de la CK y la MB se correlacionan debido a la respuesta de los neutrófilos inducida por el estrés en el ejercicio (Suzuki et al., 1999); por tanto, teniendo en cuenta esta característica, la mioglobina se configura como un marcador útil para controlar la eficacia de la carga de trabajo sobre el tejido muscular en el entrenamiento (Speranza et al., 2007).

El ejercicio extenuante también puede inducir a un aumento significativo de LDH (Mena et al., 1996), y el grado de aumento depende de la intensidad y de la duración del esfuerzo (Stokke, 1982). Después de un ejercicio prolongado de resistencia, como una maratón, la concentración de LDH se duplica y, permanece alta incluso durante 2 semanas (Kobayashi et al., 2005). Un ejercicio excéntrico induce a un mayor aumento de la actividad enzimática sérica de LDH que un ejercicio concéntrico, y permanece incrementada entre el tercer y el quinto día después del ejercicio (Nosaka et al., 1992) y, a veces, incluso después del séptimo día después del esfuerzo (Brown et al., 1999).

Los niveles de AST también pueden aumentar significativamente después de un esfuerzo muscular, como el realizado, por ejemplo, en una media maratón, permaneciendo elevados durante 24 horas (Lippi et al., 2008). El incremento en esta variable también está relacionado con la duración del ejercicio (Kim et al., 2007), y puede ser visible incluso sin sintomatología clínica.

La TNI se configura como otro de los marcadores de daño muscular utilizado en el ámbito del ejercicio, por el papel fundamental que desempeña en la regulación del calcio en la contracción y relajación muscular. Tres isoformas codificadas por tres genes homólogos se han identificado: isoforma TNNI1, de contracción lenta del músculo esquelético, isoforma TNNI2, de contracción rápida del músculo esquelético, e isoforma TNNI3, del miocardio (Sheng & Jin, 2016).

Varios estudios han informado de un incremento en los niveles de TNI tras la realización de pruebas de resistencia de media o larga distancia (Mingels et al., 2009; Giannitsis et al., 2009; Lippi et al., 2012a; Lippi et al., 2012b). Además, estudios llevados a cabo desde 1987 han demostrado que el ejercicio prolongado y vigoroso se asocia con un aumento de los niveles plasmáticos de troponina cardíaca o troponina T (TNT), pareciendo ser un fenómeno más generalizado de lo que se pensaba (Vilela et al., 2014).

Por tanto, el ejercicio extenuante parece producir aumentos más pronunciados en los marcadores de daño muscular, en comparación con el ejercicio prolongado de intensidad moderada (Nie et al., 2008). Por otro lado, los marcados incrementos registrados en estas variables tras la realización de ejercicio, son generalmente más bajos en sujetos entrenados en comparación con sujetos no entrenados (Vincent & Vincent, 1997), configurándose el nivel de entrenamiento o condición física, así como la duración e intensidad del ejercicio y el nivel de actividad posterior, como factores determinantes del daño muscular tras la realización de ejercicio.

### 2.3. Efectos sobre la inflamación

El daño muscular inducido por la realización de un ejercicio físico extenuante, está asociado, además de a un alto grado de agresión oxidativa, con un aumento de mediadores pro-inflamatorios (Powers & Jackson, 2008). El ejercicio agudo puede afectar a la generación de RONS en las células inmunes, aumentando los efectos dañinos del estrés oxidativo en el tejido muscular y en el ADN leucocitario, aumentando la activación de factores de transcripción de citoquinas inflamatorias (Pedersen, 2000).

La primera observación de leucocitosis inducida por el ejercicio data de 1893 (Schultz, 1893); desde entonces, numerosos estudios posteriores han confirmado cambios en las citoquinas circulantes inducidos por el ejercicio físico.

La inflamación es un evento patológico, que se produce de acuerdo con un esquema temporal bien descrito. En resumen, los eventos más importantes son: (1) la lesión de tejidos, (2) liberación de sustancias vasoactivas por el tejido dañado, (3) la vasodilatación, (4) adhesión de leucocitos, (5) la migración de leucocitos desde el torrente circulatorio al tejido dañado y, finalmente, (6) la reparación de tejidos (Kuby, 1994).

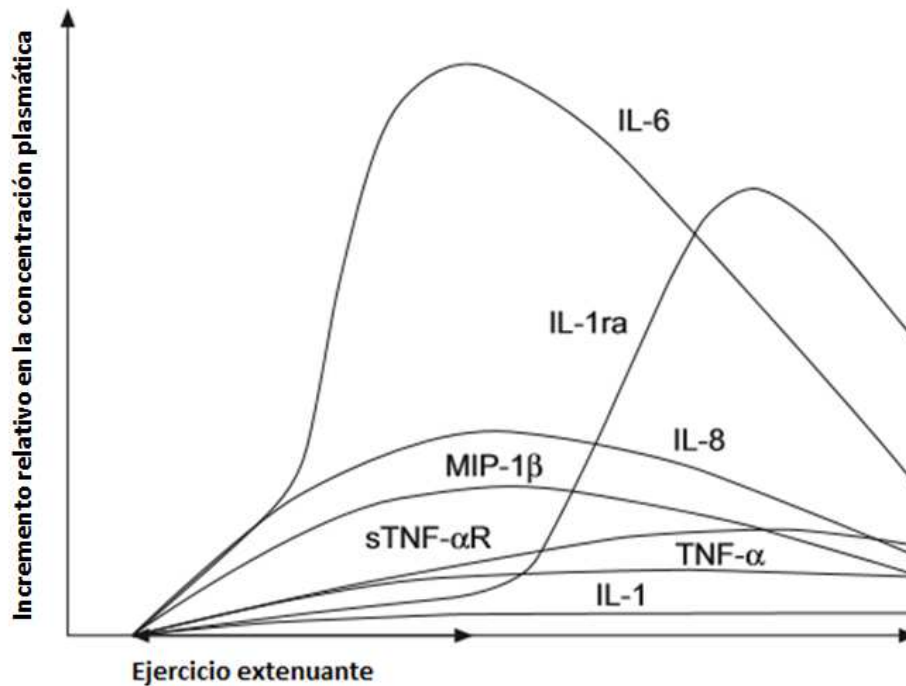
Se ha apuntado que el ejercicio físico intenso y agudo se acompaña de respuestas que son notablemente similares, en muchos aspectos, a las que son inducidas por la infección, sepsis o traumatismo (Córdova & Álvarez de Mon, 2001), provocando un aumento del número de leucocitos circulantes, principalmente linfocitos y neutrófilos, e incrementando las concentraciones plasmáticas de diversas sustancias que afectan a la función leucocitaria, incluyendo citoquinas inflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), los macrófagos inflamatorios proteína 1 e interleucina 1 (IL-1), citoquinas anti-inflamatorias como la interleucina 6 (IL-6) y 10 (IL-10) y antagonista del receptor de interleucina 1 (IL-1RA), y proteínas de fase aguda, incluyendo la proteína C reactiva (CRP) (Córdova, 2010).

Las concentraciones plasmáticas de las citoquinas pro-inflamatorias clásicas, TNF- $\alpha$  e IL-1, en general, no aumentan inmediatamente después del ejercicio; por el contrario, la IL-6 es la primera de las citoquinas presentes en la circulación durante el ejercicio (Suzuki et al., 2002). El nivel de IL-6 circulante aumenta hasta 100 veces, dependiendo de la intensidad y duración del ejercicio, y disminuye en el período post-ejercicio (Suzuki et al., 2006), siendo la contracción del músculo esquelético la principal fuente de este incremento.



Parece ser que un aumento de los niveles plasmáticos de IL-6 induce a incrementos de otras citoquinas anti-inflamatorias durante el ejercicio, configurándose ésta como el iniciador de esta respuesta (Figura 5).

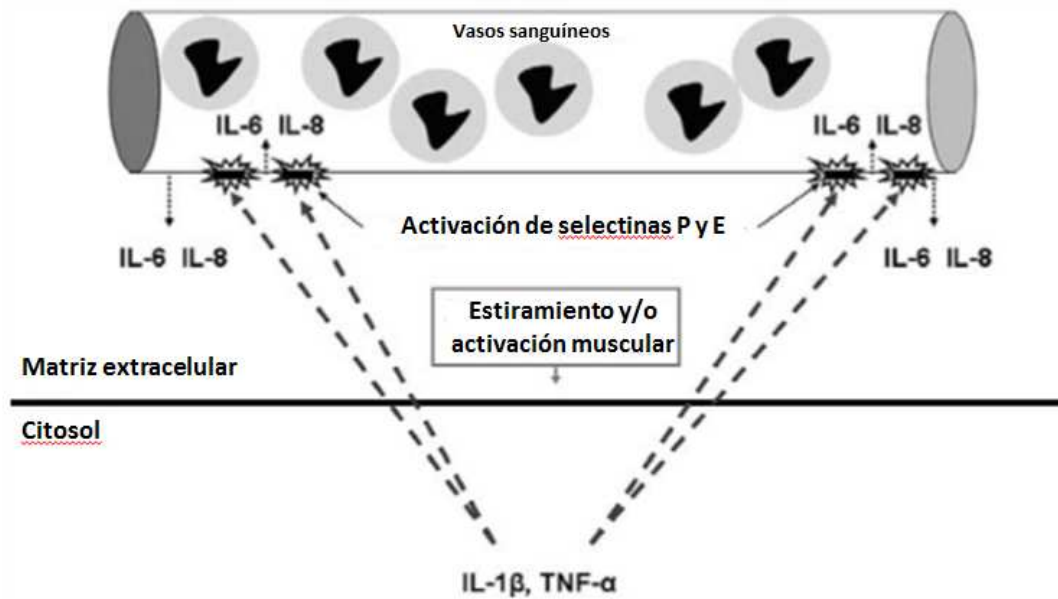
Figura 5. Respuesta de las citoquinas al ejercicio.



Córdova (2010).

El músculo esquelético continuamente produce citoquinas para mantener la homeostasis y para regular la función celular. Las citoquinas actúan en la superficie de las células diana, principalmente para alterar su función (Taniguchi, 1995). Se ha descrito que, perturbaciones simples en el músculo esquelético, como un estiramiento activo durante el ejercicio excéntrico, aumentan notablemente la expresión de interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) y de TNF- $\alpha$  (Malm et al., 2000). Estas citoquinas pro-inflamatorias se incrementan para regular la expresión de receptores de adhesión de leucocitos (E-selectina) en el endotelio de los vasos sanguíneos adyacentes (Cannon & St Pierre, 1998). La activación del endotelio es específica y puede dar lugar a un incremento adicional en la liberación de IL-1 $\beta$ , así como de citoquinas pro-inflamatorias como la IL-6 e interleucina 8 (IL-8), las cuales se ha demostrado que atraen neutrófilos (Liu & Spolarics, 2003). Por lo tanto, la activación endotelial presenta, principalmente, dos propósitos: fomentar la adhesión de neutrófilos en el lugar donde se produce estrés celular, y ayudar a la célula en el reclutamiento de neutrófilos adicionales (Figura 6).

Figura 6. Activación endotelial de citoquinas durante el ejercicio.



Adaptado de Butterfield et al. (2006).

Los neutrófilos invaden el músculo esquelético durante varias horas (4 h), y siguen presentes hasta 24 h después del ejercicio (Peake et al., 2005). Los neutrófilos y macrófagos contribuyen a la degradación del músculo dañado por la liberación de RONS (Nguyen & Tidball, 2003). Las citoquinas pro-inflamatorias IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  se expresan a nivel intra-muscular hasta 5 días después del ejercicio (Hamada et al., 2005). Por lo tanto, la respuesta inflamatoria local en el músculo esquelético después del ejercicio es, predominantemente, pro-inflamatoria.

Por otro lado, en cuanto a la respuesta anti-inflamatoria sistémica del organismo al ejercicio, la evidencia sugiere que los cambios en el número de leucocitos circulantes después del ejercicio extenuante, especialmente si es de componente predominantemente excéntrico, dependen de los grupos musculares utilizados o la cantidad de masa muscular movilizada, y ambos condicionantes pueden reflejar una mayor influencia hormonal frente al estrés en la movilización de leucocitos después del ejercicio dinámico sistémico frente a contracciones musculares locales (Peake et al., 2005).

Varios estudios han demostrado que los niveles de IL-6, IL-8, IL-1RA e IL-10 aumentaron notablemente tras la realización de pruebas de resistencia de más de 2 horas de duración, tales como carreras de maratón, ciclismo o triatlón (Ostrowski et al., 1999; Jeukendrup et al., 2000; Suzuki et al., 2006; Bernecker et al., 2013; Stelzer et al., 2015; Niemelä et al., 2016). También hay estudios que han señalado que una serie de sprints repetidos provocan una respuesta pro-inflamatoria, incrementando los niveles de TNF- $\alpha$  y CRP (Deminice et al., 2013), así como de IL-1, IL-6, y IL-1RA (Meckel et al., 2011).

Todas estas observaciones, junto con la aparición visible de inflamación muscular y dolor muscular de aparición tardía (DOMS) tras la realización de ejercicio, han llevado a los investigadores a la conclusión de que el ejercicio físico agudo provoca inflamación muscular e incrementa los niveles de citoquinas circulantes, especialmente si el ejercicio es extenuante y/o involucra contracciones excéntricas; y los niveles de citoquinas pro y anti-inflamatorias circulantes son dependientes de la intensidad y duración del ejercicio, reclutamiento de masa muscular y la capacidad de resistencia (Bernecker et al., 2013), así como de otros factores como la edad o el sexo (Peake et al., 2005).

### **2.4. Efectos sobre el rendimiento**

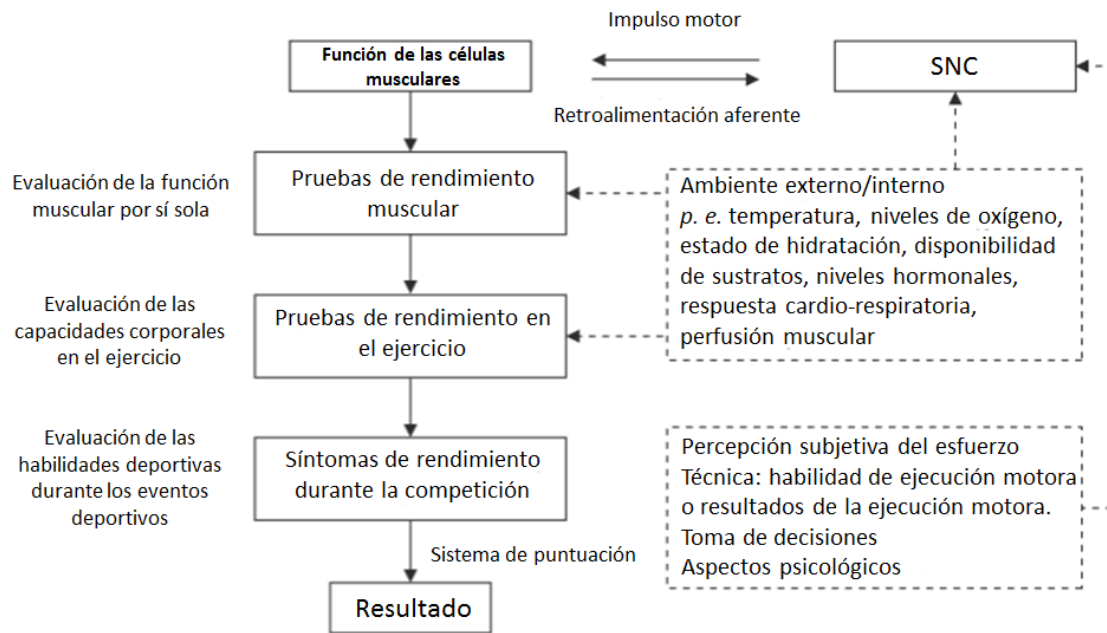
La fatiga inducida por el ejercicio intenso o de larga duración es una sensación común, que todo el mundo ha experimentado alguna vez. Durante el ejercicio, la carga de trabajo induce a una sensación de esfuerzo que aumenta gradualmente, pudiendo ser tan intensa que provoque una reducción de la carga de trabajo o, incluso, detener el ejercicio. Cualquier ejercicio físico es una actividad que consume energía, lo que tarde o temprano puede agotar las reservas del organismo, pudiendo tener efectos nocivos sobre la salud. Por lo tanto, las sensaciones de fatiga y agotamiento son, muy probablemente, esenciales para mantener la integridad del organismo.

En el ámbito del ejercicio, la fatiga es un concepto multifuncional y complejo que abarca tanto aspectos fisiológicos como psicológicos. Los cambios físicos y bioquímicos durante el ejercicio son efectos fisiológicos, los cuales pueden ser cuantificados de forma objetiva, sin embargo, la fatiga también es una entidad psicológica, lo que representa, por añadidura, una concepción de variable subjetiva y mental (Ament & Verkerke, 2009). La fatiga puede ser definida como “una sensación transitoria de cansancio o agotamiento que se siente durante los episodios agudos de ejercicio y que puede ser cuantificada por medio de cambios en el rendimiento” (Vargas & Marino, 2014).

Está bien documentado en la literatura científica que la inflamación local y sistémica, el daño muscular y el estrés oxidativo inducidos por el ejercicio de alta intensidad o de larga duración, deterioran la función del músculo esquelético (Davis et al., 2007) induciendo a un estado de fatiga y, algunos autores han relacionado este efecto con déficits de rendimiento durante el ejercicio (Baldwin Lanier, 2003; Robson-Ansley et al., 2004).

El rendimiento deportivo depende de la capacidad de un sujeto para producir y mantener altos niveles de competencia física, técnica, toma de decisiones y habilidades psicológicas, a lo largo de la competencia deportiva y, el deterioro de cualquiera de estas habilidades podría aparecer como un síntoma de fatiga. El rendimiento o la fatiga pueden ser evaluados desde tres niveles diferentes (Figura 7).

Figura 7. Tres niveles de evaluación/medición de la fatiga/rendimiento.



Adaptado de Knicker et al. (2011).

El nivel más simple lo conforma el rendimiento de fuerza/potencia en una sola unidad muscular o unidad motora. Simultáneamente, efectos estresantes en varias unidades motoras podrían afectar a la funcionalidad de un músculo, lo que puede suponer un detrimento en el rendimiento muscular. Una suposición común es que la reducción en el rendimiento muscular se traduce en una disminución del rendimiento en el ejercicio, para lo cual existen distintos test que incorporan la evaluación de la fuerza/potencia generada por varios grupos musculares, la evaluación de distintas habilidades motrices, así como la evaluación de las sensaciones de fatiga. Finalmente, una disminución en la competencia en el ejercicio, por lo general, provoca un detrimento en el rendimiento durante los eventos deportivos.

La fatiga puede ser cuantificada por medio de distintas medidas de rendimiento (véase en Tabla III) y, estas medidas se utilizan comúnmente para explorar los mecanismos de la fatiga, aunque también describen los componentes que determinan el rendimiento general.

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Tabla III. Manifestaciones comunes de fatiga durante el ejercicio o la competencia deportiva.

<b>SÍNTOMAS DE DISMINUCIÓN DEL RENDIMIENTO</b>
↓ Velocidad de respuesta del organismo, ↑ períodos de descanso, cese del ejercicio
↓ Nivel de ejecución técnica
↓ Velocidad gestual
↑ Tasa de error ( <i>p. e.</i> precisión de golpeo)
↑ Lapsus mentales (es decir, ↓ concentración, ↑ cansancio, decisiones más lentas/incorrectas) <sup>a</sup>
<b>VARIABLES DE TEST</b>
<b>Capacidad física</b>
↓ Fuerza muscular ( <i>p. e.</i> pico de CVM, fuerzas isocinéticas o tetánicas)
↓ Potencia muscular, extremidades/articulaciones o cuerpo entero
↑ Tiempo (resistencia, sprint, agilidad, sprints repetidos)
↓ Frecuencia de zancada, ↓ longitud de carrera, ↓ velocidad del pedaleo, ↓ rango de movimiento
<b>Técnica</b>
↓ Ejecución de la habilidad motora ( <i>p. e.</i> ↓ velocidad del pie o de la mano)
↓ Resultado de la habilidad motora ( <i>p. e.</i> ↓ velocidad de la pelota o precisión)
<b>Sensaciones subjetivas<sup>b</sup></b>
↑ Sensación de esfuerzo ( <i>p. e.</i> ↑ valor escala percepción subjetiva del esfuerzo)
↑ Sensación de fatiga/cansancio generalizado
↑ Sensación de fuerza realizada (incluye ↑ sensación de pesadez)
↑ Grado de dolor muscular, ↑ malestar
<b>Toma de decisiones<sup>c</sup></b>
Tiempo de reacción simple y de elección, pruebas de reconocimiento visual, Stroop Test, pruebas de concentración mental
Pruebas de anticipación relacionadas con disciplinas deportivas
<b>Aspectos psicológicos<sup>b</sup></b>
Motivación, autoeficacia, ansiedad

a Registro anecdótico

b Evaluado usando escalas de calificación o cuestionarios

c Son frecuentemente mejoradas o no cambian

CVM = Contracción isométrica voluntaria máxima; ↑ incremento; ↓ disminución

Adaptado de Knicker et al. (2011).

El ejercicio físico afecta al sistema neuromuscular, así como al medio interno en muchos niveles. El sistema neuromuscular está conformado por el SNC y las unidades motoras y, para un buen funcionamiento de este sistema tiene que haber un equilibrio físico y químico y, este equilibrio, el estado estacionario del medio interno, es mantenido por los sistemas del organismo. A continuación, en la siguiente tabla (Tabla IV) aparece una visión general de los posibles sitios donde se produce la fatiga asociada al ejercicio.

Tabla IV. Resumen de los posibles sitios donde se produce la fatiga asociada al ejercicio.

<b>I. Fatiga periférica</b>
<b>A. Cambios relacionados con el ejercicio en el medio interno</b>
Durante las cargas de trabajo por encima del punto de aumento de la acumulación de lactato en sangre, los cambios en el medio interno (sangre, líquido extracelular) incluyen:
1. Acumulación de iones lactato e hidrógeno (protones). La acumulación de iones hidrógeno puede provocar un tampón químico, de tal manera que existe una mayor liberación de dióxido de carbono a partir de bicarbonato y, como resultado, el cociente respiratorio aumenta.
2. Acumulación de amoníaco.
3. Acumulación de calor, que conduce a una mayor secreción de sudor y, la pérdida de agua puede conducir a un estado de deshidratación.
<b>B. Cambios relacionados con el ejercicio dentro de las fibras musculares</b>
1. Acumulación de $P_i$ (Fosfato inorgánico) en el sarcoplasma, causando una disminución de la fuerza contráctil debido a una inhibición de las interacciones entre puentes cruzados.
2. Acumulación de iones $H^+$ en el sarcoplasma, causando también una disminución de la fuerza contráctil debido a una inhibición de las interacciones entre puentes cruzados. Además, la acumulación de iones $H^+$ puede causar una depresión en la reabsorción de calcio en el retículo sarcoplasmático. Este hecho podría ser la causa principal del tiempo de relajación prolongado después de contracciones fatigantes.
3. Acumulación de iones $Mg^{2+}$ en el sarcoplasma. $Mg^{2+}$ contrarresta la liberación de $Ca^{2+}$ del retículo sarcoplásmico.
4. Inhibición de la liberación de $Ca^{2+}$ del retículo sarcoplasmático por acumulación de $P_i$ . La liberación de $Ca^{2+}$ es inhibida por la precipitación de fosfato de calcio dentro del retículo sarcoplasmático y por la fosforilación de los canales de liberación del $Ca^{2+}$ .
5. Disminución de las reservas de glucógeno y (en casos extremos) disminución de los niveles de glucosa en sangre. Incluso una disminución de la glucosa en sangre puede interferir seriamente con las funciones del SNC. Un agotamiento de las reservas de glucógeno conduce, de una manera no clarificada aún, al aumento de la fatiga muscular.
6. Disminución de la velocidad de conducción de los potenciales de acción a lo largo del sarcolema, probablemente como resultado de cambios bioquímicos asociados al ejercicio en y alrededor de las fibras musculares. La caída en la velocidad de conducción se refleja en el EMG (cambio de contenido de frecuencia), pero no tiene efecto inmediato conocido sobre la producción de fuerza muscular.
7. Aumento del flujo de iones de potasio ( $K^+$ ) de las fibras musculares. El aumento de potasio en el lumen de los túbulos-T puede conducir a un bloque del potencial de acción tubular y, por lo tanto, conducir a una menor fuerza debido a una depresión del acoplamiento de excitación-contracción.
8. La transmisión sináptica neuromuscular puede bloquearse; sin embargo, esto parece ser un factor de importancia, principalmente, en estado de enfermedad (miastenia gravis).
<b>II. Fatiga central</b>
1. La conducción de los potenciales de acción axonal puede bloquearse en los lugares de ramificación axonal, lo que conduce a una pérdida de activación de las fibras musculares. La importancia relativa de este factor es desconocida.
2. El impulso neuronal motor podría estar influenciado por los efectos reflejos de los aferentes musculares. Así, los efectos centrales de la fatiga podrían, hasta cierto punto, ser compensados por los reflejos mecano receptores (tipos IA y II de los husos neuromusculares, tipo IB de los Organos tendinosos de Golgi).
3. La estimulación de los nervios tipos III y IV (aferentes quimio-nociceptivos) induce a una disminución en la tasa de disparo de la neurona motora y a una inhibición de la salida de la corteza motora.
4. La excitabilidad de las células dentro de la corteza motora cerebral podría cambiar durante el curso de las tareas motoras mantenidas, como lo sugieren las mediciones utilizando estimulación magnética transcraneal.
5. Los efectos sinápticos de las neuronas serotoninérgicas podrían aumentar, causando una mayor sensación de cansancio y fatiga. Esto puede ocurrir como resultado de una afluencia creciente en el cerebro del triptófano precursor de serotonina. Durante el ejercicio prolongado, tal aumento de la afluencia de triptófano puede ser el resultado de una disminución provocada por el ejercicio en la concentración sanguínea de BCAA.
6. Liberación de citoquinas inducida por el ejercicio. La IL-6 provoca sensaciones de fatiga y la IL-1 induce a sensaciones de enfermedad y sueño.
BCAA = aminoácidos de cadena ramificada; EMG = electromiografía

Adaptado de Ament & Verkerke (2009).

Cuando los procesos de fatiga se originan en las células musculares y afectan directamente a la función contráctil del músculo, el fenómeno se denomina fatiga periférica (Allen et al., 2008). Este fenómeno generalmente implica medidas pico de fuerza disminuidas, pero cuando se combina con una velocidad de acortamiento ralentizada, puede manifestarse como una reducción de la potencia muscular (Ament & Verkerke, 2009). Se postula que varios mecanismos contribuyen a la fatiga periférica, ya sea de forma directa o por medio de factores interactivos. Estos mecanismos incluyen factores metabólicos, por ejemplo: ATP,  $P_i$ , fosfocreatina (PCr), lactato, disminución de la disponibilidad de glucosa o glucógeno, factores iónicos ( $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ), acidosis (Fitts, 1994; Allen et al., 2008), hipoxia (Howlett & Hogan, 2007), respuesta inflamatoria y liberación subsiguiente de citoquinas (Vargas & Marino, 2014), RONS y/o daño muscular (Allen et al., 2008).

Una reducción de la fuerza muscular durante las contracciones volitivas, también puede surgir en algún lugar del SNC, a través de una disminución del impulso de la corteza motora en el cerebro, es decir, la denominada fatiga central, que es definida como una pérdida de fuerza proximal a la unión neuromuscular (Westerblad et al., 1991). La inhibición de la activación motora (reducción de la frecuencia de disparo de las motoneuronas y/o el “desreclutamiento” de unidades motrices) puede ser consecuencia de la retroalimentación periférica de los músculos, corazón o pulmones y/o entrada de los centros superiores del SNC.

Por tanto, las habilidades psicomotoras en todo el cuerpo, requieren un control integrado por el sistema nervioso periférico y central y, esta interacción SNP-SNC es un aspecto importante para mantener y/o devolver la homeostasis general del organismo cuando hay un desequilibrio, tal como los diversos cambios que ocurren durante el ejercicio. De hecho, la teoría biológicamente más sólida de la fatiga en la fisiología del ejercicio, es la teoría de los sistemas complejos, la cual ha sido desarrollada con el tiempo (St Clair Gibson & Noakes, 2004).

Está bien documentado en la literatura científica que durante el ejercicio físico de alta intensidad, como un sprint, levantamiento de pesas pesadas, e incluso las contracciones máximas voluntarias, el reclutamiento de fibras de contracción rápida y los cambios que ocurren a nivel celular, junto con la acumulación de metabolitos en el músculo, afectan en gran medida a la capacidad contráctil y pueden contribuir a la fatiga periférica (Allen et al., 2008). Sin embargo, a pesar de los cambios sustanciales en los perfiles metabólicos musculares durante el ejercicio intenso, sigue siendo cuestionable hasta qué punto se puede alterar la regulación central en el reclutamiento de la unidad motora y cuantificarse como fatiga central. No obstante, por ejemplo, en un estudio (Kennedy et al., 2013) se registró una reducción en el impulso voluntario a los músculos flexores durante una contracción máxima voluntaria debido a la activación continuada de los aferentes musculares de pequeño diámetro,

los cuales son sensibles a los aumentos en la concentración de metabolitos, es decir, encontraron que una contracción máxima de 2 minutos de los flexores y extensores del codo con isquemia inducida causó una disminución en la activación voluntaria de las regiones centrales y, por ende, una disminución en la producción de fuerza. Por lo tanto, este estudio, elocuentemente, pone de manifiesto el papel de la retroalimentación aferente de la fatiga central.

Así pues, la fatiga inducida por el ejercicio físico agudo intenso o extenuante es un fenómeno complejo caracterizado por los múltiples síntomas, de origen fisiológico y psicológico, que pueden ocurrir simultáneamente durante la competencia del ejercicio y, sobre la base de este entendimiento, se refuerza la idea de que la fatiga se describe, de forma simplificada y más inclusiva desde todos los puntos de vista en el ámbito del ejercicio, como una disminución del rendimiento, aunque, por otro lado, no hay que olvidar que las sensaciones de fatiga son esenciales para mantener la integridad del organismo.

### **3. El uso de suplementos antioxidantes y ejercicio físico**

---

Se ha postulado que el ejercicio físico agudo extenuante o no programado puede aumentar la generación de RONS pudiendo exceder la capacidad protectora del sistema antioxidante y conducir a un estado de estrés oxidativo, provocar daño muscular e incrementar los niveles de citoquinas circulantes, induciendo a una desregulación dentro de los sistemas inflamatorios y neuroendocrinológicos, lo cual puede derivar en efectos perjudiciales para la salud, además de afectar, por ende, al rendimiento deportivo.

Por otro lado, se ha apuntado que los atletas o deportistas bien entrenados generalmente poseen una capacidad antioxidante mejorada y son menos susceptibles a las perturbaciones redox inducidas por el ejercicio en comparación con la población sedentaria (Melikoglu et al., 2008; Falone et al., 2010). En este sentido, la población sedentaria que ocasionalmente realiza ejercicio, o los ya mencionados “guerreros de fin de semana”, se configuran como poblaciones especialmente sensibles a este tipo de daño. Además, en sujetos debidamente entrenados, factores como un aumento repentino en la carga de entrenamiento (Palazzetti et al., 2004), exposición a condiciones de altitud/hipoxia (Pialoux et al., 2010), ejercicio prolongado y vigoroso (Aguiló et al., 2005; Rowlands et al., 2012), la contaminación (Gomes et al., 2011) o una ingesta insuficiente de antioxidantes en la dieta (Farajian et al., 2004, Rousseau et al., 2004) pueden exceder las defensas antioxidantes de un individuo para amortiguar la producción de oxidantes en el ejercicio y/o sus consecuencias.



Una protección antioxidante insuficiente puede, por tanto, contribuir a niveles elevados de estrés oxidativo, alteración de la regulación neuroendocrina, daño muscular excesivo y/o incapacitar para adaptarse a estímulos de entrenamiento físico continuo (Slattery et al., 2015), así como promover la fatiga muscular (Reid, 2008) afectando al rendimiento deportivo. En este contexto, se ha investigado ampliamente la capacidad del uso de suplementos antioxidantes exógenos para mantener el equilibrio oxidativo en estados de estrés durante el ejercicio.

Un antioxidante, por definición, es una sustancia que puede retardar o prevenir la oxidación de otros sustratos (Halliwell et al., 1995). Los antioxidantes están presentes tanto en la matriz intracelular como extracelular y forman un complejo sistema de defensa para proteger a las células y a los tejidos del organismo contra el daño oxidativo en lípidos, proteínas y ácidos nucleicos (Halliwell et al., 1995).

Existe evidencia científica al respecto, que apoya la capacidad de los compuestos antioxidantes para paliar el daño oxidativo (Di Giacomo et al., 2009), daño muscular (Howatson & van Someren, 2008) e inflamatorio (Elkington et al., 2015), así como para ofrecer una ayuda ergogénica para mejorar el rendimiento (Peternalj & Coombes, 2011). Por otro lado, se ha apuntado que la mayoría de los suplementos antioxidantes comunes no son tóxicos, incluso a niveles relativamente altos de suplementación, por lo que la suplementación antioxidante no es probable que sea perjudicial y, en teoría, presente el potencial de ser beneficiosa para el deportista (Powers et al., 2011).

Por tanto, el uso de suplementos nutricionales es una práctica común entre los atletas profesionales y los deportistas aficionados, y el abanico de productos que ofrece el mercado es inmenso (Maughan et al., 2007) (ver Tabla V). Sin embargo, aunque estos productos han sido promocionados como un medio para prevenir el daño oxidativo inducido por el ejercicio y/o mejorar el rendimiento, la evidencia de su eficacia no es muy consistente (Davison & Gleeseon, 2005). De hecho, si el uso de suplementos antioxidantes es beneficioso o no para el deportista, sigue siendo un tema que genera cierta controversia y es muy debatido en la actualidad en el ámbito científico.

Esta controversia se debe a que existen argumentos en contra del uso de suplementos antioxidantes en el ejercicio, ya que hay investigaciones que ponen de relieve el hecho de que los incrementos de RONS inducidos por el ejercicio se atenúan con la suplementación con antioxidantes, pudiendo verse afectados los procesos adaptativos a los estímulos de entrenamiento (Ristow et al., 2009), es decir, que los compuestos antioxidantes exógenos pueden prevenir o reducir los procesos adaptativos útiles del ejercicio, especialmente si se toman en dosis altas (Jackson et al., 1998; Gomez-Cabrera et al., 2008). Además, también se ha apuntado que dependiendo de la dosificación y el sitio de actividad, ciertos antioxidantes ejercen un

efecto pro-oxidante (Slattery et al., 2015). Algunos estudios han informado de que la suplementación antioxidante no proporciona protección adicional contra el daño oxidativo y la inflamación (Davison & Gleeseon, 2005; Teixeira et al., 2009) o, incluso, exacerba el daño oxidativo y la inflamación durante el ejercicio extenuante, y retrasa el proceso de recuperación (Close et al., 2006; Peternelj y Coombes 2011).

Tabla V. Suplementos nutricionales más comunes en el ámbito del ejercicio físico.

Aceite de germen de trigo	Cafeína	Esteroles de plantas	KIC (alfacetoisocaproato)	Pycnogenol
Aceites de pescado	Calcio	Estimuladores de óxido nítrico	Lecitina	Quercetina
Ácido ferúlico	Calostro	Flavonoides	Leptina	Rhodiola rosea
Ácido fólico	Carbohidratos	Fosfatidilserina	Magnesio	Ribosa
Ácido gamma-aminobutírico	Carnitina	Gamma-butirolactona (GBL)	Melanina	Sales de fosfato
Ácidos grasos Omega 3, 6, 9	Cissus quadrangularis	Gamma-orizanol	Medicinas chinas	Selenio
Ácidos grasos y Triglicéridos de cadena media	Citocromo C	Gingko biloba	Melatonina	Succinato
Ácido linoleico	Citulina	Ginseng	Metilsulfonilmetano	Sulfato de vanadio
Ácido linoleico conjugado	Cobre	Glandulars	Minerales	Tampones químicos
Aguas oxigenadas	Coenzima Q10	Glicerol	N-acetilcisteína	Té verde
Ajo	Condroitina	Glucosamina	Octacosanol	Teobromina
Alfa-cetoglutarato	Creatina	Glutamato monosódico	Ornitina	Teofilina
Aminoácidos	Curcumina	Glutamina	Phlogenzym	Tiroxina
Androstenediona	Deshidroepiandrosterona (DHEA)	Glutación	Picolinato de cromo	Vanadio
Antioxidantes	Dihidroxiacetona	Guaraná	Piruvato	Vitaminas
Árnica	Dimetilglicina	Hierro	Polilactato	Wobenzym
Azúcares/edulcorantes	Echinacea	Hydroxycut	Pre/probióticos	Yohimbina
Beta-hidroxi-beta-metil-butirato	Electrolitos	Inosina	Prohormonas	Yuca
Boro	Ephedra (Ma Huang)	Inositol	Proteína	Zinc
Bitartrato de colina/acetilcolina	Espirulina	Jalea real	Polen de abeja	Zinc/Aspartato de Magnesio

Adaptado de Burke et al. (2009).

Por todo ello, a pesar de las numerosas investigaciones en el contexto de la suplementación antioxidante en el ejercicio, no existe un consenso claro sobre los beneficios de ésta para los deportistas, y se necesitan más investigaciones para determinar la capacidad de estos compuestos para lograr la adaptación inducida por el ejercicio, ya que los hallazgos anteriores son equívocos e inconclusos (Williams et al., 2006), apareciendo, tanto estudios que muestran efectos beneficiosos, como estudios que no exponen ningún efecto (la mayoría) o estudios que, incluso, revelan efectos perjudiciales.

Esto puede deberse a numerosas variables de confusión, como diseños experimentales variables, diferentes protocolos de suplementación (compuesto antioxidante, dosificación, duración del período de suplementación), tipo de ejercicio realizado y diferentes niveles de entrenamiento de los sujetos experimentales (Slattery et al., 2015). También hay una escasez de investigaciones realizadas en la población atlética centradas en el efecto resultante redox mediado por la expresión génica en la capacidad de rendimiento (Slattery et al., 2015). No obstante, estos hallazgos destacan el delicado equilibrio dentro de los procesos de señalización redox, siendo probable que, tanto una cantidad insuficiente como excesiva en el consumo exógeno de antioxidantes, pueda tener un efecto negativo sobre el proceso adaptativo.

En base a estos hallazgos, debido a los resultados contradictorios sobre los beneficios y/o los perjuicios de la suplementación antioxidante, actualmente se recomienda que, en primera instancia, en lugar de usar suplementos, las personas físicamente activas deben centrarse en consumir una dieta equilibrada que incluya una variedad de alimentos ricos en antioxidantes que atienda a sus requerimientos nutricionales y energéticos en el ejercicio (Margaritis & Rousseau, 2008; Powers et al., 2011), ya que, durante el ejercicio, la producción excesiva de oxidantes en el músculo esquelético se controla mediante una respuesta sinérgica entre el sistema antioxidante endógeno y las vitaminas y minerales antioxidantes consumidos como parte de una dieta bien equilibrada (Watson et al., 2005).

El sistema antioxidante se adapta fácilmente a los estímulos de entrenamiento físico para contrarrestar los efectos potencialmente dañinos del exceso de RONS inducido por el ejercicio y mantener las vías de señalización redox controladas (Ji, 2008). Sin embargo, los atletas bien entrenados, o las personas físicamente activas, pueden presentar un riesgo aumentado de daño oxidativo debido a una ingesta dietética insuficiente de antioxidantes (Rousseau et al., 2004). Además, se ha sugerido que, a medida que los deportistas producen una mayor cantidad de estrés oxidativo, durante episodios repetidos de ejercicio o esporádicos de ejercicio extenuante, pueden requerir una mayor cantidad de antioxidantes exógenos para mantener la salud y mejorar el rendimiento (Palazzetti et al. 2004). Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la suplementación con antioxidantes puede ayudar a los deportistas a sobrellevar mejor los periodos de entrenamiento o competencias deportivas intensas, previniendo reducciones en la capacidad de rendimiento durante el ejercicio vigoroso, así como las consecuencias del daño oxidativo (Slattery et al., 2015); aunque, es preciso apuntar que el consumo de suplementos antioxidantes necesita ser periodizado e individualizado para que pueda proporcionar un refuerzo adicional durante estos períodos (Slattery et al., 2015).

Finalmente, es necesario tener en cuenta aspectos de seguridad referentes a los suplementos nutricionales; por ejemplo: los requerimientos de proteínas

recomendados se reducen en la diabetes, la hipertensión puede tener implicaciones para la ingesta de sodio y, algunas condiciones clínicas pueden contraindicar el uso de cafeína; además, la dosis de suplemento para grupos especiales, tales como atletas en silla de ruedas, puede necesitar ser alterada debido a la disminución de la masa muscular activa en este tipo de sujetos (Burke et al., 2009).

En el contexto de la suplementación con antioxidantes en el ejercicio, la Coenzima Q10 (CoQ10) se configura como una de las sustancias empleadas para tal efecto (Burke et al., 2009; Belviranli & Okudan, 2015; Sarmiento et al., 2016a).

## **4. La Coenzima Q10**

---

### **4.1. Estructura molecular, localización y formas**

La Coenzima Q10, también conocida como ubiquinona, ubidecarenona, coenzima Q o vitamina Q10, y abreviada como CoQ10, CoQ, o Q10, es una molécula natural constituida a partir de la conjugación de un anillo de benzoquinona con una cadena isoprenoide hidrófoba de longitud variable, dependiendo de la especie (Cluis et al., 2007; Prakash et al., 2010). Fue detectada por primera vez en los lípidos insaponificables de la mucosa intestinal del caballo (Festenstein et al., 1955) y, dos años después, fue aislada y caracterizada por primera vez en dos grupos de investigación distintos, un grupo usó el término "Coenzima Q10" (Crane et al., 1957), que la aisló de las mitocondrias del corazón de ternera, y otro grupo la denominó "ubiquinona", es decir, la quinona omnipresente (Morton et al., 1957). Sin embargo, la compleja estructura química de la CoQ fue definida un año después (Wolf et al., 1958; Morton, 1958).

Esta molécula se encuentra, principalmente, en el dominio hidrofóbico de la bicapa fosfolipídica del sistema de membrana interna de las mitocondrias, pero también se encuentra presente en el resto de membranas biológicas a niveles significativos (Battino et al., 1990; Lenaz et al., 1999; López-Lluch et al., 2010), así como en las lipoproteínas plasmáticas (Crane, 2001). Además, la CoQ10 se encuentra en todas las células vegetales y animales (Prakash et al., 2010).

Debido a su presencia omnipresente en la naturaleza y a su estructura química de quinona, también es denominada ubiquinona (Prakash et al., 2010). La Ubiquinona se conoce como "coenzima" debido a su capacidad única de participar como cofactor en las reacciones químicas, aunque se mantiene a niveles de estado estacionario en la

célula (Litarru & Tiano, 2007). Existen diferentes moléculas de ubiquinona que se clasifican en función de la longitud de su cadena lateral isoprenoide mediante un subíndice que indica el número de carbonos (CoQ<sub>n</sub>) (Cluis et al., 2007). CoQ9 (2,3-dimetoxi-5-metil-6-noneprenil-1,4-benzoquinona) es la forma predominante en ratas y ratones, mientras que en humanos y otros mamíferos longevos, el homólogo principal es CoQ10 (2,3-dimetoxi-5-metil-6-decaprenil-1,4-benzoquinona) (Bhagavan & Chopra, 2006; Prakash et al., 2010). En humanos y animales, la CoQ está presente en todos los tejidos en cantidades variables. La distribución y el estado redox de CoQ10 en diversos tejidos humanos se muestran en la Tabla VI.

Tabla VI. Distribución y estado redox de CoQ10 en tejidos humanos.

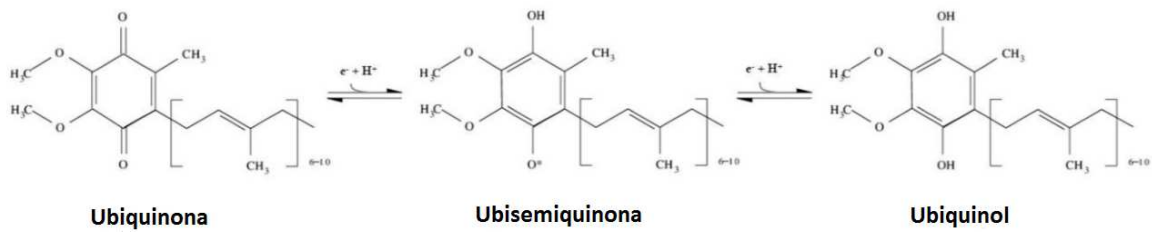
TEJIDO	CoQ10 (nmol/g)	Estado redox (% reducida)
Corazón	132.0	61.0
Riñones	77.0	75.0
Hígado	63.6	95.0
Músculo esquelético	46.0	65.0
Cerebro	15.5	23.0
Intestino	13.3	95.0
Pulmones	9.2	25.0
Plasma (μmol/l)	1.1	96.0

Adaptado de Bhagavan & Chopra (2006).

La importancia de la longitud de la cadena isoprenoide está relacionada con la estabilidad de la molécula dentro de la bicapa lipídica hidrófoba (Varela-López et al., 2016). Además, esta característica parece afectar a otras propiedades, como la movilidad, la interacción intermolecular con proteínas de membrana, y la auto-oxidabilidad (James et al., 2004).

El anillo de benzoquinona de CoQ puede asumir tres estados redox alternos debido a la existencia de diferentes niveles posibles de protonación, dando lugar a tres formas alternativas de CoQ (Figura 9): la totalmente oxidada o ubiquinona (CoQ), la parcialmente reducida o ubisemiquinona (CoQH), y la completamente reducida o ubiquinol (forma activa) (CoQH<sub>2</sub>) (Fato et al., 1986; Genova & Lenaz, 2011).

Figura 8. Formas redox alternativas de la Coenzima Q.



Varela-López et al. (2016).

Por otro lado, debido a su extrema hidrofobicidad, es posible encontrar CoQ natural en tres estados físicos: disuelta en bicapas lipídicas, formando agregados micelares, o unida a proteínas (Varela-López et al., 2016). A nivel celular, la CoQ se distribuye entre los dos primeros estados (Genova & Lenaz, 2011), mientras que la importancia del último es sólo experimental (Fato et al., 1986). Todas las células son capaces de sintetizar, desde una perspectiva funcional, suficientes cantidades de esta molécula en condiciones fisiológicas normales (Bentinger et al., 2007). Sin embargo, el contenido de CoQ, así como las relaciones entre sus distintas formas, son diferentes dependiendo de la especie, tejido o incluso orgánulo analizados. Como se ha comentado anteriormente, los niveles de CoQ son mayores en tejidos con altos volúmenes de energía, como el corazón, el hígado, los riñones, el páncreas, el músculo esquelético y la glándula tiroides (Tran et al., 2001; Zheng & Moritani, 2008). Del mismo modo, se ha informado que los lisosomas y las membranas de Golgi contienen concentraciones relativamente más altas de CoQ que las membranas mitocondriales o microsomas (Dallner & Sindelar, 2000; Sohal & Forster, 2007).

En las membranas biológicas no mitocondriales, la CoQ continuamente cicla entre un estado oxidado y reducido gracias a diferentes enzimas con actividad CoQ reductasa (Ernster & Dallner, 1995). Estas enzimas son NAD(P)H deshidrogenasas, las cuales forman parte del sistema redox de la membrana plasmática, donde la CoQ actúa como un mediador que acepta electrones del NAD(P)H citosólico (López-Lluch et al., 2010). Este sistema se ha relacionado con el mantenimiento de la homeostasis redox intracelular, la protección antioxidante de la membrana, la regulación de la señalización celular y otras funciones (López-Lluch et al., 2010) que se discutirán a continuación.

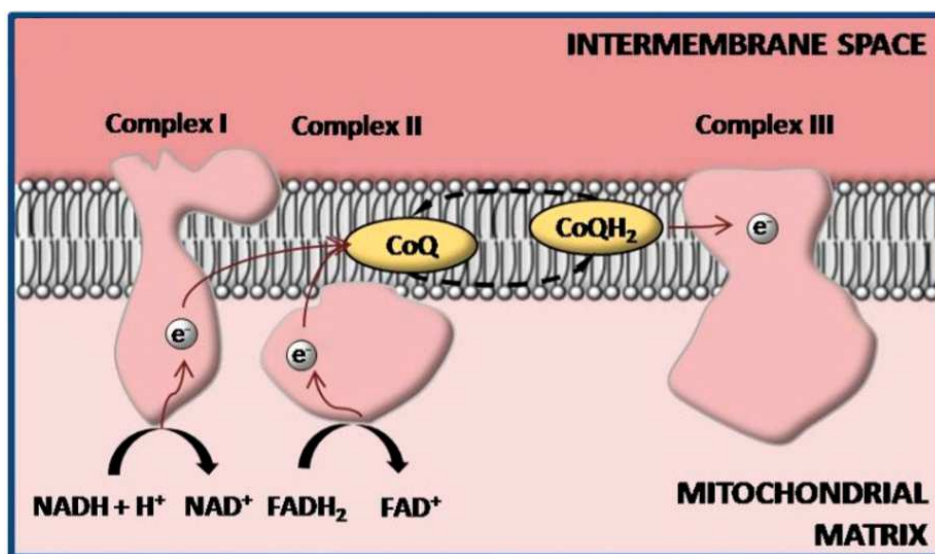
## 4.2. Funciones relacionadas con la bioenergética celular

### 4.2.1. Transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial

La CoQ presenta un rol esencial en el metabolismo celular para producir ATP, el cual proporciona energía para la contracción muscular y otras funciones celulares vitales. La mayor parte de la producción de ATP se produce en la membrana interna mitocondrial, donde se encuentra la coenzima Q (Crane, 2001). Por tanto, la principal función atribuida al CoQ es el transporte de electrones en la cadena respiratoria mitocondrial, siendo éste un factor clave que contribuye a generar el potencial de membrana que está acoplado a la fosforilación oxidativa (Alcázar-Fabra et al., 2016), constituyéndose la CoQ como un factor clave en la bioenergética celular (López-Lluch et al., 2010).

La CoQ es un compuesto único que transfiere electrones entre el Complejo I o el Complejo II al Complejo III de la cadena respiratoria mitocondrial, recibiendo electrones del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH) o succinato respectivamente (Battino et al., 1990; Sohal & Forster, 2007; Bentinger et al., 2007) (Figura 10). Este transporte de electrones es el proceso final de una serie de reacciones de las que se obtiene la mayor parte de la energía contenida en la glucosa y en los ácidos grasos, a través de la eliminación de electrones de los intermediarios del ciclo de Krebs.

Figura 9. Rol de la Coenzima Q en la cadena respiratoria mitocondrial.



Varela-López et al. (2016).

Además, la CoQ también acepta electrones de otros donantes, incluyendo la dihidroorotato deshidrogenasa (Fumarato), y las acil-CoA deshidrogenasas (Alcázar-Fabra et al., 2016). Puesto que cuenta con varios donantes de electrones, aunque sólo los transfiere al complejo III, puede ser considerada como un “cruce de caminos” en la actividad de transporte de electrones mitocondrial (Varela-López et al., 2016). Por lo tanto, la CoQ cicla continuamente entre sus formas reducida y oxidada en las mitocondrias, pero también está unida a proteínas en la membrana de forma libre (Varela-López et al., 2016) y, la suma de CoQ en cualquiera de estos estados posibles constituye el depósito de CoQ mitocondrial (Sohal & Forster, 2007). En este sentido, se ha apuntado que una piscina equilibrada de CoQ puede suponer una mejor adaptación para el flujo de electrones que una mayor o menor piscina de CoQ, manteniéndose así un mejor control de la homeostasis mitocondrial (López-Lluch et al., 2010). Además, se ha informado de que la proteína unida a la CoQ participa, y es necesaria, en el mantenimiento de la estabilidad del complejo III en las levaduras (Santos-Ocaña et al., 2002).

De acuerdo con este último hallazgo, los niveles mitocondriales de CoQ no sólo afectarían a la bioenergética celular por su participación como coenzima en la cadena respiratoria mitocondrial, sino que también podrían afectar a la actividad y estructura de las proteínas complejas (López-Lluch et al., 2010). Además, por medio del sistema redox de la membrana plasmática, la CoQ participa en el equilibrio de la relación  $NAD^+ : NADH$  a nivel celular, lo cual también regula la bioenergética celular (Larm et al., 1994).

#### **4.2.2. Función reguladora en el sistema redox de la membrana plasmática**

El sistema de transporte de electrones asociado a la membrana plasmática está basado, principalmente, en la participación de diferentes NAD(P)H deshidrogenasas que aceptan electrones del NAD(P)H citosólico para reducir al CoQ, la cual está presente en la membrana plasmática a niveles comparables con los de la mitocondria (Takahashi et al., 1993).

La actividad del sistema redox de la membrana plasmática se configura como un proceso esencial en el mantenimiento de la bioenergética celular cuando la actividad mitocondrial disminuye, como ocurre en el envejecimiento (de Grey, 2001; López-Lluch et al., 2010); de hecho, su actividad aumenta en las células que carecen de funcionalidad mitocondrial (Larm et al., 1994; Hyun et al., 2006). De manera más detallada, se ha informado de que la cantidad de CoQ en la membrana plasmática



aumenta y las reductasas dependientes de la CoQ son estimuladas después de la supresión del genoma mitocondrial (ADNmt), lo cual induce a una acumulación de NADH citosólico y, este aumento permite a las células mantener la relación citosólica  $NAD^+ : NADH$ , configurándose este hecho como necesario para que la glucólisis se produzca correctamente (Larm et al., 1994; Hyun et al., 2006; Valera-López et al., 2016).

La CoQ también es capaz de actuar como un oxidante por auto-oxidación de su forma ubisemiquinona (James et al., 2004). Sobre la base de su, aparentemente paradójica, capacidad potencial de actuar tanto como un pro-oxidante como un antioxidante, se ha sugerido que la CoQ también puede ser un modulador del estado redox celular en condiciones fisiológicas y/o patológicas que afectan al proceso de envejecimiento de esta manera (Sohal & Forster, 2007).

### **4.3. Función antioxidante**

La localización de la coenzima Q en las membranas celulares, muy próxima a las cadenas lipídicas insaturadas, le otorga un papel privilegiado para actuar como un captador primario de radicales libres (Crane, 2001). De hecho, una de las principales funciones de la CoQ en las membranas biológicas es actuar como un antioxidante (López-Lluch et al., 2010). Varios estudios han demostrado la interacción directa de la CoQ con radicales libres, reduciendo la oxidación de lípidos en liposomas, membranas celulares y lipoproteínas (Ernster et al., 1992). La actividad en las membranas biológicas indica un importante papel del ubiquinol (forma activa) en las defensas celulares contra el daño oxidativo. (Ernster & Forsmark-Andrée, 1993). Además, se constituye como el único antioxidante liposoluble sintetizado de forma endógena, que ha demostrado prevenir eficazmente la oxidación de proteínas, lípidos y ADN (Ernster, 1993). En este papel, la CoQ puede actuar como antioxidante por sí mismo o como neutralizador de radicales libres (Crane, 2001; James et al., 2004).

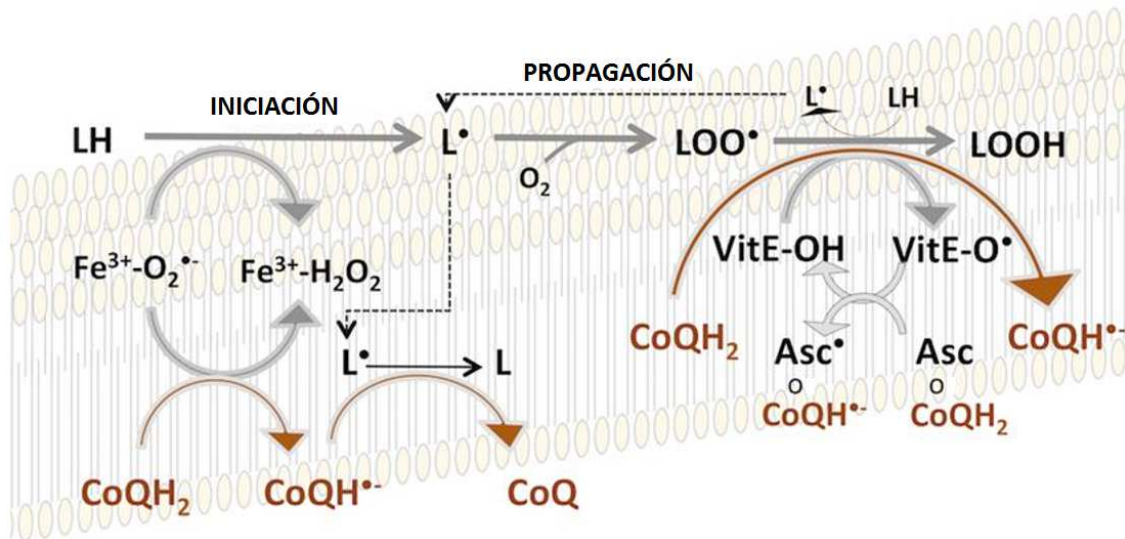
Adicionalmente, también participa en la regeneración de otros antioxidantes como el ascorbato y el  $\alpha$ -tocoferol (Crane, 2001; López-Lluch et al., 2010). En particular, se ha propuesto que el efecto antioxidante de las quinonas en las membranas mitocondriales está mediado por el reciclado de  $\alpha$ -tocoferol (López-Lluch et al., 2010).

La CoQ10 reducida, por sí sola, ha demostrado ser un antioxidante fisiológico liposoluble y, en contraste con otros antioxidantes, el ubiquinol puede inhibir tanto la iniciación como la propagación de la peroxidación lipídica mediante la reacción con radicales perferrilo y radicales que generan ubisemiquinona y un hidroperóxido lipídico

no radical, con la consecuente prevención del ataque de estas especies, considerándose este mecanismo como inhibidor de la síntesis de radicales alquilo y peroxilo (Bentinger et al., 2010). Durante la iniciación, puede reducir el radical perferrilo iniciador ( $\text{Fe}^{3+}\text{O}_2^{\cdot-}$ ), o actuar directamente a través de la eliminación del radical peroxilo lipídico ( $\text{LOO}^{\cdot}$ ) [5].

Además, la CoQ10 también puede interferir y ralentizar la peroxidación lipídica funcionando como un antioxidante que rompe la cadena o, indirectamente, a través de su reacción con el radical  $\alpha$ -tocoferoxilo para regenerar  $\alpha$ -tocoferol (Vitamina E) y reciclando ascorbato (Vitamina C) (Figura 11) (Frei et al., 1990; Santos-Ocaña et al., 1998). De manera similar, el ubiquinol es también eficaz en la prevención de la oxidación de las proteínas mediante el enfriamiento del radical perferrilo iniciador y/o por su reacción con el superóxido de hidroxilo y los radicales libres derivados de lípidos, lo cual también protege a las proteínas de la oxidación y, en relación con esto, también es importante señalar que el ubiquinol regenera eficazmente la vitamina E a partir del radical  $\alpha$ -tocoferoxilo, lo que contribuye, de forma adicional, a retardar la etapa de propagación de la peroxidación lipídica (Varela-López et al., 2016).

Figura 10. Representación esquemática de la acción antioxidante de la CoQ para prevenir la peroxidación lipídica.



También se ha demostrado que la CoQ previene la oxidación del ADN, lo que es particularmente importante en el caso del ADN mitocondrial (Bentinger et al., 2010). Además, la deficiencia de algunos nutrientes antioxidantes como la vitamina E y el selenio podría ser compensada por la inducción de sistema antioxidante dependiente del CoQ (López-Lluch et al., 2010). Este hecho se ha observado en los hepatocitos, donde tanto los niveles de CoQ como de reductasas de la CoQ han demostrado ser

afectados por este mecanismo compensatorio (Navarro et al., 1998). Este último aspecto refuerza el papel de la CoQ como antioxidante, particularmente en algunas situaciones fisiológicas, tales como deficiencias nutricionales, lo que es particularmente interesante porque se sintetiza endógenamente.

La alta eficiencia como antioxidante atribuida a la CoQ es debida tanto a su localización intramembranosa, como se ha comentado anteriormente, así como a su distribución generalizada y abundante en el organismo y a su efectiva reducción/reactivación por una serie de sistemas celulares (Bentinger et al., 2010). Primeramente, su localización es de importancia central ya que los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^\cdot$ ) y aniones radicales superóxido  $\text{O}_2^-$  generados en las membranas celulares, de otro modo, reaccionarían rápidamente con moléculas vecinas de lípidos y proteínas, por ello, requieren la disponibilidad de agentes protectores efectivos cerca del sitio de producción del radical (Bentinger et al., 2010). Por otro lado, varios sistemas enzimáticos eficaces catalizan la reducción de CoQ para conseguir su forma activa (reducida) en células eucariotas (Ernster, 1993).

En las mitocondrias, la forma reducida antioxidante de la CoQ es regenerada en la cadena respiratoria (Bentinger et al., 2010). Sin embargo, además de en la cadena respiratoria mitocondrial, se han encontrado otras enzimas con tal función, como la NADH-citocromo b5 reductasa, que puede reducir la CoQ a través de un mecanismo de reacción de un electrón (Navarro et al., 1998), y la enzima soluble NAD(P)H-quinona oxidorreductasa 1 (NQO1) que puede reducir quinonas por una reacción de dos electrones (Genova & Lenaz, 2011). Esta enzima es inducida bajo el desafío oxidativo y puede mantener el flujo de electrones a través del sistema redox de la membrana plasmática hacia la CoQ cuando este sistema está trabajando principalmente como antioxidante (Takahashi et al., 1995). Además, también se ha descrito una NADPH-CoQ reductasa citosólica diferente de la NQO1, que parece ser un factor principal para la reducción de la CoQ no mitocondrial (Takahashi et al., 2008). Sin embargo, más estudios son necesarios para aclarar su papel y regulación bajo situaciones de estrés oxidativo (López-Lluch et al., 2010).

El ubiquinol también actúa sobre la formación de ferril mioglobina (forma radical), producto formado en la interacción de la mioglobina con el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), potente agente oxidante capaz de agredir diversos componentes celulares. En estudios *in vitro* se muestra que la adición de ubiquinol reduce estos compuestos y por lo tanto su daño, regenerándose la forma oxidada de CoQ. Por tanto, este mecanismo antioxidante que lo involucra en el daño por isquemia-reperusión presentaría una doble ventaja: disminución de un radical y regeneración de ubiquinona (Litarru, 1993).

Por último, es importante destacar que el ubiquinol también está presente en las lipoproteínas, donde ejerce su actividad antioxidante. En particular, se ha

informado de que el ubiquinol es el antioxidante más eficaz en las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Stocker et al., 1991), que también contienen  $\alpha$ -tocoferol (Stocker et al., 1991; Bentinger et al., 2010). Como consecuencia de la protección de LDL contra la oxidación, la CoQ también tendría propiedades anti-ateroscleróticas (Varela-López et al., 2016).

Por tanto, se puede considerar a la CoQ como un importante antioxidante endógeno liposoluble, ya que inhibe la peroxidación de los lípidos de la membrana celular, tanto la iniciación como las etapas de propagación, y también de las lipoproteínas presentes en la circulación (Stocker et al., 1991).

#### **4.4. Otras funciones**

##### **4.4.1. Cofactor para la función de proteínas desacoplantes**

La CoQ posee en la mitocondria otras funciones que no están directamente relacionadas con la cadena de transporte de electrones, como la de cofactor para la función de proteínas desacoplantes (UCPs). Las UCPs son proteínas de la membrana interna mitocondrial cuya función biológica es la disipación controlada del gradiente de protones originado en la cadena de transporte de electrones en forma de calor sin producción de ATP. Este mecanismo disipador de energía es usado por los mamíferos en la grasa parda para mantener la temperatura corporal en situaciones de bajas temperaturas.

Recientemente se ha descrito que las UCPs juegan un papel importante en el control de la secreción de insulina y en la reducción de la producción de ROS, permitiendo así un mecanismo adicional de defensa frente al estrés oxidativo (Zhang et al., 2001). En ausencia de CoQ, la proteína UCP1P en los lisosomas de *Escherichia coli* es incapaz de permitir el transporte de protones, recuperando su funcionalidad al añadir CoQ a las membranas en presencia de ácidos grasos (Echtay et al., 2001).

##### **4.4.2. Señalización celular y expresión génica**

La CoQ puede participar en varios aspectos relacionados con el control de la oxidación/reducción celular, tanto en el origen de la señal como en la transmisión (Crane, 2001). La auto-oxidación de la semiquinona en varias membranas durante el

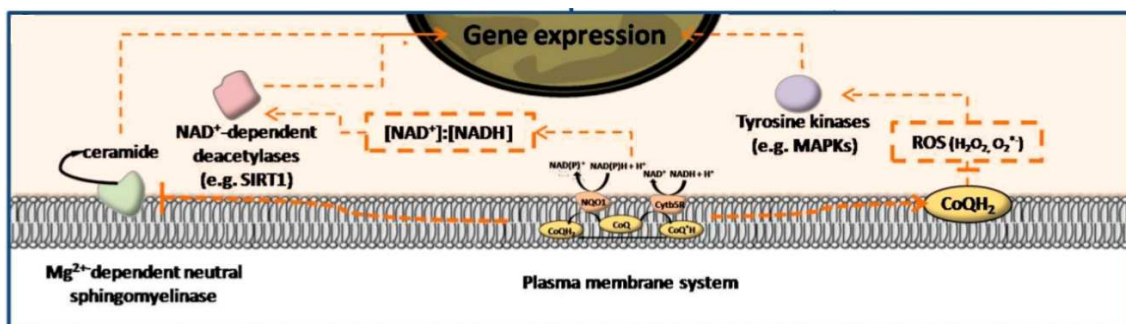
transporte de electrones puede ser una base primaria para la generación de  $H_2O_2$  (McLennan & Degli Esposti, 2000), el cual, a su vez, activa factores de transcripción como NF $\kappa$ B para inducir la expresión génica (Kaltschmidt et al., 1999). También se ha apuntado a que el peróxido puede estar implicado en la señalización del calcio en el músculo cardiaco (Morad & Suzuki, 2000). Además, es posible que la generación de RONS pueda conducir a la supresión de otros genes y, las quinonas también pueden participar en la oxidación de los grupos tiol en los receptores del factor de crecimiento o en los canales de iones de la membrana (Crane, 2001).

Se ha demostrado que las NADH oxidasas dependientes de la CoQ en la membrana plasmática están implicadas en la regulación del crecimiento y la diferenciación celular (Varela-López et al., 2016). En particular, se ha encontrado que la actividad de las CoQ-reductasas en la membrana plasmática se modula durante la diferenciación de eritrocitos (Gómez-Díaz et al., 1997). Del mismo modo, la vitamina D3, inducida por la diferenciación de las células mieloides a los monocitos, se potencia cuando este sistema es activado por ascorbato (López-Lluch et al., 1998). Análogamente, en los cultivos libres de suero, la adición de CoQ induce el crecimiento celular (Suen et al., 1992).

En apoyo a la función del sistema redox de la membrana plasmática en la señalización celular, se ha informado de que los factores de crecimiento de las moléculas de señalización extracelular, insulina y extractos de pituitaria, son activados por NADH-oxidoreductasas de la membrana plasmática (Brightman et al., 1992). En el caso de la diferenciación celular mieloides, se ha observado que la modulación del programa de diferenciación por la activación del sistema redox de la membrana plasmática incluye la modulación de los segundos mensajeros intracelulares y la regulación de la actividad de los factores de transcripción (Gómez-Díaz et al., 1997).

De forma sintetizada, los resultados de diversos estudios al respecto, sugieren diferentes mecanismos mediante los cuales la CoQ podría ejercer estos efectos en la señalización celular y expresión génica (Figura 12):

Figura 11. Efectos estimulantes ( $\rightarrow$ ) o inhibitorios ( $\perp$ ) de la Coenzima Q sobre la expresión génica.



Varela-López et al. (2016).

- Especies reactivas del oxígeno (ROS): Las deshidrogenasas NAD(P)H y la citocromo b5-reductasa encontradas en la membrana plasmática, reducen la CoQ por medio de un mecanismo de eliminación de un electrón, dando formas de semiquinona (Villalba et al., 1995). Estas formas de la CoQ presentan una actividad pro-oxidante, generando  $O_2^-$  o  $H_2O_2$ , los cuales actuarían como segundos mensajeros en mecanismos de señalización celular; en consecuencia, estos mecanismos modulan diferentes respuestas celulares que afectan al crecimiento celular y a los procesos de diferenciación (Linnane et al., 2007).
- Tirosina quinasas: Se ha sugerido que el estado redox de la CoQ en la membrana plasmática podría controlar la actividad de las tirosina quinasas indirectamente, por la generación de  $H_2O_2$  y la inactivación adicional de las proteínas fosfatasas, o directamente por la inducción de cambios conformacionales redox-dependientes (Crane, 2001; López-Lluch et al., 2010).
- Proteínas de los canales aniónico voltaje-dependientes (VDAC): Al igual que las mitocondrias, la membrana plasmática también contiene proteínas pertenecientes a la familia de los VDAC. Uno de los componentes de esta familia, VDAC1, puede funcionar como NADH-ferricianuro reductasa, una actividad asociada al sistema redox de la membrana plasmática (Baker et al., 2004). Teniendo en consideración que la CoQ está involucrada en la regulación de los VDAC/poros de transición de permeabilidad en las mitocondrias (Papucci et al., 2003), se ha sugerido una relación putativa de la actividad de la CoQ en la membrana plasmática y en la señalización celular vinculada a VDAC1 para ser considerado en futuras investigaciones (López-Lluch et al., 2010).
- Deacetilasas dependientes del  $NAD^+$ : Este grupo de proteínas implicadas en la expresión genética, como las sirtuinas, podría ser afectado y regulado de alguna manera por la actividad de las NADH-reductasas en la membrana plasmática (Smith et al., 2000). Se ha propuesto que las variaciones en la actividad de las NADH-oxidorreductasas CoQ-dependientes en las diferentes membranas biológicas también podrían regular la actividad de las sirtuinas debido a sus efectos sobre el estado redox (López-Lluch et al., 2010).
- Esfingomielinasa neutra  $Mg^{2+}$ -dependiente: Se ha informado de que el sistema redox de la membrana plasmática CoQ-dependiente está implicado en la inhibición de la esfingomielinasa neutra  $Mg^{2+}$ -dependiente después de situaciones de estrés oxidativo (Martín et al., 2003). Ésta es una proteína de membrana plasmática integral implicada en la liberación de ceramida de esfingomielina que participa en la señalización celular, la apoptosis, y la modulación de las respuestas celulares (López-Lluch et al., 2010).

#### **4.4.3. Prevención de la apoptosis o muerte celular programada**

Independientemente de su capacidad para neutralizar radicales libres o sus propiedades antioxidantes, diferentes estudios han confirmado el papel protector de la CoQ10 contra la apoptosis, inhibiendo la muerte celular (Yamamura et al., 2001; Papucci et al., 2003).

Presumiblemente, esto ocurre por inhibición directa de la apertura de los poros de transición de la permeabilidad en los canales de proteínas de alta conductancia situados en la membrana mitocondrial interna (Papucci et al., 2003) (Figura 12).

La apertura prolongada del poro de transición de permeabilidad mitocondrial conduce a la muerte celular (Devun et al., 2010), además de despolarizar la mitocondria (Genova & Lenaz, 2011) e, igualmente, permite la translocación de moléculas de hasta 1.500 Da de tamaño, lo cual conduce a la liberación de proteínas desde el espacio intermembranoso mitocondrial al citosol (Papucci et al., 2003). Estos factores, conjuntamente, desencadenan el proceso de muerte celular programada, como en el caso del citocromo c (Genova & Lenaz, 2011).

Por lo tanto, la CoQ podría contrarrestar eventos apoptóticos, impidiendo la despolarización del potencial de membrana, evitando la depleción de la producción de ATP, la activación de la caspasa-9 y la fragmentación del ADN en queratinocitos, señal de apoptosis (Walter et al., 2000; Vincent et al. 2004). En este sentido, el aumento de los niveles de CoQ mitocondrial se ha relacionado con la falta de permeabilidad en la apertura de poros de transición de la permeabilidad en ratas diabéticas (Ferreira et al., 2003).

Para elucidar los posibles mecanismos de este efecto, es importante señalar que los poros de transición muestran un sitio de unión a la ubiquinona, donde diferentes formas de CoQ, naturales y artificiales, interactúan para estabilizar el poro en la conformación cerrada (Walter et al., 2000). En particular, se ha demostrado que las quinonas ejercen un efecto directo sobre los poros de transición de la permeabilidad, y que estos compuestos son capaces de modular la permeabilidad por medio de un sitio de unión común, en lugar de mediante reacciones de oxidación-reducción (Varela-López et al., 2016); posiblemente, a través de cambios secundarios en la afinidad vinculante al  $\text{Ca}^{2+}$  para el poro (Genova & Lenaz, 2011).

Diversos estudios han demostrado que la longitud de la cola isoprenoide de los análogos de CoQ modula la permeabilidad. En este sentido, se han distinguido tres clases funcionales de análogos de quinona (Walter et al., 2000):

- Inhibidores de los poros de transición de la permeabilidad (CoQ0, CoQ2 y CoQ10).
- Inductores de los poros de transición de la permeabilidad, como la Idebenona 2,3-dimetoxi-5-metil-6-(10-hidroxidecil)-1,4-benzoquinona), y
- Quinonas inactivas, que contrarrestan los efectos tanto de inhibidores como de inductores, tales como la CoQ1.

La CoQ10, al poseer una cadena isoprenoide larga, induce el cierre del canal, por tanto, se ha insinuado que la CoQ10 podría actuar como un inhibidor de la de los poros de transición de la permeabilidad. De hecho, un estudio (Li et al., 2005) informó que la CoQ10 protege a las células neuronales SHSY5Y de la toxicidad  $\beta$ -amiloide y de la privación de oxígeno y glucosa al inhibir la apertura del poro de transición de permeabilidad mitocondrial y, además, en el mismo estudio también se observó una disminución de la producción de  $O_2^-$  debida a la acción de la CoQ10. Un estudio similar (Cordero et al., 2009) ha indicado un efecto protector de la CoQ10 en la apertura de la de los poros de transición de la permeabilidad frente a la toxicidad de amitriptilina. Sin embargo, debido a que la señalización ROS podría estar implicada en la apertura de los poros de transición de la permeabilidad, todavía no está totalmente claro si estos efectos de la CoQ10 dependen de un mecanismo directo o están mediados por su efecto antioxidante (Genova & Lenaz, 2011).

#### 4.4.4. Efectos anti-inflamatorios

La CoQ también posee múltiples efectos anti-inflamatorios por su influencia en la expresión de los genes dependientes del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas 1 (NF- $\kappa$ B1) (Schmelzer et al., 2007). Del mismo modo, el  $H_2O_2$  ha sido identificado como un activador del factor de transcripción pro-inflamatoria NF- $\kappa$ B (Kaltschmidt et al., 1999). Teniendo en cuenta las propiedades antioxidantes de la forma reducida de la CoQ10 y la conversión enzimática efectiva de la CoQ10 oxidada a su forma reducida, la CoQ10 podría mediar sus efectos anti-inflamatorios a través de la expresión génica.

Para el estudio de la expresión de genes implicados en procesos inflamatorios, los modelos *in vitro* basados en células activadas con lipopolisacáridos (LPS) han despertado interés. Esto se debe a que este producto bacteriano induce a cascadas de señalización bajo el factor de transcripción NF- $\kappa$ B que, a su vez, conduce a la inducción de genes inflamatorios (Varela-López et al., 2016). En este contexto, se ha informado de que la CoQ10 regula genes inducibles por LPS en la línea celular monocítica THP-1,



presumiblemente debido a su impacto antioxidante en la expresión génica (Schmelzer & Döring, 2010). Por otro lado, se ha señalado que el ubiquinol tiene propiedades anti-inflamatorias que le permiten disminuir la producción de citoquinas pro-inflamatorias como el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) y las quimiocinas (Schmelzer et al., 2009a) y, además, el ubiquinol ajusta la respuesta inflamatoria mediante una reducción moderada de la expresión de miR-146a, que está implicada en la supresión de la expresión génica a niveles post-transcripcionales (Schmelzer et al., 2009b).

Por lo tanto, como se ha señalado, es probable que todos los efectos de la CoQ en el nivel genético puedan estar mediados por su efecto antioxidante (Genova & Lenaz, 2011).

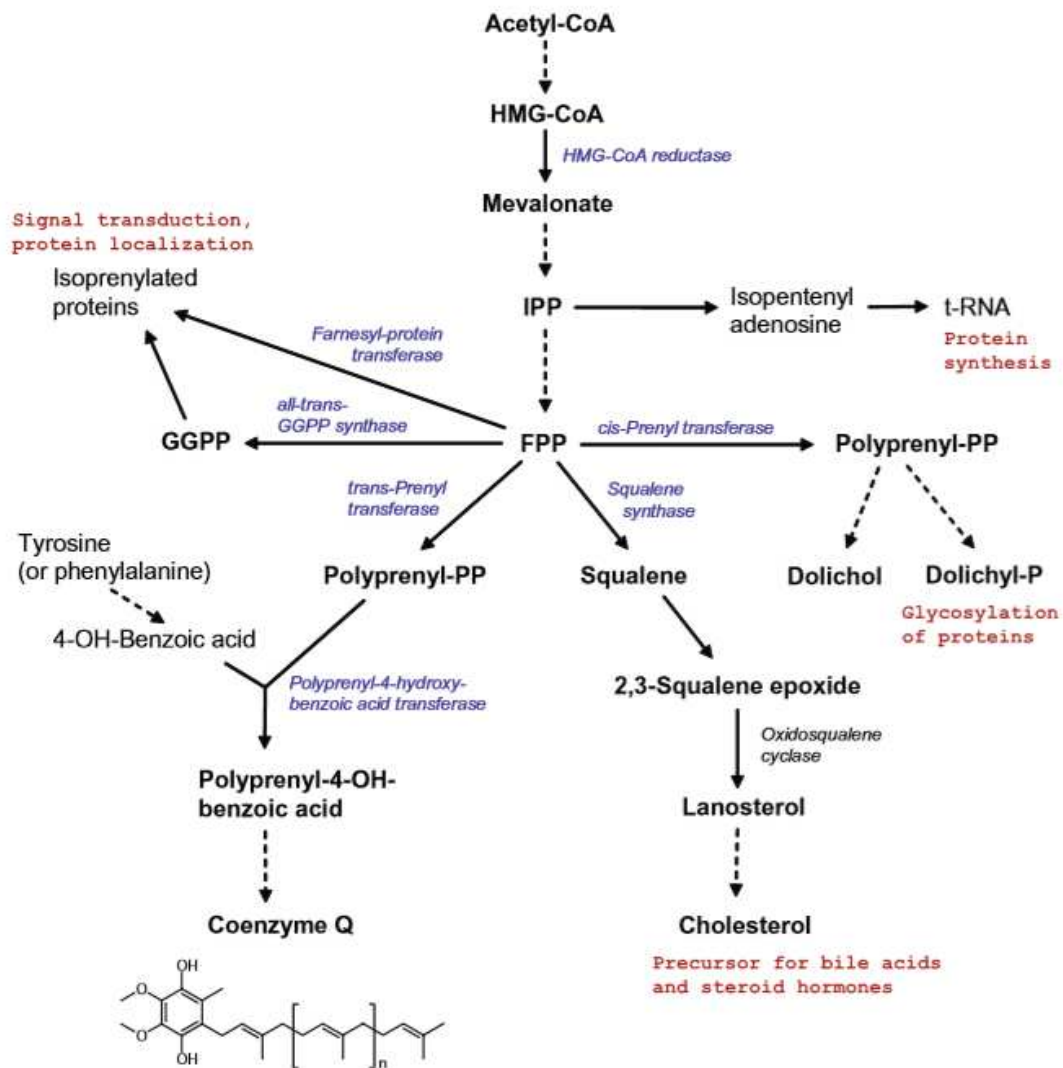
#### **4.4.5. Mantenimiento del pH en la membrana lisosomal**

En los lisosomas, el interior difiere de otros orgánulos por el bajo valor de pH registrado. La CoQ reductasa dependiente del NADH presente en la membrana lisosomal está implicada en la translocación de  $H^+$  desde el citosol al lumen lisosomal a través de un mecanismo independiente de ATP que tiene al  $O_2$  como aceptor final de electrones (Gille & Nohl, 2000). Esta actividad contribuye al mantenimiento del pH ácido en los lisosomas, lo cual es importante no sólo para detener las proteínas sino también para asegurar la actividad óptima de las enzimas hidrolíticas (Nohl & Gille, 2002), sin embargo, los mecanismos exactos de la CoQ en la actividad lisosómica es un tema actualmente en estudio (López-Lluch et al., 2010).

#### **4.5. Biosíntesis de Coenzima Q**

La biosíntesis endógena de CoQ requiere la síntesis de un anillo de benzoquinona y de una cadena lateral isoprenoide. El precursor del anillo de benzoquinona es el 4-hidroxibenzoato, que se sintetiza a partir de tirosina o, al menos teóricamente, de fenilalanina, generalmente presente en exceso, de modo que la velocidad de esta reacción se determina por la disponibilidad de la cadena poliisoprenoide (Bentinger et al., 2010). Asimismo, la cadena lateral isoprenoide se sintetiza por medio de una serie de reacciones a partir de acetil-CoA y terminando con farnesil pirofosfato (FPP), que comprende la vía del mevalonato (Ernster & Dallner, 1995; Villalba et al., 2010) (Figura 13).

Figura 12. La vía del mevalonato y los pasos terminales en la síntesis de CoQ, colesterol, dolicol y proteínas isopreniladas.



\*El color rojo indica las funciones primarias, y el azul indica las enzimas limitadoras de la velocidad.

Bentinger et al. (2010).

Además de en las mitocondrias, la CoQ también se biosintetiza en el retículo endoplásmico y en los peroxisomas, lo que indica múltiples lugares de síntesis en células animales (Bentinger et al., 2010). También se ha sugerido que la biosíntesis de CoQ se produce principalmente en las mitocondrias, pero se redistribuye a otros orgánulos celulares (Varela-López et al., 2016). Aunque este proceso es, en gran parte, desconocido, se han observado variaciones en las cantidades de CoQ presentes en diferentes orgánulos celulares, siendo las mitocondrias, los lisosomas y el aparato de Golgi los que muestran las concentraciones más altas (Turunen et al., 2004).

Dado que la secuencia inicial de reacciones que conduce a todos los productos de la vía del mevalonato es idéntica, se podría esperar que la síntesis de CoQ, colesterol y otros compuestos lipídicos sea co-regulada (Bentinger et al., 2010; Villalba et al., 2010). Tanto el producto final de esta vía, el farnesil pirofosfato (FPP) como el intermediario de esta vía, el isopentenil pirofosfato (IPP) se utilizan para la síntesis de la cadena lateral isoprenoide de CoQ (Bentinger et al., 2010).

Por tanto, la cadena isoprenoide larga de la CoQ (que contiene 6-10 unidades de isopreno en diferentes especies) es sintetizada por la trans-preniltransferasa, la cual condensa el FPP con varias moléculas de IPP, todo ello en la configuración trans (Tran & Clarke, 2007).

La enzima 4-hidroxibenzoato-poliprenil transferasa, que está codificada por el gen Coq-2 en seres humanos (Forsgren et al., 2004), actúa por la catalización de la condensación de la cadena isoprenoide con 4-hidroxibenzoato, tras lo cual, el anillo de benzoquinona experimenta una serie de modificaciones, que incluyen C-hidroxilaciones, descarboxilación, O-metilación y C-metilación, para sintetizar CoQ (Varela-López et al., 2016). En los mamíferos, varias funciones de los genes posiblemente implicados en estas modificaciones se han establecido a través del reconocimiento complementario en levaduras (Bentinger et al., 2010).

Actualmente, han sido identificados seis genes que codifican diferentes enzimas que catalizan esta secuencia de reacciones en humanos, denominados de Coq-3 a Coq-8 (Turunen et al., 2004); sin embargo, los detalles completos de la síntesis de CoQ en los tejidos animales aún no se han clarificado (Bentinger et al., 2010).

Por otro lado, se han descrito variaciones interindividuales en la CoQ10 total, así como una diferencia significativa total entre hombres y mujeres sanos (Molyneux et al., 2005). Estas variaciones indican que las concentraciones de CoQ10 están estrechamente distribuidas alrededor de un punto de referencia homeostático tanto en los diferentes órganos como en individuos (Varela-López et al., 2016). En cualquier caso, todas las células deben sintetizar funcionalmente cantidades suficientes de CoQ en condiciones fisiológicas normales. De este modo, en contraste con el colesterol, no se requiere redistribución por absorción de la circulación. Por ejemplo, el hígado libera una cierta cantidad de CoQ que se asocia con lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), pero este grupo no se redistribuye a otros órganos (Bentinger et al., 2010).

En circunstancias normales, se ha asumido que hay una falta de dependencia de fuentes exógenas de CoQ, ya que todos los tejidos son capaces de sintetizarla. Sin embargo, pueden surgir situaciones en las que alguna capacidad sintética celular sea insuficiente para alcanzar sus requerimientos de CoQ10. Las células metabólicamente activas, presumiblemente, tienen los requisitos más altos de CoQ10, lo que explica que

la susceptibilidad a la deficiencia de CoQ10 parezca que sea mayor en éstas (Varela-López et al., 2016).

El hidroxibenzoato está generalmente presente en exceso, de modo que la velocidad de esta reacción se determina por la disponibilidad de la cadena poliisoprenoide (Bentinger et al., 2010). El FPP producido por la vía del mevalonato es precursor del colesterol, CoQ, Dolichol y proteínas isopreniladas. Además, el IPP intermedio se utiliza para la síntesis de la cadena lateral isoprenoide de CoQ, pero también para la síntesis de dolicol. Se ha sugerido que la síntesis de todos los productos finales de la vía del mevalonato es co-regulada, ya que la secuencia inicial de las reacciones que conducen a tales lípidos es idéntica, sin embargo, la regulación en la fase terminal también debe ocurrir (Bentinger et al., 2010), lo que explicaría las tasas variables de síntesis y las diferentes cantidades encontradas en estos lípidos (Andersson et al., 1990).

Los puntos terminales de la regulación, probablemente implican a las enzimas de ramificación que tienen al FPP como sustrato, como la sintasa de escualeno, transpreniltransferasa, cis-preniltransferasa y farnesil o geraniol-transferasa, las cuales se consideran como limitantes de la tasa para la parte terminal de las secuencias biosintéticas (Goldstein & Brown, 1990). Tradicionalmente, un papel central en la regulación de la vía del mevalonato ha sido atribuido a la 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa, pero parece que su función reguladora primaria cae a la biosíntesis de colesterol (Bentinger et al., 2010). Como la constante de Michaelis (KM) de sintasa de escualeno para FPP es alta, se espera que la cantidad total de FPP en la célula ejerza su influencia principal sobre la síntesis de colesterol. Por lo tanto, cuando esta concentración de sustrato disminuye, la enzima no está saturada y la tasa de síntesis de colesterol se reduce (Brown & Goldstein, 1980). Por el contrario, todas las otras enzimas de ramificación, es decir, trans y cis-preniltransferasas, farnesil o geraniol transferasas, muestran KM bajos y permanecen saturadas incluso cuando el grupo farnesil-PP es menor (Varela-López et al., 2106).

Al igual que en otras vías metabólicas, parece que los compuestos endógenos también desempeñan funciones reguladoras en la biosíntesis de CoQ (Bentinger et al., 2010). Los derivados epoxidados de ciertos poliisoprenoides trans, solanesol, tocotrienoles, vitamina K2 y CoQ regulan la biosíntesis de CoQ en las células HepG2 por sí mismos (Varela-López et al., 2010).

En líneas generales, la biosíntesis de CoQ es mejorada mediante la regulación de toda la “maquinaria” implicada, mientras que la disminución de la síntesis de colesterol implica, específicamente, la inhibición de la oxidoescualeno ciclasa (Varela-López et al., 2016). Por lo tanto, se ha sugerido que pequeñas cantidades de mono y diepóxidos poliisoprenoides, como los presentes en muchos organismos, podrían ser los reguladores biológicos de la vía del mevalonato (Bentinger et al., 2010).

Finalmente, a nivel traduccional, se ha demostrado que algunas moléculas estimulan la síntesis de CoQ10 por la regulación de la expresión de Coq-7. En particular, se ha encontrado que la biosíntesis de CoQ10 es dependiente del NF- $\kappa$ B, que se une de forma específica a dos sitios de unión presentes en la región de flotación 5' del gen Coq-7, induciendo tanto la expresión de Coq-7 como la biosíntesis de CoQ10 (Brea-Calvo et al., 2009).

### **4.6. Aspectos relacionados con la suplementación oral**

#### **4.6.1. Absorción y transporte de Coenzima Q10**

La CoQ es una molécula que se encuentra de forma natural en diferentes fuentes dietéticas, y puede ser absorbida desde el lumen intestinal de manera similar a otros lípidos (Villalba et al., 2010). Por tanto, al ser una sustancia lipofílica, la absorción de CoQ10 sigue el mismo proceso que el de los lípidos en el tracto gastrointestinal.

El mecanismo de absorción de la CoQ10 parece ser similar al de la vitamina E, otro nutriente liposoluble, y su absorción se incrementa en presencia de lípidos. Asimismo, la absorción de suplementos orales de CoQ10 puede verse mejorada si se ingiere junto con una comida grasa (Bhagavan & Chopra, 2006).

La digestión ayuda a la liberación de CoQ10 desde la matriz de los alimentos procedentes de la dieta, pero en el caso de los suplementos de CoQ10 en fórmulas puras, la digestión gástrica no parece ser un factor importante en su absorción (Bhagavan & Chopra, 2006).

En el intestino delgado, las secreciones del páncreas y la bilis facilitan la emulsión y la formación de micelas, que son requeridas para la absorción de las grasas. No se ha identificado ningún sitio específico a lo largo del intestino delgado para la absorción de CoQ10, pero, al igual que la vitamina E y otras sustancias lipófilas, primeramente se incorpora en quilomicrones después de la absorción y, posteriormente es transportada a la circulación a través de los vasos linfáticos (Katayam & Fujita, 1972). Los datos extraídos de estudios en ratas indican que la CoQ10 se reduce a ubiquinol durante o después de la absorción en el intestino, y este hecho ha sido confirmado en un estudio de cultivos celulares utilizando células Caco-2 humanas (Bhagavan et al., 2007).

Tras la absorción, el ubiquinol aparece primero como parte de las lipoproteínas ricas en triacilglicerina mesentérica y, estas partículas se convierten en restos de

quilomicrones en circulación por medio de la lipoproteína lipasa, que luego se absorben rápidamente por el hígado donde la CoQ10 es repaquetada, en su mayoría, en partículas VLDL/LDL y es devuelta de nuevo a la circulación, de forma análoga al  $\alpha$ -tocoferol (Elmberger et al., 1989; Traber et al., 1992). La HDL también contiene una pequeña cantidad de CoQ10, por tanto, las concentraciones plasmáticas de CoQ10 son altamente dependientes de las lipoproteínas plasmáticas (Laaksonen et al., 1995a). La CoQ10 circulante se redistribuye entre las lipoproteínas, posiblemente, para protegerlas de la oxidación (Bhagavan et al., 2007).

#### **4.6.2. Respuesta plasmática/sérica a la Coenzima Q10/Ubiquinol administrados oralmente y captación en tejidos**

Se ha señalado que alrededor del 95% de CoQ10 circulante en plasma en humanos existe en su forma reducida (ubiquinol) (Miles et al., 2003). La eficiencia en la absorción de CoQ10 administrada oralmente es pobre debido a su insolubilidad en agua, solubilidad limitada en lípidos y peso molecular relativamente grande (Bhagavan et al., 2007). En el caso de los suplementos de CoQ10, la absorción depende de factores como la naturaleza de la formulación y, se ha demostrado que las formulaciones solubilizadas de CoQ10 presentan una biodisponibilidad mejorada (Bhagavan et al., 2007), aunque, a su vez, la absorción de CoQ por otros tejidos como el corazón, los riñones, el cerebro y el músculo esquelético se considera baja o completamente ausente, a menos que los niveles endógenos caigan por debajo de un umbral crítico (Varela-López et al., 2016).

Históricamente, se ha considerado que, aproximadamente el 6% de la CoQ administrada oralmente permea desde el tracto gastrointestinal hacia la sangre y se transfiere al hígado y al bazo (Varela-López et al., 2016). En circunstancias normales, las concentraciones plasmáticas de CoQ10 no se ven afectadas significativamente por componentes dietéticos como los productos lácteos, hortalizas, huevos o pescado (Kaikkonen et al., 1999). En cambio, la suplementación con CoQ10 conduce a aumentos en las concentraciones plasmáticas, cuya extensión depende de la dosificación, duración y también del tipo de formulación.

En humanos, se han llevado a cabo diferentes estudios de suplementación con una duración variable, desde una única dosis hasta, incluso, 16 meses, así como diferentes dosis (30 - 2400 mg/día), y en grupos experimentales con diferentes características. A pesar de las diferencias en los protocolos de suplementación, todos muestran un aumento de los niveles plasmáticos/séricos de CoQ10. Por ejemplo, un estudio (Bloomer et al., 2012) ha informado de un aumento significativo en los niveles

sanguíneos tras 4 semanas de suplementación con ubiquinol (300 mg/día), tanto de CoQ10 total como de CoQ10 (+138% y +168% respectivamente, respecto a los niveles basales) e, igualmente, registró un aumento significativo de CoQ10:Colesterol en el grupo suplementado. Asimismo, otro estudio (Ylikoski et al., 1997) señaló un aumento tres veces mayor respecto a los niveles plasmáticos basales (de 0,8 a 2,8 µg/ml) de la suplementación y Braun et al., (1991), también registraron un aumento en los valores séricos de CoQ10 (+73,8%) después de un período de suplementación de 8 semanas (100 mg/día). Además, dicho aumento en sujetos sanos parece ser dependiente de la dosis, según los resultados de un estudio en el que se compararon los efectos de la suplementación con la forma reducida de CoQ10 con 90, 150 y 300 mg/día (Hosoe et al., 2007).

Por otro lado, se ha informado de que el cambio en los niveles sanguíneos de CoQ10 en mujeres de edad avanzada se asocia inversamente con la concentración de referencia basal (Wolters & Hahn, 2003), lo que sugiere que la absorción de CoQ también se ve afectada por los niveles presentes en el organismo.

En cuanto a cómo la duración de la suplementación afecta a los niveles de CoQ en el organismo, se ha observado que la concentración plasmática de ubiquinol casi alcanza el estado estacionario dos semanas después del inicio del tratamiento y, posteriormente, regresa a los niveles basales seis meses después de la finalización del tratamiento (Hosoe et al., 2007). Igualmente, en otro estudio (Ikematsu et al., 2006), la concentración plasmática máxima de CoQ10 se alcanzó tras dos semanas de suplementación y, luego disminuyó a niveles basales después de 8 meses del cese del tratamiento.

También se ha apuntado a que en todos los tejidos, el aumento de la cantidad de CoQ es mayor en las mitocondrias que en el homogenado, lo que sugiere su preferencia de captación en las mitocondrias; además, en el cerebro, el aumento es de menor magnitud y se produce principalmente en las mitocondrias (López-Llunch et al., 2010). Con este trasfondo, parece más claro que los diferentes tejidos tienden a variar en su capacidad de acreción de CoQ, con el hígado y el músculo esquelético exhibiendo las elevaciones más altas, mientras que el cerebro muestra la más baja (Sohal & Forster, 2007). Igualmente, se ha sugerido que cantidades diarias relativamente altas de CoQ inducen a que las concentraciones plasmáticas de CoQ10 también lo sean, siendo necesarias para facilitar la absorción por los tejidos periféricos (Villalba et al., 2010).

Asimismo, se ha observado que alimentar ratas de 12 y 24 meses de edad con dosis muy bajas de CoQ10 desde el destete, conduce a un aumento de los niveles de CoQ mitocondrial en corazón e hígado y, además, se ha observado que esta diferencia aumenta a medida que los animales envejecen (Ochoa et al., 2005). Por lo tanto, la edad y la duración del tratamiento también deben tenerse en cuenta.

Finalmente, se ha revisado la eficacia de una variedad de formulaciones comerciales que se han desarrollado para solubilizar la CoQ10 y promover su mejor absorción *in vivo* así como su uso en la terapia de patologías asociadas con bajos niveles de CoQ, con énfasis en los resultados obtenidos en ensayos clínicos, concluyendo que la biodisponibilidad relativa de CoQ10 depende del tipo y cantidades de aceite en las formulaciones, así como de su sistema de suministro, siendo el orden de disminución de la biodisponibilidad: nanoparticulado, solubilizado, emulsionado en aceite y polvo (Villalba et al., 2010).

#### **4.6.3. Ubiquinol versus Ubiquinona**

La suplementación con CoQ10, hasta hace poco más de una década, se realizaba utilizando ubiquinona, la forma oxidada de la CoQ10, la cual es pobremente absorbida después de la ingestión oral (Beg et al., 2010). Se ha apuntado que ésta es la razón por la cual, al suplementar con ubiquinona, se necesitan altas dosis para obtener los efectos fisiológicos deseados, algo que no se ha llevado a cabo en muchos de los ensayos publicados en relación con el ejercicio físico, siendo la mayoría de las dosis diarias inferiores o iguales a 300 mg (Mizuno et al., 2008).

El Ubiquinol, la forma reducida de la CoQ10, se produce naturalmente en el cuerpo humano. Varios estudios han demostrado que el ubiquinol posee mayor biodisponibilidad y es más eficaz, de forma más rápida y con dosis más bajas que la CoQ10 oxidada o ubiquinona (Ikematsu et al., 2006; Hosoe et al., 2007; Langsjoen & Langsjoen, 2008), ya que se encuentra en su forma activa y no tiene que ser convertido por el organismo.

Hasta hace poco, no era posible aislar el ubiquinol para su uso como suplemento, ya que reacciona muy rápidamente con el oxígeno. Sin embargo, después de más de diez años de investigación, la compañía japonesa Kaneka logró desarrollar el primer Ubiquinol estable y bioidéntico del mundo. Este producto patentado se comercializa bajo la marca Kaneka QH™ y se ha informado que tiene una excelente biodisponibilidad, induciendo a un notable aumento de 4,7 veces en el ubiquinol plasmático después de la ingestión de una sola dosis de 300 mg y, a un aumento de aproximadamente 10 veces después de 28 días de suplementación con una dosis diaria de 300 mg (Hosoe et al., 2007). Este aumento es mucho mayor que el observado con la suplementación con CoQ10 tradicional (Stear et al., 2010). Por lo tanto, el beneficio potencial del ubiquinol en comparación con la ubiquinona, es su mayor biodisponibilidad. Efectivamente, una dosis oral de 300 mg de CoQ10 convencional, ubiquinona, alcanza niveles plasmáticos de CoQ10 de alrededor de 3 mg/l (Ikematsu et



al., 2006), mientras que niveles plasmáticos similares ya pueden alcanzarse con 90 mg de ubiquinol (Hosoe et al., 2007). Asimismo, niveles plasmáticos de 6-8 mg/l se pueden alcanzar en los seres humanos con 300 mg de ubiquinol (Hosoe et al., 2007).

Además, el ubiquinol ejerce su actividad antioxidante directamente, mientras que la ubiquinona debe ser reducida a ubiquinol en el organismo para desempeñar su papel como antioxidante. El mecanismo detrás de la mayor biodisponibilidad de ubiquinol frente a la ubiquinona aún no ha sido completamente determinado, aunque lo más probable es que la CoQ10 oxidada convencional debe reaccionar primero con la enzima CoQ10-reductasa, donde se reduce a ubiquinol, antes de incorporarse a las lipoproteínas, que luego se liberan en la sangre. El ubiquinol, como forma reducida y principio activo de CoQ10, es independiente de esta enzima y puede ser inmediatamente incorporado en las lipoproteínas y por lo tanto entrar rápidamente en el torrente sanguíneo.

Por tanto, es posible que la mejora en la biodisponibilidad ofrecida por el ubiquinol se traduzca en una mejora en el rendimiento físico, además de la atenuación en el potencial de estrés o daño oxidativo inducido por el ejercicio. Además, el ubiquinol tiene la capacidad de proteger a la vitamina E, y también ayuda en la regeneración de las vitaminas E y C agotadas y, la ubiquinona, en cambio, primero debe ser reducida a su forma activa (ubiquinol) con el fin de ejercer su papel como antioxidante.

En líneas generales, la CoQ10 no debe compararse con la multitud de antioxidantes solubles en agua que se mueven libremente en la sangre y tienen un efecto no específico, ya que, junto con la vitamina E, la CoQ10 posee la capacidad especial de proteger a las membranas celulares, y este hecho le otorga una posición única entre todos los antioxidantes (Alf et al., 2013). Teniendo presente que hay estudios que han demostrado que la forma reducida de CoQ10 es 6-10 veces más biodisponible que la tradicional CoQ10 oxidada (Ikematsu et al., 2006; Hosoe et al., 2007), es interesante evaluar las posibilidades que ofrece el ubiquinol como suplemento.

#### **4.6.4. Seguridad y dosis de Coenzima Q10/Ubiquinol en atletas/deportistas**

El ubiquinol o la ubiquinona son sustancias no dopantes según la Lista de Kölner y la Agencia Mundial Antidopaje (AMA). Además, la alta biodisponibilidad del ubiquinol, junto con el hecho de que es un potente antioxidante lipofílico y la forma

más común de CoQ10 *in vivo*, destacan su posible uso como un nuevo suplemento dietético en el ámbito del ejercicio físico.

En cuanto a la seguridad de los suplementos de CoQ, una revisión de diferentes evaluaciones, tanto en humanos como en animales, concluyó que la biosíntesis endógena de CoQ10 no está influenciada por el consumo exógeno (Hidaka et al., 2008). Además, la ubiquinona ya ha demostrado ser segura cuando se administra en dosis muy altas (2400 mg/día) en pacientes con Parkinson, sin informes de ningún signo de toxicidad (Shults et al., 2002). Asimismo, no se acumula en plasma o en tejidos cuando concluye la suplementación. También se ha señalado que en humanos, los ensayos clínicos sugieren que el nivel de seguridad observado para la CoQ10 es de 1200 mg/día por persona y, asimismo, dosis de hasta 3000 mg/día de CoQ10 no han causado efectos adversos graves, aunque se han notificado varios efectos adversos moderados, como náuseas y otros problemas gastrointestinales, aunque estos no estaban causalmente relacionados con el principio activo, ya que no hay una relación dosis-respuesta (Varela-López et al., 2016). También, el vademécum parece indicar que puede causar dolores de cabeza leves, quizás debido a su efecto vasodilatador.

En el ámbito del ejercicio, en estudios hasta la fecha, se han empleado dosis similares tanto en atletas profesionales como en sujetos no entrenados y, aunque el ubiquinol y la ubiquinona son compuestos metabólicamente activos que trabajan especialmente en los músculos y otros tejidos, todavía se sabe poco acerca de la necesidad real y la demanda en atletas de alto rendimiento. Parece que los atletas o deportistas de alto nivel necesitan más CoQ10 debido a sus mayores requerimientos metabólicos, y los suplementos de CoQ10 pueden otorgarles beneficios por medio del aumento en sus niveles de CoQ10, tanto plasmáticos como musculares.

Los valores plasmáticos disminuidos de CoQ10 pueden normalizarse suplementando con dosis pequeñas de CoQ10 o ubiquinol (30 - 100 mg por día). En contraste, parece ser que una dosis de 100 mg de CoQ10 al día en atletas, es demasiado baja para crear un efecto potenciador del rendimiento. Por ejemplo, en uno de los primeros estudios que evaluaron los efectos de la suplementación con CoQ10 en el ejercicio, una dosis de 100 mg/día aumentó el nivel plasmático a un valor de sólo 1,34 mg/l (Zuliani et al., 1989), que es demasiado bajo para lograr cualquier efecto en el rendimiento en atletas. Por tanto, un nivel plasmático de CoQ10 total típico de 1 µg/ml parece no ser suficiente para optimizar el rendimiento físico, ya que estudios previos han demostrado que sólo los atletas con niveles plasmáticos de CoQ10 total mayores de 2,5 mg/l muestran un aumento en el rendimiento físico y, consiguientemente, en atletas se pretende alcanzar mayores niveles plasmáticos de CoQ10, que sean cercanos a 3,5 mg/l (Geiß et al., 2004; Alf et al., 2013). En definitiva, hoy en día, se puede concluir que las dosis de CoQ10 utilizadas en estudios tempranos con atletas eran, generalmente, demasiado bajas para lograr resultados positivos

significativos. En cambio, los estudios clínicos más recientes con atletas muestran, cada vez más, efectos positivos para una dosificación de 300 mg de CoQ10 y, como se ha apuntado, con ubiquinol pueden obtenerse niveles plasmáticos de CoQ10 aún más altos con dosis menores.

También se ha apuntado que la misma dosis de ubiquinol tomada oralmente por atletas con pesos corporales diferentes, conduce a una cantidad diferente de ubiquinol por kg de peso corporal. Por lo tanto, la dosis de CoQ10/Ubiquinol debe adaptarse al peso corporal o al peso de la masa magra del sujeto. Por ejemplo, una dosis de 300 mg de ubiquinol ha demostrado mejorar el rendimiento físico en atletas olímpicos alemanes (Alf et al., 2013) y, estos atletas tenían un peso corporal entre 70-80 kg y tomaron 300 mg/día de ubiquinol, lo que supone alrededor de 4 mg de ubiquinol por kg de peso corporal. Por ejemplo, teniendo como referencia estos valores, para lograr una dosis de ubiquinol constante y comparable en un sujeto con un peso de 150 kg, la dosis tendría que ser de 600 mg.

En este sentido, aunque no existe un consenso al respecto, parece ser que la dosis óptima para una suplementación con CoQ10 y/o ubiquinol en atletas/deportistas debe ser alrededor del rango de 4-6 mg por kg de peso corporal (Siebrecht et al., 2015), lo que significa que las dosis deben ser ajustadas en función del peso corporal de los sujetos.

### **4.7. Suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol y ejercicio físico**

El sistema de defensa antioxidante del organismo consiste en enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión reductasa) y antioxidantes no enzimáticos (vitaminas A, C y E, coenzima Q10, glutatión, etc.) (Deaton & Marlin, 2003). Existe una interacción cooperativa entre los antioxidantes endógenos y los antioxidantes dietéticos; por lo tanto, como se ha comentado en apartados anteriores, la suplementación antioxidante puede mejorar la capacidad del organismo para eliminar RONS y proteger a las células y tejidos contra el daño oxidativo, daño muscular e inflamación, inducidos por el ejercicio y la fatiga.

Como se ha apuntado, parte del daño oxidativo inducido por el ejercicio intenso se puede prevenir optimizando la nutrición, específicamente aumentando la ingesta de antioxidantes dietéticos, pero dada la importancia del estrés oxidativo, la inflamación y el daño muscular asociados con el ejercicio extenuante y sus repercusiones sobre la salud, se han evaluado los efectos de varios suplementos antioxidantes para reducir este daño, configurándose la Coenzima Q10 (CoQ10) como una de las sustancias

empleadas para tal efecto (Burke et al., 2009; Belviranli & Okudan, 2015; Sarmiento et al., 2016a).

Esto es debido a que la CoQ10 posee propiedades relacionadas con la actividad antioxidante y bioenergética (Litarru & Tiano, 2007), ya que es un cofactor esencial en la fosforilación oxidativa mitocondrial y es necesaria para la producción de ATP. Está íntimamente involucrada en la producción de energía, actúa como un portador de electrones móvil en la cadena de transporte mitocondrial, transfiriendo electrones del complejo I al complejo III o del complejo II al complejo III (Molyneux et al., 2008). También parece aumentar los niveles de ATP mediante la prevención de la pérdida de nucleótidos de adenina de las células cardíacas (Bonakdar & Guarneri, 2005). Además, influye en la regeneración del  $\alpha$ -tocoferol, un antioxidante, y evita el daño peroxidativo a fosfolípidos de membrana y daño oxidativo inducido por radicales libres a proteínas y ADN mitocondrial (Bentinger et al., 2007). Adicionalmente, actúa como estabilizador indirecto de los canales de calcio para disminuir la sobrecarga de calcio (Sugiyama et al., 1980) y, por otro lado, también se ha reconocido que tiene un efecto sobre la expresión génica (Gronenberg et al., 2005).

Todas estas propiedades han llevado a los nutricionistas a considerar la CoQ10 adecuada como suplemento dietético destinado a mejorar la bioenergética celular, contrarrestar el estrés oxidativo y ralentizar algunas patologías relacionadas con la edad (Sarmiento et al., 2016a). De hecho, la suplementación con CoQ10 se ha utilizado como una medida complementaria preventiva y como terapia adyuvante en diversas patologías y enfermedades, como las cardiovasculares, neurodegenerativas, miopatías mitocondriales, deficiencias de CoQ10, fibromialgia, cáncer, diabetes, medicina reproductiva, enfermedades periodontales, migrañas, envejecimiento, así como para reducir el daño oxidativo, daño muscular e inflamación inducidos por el ejercicio y, mejorar el rendimiento deportivo (Litarru & Tiano, 2005; Litarru & Tiano, 2007; Litarru & Tiano, 2010; Garrido-Maraver et al., 2014).

En el ámbito del ejercicio físico, existe evidencia científica que sugiere que la suplementación con CoQ10 puede, de hecho, atenuar el estrés oxidativo (Zheng & Moritani, 2008; Díaz-Castro et al., 2012), la señalización inflamatoria (Díaz-Castro et al., 2012; Armanfar et al., 2015; Shimizu et al., 2015) y el daño muscular (Kon et al., 2008) y, además, mejorar el rendimiento (Cinquegrana et al., 1987; Faff et al., 1997; Ylikoski et al., 1997; Mizuno et al., 2008; Gökbel et al., 2010; Alf et al., 2013), debido a un efecto ergogénico. Se ha demostrado que la suplementación oral con CoQ10 en diferentes dosis conduce a una marcada elevación de los niveles de CoQ10 en diversos tejidos como el músculo esquelético, el hígado, el corazón y el riñón (Kwong et al., 2002; Kon et al., 2007), y en el plasma humano (Zuliani et al., 1989; Kaikkonen et al., 1998; Bonetti et al., 2000; Zhou et al., 2005; Kon et al., 2008; Mizuno et al., 2008; Bloomer et al., 2012); y se ha informado de una relación directa entre los niveles de

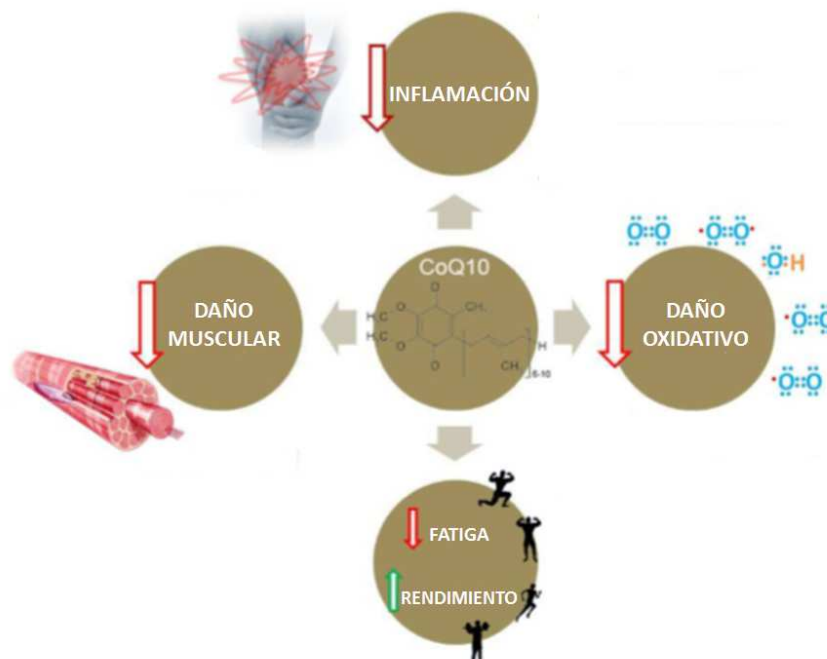
CoQ10 en sangre y en el tejido muscular y el rendimiento físico (Karlsson et al., 1996; Cooke et al., 2008), así como una reducción en el daño muscular (Kon et al., 2007; Kon et al., 2008).

Por tanto, la suplementación con CoQ10 podría, hipotéticamente, “normalizar” o incluso mejorar el rendimiento físico aumentando el contenido de CoQ10 en las mitocondrias y, potencialmente, reforzar el proceso de fosforilación oxidativa (Zhou et al., 2005). Paralelamente, se ha especulado que el aumento de la producción de RONS durante el ejercicio físico podría disminuir los niveles de CoQ10 en el tejido muscular y afectar negativamente al rendimiento físico, al menos en los sujetos que realizan un entrenamiento físico extenuante (Karlsson et al., 1996). La función de CoQ10 como lanzadera de electrones en la cadena de transporte mitocondrial se ha sugerido como un paso limitante en el ejercicio donde la producción de energía es de gran importancia (Belviranli & Okudan, 2015).

Desde otra perspectiva, la CoQ10 es un compuesto altamente prevalente en todos los tejidos y órganos del cuerpo humano, aunque es biosintetizado y concentrado, principalmente, en tejidos con alto volumen de energía, como el corazón, el hígado, los riñones, el páncreas, el músculo esquelético y la glándula tiroidea (Tran et al., 2001; Zheng & Moritani, 2008). Esta benzoquinona omnipresente, como se ha comentado, se configura como un compuesto ubicuo vital para el metabolismo energético, pero su contenido en el organismo disminuye con la edad (Kalén et al., 1989), debido a una reducción en su biosíntesis (Varela-López et al., 2016); como resultado, el organismo es menos eficiente, se fatiga rápidamente y se debilita en términos de protección celular contra los efectos del envejecimiento y del estrés oxidativo (Sarmiento et al., 2016a). Asimismo, la CoQ10, además de la sintetizada por el propio organismo, también se puede obtener por medio de la dieta a través de la ingesta de alimentos como el pescado, la carne de vacuno, de ave o el brócoli (Tran et al., 2001; Kubo et al., 2008), aunque su contenido en CoQ10 es muy bajo (Kubo et al., 2008).

Por todas estas razones, la suplementación con CoQ10 en el ámbito del ejercicio físico ha suscitado diferentes investigaciones para evaluar sus efectos sobre el estrés oxidativo, daño muscular e inflamación, fatiga y rendimiento físico (Figura 8).

Figura 13. Potenciales efectos de la suplementación con Coenzima Q10 en el ejercicio físico.



#### 4.7.1. Efectos de la suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol sobre el estrés oxidativo e inflamación inducidos por el ejercicio

La actividad antioxidante de la CoQ10 aparece sólo con la forma reducida (ubiquinol), aunque la forma oxidada (ubiquinona) se reduce a ubiquinol enzimáticamente después de su absorción por medio de la dieta, como se ha comentado anteriormente. Como también se ha apuntado, la CoQ10 puede actuar como antioxidante por sí misma o como neutralizadora de radicales libres por medio de diferentes mecanismos.

Por otro lado, el ejercicio físico extenuante, especialmente en atletas amateurs, promueve el estrés oxidativo junto con procesos inflamatorios, lo cual constituye una agresión contra la integridad del organismo, pudiendo acarrear consecuencias perjudiciales para la salud.

En este contexto, la suplementación con CoQ10 puede mejorar la capacidad del organismo para neutralizar RONS y proteger a las células y tejidos contra el daño oxidativo e inflamación inducidos por el ejercicio y la fatiga, configurándose como un candidato perfecto para tal efecto, debido a sus bien conocidos efectos antioxidantes y anti-inflamatorios.

Se ha informado que la suplementación con CoQ10 atenúa los biomarcadores de estrés oxidativo medidos en reposo (Niklowitz et al., 2007, Weber et al., 1994). Niklowitz et al. (2007), informaron que, durante la suplementación con CoQ10 se observó una formación retardada de 8-OHdG en el ADN de linfocitos, siendo este efecto duradero, permaneciendo incluso 12 semanas después de la interrupción del tratamiento, concluyendo que este enriquecimiento intracelular debido a la suplementación puede apoyar mecanismos de defensa antioxidantes. Weber et al., (1994), indicaron una disminución en marcadores de peroxidación lipídica después de 2 semanas de suplementación con CoQ10 (90 mg/día) en sujetos sanos.

Asimismo, varios estudios han evaluado los efectos de una suplementación con CoQ10 sobre el estrés oxidativo o inflamación inducidos por el ejercicio en sujetos sanos, notificando efectos positivos; aunque es necesario apuntar que la producción científica al respecto no es muy profusa. Gül et al. (2011), demostraron que una suplementación con CoQ10 de 100 mg/día durante 8 semanas disminuyó los índices de estrés oxidativo inmediatamente después de episodios repetidos de ejercicio supramáximo (Wingate test) en hombres sedentarios. Igualmente, Cooke et al. (2008), informaron que una suplementación aguda con CoQ10 (200 mg), en sujetos entrenados y no entrenados, dio como resultado un incremento en la concentración de CoQ10 muscular, registrando niveles séricos de SOD significativamente más bajos en el grupo suplementado comparado con el grupo placebo después de la realización de una prueba de resistencia muscular isocinética. También registraron niveles significativamente más bajos de TBARS en el grupo CoQ10 comparado con el placebo tras la realización del Wingate test.

Por otro lado, Zheng & Moritani (2008), informaron que la CoQ10 aumenta la oxidación de las grasas por medio de un aumento de la actividad nerviosa autonómica durante el ejercicio de baja intensidad. Estos autores sugirieron que una suplementación aguda (30 mg) con CoQ10 aumenta los niveles de 2,3-difosfoglicerato (DPG) en eritrocitos, lo cual aumenta el suministro de oxígeno a los músculos y mejora la síntesis de ATP, así como la producción de lactato. Además, los resultados de este estudio sugirieron un efecto positivo de la suplementación con CoQ10 en situaciones de hiperlipidemia u obesidad, debido a las mejoras que provoca en el proceso de lipólisis.

En otro estudio posterior (Díaz-Castro et al., 2012), se informó que una suplementación con CoQ10 resultó eficiente en la reducción del grado de estrés oxidativo, registrando una disminución en la concentración de hidroperóxidos de membrana (8-OHdG) e isoprostanos, con una recuperación de la defensa antioxidante, tras la realización de una prueba de esfuerzo de alta intensidad en atletas aficionados, lo cual se asoció con un mantenimiento de la integridad celular debido a la suplementación. El protocolo de suplementación supuso una dosis total de 150 mg,

distribuida de la siguiente manera: día 1: 30 mg; día 2: 3 x 30 mg; y día 3 (día de la prueba): 30 mg 1 h antes. Además, en el mismo estudio, la administración de CoQ10 moduló la señalización inflamatoria asociada con el ejercicio, previniendo la sobreexpresión de TNF- $\alpha$  después del ejercicio, junto con un aumento de sTNF-RII (receptor de TNF-  $\alpha$ ) que limita las acciones perjudiciales y pro-inflamatorias de TNF.

Las propiedades anti-inflamatorias de la CoQ también quedaron patentes en otro estudio (Armanfar et al., 2015), el cual informó de que una suplementación de corta duración (14 días) con CoQ10 (5 mg/kg/día) disminuye la respuesta inflamatoria (TNF- $\alpha$ , CRP e IL-6) y los niveles de lactato en reposo en corredores masculinos de media distancia, tras la realización de una carrera de 3000 metros repetida.

Igualmente, Shimizu et al. (2015), examinaron los cambios producidos en los subtipos de monocitos y linfocitos que expresan el receptor tipo 4 (TLR-4) en respuesta al entrenamiento intensivo continuo en atletas (5.5 h/día durante 6 días consecutivos), así como los efectos de una suplementación con CoQ10 (300 mg/día durante 20 días) sobre estos cambios, concluyendo que la suplementación con CoQ10 podría regular a la baja el aumento de los monocitos pro-inflamatorios que expresan TLR-4 en respuesta a un entrenamiento vigoroso continuo en atletas profesionales de kendo.

También se han evaluado los efectos de una suplementación con una mezcla de antioxidantes, conteniendo CoQ10, sobre marcadores de daño oxidativo inducido por el ejercicio. En un estudio (Hellsten et al., 2007) se testaron los efectos de una suplementación de 8 días de duración con una mezcla de antioxidantes (120 mg de CoQ10, vitamina C y  $\alpha$ -tocoferol) en sujetos activos, y se registró, tras la realización de una prueba en cicloergómetro de 90 min de duración (70%  $VO_2$ máx), un aumento en la expresión del mRNA de la proteína desacopladora mitocondrial UCP3 y óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) en el músculo esquelético, lo cual, presumiblemente, disminuye la presencia de ROS inducida por el ejercicio. Otro estudio (Tauler et al., 2008) evaluó los efectos de una suplementación con una combinación de antioxidantes, incluyendo 100 mg de CoQ10, de 3 meses de duración, sobre los niveles plasmáticos de marcadores de estrés oxidativo y neutrófilos, así como la respuesta antioxidante, después de un partido de fútbol de 60 min en jugadores pre-profesionales, informando de un aumento en los niveles plasmáticos de CoQ10 tras la suplementación y, concluyendo que la suplementación previno el daño molecular oxidativo en plasma (MDA y PC) tras el partido, sin influir en las adaptaciones antioxidantes inducidas por el ejercicio.

Sin embargo, a pesar de los resultados positivos encontrados en los estudios anteriores, realizados en humanos, es necesario apuntar que, en la literatura científica, los datos existentes respecto a los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el estrés oxidativo inducido por el ejercicio son inconsistentes (Braun et al., 1991; Cooke et al., 2008; Gül et al., 2011; Bloomer et al., 2012; Díaz- Castro et al., 2012; Ostman et



al., 2012; Sarmiento et al., 2016a). En contraste con los estudios anteriores, Braun et al., (1991), informaron de que no hubo diferencias en el estrés oxidativo (MDA) inducido por el ejercicio después de 8 semanas de suplementación con 100 mg/día de CoQ10 en ciclistas. Igualmente, otro estudio (Bonetti et al., 2000) que empleó el mismo protocolo de suplementación, no registró diferencias respecto al grupo placebo en los parámetros inosina, hipoxantina, xantina y lactato. Laaksonen et al. (1995b), determinaron que ni la suplementación con CoQ10 ni el ejercicio afectaron a la concentración sérica de malondialdehído (MDA) en atletas de resistencia. En la misma línea, Ostman et al. (2012), no encontraron diferencias significativas en los niveles de hipoxantina (HPX) y ácido úrico (UA), marcadores séricos de estrés oxidativo, en sujetos moderadamente entrenados suplementados con CoQ10 (90 mg/día durante 8 semanas) tras la realización de varios test de esfuerzo. Mizuno et al. (2008), aunque no fuese uno de los principales objetivos de su investigación, evaluaron los niveles de ácido ascórbico (AsA) tras la realización de una prueba de esfuerzo en cicloergómetro, y no registraron cambios significativos en el grupo suplementado con CoQ10 (100 ó 300 mg durante 8 días) en comparación con el grupo placebo.

Por otra parte, Kaikkonen et al. (1998), mostraron que una suplementación de 3 semanas con CoQ10 (90 mg/día) y D- $\alpha$ -tocoferol acetato (13.5 mg/día) resultó en un incremento en la concentración de CoQ10 plasmático y en la capacidad antioxidante total antes de la realización de una maratón, aunque no encontraron diferencias con el grupo placebo en la peroxidación de lípidos tras la realización de la prueba. Asimismo, Kon et al. (2008), a pesar de registrar un incremento en la concentración de CoQ10 en plasma en el grupo suplementado (100 mg/día durante 14 días), informaron de una reducción en peroxidación de lípidos (LPO) sólo durante el período de entrenamiento intensivo (kendo), aunque no registraron ningún cambio en la concentración de anión superóxido ( $O_2^-$ ) ni en el recuento de leucocitos, neutrófilos y monocitos respecto al grupo placebo en ningún momento.

Teniendo en cuenta la mayor biodisponibilidad ofrecida por el ubiquinol frente a la ubiquinona (Ikematsu et al., 2006; Hosoe et al., 2007), se ha especulado que es posible que este hecho se traduzca en una atenuación en el potencial de estrés o daño oxidativo inducido por el ejercicio, ya que, el ubiquinol, principio activo de la CoQ10, actúa como un antioxidante en las mitocondrias del corazón, músculo esquelético, hígado, riñones y cerebro, membranas lipídicas y lipoproteínas de baja densidad, ya sea mediante la eliminación directa de radicales libres o en acción conjunta con el  $\alpha$ -tocoferol (Mukai et al., 2007). Sin embargo, el único estudio (Bloomer et al., 2012) que, hasta el momento, ha evaluado los efectos de una suplementación con ubiquinol (300 mg/día durante 4 semanas) sobre el estrés oxidativo inducido por el ejercicio en humanos (sujetos entrenados), no determinó diferencias significativas en los niveles de MDA,  $H_2O_2$  y Lac, entre el grupo suplementado y el grupo placebo tras el ejercicio, con la excepción de algunos individuos, a pesar de que sí registró un incremento

significativo tanto en los niveles plasmáticos de CoQ10 total y reducida como en el coeficiente de CoQ10:colesterol en el grupo suplementado.

Asimismo, los efectos de la administración de CoQ10 sobre el estrés oxidativo inducido por el ejercicio, también se ha investigado en ratas, aunque los datos existentes son igualmente inconsistentes. (Faff & Frankiewicz-Józko, 1997; Kon et al., 2007; Okudan et al., 2012). Faff & Frankiewicz-Józko (1997) demostraron que 4 semanas de suplementación oral con CoQ10 (10 mg/Kg de masa corporal) suprime marcadamente la peroxidación lipídica inducida por ejercicio en el hígado, el corazón y el músculo gastrocnemio. En otro estudio más reciente (Okudan et al., 2012), se demostró que 6 semanas de inyección intraperitoneal de CoQ10 en una dosis diaria de 10 mg/Kg de masa corporal y entrenamiento físico inhibieron significativamente la peroxidación lipídica y el daño al ADN inducidos por el ejercicio, aunque no afectó a los niveles de glutatión (GSH) y SOD en el tejido cardíaco de las ratas. Kon et al. (2007) informaron que 4 semanas de suplementación oral con CoQ10 en una dosis diaria de 300 mg/kg de masa corporal mejoraron el daño oxidativo inducido por el ejercicio en el músculo esquelético, aunque no en el hígado, tras el ejercicio. Otro estudio (Maruoka et al., 2014) informó que una suplementación de larga duración con ubiquinol en ratas (300 mg/kg) supuso una mayor disminución en la prueba d-ROM y un aumento en el ratio reducida respecto a un grupo suplementado con una dosis de 30 mg/Kg, demostrando así un efecto dependiente de la dosis. En un estudio reciente, Pala et al. (2016), concluyeron que el entrenamiento proporciona adaptaciones beneficiosas en la actividad de factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NFκB) inhibidores de kappa B (IκB), factor nuclear derivado de eritroides 2 (Nrf2) y hemoxygenasa 1 (HO-1), siendo éstas reforzadas por la suplementación con CoQ10. Estos autores señalaron el papel terapéutico potencial de la suplementación con CoQ10 en el estrés oxidativo, especialmente cuando los requisitos energéticos del organismo aumentan, como en el ejercicio.

Como causas de la inconsistencia entre los resultados obtenidos tanto en estudios en humanos como en animales, se ha apuntado, por un lado, que la CoQ10 es una molécula hidrofóbica relativamente grande, por lo tanto, su absorción en los tejidos es a menudo lenta y limitada; además, las distintas formulaciones de CoQ10 podrían afectar a su disponibilidad en plasma, lo cual puede afectar a su captación a nivel muscular; asimismo, a pesar de que la suplementación aumente las concentraciones plasmáticas de CoQ10, no necesariamente tiene que aumentar su concentración en las membranas biológicas de los tejidos no deficientes. Por otro lado, la dosis aplicada, el tiempo de suplementación, el tejido muestreado, el protocolo de ejercicio utilizado para inducir daño oxidativo, el tipo de ensayo empleado, así como los sujetos experimentales utilizados (entrenados versus no entrenados y sujetos de edades diferentes) parecen ser condicionantes de los resultados obtenidos entre los diferentes estudios (Sarmiento et al., 2016a).

#### **4.7.2. Efectos de la suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol sobre el daño muscular inducido por el ejercicio**

Los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el daño muscular inducido por el ejercicio también han sido investigados tanto en animales como en seres humanos, aunque la producción científica al respecto es exigua.

Los estudios realizados con ratas aportan, generalmente, efectos beneficiosos de la suplementación con CoQ10 sobre el daño muscular. Shimomura et al. (1991) y Kon et al. (2007) informaron que la suplementación con CoQ10 intravenosa y oral, respectivamente, atenúa el aumento de los marcadores de daño muscular en ratas después de correr en pendiente. Además, Okamoto et al. (1995) proporcionaron evidencia de que la CoQ10 protege a las células cultivadas del músculo esquelético de la liberación de LDH inducida por estimulación eléctrica. Por tanto, a partir de estos resultados experimentales, la suplementación con CoQ10 puede tener el potencial de reducir el daño muscular inducido por el ejercicio en individuos humanos (Kon et al., 2007).

Sin embargo, los estudios en humanos, igualmente escasos, muestran una mayor inconsistencia en los resultados. Faff et al. (1997) determinaron que una suplementación con CoQ10 (100 mg/día durante 30 días) no produjo cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de CK y AST en el grupo suplementado respecto al placebo tras la realización de 2 pruebas intensas en cicloergómetro. Asimismo, Kaikkonen et al. (1998) afirmaron que una suplementación con CoQ10 y D- $\alpha$ -tocoferol acetato no afectó a la concentración plasmática de CK después de una carrera de maratón.

En un estudio posterior (Mizuno et al., 2008) no se informó de cambios significativos en la concentración de CK y AST tras la realización de una prueba de esfuerzo en cicloergómetro, después de una suplementación con CoQ10 (100 ó 300 mg durante 8 días). En la misma línea, Ostman et al. (2012), no encontraron diferencias significativas en los niveles de CK, marcador sérico de daño muscular, en sujetos moderadamente entrenados suplementados con CoQ10 (90 mg/día durante 8 semanas) tras la realización de varios test de esfuerzo.

Por el contrario, Kon et al. (2008) demostraron que una suplementación con CoQ10 (300 mg/día durante 2 semanas) redujo el incremento en las concentraciones de creatina quinasa (CK) y mioglobina (MB) inducido por el ejercicio realizado en un campus de entrenamiento que provocó daño muscular, en atletas de kendo, concluyendo que la suplementación con CoQ10 es útil para reducir el daño muscular inducido por el ejercicio en atletas. Los autores de este estudio señalaron como

posible causa de la diferencia en los resultados entre su estudio y el realizado por Kaikkonen et al. (1998), la dosis de CoQ10 empleada, 300 mg/día y 90 mg/día, respectivamente, apuntando que existe la posibilidad de que el daño muscular inducido por el ejercicio, no se haya visto reducido en el citado estudio, debido a que la ingesta de CoQ10 necesaria para aumentar las concentraciones de CoQ10 en el tejido muscular ha de ser mayor respecto a la que suministraron.

En el estudio realizado por Díaz-Castro et al. (2012), en el grupo tratado con CoQ10 los niveles de creatinina en orina fueron menores en comparación con el placebo tras la realización de una prueba intensa y, puesto que el ejercicio físico intenso provoca un aumento neto en el catabolismo de proteínas y un aumento en la excreción de creatinina (Banfi et al., 2009), esta reducción en los niveles de creatinina podría asociarse, indirectamente, con un menor daño muscular inducido por el ejercicio debido a la suplementación con CoQ10.

Por último, el único estudio (Kizaki et al., 2015) que ha evaluado los efectos de una suplementación con ubiquinol (600 mg/día durante 11 días, desde la semana anterior hasta el final de un campus de entrenamiento intensivo de 4 días de duración) sobre el daño muscular inducido por el ejercicio, determinó que las concentraciones plasmáticas de CK y MB, en atletas jóvenes de kendo, aumentaron significativamente durante el campus, aunque no se registraron diferencias significativas entre los grupos ubiquinol y placebo.

Por tanto, a pesar de que la producción científica en relación a los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el daño muscular inducido por el ejercicio es escasa, y los resultados muestran discrepancias, parece ser que la CoQ10 posee el potencial para reducir el daño muscular. También es necesario apuntar que, los marcadores sanguíneos de daño muscular, no necesariamente reflejan qué eventos ocurren localmente, de forma específica dentro del músculo esquelético durante el ejercicio; por ello, es necesaria una mayor investigación en este campo, especialmente, mediante estudios detallados usando muestras de músculo esquelético humano y/o animal en futuras investigaciones.

#### **4.7.3. Efectos de la suplementación con Coenzima Q10/Ubiquinol sobre el rendimiento en el ejercicio**

La suplementación con CoQ10 ha demostrado afectar a variables relacionadas con el ejercicio, tanto en sujetos sanos como en condiciones patológicas. Este efecto parece estar mediado por una mejora en la producción de energía, una reducción del estrés oxidativo, daño muscular e inflamación inducidos por el esfuerzo, un mejor uso

del consumo de oxígeno en los músculos periféricos y, finalmente, una estimulación de la actividad del sistema nervioso autónomo durante el ejercicio.

Sin embargo, los estudios que han investigado el potencial efecto ergogénico de la CoQ10 en sujetos sanos han reportado resultados mixtos y, su efecto sobre el rendimiento físico ha sido, durante mucho tiempo, un tema que ha generado una cierta controversia debido a que ha habido estudios que han demostrado tanto un efecto beneficioso como otros que han notificado ningún efecto.

La interpretación de esta disparidad en los resultados es compleja, aunque puede deberse a tres factores principales: las distintas formulaciones de CoQ10 administradas, la dosis empleada y la duración de la suplementación; la amplia variedad de sujetos inscritos en los estudios, desde sujetos sedentarios hasta atletas de élite; así como la amplia variedad de variables (directas o indirectas) y métodos utilizados para evaluar el rendimiento físico. Para facilitar la compilación de los resultados obtenidos en los distintos estudios que han evaluado los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el rendimiento deportivo, a continuación se analizarán de acuerdo con el tipo de ejercicio evaluado, aeróbico y/o anaeróbico.

Con respecto a los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el rendimiento aeróbico, los resultados encontrados son contradictorios. Uno de los primeros estudios (Vanfraechem & Folkers, 1981) que evaluó el efecto ergogénico de la CoQ10 (60 mg/día durante 4 y 8 semanas), informó de un incremento en el rendimiento en una prueba aeróbica máxima en cicloergómetro en sujetos inactivos, aunque es necesario apuntar que este estudio no fue publicado en una revista revisada por pares. Posteriormente, Cinquegrana et al. (1987) mostraron que una suplementación con CoQ10 (60 mg/día durante 5 semanas) fue eficaz en sujetos sedentarios en una prueba aeróbica máxima hasta el agotamiento (Test en cicloergómetro: incrementos de 20 W cada 2 minutos, sobre una base de 50 W), al registrar un aumento significativo en la carga de trabajo en el grupo suplementado en comparación con el grupo control, aunque no hubo diferencias significativas en comparación con el grupo placebo.

Por otro lado, otros cuatro estudios (Wyss et al., 1990; Amadio et al., 1991; Fiorella et al., 1991; Zeppili et al., 1991), aunque publicados como actas de conferencia, notificaron efectos positivos de una suplementación con CoQ10 (100 mg/día durante 30-40 días) sobre variables de rendimiento aeróbico en pruebas de esfuerzo, como incrementos en el  $VO_2$ máx (Wyss et al., 1990; Amadio et al., 1991; Zeppili et al., 1991), mejoras en parámetros de rendimiento cardiaco (Amadio et al., 1991), equivalente de oxígeno del ácido láctico, metabolismo total del oxígeno (Wyss et al., 1990), capacidad total de trabajo (Wyss et al., 1990; Fiorella et al., 1991; Zeppili

et al., 1991), mayor volumen de trabajo (Wyss et al., 1990; Fiorella et al., 1991), tanto en sujetos entrenados (Wyss et al., 1990; Amadio et al., 1991; Fiorella et al., 1991; Zeppili et al., 1991) como en personas sedentarias y pacientes con enfermedad mitocondrial (Zeppili et al., 1991).

Asimismo, Ylikoski et al. (1997) demostraron que la suplementación con CoQ10 (90 mg/día durante 12 semanas) causó un aumento en el  $VO_2$ máx y en los umbrales aeróbico y anaeróbico, en esquiadores de fondo profesionales. Estos autores también informaron de una tendencia de mejora en la eliminación del ácido láctico en el grupo suplementado, aunque no significativa. Además, como datos adicionales, registraron evaluaciones subjetivas del esfuerzo, informando que: el 94% de los sujetos consideraron que la suplementación con CoQ10 fue beneficiosa; el 72% notaron un efecto positivo claro; y el 22% señaló un leve beneficio, en su rendimiento en el ejercicio y tiempo de recuperación.

Igualmente, Mizuno et al. (2008) informaron que una suplementación de corta duración (8 días) con CoQ10 (300 mg/día) produjo mejoras en el rendimiento físico durante una prueba de esfuerzo en cicloergómetro fatigante en sujetos sanos (80% de la frecuencia cardiaca en el umbral anaeróbico; 4 h de duración; velocidad máxima de pedaleo sin carga durante 10 s a los 30 y 210 min desde el inicio). Sus conclusiones se debieron, principalmente, a que el grupo suplementado con 300 mg registró de forma significativa una menor disminución en la velocidad máxima en el minuto 210 respecto al 30 en comparación con el placebo; además, notificaron una disminución significativa en la percepción subjetiva del esfuerzo en el grupo suplementado con 300 mg respecto al placebo, apuntando en su conclusión que la CoQ10 podría prevenir condiciones desfavorables como resultado de la fatiga física en sujetos sanos. Sin embargo, notificaron que una dosis de 100 mg/día de CoQ10 no afectó al rendimiento durante la fatiga.

Desde otra perspectiva, Zheng & Moritani (2008) informaron de un aumento en la actividad del sistema nervioso autónomo durante un ejercicio de baja intensidad tras una suplementación aguda con CoQ10 (30 mg), lo cual puede asociarse con una mejora en el metabolismo energético durante el ejercicio en sujetos sanos.

Por otra parte, Zuliani et al. (1989) evaluaron los efectos de una suplementación (100 mg/día durante un mes) sobre los cambios metabólicos inducidos por el ejercicio prolongado en cicloergómetro (50% del  $VO_2$ máx durante 60 min, seguido de un trabajo hasta la extenuación: incrementos de 25 W cada 2 min) en sujetos no entrenados, informando que el grupo CoQ10 registró niveles plasmáticos de ácidos grasos libres significativamente más bajos respecto al placebo tras el ejercicio, lo cual podría estar relacionado con una mejora en la absorción y oxidación de éstos, lo que sugiere una mayor eficiencia en el metabolismo de las grasas mediada por la suplementación con CoQ10. En la misma línea, en el estudio realizado por Díaz-Castro

et al. (2012), aunque los niveles plasmáticos de colesterol y fosfolípidos no mostraron diferencias significativas; sin embargo, en ambos grupos, los triglicéridos registraron una disminución asociada con el ejercicio, siendo las concentraciones más altas en el grupo suplementado con CoQ10 en comparación con el placebo, después de una carrera intensa y, teniendo en cuenta que altos niveles de triglicéridos durante el ejercicio mejoran la actividad del músculo esquelético y la capacidad de ejercicio (Hawley, 2002), este hallazgo podría indicar un efecto ergogénico potencial de la CoQ10.

En contraste con los resultados anteriormente expuestos, en estudios controlados con placebo, se ha demostrado que una suplementación con CoQ10 (Braun et al., 1991; Weston et al., 1997; Liao et al., 2007) o combinada con vitaminas C y E (Snider et al., 1992; Nielsen et al., 1999) no tuvo efectos significativos en la capacidad respiratoria y en el trabajo o metabolismo muscular durante el ejercicio. Laaksonen et al. (1995b) encontraron que la suplementación con CoQ10 (120 mg/día durante 6 semanas) no afectó el rendimiento aeróbico en sujetos entrenados. En sujetos no entrenados, Porter et al. (1995) no encontraron cambios en el  $VO_2$ máx, umbral de lactato, frecuencia cardíaca y carga de trabajo máxima durante una prueba en cicloergómetro después de una suplementación con CoQ10 (150 mg/día) durante 2 meses. Bonetti et al. (2000) observaron que una suplementación con CoQ10 (100 mg/día durante 8 semanas) incrementó los niveles plasmáticos de CoQ10, aunque no afectó a la potencia aeróbica en ciclistas. De manera similar, Zhou et al. (2005) demostraron que la suplementación de CoQ10 (150 mg/día durante 4 semanas) no afectó al  $VO_2$ máx ni al umbral ventilatorio en hombres sanos sedentarios, a pesar de que la concentración plasmática de CoQ10 fue significativamente elevada por la suplementación, apuntando que los efectos no significativos de la suplementación podrían deberse a que la membrana mitocondrial está normalmente saturada con CoQ10, o que el protocolo de ejercicio seleccionado así como las variables evaluadas no eran lo suficientemente sensibles como para detectar ningún efecto.

Más recientemente, Cooke et al. (2008) demostraron que tanto una suplementación aguda (200 mg, 60 min antes del ejercicio) como una suplementación de corta duración con CoQ10 (200 mg/día durante 14 días) no afectaron de forma significativa al tiempo hasta el agotamiento durante el ejercicio aeróbico, aunque sí observaron una tendencia para aumentarlo en el grupo suplementado durante 2 semanas ( $p=0.06$ ). Posteriormente, Ostman et al. (2012) no observaron efectos claros sobre la capacidad aeróbica en el ejercicio, en variables como el  $VO_2$ máx, frecuencia cardíaca y umbral de lactato después de 8 semanas de administración de CoQ10 (90 mg/día) en sujetos moderadamente entrenados. Bloomer et al. (2012) tampoco registraron una mejora en la capacidad aeróbica en atletas entrenados durante un GXT, tras una suplementación con ubiquinol (300 mg/día durante 4 semanas), a pesar

de notificar un incremento diez veces mayor en los niveles plasmáticos de CoQ10 en el grupo suplementado.

Respecto a los estudios que han investigado los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el rendimiento en el ejercicio anaeróbico, es necesario apuntar que son limitados e, igualmente, los resultados muestran disparidad. Malm et al. (1997) demostraron que 120 mg/día de CoQ10 durante 22 días de suplementación no tuvieron efectos significativos en los resultados de cuatro pruebas anaeróbicas en cicloergómetro. Del mismo modo, Cooke et al. (2008) demostraron que la suplementación con CoQ10 no causó cambios significativos en la potencia pico, la potencia media y el índice de fatiga (Wingate Test) en comparación con el placebo. En el estudio realizado por Bloomer et al. (2012) tampoco se observaron cambios significativos en el rendimiento durante una prueba de ejercicio anaeróbico en cicloergómetro (sprints repetidos).

Sin embargo, Faff et al. (1997) determinaron que una suplementación con CoQ10 (100 mg/día durante 30 días) provocó mejoras significativas en la capacidad anaeróbica en soldados durante un protocolo de ejercicio supramáximo en cicloergómetro (3 sprints repetidos de diferente duración, 30-10-10 s, con intervalos de descanso de 30 s), ya que informaron de un aumento significativo, tanto en los valores medios de la potencia pico en la serie 1 así como en la producción de trabajo en las 3 series, respecto al pre-test en el grupo suplementado, mientras que no observaron diferencias significativas en el grupo placebo. En la misma línea, otro estudio más reciente (Gökbel et al., 2010), informó que una suplementación con CoQ10 (100 mg/día durante 8 semanas) mejoró la potencia media durante episodios repetidos de ejercicio supramáximo (Wingate test) en sujetos sedentarios, concluyendo que la CoQ10 puede tener efectos potenciadores del rendimiento pudiendo utilizarse como ayuda ergogénica debido a su papel clave en el metabolismo energético. Finalmente, en un estudio posterior, Alf et al. (2013) demostraron que una suplementación diaria de 300 mg de ubiquinol durante 6 semanas mejoró significativamente el rendimiento medido como potencia máxima en +0,08 W/kg de peso corporal (+ 2,5%) en el grupo suplementado respecto al placebo, siendo esta la única medida evaluada en un test en cicloergómetro a máxima potencia hasta alcanzar el umbral de lactato de 4 mmol y, además, también concluyeron que la adherencia a un régimen de entrenamiento exigente, debido a que los sujetos evaluados fueron atletas olímpicos de élite en fase de preparación, dio como resultado una mejora en la potencia pico, aunque la suplementación con ubiquinol aumentó significativamente la potencia pico en valores absolutos en comparación con el placebo.

Por tanto, atendiendo a los resultados obtenidos en los diferentes estudios que han evaluado los efectos de una suplementación con CoQ10/Ubiquinol sobre el rendimiento en sujetos sanos, entrenados o no, parece ser que la CoQ posee el



potencial para ofrecer una ayuda ergogénica y producir moderadas mejoras en la capacidad de ejercicio aeróbico o anaeróbico, aunque este hecho no se configura como un hallazgo claro y consistente (Rosenfeldt et al., 2003; Sarmiento et al., 2016a).

Sin embargo, teniendo en cuenta, además, que los niveles plasmáticos de CoQ10 pueden disminuir durante períodos de entrenamiento o ejercicio físico severo (Litarru et al., 1990), el empleo de la CoQ como suplemento resulta interesante para paliar las consecuencias de esta deficiencia, especialmente en casos de deportistas de alto nivel que están sometidos a un exigente régimen de entrenamiento o en el caso de sujetos que ocasionalmente realizan un ejercicio físico extenuante, ya que bajos niveles plasmáticos de CoQ10 pueden reflejar mayores necesidades metabólicas sobre la base de una mayor tasa metabólica global y/o daño oxidativo, viéndose comprometida así la competencia en el ejercicio o el rendimiento deportivo.

En este contexto, la suplementación con CoQ y su posibilidad de influir en la tolerancia al ejercicio y/o en el rendimiento, ofrece un campo de investigación muy interesante dadas sus propiedades antioxidantes así como su papel fundamental en la bioenergética celular, sin embargo, se necesita una mayor producción científica al respecto para dilucidar la dosis y duración del tratamiento adecuado, ya que en la mayoría de los estudios disponibles se ha empleado la forma oxidada de la CoQ10, que necesita ser reducida para obtener un efecto biológico; además, varios estudios no han logrado las concentraciones plasmáticas requeridas para inducir ningún beneficio en el rendimiento físico, estimándose que existe una correlación positiva entre niveles plasmáticos de CoQ10 >3,3 mg/l y el rendimiento físico (Siebrecht et al., 2015), para así lograr resultados consistentemente positivos.



## **CAPÍTULO II. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

---



## 1. Justificación

---

La realización de un ejercicio físico extenuante induce a un aumento en la generación de RONS que puede exceder la capacidad protectora del sistema antioxidante y conducir a un estado de estrés oxidativo, además de producir daño muscular e incrementar los niveles de mediadores pro-inflamatorios y citoquinas circulantes, provocando, de este modo, una desregulación en los diferentes sistemas y tejidos del organismo que puede derivar en consecuencias perjudiciales para la salud, además de afectar, por ende, al rendimiento físico.

Como se ha expuesto en el capítulo anterior, existen numerosas aportaciones en la literatura científica que apoyan con fuerte evidencia que la práctica de ejercicio físico extenuante, de hecho, conlleva niveles elevados de estrés oxidativo, alteraciones en la regulación neuroendocrina y daño muscular, así como fatiga muscular que lleva consigo una disminución del rendimiento. Es por ello que, en primera instancia, se recomienda que las personas físicamente activas deban centrarse en consumir una dieta equilibrada que incluya una variedad de alimentos ricos en antioxidantes que atienda a sus requerimientos nutricionales y energéticos para así afrontar las posibles consecuencias, no deseadas, de la práctica de un ejercicio físico extenuante o no programado.

Sin embargo, los atletas bien entrenados o, especialmente, las personas que esporádicamente realizan un ejercicio intenso sin la debida preparación, pueden presentar un riesgo aumentado de daño oxidativo debido a una ingesta dietética insuficiente de antioxidantes. Además, a medida que las personas físicamente activas producen una mayor cantidad de estrés oxidativo, durante episodios repetidos de ejercicio intenso o, episodios esporádicos de ejercicio extenuante, pueden requerir una mayor cantidad de antioxidantes exógenos para mantener la salud y mejorar el rendimiento.

En este contexto, se ha investigado ampliamente la capacidad del uso de suplementos antioxidantes exógenos para mantener el equilibrio oxidativo en estados de estrés durante el ejercicio y, la Coenzima Q10 se configura como una de las sustancias empleadas para tal propósito, debido a que posee propiedades relacionadas con la actividad antioxidante y la bioenergética celular, ya que es un cofactor esencial en la fosforilación oxidativa mitocondrial y cumple un papel clave en la producción de ATP.

Estas propiedades han llevado a los nutricionistas a considerar la CoQ10 adecuada como suplemento dietético destinado a mejorar la bioenergética celular, contrarrestar el estrés oxidativo y ralentizar algunas patologías relacionadas con la

edad. De hecho, la suplementación con CoQ10 se ha utilizado como una medida complementaria preventiva y como terapia adyuvante en diversas patologías y enfermedades, además de emplearse para reducir el daño oxidativo, daño muscular e inflamación inducidos por el ejercicio y, además, mejorar el rendimiento deportivo debido a su potencial ergogénico.

De hecho, en el ámbito del ejercicio físico, existe evidencia científica que sugiere que la suplementación con CoQ10 puede atenuar el estrés oxidativo, la señalización inflamatoria y el daño muscular y, además, mejorar el rendimiento. Sin embargo, el número de estudios al respecto es escaso y la inmensa mayoría ha empleado la forma oxidada de la CoQ10.

El ubiquinol, la forma reducida de la CoQ10, se produce naturalmente en el cuerpo humano y, varios estudios han demostrado que el ubiquinol posee mayor biodisponibilidad y es más eficaz, de forma más rápida y con dosis más bajas que la CoQ10 oxidada o ubiquinona, ya que se encuentra en su forma activa y no tiene que ser convertido por el organismo, pudiendo ser inmediatamente incorporado en las lipoproteínas y entrar rápidamente en el torrente sanguíneo para ejercer su actividad antioxidante directamente, mientras que, en cambio, la ubiquinona debe ser reducida a ubiquinol en el organismo para desempeñar su papel como antioxidante.

Por tanto, es posible que las mejoras ofrecidas por el ubiquinol como suplemento respecto a la tradicional ubiquinona, se traduzcan en mayores prestaciones en el ámbito del ejercicio físico. Asimismo, tanto la ubiquinona como el ubiquinol se configuran como suplementos seguros, sin efectos secundarios, autorizados legalmente, no dopantes, que afectan a la salud de forma holística ayudando en la recuperación tras el ejercicio extenuante y que, al mismo tiempo, poseen la capacidad de ofrecer un efecto ergogénico.

Finalmente, teniendo en cuenta que la información disponible sobre los efectos de una suplementación con ubiquinol en el ejercicio es escasa, hasta la fecha únicamente cuatro estudios (Bloomer et al., 2012; Alf et al., 2013; Kizaki et al., 2015; Sarmiento et al., 2016b) han evaluado sus efectos en dicho contexto, y debido a su capacidad potencial para mejorar los tributos de la tradicional ubiquinona en el daño oxidativo y daño muscular, así como ofrecer, adicionalmente, una ayuda ergogénica en el rendimiento en el ejercicio, es por ello que haya sido objeto de estudio en el presente proyecto de investigación, para así poder valorar sus propiedades antioxidantes y su potencial ergogénico por medio de un protocolo de suplementación de corta duración, previo a la realización de un ejercicio físico extenuante y, de este modo, contemplar y valorar su uso como estrategia nutricional para paliar las consecuencias perjudiciales que puede provocar dicho ejercicio, las cuales repercuten en la salud de las personas físicamente activas.

## 2. Hipótesis de estudio

---

La hipótesis de estudio planteada en el presente proyecto de investigación es la siguiente:

**Hipótesis nula ( $H_0$ )** = Una suplementación de corta duración (2 semanas), previa a la realización de un ejercicio físico extenuante, con una dosificación diaria de 200 mg de ubiquinol, no minimiza las concentraciones de marcadores bioquímicos de daño oxidativo y muscular inducidos por el ejercicio, no incrementa la defensa antioxidante y no produce mejoras en el rendimiento en sujetos sanos entrenados.

**Hipótesis alternativa ( $H_1$ )** = Una suplementación de corta duración (2 semanas), previa a la realización de un ejercicio físico extenuante, con una dosificación diaria de 200 mg de ubiquinol, minimiza las concentraciones de marcadores bioquímicos de daño oxidativo y muscular inducidos por el ejercicio, incrementa la defensa antioxidante y produce mejoras en el rendimiento en sujetos sanos entrenados.

### 3. Objetivos

---

El **objetivo general** del presente estudio es “verificar si una suplementación de corta duración (2 semanas), con una dosificación diaria de 200 mg de ubiquinol, puede modular diversos aspectos relacionados con el ejercicio físico intenso, evaluando su efecto en las concentraciones de marcadores bioquímicos de estrés oxidativo, capacidad antioxidante y daño muscular tras el ejercicio, así como su efecto sobre parámetros de rendimiento durante el ejercicio, en sujetos sanos entrenados”.

Este objetivo general, a su vez, se subdivide en los siguientes **objetivos específicos**, que serán estudiados por su analítica específica:

**Primer objetivo específico:** “Evaluar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis de 200 mg/día de ubiquinol minimiza la concentración de marcadores bioquímicos de daño oxidativo en plasma (8-OHdG, peróxidos de lípidos, LDL oxidada y proteínas carbonilo) y membrana de eritrocitos (peróxidos de lípidos y proteínas carbonilo) tras la realización de un ejercicio físico intenso, en sujetos sanos entrenados”.

**Segundo objetivo específico:** “Evaluar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis de 200 mg/día de ubiquinol modula la concentración de marcadores bioquímicos de antioxidantes plasmáticos (ORAC), liposolubles en plasma (retinol, caroteno, vitamina E, coenzima Q9 y coenzima Q10), liposolubles en membrana de eritrocitos (vitamina E y coenzima Q10) y enzimas citosólicas antioxidantes (catalasa, SOD y GPx) tras la realización de un ejercicio físico intenso, en sujetos sanos entrenados”.

**Tercer objetivo específico:** “Evaluar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis de 200 mg/día de ubiquinol minimiza la concentración de marcadores bioquímicos de daño muscular en plasma (Lactato, NO, CK-MM, TNNI1, TNNI2 y MB) tras la realización de un ejercicio físico intenso, en sujetos sanos entrenados”.

**Cuarto objetivo específico:** “Evaluar si una suplementación de corta duración (2 semanas) con una dosis de 200 mg/día de ubiquinol mejora el rendimiento físico, por medio del estudio de valores promedio registrados en un circuito de musculación (carga o peso desplazado, número de repeticiones y percepción del esfuerzo), y fuerza muscular desarrollada en press banca en máquina Smith (fuerza máxima, potencia y velocidad de potencia máxima), durante la realización de un protocolo de ejercicio físico intenso, en sujetos sanos entrenados”.



## **CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS**

---



## **1. Diseño metodológico**

---

### **1.1. Tipo de estudio**

El presente estudio es un ensayo clínico con diseño paralelo, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo. Ha obtenido el informe favorable del Comité de Ética en Investigación Humana (CEIH) de la Universidad de Granada (ref. 804), y ha sido registrado en ClinicalTrials.gov con el número identificativo NCT01940627.

El método usado para implementar la secuencia aleatoria de asignación ha sido aleatorización por bloques. Se crearon bloques de cuatro sucesos y se establecieron todas las combinaciones posibles de estos (6 en total), asignándole un número a cada combinación; posteriormente, se generó una secuencia aleatoria de 25 casos de los números asignados, empleando para ello el software SPSS versión 20.0 (SPSS Statistics for Windows, 20.0.0. SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). La distribución aleatoria de los grupos fue posterior a la captación de los participantes.

### **1.2. Muestra poblacional**

Los sujetos que han participado en este estudio son bomberos varones pertenecientes al Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada (Parque de Bomberos Sur y Bomberos Parque Norte). El hecho de elegir a este colectivo fue debido a que se buscaban sujetos con niveles altos de actividad física y/o ejercicio controlado y que, además, pertenecieran a un colectivo con cierta homogeneidad en parámetros relacionados con el ejercicio, y dicho colectivo se adecua a las características mencionadas.

### 1.2.1. Selección de la muestra

La captación de voluntarios se realizó en las dependencias del Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada: Parque de Bomberos Sur y Bomberos Parque Norte. Inicialmente, se captó una muestra total de 100 sujetos. El período de reclutamiento transcurrió durante los meses de Abril - Junio de 2014. A continuación, se exponen los criterios de inclusión y exclusión empleados.

#### Criterios de inclusión

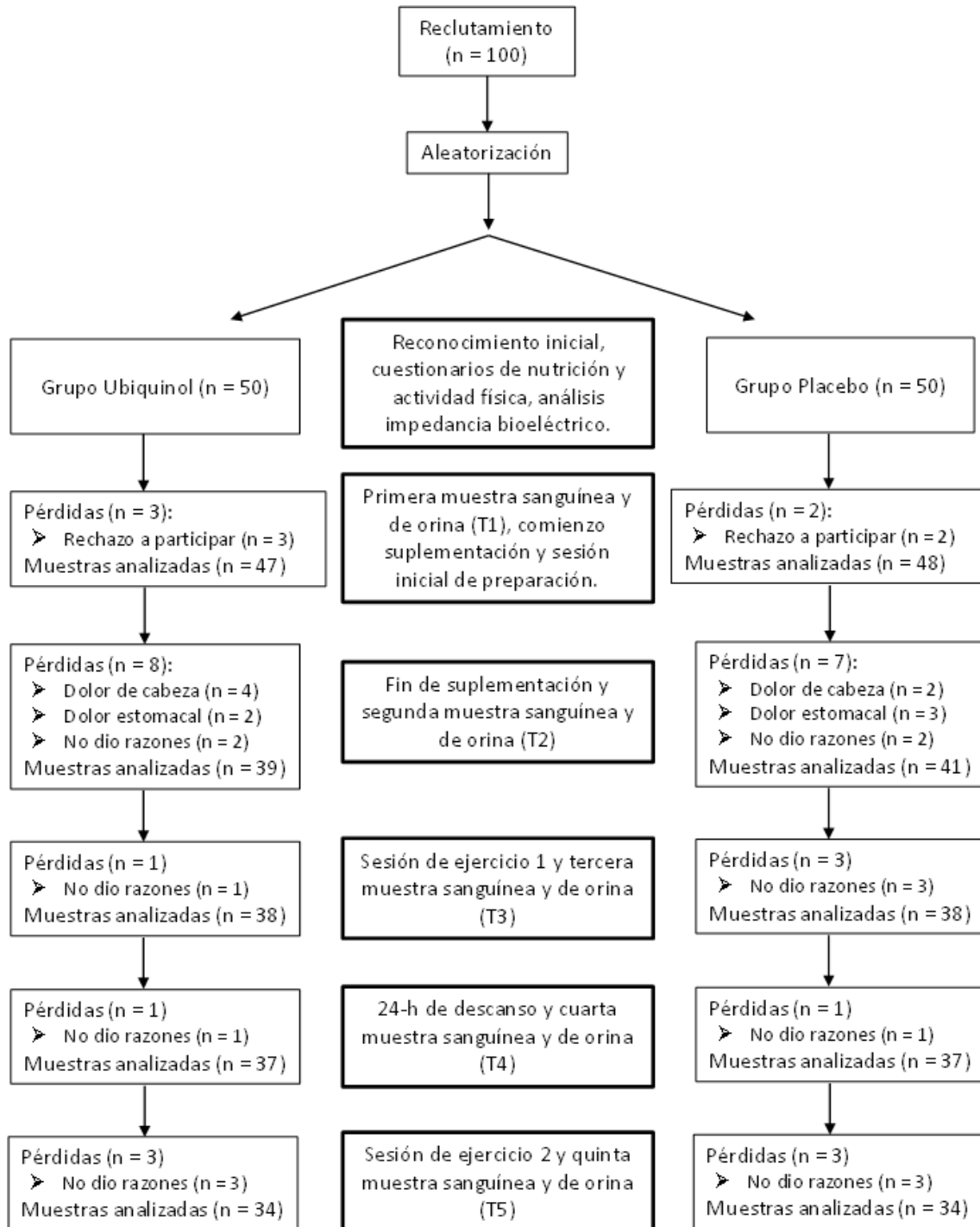
- Desempeño laboral en el Cuerpo de Bomberos de la Ciudad de Granada durante 2014.
- Sexo masculino.
- Tener entre 31 y 45 años.
- Ser sujetos físicamente activos y no realizar ejercicio extenuante con asiduidad.
- Consumo máximo de oxígeno entre 35 y 65 ml/kg/min.
- Porcentaje de peso graso < 15%.
- Ser capaces de levantar su peso máximo.

#### Criterios de exclusión

- Lesiones previas limitantes.
- Padecer alguna enfermedad durante la fase experimental.
- Uso de fármacos inmunosupresores o nefrotóxicos.
- Uso de suplementos proteicos y/o antioxidantes.
- Alguna contraindicación absoluta o relativa en el reconocimiento médico rutinario.
- No cumplir alguno de los criterios de inclusión requeridos.

En ambos grupos hubo pérdidas durante el transcurso de la investigación por diferentes motivos (Ver Figura 14).

Figura 14. Diagrama de flujo de los participantes del estudio.



### 1.3. Diseño experimental

La fase experimental del estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Granada, y transcurrió durante los meses de Junio y Julio de 2014. De la muestra total de 100 sujetos, se constituyeron dos grupos experimentales de 50 sujetos cada uno: un grupo de intervención que fue suplementado con ubiquinol, con una dosificación diaria de 200 mg durante 2 semanas (Grupo Ubiquinol), y un grupo control al que se le administró placebo durante el mismo período de tiempo (Grupo Placebo).

Primeramente, los participantes fueron informados de las características del estudio (Ver ANEXO I) y otorgaron su consentimiento informado (ANEXO II) por escrito. Posteriormente, se les realizó un electrocardiograma (ECG), para descartar anomalías cardíacas, 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 (ANEXOS III y IV) y un cuestionario de actividad física (ANEXO V). Tras ello, se les extrajo la primera muestra sanguínea y de orina (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 período de 2 semanas de suplementación, se les extrajo la segunda muestra sanguínea y de orina (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 período de descanso de 24 h, 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.

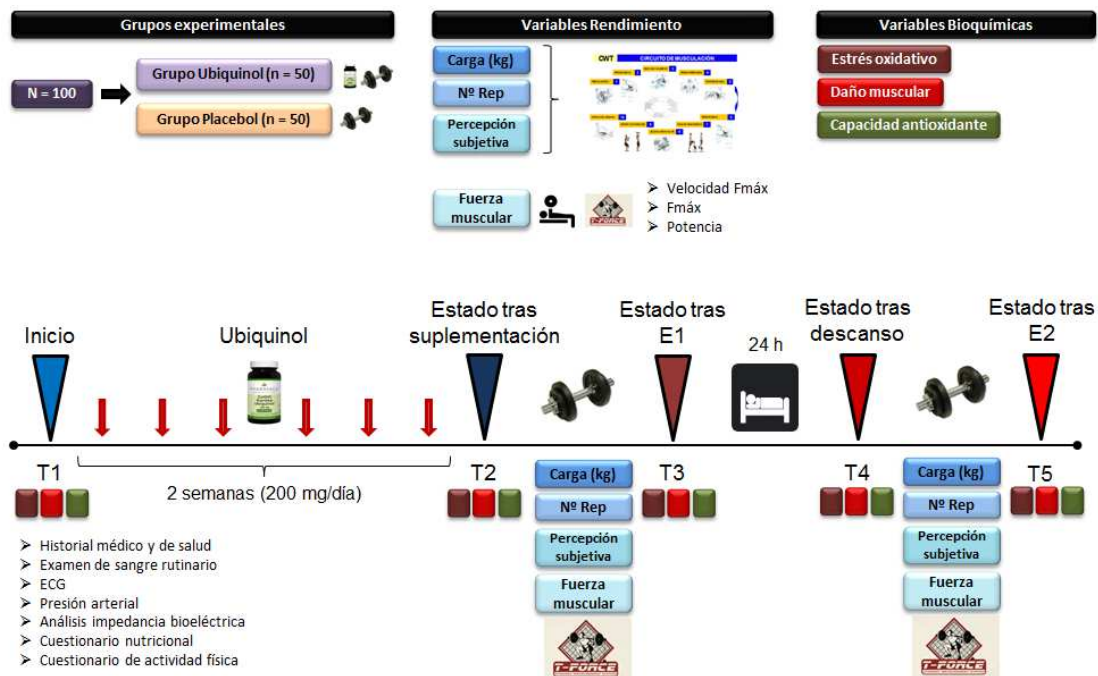
Previamente, se solicitó a los sujetos que ayunaran durante las 2 h previas a cada sesión de ejercicio, se abstuvieran de consumir cualquier otro suplemento nutricional y que mantuvieran su dieta regular y patrones de ejercicio durante todo el estudio. También se exigió a los sujetos abstenerse de consumir cafeína o realizar ejercicio vigoroso en las 24 h previas a las sesiones de ejercicio.

Todos los sujetos realizaron el mismo protocolo de ejercicio intenso, el cual, posteriormente, será detallado en un apartado específico. La participación de los

sujetos se limitó a una duración de, aproximadamente, 3 semanas: día de inicio y dos semanas de suplementación, más una semana adicional para la realización de las sesiones de ejercicio. Debido al tamaño de la muestra y a los recursos disponibles, se constituyeron 6 grupos de sujetos, que participaron de forma escalonada durante la fase experimental en 3 turnos, 2 grupos en cada turno.

En la siguiente figura se puede apreciar, de forma esquemática, el diseño experimental del estudio (Figura 15).

Figura 15. Representación esquemática del diseño experimental del estudio.



### 1.3.1. Reconocimiento inicial

Inicialmente, los sujetos fueron sometidos a una anamnesis llevada a cabo por personal médico, para así obtener información sobre su historial médico y de salud (antecedentes familiares de enfermedad, antecedentes personales médicos y quirúrgicos, alergias, toma actual de medicamentos, consumo de café, alcohol, tabaco y drogas). Asimismo, se les realizó un electrocardiograma para evaluar el ritmo y la función cardiaca y así descartar anomalías y, además, se les tomó la presión arterial

(sistólica y diastólica) utilizando un tensiómetro digital de muñeca modelo OMRON HEM- 6111.

Figura 16. Tensiómetro digital de muñeca utilizado para tomar la presión arterial.



También se les extrajo una muestra sanguínea para un examen bioquímico de sangre rutinario (glucosa, ácido úrico, urea, creatinina, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta, bilirrubina total, fosfatasa alcalina, gamma GT, transaminasas ALT y AST, colesterol, HDL, LDL, proteínas totales, albúmina, calcio, potasio, sodio y fósforo), y un hemograma rutinario y determinación de hematocrito junto a otros parámetros e índices hematológicos, para así determinar el estado fisiológico y bioquímico de los sujetos, para descartar posibles enfermedades. El análisis se realizó en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves” de Granada.

### 1.3.2. Valoración nutricional y de actividad física

Para evitar un factor que pudiera interferir de manera importante en este tipo de ensayos, al inicio de la fase experimental se les entregó a los sujetos un cuestionario nutricional para que registrasen su ingesta dietética durante cuatro días, incluyendo un día del fin de semana, para así evaluar el estado nutricional de los participantes. La información obtenida fue introducida para su análisis en el software nutricional Nutriber (v1.1.1.5.r5, FUNIBER, España).

Igualmente, se les hizo entrega de un cuestionario de actividad física, concretamente la versión corta en castellano del International Physical Activity Questionnaire (IPAQ-SF), ya que se configura como uno de los instrumentos



comúnmente utilizados para evaluar el estado de actividad física en poblaciones de estudio, debido a que es económico, no invasivo, y fácil de administrar. La versión corta abarca la actividad física realizada en los últimos 7 días, y es un instrumento que ha sido probado en diversos países mostrando buena fiabilidad así como propiedades de validez aceptables en poblaciones adultas (Papathanasiou et al., 2010).

### 1.3.3. Análisis de impedancia bioeléctrica

Durante el día de inicio de la fase experimental se midió la altura de los sujetos, empleando para ello un estadímetro portátil modelo SECA 213, y también fueron pesados, descalzos y vistiendo ropa interior, utilizando una balanza digital calibrada (Tanita Body Composition Analyzer TBF-300GS, Tanita Corp, Arlington Heights, IL), la cual suministró, además, los siguientes datos: índice de masa corporal (IMC), metabolismo basal, impedancia, porcentaje de masa grasa, y masa grasa, masa magra y agua en kilogramos.

Figura 17. Analizador de composición corporal Tanita TBF-300GS y estadímetro SECA 213 utilizados para pesar y medir a los sujetos.



### 1.3.4. Protocolo de suplementación

El grupo de intervención (Grupo Ubiquinol) fue suplementado con una dosis oral de 200 mg/día de Kaneka Ubiquinol (Kaneka Corporation, Osaka, Japan) durante 2 semanas, ingiriendo dos cápsulas de gelatina blanda de color marrón al día, que contenían 100 mg de ubiquinol (Ver Tabla VII), una tras el desayuno y otra tras la cena, mientras que los sujetos asignados al grupo control (Grupo Placebo) tomaron placebo usando el mismo régimen de dosis y duración.

Las cápsulas de placebo estaban compuestas por los mismos constituyentes, aunque sin ubiquinol, y su apariencia era idéntica a las cápsulas de ubiquinol e, igualmente, fueron suministradas por la empresa Kaneka Corporation.

Tabla VII. Composición de las cápsulas de ubiquinol y placebo.

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

### 1.3.5. Protocolo de ejercicio físico intenso

Después del período de 2 semanas de suplementación con ubiquinol o placebo, los sujetos realizaron un protocolo de ejercicio físico, que consistió en la realización de 2 sesiones idénticas de ejercicio intenso, sesión 1 (E1) y sesión 2 (E2), con un período de descanso entre ambas de 24 h, durante el cual los sujetos fueron instados a no

realizar ningún tipo de ejercicio físico. Los sujetos tuvieron acceso al consumo de agua *ad libitum*. La sesión de ejercicio es exigente a nivel muscular, ya que fue diseñada para inducir daño oxidativo y muscular, y así poder evaluar el efecto de la suplementación.

Antes del inicio de cada sesión, los sujetos realizaron un calentamiento que se estructuró en dos fases, una general y otra específica:

#### ➤ **GENERAL**

1. Ejercicios de movilidad articular y estiramientos de los principales grupos musculares.
2. Activación general: actividad en cicloergómetro (5 min).

#### ➤ **ESPECÍFICA**

Realización de los mismos ejercicios que componen la parte principal de la sesión con una intensidad suave (Valor 4 de la escala OMNI-RES) (Robertson et al., 2003). La duración de esta fase fue de, aproximadamente, 10 min.

La parte principal de cada sesión de ejercicio (E1 y E2) consistió en la realización de 2 series (S1 y S2) de un circuito compuesto por 10 ejercicios de musculación, con un periodo de descanso de 5 min entre ambas series. Los ejercicios realizados en el circuito fueron los siguientes (Ver Figura 18):

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

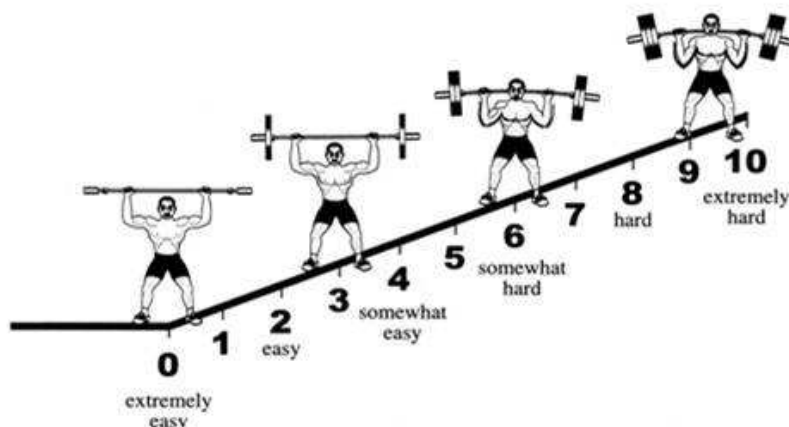
Figura 18. Circuito de ejercicios de musculación.



La dinámica de trabajo en cada ejercicio consistió en realizar el máximo número de repeticiones durante 20 s, maximizando la carga de trabajo, con 40 s de recuperación entre ejercicios. La carga de trabajo mínima correspondió, aproximadamente, con el 60-70% de la fuerza dinámica máxima o repetición máxima (1RM), y el esfuerzo realizado fue de carácter anaeróbico-aeróbico.

Para establecer la magnitud mínima de la carga a desplazar para cada sujeto, una semana antes de la primera sesión de ejercicio, se llevó a cabo una sesión inicial de preparación con los sujetos para ajustar la carga individualmente, determinando la mínima carga a desplazar (kg) en cada ejercicio, en función de dos parámetros: a) Valores de esfuerzo percibido en la escala OMNI-RES entre 6 y 7 (Robertson et al., 2003), y (b) 10 repeticiones. Los datos de cada sujeto quedaron reflejados en hojas de registro para tenerlos como referencia durante la fase experimental.

Figura 19. Escala de percepción del esfuerzo OMNI-RES.



Robertson et al. (2003)

## 2. Procedimientos y evaluaciones

---

### 2.1. Extracción y preparación de muestras sanguíneas y de orina

Como se ha comentado anteriormente, en el apartado referido al diseño experimental, se obtuvo un total de 5 muestras sanguíneas y de orina de cada sujeto para su análisis y estudio. La primera (T1) se obtuvo al inicio de la fase experimental; la segunda (T2) tras finalizar el período de suplementación; la tercera muestra (T3) se extrajo tras la primera sesión de ejercicio intenso (E1); la cuarta (T4) tras 24 h de descanso y, la quinta (T5) tras la realización de la segunda sesión (E2).

Las muestras de sangre de los participantes fueron obtenidas por medio de catéter venoso por personal sanitario cualificado, realizándose la venopunción en una vena localizada en la parte interior del codo. Cada muestra sanguínea se depositó en 3 tubos, dos tubos heparinizados, uno de 7 ml para obtener plasma y eritrocito (membrana y citosol) y otro de 3 ml para obtener el hemograma, y otro no heparinizado de 3 ml para obtener el suero.

Las muestras para obtener el suero permanecieron a temperatura ambiente durante 30 minutos para que la sangre coagulase y precipitase el coágulo y, posteriormente, fueron centrifugadas a 1.750 g durante 10 min a 48 °C en una

centrifugadora GS-6R refrigerada Beckman (Beckman, Fullerton, CA, EE.UU.) para retirar el sobre nadante, el suero, que fue utilizado para la bioquímica.

Las muestras sanguíneas para obtener el plasma se centrifugaron inmediatamente, a 1. 750 g durante 10 min a 48 °C en una centrifugadora GS-6R refrigerada Beckman (Beckman, Fullerton, CA, EE.UU.), para separar el plasma de los sedimentos de células rojas de la sangre y se congelaron seguidamente a -80 °C hasta su análisis.

Las fracciones citosólicas y de membrana de eritrocitos se prepararon por centrifugación diferencial con hemólisis hipotónica y sucesivas centrifugaciones diferenciales de acuerdo con el método de Hanahan & Ekholm (1974). Las fracciones finales se dividieron en partes alícuotas, se congelaron con nitrógeno líquido, y se almacenaron hasta su análisis a -80 °C.

Las muestras de orina fueron depositadas por los propios participantes en recipientes esterilizados de recolección de muestras de orina justo antes de iniciar el calentamiento y tras finalizar las sesiones de ejercicio físico intenso e, inmediatamente, se alícuotaron en tubos de menor tamaño para su almacenamiento a -80 °C hasta su análisis.

## **2.2. Determinación de los marcadores bioquímicos de estrés oxidativo**

### **2.2.1. Daño oxidativo en plasma**

#### **2.2.1.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)**

La determinación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) en plasma fue realizada mediante un kit comercial de ensayo competitivo de inmunoabsorción enzimática (ELISA) *in vitro* (Ref. Nº 3091974) (Japan Institute For the Control of Aging, Shizuoka, Japan), siguiendo las instrucciones del fabricante para la determinación cuantitativa del aducto oxidativo de 8-OHdG en plasma.

**Procedimiento**

Primeramente, todas las muestras y reactivos fueron expuestos a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de iniciar el procedimiento. A continuación, se exponen los distintos pasos llevados a cabo para la determinación:

- A) Se reconstituyó el *Anticuerpo Primario* con la *Solución Anticuerpo Primaria*.
- B) Se agregaron 50 µl de muestra por pocillo, como se muestra en la siguiente figura (Figura 20).

Figura 20. Disposición para la carga de la muestra en triplicados.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	Blank (×3)			×	×	×	×	×	×	×	×	×
<b>B</b>	Standard 0.5 ng/mL			Sample-1			Sample-7			Sample-13		
<b>C</b>	Standard 2 ng/mL			Sample-2			Sample-8			Sample-14		
<b>D</b>	Standard 8 ng/mL			Sample-3			Sample-9			Sample-15		
<b>E</b>	Standard 20 ng/mL			Sample-4			Sample-10			Sample-16		
<b>F</b>	Standard 80 ng/mL			Sample-5			Sample-11			Sample-17		
<b>G</b>	Standard 200ng/mL			Sample-6			Sample-12			Sample-18		
<b>H</b>	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

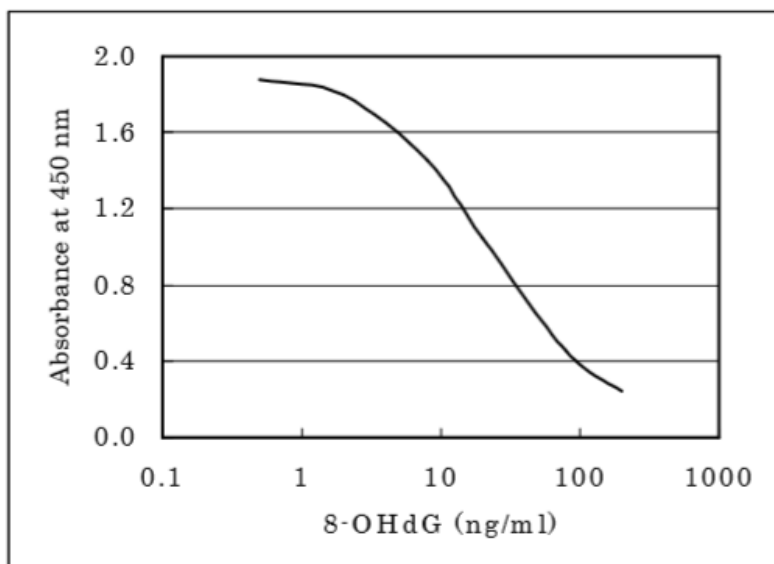
- C) Se añadieron 50 µl de anticuerpo primario reconstituido. Se agitó la placa de lado a lado y se mezcló completamente.
- D) Se mezcló 1 volumen de *Solución de lavado (5x)* con 4 volúmenes de agua destilada.
- E) Se vertió el contenido de los pozos en el fregadero. Se pipetearon 250 µL de solución de lavado en cada pocillo. Después se lavó la placa agitándola de lado a lado, se desechó la solución de lavado y se limpió la placa con una toalla de papel limpia para eliminar cualquier resto de tampón de lavado, procedimiento que se repitió dos veces más.
- F) Se reconstituyó el *Anticuerpo Secundario* con la *Solución de Anticuerpos Secundarios*.
- G) Se añadieron 100 µl de anticuerpo secundario reconstituido por pocillo. Se agitó la placa de lado a lado y se mezcló completamente. Se cubrió la placa con una tira adhesiva, y se incubó a 37 °C durante 1 hora.
- H) Al final del período de incubación, se repitió el lavado como se ha indicado en el paso E.
- I) Se preparó la solución de sustrato agregando 1 volumen de *Solución cromática* a 100 volúmenes de *Solución Diluida*. Se añadieron 100 µl de solución de sustrato por pocillo.

Se agitó la placa de lado a lado y se mezcló completamente y se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 15 minutos.

J) Se añadieron 100  $\mu$ l de la *Solución de Terminación de Reacción*. Se agitó la placa de lado a lado y se mezcló completamente.

K) Se midió la absorbancia a 450 nm usando un lector de placas (Sinergy HT, Bio-Tek, Vermont, USA) y se utilizó una curva estándar para determinar la cantidad de 8-OHdG presente en las muestras (Figura 21). Finalmente, se utilizaron los valores de absorbancia obtenidos en las muestras para determinar las concentraciones.

Figura 21. Curva estándar típica en todo el rango del ensayo a la respuesta de absorbancia a la concentración de 8-OHdG en ng/ml.



#### 2.2.1.2. Peróxidos de lípidos

La concentración de peróxidos de lípidos en plasma se midió mediante un kit comercial (Ref. BI-5007 OXYSTAT) (Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, Viena, Austria) siguiendo las instrucciones del fabricante.

La concentración de peróxido se determinó por la reacción de los peróxidos biológicos con la peroxidasa y posterior reacción de color utilizando tetrametilbencidina (TMB) como sustrato.



### **Procedimiento**

#### ***Preparación de los reactivos y de las muestras***

- Se disolvió un calibrador y cada control en 250 µl de solución D, se dejó reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-26°C) y se mezcló bien.
- Se preparó la mezcla de reacción-ABC inmediatamente antes de su utilización en el ensayo, a partir de la siguiente mezcla: 5 ml solución A + 100 µl solución B + 5 µl de solución C.

#### ***Protocolo de ensayo***

Todas las muestras y reactivos fueron expuestos a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de iniciar el protocolo.

A) Se marcó la posición de CAL/SAMPLE (Calibrador/muestra) en la hoja del esquema de la placa.

B) Se sacaron las tiras de micropocillos de la bolsa de plástico, y se rotularon adecuadamente.

C) Se añadieron 10 µl de CAL/SAMPLE (Calibrador/muestra) en los respectivos pocillos.

D) Se añadieron 100 µl de SOLA (Solución A, tampón de ensayo) a cada pocillo.

E) Cuantificación 1: Se determinó la absorbancia con un lector de ELISA a 450 nm. Se añadieron 100 µl de la mezcla de reacción ABC a todos los pocillos, reactivos y preparación de la muestra.

F) Se incubaron 15 minutos a 37 °C.

G) Se añadieron 50 µl de STOP (Solución de Parada) a cada pocillo, siguiendo el mismo orden que la solución con la mezcla de los reactivos.

H) Cuantificación 2: Se determinó la absorbancia a 450 nm usando un lector de placas (Sinergy HT, Bio-Tek, Vermont, USA).

I) Cálculo de los resultados:

- Para cada CTRL/CAL/SAMPLE (Control/Calibrador/Muestra) se restaron los valores de la densidad óptica (DO) de la cuantificación 1 a los valores de la densidad óptica de la cuantificación 2.
- Utilizando el CAL (calibrador), se realizó una calibración con un único punto. El valor de la DO es proporcional a su concentración, indicada en la etiqueta del vial.

- Las concentraciones de los controles y de las muestras se calcularon de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$[\mu \text{ mol / l}] \text{ muestra} = \frac{\Delta \text{OD muestra} \times [\mu \text{ mol / l}] \text{calibrador}}{\Delta \text{OD calibrador}}$$

### 2.2.1.3. LDL-oxidada

La concentración de Ox-LDL en plasma se midió mediante un kit comercial para determinación cuantitativa *in vitro* (Ref. 10-1143-01 Merckodia Oxidized LDL ELISA) (Merckodia AB, Uppsala, Suecia) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se trata de un inmunoensayo de fase sólida de dos emplazamientos basado en la técnica de sándwich directa en la que se dirigen dos anticuerpos monoclonales contra determinantes antigénicos separados de la molécula de apolipoproteína B-oxidada.

#### Resumen del ensayo

Todas las muestras y reactivos fueron expuestos a temperatura ambiente (20-25 °C) antes de iniciar el procedimiento que figura a continuación:

Se añadieron calibradores, controles y muestras a cada pocillo	25 µL
Se añadió Assay Buffer	100 µL
Se incubó	2 horas a temperatura ambiente en un agitador de placas, 700-900 rpm
Se lavó con solución de wash buffer 1X	700 µL , 6 veces
Se añadió solución de la enzyme conjugate 1X	100 µL
Se incubó	1 hora a temperatura ambiente en un agitador de placas, 700-900 rpm
Se lavó con solución de wash buffer 1X	700 µL , 6 veces
Se añadió Substrate TMB	200 µL
Se incubó	15 min a temperatura ambiente
Se añadió Stop Solution	50 µL y se agitó durante 5 segundos para asegurar el mezclado
Lectura de densidad óptica a 450 nm (tras 30 min)	<u>Cálculo de resultados computarizado:</u> Se realizó la reducción de datos informatizados de la absorbancia para los calibradores, sin calibrador 0, frente a la concentración utilizando una regresión Spline cúbica y se multiplicó la concentración de las muestras por el factor de dilución.

#### **2.2.1.4. Proteínas Carbonilo**

La concentración de proteínas carbonilo (PC) en plasma se midió mediante un kit comercial (Ref. STA-310 OxiSelect™ Protein Carbonyl ELISA Kit) (Cell Biolabs, Inc., San Diego, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Se trata de un inmunoensayo enzimático desarrollado para la rápida detección y cuantificación de las proteínas carbonilo. La concentración de las proteínas carbonilo se determina comparando su absorbancia con la de una curva estándar reducida/oxidada conocida.

##### **Procedimiento**

###### ***Preparación de las muestras***

- Se realizó un ensayo de proteínas de albúmina sérica bovina (BSA) en todas las muestras para determinar la concentración de proteína.
- Se diluyó cada muestra de proteína a 10 µg/ml en 1X con solución salina amortiguada con fosfatos (PBS) antes de usarlo en el ensayo.

###### ***Protocolo de ensayo***

A) Se añadieron 100 µl de 10 µg/ml de muestras de proteína a la placa de 96 pocillos y se incubó a 37 °C durante 2 horas.

B) Se lavaron los pocillos 3 veces con 250 µl de PBS 1X por pocillo. Después del último lavado, se vaciaron los pozos y se taparon con tiras sobre una toalla de papel para eliminar el exceso de solución de lavado.

C) Se añadieron 100 µl de la solución de trabajo DNPH y se incubó durante 45 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad.

D) Se lavaron los pocillos con 250 µl de 1X PBS/Etanol (1:1, v/v) con incubación en un agitador orbital durante 5 minutos, repitiendo el proceso 5 veces, aspirando entre cada uno. Tras el último lavado, se vaciaron los pozos y se taparon con tiras sobre una toalla de papel para eliminar el exceso de solución de lavado. Se lavó 2 veces con 250 µl de 1X PBS.

E) Se añadieron 200 µl de solución de bloqueo por pocillo y se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador orbital.

F) Se lavó 3 veces con 250  $\mu$ l de tampón de lavado 1X con aspiración completa entre cada lavado. Después del último lavado, se vaciaron los pozos y se taparon con tiras sobre una toalla de papel para eliminar el exceso de solución de lavado.

G) Se añadieron 100  $\mu$ l del anticuerpo anti-DNP diluido en cada pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador orbital.

H) Se añadieron 100  $\mu$ l del anticuerpo secundario conjugado HRP diluido en cada pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador orbital. Se lavaron los pocillos 5 veces.

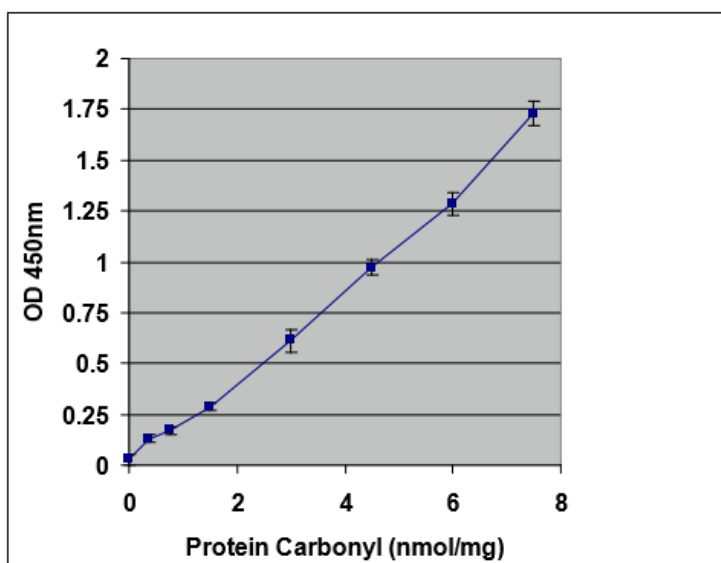
I) Se calentó la solución de sustrato a temperatura ambiente y se añadieron 100  $\mu$ l de solución de sustrato a cada pocillo, incluyendo los pocillos en blanco. Se incubó a temperatura ambiente en un agitador orbital durante 20 minutos.

J) Se detuvo la reacción enzimática añadiendo 100  $\mu$ L de solución de parada a cada pocillo y se evaluaron los resultados inmediatamente.

K) Se leyó la absorbancia de cada pocillo en un lector de placas utilizando 450 nm como longitud de onda primaria. Utilizando el estándar de BSA totalmente reducido como blanco de absorbancia.

L) Se midió la absorbancia a 450 nm usando un lector de placas (Sinergy HT, Bio-Tek, Vermont, USA) y se utilizó una curva estándar para determinar la cantidad de 8-OHdG presente en las muestras (Figura 22). Finalmente, se utilizaron los valores de absorbancia obtenidos en las muestras para determinar las concentraciones.

Figura 22. Curva estándar típica en todo el rango del ensayo a la respuesta de absorbancia a la concentración de proteínas carbonilo en nmol/mg.



## 2.2.2. Daño oxidativo de membrana de eritrocitos

### 2.2.2.1. Peróxidos de lípidos

La concentración de peróxidos de lípidos de membrana de eritrocitos se midió mediante un kit comercial (Ref: 23280) (Thermo Scientific; Pierce Biotechnology, Rockford, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

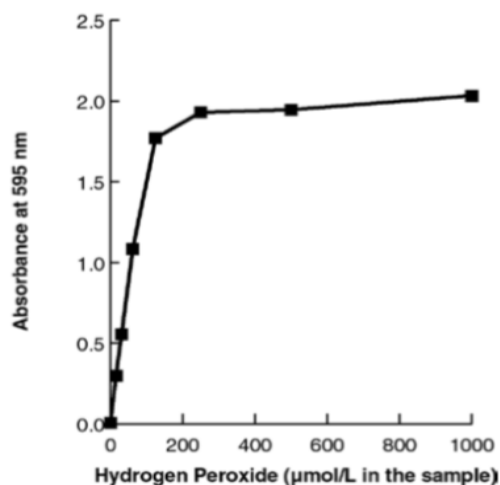
Se ha utilizado la formulación acuosa-compatible que incluye sorbitol, ya que proporciona un aumento de sensibilidad en la medición. En este ensayo, los hidroperóxidos convierten el  $\text{Fe}^{2+}$  en  $\text{Fe}^{3+}$  a un pH ácido. Los peróxidos reaccionan primero con sorbitol, convirtiéndolo a radical peroxilo, el cual inicia la reacción oxidando el  $\text{Fe}^{2+}$  a  $\text{Fe}^{3+}$ . En la solución de ácido sulfúrico, los complejos  $\text{Fe}^{3+}$  tiñen con el xilenol naranja, dando como resultado un producto de coloración púrpura.

#### Procedimiento

La preparación de las muestras, reactivos y estándares, se realizó siguiendo las instrucciones para el procedimiento acuoso que se detallan a continuación:

- A) Se añadieron 10 volúmenes (200  $\mu\text{l}$ ) de reactivo a 1 volumen de muestra (20  $\mu\text{l}$ ) en una microplaca a cada pocillo.
- B) Las reacciones se mezclaron e incubaron durante 20 minutos a temperatura ambiente.
- C) Se midió la absorbancia a 560 nm usando un lector de placas (Sinergy HT, Bio-Tek, Vermont, USA).
- D) Finalmente, se calculó la concentración de peróxidos en la muestra teniendo como referencia la curva estándar de la respuesta de absorbancia a la concentración de peróxidos de hidrógeno (Figura 23).

Figura 23. Curva estándar típica en todo el rango del ensayo a la respuesta de absorbancia a la concentración de peróxidos de hidrógeno en  $\mu\text{mol/l}$ .



#### 2.2.2.2. Proteínas carbonilo (PC)

La concentración de proteínas carbonilo (PC) en membrana de eritrocitos se midió mediante un kit comercial siguiendo las instrucciones del fabricante, realizando el mismo procedimiento que el descrito en el apartado **2.2.1.4. Proteínas Carbonilo**.

#### 2.2.3. Daño oxidativo en orina

##### 2.2.3.1. Isoprostanos

La concentración de isoprostanos en orina se midió usando un kit comercial (Ref. EA85) (Oxford Biomedical Research, Oxford, England). Este kit es un inmunoensayo enzimático competitivo (ELISA) para determinar los niveles de isoprostanos 15-F2t (el isoprostano mejor caracterizado) en muestras de orina.

##### Procedimiento

A) Se añadieron 100  $\mu\text{l}$  de muestra de orina a cada pocillo y se mezcló con el Tampón de Dilución Mejorado (1:4).

B) Se añadieron 100 µl de HRP conjugado diluido de 15-F2t a cada pocillo, omitiendo el Reactivo en blanco. Se añadieron 100 µl de Tampón de Dilución Mejorado en lugar del Conjugado en el Espacio de Reactivo se incubó la placa durante 2 horas a temperatura ambiente.

C) Se lavaron los pozos.

D) Se añadieron 200 µl de Sustrato TMB a cada pocillo y se incubó durante, aproximadamente, 30 min hasta que se observó un matiz azul apreciable, y se incubó durante 40 min.

E) Se añadieron 50 µl de ácido sulfúrico 3 M a cada pocillo para detener la reacción y el color azul cambió a amarillo.

F) Se midió la absorbancia a 450 nm usando un lector de placas (Sinergy HT, Bio-Tek, Vermont, USA) y se procedió al cálculo de los resultados, siendo la intensidad del color proporcional a la cantidad de 15-F2t-HRP e inversamente proporcional a la cantidad de 15-F2t no conjugado en las muestras.

#### **2.2.3.2. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)**

La concentración de 8-OHdG en orina se midió mediante un kit comercial siguiendo las instrucciones del fabricante, realizando el mismo procedimiento que el descrito en el apartado **2.2.1.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)**

### **2.3. Determinación de los marcadores bioquímicos de defensa antioxidante**

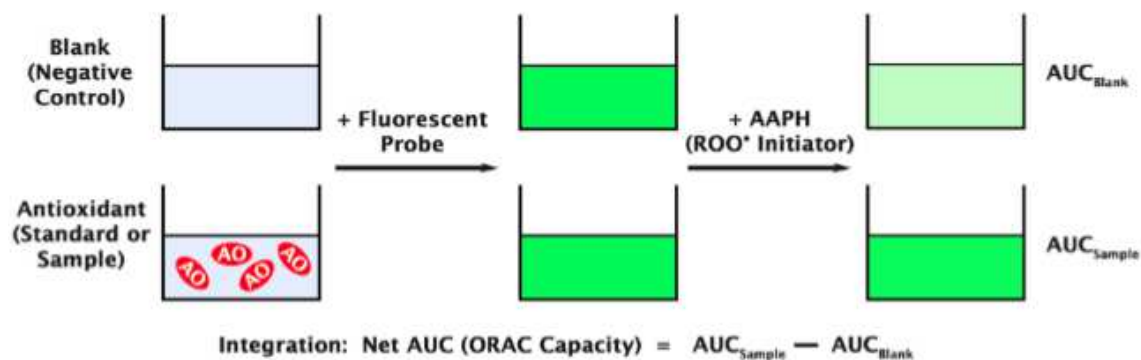
#### **2.3.1. Capacidad antioxidativa plasmática total (ORAC)**

La capacidad antioxidativa plasmática total mediante el método ORAC se midió mediante un kit comercial (Ref. STA-345 OxiSelect™ Oxygen Radical Antioxidant Capacity (ORAC) Activity Assay) (Cell Biolabs, Inc., San Diego, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

### Principio del ensayo

El ensayo mide la degradación oxidativa de una molécula fluorescente (fluoresceína) después de haber sido mezclada con generadores de radicales libres (Figura 24).

Figura 24. Principio del ensayo para la determinación de ORAC.



### Procedimiento

- A) Se agregaron 25  $\mu\text{L}$  de muestra a la placa de microtitulación de 96 pocillos.
- B) Se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de la *Solución de Fluoresceína 1X* a cada pocillo, se mezcló bien y se incubó durante 30 minutos a 37 °C.
- C) Se agregaron 25  $\mu\text{L}$  de la *Solución de Iniciador de radicales libres* en cada pocillo utilizando una pipeta multicanal.
- D) Se mezcló bien la reacción, pipeteando para asegurar la homogeneidad.
- E) Se inició inmediatamente la lectura de muestras con el lector de placas (Sinergy HT, Bio-Tek, Vermont, USA) a 37 °C con una longitud de onda de excitación de 480 nm y una longitud de onda de emisión de 520 nm. Se leyeron los pozos en incrementos entre 1 y 5 minutos de un total de 60 minutos y se procedió al cálculo de los resultados.



### 2.3.2. Antioxidantes liposolubles en plasma (Retinol, $\beta$ -caroteno, Tocoferol, Coenzima Q9 y Coenzima Q10)

Se determinaron los antioxidantes liposolubles en plasma: Retinol (Vitamina A),  $\beta$ -caroteno, Tocoferol (Vitamina E), Coenzima Q9 y Coenzima Q10.

Las muestras de plasma se mezclaron con etanol en tubos de polipropileno y se dejaron incubando en hielo durante 10 minutos; después se añadió hexano y se dejaron de nuevo en hielo durante 5 minutos. Las proporciones utilizadas fueron las siguientes: muestra/etanol/hexano (1:2,4:3,6 v/v).

Tras el período de incubación, las muestras se centrifugaron a 2200 g durante 10 minutos a 4 °C. Se retiró la fase superior cuidadosamente y se pasó a un tubo nuevo. Al tubo original se le adicionó otra vez hexano para realizar una segunda extracción. Las muestras se secaron finalmente en un Speed Vacum (a 45 °C durante 25-30 minutos).

Las muestras se re-suspendieron en una mezcla de Etanol: Isopropanol (90:10, v/v) y fueron analizadas mediante un sistema UPLC-MS/MS, "Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry". El equipo utilizado fue un UPLC Acquity H-Class acoplado a un detector de triple cuadrupolo Xevo TQ-S (Waters Corporation, Milford, USA) (Figura 25).

Figura 25. Equipo UPLC Acquity H-Class acoplado a un detector de triple cuadrupolo Xevo TQ-S.



La separación cromatográfica fue llevada a cabo usando un gradiente isocrático con fase móvil de metanol al 0.1% (v/v) de ácido fórmico. Con un flujo de 600  $\mu\text{l}$  /min, la columna fue mantenida a 40 °C y la inyección de volumen fue de 10  $\mu\text{l}$ . La columna utilizada fue una Acquity UPLC BEH C18 1.7  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 100 mm (Waters Corporation, Milford, USA).

La espectrometría de masas, por su parte, operaba mediante ionización química por presión atmosférica (APCI) en modo de ion positivo. Para incrementar la sensibilidad y selectividad, múltiples análisis de espectrometría de masas fueron llevados a cabo en múltiples reacciones de monitorización (MRM) y los parámetros MS/MS fueron optimizados individualmente utilizando soluciones estándar, de Sigma-Aldrich (mínimo 98% de pureza. Grado HPLC) y se preparó una disolución madre de 1000 mg/L en metanol de cada uno de ellos.

Tras seleccionar los iones precursores, los iones producto fueron obtenidos de la fragmentación de estos precursores tras actuar el haz energético sobre la muestra. Estos parámetros fueron optimizados previamente para obtener la máxima sensibilidad con la mayor cantidad de iones producidos. Es esta la razón por la cual el triple cuadrupolo es tan sensible, sólo analiza aquello que es objeto de interés, sin prestar atención al resto de elementos presentes en la muestra. Del mismo modo, de los dos iones, se seleccionó el más estable (cuantificación) y el menos estable (cualificación). La función del de cualificación es simplemente localizar el pico, es decir, si está presente esa transición, cuantifica y, si no lo está, no cuantifica.

Las transiciones de las moléculas seleccionadas son:

- Retinol: 269.287>92.924 (cuantificación), 269.287>80.777 (cualificación)
- $\beta$ -Caroteno: 537.606>104.959 (cuantificación), 537.606>94.928 (cualificación)
- Tocoferol: 431.415>165.022 (cuantificación), 431.415>136.975 (cualificación)
- Coenzima Q9: 795.713>197.094 (cuantificación), 795.713>94.926 (cualificación)
- Coenzima Q10: 863.777>197.036 (cuantificación), 863.777>94.928 (cualificación)

El tiempo de permanencia para cada transición fue de 25 ms, con un retraso entre medidas establecido de 3 ms.

Los parámetros instrumentales fueron los siguientes:

- Voltaje de descarga de corona: 3.80 kV
- Temperatura de la fuente: 150 °C
- Temperatura de la sonda: 500 °C

-Flujo de gas del cono: 150 L/h

-Flujo de gas de desolvatación: 500 l/h

-Flujo de gas de colisión: 0.18 ml/min

-Flujo de gas del nebulizador: 7.0 bar

\*Nitrógeno (>99.995%) fue usado como gas de desolvatación y en el cono.

\*Argón (99.995%) fue usado como gas de colisión.

Finalmente, la determinación de datos fue realizada bajo condiciones de tiempo segmentadas, basadas en la separación cromatográfica de los compuestos a estudio, para maximizar la sensibilidad de la detección. El software empleado fue MassLynx 4.1. (Waters Corporation, Milford, USA).

### **2.3.3. Antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos (Vitamina E y Coenzima Q10)**

Se determinaron antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos: Vitamina E y Coenzima Q10.

Las muestras de membrana de eritrocitos se mezclaron con etanol en tubos de polipropileno y se dejaron incubando en hielo durante 10 minutos, después se añadió hexano y se dejaron de nuevo en hielo durante 5 minutos. Las proporciones utilizadas fueron las siguientes: muestra/etanol/hexano (1:2,4:3,6 v/v). Tras el período de incubación, las muestras se centrifugaron a 2200 g durante 10 minutos a 4 °C. Se retiró la fase superior cuidadosamente y se pasó a un tubo nuevo. Al tubo original se le adicionó nuevamente hexano para realizar una segunda extracción. Finalmente, las muestras se secaron en un Speed Vacum (a 45 °C durante 25-30 minutos).

Las muestras se re-suspendieron en una mezcla de etanol: Isopropanol (90:10, v/v) y fueron analizadas mediante un sistema UPLC-MS/MS, "Ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry".

El equipo utilizado fue un UPLC Acquity H-Class acoplado a un detector de triple cuadrupolo Xevo TQ-S (Waters Corporation, Milford, USA) (Ver Imagen 25); las determinaciones se realizaron siguiendo el mismo procedimiento descrito en el apartado anterior.

### 2.3.4. Enzimas citosólicas antioxidantes (CAT, SOD y GPx)

Para la determinación de superóxido dismutasa (SOD) se utilizó un kit comercial (Ref. K028-H1) (Arbor Assays®, Ann Arbor, MI, USA) empleando la técnica descrita por Fridovich (1975), con algunas modificaciones. En la microplaca se añadió la solución citocromo C, la xantina y el buffer de trabajo (v/v, 1: 1: 5,3). Se añadieron cantidades variables de xantina oxidasa para lograr la reducción adecuada. El aumento de la absorbancia se midió a 550 nm durante 1 min a 25 °C. El espectro resultante se utilizó como estándar. Las siguientes determinaciones se llevaron a cabo con la muestra: en cada pocillo se añadió el volumen adecuado de la solución de citocromo C, la xantina, el buffer de trabajo y el volumen adecuado de muestra. A continuación, se añadió la cantidad adecuada de xantina oxidada, que fue previamente determinada. Finalmente, se midió el aumento de absorbancia a 550 nm durante 1 min a 25 °C (temperatura ambiente). Los resultados se expresan como unidades de actividad por 1 mg de proteína (U/mg).

Para la determinación de la catalasa (CAT) se utilizó un kit comercial (Ref. K033-H1) (Arbor Assays®, Ann Arbor, MI, USA) empleando la técnica descrita por (Aebi, 1984). Se realizaron diluciones de las muestras de citosol para 1 mg de proteína/ml. Para ello, previamente se determinó la concentración de proteína mediante un kit comercial: Proteínas Totales (Ref: SP1001291) (SPINREACT, S.A./S.A.U., Girona, España). Para la dilución de la muestra se utilizó un buffer de trabajo (tampón fosfato 50 mM (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), ajustado a pH 7 con Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) con Triton X-100. En primer lugar, se añadió el tampón de trabajo en cada pocillo de la microplaca, seguidamente se añadió la cantidad adecuada de muestra y, por último, se añadió la solución de peróxido de 30 mM (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Finalmente, se midió la absorbancia a 240 nm durante 1 min a 25 °C.

Por último, para la determinación glutatión peroxidasa (GPx) se utilizó un kit comercial (Ref. 7512-100-K) (Trevigen®, Gaithersburg, MD, USA) realizando la técnica descrita por Leopold Flché y Wolfgang A. Gunsther en 1975, con algunas modificaciones. Se realizaron diluciones de las muestras de citosol para 3 mg de proteína/ml. Para ello, previamente se determinó la concentración de proteína mediante un kit comercial: Proteínas Totales (Ref: SP1001291) (SPINREACT, S.A./S.A.U., Girona, España). Para la dilución de la muestra se utilizó el siguiente buffer de trabajo: tampón Tris-HCl 50 mM ajustado a pH 7, al que se le adicionó EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate. SIGMA) 2,5 mM. En la placa, se agregó el buffer de trabajo en cada pocillo, y seguidamente se añadió la cantidad adecuada de la muestra. Se preparó la solución reactiva: 0,02 g de GSH (Reduced glutathione. SIGMA) + NADPH 0,011 g (NADPH Tetrasodium salt. CALBIOCHEM) diluido en 20 ml de buffer de trabajo. Se tomaron 10 ml de la solución reactiva a la que se le añadieron 26,7 µl de glutatión reductasa (Roche). Se agitó la placa durante 30 s y se

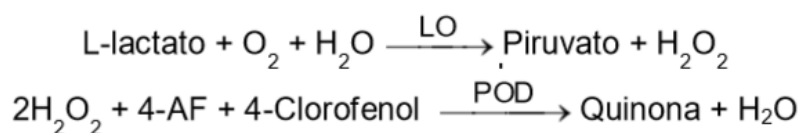
añadió la cantidad adecuada de la solución reactiva a cada pocillo (75 µl); por último, se añadió el TertButil H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (25 µl) y se midió la absorbancia a 340 nm durante 1 min a 25 °C.

## 2.4. Determinación de los marcadores bioquímicos de daño muscular

### 2.4.1. Lactato (Lac)

La concentración de lactato (Lac) en suero heparinizado se midió mediante un kit comercial (Ref. 1001330) (SPINREACT, S.A./S.A.U., Girona, España) siguiendo las instrucciones del fabricante.

El lactato es oxidado por la lactato oxidasa (LO) a piruvato y peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el cual, en presencia de peroxidasa (POD), 4aminofenazona (4-AF) y 4-clorofenol forma un compuesto rojo de quinona:



La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lactato presente en la muestra ensayada.

#### Procedimiento

A) Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 505 nm (490-550)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura: ..... 37 °C / 15-25 °C

B) Se ajustó el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

C) Se pipeteó en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Patrón(μL)	--	10	--
Muestra (μL)	--	--	10

D) Se mezcló e incubó 5 minutos a 37 °C.

E) Se leyó la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo.

F) Cálculos:

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 10 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de lactato en la muestra}$$

Factor de conversión: mg/dL x 0,1123= mmol/L.

### 2.4.2. Óxido Nítrico (NO)

La concentración de NO en plasma se midió mediante un kit comercial (Ref. K023-H1) (Arbor Assays®, Ann Arbor, MI, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

#### Principio del método y procedimiento

Se midió cuantitativamente el nitrato y el nitrito presentes en plasma. El contenido de óxido nítrico se deriva de la suma de nitrato (-NO<sub>3</sub>) y nitrito (-NO<sub>2</sub>). Se proporcionan estándares de nitrato y nitrito para generar curvas estándar para el ensayo, y todas las muestras deben leerse teniendo como referencia una curva estándar. Para la detección de nitrito, las muestras se mezclaron con los reactivos de color A y B y se incubaron a temperatura ambiente durante 5 minutos. El producto coloreado se leyó a 570 nm. La concentración de nitrito en la muestra se calculó, después de hacer una corrección adecuada para cualquier dilución de la muestra.

El contenido total de óxido nítrico se midió después de que la muestra se incubara con nitrato reductasa y NADH. La reductasa en combinación con NADH reduce nitrato a nitrito. Después de una incubación de 20 minutos a temperatura ambiente, se añadieron los Reactivos Colorantes A y B y se incubó a temperatura ambiente durante 5 minutos. El producto coloreado se leyó y se calculó siguiendo la determinación de nitrato anterior. Las concentraciones totales de NO se calcularon a partir de los datos obtenidos de la curva estándar del nitrito y nitrato (Total Nitric

Oxide Protocol) utilizando la rutina de ajuste de la curva suministrada con el lector de placas.

#### **2.4.3. Isoforma de la creatina quinasa asociada al músculo esquelético (CK-MM)**

La concentración de CK-MM en plasma se midió mediante un kit comercial (Ref. SEA09Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Creatine Kinase, Muscle CKM) (Cloud-Clone Corp., Houston, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

El kit es un inmunoensayo enzimático en sándwich para la medición cuantitativa *in vitro* de CK-MM en plasma. La placa de microvaloración proporcionada en este kit ha sido previamente recubierta con un anticuerpo específico para CK-MM. Los patrones o muestras se añadieron a los pocillos de placa de microtitulación adecuados con anticuerpos conjugados con abiotina anticodificantes de CK-MM. A continuación, se añadió avidina conjugada a peroxidasa del rábano (HRP) a cada pocillo de microplaca y se incubó. Después de añadir la solución de sustrato TMB, sólo los pocillos que contienen CK-MM, anticuerpo conjugado con biotina y avidina conjugada con enzima exhibieron 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. La concentración de CK-MM en las muestras se determinó comparando la concentración de los valores de densidad óptica estándar media nula con la curva estándar.

#### **2.4.4. TNNI1 y TNNI2**

La concentración de TNNI1 se determinó mediante un kit comercial (Ref. SED229Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Troponin I Type 1, Slow Skeletal) (Cloud-Clone Corp., Houston, USA), y la concentración de TNNI2 se midió mediante un kit comercial (Ref. E93230Hu Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit For Troponin I Type 2, Fast Skeletal) (Cloud-Clone Corp., Houston, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante en ambos.

El principio del método en ambos kits es un inmunoensayo enzimático en sándwich para la medición cuantitativa *in vitro* de TNNI1 y TNNI2 en plasma, respectivamente.

La placa de microvaloración proporcionada en ambos kits fue previamente recubierta con un anticuerpo específico de TNNI1 y/o TNNI2, respectivamente. A continuación, se añadieron las muestras a los pocillos de placa de microtitulación apropiados con un anticuerpo conjugado con biotina específico de TNNI1 y/o TNNI2. Posteriormente se añadió avidina conjugada a peroxidasa de rábano (HRP) a cada pocillo de microplaca y se incubó. Después de añadir la solución de sustrato TMB, sólo los pocillos que contenían TNNI1 y/o TNNI2, anticuerpo conjugado con biotina y avidina conjugada con enzima exhibieron un cambio de color. La reacción enzima-sustrato se terminó por la adición de una solución de ácido sulfúrico y el cambio de color se midió espectrofotométricamente a una longitud de onda de 450 nm. La concentración de TNNI1 y/o TNNI2 en las muestras se determinó comparando la concentración de los valores de densidad óptica estándar media nula con la curva estándar.

#### **2.4.5. Mioglobina (MB)**

La concentración de MB en suero se midió mediante un kit comercial (Ref. 11170 Enzyme Immunoassay for the Quantitative Determination of Myoglobin Concentration in Human Serum) (Oxis International Inc., Foster City, CA, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

El kit se basa en el principio de un ensayo de inmunoabsorción enzimática en fase sólida. El sistema de ensayo utiliza un anticuerpo monoclonal único dirigido contra un determinante antigénico distinto en la molécula de mioglobina. El anticuerpo anti-mioglobina monoclonal de ratón es utilizado para la inmovilización en fase sólida (en los pocillos de microtitulación). Un anticuerpo anti-mioglobina de cabra está en la solución conjugada anticuerpo-enzima (peroxidasa de rábano). La muestra de ensayo se dejó reaccionar simultáneamente con los dos anticuerpos, dando como resultado que las moléculas de mioglobina estén intercaladas entre la fase sólida y los anticuerpos enriquecidos en enzimas. Después de una incubación de 45 minutos a temperatura ambiente, los pocillos se lavaron con agua para eliminar los anticuerpos marcados no unidos. Se añadió un reactivo TMB (tetrametilbencidina) y se incubó durante 20 minutos, dando como resultado el desarrollo de un color azul. El desarrollo del color se detiene con la adición de *Stop Solution* cambiando el color a amarillo. La concentración de mioglobina es directamente proporcional a la intensidad de color de la muestra de ensayo y la absorbancia se midió espectrofotométricamente a 450 nm.

Finalmente, los valores medios de absorbancia obtenidos para cada muestra se utilizaron para determinar la concentración correspondiente de mioglobina en ng/ml a partir de la curva estándar.



## **2.5. Evaluación de parámetros de rendimiento**

### **2.5.1. Carga, número de repeticiones y percepción del esfuerzo**

Durante las sesiones de ejercicio intenso (E1 y E2), se dispuso de personal encargado de anotar en hojas de registro los siguientes parámetros: carga (kg de peso desplazado), número de repeticiones y valores de esfuerzo percibido en la escala OMNI-RES (Robertson et al., 2003) (Ver Figura 19) de cada sujeto.

Dicho personal se encargó, igualmente, de colocar la carga mínima de trabajo en cada estación para cada sujeto durante la fase de recuperación entre ejercicios, utilizando los datos registrados en la sesión inicial de preparación, aunque los sujetos, antes de iniciar la fase de trabajo, pudieron incrementar la carga de trabajo (peso desplazado), opcionalmente, a partir de los valores de referencia; para ello, el personal encargado ajustó y anotó los incrementos de la carga en aquellos casos donde se produjo, contabilizó el número de repeticiones realizadas en cada ejercicio, y preguntó a los sujetos, al finalizar la fase de trabajo en cada ejercicio, los valores de esfuerzo percibido por éstos en la escala OMNI-RES (Robertson et al., 2003).

Para su posterior análisis, sólo se valoraran los valores promedio de cada parámetro en cada una de las series (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio intenso (E1 y E2): E1S1, E1S2, E2S1 y E2S2.

### **2.5.2. Fuerza muscular en press banca (Máquina Smith)**

Durante la realización de cada sesión de ejercicio intenso, en las estaciones número 2 y 6 del circuito (Ver Figura 18), se evaluaron la Fuerza Máxima (N), la Potencia (W) y la Velocidad de Potencia Máxima (m/s) desarrolladas en el ejercicio de press banca en máquina Smith (Gervasport, Madrid, Spain) (Figura 26).

Figura 26. Press banca en Máquina Smith.



Para ello, se utilizó un dispositivo de desplazamiento lineal (T-Force System, Ergotech, Murcia, Spain) acoplado a un ordenador portátil (Figura 27). El sistema consta de una parte electromecánica (hardware: sensor e interface) y un software, con un cable fijado a la barra, que se movía verticalmente según la dirección de desplazamiento, informando de la posición en cada milisegundo (1000 Hz) por medio de una tableta que registra la información, y que es procesada en el software, obteniéndose así, información sobre la fase concéntrica del ejercicio en cada repetición.

Figura 27. Dispositivo de desplazamiento lineal utilizado (T-Force System, Ergotech).



Para su posterior análisis, se valoraran los valores promedio de cada parámetro en cada una de las estaciones donde se realizó press banca en máquina Smith (N2 y N6), en cada serie (S1 y S2) de ambas sesiones de ejercicio intenso (E1 y E2): E1S1N2, E1S1N6, E1S2N2, E1S2N6, E2S1N2, E2S1N6, E2S2N2 y E2S2N6.

## 2.6. Método estadístico

Los resultados se muestran como la Media aritmética  $\pm$  Desviación típica o estándar (DS). Para el análisis estadístico de los resultados, previamente, todas las variables fueron comprobadas para ver si seguían los criterios de normalidad y homogeneidad de la varianza mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff y Levene, respectivamente.

Para comparar las características generales de los sujetos en ambos grupos experimentales, se utilizó la prueba t de Student no emparejada. Para evaluar el efecto de la suplementación y la evolución en el tiempo de cada variable estudiada, en cada grupo experimental, se ha realizado un modelo lineal general de varianza para medidas repetidas con un ajuste mediante el test de Bonferroni. La prueba de Bonferroni nos permitió conocer las diferencias dentro de un mismo grupo experimental y entre grupos, para así valorar el efecto del tiempo y de la suplementación en cada grupo y en cada período, de una manera muy robusta en términos de potencia.

En todos los casos se ha tomado  $p < 0.05$  como significativo. Para el análisis de los datos se ha utilizado el paquete estadístico SPSS versión 20.0 (IBM SPSS Statistics para Windows, 20.0.0. SPSS INC., Chicago, IL, USA).



## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS**

---



## 1. Descripción de la población

### 1.1. Características basales

La Tabla VIII muestra las características generales basales de los sujetos de ambos grupos experimentales: Grupo Ubiquinol y Grupo Placebo. Como se puede apreciar en la citada tabla, la población estudiada no muestra diferencias significativas entre los dos grupos objeto de estudio respecto a las variables edad, talla, peso, presión arterial sistólica (SBP), presión arterial diastólica (DBP) y frecuencia cardiaca basal (FC), observándose, por tanto, homogeneidad en los mismos.

Tabla VIII. Características basales de los sujetos experimentales.

	Edad (a)	Talla (cm)	Peso (kg)	SBP (mmHg)	DBP(mmHg)	FC (ppm)
<b>Ubiquinol</b>	38.9 ± 8.7	175.4 ± 5.0	76.8 ± 8.9	137.03 ± 13.35	81.42 ± 9.48	57.38 ± 10.35
<b>Placebo</b>	38.2 ± 7.7	174.4 ± 7.6	74.8 ± 9.8	134.11 ± 13.16	79.08 ± 11.40	57.14 ± 9.22

Los datos son Medias ± DS. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

### 1.2. Valoración nutricional y de actividad física

El análisis nutricional de la ingesta dietética de cuatro días no reveló diferencias significativas entre grupos con respecto a la ingesta de macro y micronutrientes (Tabla IX), observándose homogeneidad en ambos grupos experimentales.

Respecto a los resultados obtenidos en el cuestionario de actividad física (IPAQ-SF) tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos (Tabla X). Partiendo de los resultados obtenidos en el cuestionario, los sujetos de ambos grupos experimentales fueron catalogados como “Health Enhancing Physical Activity” (HEPA Active): CATEGORÍA 3, el umbral de medida más alto de actividad física total del cuestionario.

Tabla IX. Resultados del análisis nutricional de macro y micronutrientes.

	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

Los datos son Medias ± DS. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

Tabla X. Resultados del Cuestionario Internacional de Actividad Física-Versión Corta (IPAQ-SF).

	Ubiquinol	Placebo
<b>Actividad física vigorosa (días/semana)</b>	3.5 ± 1.5	3.3 ± 1.3
<b>Actividad física vigorosa (min/día)</b>	100.8 ± 47.0	98.0 ± 43.2
<b>Actividad física moderada (días/semana)</b>	3.6 ± 1.8	3.2 ± 1.7
<b>Actividad física moderada (min/día)</b>	88.6 ± 50.1	75.0 ± 33.3
<b>Caminatas (días/semana)</b>	4.3 ± 1.3	4.0 ± 1.5
<b>Caminatas (min/día)</b>	66.4 ± 44.9	52.7 ± 28.4
<b>Tiempo sentado (min/día)</b>	193.6 ± 83.2	190.2 ± 77.5

Los datos son Medias ± DS. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

### 1.3. Análisis de impedancia bioeléctrica

El análisis de impedancia bioeléctrica no reveló diferencias significativas entre grupos respecto a las variables analizadas: IMC, metabolismo basal, % masa grasa, masa grasa, masa magra y agua (Tabla XI), observándose, nuevamente, homogeneidad en los mismos.



Tabla XI. Resultados Análisis de Impedancia Bioeléctrica.

	Ubiquinol	Placebo
<b>IMC</b>	25.0 ± 2.6	25.0 ± 2.9
<b>Metabolismo Basal (kcal)</b>	1741.75 ± 151.41	1777.75 ± 214.23
<b>Impedancia (<math>\Omega</math>)</b>	471.31 ± 47.44	483.94 ± 42.56
<b>% Masa grasa</b>	18.10 ± 3.61	17.81 ± 4.61
<b>Masa grasa (kg)</b>	13.74 ± 3.64	14.16 ± 6.21
<b>Masa magra (kg)</b>	61.63 ± 6.11	62.64 ± 7.87
<b>Agua (kg)</b>	45.09 ± 4.47	45.87 ± 5.75

Los datos son Medias  $\pm$  DS. \*Diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p < 0.05$ ).

## 2. Marcadores bioquímicos de estrés oxidativo

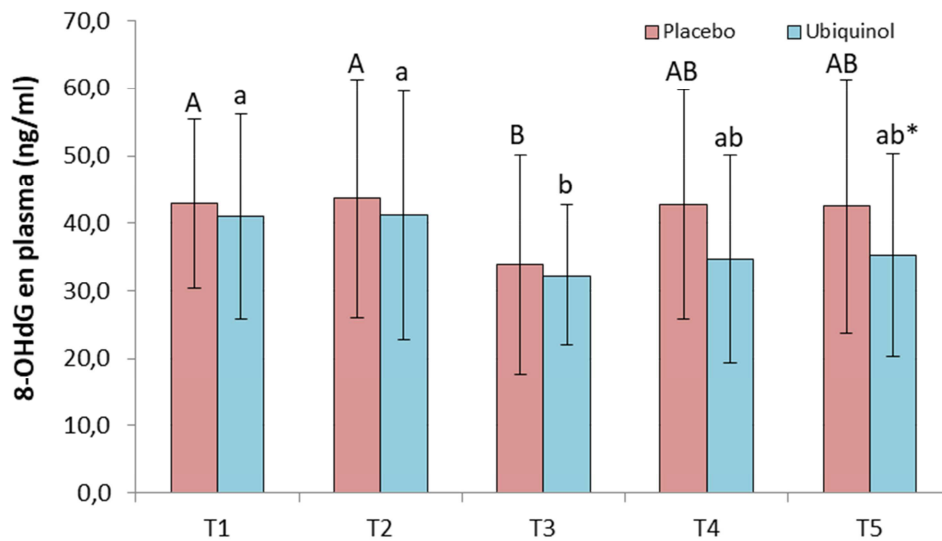
### 2.1. Daño oxidativo en plasma

#### 2.1.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)

El siguiente gráfico (Figura 28) muestra la concentración de 8-OHdG en ambos grupos (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra: T1 (Estado inicial), T2 (Estado tras suplementación), T3 (Estado tras primera sesión de ejercicio intenso: E1), T4 (Estado tras 24 h de descanso) y T5 (Estado tras segunda sesión de ejercicio intenso: E2).

En ambos grupos, la menor concentración de 8-OHdG se obtuvo en T3, tras la primera sesión de ejercicio intenso (E1), siendo los valores obtenidos en T3 significativamente menores ( $p < 0.05$ ) a los obtenidos en T1 y T2 en cada grupo. Entre grupos se observa un menor valor en el grupo suplementado en la toma T5, tras la segunda sesión de ejercicio (E2), con diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ) en relación a los valores encontrados en el grupo no suplementado.

Figura 28. Gráfico concentración de 8-OHdG en plasma (ng/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

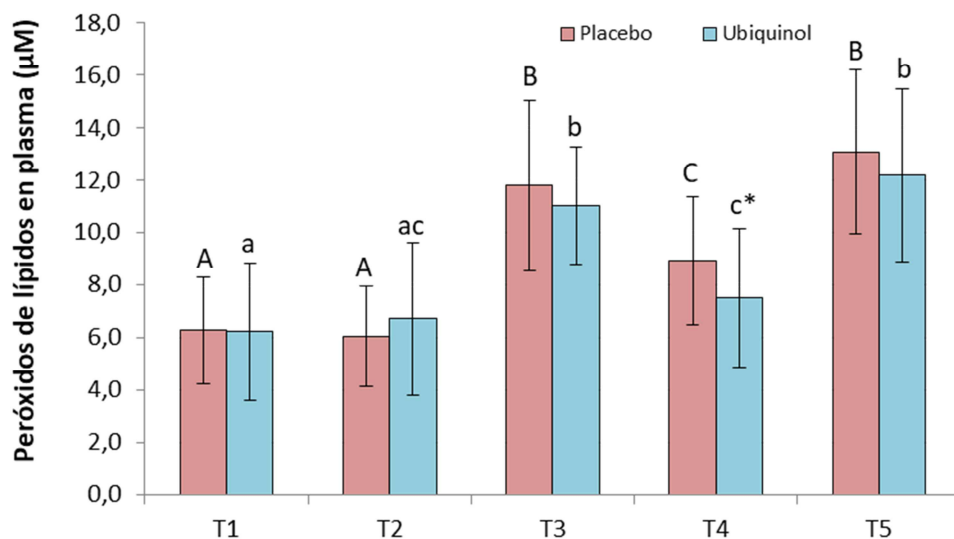
### 2.1.2. Peróxidos de lípidos

El siguiente gráfico (Figura 29) muestra la concentración de peróxidos de lípidos en ambos grupos (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra: T1 (Estado inicial), T2 (Estado tras suplementación), T3 (Estado tras primera sesión de ejercicio intenso: E1), T4 (Estado tras 24 h de descanso) y T5 (Estado tras segunda sesión de ejercicio intenso: E2).

Respecto a la evolución intragrupo, en ambos grupos experimentales aparece un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en los valores registrados en T3 y T5, tras la realización de ambas sesiones de ejercicio (E1 y E2); y en T4, con respecto a T1 en los dos, y respecto a T2 sólo en el grupo placebo, mientras que en el grupo suplementado con ubiquinol no hubo diferencias significativas entre T4 y T2.

Entre ambos grupos experimentales, la única diferencia significativa observada ( $p < 0.05$ ) ha sido en la muestra T4, tras el período de descanso de 24 h, con un valor más bajo registrado en el grupo suplementado con ubiquinol.

Figura 29. Gráfico concentración de peróxidos de lípidos en plasma ( $\mu\text{M}$ ) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

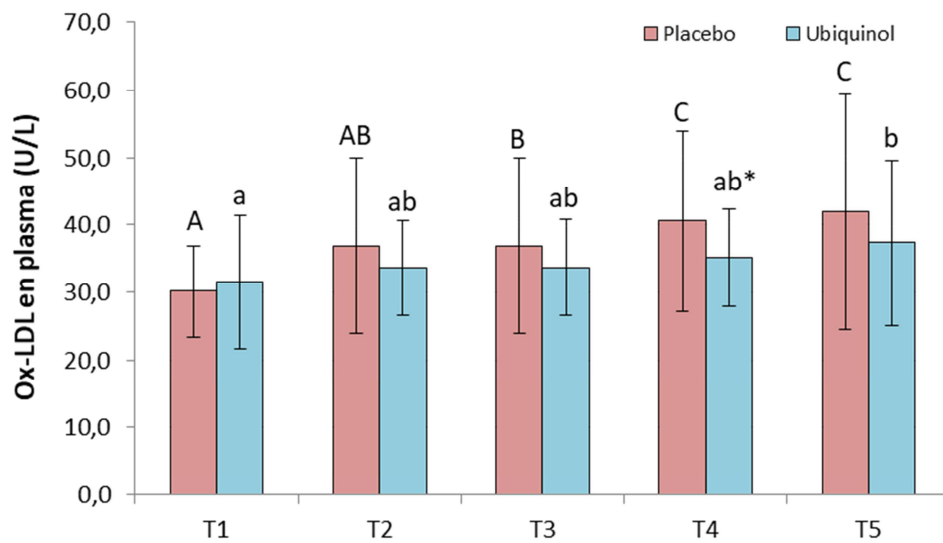
### 2.1.3. LDL-oxidada

La Figura 30 expone el gráfico de los valores de Ox-LDL registrados en ambos grupos (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

En el grupo placebo, los valores obtenidos en T4 y T5 son significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) a los obtenidos en T1, T2 y T3. Además, en este grupo se observa un mayor valor ( $p < 0.05$ ) en T3 respecto a T1 (valores basales). Sin embargo, en el grupo ubiquinol, la tendencia difiere, registrándose, únicamente, un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T5 respecto a T1.

Entre ambos grupos experimentales, los valores obtenidos en el grupo de intervención (ubiquinol) son significativamente menores ( $p < 0.05$ ) en T4, tras el período de descanso de 24 h.

Figura 30. Gráfico concentración de LDL-oxidada en plasma (U/l) en cada toma de muestra.



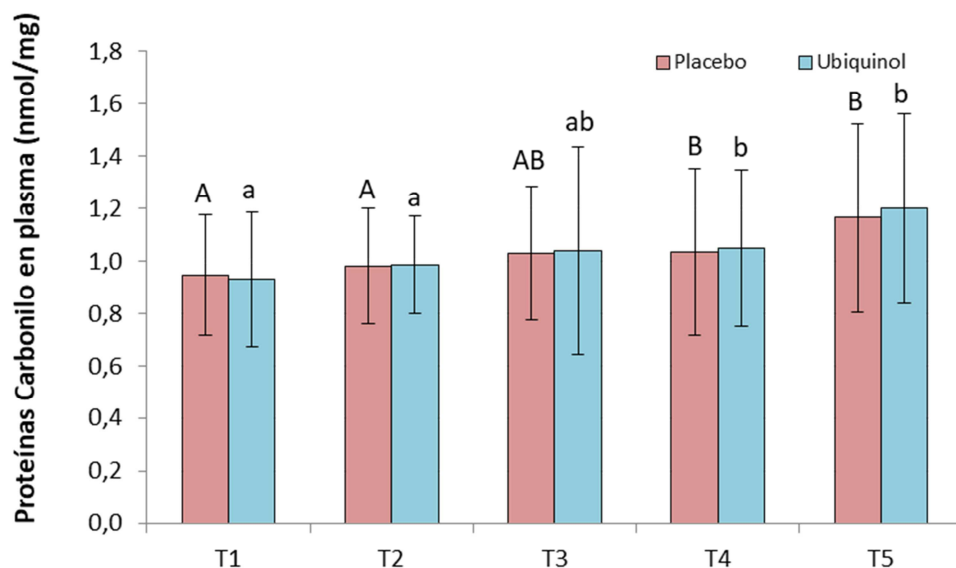
Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

#### 2.1.4. Proteínas Carbonilo

El siguiente gráfico (Figura 31) presenta los valores de PC obtenidos en cada toma de muestra en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol).

En ambos grupos experimentales se observó una tendencia similar, con un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) del contenido de grupos carbonilo en las muestras T4 y T5 con respecto a las tomas T1 y T2. Entre ambos grupos experimentales, no se observaron diferencias significativas en ningún punto.

Figura 31. Gráfico concentración de Proteínas Carbonilo en plasma (nmol/mg) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

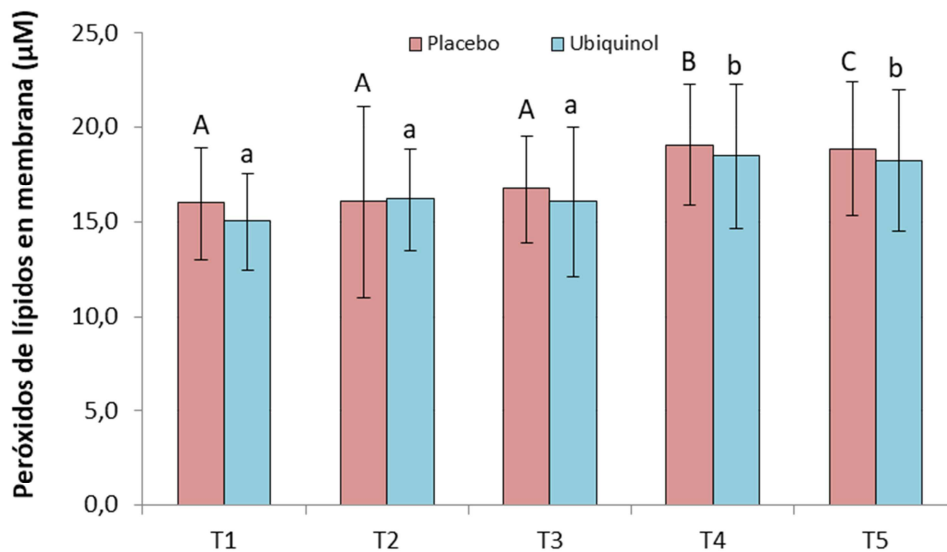
## 2.2. Daño oxidativo en membrana de eritrocitos

### 2.2.1. Peróxidos de lípidos

La Figura 32 muestra el gráfico de los valores de peróxidos de lípidos en membrana de eritrocitos registrados en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

Entre ambos grupos experimentales no se observaron diferencias significativas, y en los dos grupos se registró un mayor contenido de peróxidos en las tomas T4 y T5, siendo estos valores significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) respecto al resto de tomas (T1, T2 y T3). En el grupo placebo se observa un aumento estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) en T4 respecto a T5, mientras que en el grupo ubiquinol no se produjo este aumento.

Figura 32. Gráfico concentración de peróxidos de lípidos en membrana de eritrocitos ( $\mu\text{M}$ ) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

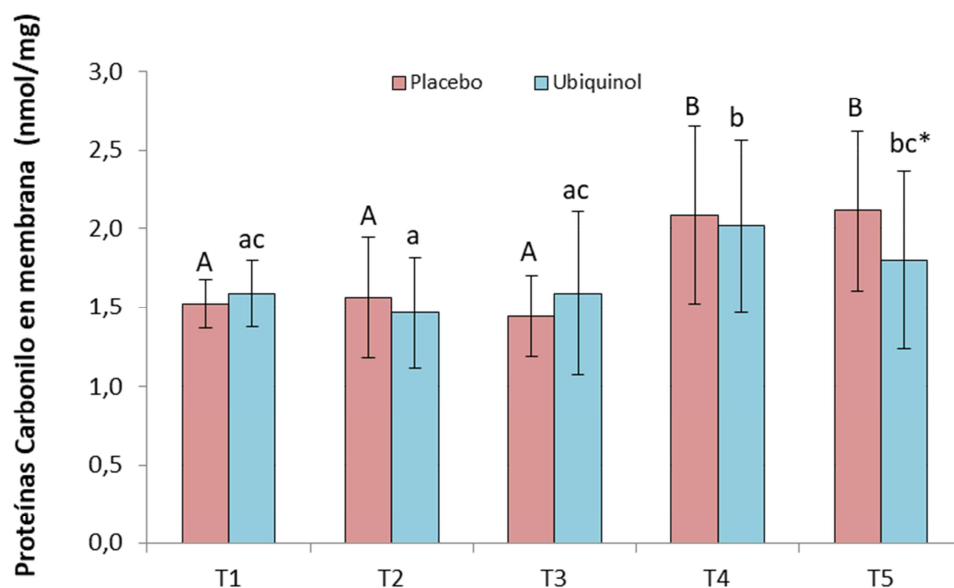
### 2.2.2. Proteínas carbonilo (PC)

El siguiente gráfico (Figura 33) expone los valores de PC en membrana de eritrocitos obtenidos en cada toma de muestra en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol).

En el grupo suplementado con ubiquinol, los valores obtenidos en T4 son significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) a los registrados en T1, T2 y T3, mientras que los registros en T5 sólo son mayores ( $p < 0.05$ ) respecto a T2. En el grupo placebo, en cambio, se observaron incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en las tomas T4 y T5 (valores más altos) respecto a los valores encontrados en las tomas T1, T2 y T3.

Entre ambos grupos experimentales, sólo se observaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en T5, tras la realización de la segunda sesión de ejercicio intenso (E2), siendo menores los valores registrados en el grupo suplementado con ubiquinol.

Figura 33. Gráfico concentración de proteínas carbonilo en membrana de eritrocitos (nmol/mg) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

### 2.3. Daño oxidativo en orina

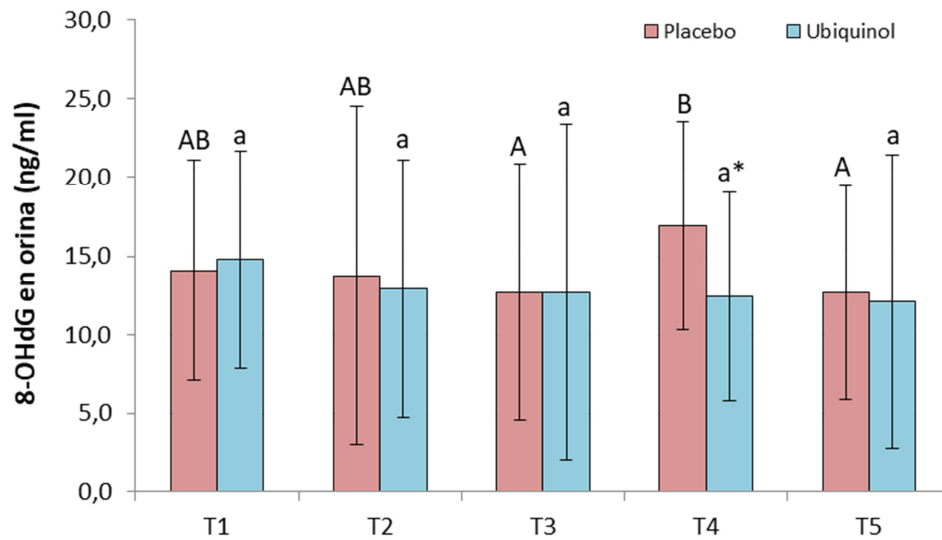
#### 2.3.1. 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG)

El siguiente gráfico (Figura 34) muestra la concentración de 8-OHdG en orina en ambos grupos (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

En el grupo de intervención (ubiquinol) no se observaron diferencias significativas entre las distintas tomas de muestra. En cambio, en el grupo control (placebo), los valores más altos se registraron en T4, tras el período de 24 h de descanso, siendo significativo ( $p < 0.05$ ) este incremento respecto a T3 y T5.

Entre ambos grupos experimentales, se registró una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol en T4, no observándose diferencias entre ambos grupos en el resto de tomas de muestra.

Figura 34. Gráfico concentración de 8-OHdG en orina (ng/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

### 2.3.2. Isoprostanos

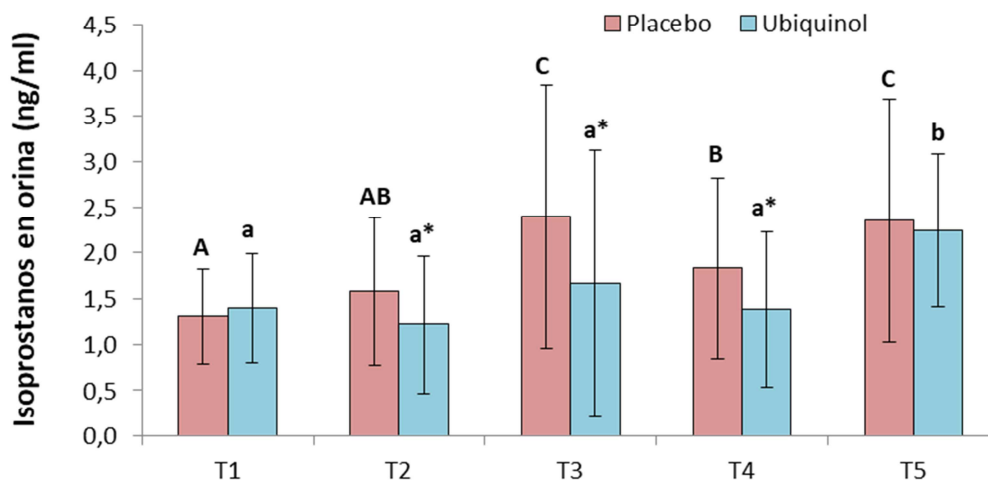
La Figura 35 muestra el gráfico de los valores de isoprostanos (15-F2t) en orina registrados en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

En el grupo ubiquinol, se observó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T5, tras la realización de E2, respecto al resto de tomas (T1, T2, T3 y T4). En el grupo control (placebo), las mayores concentraciones de isoprostanos fueron registradas tras la realización de cada una de las sesiones de ejercicio intenso, E1 y E2, T3 y T5 respectivamente, que fueron valores significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) a los obtenidos en el resto de tomas (T1, T2 y T4); además, los valores obtenidos en T4 son, igualmente, significativamente mayores ( $p < 0.05$ ) a los obtenidos en T1.

En cuanto a las diferencias entre grupos, en el grupo ubiquinol se registraron disminuciones significativas ( $p < 0.05$ ) respecto al placebo en T2, tras el período de suplementación, y en T3 y T4, tras E1 y después del período de 24 h de descanso respectivamente.



Figura 35. Gráfico concentración de Isoprostanos (15-F2t) en orina (ng/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

### 3. Marcadores bioquímicos de defensa antioxidante

#### 3.1. Capacidad antioxidativa plasmática total (ORAC)

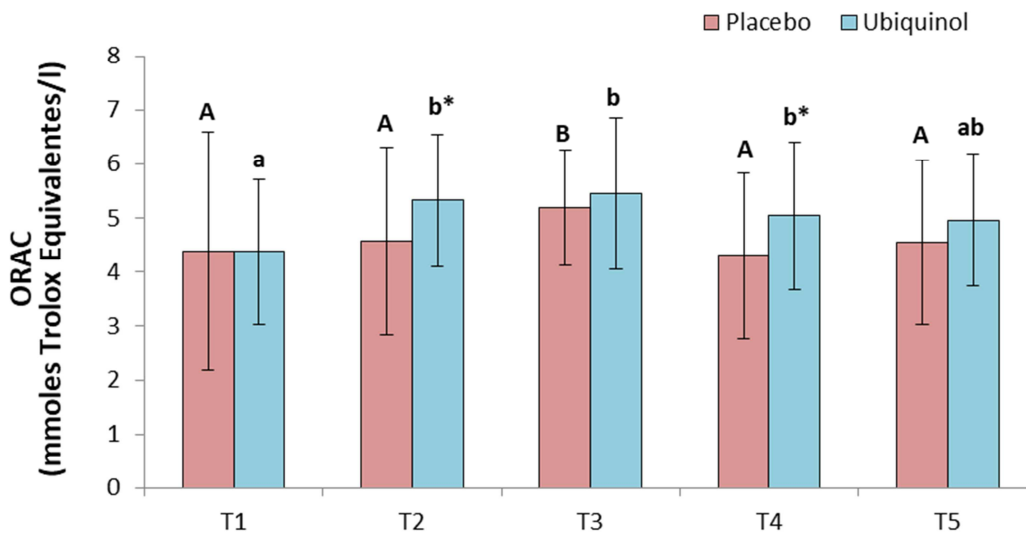
El siguiente gráfico (Figura 36) muestra la capacidad antioxidativa plasmática total mediante el método ORAC en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

En el grupo placebo, se observó una capacidad antioxidante máxima en T3, después de realizar la primera sesión de ejercicio (E1), con diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) respecto al resto de tomas (T1, T2, T4 y T5). En el grupo suplementado (ubiquinol), se observó una mayor capacidad antioxidante ( $p < 0.05$ ) en las muestras T2, T3 y T4, en comparación con T1 (estado inicial).

Respecto al análisis comparativo entre grupos experimentales, en ambos grupos se obtuvieron valores promedio muy similares en T1, sin embargo, se observó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo suplementado (ubiquinol) en

comparación con el grupo control (placebo) en T2, tras el período de suplementación, y en T4, tras el período de descanso de 24 h.

Figura 36. Gráfico capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC) (mmoles de Trolox equivalentes/l) en cada toma de muestra en plasma.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

### 3.2. Antioxidantes liposolubles en plasma (Retinol, $\beta$ -caroteno, Tocoferol, Coenzima Q9 y Coenzima Q10)

En cuanto a los valores referentes a vitaminas antioxidantes liposolubles en plasma (Tabla XII), no se obtuvieron diferencias significativas entre ambos grupos en los resultados obtenidos en Retinol y  $\beta$ -caroteno en las distintas tomas de muestra.

Atendiendo a los valores de Retinol obtenidos en cada grupo, en el grupo ubiquinol no se apreciaron diferencias intragrupo entre las distintas tomas de muestra, sin embargo, en el grupo control (placebo) se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T3, tras la realización de E1, respecto al resto de tomas (T1, T2, T4 y T5).

En referencia a los valores de  $\beta$ -caroteno, en el grupo placebo se detectó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T4, tras el descanso de 24 h, respecto a los valores

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

de T1 y T2, y en T5 respecto a T2, mientras que en el grupo ubiquinol sólo se apreció un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T5, tras la realización de la segunda sesión de ejercicio intenso (E2), en relación a los resultados obtenidos en T2.

Tabla XII. Efecto del ejercicio y la suplementación con ubiquinol sobre antioxidantes liposolubles en plasma.

	T1	T2	T3	T4	T5
<b>Retinol (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>					
Placebo	$1.2 \pm 0.2^A$	$1.1 \pm 0.3^A$	$1.3 \pm 0.4^B$	$1.1 \pm 0.3^A$	$1.1 \pm 0.5^A$
Ubiquinol	$1.2 \pm 0.3^a$	$1.2 \pm 0.3^a$	$1.2 \pm 0.3^a$	$1.1 \pm 0.3^a$	$1.1 \pm 0.3^a$
<b><math>\beta</math>-caroteno (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>					
Placebo	$0.6 \pm 0.3^{AC}$	$0.5 \pm 0.2^A$	$0.6 \pm 0.4^{ABC}$	$0.7 \pm 0.3^B$	$0.7 \pm 0.4^{CB}$
Ubiquinol	$0.5 \pm 0.4^{ab}$	$0.5 \pm 0.3^a$	$0.6 \pm 0.3^{ab}$	$0.6 \pm 0.3^{ab}$	$0.7 \pm 0.4^b$
<b>Tocoferol (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>					
Placebo	$11.6 \pm 2.7^A$	$10.7 \pm 2.6^A$	$11.5 \pm 3.5^A$	$10.5 \pm 3.7^A$	$8.6 \pm 2.0^B$
Ubiquinol	$11.6 \pm 4.0^{ab}$	$12.7 \pm 3.7^{a*}$	$11.3 \pm 3.8^{ab}$	$11.3 \pm 3.7^{ab}$	$10.0 \pm 3.2^{b*}$
<b>Coenzima Q9 (ng/ml)</b>					
Placebo	$26.5 \pm 14.9^{AB}$	$25.3 \pm 19.9^{AB}$	$23.9 \pm 13.8^A$	$33.6 \pm 17.6^B$	$33.0 \pm 33.7^{AB}$
Ubiquinol	$28.1 \pm 19.3^a$	$37.4 \pm 27.4^{ab*}$	$31.0 \pm 19.8^a$	$46.8 \pm 34.1^{b*}$	$36.1 \pm 23.3^{ab}$
<b>Coenzima Q10 (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>					
Placebo	$0.9 \pm 0.2^A$	$0.9 \pm 0.4^A$	$0.9 \pm 0.4^A$	$1.1 \pm 0.4^B$	$0.9 \pm 0.4^{AB}$
Ubiquinol	$0.9 \pm 0.3^a$	$4.5 \pm 2.0^{b*}$	$4.0 \pm 1.3^{bc*}$	$3.5 \pm 1.6^{c*}$	$2.9 \pm 1.1^{d*}$

Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

Con respecto a los resultados obtenidos en Tocoferol, en el grupo ubiquinol se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T2, tras el período de suplementación, en comparación con los valores obtenidos en T5, tras la realización de E2; mientras que en el grupo placebo se obtuvo una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en T5, tras E2, respecto a los resultados obtenidos en el resto de tomas de muestra (T1, T2, T3 y T4). Entre ambos grupos, el grupo Ubiquinol registró incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en T2, tras el período de suplementación, y T5, tras completar la segunda sesión de ejercicio intenso (E2), en comparación con el grupo Placebo.

Atendiendo a los valores obtenidos en CoQ9, el valor más alto en el grupo placebo se obtuvo en T4, tras el período de descanso de 24 h, el cual resultó estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a los valores registrados en T3, tras la realización de la primera sesión de ejercicio intenso (E1). En el grupo suplementado

con Ubiquinol, los valores más altos se obtuvieron, igualmente, en T4, tras el descanso, siendo este incremento significativo en comparación con los resultados de T1 y T3. Al comparar los resultados entre ambos grupos, se registraron incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol tanto en T2, tras finalizar el período de suplementación, como en T4, tras el descanso de 24 h.

Finalmente, en cuanto a los valores referentes a CoQ10 en plasma, en el grupo placebo se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T4 respecto a los valores en T1, T2 y T3, mientras que en el grupo ubiquinol, el valor más alto corresponde a T2, tras el período de suplementación de 2 semanas, el cual es estadísticamente significativo respecto a T1, T4 y T5. Por otro lado, en el grupo ubiquinol, el valor más bajo fue registrado en T1, el cual resultó significativo al ser comparado con el resto de tomas (T2, T3, T4 y T5). Entre ambos grupos experimentales, como era de esperar, se registraron incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol respecto al placebo en T2, T3, T4 y T5.

### **3.3. Antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos (Vitamina E y Coenzima Q10)**

En referencia a los resultados obtenidos en antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos (Tabla XIII), en Vitamina E, la evolución de ambos grupos experimentales es similar, en el grupo ubiquinol se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T3 y T4 respecto a T2, mientras que en el grupo placebo, igualmente, se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T3 y T4 respecto a T2 y, además, T5, sin embargo, al comparar los resultados entre ambos grupos, se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol en T5, tras completar la segunda sesión de ejercicio intenso (E2).

Atendiendo a los valores registrados en CoQ10, en el grupo placebo se obtuvo un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T3 respecto a T1, T2 y T5, y en T4 respecto a T5, sin embargo, la evolución en el grupo ubiquinol fue distinta, registrándose incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en T2 respecto a T1, en T3 respecto a T1, T2 y T5, y en T5 respecto a T1. Como era de esperar, al comparar los resultados entre ambos grupos, se registraron incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol en T2, T3, T4 y T5.

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Tabla XIII. Efecto del ejercicio y la suplementación con ubiquinol sobre antioxidantes liposolubles de membrana de eritrocitos.

	T1	T2	T3	T4	T5
<b>Vitamina E (µg/ml)</b>					
Placebo	0.5 ± 0.3 <sup>AB</sup>	0.4 ± 0.1 <sup>A</sup>	0.6 ± 0.2 <sup>B</sup>	0.5 ± 0.2 <sup>B</sup>	0.3 ± 0.1 <sup>C</sup>
Ubiquinol	0.5 ± 0.2 <sup>ab</sup>	0.4 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.2 <sup>ab*</sup>
<b>Coenzima Q10 (µg/ml)</b>					
Placebo	31.5 ± 16.7 <sup>AC</sup>	29.9 ± 11.0 <sup>AC</sup>	40.9 ± 18.7 <sup>B</sup>	34.5 ± 12.9 <sup>AB</sup>	27.6 ± 9.8 <sup>C</sup>
Ubiquinol	31.4 ± 15.3 <sup>a</sup>	41.7 ± 15.6 <sup>b*</sup>	53.0 ± 28.6 <sup>c*</sup>	43.0 ± 17.8 <sup>bc*</sup>	39.3 ± 17.7 <sup>b*</sup>

Los resultados se expresan como Media ± Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

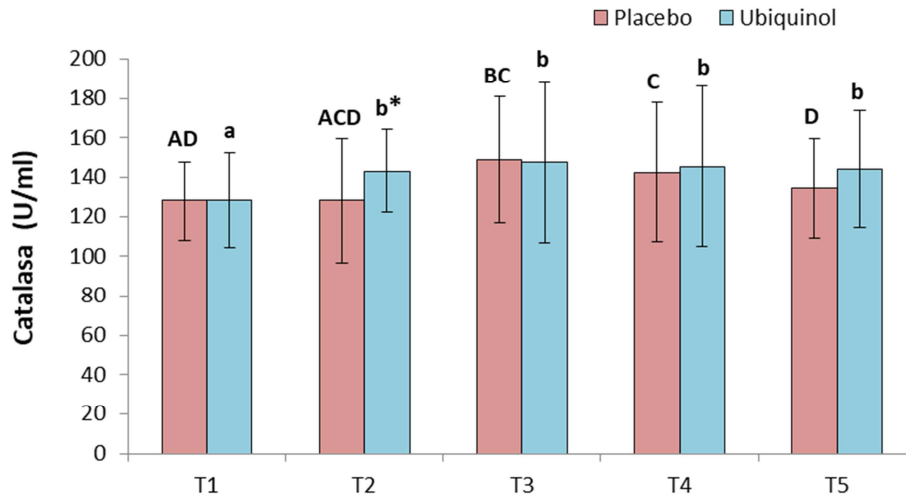
### 3.4. Enzimas citosólicas antioxidantes (CAT, SOD y GPx)

El siguiente gráfico (Figura 37) muestra la concentración de catalasa (CAT) en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

En el grupo control (placebo), los valores más altos se registraron en T3 y T4, tras la realización de E1 y tras el descanso de 24 h respectivamente, cuyo incremento es significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a T1 y T5. En cambio, en el grupo de intervención (ubiquinol), los valores obtenidos en T2, T3, T4 y T5 son mayores ( $p < 0.05$ ) respecto a los valores de T1. En el grupo control, después de finalizar la segunda sesión de ejercicio (T5) se observó una disminución ( $p < 0.05$ ) en la actividad de CAT respecto a T3 y T4, mientras que esta tendencia no se observó en el grupo suplementado.

Las diferencias entre los grupos se observaron en la toma T2, justo después de finalizar la suplementación, con un valor más alto en el grupo suplementado ( $p < 0.05$ ).

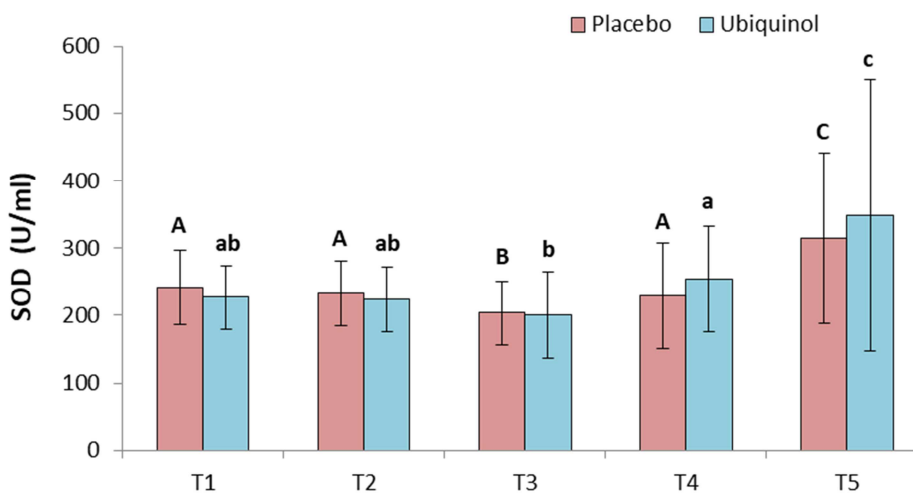
Figura 37. Gráfico catalasa citosólica (U/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

En ambos grupos se observó una tendencia similar para la actividad citosólica de SOD, con una disminución ( $p < 0.05$ ) de la actividad de esta enzima en la muestra T3, aunque en el grupo ubiquinol no fue significativa respecto a T1 y T2, y un aumento ( $p < 0.05$ ) en T5, justo después de la segunda sesión (E2); no obstante, no se encontraron diferencias entre ambos grupos (Figura 38).

Figura 38. Gráfico superóxido dismutasa citosólica (U/ml) en cada toma de muestra.

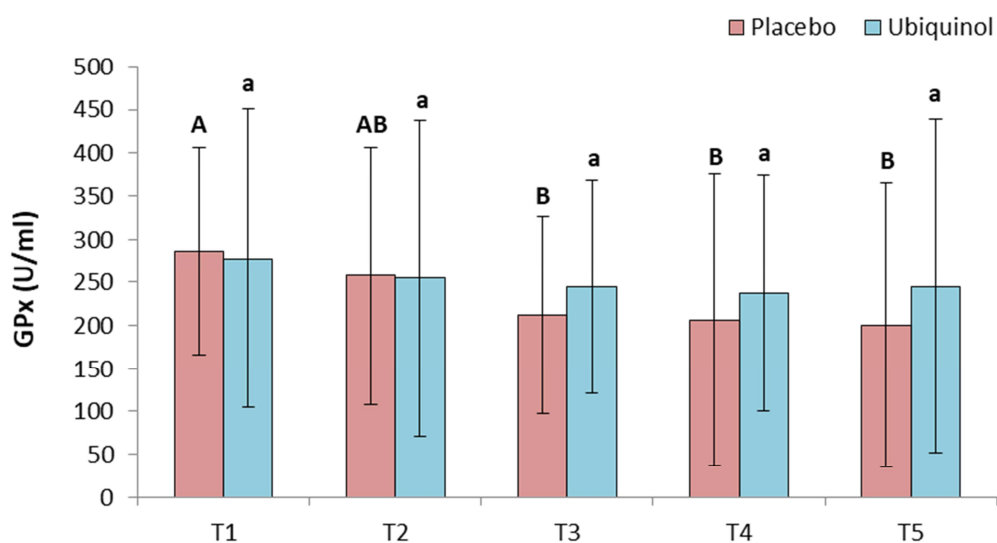


Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

Respecto a los resultados obtenidos en GPx (Figura 39), no se registraron diferencias significativas en el grupo ubiquinol, sin embargo, en el grupo placebo los valores de T3, T4 y T5 resultaron significativamente ( $p < 0.05$ ) menores respecto a T1.

Entre ambos grupos experimentales, no se registraron diferencias significativas en ningún punto.

Figura 39. Gráfico glutatión peroxidasa (U/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

## 4. Marcadores bioquímicos de daño muscular

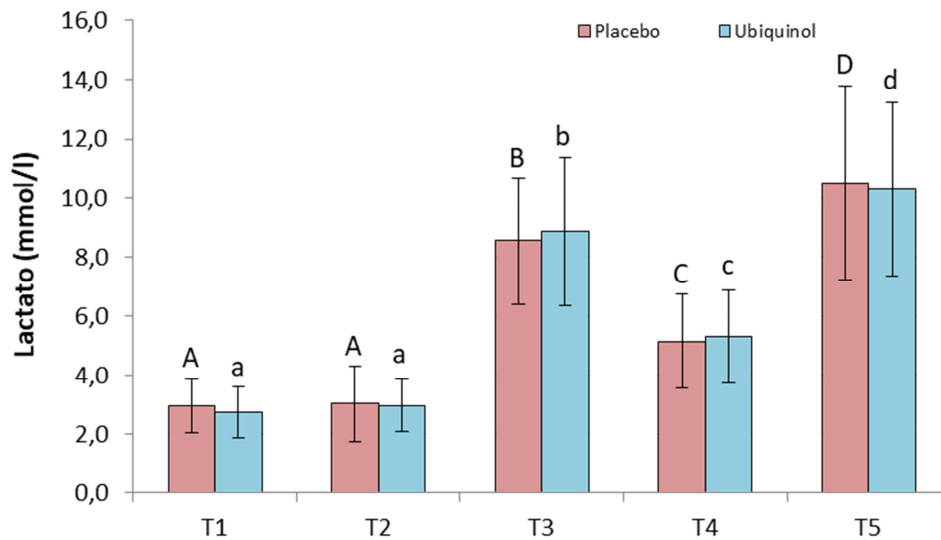
### 4.1. Lactato (Lac)

La Figura 40 muestra el gráfico de la concentración de lactato (Lac) en ambos grupos experimentales (ubiquinol y placebo) en cada toma de muestra.

Ambas sesiones de ejercicio (E1 y E2) aumentaron los niveles de lactato en ambos grupos (T3 y T5), aunque no se registraron diferencias significativas entre los

dos grupos. La concentración de lactato más alta se obtuvo después de completar la segunda sesión de ejercicio (T5) en ambos grupos, y resultó estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con las restantes tomas en cada grupo, al igual que el incremento ( $p < 0.05$ ) en T3 respecto a T1, T2 y T4.

Figura 40. Gráfico lactato (mmol/l) en cada toma de muestra.



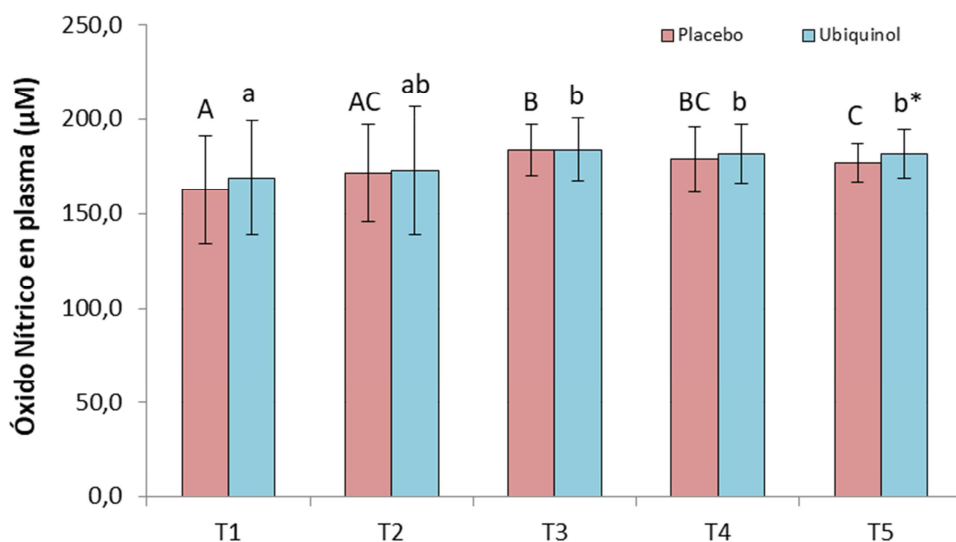
Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

## 4.2. Óxido Nítrico (NO)

Con respecto al NO (Figura 41), se registraron mayores concentraciones ( $p < 0.05$ ) después de la primera sesión de ejercicio (E1) en ambos grupos (T3) con respecto a T1, y T2 en el grupo placebo. Sin embargo, en el grupo control (placebo), el NO disminuyó progresivamente de esta muestra a las siguientes (T4 y T5), mostrando una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en T5 en comparación con T3. En contraste, el grupo suplementado (ubiquinol) mantuvo niveles elevados que exhibían diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) respecto al grupo placebo en T5, tras finalizar la segunda sesión de ejercicio intenso (E2).



Figura 41. Gráfico óxido nítrico (NO) ( $\mu\text{M}$ ) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

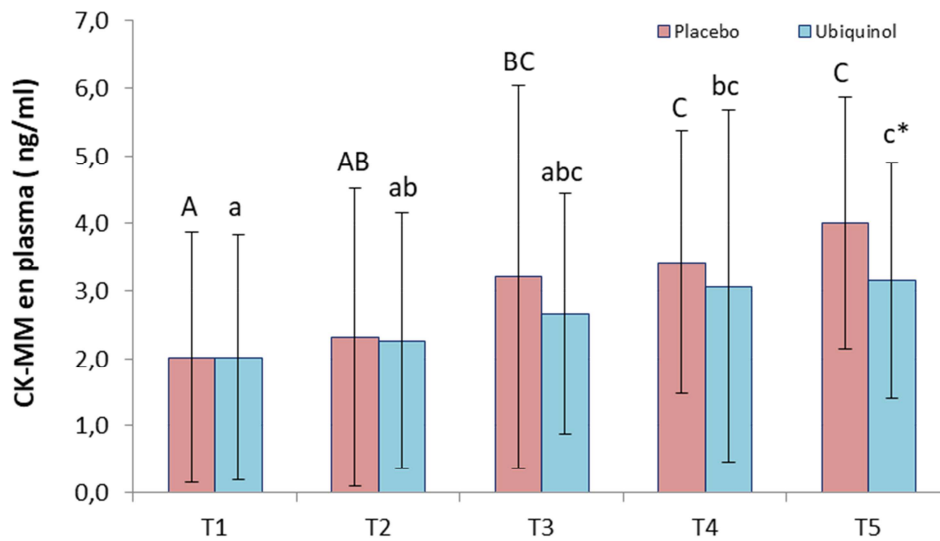
### 4.3. Isoforma de la creatina quinasa asociada al músculo esquelético (CK-MM)

El siguiente gráfico (Figura 42) muestra la concentración de CK-MM en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

Las concentraciones más altas de CK-MM en ambos grupos, se obtuvieron en T5, siendo este aumento significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a T1 (estado inicial) y T2 (tras finalizar el período de suplementación). Por otro lado, en ambos grupos, el incremento registrado en T3, tras finalizar la primera sesión (E1), resultó ser significativo en comparación con T1; igualmente, en el grupo placebo se produjo un incremento en T4, tras el descanso de 24 h, que resultó significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a T1 y T2, mientras que en el grupo ubiquinol sólo fue significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a T1.

Entre ambos grupos experimentales solamente se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol en comparación con el placebo en T5, tras completar la segunda sesión de ejercicio (E2).

Figura 42. Gráfico CK-MM (ng/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0,05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0,05$ ).

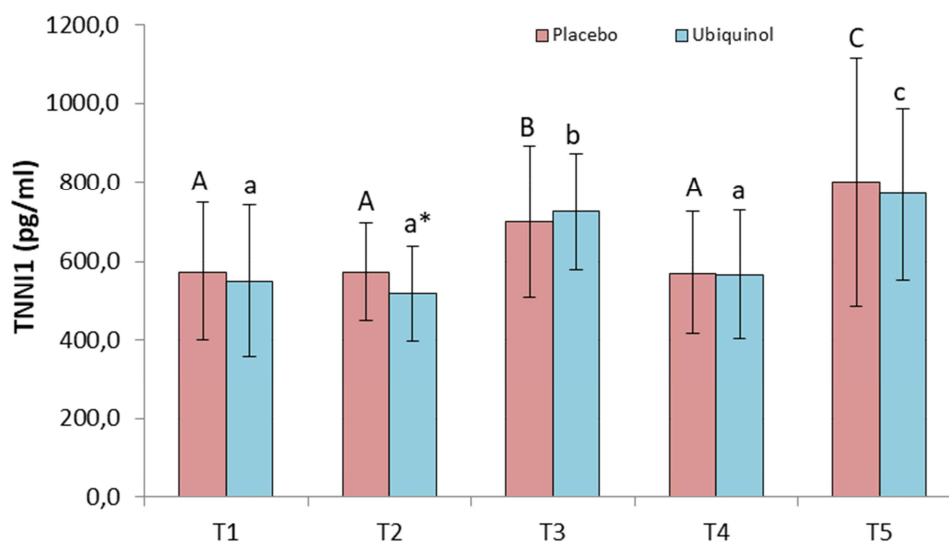
#### 4.4. TNNI1 y TNNI2

Los siguientes gráficos (Figura 43 y 44) muestran la concentración de TNNI1 y TNNI2, respectivamente, en ambos grupos experimentales (placebo y ubiquinol) en cada toma de muestra.

En referencia a los valores de TNNI1, la evolución en cada grupo experimental fue similar, registrándose los valores más altos en T5 y T3, respectivamente, en ambos grupos. Tras la realización de la segunda sesión de esfuerzo (T5), en ambos grupos se registró el mayor incremento, que fue significativo ( $p < 0,05$ ) con el resto de tomas (T1, T2, T3 y T4), mientras que el incremento en T3 sólo fue estadísticamente significativo ( $p < 0,05$ ) respecto a T1, T2 y T4, en ambos grupos.

Entre ambos grupos, en el grupo ubiquinol se observó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ), en comparación con el grupo Placebo, después del período de suplementación (T2).

Figura 43. Gráfico TNNI1 (pg/ml) en cada toma de muestra.

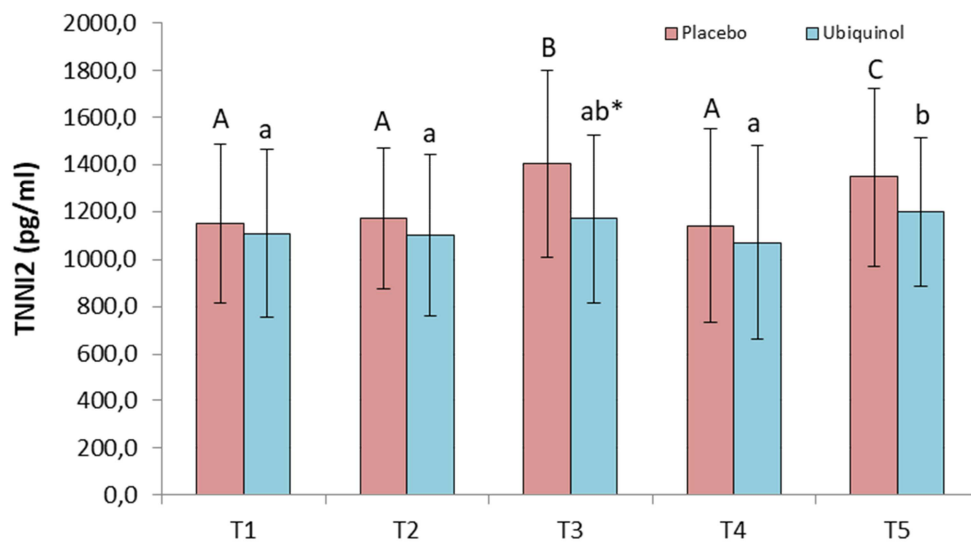


Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

En cuanto a los valores de TNNI2, la evolución en cada grupo difiere, ya que en el grupo placebo, la concentración más alta tuvo lugar en T3, tras finalizar E1, cuyo incremento fue significativo ( $p < 0.05$ ) respecto al resto de muestras (T1, T2, T4 y T5), mientras que el incremento registrado en T5, tras finalizar E2, también fue significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a T1, T2 y T4. Sin embargo, en el grupo ubiquinol, la concentración más alta se registró tras finalizar la segunda sesión de ejercicio (T5), cuyo incremento fue significativo ( $p < 0.05$ ) en comparación con el resto de tomas, excepto en T3, tras finalizar E1.

Entre ambos grupos, se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol, en comparación con el placebo, en la toma T3, tras completar la primera sesión de ejercicio intenso (E1).

Figura 44. Gráfico TNNI2 (pg/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

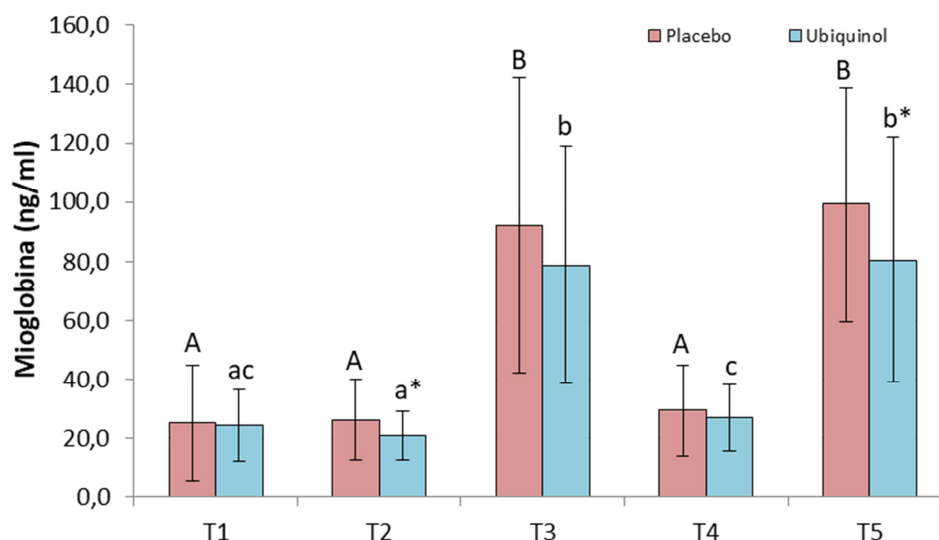
#### 4.5. Mioglobina (MB)

Finalmente, la Figura 45 muestra el gráfico de la concentración de mioglobina (MB) en ambos grupos experimentales (ubiquinol y placebo) en cada toma de muestra.

En cada grupo, la evolución en la concentración de MB fue similar, ya que en ambos grupos se registró el mayor incremento en T3 y T5, tras finalizar ambas sesiones de ejercicio (E1 y E2), siendo estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a T1, T2 y T4. También se obtuvo un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en T4 en el grupo ubiquinol, tras el período de descanso de 24 h, en comparación con T2, mientras que en el grupo placebo no se produjo.

Al comparar ambos grupos experimentales, se observó una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol, comparado con el placebo, en T5, tras finalizar la segunda sesión de ejercicio (E2) y, además, en T2, después del período de suplementación.

Figura 45. Gráfico concentración de mioglobina (ng/ml) en cada toma de muestra.



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

## 5. Parámetros de rendimiento

### 5.1. Carga, número de repeticiones y percepción del esfuerzo

La siguiente figura (Figura 46) muestra el gráfico de los resultados promedio en carga desplazada (kg) de los 10 ejercicios realizados en cada una de las series (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio físico intenso (E1 y E2).

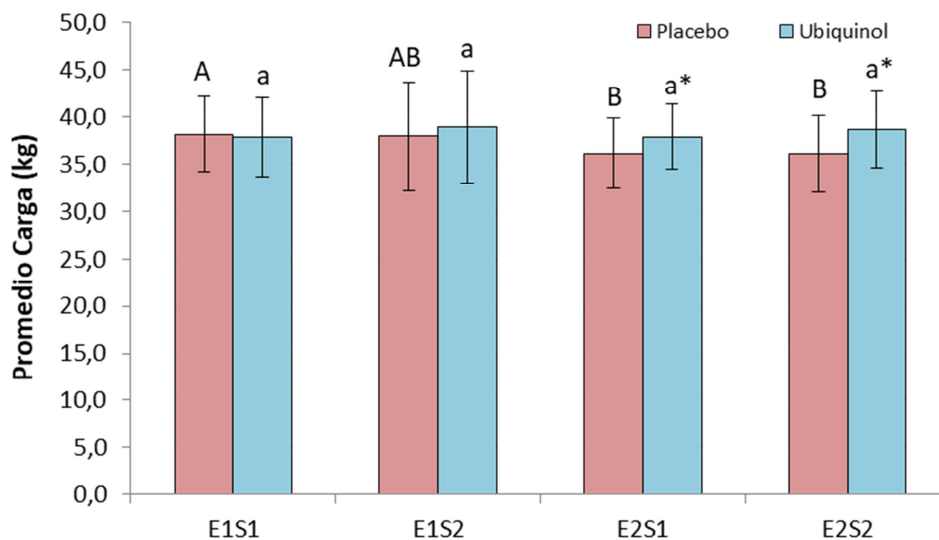
Es necesario recordar en este punto que, en ambos grupos experimentales, la carga mínima inicial ajustada (60-70% de 1RM) en cada ejercicio del circuito, en base a los valores de esfuerzo percibido en la escala OMNI-RES entre 6 y 7 (Robertson et al., 2003) y 10 repeticiones, durante la sesión inicial de preparación, fue la misma, pero como se le proporcionó a los sujetos la posibilidad de aumentar dicha carga mínima, por tanto, existen diferencias en relación al peso desplazado (kg).

En el grupo suplementado (ubiquinol) no se registraron diferencias significativas intragrupo en el transcurso de cada serie en ambas sesiones de ejercicio,

sin embargo, en el grupo control (placebo), en ambas series de la segunda sesión de ejercicio (E2S1 y E2S2) se registró una disminución de la carga, que resultó significativa ( $p < 0.05$ ) respecto a los valores promedio de la primera serie de la primera sesión (E1S1).

Comparando los valores promedio de ambos grupos, en el grupo ubiquinol se observó un incremento de la carga ( $p < 0.05$ ) respecto al placebo en ambas series de la segunda sesión (E2S1 y E2S2).

Figura 46. Gráfico promedio carga desplazada (kg) en cada serie (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio (E1 y E2).



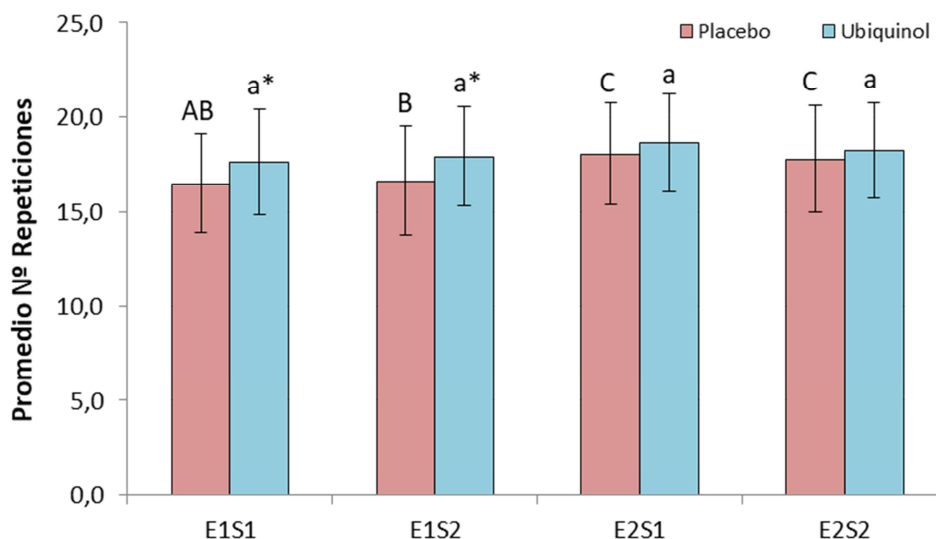
Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

Respecto a los valores promedio del número de repeticiones (Figura 47), igualmente, en el grupo ubiquinol no se registraron diferencias significativas intragrupo, mientras que en el grupo placebo hubo un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en ambas series de la segunda sesión (E2S1 y E2S2) respecto a las de la primera sesión (E1S1 y E1S2).

Entre ambos grupos, se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo de intervención (ubiquinol) respecto al grupo control (placebo) en ambas series de la primera sesión de ejercicio (E1S1 y E1S2).

## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Figura 47. Gráfico promedio número de repeticiones en cada serie (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

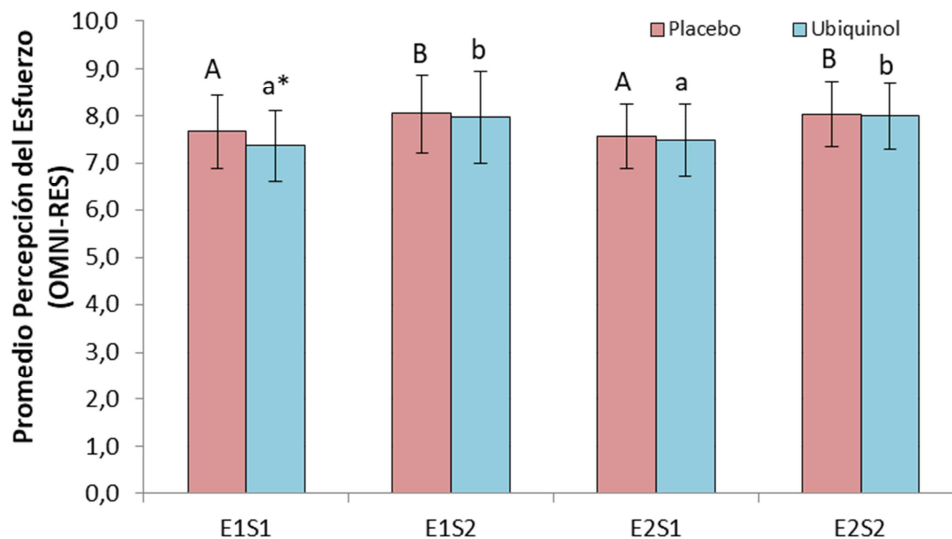


Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

En cuanto a los valores promedio en la Escala OMNI-RES (Robertson et al., 2003) de percepción del esfuerzo (Figura 48), la tendencia en cada grupo experimental fue similar, ya que en ambos grupos se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en la segunda serie (E1S2 y E2S2) respecto a la primera (E1S1 y E2S1) de ambas sesiones.

Entre ambos grupos experimentales, sólo se registró una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol respecto al placebo en la primera serie de la primera sesión (E1S1).

Figura 48. Gráfico promedio percepción del esfuerzo Escala OMNI-RES (Robertson et al., 2003) en cada serie (S1 y S2) de cada sesión de ejercicio (E1 y E2).



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

## 5.2. Fuerza muscular en press banca (Máquina Smith)

En los ejercicios 2 y 6 de cada serie en ambas sesiones de ejercicio, se midió la fuerza máxima, la potencia y la velocidad de potencia máxima para evaluar la fuerza muscular desarrollada en el ejercicio de press de banca en máquina Smith.

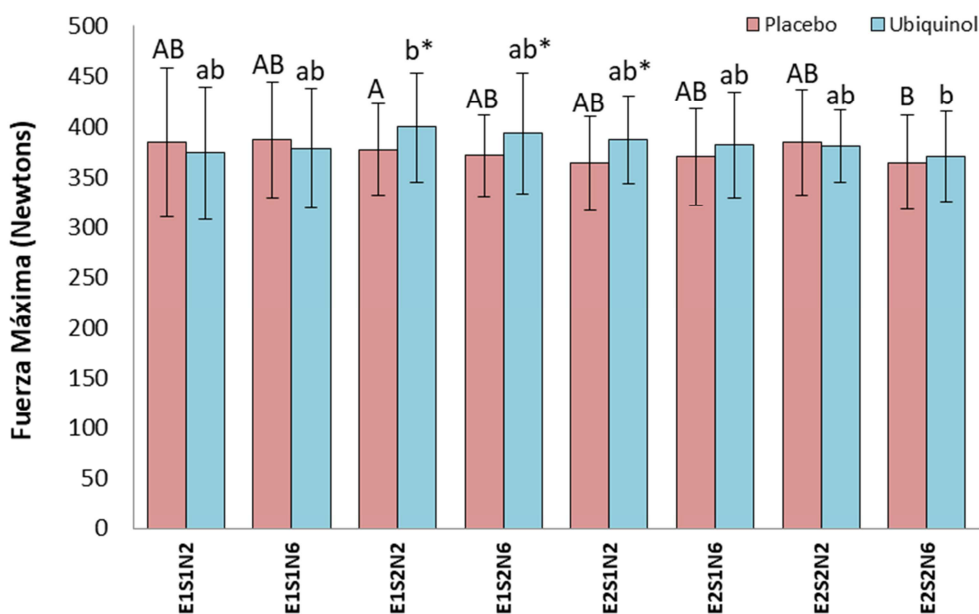
Con respecto a los valores de fuerza máxima, se observó un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol comparado con el placebo en la segunda serie de ambos ejercicios en la primera sesión de ejercicio (E1S2N2 y E1S2N6) y en el primer ejercicio en la primera serie de la segunda sesión (E2S1N2).

En cuanto a la evolución de cada grupo, el registro más bajo de fuerza máxima en el grupo placebo tuvo lugar en el segundo ejercicio de press banca de la segunda serie en la segunda sesión (E2S2N6), que resultó estadísticamente significativo ( $p < 0.05$ ) comparado con el primer ejercicio de la segunda serie en la primera sesión (E1S2N2), mientras que en el grupo ubiquinol no se observaron diferencias significativas intragrupo en ningún registro.



## CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Figura 49. Gráfico fuerza máxima (N) desarrollada en press banca en máquina Smith en cada ejercicio (2 y 6) de cada serie (S1 y S2) en cada sesión de ejercicio (E1 y E2).

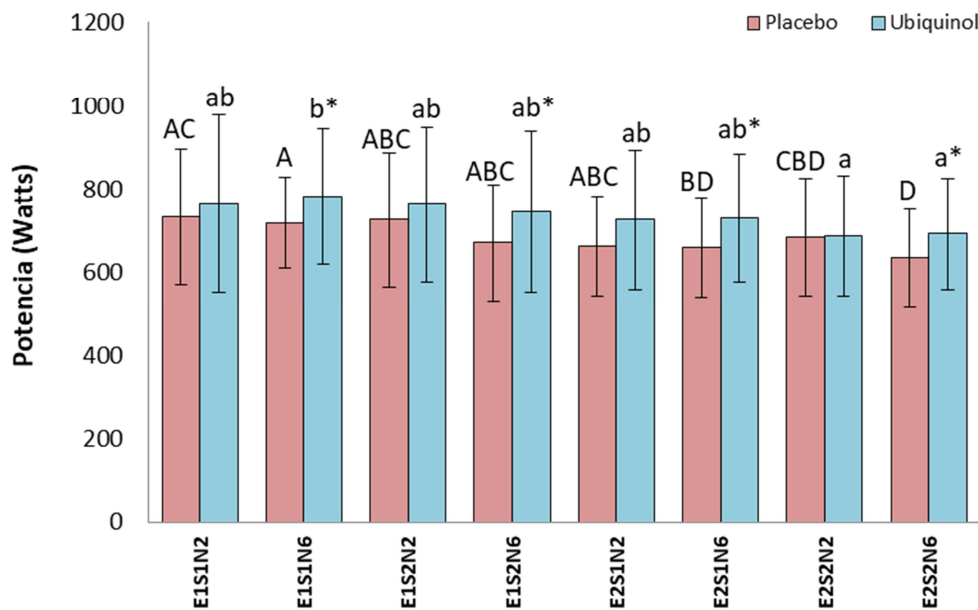


Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

En relación a los datos obtenidos en potencia (Figura 50), el grupo ubiquinol registró incrementos significativos ( $p < 0.05$ ) respecto al grupo placebo en el segundo ejercicio de press banca de ambas series en ambas sesiones (E1S1N6, E2S2N6, E2S1N6 y E2S2N6).

Atendiendo a la evolución de cada grupo, en el grupo suplementado (ubiquinol) se registró una disminución significativa ( $p < 0.05$ ) en la potencia en ambos ejercicios de la segunda serie en la segunda sesión (E2S2N2 y E2S2N6) respecto al segundo ejercicio de la primera serie de la primera sesión (E1S1N6). En cambio, en el grupo control (placebo), el registro más bajo tuvo lugar en el segundo ejercicio de la segunda serie en la segunda sesión (E2S2N6), el cual resultó significativo ( $p < 0.05$ ) respecto a ambos ejercicios de ambas series en la primera sesión (E1S1N2, E1S1N6, E1S2N2 y E1S2N6) y respecto a E2S1N2.

Figura 50. Gráfico potencia (W) desarrollada en press banca en máquina Smith en cada ejercicio (2 y 6) de cada serie (S1 y S2) en cada sesión de ejercicio (E1 y E2).



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).

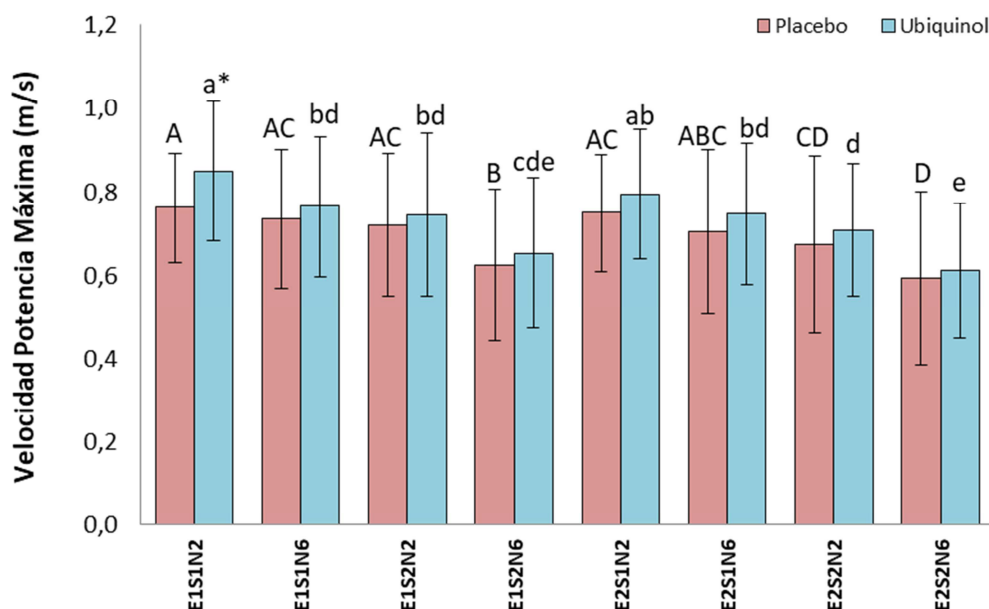
Finalmente, de acuerdo con los resultados obtenidos en velocidad de potencia máxima (Figura 51), los mayores valores en ambos grupos se registraron en el primer ejercicio de press banca en la primera serie de la primera sesión (E1S1N2) y, ese incremento resultó significativo ( $p < 0.05$ ) en los siguientes puntos: en el grupo placebo respecto a (E1S2N6, E2S2N2 y E2S2N6) y en el grupo ubiquinol respecto a todos los puntos excepto el primer ejercicio de la primera serie de la primera sesión (E2S1N2). Cuando ambos grupos fueron comparados en este punto, se registró un incremento significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol en comparación con el placebo.

La evolución en cada grupo fue similar durante la realización de las sesiones de ejercicio intenso. Los valores más bajos en ambos grupos se registraron en el segundo press banca de la segunda serie en la segunda sesión (E2S2N6), y esta disminución, en el grupo ubiquinol, fue estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) en comparación con los datos obtenidos en los registros restantes, excepto en E1S2N6, mientras que en el

grupo placebo resultó estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) respecto al resto de registros, excepto en E2S2N2.

Igualmente, el segundo registro más bajo en ambos grupos, tuvo lugar en el segundo press banca de la segunda serie en la primera sesión (E1S2N6), el cual fue significativo ( $p < 0.05$ ) en el grupo ubiquinol respecto a E1S1N2, E2S1N2 y, en el grupo placebo respecto a todos los registros excepto en E2S1N6.

Figura 51. Gráfico velocidad de máxima potencia (m/s) desarrollada en press banca en máquina Smith en cada ejercicio (2 y 6) de cada serie (S1 y S2) en cada sesión de ejercicio (E1 y E2).



Los resultados se expresan como Media  $\pm$  Desviación típica (DS). La aparición de letras no coincidentes en cada grupo indica la existencia de diferencias estadísticamente significativas intragrupo ( $p < 0.05$ ) (Placebo: A, B, C, D, E; Ubiquinol: a, b, c, d, e). \* Indica la existencia de diferencias significativas intergrupos ( $p < 0.05$ ).



## **CAPÍTULO V. DISCUSIÓN**

---



## **1. Efecto de la suplementación sobre marcadores bioquímicos de estrés oxidativo y defensa antioxidante**

---

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 h 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 a un aumento en la generación de RONS que puede exceder la capacidad del sistema antioxidante y, por tanto, conducir a un estado de estrés oxidativo, lo cual puede conllevar efectos perjudiciales para la salud de las personas. Por otro lado, una protección antioxidante insuficiente puede agravar las consecuencias del estrés oxidativo provocado por este tipo de ejercicio. En este contexto, se ha investigado ampliamente el uso de suplementos antioxidantes exógenos para mantener el equilibrio oxidativo en estados de estrés durante el ejercicio.

Existe evidencia científica que apoya la capacidad de los compuestos antioxidantes para paliar el daño oxidativo (Di Giacomo et al., 2009) e inflamatorio (Elkington et al., 2015), aunque los resultados en este campo de investigación son contradictorios, y existe una cierta controversia respecto a su uso en el ámbito del ejercicio físico. De hecho, actualmente se recomienda que, primeramente, en lugar de recurrir al uso de suplementos, las personas físicamente activas han de consumir una dieta equilibrada rica en alimentos antioxidantes para así atender a sus requerimientos nutricionales y energéticos en el ejercicio (Margaritis & Rousseau, 2008; Powers et al., 2011). Sin embargo, los atletas bien entrenados, o las personas físicamente activas, pueden presentar un riesgo aumentado de daño oxidativo debido a una ingesta dietética de antioxidantes insuficiente (Rousseau et al., 2004), ya que, durante el ejercicio, la producción excesiva de oxidantes en el músculo esquelético es controlada mediante una respuesta sinérgica entre el sistema antioxidante endógeno y las vitaminas y minerales antioxidantes consumidos como parte de una dieta bien equilibrada (Watson et al., 2005).

Asimismo, se ha apuntado que, a medida que los deportistas producen una mayor cantidad de estrés oxidativo, ya sea durante episodios repetidos de ejercicio o esporádicos de ejercicio extenuante, pueden requerir una mayor cantidad de

antioxidantes exógenos para así mantener la salud y poder contrarrestar el daño oxidativo producido (Palazzetti et al. 2004).

Por otro lado, se ha apuntado que la mayoría de los suplementos antioxidantes comunes no son tóxicos, incluso a niveles relativamente altos de suplementación, por lo que no es probable que sean perjudiciales y, en teoría, presentan el potencial de ser beneficiosos para el deportista (Powers et al., 2011).

Estos hallazgos apoyan la hipótesis de que la suplementación con antioxidantes puede ayudar a los deportistas a tolerar mejor los períodos de entrenamiento o competencias deportivas intensas, previniendo las consecuencias del daño oxidativo (Slattery et al., 2015); aunque, es preciso apuntar que el consumo de suplementos antioxidantes necesita ser periodizado e individualizado para que pueda proveer un refuerzo adicional durante estos períodos (Slattery et al., 2015).

Dada la importancia del estrés oxidativo, la inflamación y el daño muscular asociados con el ejercicio extenuante y sus repercusiones sobre la salud, se han evaluado los efectos de diferentes suplementos antioxidantes para paliar sus consecuencias, configurándose la Coenzima Q10 (CoQ10) como una de las sustancias empleadas para tal efecto (Burke et al., 2009; Belviranli & Okudan, 2015; Sarmiento et al., 2016a). Esto es debido a que la CoQ10 posee propiedades relacionadas con la actividad antioxidante y la bioenergética (Litarru & Tiano, 2007), ya que es un cofactor esencial en la fosforilación oxidativa mitocondrial y es necesaria para la producción de ATP y, debido a sus propiedades, los nutricionistas la han considerado como suplemento dietético adecuado destinado para la mejora de la bioenergética celular, contrarrestar el estrés oxidativo y ralentizar algunas patologías relacionadas con la edad (Sarmiento et al., 2016a).

De hecho, en el ámbito del ejercicio físico, existe evidencia científica que sugiere que la suplementación con CoQ10 puede atenuar el estrés oxidativo (Zheng & Moritani, 2008; Díaz-Castro et al., 2012), así como la señalización inflamatoria (Díaz-Castro et al., 2012; Armanfar et al., 2015; Shimizu et al., 2015). Además, se ha demostrado que el ubiquinol, la forma reducida de la CoQ10, posee mayor biodisponibilidad y es más eficaz, de forma más rápida y con dosis más bajas que la tradicional CoQ10 oxidada o ubiquinona (Ikematsu et al., 2006; Hosoe et al., 2007; Langsjoen & Langsjoen, 2008), ya que se encuentra en su forma activa y no tiene que ser convertida por el organismo, siendo posible que las mejoras ofrecidas por el ubiquinol como suplemento respecto a la tradicional ubiquinona se traduzcan en mayores prestaciones, razón por la cual ha sido objeto de estudio en el presente proyecto de investigación.



Además, es necesario apuntar que la producción científica respecto al estudio de los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el estrés oxidativo y/o capacidad antioxidante en el ejercicio no es muy profusa, especialmente en el área del estrés oxidativo y, prácticamente inexistente en referencia a la suplementación con ubiquinol, la forma reducida de esta molécula (Litarru & Tiano, 2010; Sarmiento et al., 2016a).

En el presente estudio, los dos grupos experimentales establecidos (ubiquinol y placebo) han mostrado homogeneidad tanto en las características basales evaluadas (edad, talla, peso, SBP, DBP y frecuencia cardiaca basal), como en la ingesta de macro y micronutrientes, y en el análisis de impedancia bioeléctrica (IMC, metabolismo basal, % masa grasa, masa grasa, masa magra y agua), no observándose diferencias significativas entre ambos en ninguna de las variables estudiadas.

Respecto a los resultados obtenidos en el cuestionario de actividad física (IPAQ-SF) tampoco se observaron diferencias significativas entre ambos grupos y, en base a éstos, los sujetos de ambos grupos experimentales fueron catalogados como “Health Enhancing Physical Activity” (HEPA Active): CATEGORÍA 3, el umbral de medida de actividad física total más alto del cuestionario (Papathanasiou et al., 2010), lo cual confirma que la población de estudio, tras el análisis de los resultados obtenidos en el reconocimiento inicial llevado a cabo, está compuesta por sujetos sanos entrenados.

Por otro lado, los resultados obtenidos en los marcadores bioquímicos de daño oxidativo en plasma (8-OHdG, peróxidos de lípidos, Ox-LDL y PC), en membrana de eritrocitos (peróxidos de lípidos y PC) y en orina (8-OHdG e isoprostanos), revelan que el protocolo de ejercicio físico intenso llevado a cabo en el presente estudio ha inducido daño oxidativo en diversas macromoléculas, especialmente lípidos y ADN, siendo estos hallazgos coincidentes con los obtenidos en informes previos, aunque siempre influenciados por la intensidad y el volumen del ejercicio realizado (Hudson et al., 2008; Díaz-Castro et al., 2012; Ballmann et al., 2014).

La 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) es un indicador sensible del daño del ADN como resultado del estrés oxidativo, y en el grupo suplementado con ubiquinol se observó una reducción en este marcador en plasma respecto al grupo placebo en T5, tras la realización de la segunda sesión de ejercicio físico intenso. Igualmente, en orina se registró una disminución de este parámetro en el grupo ubiquinol respecto al placebo en T4, tras el descanso de 24 h; además, en el grupo ubiquinol no se observaron diferencias significativas entre las distintas tomas de muestra en orina, mientras que en el grupo control se registró un aumento significativo en T4 respecto a T3 y T5. Estos hallazgos son similares a los obtenidos en otros estudios donde se empleó ubiquinona como suplemento, realizados tanto en humanos como en animales (Díaz-Castro et al., 2012; Okudan et al., 2012). Por tanto, estos resultados revelan la

alta capacidad de la CoQ10 para reducir el estrés oxidativo durante el ejercicio extenuante, en este caso mediante la protección del ADN.

La peroxidación lipídica hace referencia a la degradación oxidativa de los lípidos, proceso a través del cual los radicales libres capturan electrones de los lípidos en las membranas celulares. En el presente estudio, se registró un marcado aumento en la concentración de peróxidos de lípidos plasmáticos en ambos grupos experimentales tras la realización de ambas sesiones de ejercicio intenso (T3 y T5 respectivamente), y en T4 con respecto a T1 en ambos grupos, y respecto a T2 sólo en el grupo placebo, mientras que en el grupo suplementado con ubiquinol no hubo diferencias significativas entre T4 y T2. Por otro lado, en el grupo suplementado con ubiquinol se detectó una disminución respecto al grupo placebo tras el período de descanso (T4) entre ambas pruebas. Estos resultados están de acuerdo con los que informan que la CoQ10 posee un efecto protector contra una reducción excesiva de los fosfolípidos de la membrana mitocondrial tras el ejercicio prolongado (Barbiroli et al., 1998), lo cual puede ser debido a un incremento de CoQ10 en las membranas celulares como consecuencia de la suplementación, hecho que se ha observado en otros estudios (Ochoa et al., 2005; Ochoa et al., 2007) y, por otro lado, debido a una menor producción de radicales libres durante el ejercicio en el grupo suplementado (Sohet et al., 2009), presentando el grupo suplementado una resistencia mayor a la hemólisis inducida por los radicales libres.

En cuanto a la concentración de peróxidos de lípidos de membrana de eritrocitos, se detectó un aumento significativo en ambos grupos experimentales tras el período de descanso (T4) y tras la segunda sesión de ejercicio (T5) en comparación con T1 (valores basales), T2 (tras el período de suplementación) y T3 (tras la primera sesión de ejercicio), lo cual indica que el protocolo de ejercicio llevado a cabo provocó un daño oxidativo en proteínas, especialmente tras la segunda sesión de ejercicio, al igual que los resultados obtenidos en plasma, por el efecto acumulativo; sin embargo, no se detectaron diferencias entre ambos grupos.

Otro de los indicadores comúnmente empleados para determinar la oxidación de las proteínas en relación con el ejercicio es la formación y acumulación de proteínas carbonilo (PC). En el presente estudio, al igual que en otros marcadores bioquímicos de estrés oxidativo, se registró un aumento significativo en plasma en ambos grupos experimentales tanto en T4 como en T5 respecto a T1 (valores basales) y T2 (valores tras suplementación). Existen varios estudios que han registrado un aumento significativo en la concentración de PC tras la realización de protocolos de ejercicio aeróbico (Bloomer et al., 2007; Michailidis et al., 2007; Nikolaidis et al., 2007; Goldfarb et al., 2007; Zalavras et al., 2015), siendo el incremento dependiente de la duración del ejercicio (Bloomer et al., 2007) y permaneciendo elevada su concentración incluso durante las 8 horas posteriores al ejercicio (Michailidis et al., 2007).

Igualmente, en el grupo placebo se detectó un aumento significativo en membrana de eritrocitos en T4 y T5 respecto a T1, T2 y T3; sin embargo, en el grupo suplementado con ubiquinol se detectó un aumento significativo en T4 respecto a T1, T2 y T3, y en T5 solamente respecto a T2. En la comparación entre ambos grupos experimentales, se detectó una disminución significativa en el grupo ubiquinol respecto al placebo en T5, tras la segunda sesión de ejercicio intenso, aunque no se registraron cambios en los valores plasmáticos entre ambos. Estos resultados apoyan, nuevamente, un posible efecto protector de la suplementación con ubiquinol frente al daño oxidativo acumulativo inducido por el ejercicio.

El ejercicio físico intenso o extenuante también puede inducir daño oxidativo a las lipoproteínas de baja densidad (Ox-LDL), aunque en el presente estudio, el daño producido por el ejercicio no ha sido igual en ambos grupos experimentales respecto a este parámetro; en el grupo suplementado con ubiquinol la oxidación de LDL fue menor, ya que en el grupo placebo, el daño oxidativo producido en LDL aumentó en T4 y T5 respecto al resto de tomas, y en T3 respecto a T1, mientras que en el grupo ubiquinol solamente se observó un aumento tras completar la segunda sesión de ejercicio (T5) respecto a T1 y, además, se registró una disminución significativa en el grupo ubiquinol en comparación con el placebo en tras el período de descanso (T4).

Este efecto protector en la oxidación de las lipoproteínas es importante si se tienen en cuenta sus efectos negativos (Stancel et al., 2016). En este sentido, Del Pozo-Cruz et al. (2014) encontraron una relación positiva entre los niveles de coenzima Q10 en plasma, la actividad física en ancianos y la oxidación de lípidos y LDL; sin embargo, hasta el momento, este es el primer estudio que demuestra un efecto protector de la administración de ubiquinol como suplemento en lipoproteínas durante el ejercicio físico intenso en adultos sanos entrenados.

Por otro lado, la medición de isoprostanos se configura como uno de los biomarcadores más reconocidos y fiables para el estudio del estrés oxidativo o peroxidación de lípidos *in vivo*, especialmente durante el ejercicio físico (Nikolaidis et al., 2011; Czerska et al., 2016). En este sentido, varios estudios han informado de un aumento significativo de los niveles de isoprostanos después de la realización de un ejercicio físico extenuante en comparación con los valores basales (Nikolaidis et al., 2011; Díaz-Castro et al., 2012), hallazgos similares a los observados en el presente estudio, el cual revela un efecto acumulativo en la agresión oxidativa debido al protocolo de ejercicio intenso realizado. En el grupo placebo se registró un aumento significativo en la concentración de isoprostanos en orina tanto en T3, como en T4 y T5. Dicho aumento en el grupo placebo es claro, sin embargo, en el grupo suplementado con ubiquinol no se detectó un aumento significativo tras primera sesión de ejercicio intenso (T3) ni tras el período de descanso de 24 h (T4) respecto a los valores basales (T1) y los valores tras el período de suplementación (T2). Este

efecto en la producción de isoprostanos se ha observado en estudios donde se ha suministrado ubiquinona como suplemento (Díaz-Castro et al., 2012), aunque hasta ahora, no se ha informado de dicho efecto en estudios donde se haya empleado ubiquinol, la forma reducida de la CoQ10. Por tanto, este resultado pone de manifiesto el efecto antioxidante del ubiquinol, que inhibe la expresión de la NAD(P)H oxidasa, una de las principales fuentes de especies reactivas del oxígeno (Sohet et al., 2009), que capta productos de la peroxidación lipídica durante las reacciones que tienen lugar en la formación de radicales libres, ya sea de forma directa o mediando en la regeneración del tocoferol, la forma activa de la vitamina E, mediante la reducción del radical tocoferilo (Litarru & Tiano, 2010; Díaz-Castro et al., 2012).

Los resultados obtenidos en la concentración de isoprostanos en orina en el presente estudio apoyan que el protocolo de ejercicio físico intenso llevado a cabo ha inducido a daño oxidativo en diversas macromoléculas y, la relación entre los marcadores bioquímicos estudiados, tanto en plasma como en membrana de eritrocitos, y el contenido de isoprostanos, es cualitativa en lugar de cuantitativa, ya que en otros estudios se ha puesto de relieve la importancia de los isoprostanos, configurándose como un indicador preferente de daño oxidativo (Nikolaidis et al., 2011). En el presente estudio, en líneas generales, el efecto de la suplementación con ubiquinol sobre estos biomarcadores de daño oxidativo ha resultado ser positiva, reflejando una disminución en éstos, especialmente en T4 y T5, hecho importante teniendo en cuenta que el estrés oxidativo asociado con el ejercicio intenso o extenuante es acumulativo y, por lo tanto, es más acusado en estos puntos.

En línea con los resultados obtenidos en el presente estudio, otras investigaciones también han demostrado un efecto de la suplementación con CoQ10 sobre el daño oxidativo en situaciones de ejercicio vigoroso en sujetos sanos (Sarmiento et al., 2016a). Cooke et al. (2008), informaron que una suplementación aguda con CoQ10 (200 mg), en sujetos entrenados y no entrenados, redujo significativamente los niveles de TBARS en comparación con el grupo placebo tras la realización del Wingate test. Igualmente, Gül et al. (2011) demostraron que una suplementación con CoQ10 de 100 mg/día durante 8 semanas disminuyó los índices de estrés oxidativo inmediatamente después de episodios repetidos de ejercicio supramáximo (Wingate test) en hombres sedentarios. Díaz-Castro et al. (2012), como se ha indicado anteriormente, también informaron que una suplementación con CoQ10 resultó eficiente en la reducción del grado de estrés oxidativo, registrando una disminución en la concentración de hidroperóxidos de membrana (8-OHdG) e isoprostanos, con una recuperación de la defensa antioxidante, tras la realización de una prueba de esfuerzo de alta intensidad en atletas aficionados, lo cual se asoció con un mantenimiento de la integridad celular debido a la suplementación.

Por otra parte, Zheng & Moritani (2008), informaron que la CoQ10 mejora la oxidación de las grasas a través de un aumento de la actividad nerviosa autonómica durante el ejercicio de baja intensidad. Estos autores apuntaron que una suplementación aguda (30 mg) con CoQ10 aumenta los niveles de 2,3-difosfoglicerato (DPG) en eritrocitos, lo cual aumenta el suministro de oxígeno a los músculos y mejora la síntesis de ATP. Asimismo, los resultados de este estudio sugirieron un efecto positivo de la suplementación con CoQ10 en situaciones de hiperlipidemia u obesidad, debido a las mejoras que provoca en el proceso de lipólisis.

En contraste, otros estudios no han registrado mejoras en biomarcadores de estrés oxidativo en el ejercicio tras una suplementación con CoQ10 (Braun et al., 1991; Laaksonen et al., 1995b; Bonetti et al., 2000; Mizuno et al., 2008; Ostman et al., 2012). En cuanto a los efectos de la suplementación con ubiquinol, la forma reducida de la CoQ10, el único estudio (Bloomer et al., 2012) que, hasta la fecha, ha evaluado sus efectos sobre el estrés oxidativo inducido por el ejercicio en sujetos entrenados, no notificó mejoras debidas a la suplementación, con la excepción de individuos seleccionados, aunque sí registró un aumento de la CoQ10 total y reducida en sangre, además del coeficiente CoQ10: colesterol. Los autores de este estudio señalaron que es posible que se observasen efectos más robustos en una muestra de individuos sedentarios y/o ancianos, así como en sujetos con enfermedades diagnosticadas. Además, los sujetos de este estudio presentaron un valor de referencia de CoQ10 total de, aproximadamente,  $1,0 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ , que es más alto que los valores observados en poblaciones típicas ( $0,6 - 0,8 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ), hecho que pudo haber contribuido a una respuesta mitigada de la suplementación.

Finalmente, para una mejor comprensión del mecanismo protector de la suplementación con ubiquinol frente al daño oxidativo, en la presente investigación se estudió el efecto de ésta sobre el sistema de defensa antioxidante.

Los resultados obtenidos en la capacidad antioxidativa plasmática total (ORAC), indican un efecto debido a la suplementación, ya que en el grupo ubiquinol se registró un aumento respecto al grupo placebo tras finalizar el período de suplementación (T2) y tras el período de descanso (T4). El ensayo ORAC muestra la capacidad antioxidante global para neutralizar los radicales peroxilo, en este sentido, los resultados obtenidos están en conformidad con los registrados en la concentración de peróxidos de lípidos en plasma, ya que en este parámetro también se registró una disminución significativa en el grupo ubiquinol respecto al grupo placebo en T4. Por tanto, estos resultados apoyan que la suplementación con ubiquinol ha mostrado ser eficaz para paliar el daño oxidativo a lípidos en el ejercicio.

Asimismo, la administración de suplementos de CoQ10 presenta un claro potencial sobre la capacidad antioxidativa total en plasma, que a su vez puede resultar de su efecto sobre los antioxidantes liposolubles plasmáticos, particularmente

tocoferol y CoQ. En relación con el tocoferol, en el presente estudio se ha observado que el ubiquinol evita la reducción de este antioxidante liposoluble tras la segunda sesión de ejercicio intenso (T5) y, probablemente, este efecto sea debido a su capacidad para regenerar tocoferol en su forma activa (Litarru & Tiano, 2010).

Se ha demostrado que la suplementación oral con CoQ10 en diferentes dosis conduce a una marcada elevación de los niveles de CoQ10 en diversos tejidos como el músculo esquelético, el hígado, el corazón y el riñón (Kwong et al., 2002; Kon et al., 2007), así como en el plasma humano (Zuliani et al., 1989; Kaikkonen et al., 1998; Bonetti et al., 2000; Zhou et al., 2005; Kon et al., 2008; Mizuno et al., 2008; Bloomer et al., 2012).

El aumento de los niveles plasmáticos de CoQ10 registrado en la presente investigación es similar al encontrado en otros estudios de suplementación con ubiquinol (Hosoe et al., 2007; Bloomer et al., 2012; Ochoa et al., 2013), aunque este es el primer estudio que muestra un efecto de la suplementación sobre la isoforma Q9, ya que se registró un aumento en el grupo suplementado respecto al placebo tanto al final del período de suplementación (T2) como tras el período de descanso entre ambas sesiones de ejercicio (T4). Además, igualmente se obtuvo un incremento de CoQ10 en eritrocitos de, aproximadamente, 1,4 veces durante el ejercicio extenuante.

Por último, en cuanto a los efectos de la suplementación sobre los antioxidantes enzimáticos citosólicos, sólo se observó un efecto sobre la actividad de la CAT y, en menor medida, en GPx. En otros estudios con la forma oxidada o ubiquinona, también se observó un efecto similar en la actividad de la CAT, aunque no se informó de ningún efecto sobre GPx (Díaz-Castro et al., 2012).

Con respecto al comportamiento del sistema antioxidante, se ha observado que la CAT, la enzima encargada de la eliminación del peróxido de hidrógeno, aumentó su actividad en el grupo ubiquinol en comparación con el grupo placebo tras el período de suplementación (T2), lo que indica un mayor potencial antioxidante inducido por la suplementación. Por otra parte, en el grupo placebo se registró un incremento en T3 y T4 respecto a T1 y T5, mientras que en el grupo ubiquinol, los valores obtenidos en T2, T3, T4 y T5 fueron mayores respecto a T1; además, en el grupo placebo, después de finalizar la segunda sesión de ejercicio (T5) se observó una disminución en la actividad de CAT respecto a T3 y T4, mientras que esta tendencia no se observó en el grupo suplementado.

El aumento de la actividad de la CAT se ha asociado con una mayor resistencia al daño oxidativo (Díaz-Castro et al., 2012). También, se ha encontrado un aumento similar en la actividad de la CAT después de una suplementación con ubiquinona, aunque en roedores y con una situación diferente de generación de estrés oxidativo (Ochoa et al., 2005; Ochoa et al., 2007).

Por otro lado, en el presente estudio, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en GPx y SOD y, estos resultados están en consonancia con los obtenidos en otros estudios, aunque realizados en modelos animales y en diferentes situaciones de agresión oxidativa, donde la suplementación con CoQ10 mostró un claro efecto sobre la actividad de la enzima CAT y casi ausencia de efecto sobre la actividad de GPx (Ochoa et al., 2005; Ochoa et al., 2007). Sin embargo, se han obtenido algunos resultados interesantes en el grupo suplementado, aunque no concluyentes, ya que en ambos grupos se observó una tendencia similar para la actividad citosólica de SOD, con una disminución en T3 y un aumento en T5 respecto al resto de tomas, aunque en el grupo ubiquinol, la disminución en T3 no fue significativa respecto a T1 y T2 y, respecto a GPx no se registraron diferencias significativas en el grupo ubiquinol, en cambio, en el grupo placebo los valores de T3, T4 y T5 resultaron significativamente menores respecto a T1.

En otro estudio, Cooke et al. (2008) informaron que una suplementación aguda con CoQ10 (200 mg), en sujetos entrenados y no entrenados, dio como resultado un incremento en la concentración de CoQ10 muscular, registrando niveles séricos de SOD significativamente más bajos en el grupo suplementado comparado con el grupo placebo después de la realización de una prueba de resistencia muscular isocinética.

En síntesis, los resultados obtenidos en la presente investigación revelan la gravedad y el carácter acumulativo del daño oxidativo inducido por el protocolo de ejercicio intenso llevado a cabo. El grupo suplementado con ubiquinol registró una reducción en la concentración de isoprostanos en orina tras la primera sesión de ejercicio y tras la recuperación, en 8-OHdG en orina tras recuperación y en plasma tras la segunda sesión de ejercicio, en peróxidos de lípidos y PC en membrana de eritrocitos tras la segunda sesión de ejercicio, por lo que estos resultados resaltan el efecto antioxidante y protector de este compuesto durante el ejercicio. El suplemento de ubiquinol también disminuyó la Ox-LDL, revelando un efecto protector en la oxidación de las lipoproteínas y, asimismo, un efecto positivo en la capacidad antioxidante total en plasma, que a su vez puede resultar de su efecto sobre los antioxidantes liposolubles plasmáticos, en particular tocoferol y CoQ10, mostrando, además, un efecto positivo sobre la isoforma Q9 en plasma y CoQ10 en membrana eritrocitaria. El ubiquinol también mostró un efecto sobre la actividad de la CAT tras la suplementación. Por lo tanto, este estudio proporciona evidencia de que el ubiquinol es un compuesto seguro, que reduce de manera eficaz el daño oxidativo y potencia el sistema de defensa antioxidante, mejorando los procesos de recuperación tras la realización de un ejercicio extenuante en sujetos entrenados.

## 2. Efecto de la suplementación sobre marcadores bioquímicos de daño muscular

---

Como se ha comentado en apartados anteriores, el ejercicio físico extenuante puede provocar daño muscular como consecuencia de factores mecánicos y/o metabólicos (Brancaccio et al., 2010; Koch et al., 2014). El estrés metabólico a nivel muscular durante el ejercicio es debido a la formación de radicales libres y a la sobrecarga del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) (Koch et al., 2014). Además, el incremento en el consumo de oxígeno durante el ejercicio conlleva un aumento en la actividad de la cadena de transporte de electrones, un incremento de semiquinona en la mitocondria y de xantina oxidasa en las células endoteliales de los capilares (Su et al., 2010). Estas consecuencias pueden conducir a un aumento de la producción de radicales libres y al consiguiente daño en las membranas celulares e, igualmente, el músculo puede experimentar un estado como de isquemia/reperfusión en la transición del ejercicio a la recuperación (Tamaki et al., 1994), lo que podría acrecentar aún más la producción de radicales libres (Jassem et al., 2002) y, consiguientemente, provocar un mayor daño en las células musculares.

En este contexto, se ha demostrado que la suplementación oral con CoQ10 en diferentes dosis conduce a una marcada elevación de los niveles de CoQ10 en diversos tejidos, así como a una reducción en el daño muscular inducido por el ejercicio (Shimomura et al., 1991; Okamoto et al., 1995; Kon et al., 2007; Kon et al., 2008). Por tanto, a partir de estos resultados experimentales, la suplementación con CoQ10 posee el potencial de reducir el daño muscular inducido por el ejercicio. Sin embargo, es necesario apuntar que, aunque la CoQ10 se comercializa como un suplemento dietético con posibles efectos beneficiosos sobre el daño muscular inducido por el ejercicio para los sujetos que participan en todos los niveles, existe un número limitado de informes que hayan evaluado su efecto sobre estos parámetros.

En el presente estudio, el aumento observado en los niveles de lactato en ambos grupos experimentales tras completar ambas sesiones de ejercicio revela la intensidad del ejercicio realizado. Estos hallazgos están de acuerdo con los resultados obtenidos en estudios previos que han informado de correlaciones positivas significativas entre la concentración máxima de lactato en sangre y el exceso de consumo de oxígeno después del ejercicio intenso (Nummela & Rusko, 1995). En este sentido, un estudio reciente sugiere que el efecto potencial del lactato sanguíneo sobre el exceso de consumo de oxígeno tras el ejercicio sería dependiente de la



concentración, lo que indica el grado de esfuerzo asociado con el ejercicio realizado (de Aguiar et al., 2015).

Otro compuesto que aumenta durante la realización de ejercicio es el óxido nítrico (NO) (Belardinelli et al., 2006). El ejercicio provoca un aumento en la tensión de cizallamiento, lo que a su vez induce la expresión de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) (Belardinelli et al., 2006). Este aumento también se ha observado en la presente investigación, obteniéndose valores más altos después de la primera sesión de ejercicio intenso (T3) en ambos grupos experimentales en comparación con T1. Sin embargo, en el grupo placebo el NO disminuyó progresivamente tanto en T4 como en T5, mientras que en el grupo suplementado con ubiquinol los niveles de NO se mantuvieron elevados, mostrando diferencias significativas entre el grupo placebo y grupo ubiquinol en T5, tras completar la segunda sesión de ejercicio.

El aumento de NO durante el ejercicio presenta varios beneficios, incluyendo la acción vasodilatadora, que ayuda tanto al rendimiento físico como al suministro de nutrientes en la recuperación muscular, así como la mejora en el suministro de sustratos como la glucosa que, en conjunto facilitan el papel regulador del sistema inmunitario (Maroun et al., 1995; Hayashi et al., 1997; Belardinelli et al., 2006).

Este estudio muestra por primera vez un efecto del ubiquinol sobre el NO durante el ejercicio físico intenso en sujetos adultos sanos entrenados. Uno de los posibles mecanismos de acción sería la inducción de la óxido nítrico sintasa (Belardinelli et al., 2006), o el efecto antioxidante proporcionado por la suplementación con ubiquinol, ya que es conocido que el estrés oxidativo es una de las causas de la inactivación del NO, y el anión superóxido es una de las principales especies moleculares responsables de ello (Maroun et al., 1995; Belardinelli et al., 2006), para evitar el estrés nitrosante (Díaz-Castro et al., 2012).

El daño muscular en el ejercicio es frecuentemente caracterizado por un incremento en los niveles de creatina quinasa (CK), mioglobina (MB) o troponina (TNI), constituyéndose como los marcadores séricos más útiles, y asiduamente empleados, de daño muscular (Brancaccio et al., 2010).

En la presente investigación se ha evaluado el efecto de la suplementación de corta duración con ubiquinol sobre el daño muscular asociado a un ejercicio físico intenso, determinando las concentraciones de CK-MM, TNNI1, TNNI2 y MB.

En cuanto a los resultados obtenidos, ambas sesiones de ejercicio intenso (T3 y T5) produjeron un notable aumento en MB y TNNI1 en ambos grupos experimentales respecto a los valores basales (T1), lo que indica, nuevamente, la dureza del protocolo de ejercicio realizado, cumpliéndose el objetivo de provocar daño muscular en los sujetos para así poder evaluar los efectos de la suplementación. Asimismo, también se ha registrado un incremento significativo en CK-MM tras la recuperación de la primera

sesión (T4) y en T5 en ambos grupos experimentales respecto a T1, y T2 en el grupo placebo y, además, en T5 en TNNI2 en ambos grupos respecto a T1, T2 y T4.

Respecto a los efectos de la suplementación, es de destacar que el grupo ubiquinol registró una disminución significativa en comparación con el grupo placebo en los valores de MB tras el período de suplementación (T2) y tras completar la segunda sesión de ejercicio (T5). En adición, obtuvo una disminución en la variable CK-MM en T5, en TNNI1 tras la suplementación (T2), y en TNNI2 tras finalizar la primera sesión de ejercicio (T3). Además, en el grupo placebo se registró un incremento significativo en T3 respecto a los valores basales (T1) en las variables CK-MM y TNNI2, mientras que este incremento no se obtuvo en el grupo suplementado. Por tanto, en base a los resultados obtenidos, se puede apreciar como la suplementación con ubiquinol ha resultado ser eficiente para paliar el daño muscular provocado por un ejercicio físico intenso en sujetos entrenados.

Es necesario apuntar que los incrementos registrados en las variables séricas de daño muscular tras la realización de ejercicio son generalmente más bajos en sujetos entrenados en comparación con sujetos no entrenados (Vincent & Vincent, 1997), configurándose el nivel de entrenamiento o condición física, así como la duración e intensidad del ejercicio y el nivel de actividad posterior, como factores determinantes del daño muscular tras la realización de ejercicio. Por ello, teniendo en cuenta el hecho de que la muestra en el presente estudio esté constituida por sujetos entrenados, puede que el efecto de la suplementación no haya sido tan acusado como si se hubiese realizado en sujetos sedentarios.

Los resultados obtenidos en el presente estudio están de acuerdo con los logrados en otros estudios (Kon et al., 2008; Díaz-Castro et al., 2012). Kon et al. (2008) demostraron que una suplementación con CoQ10 (300 mg/día durante 2 semanas) redujo el incremento en las concentraciones de creatina quinasa (CK) y mioglobina (MB) inducido por el ejercicio realizado en un campus de entrenamiento que provocó daño muscular, en atletas de kendo, concluyendo que la suplementación con CoQ10 es útil para reducir el daño muscular inducido por el ejercicio en atletas.

Por otro lado, Díaz-Castro et al. (2012) registraron una disminución significativa en el grupo tratado con CoQ10 en los niveles de creatinina en orina en comparación con el placebo tras la realización de una prueba intensa y, puesto que el ejercicio físico intenso provoca un aumento neto en el catabolismo de proteínas y un aumento en la excreción de creatinina (Banfi et al., 2009), esta reducción en los niveles de creatinina podría asociarse, indirectamente, con un menor daño muscular inducido por el ejercicio debido a la suplementación con CoQ10.

Sin embargo, los estudios que han evaluado los efectos de una suplementación con CoQ10 en humanos muestran una cierta inconsistencia en los resultados. Faff et

al. (1997) determinaron que una suplementación con CoQ10 (100 mg/día durante 30 días) no produjo cambios significativos en las concentraciones plasmáticas de CK y AST en el grupo suplementado respecto al placebo tras la realización de 2 pruebas intensas en cicloergómetro. Igualmente, Kaikkonen et al. (1998) afirmaron que una suplementación con CoQ10 y D- $\alpha$ -tocoferol acetato no afectó a la concentración plasmática de CK tras finalizar una carrera de maratón. Kon et al. (2008) señalaron como posible causa de la diferencia en los resultados entre su estudio y el realizado por Kaikkonen et al. (1998), la dosis de CoQ10 empleada, 300 mg/día y 90 mg/día respectivamente, apuntando que existe la posibilidad de que el daño muscular inducido por el ejercicio no se haya visto reducido en el citado estudio debido a que la ingesta de CoQ10 necesaria para aumentar las concentraciones de CoQ10 en el tejido muscular ha de ser mayor.

En la misma línea, en un estudio posterior (Mizuno et al., 2008) no se informó de cambios significativos en la concentración de CK y AST tras la realización de una prueba de esfuerzo en cicloergómetro, después de una suplementación con CoQ10 (100 ó 300 mg durante 8 días). Asimismo, Ostman et al. (2012) no encontraron diferencias significativas en los niveles de CK en sujetos moderadamente entrenados suplementados con CoQ10 (90 mg/día durante 8 semanas) tras la realización de varios test de esfuerzo.

Por último, el único estudio (Kizaki et al., 2015) que ha evaluado los efectos de una suplementación con ubiquinol (600 mg/día durante 11 días) sobre el daño muscular inducido por el ejercicio realizado durante un campus de entrenamiento intensivo de kendo, determinó que las concentraciones plasmáticas de CK y MB, en atletas jóvenes, aumentaron significativamente durante el campus, aunque no se registraron diferencias significativas entre los grupos ubiquinol y placebo. Los autores apuntaron como una posible explicación de la inconsistencia en los resultados respecto al estudio realizado por Kon et al. (2008), el grado de intensidad del ejercicio realizado durante el campus, que pudo no haber sido tan severo en comparación con la citada investigación; provocando un daño muscular relativamente moderado.

Es necesario apuntar en este apartado que los resultados de estas investigaciones respecto a las variables de troponina y creatina quinasa, pueden diferir de los obtenidos en el presente estudio, debido también a que en la presente investigación se han medido tanto la isoforma asociada al músculo esquelético de la creatina quinasa (CK-MM) como la Troponina I de tipo 1 y 2 del músculo esquelético, de contracción lenta y contracción rápida respectivamente (TNNI1 y TNNI2); por lo que la especificidad de estas variables, respecto al daño producido en el músculo esquelético, es mayor que en la CK o la TNI y TNT que usualmente se determinan en la mayoría de las investigaciones, ya que estos parámetros contienen, además, las isoformas del tejido cerebral y cardiaco.

Por tanto, a pesar de que la producción científica respecto a los efectos de la suplementación con CoQ10 sobre el daño muscular provocado por el ejercicio es escasa, y los resultados muestran una cierta discrepancia, en base a los resultados obtenidos en la presente investigación, parece ser que el ubiquinol posee el potencial para reducir el daño muscular. Sin embargo, es necesario apuntar que, como se ha comentado en apartados anteriores, los marcadores sanguíneos de daño muscular no necesariamente reflejan qué eventos ocurren localmente, de forma específica dentro del músculo durante el ejercicio; por ello, es necesaria una mayor investigación en este campo, especialmente, mediante estudios detallados usando muestras de músculo esquelético humano y/o animal en futuras investigaciones.

### **3. Efecto de la suplementación sobre el rendimiento físico**

---

Finalmente, uno de los objetivos de la presente investigación ha sido evaluar si la suplementación con ubiquinol mejora el rendimiento físico en sujetos sanos entrenados, por medio del estudio de valores promedio registrados en un circuito de musculación (carga o peso desplazado, número de repeticiones y percepción del esfuerzo), así como la fuerza muscular desarrollada en el ejercicio de press banca en máquina Smith (velocidad fuerza máxima, fuerza máxima y potencia), durante la realización de un protocolo de ejercicio físico intenso.

Durante el ejercicio, la carga de trabajo induce a una sensación de esfuerzo que aumenta gradualmente, pudiendo ser tan intensa que provoque una reducción de la carga de trabajo o, incluso, interrumpir el ejercicio. En este sentido, está bien documentado en la literatura científica que la inflamación local y sistémica, el estrés oxidativo y el daño muscular inducidos por el ejercicio extenuante, deterioran la función del músculo esquelético (Davis et al., 2007) induciendo a un estado de fatiga y, algunos autores han relacionado este efecto con déficits de rendimiento durante la competencia ejercicio (Baldwin Lanier, 2003; Robson-Ansley et al., 2004).

En este contexto, como se ha expuesto en apartados anteriores, la suplementación con CoQ10 ha demostrado afectar a variables relacionadas con el ejercicio, tanto en sujetos sanos como en condiciones patológicas y, este efecto parece estar mediado por una mejora en la producción de energía, una reducción del estrés oxidativo, daño muscular e inflamación por su capacidad antioxidante, un mejor uso del consumo de oxígeno en los músculos periféricos y, finalmente, una estimulación de

la actividad del sistema nervioso autónomo durante el ejercicio. No obstante, los estudios que han investigado el potencial efecto ergogénico de la CoQ10 en sujetos sanos han reportado resultados mixtos y, su efecto sobre el rendimiento físico ha sido, durante mucho tiempo, un tema que ha generado una cierta controversia.

Para evaluar el efecto de la suplementación con ubiquinol sobre el rendimiento físico en la presente investigación, se ha llevado a cabo un protocolo de ejercicio intenso de carácter anaeróbico-aeróbico, cuya carga de trabajo mínima correspondió, aproximadamente, con el 60-70% de la fuerza dinámica o repetición máxima (1RM).

Conforme a los resultados obtenidos en el presente estudio en relación a algunos de los parámetros de rendimiento evaluados, se puede apreciar un efecto debido a la suplementación con ubiquinol, ya que se han observado varias mejoras interesantes en el grupo suplementado en comparación con el placebo en algún punto. En el grupo suplementado con ubiquinol se observó un aumento significativo en el promedio de la carga desplazada (kg) en ambas series (S1 y S2) de la segunda sesión de ejercicio (E2), mientras que, en cuanto al promedio en el número de repeticiones, se observó un incremento significativo en ambas series de la primera sesión de ejercicio (E1). Por tanto, estos hallazgos muestran una cierta mejora en el rendimiento debida a la suplementación con ubiquinol, siendo interesante apuntar que, si bien la carga ha aumentado en la segunda sesión y no en la primera, lo contrario sucede respecto al nº de repeticiones, lo cual pudo ser debido al efecto ergogénico producido por la suplementación, al incrementar la carga en la segunda sesión, lo que, a su vez, provocó que no se registrasen diferencias significativas entre grupos en el nº de repeticiones.

Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos en otros estudios previos que han evaluado los efectos de una suplementación con CoQ10 sobre el rendimiento en el ejercicio. Cinquegrana et al. (1987) mostraron que una suplementación con CoQ10 produjo un aumento significativo en la carga de trabajo en una prueba aeróbica máxima hasta el agotamiento (Test en cicloergómetro: incrementos de 20 W cada 2 minutos, sobre una base de 50 W) en comparación con el grupo control en sujetos sedentarios. Igualmente, Ylikoski et al. (1997) demostraron que la suplementación con CoQ10 causó un aumento en el  $VO_2$ máx y en los umbrales aeróbico y anaeróbico en esquiadores de fondo profesionales y, además, observaron una tendencia de mejora en la eliminación del ácido láctico. Igualmente, Faff et al. (1997) determinaron que una suplementación con CoQ10 provocó mejoras significativas en la capacidad anaeróbica en soldados durante un protocolo de ejercicio supramáximo en cicloergómetro.

Por otro lado, los resultados registrados respecto a la fuerza muscular desarrollada en el ejercicio de press banca en máquina Smith durante el circuito de musculación arrojan, igualmente, mejoras en el rendimiento muscular debidas a la suplementación con ubiquinol. En referencia a la fuerza máxima, el grupo ubiquinol obtuvo un incremento significativo en comparación con el grupo placebo en ambos

ejercicios (2 y 6) de press banca en la primera serie (S1) de la primera sesión de ejercicio (E1), así como en el primer ejercicio (2) de la primera serie (S1) de la segunda sesión de ejercicio (E2). En cuanto a los datos obtenidos en la potencia desarrollada, el grupo suplementado con ubiquinol también registró un aumento respecto al grupo placebo en el segundo ejercicio (6) en ambas series (S1 y S2) de ambas sesiones de ejercicio (E1 y E2). Respecto a la velocidad de potencia máxima, el grupo suplementado obtuvo mejoras respecto al placebo únicamente en el primer ejercicio (2) de la primera serie (S1) en la primera sesión de ejercicio (E1), no obstante se puede apreciar una tendencia positiva, aunque no significativa, en el grupo ubiquinol en el resto de puntos en ambas sesiones.

Estos hallazgos, igualmente, están en línea con los obtenidos en otros estudios, aunque el protocolo de ejercicio supramáximo empleado haya sido distinto. Por ejemplo, Gökbel et al. (2010), informaron que una suplementación con CoQ10 mejoró la potencia media durante episodios repetidos de ejercicio supramáximo (Wingate test) en sujetos sedentarios, concluyendo que la CoQ10 presenta la capacidad de potenciar el rendimiento. También, Mizuno et al. (2008) informaron que una suplementación de corta duración con CoQ10 produjo mejoras en el rendimiento físico durante una prueba de esfuerzo en cicloergómetro supramáxima en sujetos sanos (80% de la frecuencia cardiaca en el umbral anaeróbico; 4 h de duración; velocidad máxima de pedaleo sin carga durante 10 s a los 30 y 210 min desde el inicio) y, sus conclusiones se debieron, principalmente, a que el grupo suplementado registró de forma significativa una menor disminución en la velocidad máxima en el minuto 210 respecto al 30 en comparación con el placebo. En otro estudio, Cooke et al. (2008) demostraron que tanto una suplementación aguda (200 mg, 60 min antes del ejercicio) como una suplementación de corta duración con CoQ10 (200 mg/día durante 14 días) no afectaron de forma significativa al tiempo hasta el agotamiento durante el ejercicio aeróbico, aunque sí observaron una tendencia positiva en el grupo suplementado durante 2 semanas.

Hasta la fecha, pocos son los estudios que han evaluado el efecto de una suplementación con ubiquinol sobre el rendimiento en el ejercicio en humanos (Bloomer et al., 2012; Alf et al., 2013). Ambos estudios fueron realizados con sujetos entrenados y los resultados difieren entre sí. En el estudio realizado por Bloomer et al. (2012) se proporcionó una dosis suficiente (300 mg/día durante 4 semanas) que incrementó significativamente los niveles plasmáticos de CoQ10 aunque, a pesar de esta elevación, no se observó ningún beneficio significativo en el rendimiento para las pruebas de ejercicio aeróbico o anaeróbico; sin embargo, apuntaron que individuos seleccionados parecieron responder a la suplementación, en particular con respecto a la prueba de cycle sprint test, ya que observaron que la relación entre el porcentaje de cambio en la CoQ10 total en sangre y el rendimiento respecto al trabajo total en el cycle sprint test ( $R^2 = 0.6009$ ) fue de moderado a fuerte, por lo que estos hallazgos

proporcionan alguna indicación de que los niveles más altos de CoQ10 total en sangre parecen estar relacionados con un mayor rendimiento en este test.

Por otra parte, Alf et al. (2013) demostraron que una suplementación diaria de 300 mg de ubiquinol durante 6 semanas mejoró significativamente el rendimiento medido como potencia máxima en +0,08 W/kg de peso corporal (+2,5%) en el grupo suplementado respecto al placebo, siendo esta la única medida evaluada en un test en cicloergómetro a máxima potencia hasta alcanzar el umbral de lactato de 4 mmol y, además, también concluyeron que la adherencia a un régimen de entrenamiento exigente, debido a que los sujetos evaluados fueron atletas olímpicos de élite en fase de preparación, dio como resultado una mejora en la potencia pico, aunque la suplementación con ubiquinol aumentó significativamente la potencia pico en valores absolutos en comparación con el placebo.

Otro estudio que examinó cómo la capacidad de ejercicio y el sistema de regulación del estrés oxidativo se ven afectados por diferentes cantidades de ubiquinol (300 mg versus 30 mg) a largo plazo en ratas (Maruoka et al., 2014) no observó diferencias significativas respecto al tiempo total empleado en tapiz rodante hasta el agotamiento entre ambos grupos, sin embargo, detectaron una disminución del 15,1% en el cambio porcentual en la velocidad media desde el inicio hasta los 10 meses en el grupo suplementado con 300 mg respecto al grupo suplementado con 30 mg, hecho que determinó que los autores sugiriesen que el consumo de altas dosis de ubiquinol inhibe las disminuciones porcentuales en el tiempo de carrera, existiendo una relación entre la dosificación y el mantenimiento de los efectos fisiológicos asociados con el tiempo.

Por tanto, parece ser que no sólo el metabolismo del músculo cardíaco aumenta con la activación mitocondrial (aumento del gasto cardíaco), sino que la demanda de oxígeno de la musculatura activa también es compensada adecuadamente por acciones como la disminución de la resistencia vascular periférica debida a la suplementación (Maruoka et al., 2014). De hecho, Kizaki et al. (2014) notificaron un efecto hipotensor en SBP tras una suplementación con ubiquinol (600 mg/día durante 11 días) en atletas jóvenes de kendo durante un campus intensivo de entrenamiento, produciendo mejoras en la resistencia vascular periférica por vasodilatación, apuntando que este efecto debido a la suplementación puede aparecer a corto plazo sólo bajo circunstancias con cambios agudos en la sobreproducción de estrés oxidativo inducida por el ejercicio, como en el caso de la presente investigación. Anteriormente, los datos de un meta-análisis donde 12 ensayos clínicos fueron evaluados, ya indicaron que la CoQ10 presenta el potencial para reducir la SBP hasta 17 mmHg y la DBP hasta 10 mmHg en pacientes hipertensos sin efectos secundarios significativos (Rosenfeldt et al., 2007).

Desde otra perspectiva, otro estudio (Zheng & Moritani, 2008) informó de un aumento en la actividad del sistema nervioso autónomo durante el ejercicio tras una suplementación aguda con CoQ10, lo cual puede asociarse con una mejora en el metabolismo energético durante el ejercicio, configurándose este hecho como una posible explicación para los resultados obtenidos en el presente estudio. Zuliani et al. (1989) evaluaron los efectos de una suplementación sobre los cambios metabólicos inducidos por el ejercicio prolongado en cicloergómetro en sujetos no entrenados, informando que el grupo CoQ10 registró niveles plasmáticos de ácidos grasos libres significativamente más bajos respecto al placebo tras el ejercicio, lo cual podría estar relacionado con una mejora en la absorción y oxidación de éstos, lo que sugiere una mayor eficiencia en el metabolismo de las grasas mediada por la suplementación.

En la misma línea, en el estudio realizado por Díaz-Castro et al. (2012) no se encontraron diferencias entre el grupo suplementado con CoQ10 y el placebo respecto a los niveles plasmáticos de colesterol y fosfolípidos; sin embargo, se registró una disminución en los niveles de triglicéridos asociada con el ejercicio en ambos grupos, siendo las concentraciones más altas en el grupo suplementado con CoQ10 en comparación con el placebo y, teniendo en cuenta que altos niveles de triglicéridos durante el ejercicio mejoran la actividad del músculo esquelético y la capacidad de ejercicio (Hawley, 2002), este hallazgo podría indicar un efecto ergogénico potencial de la CoQ10.

Desde otro ángulo, como se ha comentado anteriormente, la fatiga es un concepto multifuncional y complejo que abarca aspectos psicológicos. Los cambios físicos y bioquímicos durante el ejercicio son efectos fisiológicos, los cuales pueden ser cuantificados de forma objetiva, sin embargo, la fatiga también es una entidad psicológica, lo que representa, por añadidura, una concepción de variable subjetiva y mental (Ament & Verkerke, 2009). Por tanto, la fatiga inducida por el ejercicio físico agudo intenso o extenuante es un fenómeno complejo caracterizado por los múltiples síntomas, tanto de origen fisiológico como psicológico, que pueden ocurrir simultáneamente durante la competencia del ejercicio; es por ello que en el presente estudio también se ha evaluado el componente psicológico de ésta, por medio de la percepción del esfuerzo a través de la escala OMNI-RES (Robertson et al., 2003).

Con respecto a la percepción del esfuerzo percibido en el presente estudio, en ambos grupos se observó una mayor percepción del esfuerzo en la segunda serie de ambas sesiones de ejercicio y sólo se observaron diferencias significativas entre ambos grupos en la primera serie (S1) de la primera sesión de ejercicio (E1), observándose un efecto positivo debido a la suplementación en este punto. Este hallazgo difiere del obtenido en el estudio realizado por Bloomer et al. (2012), donde también se empleó el ubiquinol como suplemento. No obstante, Mizuno et al. (2008) detectaron una mejoría en el grupo suplementado con CoQ10 respecto al placebo en la sensación de



fatiga subjetiva después del ejercicio y en el período de recuperación. Igualmente, Porter et al. (1995) también informaron de un aumento en la percepción de vigor en el grupo CoQ10 en la condición de reposo, e Ylikoski et al. (1997) informaron que el 70% de los sujetos suplementados con CoQ10 expresaron efectos positivos debidos a la suplementación tanto durante el ejercicio como después de la recuperación de la fatiga.

Por lo tanto, este estudio proporciona evidencia científica de que el ubiquinol es un compuesto seguro que produce mejoras en el rendimiento y funcionalidad muscular en el ejercicio en sujetos sanos entrenados, debido a que la suplementación ha dado como resultado incrementos en variables como la carga (peso desplazado en kg) y número de repeticiones en un circuito de musculación intenso, así como mejoras en la fuerza muscular, potencia y velocidad de potencia máxima en el ejercicio de press banca en máquina Smith. Además, propociona mejoras en variables de componente psicológico como la percepción del esfuerzo realizado. El aumento observado en el rendimiento en el ejercicio podría deberse a una combinación de distintos factores como una reducción del daño oxidativo y muscular y/o una mayor protección antioxidante (efectos ya demostrados en la presente investigación) además de una mejora en el metabolismo energético, mediados por un incremento en la concentración de CoQ10 en sangre y a nivel muscular, ya que, según Alf et al. (2013) una mayor actividad mitocondrial mejora la producción de ATP y una mayor presencia de ubiquinol en las mitocondrias contribuye a una mayor síntesis de ATP.

No obstante, se necesitan investigaciones futuras para dilucidar los mecanismos exactos por los que una suplementación con ubiquinol produce mejoras en el rendimiento físico, para lo cual sería necesario realizar, como se ha comentado, estudios detallados donde se extrajesen muestras de músculo esquelético humano y/o animal para así conocer los mecanismos que tienen lugar a nivel muscular. Además, también sería necesario realizar estudios que involucrasen a un mayor número de sujetos, así como evaluar los efectos de distintos protocolos de suplementación (dosis y tiempo), especialmente con ubiquinol, ya que se ha demostrado su mayor biodisponibilidad respecto a la tradicional ubiquinona y el número de estudios que han evaluado sus efectos hasta el momento es muy escaso.



## **CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES**

---



## CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos en la presente investigación, se pueden extraer las conclusiones que se enumeran a continuación:

1. El protocolo de ejercicio físico intenso llevado a cabo en el presente estudio ha inducido a daño oxidativo y muscular, revelando el carácter acumulativo de éste tras finalizar la segunda sesión, de acuerdo con los resultados obtenidos en las distintas variables de daño oxidativo y muscular evaluadas.
2. La suplementación con ubiquinol de dos semanas de duración (200 mg/día) previa a la realización del protocolo de ejercicio intenso, ha mostrado un efecto beneficioso sobre el daño oxidativo inducido por el ejercicio en sujetos sanos entrenados, ya que ha reducido la concentración de 8-OHdG en plasma y orina, PC en membrana de eritrocitos, peróxidos de lípidos y Ox-LDL en plasma, e isoprostanos en orina en algún punto, demostrándose el efecto protector de este compuesto frente al estrés oxidativo inducido por el ejercicio.
3. La suplementación con ubiquinol de dos semanas de duración (200 mg/día) previa a la realización del protocolo de ejercicio intenso, ha mostrado un efecto beneficioso sobre la defensa antioxidante en sujetos sanos entrenados, ya que produjo incrementos en la capacidad antioxidativa plasmática total, en la concentración de antioxidantes liposolubles, y en los niveles de CAT.
4. La suplementación con ubiquinol de dos semanas de duración (200 mg/día) previa a la realización del protocolo de ejercicio intenso, ha mostrado un efecto beneficioso sobre el daño muscular inducido por el ejercicio en sujetos sanos entrenados, ya que redujo la concentración de CK-MM, de TNNI1 y TNNI2, y de MB en algún punto. Además, la suplementación mantuvo los niveles de NO dentro de un rango estrecho, mientras que disminuyó progresivamente en el grupo placebo, lo cual podría suponer mejoras en la función endotelial, en el suministro de sustratos energéticos y en la recuperación muscular.
5. La suplementación con ubiquinol de dos semanas de duración (200 mg/día) previa a la realización del protocolo de ejercicio, ha mostrado un efecto ergogénico produciendo mejoras en el rendimiento físico durante el ejercicio en sujetos sanos entrenados, ya que produjo incrementos en la carga y en el número de repeticiones, así como mejoras en la fuerza muscular desarrollada en press banca (Máquina Smith), incrementando la fuerza máxima, la potencia, y la velocidad de potencia máxima en algún punto. Además, la suplementación ha producido mejoras en variables de componente psicológico, como la percepción del esfuerzo realizado.

- 6. Conclusión general:** La suplementación con ubiquinol de corta duración previa a la realización de un ejercicio físico intenso, ha demostrado ser una estrategia nutricional segura y eficaz para reducir el daño oxidativo y muscular inducido por el ejercicio y, además, puede proporcionar mejoras en el rendimiento por su potencial ergogénico.

## **CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

---





Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126.

Aguiló, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J. A., Cordova, A., & Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology & Behavior*, 84, 1-7.

Alcázar-Fabra, M., Navas, P., & Brea-Calvo, G. (2016). Coenzyme Q biosynthesis and its role in the respiratory chain structure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1857, 1073-1078. doi: 10.1016/j.bbabi.2016.03.010.

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.

Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological Reviews*, 88, 287-332. doi: 10.1152/physrev.00015.2007.

Amadio E., Palermo R., Peloni G., & Littarru G. P. (1991). Effect of CoQ10 administration on VO<sub>2</sub>max and diastolic function in athletes. In K. Folkers, G.P. Littarru and T. Yamagami (Eds.). *Biomedical and clinical aspects of Coenzyme Q10*, Vol. 6, 525–533. Amsterdam, Holland: Elsevier/North-Holland.

Ament, W. & Verkerke, G. J. (2009). Exercise and fatigue. *Sports Medicine*, 39, 389-422. doi: 10.2165/00007256-200939050-00005.

American College of Sports Medicine. (2014). ACSM's Guidelines for Exercise Testing and Prescription, ninth edition. Philadelphia, USA: Lippincott, Williams & Wilkins.

Andersson, M., Elmberger, P. G., Edlund, C., Kristensson, K., & Dallner, G. (1990). Rates of cholesterol, ubiquinone, dolichol and dolichyl-P biosynthesis in rat brain slices. *FEBS Letters*, 269, 15-18.

Areces, F., González-Millán, C., Salinero, J. J., Abian-Vicen, J., Lara, B., Gallo-Salazar, C., Ruiz-Vicente, D., & Del Coso, J. (2015). Changes in Serum Free Amino Acids and Muscle Fatigue Experienced during a Half-Ironman Triathlon. *PLOS ONE*, 10(9), e0138376. doi: 10.1371/journal.pone.0138376.

Armanfar, M., Jafari, A., Dehghan, G. R., & Abdizadeh, L. (2015). Effect of coenzyme Q10 supplementation on exercise-induced response of inflammatory indicators and blood lactate in male runners. *Medical Journal of The Islamic Republic of Iran*, 29, 202.

Ascensão, A., Rebelo, A., Oliveira, E., Marques, F., Pereira, L., & Magalhaes, J. (2008). Biochemical impact of a soccer match - analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. *Clinical Biochemistry*, 41, 841-851. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2008.04.008.

- Bailey, D. M., Davies, B., & Young, I. S. (2001). Intermittent hypoxic training: implications for lipid peroxidation induced by acute normoxic exercise in active men. *Clinical Science (London)*, 101, 465-475.
- Bailey, D. M., Lawrenson, L., McEneny, J., Young, I. S., James, P. E., Jackson, S. K., Henry, R. R., Mathieu-Costello, O., McCord, J.M., & Richardson, R. S. (2007). Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radical Research*, 41, 182-190.
- Baker, M. A., Lane, D. J., Ly, J. D., De, P., V, & Lawen, A. (2004). VDAC1 is a transplasma membrane NADH-ferricyanide reductase. *Journal of Biological Chemistry*, 279, 4811-4819.
- Baldwin, L. A. (2003). Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs following exercise-induced muscle injury. *Sports Medicine*, 33, 177-185.
- Ballmann, C., McGinnis, G., Peters, B., Slivka, D., Cuddy, J., Hailes, W., Dumke, C., Ruby, B., & Quindry, J. (2014). Exercise-induced oxidative stress and hypoxic exercise recovery. *European Journal of Applied Physiology*, 114, 725-733. doi: 10.1007/s00421-013-2806-5.
- Balon, T. W. & Nadler, J. L. (1994). Nitric oxide release is present from incubated skeletal muscle preparations. *Journal of Applied Physiology*, (1985), 77, 2519-2521.
- Bamman, M. M., Cooper, D. M., Booth, F. W., Chin, E. R., Neuffer, P. D., Trappe, S., Lightfoot, J. T., Kraus, W. E., & Joyner, M. J. (2014). Exercise biology and medicine: innovative research to improve global health. *Mayo Clinic Proceedings*, 89, 148-153. doi: 10.1016/j.mayocp.2013.11.013.
- Banfi, G., Del, F. M., & Lippi, G. (2009). Serum creatinine concentration and creatinine-based estimation of glomerular filtration rate in athletes. *Sports Medicine*, 39, 331-337. doi: 10.2165/00007256-200939040-00005.
- Barrès, R., Yan, J., Egan, B., Treebak, J. T., Rasmussen, M., Fritz, T., Caidahl, K., Krook, A., O'Gorman, D. J., & Zierath, J. R. (2012). Acute exercise remodels promoter methylation in human skeletal muscle. *Cell Metabolism*, 15, 405-411. doi: 10.1016/j.cmet.2012.01.001.
- Battino, M., Ferri, E., Gorini, A., Villa, R. F., Rodriguez Huertas, J. F., Fiorella, P., Genova, M. L., Lenaz, G., & Marchetti, M. (1990). Natural distribution and occurrence of coenzyme Q homologues. *Membrane Biochemistry*, 9, 179-190.
- Beg, S., Javed, S., & Kohli, K. (2010). Bioavailability enhancement of coenzyme Q10: an extensive review of patents. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 4, 245-255.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Belardinelli, R., Mucaj, A., Lacalaprice, F., Solenghi, M., Seddaiu, G., Principi, F., Tiano, L., & Littarru, G. P. (2006). Coenzyme Q10 and exercise training in chronic heart failure. *European Heart Journal*, 27, 2675-2681.

Belviranli M., and Okudan N. (2015). Well-Known Antioxidants and Newcomers in Sport Nutrition: Coenzyme Q10, Quercetin, Resveratrol, Pterostilbene, Pycnogenol and Astaxanthin. In M. Lamprecht (Ed.). *Antioxidants in Sport Nutrition*, Chapter 5. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK299046/>

Bentinger, M., Brismar, K., & Dallner, G. (2007). The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion*, 7 Suppl, S41-S50.

Bentinger, M., Tekle, M., & Dallner, G. (2010). Coenzyme Q-biosynthesis and functions. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 396, 74-79. doi: 10.1016/j.bbrc.2010.02.147.

Bernecker, C., Scherr, J., Schinner, S., Braun, S., Scherbaum, W. A., & Halle, M. (2013). Evidence for an exercise induced increase of TNF-alpha and IL-6 in marathon runners. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 23, 207-214. doi: 10.1111/j.1600-0838.2011.01372.x.

Bhagavan, H. N. & Chopra, R. K. (2006). Coenzyme Q10: absorption, tissue uptake, metabolism and pharmacokinetics. *Free Radical Research*, 40, 445-453.

Bhagavan, H. N., Chopra, R. K., Craft, N. E., Chitchumroonchokchai, C., & Failla, M. L. (2007). Assessment of coenzyme Q10 absorption using an in vitro digestion-Caco-2 cell model. *International Journal of Pharmaceutics*, 333, 112-117.

Bijsterbosch, M. K., Duursma, A. M., Smit, M. J., Bos, O. J., Bouma, J. M., & Gruber, M. (1985). Several dehydrogenases and kinases compete for endocytosis from plasma by rat tissues. *Biochemical Journal*, 229, 409-417.

Bjelakovic, G., Nikolova, D., Glud, L. L., Simonetti, R. G., & Glud, C. (2007). Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 297, 842-857.

Bloomer, R. J. & Goldfarb, A. H. (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 29, 245-263.

Bloomer, R. J., Goldfarb, A. H., & McKenzie, M. J. (2006). Oxidative stress response to aerobic exercise: comparison of antioxidant supplements. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38, 1098-1105.

- Bloomer, R. J., Davis, P. G., Consitt, L. A., & Wideman, L. (2007). Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *International Journal of Sports Medicine*, 28, 21-25.
- Bloomer, R. J., Canale, R. E., McCarthy, C. G., & Farney, T. M. (2012). Impact of oral ubiquinol on blood oxidative stress and exercise performance. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, 465020. doi: 10.1155/2012/465020.
- Bonakdar, R. A. & Guarneri, E. (2005). Coenzyme Q10. *American Family Physician*, 72, 1065-1070.
- 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. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 40, 51-57.
- Booth, F. W., & Neufer, P. D. (2012). Exercise Genomics and Proteomics. In P. A. Farrell, M. J. Joyner, and V. J. Caiozzo (Eds.). *ACSM's Advanced Exercise Physiology, Second Edition*, 669-698. Baltimore, MD, USA: Lippincott, Williams & Wilkins.
- Booth, F. W., Roberts, C. K., & Laye, M. J. (2012). Lack of exercise is a major cause of chronic diseases. *Comprehensive Physiology*, 2, 1143-1211. doi: 10.1002/cphy.c110025.
- Boström, P. A., Graham, E. L., Georgiadi, A., & Ma, X. (2013). Impact of exercise on muscle and nonmuscle organs. *IUBMB Life*, 65, 845-850. doi: 10.1002/iub.1209.
- Brancaccio, P., Maffulli, N., Buonauro, R., & Limongelli, F. M. (2008). Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clinics in Sports Medicine*, 27, 1-18, VII. doi: 10.1016/j.csm.2007.09.005.
- Brancaccio, P., Lippi, G., & Maffulli, N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48, 757-767. doi: 10.1515/CCLM.2010.179.
- Braun, B., Clarkson, P. M., Freedson, P. S., & Kohl, R. L. (1991). Effects of coenzyme Q10 supplementation on exercise performance, VO<sub>2</sub>max, and lipid peroxidation in trained cyclists. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 1, 353-365.
- Brea-Calvo, G., Siendones, E., Sánchez-Alcazar, J. A., de Cabo R., & Navas, P. (2009). Cell survival from chemotherapy depends on NF-kappaB transcriptional up-regulation of coenzyme Q biosynthesis. *PLOS ONE*, 4, e5301. doi: 10.1371/journal.pone.0005301.
- Brightman, A. O., Wang, J., Miu, R. K., Sun, I. L., Barr, R., Crane, F. L., Morré, D. J. (1992). A growth factor- and hormone-stimulated NADH oxidase from rat liver plasma membrane. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1105, 109-117.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brown, M. S. & Goldstein, J. L. (1980). Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. *Journal of Lipid Research*, 21, 505-517.

Brown, S., Day, S., & Donnelly, A. (1999). Indirect evidence of human skeletal muscle damage and collagen breakdown after eccentric muscle actions. *Journal of Sports Sciences*, 17, 397-402.

Buczynski, A., Kedziora, J., Tkaczewski, W., & Wachowicz, B. (1991). Effect of submaximal physical exercise on antioxidative protection of human blood platelets. *International Journal of Sports Medicine*, 12, 52-54.

Burke, L. M., Castell, L. M., & Stear, S. J. (2009). BJSM reviews: A-Z of supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance Part 1. *British Journal of Sports Medicine*, 43, 728-729. doi: 10.1136/bjism.2009.063941.

Butler, J. P., Loring, S. H., Patz, S., Tsuda, A., Yablonskiy, D. A., & Mentzer, S. J. (2012). Evidence for adult lung growth in humans. *The New England Journal of Medicine*, 367, 244-247. doi: 10.1056/NEJMoa1203983.

Butterfield, T. A., Best, T. M., & Merrick, M. A. (2006). The dual roles of neutrophils and macrophages in inflammation: a critical balance between tissue damage and repair. *Journal of Athletic Training*, 41, 457-465.

Byrne, C., Twist, C., & Eston, R. (2004). Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage: theoretical and applied implications. *Sports Medicine*, 34, 49-69.

Cannon, J. G. & St Pierre, B. A. (1998). Cytokines in exertion-induced skeletal muscle injury. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 179, 159-167.

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, 126-131.

Chakravarty, E. F., Hubert, H. B., Lingala, V. B., & Fries, J. F. (2008). Reduced disability and mortality among aging runners: a 21-year longitudinal study. *Archives of Internal Medicine*, 168, 1638-1646. doi: 10.1001/archinte.168.15.1638.

Chang, C. K., Tseng, H. F., Hsuuw, Y. D., Chan, W. H., & Shieh, L. C. (2002). Higher LDL oxidation at rest and after a rugby game in weekend warriors. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 46, 103-107.

Chapman, D., Newton, M., Sacco, P., & Nosaka, K. (2006). Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 591-598.

Chen, T. C., Lin, K. Y., Chen, H. L., Lin, M. J., & Nosaka, K. (2011). Comparison in eccentric exercise-induced muscle damage among four limb muscles. *European Journal of Applied Physiology*, 111, 211-223. doi: 10.1007/s00421-010-1648-7.

Christianson, M. S. & Shen, W. (2013). Osteoporosis prevention and management: nonpharmacologic and lifestyle options. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 56, 703-710. doi: 10.1097/GRF.0b013e3182a9d15a.

Cinquegrana, G., Meccariello, P., Spinelli, L., Romano, M., Sotgiu, P., Cristiano, C., Ferrara, M., & Giardino, L. (1987). [Effects of coenzyme Q10 on physical exercise tolerance and cardiac performance in normal untrained subjects]. *La Clinica Terapeutica*, 123, 15-20.

Clarkson, P. M., Byrnes, W. C., McCormick, K. M., Turcotte, L. P., & White, J. S. (1986). Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 7, 152-155.

Close, G. L., Ashton, T., Cable, T., Doran, D., Holloway, C., McArdle, F., & MacLaren, D. P. (2006). Ascorbic acid supplementation does not attenuate post-exercise muscle soreness following muscle-damaging exercise but may delay the recovery process. *British Journal of Nutrition*, 95, 976-981.

Cluis, C. P., Burja, A. M., & Martin, V. J. (2007). Current prospects for the production of coenzyme Q10 in microbes. *Trends in Biotechnology*, 25, 514-521.

Coker, R. H. & Kjaer, M. (2005). Glucoregulation during exercise: the role of the neuroendocrine system. *Sports Medicine*, 35, 575-583.

Cooke, M., Iosia, M., Buford, T., Shelmadine, B., Hudson, G., Kerkick, C. et al. (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.

Cordero, M. D., Moreno-Fernández, A. M., Gomez-Skarmeta, J. L., de Miguel, M., Garrido-Maraver, J., Oropesa-Avila, M. et al. (2009). Coenzyme Q10 and alpha-tocopherol protect against amitriptyline toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 235, 329-337.

Córdova, A., & Álvarez de Mon, M. (2001). Inmunidad y deporte. Madrid, Spain: Ed. Gymnos.

Córdova, A. (2010). Los inmunomoduladores frente a la inflamación y daño muscular originados por el ejercicio. *Apunts Medicina de l'Esport*, 45, 265-270.

Crane, F. L., Hatefi, Y., Lester, R. L., & Widmer, C. (1957). Isolation of a quinone from beef heart mitochondria. 1989. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1000, 362-363.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Crane, F. L. (2001). Biochemical functions of coenzyme Q10. *Journal of the American College of Nutrition*, 20, 591-598.

Czerska, M., Zieliński, M., & Gromadzińska, J. (2016). Isoprostanes - A novel major group of oxidative stress markers. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 29, 179-190. doi: 10.13075/ijomeh.1896.00596.

Daar, A. S., Singer, P. A., Persad, D. L., Pramming, S. K., Matthews, D. R., Beaglehole, R. et al. (2007). Grand challenges in chronic non-communicable diseases. *Nature*, 450, 494-496.

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., & Milzani, A. (2006). Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clinical Chemistry*, 52, 601-623.

Dallner, G. & Sindelar, P. J. (2000). Regulation of ubiquinone metabolism. *Free Radical Biology & Medicine*, 29, 285-294.

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, R2168-R2173.

Davison, 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, 465-479.

de Aguiar, R. A., Cruz, R. S., Turnes, T., Pereira, K. L., & Caputo, F. (2015). Relationships between VO<sub>2</sub> and blood lactate responses after all-out running exercise. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 40, 263-268. doi: 10.1139/apnm-2014-0364.

de Grey, A. D. (2001). A proposed mechanism for the lowering of mitochondrial electron leak by caloric restriction. *Mitochondrion*, 1, 129-139.

Deaton, C. M, & Marlin D. J. (2003). Exercise-associated oxidative stress. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 2, 278-291.

Del Pozo-Cruz, J., Rodríguez-Bies, E., Navas-Enamorado, I., Del Pozo-Cruz, B., Navas, P., & López-Lluch, G. (2014). Relationship between functional capacity and body mass index with plasma coenzyme Q10 and oxidative damage in community-dwelling elderly-people. *Experimental Gerontology*, 52, 46-54. doi: 10.1016/j.exger.2014.01.026.

DeMaria, A. N., Neumann, A., Lee, G., Fowler, W., & Mason, D. T. (1978). Alterations in ventricular mass and performance induced by exercise training in man evaluated by echocardiography. *Circulation*, 57, 237-244.

- Deminice, R., Rosa, F. T., Franco, G. S., Jordao, A. A., & de Freitas, E. C. (2013). Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory markers after repeated-sprint exercise in humans. *Nutrition*, 29, 1127-1132. doi: 10.1016/j.nut.2013.03.003.
- Devun, F., Walter, L., Belliere, J., Cottet-Rousselle, C., Leverve, X., & Fontaine, E. (2010). Ubiquinone analogs: a mitochondrial permeability transition pore-dependent pathway to selective cell death. *PLOS ONE*, 5, e11792. doi: 10.1371/journal.pone.0011792.
- Di Giacomo, C., Acquaviva, R., Sorrenti, V., Vanella, A., Grasso, S., Barcellona, M. L., Galvano, F., Vanella, L., & Renis, M. (2009). Oxidative and antioxidant status in plasma of runners: effect of oral supplementation with natural antioxidants. *Journal of Medicinal Food*, 12, 145-150. doi: 10.1089/jmf.2008.0074.
- Di Massimo, C., Scarpelli, P., & Tozzi-Ciancarelli, M. G. (2004). Possible involvement of oxidative stress in exercise-mediated platelet activation. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 30, 313-316.
- Díaz-Castro, J., Guisado, R., Kajarabille, N., García, C., Guisado, I. M., de Teresa, C., & Ochoa, J. J. (2012). Coenzyme Q(10) supplementation ameliorates inflammatory signaling and oxidative stress associated with strenuous exercise. *European Journal of Nutrition*, 51, 791-799.
- Dillard, C. J., Litov, R. E., Savin, W. M., Dumelin, E. E., & Tappel, A. L. (1978). Effects of exercise, vitamin E, and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *Journal of Applied Physiology: respiratory, environmental and exercise physiology*, 45, 927-932.
- Dipasquale, D. M., Bloch, R. J., & Lovering, R. M. (2011). Determinants of the repeated-bout effect after lengthening contractions. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, 90, 816-824. doi: 10.1097/PHM.0b013e3182240b30.
- Echtay, K. S., Winkler, E., Frischmuth, K., & Klingenberg, M. (2001). Uncoupling proteins 2 and 3 are highly active H(+) transporters and highly nucleotide sensitive when activated by coenzyme Q (ubiquinone). *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98, 1416-1421.
- 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, 316-329. doi: 10.1016/j.jacc.2015.11.034.
- Elkington, L. J., Gleeson, M., Pyne, D. B., Callister, R., & Wood, L. G. (2015). Inflammation and Immune Function: Can Antioxidants Help the Endurance Athlete?. In M. Lamprecht (Ed.). *Antioxidants in Sport Nutrition*, Chapter 11. Boca Raton, FL, USA: CRC Press/Taylor & Francis.



Elmberger, P. G., Kalén, A., Brunk, U. T., & Dallner, G. (1989). Discharge of newly-synthesized dolichol and ubiquinone with lipoproteins to rat liver perfusate and to the bile. *Lipids*, 24, 919-930.

Enoka, R. M. (1996). Eccentric contractions require unique activation strategies by the nervous system. *Journal of Applied Physiology* (1985), 81, 2339-2346.

Enoka, R. M. & Fuglevand, A. J. (2001). Motor unit physiology: some unresolved issues. *Muscle Nerve*, 24, 4-17.

Ernster, L. (1993). Lipid peroxidation in biological membranes: Mechanisms and implications. In K. Yagi (Ed.). *Active Oxygens, Lipid Peroxides, and Antioxidants*, 1–38. Boca Raton, FA, USA: CRC Press.

Ernster, L. & Forsmark-Andrée, P. (1993). Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic organisms. *The Clinical investigator*, 71, S60-S65.

Ernster, L. & Dallner, G. (1995). Biochemical, physiological and medical aspects of ubiquinone function. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1271, 195-204.

Ernster, L., Forsmark, P., & Nordenbrand, K. (1992). The mode of action of lipid-soluble antioxidants in biological membranes: relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitors of lipid peroxidation in submitochondrial particles. *Biofactors*, 3, 241-248.

Faff J., Tutak T., Satora P., & Sienkiewicz D. (1997). The influence of ubiquinone on the intense work capacity and on serum activities of creatine kinase and aspartate aminotransferase. *Biology of Sport*, 14, 37-44.

Falone, S., Mirabilio, A., Pennelli, A., Cacchio, M., Di, B. A., Gallina, S., Passerini, A., & Amicarelli, F. (2010). Differential impact of acute bout of exercise on redox- and oxidative damage-related profiles between untrained subjects and amateur runners. *Physiological Research*, 59, 953-961.

Farajian, P., Kavouras, S. A., Yannakoulia, M., & Sidossis, L. S. (2004). Dietary intake and nutritional practices of elite Greek aquatic athletes. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 14, 574-585.

Farrell, P. A., Joyner, M. J., & Caiozzo, V. J. (2012). *ACSM's Advanced Exercise Physiology*, Second Edition. Baltimore, MD, USA: Lippincott, Williams & Wilkins.

Fato, R., Battino, M., Degli, E. M., Parenti, C. G., & Lenaz, G. (1986). Determination of partition and lateral diffusion coefficients of ubiquinones by fluorescence quenching of

n-(9-anthroyloxy)stearic acids in phospholipid vesicles and mitochondrial membranes. *Biochemistry*, 25, 3378-3390.

Fentem, P. H. (1994). ABC of sports medicine. Benefits of exercise in health and disease. *BMJ*, 308, 1291-1295.

Ferreira, F. M., Seica, R., Oliveira, P. J., Coxito, P. M., Moreno, A. J., Palmeira, C. M., & Santos, M. S. (2003). Diabetes induces metabolic adaptations in rat liver mitochondria: role of coenzyme Q and cardiolipin contents. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1639, 113-120.

Festenstein, G. N., Heaton, F. W., Lowe, J. S., & Morton, R. A. (1955). A constituent of the unsaponifiable portion of animal tissue lipids. *Biochemical Journal*, 59, 558-566.

Fiorella P. L., Bargossi A. M., Grossi G., Motta R., Senaldi R., Battino M., Sassi S., Sprovieri G., & Lubich T. (1991). Metabolic effects of coenzyme Q10 treatment in high level athletes. In K. Folkers, G.P. Littarru and T. Yamagami (Eds.). *Biomedical and clinical aspects of Coenzyme Q10*, Vol. 6, 513–520. Amsterdam, Holland: Elsevier/North-Holland.

Fitts, R. H. (1994). Cellular mechanisms of muscle fatigue. *Physiological Reviews*, 74, 49-94.

Fiuza-Luces, C., Garatachea, N., Berger, N. A., & Lucia, A. (2013). Exercise is the real polypill. *Physiology (Bethesda)*, 28, 330-358. doi: 10.1152/physiol.00019.2013.

Fogarty, M. C., Hughes, C. M., Burke, G., Brown, J. C., & Davison, G. W. (2013). Acute and chronic watercress supplementation attenuates exercise-induced peripheral mononuclear cell DNA damage and lipid peroxidation. *British Journal of Nutrition*, 109, 293-301. doi: 10.1017/S0007114512000992.

Forsgren, M., Attersand, A., Lake, S., Grunler, J., Swiezewska, E., Dallner, G., & Climent, I. (2004). Isolation and functional expression of human COQ2, a gene encoding a polyprenyl transferase involved in the synthesis of CoQ. *Biochemical Journal*, 382, 519-526.

Forsmark-Andrée, P., Dallner, G., & Ernster, L. (1995). Endogenous ubiquinol prevents protein modification accompanying lipid peroxidation in beef heart submitochondrial particles. *Free Radical Biology & Medicine*, 19, 749-757.

Frei, B., Kim, M. C., & Ames, B. N. (1990). Ubiquinol-10 is an effective lipid-soluble antioxidant at physiological concentrations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87, 4879-4883.

Fridén, J. & Lieber, R. L. (2001). Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta Physiologica Scandinavica*, 171, 321-326.

Fridovich, I. (1975). Superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry*, 44, 147-159.

Garber, C. E., Blissmer, B., Deschenes, M. R., Franklin, B. A., Lamonte, M. J., Lee, I. M. et al. (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 & Science in Sports & Exercise*, 43, 1334-1359. doi: 10.1249/MSS.0b013e318213fefb.

Garrido-Maraver, J., Cordero, M. D., Oropesa-Avila, M., Vega, A. F., de la Mata, M., Pavon, A. D. et al. (2014). Clinical applications of coenzyme Q10. *Frontiers in Bioscience (Landmark Ed.)*, 19, 619-633.

Geiß K. R., Hamm M., Littarru G. P., Folkers K., & Enzmann F. H. (2004). Steigerung der körperlichen Leistungsfähigkeit von Ausdauerathleten mit Hilfen von Q10 Monopräparat. In Littarru G. P. (Ed.). *Energie und Schutz Coenzym Q10 Fakten und Perspektivem in der Biologie und Medizin*, 84-86. Rome, Italy: Litografica Iride.

Genova, M. L. & Lenaz, G. (2011). New developments on the functions of coenzyme Q in mitochondria. *Biofactors*, 37, 330-354. doi: 10.1002/biof.168.

Giannitsis, E., Roth, H. J., Leithauser, R. M., Scherhag, J., Beneke, R., & Katus, H. A. (2009). New highly sensitivity assay used to measure cardiac troponin T concentration changes during a continuous 216-km marathon. *Clinical Chemistry*, 55, 590-592. doi: 10.1373/clinchem.2008.116566.

Gille, L. & Nohl, H. (2000). The existence of a lysosomal redox chain and the role of ubiquinone. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 375, 347-354.

Gökbel, H., Gül, I., Belviranlı, 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, 97-102. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181a61a50.

Goldfarb, A. H., McKenzie, M. J., & Bloomer, R. J. (2007). Gender comparisons of exercise-induced oxidative stress: influence of antioxidant supplementation. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32, 1124-1131.

Goldstein, J. L. & Brown, M. S. (1990). Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*, 343, 425-430.

Gomes, E. C., Allgrove, J. E., Florida-James, G., & Stone, V. (2011). Effect of vitamin supplementation on lung injury and running performance in a hot, humid, and ozone-

polluted environment. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 21, e452-e460. doi: 10.1111/j.1600-0838.2011.01366.x.

Gomez-Cabrera, M. C., Domenech, E., Romagnoli, M., Arduini, A., Borrás, C., Pallardo, F. V. et al. (2008). Oral administration of vitamin C decreases muscle mitochondrial biogenesis and hampers training-induced adaptations in endurance performance. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87, 142-149.

Gómez-Díaz, C., Rodríguez-Aguilera, J. C., Barroso, M. P., Villalba, J. M., Navarro, F., Crane, F. L. et al. (1997). Antioxidant ascorbate is stabilized by NADH-coenzyme Q10 reductase in the plasma membrane. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 29, 251-257.

Goto, C., Nishioka, K., Umemura, T., Jitsuiki, D., Sakaguchi, A., Kawamura, M. et al. (2007). Acute moderate-intensity exercise induces vasodilation through an increase in nitric oxide bioavailability in humans. *American Journal of Hypertension*, 20, 825-830.

Green, D. J., Spence, A., Rowley, N., Thijssen, D. H., & Naylor, L. H. (2012). Vascular adaptation in athletes: is there an 'athlete's artery'? *Experimental Physiology*, 97, 295-304. doi: 10.1113/expphysiol.2011.058826.

Green, D. J., Rowley, N., Spence, A., Carter, H., Whyte, G., George, K. et al. (2013). Why isn't flow-mediated dilation enhanced in athletes? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 45, 75-82. doi: 10.1249/MSS.0b013e318269affe.

Groneberg, D. A., Kindermann, B., Althammer, M., Klapper, M., Vormann, J., Littarru, G. P., & Döring F. (2005). Coenzyme Q10 affects expression of genes involved in cell signalling, metabolism and transport in human CaCo-2 cells. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 37, 1208-1218.

Halliwel, B., Aeschbach, R., Loliger, J., & Aruoma, O. I. (1995). The characterization of antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 33, 601-617.

Hamada, K., Vannier, E., Satchek, J. M., Witsell, A. L., & Roubenoff, R. (2005). Senescence of human skeletal muscle impairs the local inflammatory cytokine response to acute eccentric exercise. *The FASEB Journal*, 19, 264-266.

Hanahan, D. J. & Ekholm, J. E. (1974). The preparation of red cell ghosts (membranes). *Methods in Enzymology*, 31, 168-172.

Hargreaves, M. (1997). Interactions between muscle glycogen and blood glucose during exercise. *Exercise and Sport Sciences Reviews*, 25, 21-39.

Haskell, W. L., Lee, I. M., Pate, R. R., Powell, K. E., Blair, S. N., Franklin, B. A. et al. (2007). Physical activity and public health: updated recommendation for adults from

the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39, 1423-1434.

Hawley, J. A. (2002). Effect of increased fat availability on metabolism and exercise capacity. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 34, 1485-1491.

Hawley, J. A., Hargreaves, M., Joyner, M. J., & Zierath J. R. (2014). Integrative biology of exercise. *Cell*, 159, 738-749. doi: 10.1016/j.cell.2014.10.029.

Hayashi, T., Wojtaszewski, J. F., & Goodyear, L. J. (1997). Exercise regulation of glucose transport in skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 273, E1039-E1051.

Heinonen, I., Brothers, R. M., Kemppainen, J., Knuuti, J., Kalliokoski, K. K., & Crandall, C. G. (2011). Local heating, but not indirect whole body heating, increases human skeletal muscle blood flow. *Journal of Applied Physiology* (1985), 111, 818-824.

Heinonen, I., Savolainen, A. M., Han, C., Kemppainen, J., Oikonen, V., Luotolahti, M. et al. (2013). Pulmonary blood flow and its distribution in highly trained endurance athletes and healthy control subjects. *Journal of Applied Physiology* (1985.), 114, 329-334. doi: 10.1152/jappphysiol.00710.2012.

Heinonen, I., Kalliokoski, K. K., Hannukainen, J. C., Duncker, D. J., Nuutila, P., & Knuuti, J. (2014). Organ-specific physiological responses to acute physical exercise and long-term training in humans. *Physiology (Bethesda)*, 29, 421-436. doi: 10.1152/physiol.00067.2013.

Hellsten, Y., Nielsen, J. J., Lykkesfeldt, J., Bruhn, M., Silveira, L., Pilegaard, H. et al. (2007). Antioxidant supplementation enhances the exercise-induced increase in mitochondrial uncoupling protein 3 and endothelial nitric oxide synthase mRNA content in human skeletal muscle. *Free Radical Biology & Medicine*, 43, 353-361.

Hidaka, T., Fujii, K., Funahashi, I., Fukutomi, N., & Hosoe, K. (2008). Safety assessment of coenzyme Q10 (CoQ10). *Biofactors*, 32, 199-208.

Hosoe, K., Kitano, M., Kishida, H., Kubo, H., Fujii, K., & Kitahara, 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*, 47, 19-28.

Hough, T. (1900). Ergographic studies in muscular fatigue and soreness. *Journal of the Boston Society of Medical Sciences*, 5, 81-92.

Howatson, G. & van Someren, K. A. (2008). The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*, 38, 483-503.

Howlett, R. A. & Hogan, M. C. (2007). Effect of hypoxia on fatigue development in rat muscle composed of different fibre types. *Experimental Physiology*, 92, 887-894.

Hudson, M. B., Hosick, P. A., McCaulley, G. O., Schrieber, L., Wrieden, J., McAnulty, S. R. et al. (2008). The effect of resistance exercise on humoral markers of oxidative stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 40, 542-548.

Hurley, B. F., Redmond, R. A., Pratley, R. E., Treuth, M. S., Rogers, M. A., & Goldberg, A. P. (1995). Effects of strength training on muscle hypertrophy and muscle cell disruption in older men. *International Journal of Sports Medicine*, 16, 378-384.

Hyun, D. H., Emerson, S. S., Jo, D. G., Mattson, M. P., & de Cabo, R. (2006). Calorie restriction up-regulates the plasma membrane redox system in brain cells and suppresses oxidative stress during aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103, 19908-19912.

Ikematsu, H., Nakamura, K., Harashima, S., Fujii, K., & Fukutomi, N. (2006). Safety assessment of coenzyme Q10 (Kaneka Q10) in healthy subjects: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 44, 212-218.

Immonen, H., Hannukainen, J. C., Iozzo, P., Soinio, M., Salminen, P., Saunavaara, V. et al. (2014). Effect of bariatric surgery on liver glucose metabolism in morbidly obese diabetic and non-diabetic patients. *Journal of Hepatology*, 60, 377-383. doi: 10.1016/j.jhep.2013.09.012.

Jackson, M. J. (2009). Redox regulation of adaptive responses in skeletal muscle to contractile activity. *Free Radical Biology & Medicine*, 47, 1267-1275. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.09.005.

Jackson, M. J., McArdle, A., & McArdle, F. (1998). Antioxidant micronutrients and gene expression. *Proceedings of The Nutrition Society*, 57, 301-305.

James, A. M., Smith, R. A., & Murphy, M. P. (2004). Antioxidant and prooxidant properties of mitochondrial Coenzyme Q. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 423, 47-56.

Jamurtas, A. Z., Theocharis, V., Tofas, T., Tsiokanos, A., Yfanti, C., Paschalis, V. et al. (2005). Comparison between leg and arm eccentric exercises of the same relative intensity on indices of muscle damage. *European Journal of Applied Physiology*, 95, 179-185.

Jassem, W., Fuggle, S. V., Rela, M., Koo, D. D., & Heaton, N. D. (2002). The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation*, 73, 493-499.

Jastrzębski, Z., Żychowska, M., Radzimiński, Ł., Konieczna, A., & Kortas, J. (2015). Damage to liver and skeletal muscles in marathon runners during a 100 km run With regard to age and running speed. *Journal of Human Kinetics*, 43, 93-102. doi: 10.1515/hukin-2015-0010.

Jeukendrup, A. E., Vet-Joop, K., Sturk, A., Stegen, J. H., Senden, J., Saris, W. H. et al. (2000). Relationship between gastro-intestinal complaints and endotoxaemia, cytokine release and the acute-phase reaction during and after a long-distance triathlon in highly trained men. *Clinical Science (London)*, 98, 47-55.

Ji, L. L. (1995). Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radical Biology & Medicine*, 18, 1079-1086.

Ji, L. L. (2008). Modulation of skeletal muscle antioxidant defense by exercise: Role of redox signaling. *Free Radical Biology & Medicine*, 44, 142-152. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.031.

Kaikkonen, J., Kosonen, L., Nyysönen, K., Porkkala-Sarataho, E., Salonen, R., Korpela, H. et al. (1998). Effect of combined coenzyme Q10 and d-alpha-tocopheryl acetate supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and muscular damage: a placebo-controlled double-blind study in marathon runners. *Free Radical Research*, 29, 85-92.

Kaikkonen, J., Nyysönen, K., Tuomainen, T. P., Ristonmaa, U., & Salonen, J. T. (1999). Determinants of plasma coenzyme Q10 in humans. *FEBS Letters*, 443, 163-166.

Kalen, A., Appelkvist, E. L., & Dallner, G. (1989). Age-related changes in the lipid compositions of rat and human tissues. *Lipids*, 24, 579-584.

Kaltschmidt, B., Sparna, T., & Kaltschmidt, C. (1999). Activation of NF-kappa B by reactive oxygen intermediates in the nervous system. *Antioxidants & Redox Signaling*, 1, 129-144.

Karlsson, J., Lin, L., Sylven, C., & Jansson, E. (1996). Muscle ubiquinone in healthy physically active males. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 156, 169-172.

Katayama K., & Fujita T. (1972) Studies on the lymphatic absorption of 1',2'-(<sup>3</sup>H)-coenzyme Q10 in rats. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 20, 2585-2592.

Kawai, Y., Shimomitsu, T., Takanami, Y., Murase, N., Katsumura, T., & Maruyama, C. (2000). Vitamin E level changes in serum and red blood cells due to acute exhaustive exercise in collegiate women. *Journal of nutritional science and vitaminology (Tokyo)*, 46, 119-124.

Kayser, B. (2003). Exercise starts and ends in the brain. *European Journal of Applied Physiology*, 90, 411-419.

- Kellis, E. & Baltzopoulos, V. (1998). Muscle activation differences between eccentric and concentric isokinetic exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30, 1616-1623.
- Kennedy, D. S., McNeil, C. J., Gandevia, S. C., & Taylor, J. L. (2013). Firing of antagonist small-diameter muscle afferents reduces voluntary activation and torque of elbow flexors. *The Journal of Physiology*, 591, 3591-3604. doi: 10.1113/jphysiol.2012.248559.
- Kingsley, M. I., Wadsworth, D., Kilduff, L. P., McEneny, J., & Benton, D. (2005). Effects of phosphatidylserine on oxidative stress following intermittent running. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37, 1300-1306.
- Kizaki, K., Terada, T., Arikawa, H., Tajima, T., Imai, H., Takahashi, T. et al. (2015). Effect of reduced coenzyme Q10 (ubiquinol) supplementation on blood pressure and muscle damage during kendo training camp: a double-blind, randomized controlled study. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 55, 797-804.
- Knechtle, B., Knechtle, P., & Lepers, R. (2011). Participation and performance trends in ultra-triathlons from 1985 to 2009. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 21, e82-e90.
- Knez, W. L., Coombes, J. S., & Jenkins, D. G. (2006). Ultra-endurance exercise and oxidative damage : implications for cardiovascular health. *Sports Medicine*, 36, 429-441.
- Knicker, A. J., Renshaw, I., Oldham, A. R., & Cairns, S. P. (2011). Interactive processes link the multiple symptoms of fatigue in sport competition. *Sports Medicine*, 41, 307-328.
- Kobayashi, Y., Takeuchi, T., Hosoi, T., Yoshizaki, H., & Loeppky, J. A. (2005). Effect of a marathon run on serum lipoproteins, creatine kinase, and lactate dehydrogenase in recreational runners. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 76, 450-455.
- Koch, A. J., Pereira, R., & Machado, M. (2014). The creatine kinase response to resistance exercise. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 14, 68-77.
- Kodama, S., Saito, K., Tanaka, S., Maki, M., Yachi, Y., Asumi, M. et al. (2009). Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA*, 301, 2024-2035. doi: 10.1001/jama.2009.681.
- Kohl, H. W., III, Craig, C. L., Lambert, E. V., Inoue, S., Alkandari, J. R., Leetongin, G. et al. (2012). The pandemic of physical inactivity: global action for public health. *The Lancet*, 380, 294-305. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60898-8.



## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Kon, M., Kimura, F., Akimoto, T., Tanabe, K., Murase, Y., Ikemune, S. et al. (2007). Effect of Coenzyme Q10 supplementation on exercise-induced muscular injury of rats. *Exercise Immunology Review*, 13, 76-88.

Kon, M., Tanabe, K., Akimoto, T., Kimura, F., Tanimura, Y., Shimizu, K. et al. (2008). Reducing exercise-induced muscular injury in kendo athletes with supplementation of coenzyme Q10. *British Journal of Nutrition*, 100, 903-909. doi: 10.1017/S0007114508926544.

König, D., Neubauer, O., Nics, L., Kern, N., Berg, A., Bisse, E. et al. (2007). Biomarkers of exercise-induced myocardial stress in relation to inflammatory and oxidative stress. *Exercise Immunology Review*, 13, 15-36.

Koskinen, S. O., Wang, W., Ahtikoski, A. M., Kjaer, M., Han, X. Y., Komulainen, J. et al. (2001). Acute exercise induced changes in rat skeletal muscle mRNAs and proteins regulating type IV collagen content. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 280, R1292-R1300.

Kubo H., Fujii K., Kawabe T., Matsumoto S., Kishida H., & Hosoe K. (2008). Food content of ubiquinol-10 and ubiquinone-10 in the Japanese diet. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 199 – 210.

Kuby, J. (1994). *Immunology*. New York, USA: W.H. Freeman.

Kujala, U. M., Mäkinen, V. P., Heinonen, I., Soininen, P., Kangas, A. J., Leskinen, T. H. et al. (2013). Long-term leisure-time physical activity and serum metabolome. *Circulation*, 127, 340-348. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.105551.

Kumar, K. V., & Naidu, M. U. R. (2002). Effect of oral melatonin on exercise-induced oxidant stress in healthy subjects. *Indian Journal of Pharmacology*, 34, 256–259.

Kupchak, B. R., Kraemer, W. J., Hoffman, M. D., Phinney, S. D., & Volek, J. S. (2014). The impact of an ultramarathon on hormonal and biochemical parameters in men. *Wilderness & Environmental Medicine*, 25, 278-288. doi: 10.1016/j.wem.2014.03.013.

Kwong, L. K., Kamzalov, S., Rebrin, I., Bayne, A. C., Jana, C. K., Morris, P. et al. (2002). Effects of coenzyme Q(10) administration on its tissue concentrations, mitochondrial oxidant generation, and oxidative stress in the rat. *Free Radical Biology & Medicine*, 33, 627-638.

Laaksonen, R., Riihimäki, A., Laitila, J., Martensson, K., Tikkanen, M. J., & Himberg, J. J. (1995a). Serum and muscle tissue ubiquinone levels in healthy subjects. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 125, 517-521.

- Laaksonen, R., Fogelholm, M., Himberg, J. J., Laakso, J., & Salorinne, Y. (1995b). Ubiquinone supplementation and exercise capacity in trained young and older men. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 72, 95-100.
- Lamonte, M. J. & Ainsworth, B. E. (2001). Quantifying energy expenditure and physical activity in the context of dose response. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33, S370-S378.
- Langsjoen, P. H. & Langsjoen, A. M. (2008). Supplemental ubiquinol in patients with advanced congestive heart failure. *Biofactors*, 32, 119-128.
- Larm, J. A., Vaillant, F., Linnane, A. W., & Lawen, A. (1994). Up-regulation of the plasma membrane oxidoreductase as a prerequisite for the viability of human Namalwa rho 0 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 269, 30097-30100.
- Laufs, U., Werner, N., Link, A., Endres, M., Wassmann, S., Jurgens, K. et al. (2004). Physical training increases endothelial progenitor cells, inhibits neointima formation, and enhances angiogenesis. *Circulation*, 109, 220-226.
- Laughlin, M. H., Davis, M. J., Secher, N. H., van Lieshout, J. J., Arce-Esquivel, A. A., Simmons, G. H. et al. (2012). Peripheral circulation. *Comprehensive Physiology*, 2, 321-447. doi: 10.1002/cphy.c100048.
- Lavie, C. J., Lee, D. C., Sui, X., Arena, R., O'Keefe, J. H., Church, T. S. et al. (2015). Effects of Running on Chronic Diseases and Cardiovascular and All-Cause Mortality. *Mayo Clinic Proceedings*, 90, 1541-1552. doi: 10.1016/j.mayocp.2015.08.001.
- Lee, D. C., Pate, R. R., Lavie, C. J., Sui, X., Church, T. S., & Blair, S. N. (2014). Leisure-time running reduces all-cause and cardiovascular mortality risk. *Journal of the American College of Cardiology*, 64, 472-481. doi: 10.1016/j.jacc.2014.04.058.
- Lee, I. M., Shiroma, E. J., Lobelo, F., Puska, P., Blair, S. N., & Katzmarzyk, P. T. (2012). Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*, 380, 219-229. doi: 10.1016/S0140-6736(12)61031-9.
- Lenaz, G., Fato, R., Di, B. S., Jarreta, D., Costa, A., Genova, M. L. et al. (1999). Localization and mobility of coenzyme Q in lipid bilayers and membranes. *Biofactors*, 9, 87-93.
- Leyk, D., Erley, O., Gorges, W., Ridder, D., Ruther, T., Wunderlich, M. et al. (2009). Performance, training and lifestyle parameters of marathon runners aged 20-80 years: results of the PACE-study. *International Journal of Sports Medicine*, 30, 360-365. doi: 10.1055/s-0028-1105935.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Li, G., Zou, L. Y., Cao, C. M., & Yang, E. S. (2005). Coenzyme Q10 protects SHSY5Y neuronal cells from beta amyloid toxicity and oxygen-glucose deprivation by inhibiting the opening of the mitochondrial permeability transition pore. *Biofactors*, 25, 97-107.

Li, H., Miao, W., Ma, J., Xv, Z., Bo, H., Li, J. et al. (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.

Liao, P., Zhang, Y., Liao, Y., Zheng, N. J., & Zhang, X. (2007). [Effects of coenzyme Q10 supplementation on liver mitochondrial function and aerobic capacity in adolescent athletes]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, 23, 491-494.

Lieber, R. L. & Friden, J. (1988). Selective damage of fast glycolytic muscle fibres with eccentric contraction of the rabbit tibialis anterior. *Acta Physiologica Scandinavica*, 133, 587-588.

Linnane, A. W., Kios, M., & Vitetta, L. (2007). Coenzyme Q(10)-its role as a prooxidant in the formation of superoxide anion/hydrogen peroxide and the regulation of the metabolome. *Mitochondrion*, 7, S51-S61.

Lippi, G., Schena, F., Salvagno, G. L., Montagnana, M., Gelati, M., Tarperi, C. et al. (2008). Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half-marathon run. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 68, 667-672. doi: 10.1080/00365510802126844.

Lippi, G., Schena, F., Salvagno, G. L., Tarperi, C., Aloe, R., & Guidi, G. C. (2012a). Comparison of conventional and highly-sensitive troponin I measurement in ultra-marathon runners. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 33, 338-342. doi: 10.1007/s11239-011-0651-0.

Lippi, G., Schena, F., Dipalo, M., Montagnana, M., Salvagno, G. L., Aloe, R. et al. (2012b). Troponin I measured with a high sensitivity immunoassay is significantly increased after a half marathon run. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 72, 467-470. doi: 10.3109/00365513.2012.697575.

Littarru, G. P. (1993). Biomedical and clinical aspects of coenzyme Q. *Journal of Clinical Investigation*, 71, 587-588.

Littarru, G. P. & Tiano, L. (2005). Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 8, 641-646.

Littarru, G. P. & Tiano, L. (2007). Bioenergetic and antioxidant properties of coenzyme Q10: recent developments. *Molecular Biotechnology*, 37, 31-37.

- Littarru, G. P. & Tiano, L. (2010). Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Nutrition*, 26, 250-254. doi: 10.1016/j.nut.2009.08.008.
- Littarru, G. P., Lippa, S., Oradei, A., & Serino, F. (1990). Coenzyme Q10: blood levels and metabolic demand. *International Journal of Tissue Reactions*, 12, 145-148.
- Liu, X. & Spolarics, Z. (2003). Methemoglobin is a potent activator of endothelial cells by stimulating IL-6 and IL-8 production and E-selectin membrane expression. *American Journal of Physiology. Cell Physiology*, 285, C1036-C1046.
- Liu, J., Yeo, H. C., Overvik-Douki, E., Hagen, T., Doniger, S. J., Chyu, D. W. et al. (2000). Chronically and acutely exercised rats: biomarkers of oxidative stress and endogenous antioxidants. *Journal of Applied Physiology* (1985), 89, 21-28.
- López-Lluch, G., Buron, M. I., Alcaín, F. J., Quesada, J. M., & Navas, P. (1998). Redox regulation of cAMP levels by ascorbate in 1,25-dihydroxy- vitamin D3-induced differentiation of HL-60 cells. *Biochemical Journal*, 331, 21-27.
- López-Lluch, G., Rodríguez-Aguilera, J. C., Santos-Ocana, C., & Navas, P. (2010). Is coenzyme Q a key factor in aging? *Mechanisms of Ageing and Development*, 131, 225-235. doi: 10.1016/j.mad.2010.02.003.
- Loprinzi, P. D., Herod, S. M., Cardinal, B. J., & Noakes, T. D. (2013). Physical activity and the brain: a review of this dynamic, bi-directional relationship. *Brain Research*, 1539, 95-104. doi: 10.1016/j.brainres.2013.10.004.
- Machado, M. & Willardson, J. M. (2010). Short recovery augments magnitude of muscle damage in high responders. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 42, 1370-1374. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181ca7e16.
- Machado, M., Koch, A. J., Willardson, J. M., Pereira, L. S., Cardoso, M. I., Motta, M. K. et al. (2011). Effect of varying rest intervals between sets of assistance exercises on creatine kinase and lactate dehydrogenase responses. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 25, 1339-1345. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181d680d6.
- Machado, M., Willardson, J. M., Silva, D. R., Frigulha, I. C., Koch, A. J., & Souza, S. C. (2012). Creatine kinase activity weakly correlates to volume completed following upper body resistance exercise. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 83, 276-281.
- Machado, M., Brown, L. E., Augusto-Silva, P., & Pereira, R. (2013). Is exercise-induced muscle damage susceptibility body segment dependent? Evidence for whole body susceptibility. *Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions*, 13, 105-110.
- Malm, C., Svensson, M., Ekblom, B., & Sjödín, B. (1997). Effects of ubiquinone-10 supplementation and high intensity training on physical performance in humans. *Acta Physiologica Scandinavica*, 161, 379-384.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Margaritis, I. & Rousseau, A. S. (2008). Does physical exercise modify antioxidant requirements? *Nutrition research reviews*, 21, 3-12. doi: 10.1017/S0954422408018076.

Maroun, M. J., Mehta, S., Turcotte, R., Cosio, M. G., & Hussain, S. N. (1995). Effects of physical conditioning on endogenous nitric oxide output during exercise. *Journal of Applied Physiology* (1985), 79, 1219-1225.

Martín, S. F., Gómez-Díaz, C., Bello, R. I., Navas, P., & Villalba, J. M. (2003). Inhibition of neutral Mg<sup>2+</sup>-dependent sphingomyelinase by ubiquinol-mediated plasma membrane electron transport. *Protoplasma*, 221, 109-116.

Maruoka, H., Fujii, K., Inoue, K., & Kido, S. (2014). Long-term Effect of Ubiquinol on Exercise Capacity and the Oxidative Stress Regulation System in SAMP1 Mice. *Journal of Physical Therapy Science*, 26, 367-371. doi: 10.1589/jpts.26.367.

Maughan, R. J., Depiesse, F., & Geyer, H. (2007). The use of dietary supplements by athletes. *Journal of Sports Sciences*, 25, S103-S113.

Maurel, D. B., Boisseau, N., Pallu, S., Rochefort, G. Y., Benhamou, C. L., & Jaffre, C. (2013). Regular exercise limits alcohol effects on trabecular, cortical thickness and porosity, and osteocyte apoptosis in the rat. *Joint Bone Spine*, 80, 492-498. doi: 10.1016/j.jbspin.2012.12.005.

Mayhew, D. L., Thyfault, J. P., & Koch, A. J. (2005). Rest-interval length affects leukocyte levels during heavy resistance exercise. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 19, 16-22.

McGee, S. L. & Hargreaves, M. (2011). Histone modifications and exercise adaptations. *Journal of Applied Physiology* (1985), 110, 258-263. doi: 10.1152/jappphysiol.00979.2010.

McLennan, H. R. & Degli, E. M. (2000). The contribution of mitochondrial respiratory complexes to the production of reactive oxygen species. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 32, 153-162.

Meckel, Y., Nemet, D., Bar-Sela, S., Radom-Aizik, S., Cooper, D. M., Sagiv, M. et al. (2011). Hormonal and inflammatory responses to different types of sprint interval training. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 25, 2161-2169. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181dc4571.

Meijer, E. P., Goris, A. H., van Dongen, J. L., Bast, A., & Westerterp, K. R. (2002). Exercise-induced oxidative stress in older adults as a function of habitual activity level. *Journal of the American Geriatrics Society*, 50, 349-353.

- Melikoglu, M. A., Kaldirimci, M., Katkat, D., Sen, I., Kaplan, I., & Senel, K. (2008). The effect of regular long term training on antioxidant enzymatic activities. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 48, 388-390.
- Mena, P., Maynar, M., & Campillo, J. E. (1996). Changes in plasma enzyme activities in professional racing cyclists. *British Journal of Sports Medicine*, 30, 122-124.
- Meredith, I. T., Friberg, P., Jennings, G. L., Dewar, E. M., Fazio, V. A., Lambert, G. W. et al. (1991). Exercise training lowers resting renal but not cardiac sympathetic activity in humans. *Hypertension*, 18, 575-582.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Papassotiropoulos, I. et al. (2007). Sampling time is crucial for measurement of aerobic exercise-induced oxidative stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39, 1107-1113.
- Miles, M. V., Horn, P. S., Morrison, J. A., Tang, P. H., DeGrauw, T., & Pesce, A. J. (2003). Plasma coenzyme Q10 reference intervals, but not redox status, are affected by gender and race in self-reported healthy adults. *Clinica Chimica Acta*, 332, 123-132.
- Mingels, A., Jacobs, L., Michielsen, E., Swaanenburg, J., Wodzig, W., & van Dieijen-Visser, M. (2009). Reference population and marathon runner sera assessed by highly sensitive cardiac troponin T and commercial cardiac troponin T and I assays. *Clinical chemistry*, 55, 101-108. doi: 10.1373/clinchem.2008.106427.
- Misra, D. S., Maiti, R., & Ghosh, D. (2009). Protection of swimming-induced oxidative stress in some vital organs by the treatment of composite extract of *Withania somnifera*, *Ocimum sanctum* and *Zingiber officinalis* in male rat. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*, 6, 534-543.
- Mizuno, K., Tanaka, M., Nozaki, S., Mizuma, H., Ataka, S., Tahara, T. et al. (2008). Antifatigue effects of coenzyme Q10 during physical fatigue. *Nutrition*, 24, 293-299. doi: 10.1016/j.nut.2007.12.007.
- Molyneux, S. L., Florkowski, C. M., Lever, M., & George, P. M. (2005). Biological variation of coenzyme Q10. *Clinical Chemistry*, 51, 455-457.
- Molyneux, S. L., Young, J. M., Florkowski, C. M., Lever, M., & George, P. M. (2008). Coenzyme Q10: is there a clinical role and a case for measurement? *The Clinical Biochemist Reviews*, 29, 71-82.
- Morad, M. & Suzuki, Y. J. (2000). Redox regulation of cardiac muscle calcium signaling. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2, 65-71.
- Morton, R. A. (1958). Ubiquinone. *Nature*, 182, 1764-1767.

Morton R. A., Wilson G. M., Lowe J. S., & Leat W. M. F. (1957). Ubiquinone. *Chemistry & Industry*, 24, 1649–1650.

Mrakic-Sposta, S., Gussoni, M., Moretti, S., Pratali, L., Giardini, G., Tacchini, P. et al. (2015). Effects of Mountain Ultra-Marathon Running on ROS Production and Oxidative Damage by Micro-Invasive Analytic Techniques. *PLOS ONE*, 10, e0141780. doi: 10.1371/journal.pone.0141780.

Mukai, K., Tokunaga, A., Itoh, S., Kanesaki, Y., Ohara, K., Nagaoka, S. et al. (2007). Structure-activity relationship of the free-radical-scavenging reaction by vitamin E (alpha-, beta-, gamma-, delta-Tocopherols) and ubiquinol-10: pH dependence of the reaction rates. *Journal of Physical Chemistry B*, 111, 652-662.

Navarro, F., Navas, P., Burgess, J. R., Bello, R. I., de, C. R., Arroyo, A. et al. (1998). Vitamin E and selenium deficiency induces expression of the ubiquinone-dependent antioxidant system at the plasma membrane. *The FASEB Journal*, 12, 1665-1673.

Neubauer, O., Reichhold, S., Nersesyan, A., Konig, D., & Wagner, K. H. (2008). Exercise-induced DNA damage: is there a relationship with inflammatory responses? *Exercise Immunology Review*, 14, 51-72.

Neufer, P. D., Bamman, M. M., Muoio, D. M., Bouchard, C., Cooper, D. M., Goodpaster, B. H. et al. (2015). Understanding the Cellular and Molecular Mechanisms of Physical Activity-Induced Health Benefits. *Cell Metabolism*, 22, 4-11. doi: 10.1016/j.cmet.2015.05.011.

Nguyen, H. X. & Tidball, J. G. (2003). Interactions between neutrophils and macrophages promote macrophage killing of rat muscle cells in vitro. *The Journal of Physiology*, 547, 125-132.

Nie, J., Tong, T. K., Shi, Q., Lin, H., Zhao, J., & Tian, Y. (2008). Serum cardiac troponin response in adolescents playing basketball. *International Journal of Sports Medicine*, 29, 449-452.

Nielsen, H. B., Secher, N. H., Kristensen, J. H., Christensen, N. J., Espersen, K., & Pedersen, B. K. (1997). Splenectomy impairs lymphocytosis during maximal exercise. *American Journal of Physiology*, 272, R1847-R1852.

Niemelä, M., Kangastupa, P., Niemelä, O., Bloigu, R., & Juvonen, T. (2016). Acute Changes in Inflammatory Biomarker Levels in Recreational Runners Participating in a Marathon or Half-Marathon. *Sports Medicine*, 2, 21.

Niklowitz, P., Sonnenschein, A., Janetzky, B., Andler, W., & Menke, T. (2007). Enrichment of coenzyme Q10 in plasma and blood cells: defense against oxidative damage. *International Journal of Biological Sciences*, 3, 257-262.

Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Hadziioannou, M., Panou, N., Samaras, L., Jamurtas, A. Z. et al. (2007). Acute exercise markedly increases blood oxidative stress in boys and girls. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 32, 197-205.

Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., & Vrabas, I. S. (2011). F(2)-isoprostane formation, measurement and interpretation: the role of exercise. *Progress in Lipid Research*, 50, 89-103. doi: 10.1016/j.plipres.2010.10.002.

Noakes, T. D., Kotzenberg, G., McArthur, P. S., & Dykman, J. (1983). Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 52, 75-79.

Nohl, H. & Gille, L. (2002). The bifunctional activity of ubiquinone in lysosomal membranes. *Biogerontology*, 3, 125-131.

Nosaka, K., Clarkson, P. M., & Apple, F. S. (1992). Time course of serum protein changes after strenuous exercise of the forearm flexors. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 119, 183-188.

Nummela, A. & Rusko, H. (1995). Time course of anaerobic and aerobic energy expenditure during short-term exhaustive running in athletes. *International Journal of Sports Medicine*, 16, 522-527.

Ochoa, J. J., Quiles, J. L., Huertas, J. R., & 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. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 60, 970-975.

Ochoa, J. J., Quiles, J. L., Lopez-Frias, M., Huertas, J. R., & Mataix, J. (2007). Effect of lifelong coenzyme Q10 supplementation on age-related oxidative stress and mitochondrial function in liver and skeletal muscle of rats fed on a polyunsaturated fatty acid (PUFA)-rich diet. *The Journals of Gerontology. Series A, Biological Sciences and Medical Sciences*, 62, 1211-1218.

Ochoa J., Díaz-Castro J., & Lambrechts P. (2013). CoQ10 and ubiquinol Novel, safe dietary supplementation for trained and untrained athletes. *Agro FOOD Industry Hi-Tech*, 24, 31-34.

Okamoto, T., Kubota, N., Takahata, K., Takahashi, T., Goshima, K., & Kishi, T. (1995). Protective effect of coenzyme Q10 on cultured skeletal muscle cell injury induced by continuous electric field stimulation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 216, 1006-1012.



O'Keefe, J. H., Franklin, B., & Lavie, C. J. (2014). Exercising for health and longevity vs peak performance: different regimens for different goals. *Mayo Clinic Proceedings*, 89, 1171-1175. doi: 10.1016/j.mayocp.2014.07.007.

Okudan, N., Revan, S., Balci, S. S., Belviranlı, M., Pepe, H., & Gokbel, H. (2012). Effects of CoQ10 supplementation and swimming training on exhaustive exercise-induced oxidative stress in rat heart. *Bratislavské lekárske listy*, 113, 393-399.

Organización Mundial de la Salud. (2010). *Global Recommendations on Physical Activity for Health*. Geneva, Switzerland: World Health Organization.

Orhan, H., van, H. B., Krab, B., Moeken, J., Vermeulen, N. P., Hollander, P. et al. (2004). Evaluation of a multi-parameter biomarker set for oxidative damage in man: increased urinary excretion of lipid, protein and DNA oxidation products after one hour of exercise. *Free Radical Research*, 38, 1269-1279.

Ortega, F. B., Ruíz, J. R., Gutiérrez, A., & Castillo, M. J. (2006). Extreme mountain bike challenges may induce sub-clinical myocardial damage. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 46, 489-493.

Ortega, F. B., Ruíz, J. R., Castillo, M. J., & Sjöström, M. (2008). Physical fitness in childhood and adolescence: a powerful marker of health. *International Journal of Obesity (London)*, 32, 1-11.

Oscari, L. B., Williams, B. T., & Hertig, B. A. (1968). Effect of exercise on blood volume. *Journal of Applied Physiology*, 24, 622-624.

Ostman, B., Sjödin, A., Michaëlsson, K., & Byberg, L. (2012). Coenzyme Q10 supplementation and exercise-induced oxidative stress in humans. *Nutrition*, 28, 403-417. doi: 10.1016/j.nut.2011.07.010.

Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *The Journal of Physiology*, 515, 287-291.

Pala, R., Orhan, C., Tuzcu, M., Sahin, N., Ali, S., Cinar, V. et al. (2016). Coenzyme Q10 Supplementation Modulates NFkappaB and Nrf2 Pathways in Exercise Training. *Journal of Sports Science and Medicine*, 15, 196-203.

Palazzetti, S., Rousseau, A. S., Richard, M. J., Favier, A., & Margaritis, I. (2004). Antioxidant supplementation preserves antioxidant response in physical training and low antioxidant intake. *British Journal of Nutrition*, 91, 91-100.

Papathanasiou, G., Georgoudis, G., Georgakopoulos, D., Katsouras, C., Kalfakakou, V., & Evangelou, A. (2010). Criterion-related validity of the short International Physical Activity Questionnaire against exercise capacity in young adults. *European Journal of*

*Cardiovascular Prevention and Rehabilitation*, 17, 380-386. doi: 10.1097/HJR.0b013e328333ede6.

Papucci, L., Schiavone, N., Witort, E., Donnini, M., Lapucci, A., Tempestini, A. et al. (2003). Coenzyme Q10 prevents apoptosis by inhibiting mitochondrial depolarization independently of its free radical scavenging property. *Journal of Biological Chemistry*, 278, 28220-28228.

Park, S. Y. & Kwak, Y. S. (2016). Impact of aerobic and anaerobic exercise training on oxidative stress and antioxidant defense in athletes. *Journal of Exercise Rehabilitation*, 12, 113-117. doi: 10.12965/jer.1632598.299.

Park, K. S. & Lee, M. G. (2015). Effects of unaccustomed downhill running on muscle damage, oxidative stress, and leukocyte apoptosis. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 19, 55-63. doi: 10.5717/jenb.2015.15050702.

Peake, J., Nosaka, K., & Suzuki, K. (2005). Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exercise Immunology Review*, 11, 64-85.

Pedersen, B. K. (2000). Special feature for the Olympics: effects of exercise on the immune system: exercise and cytokines. *Immunology & Cell Biology*, 78, 532-535.

Perry, C. G., Lally, J., Holloway, G. P., Heigenhauser, G. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2010). Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 588, 4795-4810. doi: 10.1113/jphysiol.2010.199448.

Peternelj, T. T. & Coombes, J. S. (2011). Antioxidant supplementation during exercise training: beneficial or detrimental? *Sports Medicine*, 41, 1043-1069. doi: 10.2165/11594400-000000000-00000.

Peters, E. M., Anderson, R., & Theron, A. J. (2001). Attenuation of increase in circulating cortisol and enhancement of the acute phase protein response in vitamin C-supplemented ultramarathoners. *International Journal of Sports Medicine*, 22, 120-126.

Peterson, M. D., Gordon, P. M., Hurvitz, E. A., & Burant, C. F. (2012). Secondary muscle pathology and metabolic dysregulation in adults with cerebral palsy. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 303, E1085-E1093. doi: 10.1152/ajpendo.00338.2012.

Pialoux, V., Brugniaux, J. V., Rock, E., Mazur, A., Schmitt, L., Richalet, J. P. et al. (2010). Antioxidant status of elite athletes remains impaired 2 weeks after a simulated altitude training camp. *European Journal of Nutrition*, 49, 285-292. doi: 10.1007/s00394-009-0085-z.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Powers, S. K. & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88, 1243-1276. doi: 10.1152/physrev.00031.2007.

Powers, S. K., Talbert, E. E., & Adhihetty, P. J. (2011). Reactive oxygen and nitrogen species as intracellular signals in skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 589, 2129-2138. doi: 10.1113/jphysiol.2010.201327.

Prakash, S., Sunitha, J., & Hans, M. (2010). Role of coenzyme Q(10) as an antioxidant and bioenergizer in periodontal diseases. *Indian Journal of Pharmacology*, 42, 334-337. doi: 10.4103/0253-7613.71884.

Predel, H. G. (2014). Marathon run: cardiovascular adaptation and cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 35, 3091-3098. doi: 10.1093/eurheartj/eh502.

Radak, Z., Chung, H. Y., Koltai, E., Taylor, A. W., & Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Research Reviews*, 7, 34-42.

Reid, M. B. (2008). Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radical Biology & Medicine*, 44, 169-179. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.002.

Ristow, M., Zarse, K., Oberbach, A., Klötting, N., Birringer, M., Kiehntopf, M. et al. (2009). Antioxidants prevent health-promoting effects of physical exercise in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106, 8665-8670. doi: 10.1073/pnas.0903485106.

Robertson, R. J., Goss, F. L., Rutkowski, J., Lenz, B., Dixon, C., Timmer, J. et al. (2003). Concurrent validation of the OMNI perceived exertion scale for resistance exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 35, 333-341.

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, 411-418.

Rodrigues, B. M., Dantas, E., de Salles, B. F., Miranda, H., Koch, A. J., Willardson, J. M. et al. (2010). Creatine kinase and lactate dehydrogenase responses after upper-body resistance exercise with different rest intervals. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24, 1657-1662. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181d8e6b1.

Rosenfeldt, F., Hilton, D., Pepe, S., & Krum, H. (2003). Systematic review of effect of coenzyme Q10 in physical exercise, hypertension and heart failure. *Biofactors*, 18, 91-100.

Rosenfeldt, F. L., Haas, S. J., Krum, H., Hadj, A., Ng, K., Leong, J. Y. et al. (2007). Coenzyme Q10 in the treatment of hypertension: a meta-analysis of the clinical trials. *Journal of Human Hypertension*, 21, 297-306.

Roth, S. M., Martel, G. F., Ivey, F. M., Lemmer, J. T., Metter, E. J., Hurley, B. F. et al. (2000). High-volume, heavy-resistance strength training and muscle damage in young and older women. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 88, 1112-1118.

Rousseau, A. S., Hininger, I., Palazzetti, S., Faure, H., Roussel, A. M., & Margaritis, I. (2004). Antioxidant vitamin status in high exposure to oxidative stress in competitive athletes. *British Journal of Nutrition*, 92, 461-468.

Rowlands, D. S., Pearce, E., Aboud, A., Gillen, J. B., Gibala, M. J., Donato, S. et al. (2012). Oxidative stress, inflammation, and muscle soreness in an 894-km relay trail run. *European Journal of Applied Physiology*, 112, 1839-1848. doi: 10.1007/s00421-011-2163-1.

Ruíz, J. R., Mesa, J. L., Mingorance, I., Rodríguez-Cuartero, A., & Castillo, M. J. (2004). [Sports requiring stressful physical exertion cause abnormalities in plasma lipid profile]. *Revista Española de Cardiología*, 57, 499-506.

Saka, T., Akova, B., Yazici, Z., Sekir, U., Gür, H., & Ozarda, Y. (2009). Difference in the magnitude of muscle damage between elbow flexors and knee extensors eccentric exercises. *Journal of Sports Science and Medicine*, 8, 107-115.

Santos-Ocaña, C., Villalba, J. M., Cordoba, F., Padilla, S., Crane, F. L., Clarke, C. F. et al. (1998). Genetic evidence for coenzyme Q requirement in plasma membrane electron transport. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 30, 465-475.

Santos-Ocaña, C., Do, T. Q., Padilla, S., Navas, P., & Clarke, C. F. (2002). Uptake of exogenous coenzyme Q and transport to mitochondria is required for bc1 complex stability in yeast coq mutants. *Journal of Biological Chemistry*, 277, 10973-10981.

Sarmiento, A., Díaz-Castro, J., Pulido-Moran, M., Kajarabille, N., Guisado, R., & Ochoa, J. J. (2016a). Coenzyme Q10 Supplementation and Exercise in Healthy Humans: A Systematic Review. *Current Drug Metabolism*, 17, 345-358.

Sarmiento, A., Díaz-Castro, J., Pulido-Moran, M., Moreno-Fernández, J., Kajarabille, N., Chiroso, I. et al. (2016b). Short-term ubiquinol supplementation reduces oxidative stress associated with strenuous exercise in healthy adults: A randomized trial. *Biofactors*, 42, 612-622. doi: 10.1002/biof.1297.

Schippinger, G., Wonisch, W., Abuja, P. M., Fankhauser, F., Winklhofer-Roob, B. M., & Halwachs, G. (2002). Lipid peroxidation and antioxidant status in professional

American football players during competition. *European Journal of Clinical Investigation*, 32, 686-692.

Schmelzer, C. & Döring, F. (2010). Identification of LPS-inducible genes downregulated by ubiquinone in human THP-1 monocytes. *Biofactors*, 36, 222-228.

Schmelzer, C., Lindner, I., Vock, C., Fujii, K., & Döring, F. (2007). Functional connections and pathways of coenzyme Q10-inducible genes: an in-silico study. *IUBMB Life*, 59, 628-633.

Schmelzer, C., Lorenz, G., Rimbach, G., & Döring, F. (2009). In Vitro Effects of the Reduced Form of Coenzyme Q(10) on Secretion Levels of TNF-alpha and Chemokines in Response to LPS in the Human Monocytic Cell Line THP-1. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 44, 62-66. doi: 10.3164/jcbrn.08-182.

Schmelzer, C., Kitano, M., Rimbach, G., Niklowitz, P., Menke, T., Hosoe, K. et al. (2009). Effects of ubiquinol-10 on microRNA-146a expression in vitro and in vivo. *Mediators of Inflammation*, 2009, 415437. doi: 10.1155/2009/415437.

Schmied, C. & Borjesson, M. (2014). Sudden cardiac death in athletes. *Journal of Internal Medicine*, 275, 93-103. doi: 10.1111/joim.12184.

Schultz, G. (1893). Experimentielle Untersuchungen über das Vorkommen und die diagnostische Bedeutung der Leucocytose. *Deutsches Archiv für Klinische Medizin*, 51, 234-281.

Serrão, F. V., Foerster, B., Spada, S., Morales, M. M., Monteiro-Pedro, V., Tannús, A. et al. (2003). Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36, 781-786.

Sheng, J. J. & Jin, J. P. (2016). TNNI1, TNNI2 and TNNI3: Evolution, regulation, and protein structure-function relationships. *Gene*, 576, 385-394. doi: 10.1016/j.gene.2015.10.052.

Shimizu, K., Kon, M., Tanimura, Y., Hanaoka, Y., Kimura, F., Akama, T. et al. (2015). Coenzyme Q10 supplementation downregulates the increase of monocytes expressing toll-like receptor 4 in response to 6-day intensive training in kendo athletes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 40, 575-581. doi: 10.1139/apnm-2014-0556.

Shimomura, Y., Suzuki, M., Sugiyama, S., Hanaki, Y., & Ozawa, T. (1991). Protective effect of coenzyme Q10 on exercise-induced muscular injury. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 176, 349-355.

Shin, K. A., Park, K. D., Ahn, J., Park, Y., & Kim, Y. J. (2016). Comparison of Changes in Biochemical Markers for Skeletal Muscles, Hepatic Metabolism, and Renal Function

after Three Types of Long-distance Running: Observational Study. *Medicine (Baltimore)*, 95, e3657. doi: 10.1097/MD.0000000000003657.

Shults, C. W., Oakes, D., Kieburtz, K., Beal, M. F., Haas, R., Plumb, S. et al. (2002). Effects of coenzyme Q10 in early Parkinson disease: evidence of slowing of the functional decline. *Archives of Neurology*, 59, 1541-1550.

Siebrecht S., Chan D. Y., Rosenfeld F., & Lin K. W. (2015). Coenzyme Q10 and Ubiquinol for Physical Performance. In I. P. Hargreaves (Ed.). *Coenzyme Q10: From fact to fiction*, Chapter 17, 293-321. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc.

Sies, H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183. doi: 10.1016/j.redox.2015.01.002.

Silverman, M. N. & Deuster, P. A. (2014). Biological mechanisms underlying the role of physical fitness in health and resilience. *Interface Focus*, 4, 20140040. doi: 10.1098/rsfs.2014.0040.

Smith, J. S., Brachmann, C. B., Celic, I., Kenna, M. A., Muhammad, S., Starai, V. J. et al. (2000). A phylogenetically conserved NAD<sup>+</sup>-dependent protein deacetylase activity in the Sir2 protein family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 6658-6663.

Sohal, R. S. & Forster, M. J. (2007). Coenzyme Q, oxidative stress and aging. *Mitochondrion*, 7, S103-S111.

Sohet, F. M., Neyrinck, A. M., Pachikian, B. D., de Backer, F. C., Bindels, L. B., Niklowitz, P. et al. (2009). Coenzyme Q10 supplementation lowers hepatic oxidative stress and inflammation associated with diet-induced obesity in mice. *Biochemical Pharmacology*, 78, 1391-1400. doi: 10.1016/j.bcp.2009.07.008.

Souza-Silva, A. A., Moreira, E., de Melo-Marins, D., Schöler, C. M., de Bittencourt, P. I. J., & Laitano, O. (2016). High intensity interval training in the heat enhances exercise-induced lipid peroxidation, but prevents protein oxidation in physically active men. *Temperature (Austin)*, 3, 167-175. doi: 10.1080/23328940.2015.1132101.

Speranza, L., Grilli, A., Patrino, A., Franceschelli, S., Felzani, G., Pesce, M. et al. (2007). Plasmatic markers of muscular stress in isokinetic exercise. *Journal of Biological Regulators & Homeostatic Agents*, 21, 21-29.

St Clair, G. A. & Noakes, T. D. (2004). Evidence for complex system integration and dynamic neural regulation of skeletal muscle recruitment during exercise in humans. *British Journal of Sports Medicine*, 38, 797-806.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Stancel, N., Chen, C. C., Ke, L. Y., Chu, C. S., Lu, J., Sawamura, T. et al. (2016). Interplay between CRP, Atherogenic LDL, and LOX-1 and Its Potential Role in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Clinical Chemistry*, 62, 320-327. doi: 10.1373/clinchem.2015.243923.

Stauber, W. T., Clarkson, P. M., Fritz, V. K., & Evans, W. J. (1990). Extracellular matrix disruption and pain after eccentric muscle action. *Journal of Applied Physiology (1985)*, 69, 868-874.

Stäubli, M., Roessler, B., Kochli, H. P., Peheim, E., & Straub, P. W. (1985). Creatine kinase and creatine kinase MB in endurance runners and in patients with myocardial infarction. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 54, 40-45.

Stear, S. J., Castell, L. M., Burke, L. M., Jeacocke, N., Ekblom, B., Shing, C. et al. (2010). A-Z of nutritional supplements: dietary supplements, sports nutrition foods and ergogenic aids for health and performance-Part 10. *British Journal of Sports Medicine*, 44, 688-690. doi: 10.1136/bjsm.2010.075218.

Steinberg, J. G., Ba, A., Brégeon, F., Delliaux, S., & Jammes, Y. (2007). Cytokine and oxidative responses to maximal cycling exercise in sedentary subjects. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39, 964-968.

Stelzer, I., Kröpfl, J. M., Fuchs, R., Pekovits, K., Mangge, H., Raggam, R. B. et al. (2015). Ultra-endurance exercise induces stress and inflammation and affects circulating hematopoietic progenitor cell function. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 25, e442-e450. doi: 10.1111/sms.12347.

Stocker, R., Bowry, V. W., & Frei, B. (1991). Ubiquinol-10 protects human low density lipoprotein more efficiently against lipid peroxidation than does alpha-tocopherol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 88, 1646-1650.

Stokke, O. (1982). Clinical chemical changes in physical activity. *Scandinavian Journal of Social Medicine*, 29, 93-101.

Su, Q. S., Zhang, J. G., Dong, R., Hua, B., & Sun, J. Z. (2010). Comparison of changes in markers of muscle damage induced by eccentric exercise and ischemia/reperfusion. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 20, 748-756. doi: 10.1111/j.1600-0838.2009.01015.x.

Sugiyama, S., Kitazawa, M., Ozawa, T., Suzuki, K., & Izawa, Y. (1980). Anti-oxidative effect of coenzyme Q10. *Experientia*, 36, 1002-1003.

Sun, I. L., Sun, E. E., & Crane, F. L. (1992). Stimulation of serum-free cell proliferation by coenzyme Q. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 189, 8-13.

Suzuki, K., Totsuka, M., Nakaji, S., Yamada, M., Kudoh, S., Liu, Q. et al. (1999). Endurance exercise causes interaction among stress hormones, cytokines, neutrophil dynamics, and muscle damage. *Journal of Applied Physiology* (1985), 87, 1360-1367.

Suzuki, K., Nakaji, S., Yamada, M., Totsuka, M., Sato, K., & Sugawara, K. (2002). Systemic inflammatory response to exhaustive exercise. Cytokine kinetics. *Exercise Immunology Review*, 8, 6-48.

Suzuki, K., Peake, J., Nosaka, K., Okutsu, M., Abbiss, C. R., Surriano, R. et al. (2006). Changes in markers of muscle damage, inflammation and HSP70 after an Ironman Triathlon race. *European Journal of Applied Physiology*, 98, 525-534.

Taito, S., Sekikawa, K., Oura, K., Kamikawa, N., Matsuki, R., Kimura, T. et al. (2013). Plasma oxidative stress is induced by single-sprint anaerobic exercise in young cigarette smokers. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 33, 241-244. doi: 10.1111/cpf.12007.

Takahashi, T., Okamoto, T., Mori, K., Sayo, H., & Kishi, T. (1993). Distribution of ubiquinone and ubiquinol homologues in rat tissues and subcellular fractions. *Lipids*, 28, 803-809.

Takahashi, T., Yamaguchi, T., Shitashige, M., Okamoto, T., & Kishi, T. (1995). Reduction of ubiquinone in membrane lipids by rat liver cytosol and its involvement in the cellular defence system against lipid peroxidation. *Biochemical Journal*, 309, 883-890.

Takahashi, T., Okuno, M., Okamoto, T., & Kishi, T. (2008). NADPH-dependent coenzyme Q reductase is the main enzyme responsible for the reduction of non-mitochondrial CoQ in cells. *Biofactors*, 32, 59-70.

Takekura, H., Fujinami, N., Nishizawa, T., Ogasawara, H., & Kasuga, N. (2001). Eccentric exercise-induced morphological changes in the membrane systems involved in excitation-contraction coupling in rat skeletal muscle. *The Journal of Physiology*, 533, 571-583.

Tamaki, T., Uchiyama, S., Tamura, T., & Nakano, S. (1994). Changes in muscle oxygenation during weight-lifting exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 68, 465-469.

Taniguchi, T. (1995). Cytokine signaling through nonreceptor protein tyrosine kinases. *Science*, 268, 251-255.

Tartibian, B., Hajizadeh, M. B., Kanaley, J., & Sadeghi, K. (2011). Long-term aerobic exercise and omega-3 supplementation modulate osteoporosis through inflammatory mechanisms in post-menopausal women: a randomized, repeated measures study. *Nutrition & Metabolism (London)*, 8, 71. doi: 10.1186/1743-7075-8-71.



## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Tee, J. C., Bosch, A. N., & Lambert, M. I. (2007). Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*, 37, 827-836.

Teixeira, V. H., Valente, H. F., Casal, S. I., Marques, A. F., & Moreira, P. A. (2009). Antioxidants do not prevent postexercise peroxidation and may delay muscle recovery. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 41, 1752-1760. doi: 10.1249/MSS.0b013e31819fe8e3.

Thompson, D., Karpe, F., Lafontan, M., & Frayn, K. (2012). Physical activity and exercise in the regulation of human adipose tissue physiology. *Physiological Reviews*, 92, 157-191. doi: 10.1152/physrev.00012.2011.

Tozzi-Ciancarelli, M. G., Penco, M., & Di, M. C. (2002). Influence of acute exercise on human platelet responsiveness: possible involvement of exercise-induced oxidative stress. *European Journal of Applied Physiology*, 86, 266-272.

Traber, M. G., Lane, J. C., Lagmay, N. R., & Kayden, H. J. (1992). Studies on the transfer of tocopherol between lipoproteins. *Lipids*, 27, 657-663.

Tran, U. C. & Clarke, C. F. (2007). Endogenous synthesis of coenzyme Q in eukaryotes. *Mitochondrion*, 7 Suppl, S62-S71.

Tran, M. T., Mitchell, T. M., Kennedy, D. T., & Giles, J. T. (2001). Role of coenzyme Q10 in chronic heart failure, angina, and hypertension. *Pharmacotherapy*, 21, 797-806.

Turner, J. E., Hodges, N. J., Bosch, J. A., & Aldred, S. (2011). Prolonged depletion of antioxidant capacity after ultraendurance exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 43, 1770-1776. doi: 10.1249/MSS.0b013e31821240bb.

Turunen, M., Olsson, J., & Dallner, G. (2004). Metabolism and function of coenzyme Q. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1660, 171-199.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.

Vanfraechem J. H. P. & Folkers K. (1981). Coenzyme Q10 and Physical performance. In K. Folkers and T. Yamagami (Eds.). *Biomedical and clinical aspects of Coenzyme Q*, Vol. 3, 235-240. Amsterdam, Holland: Elsevier Science Publishers.

Varela-López, A., Giampieri, F., Battino, M., & Quiles, J. L. (2016). Coenzyme Q and Its Role in the Dietary Therapy against Aging. *Molecules*, 21, 373. doi: 10.3390/molecules21030373.

Vargas, N. T. & Marino, F. (2014). A neuroinflammatory model for acute fatigue during exercise. *Sports Medicine*, 44, 1479-1487. doi: 10.1007/s40279-014-0232-4.

Vassalle, C., Piaggi, P., Weltman, N., Prontera, C., Garbella, E., Menicucci, D. et al. (2014). Innovative approach to interpret the variability of biomarkers after ultra-endurance exercise: the multifactorial analysis. *Biomarkers in Medicine*, 8, 881-891.

Vilela, E. M., Bastos, J. C., Rodrigues, R. P., & Nunes, J. P. (2014). High-sensitivity troponin after running-A systematic review. *The Netherlands Journal of Medicine*, 72, 5-9.

Villalba, J. M., Navarro, F., Córdoba, F., Serrano, A., Arroyo, A., Crane, F. L. et al. (1995). Coenzyme Q reductase from liver plasma membrane: purification and role in trans-plasma-membrane electron transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 4887-4891.

Villalba, J. M., Parrado, C., Santos-González, M., & Alcain, F. J. (2010). Therapeutic use of coenzyme Q10 and coenzyme Q10-related compounds and formulations. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 19, 535-554. doi: 10.1517/13543781003727495.

Vincent, H. K. & Vincent, K. R. (1997). The effect of training status on the serum creatine kinase response, soreness and muscle function following resistance exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 18, 431-437.

Vincent, H. K., Morgan, J. W., & Vincent, K. R. (2004). Obesity exacerbates oxidative stress levels after acute exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 36, 772-779.

Vissing, K., Overgaard, K., Nedergaard, A., Fredsted, A., & Schjerling, P. (2008). Effects of concentric and repeated eccentric exercise on muscle damage and calpain-calpastatin gene expression in human skeletal muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 103, 323-332. doi: 10.1007/s00421-008-0709-7.

Walter, L., Nogueira, V., Leverve, X., Heitz, M. P., Bernardi, P., & Fontaine, E. (2000). Three classes of ubiquinone analogs regulate the mitochondrial permeability transition pore through a common site. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 29521-29527.

Walz W. (2005). From Functional Linkage to Integrative Physiology. In W. Walz (Ed.). *Integrative Physiology in the Proteomics and Post-Genomics Age*, 1-5. New York City, USA: Humana press.

Waring, W. S., Convery, A., Mishra, V., Shenkin, A., Webb, D. J., & Maxwell, S. R. (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clinical Science (London)*, 105, 425-430.

Watson, T. A., Callister, R., Taylor, R. D., Sibbritt, D. W., MacDonald-Wicks, L. K., & Garg, M. L. (2005). Antioxidant restriction and oxidative stress in short-duration exhaustive exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37, 63-71.

## CAPÍTULO VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Weber, C., Sejersgard, J. T., Mortensen, S. A., Paulsen, G., & Holmer, G. (1994). Antioxidative effect of dietary coenzyme Q10 in human blood plasma. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 64, 311-315.

Westerblad, H., Lee, J. A., Lannergren, J., & Allen, D. G. (1991). Cellular mechanisms of fatigue in skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 261, C195-C209.

Wetzstein, C. J., Shern-Brewer, R. A., Santanam, N., Green, N. R., White-Welkley, J. E., & Parthasarathy, S. (1998). Does acute exercise affect the susceptibility of low density lipoprotein to oxidation? *Free Radical Biology & Medicine*, 24, 679-682.

Wiecek, M., Maciejczyk, M., Szymura, J., & Szygula, Z. (2015). Changes in oxidative stress and acid-base balance in men and women following maximal-intensity physical exercise. *Physiological Research*, 64, 93-102.

Williams, S. L., Strobel, N. A., Lexis, L. A., & Coombes, J. S. (2006). Antioxidant requirements of endurance athletes: implications for health. *Nutrition Reviews*, 64, 93-108.

Wolf D. E., Hoffman C. H., Trenner N. R., Arison B. H., Shunk C. H., Linn B. O., McPherson J. F., & Folkers K. (1958). Coenzyme Q. I. Structure studies on the coenzyme Q group. *Journal of the American Chemical Society*, 80, 4752.

Wolters, M. & Hahn, A. (2003). Plasma ubiquinone status and response to six-month supplementation combined with multivitamins in healthy elderly women--results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research*, 73, 207-214.

Wyss V., Lubich T., Ganzit G. P., Cesaretti D., Fiorella P. L., Dei C., Rocini C., Bargossi A. M., Battistoni R., Lippi A., Grossi G., Sprovieri G., & Battino M. (1990). Remarks on prolonged ubiquinone administration in physical exercise. In G. Lenaz, O. Bernabei, A. Rabbi, and M. Battino (Eds.) *Highlights in Ubiquinone Research*, 303–308. London, UK: Taylor & Francis.

Xiao, N. N. (2015). Effects of Resveratrol Supplementation on Oxidative Damage and Lipid Peroxidation Induced by Strenuous Exercise in Rats. *Biomolecules & Therapeutics (Seoul)*, 23, 374-378. doi: 10.4062/biomolther.2015.015.

Yamamura, T., Otani, H., Nakao, Y., Hattori, R., Osako, M., Imamura, H. et al. (2001). Dual involvement of coenzyme Q10 in redox signaling and inhibition of death signaling in the rat heart mitochondria. *Antioxidants & Redox Signaling*, 3, 103-112.

Ylikoski, T., Piirainen, J., Hanninen, O., & Penttinen, J. (1997). The effect of coenzyme Q10 on the exercise performance of cross-country skiers. *Molecular Aspects of Medicine*, 18 Suppl, S283-S290.

Zacharewicz, E., Lamon, S., & Russell, A. P. (2013). MicroRNAs in skeletal muscle and their regulation with exercise, ageing, and disease. *Frontiers in Physiology*, 4, 266. doi: 10.3389/fphys.2013.00266.

Zalavras, A., Fatouros, I. G., Deli, C. K., Draganidis, D., Theodorou, A. A., Soulas, D. et al. (2015). Age-related responses in circulating markers of redox status in healthy adolescents and adults during the course of a training macrocycle. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, 283921. doi: 10.1155/2015/283921.

Zeppilli P., Merlino B., De Luca A., Palmieri V., Santini C., Vannicelli R., La Rosa Gangi M., Cacesse R., Cameli S., Servidei S., Ricci E., Silvestri G., Lippa S., Oradei A., & Littarru G.P. (1991). Influence of coenzyme Q10 on physical work capacity in athletes, sedentary people and patients with mitochondrial disease In K. Folkers, G.P. Littarru and T. Yamagami (Eds.). *Biomedical and clinical aspects of Coenzyme Q10*, Vol. 6, 541. Amsterdam, Holland: Elsevier/North-Holland.

Zhang, C. Y., Baffy, G., Perret, P., Krauss, S., Peroni, O., Grujic, D. et al. (2001). Uncoupling protein-2 negatively regulates insulin secretion and is a major link between obesity, beta cell dysfunction, and type 2 diabetes. *Cell*, 105, 745-755.

Zheng, A. & Moritani, T. (2008). Influence of CoQ10 on autonomic nervous activity and energy metabolism during exercise in healthy subjects. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology (Tokyo)*, 54, 286-290.

Zhou, S., Zhang, Y., Davie, A., Marshall-Gradisnik, S., Hu, H., Wang, J. et al. (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, 337-346.

Zuliani, U., Bonetti, A., Campana, M., Cerioli, G., Solito, F., & Novarini, A. (1989). The influence of ubiquinone (CoQ10) on the metabolic response to work. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 29, 57-62.





## ANEXO I

### HOJA INFORMATIVA PARA EL VOLUNTARIO

#### “INFLUENCIA DE UNA SUPLEMENTACIÓN A CORTO PLAZO CON UBIQUINOL SOBRE DIVERSOS ASPECTOS RELACIONADOS CON LA ACTIVIDAD FÍSICA (FUNCIÓN MUSCULAR, ESTRÉS OXIDATIVO Y SEÑALIZACIÓN INFLAMATORIA)”

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 ect. 20317; 20303).**



## ANEXO II

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

#### HOJA DE ADMISIÓN EN EL ESTUDIO

**Título del proyecto: “INFLUENCIA DE UNA SUPLEMENTACIÓN A CORTO PLAZO CON UBIQUINOL SOBRE DIVERSOS ASPECTOS RELACIONADOS CON LA ACTIVIDAD FÍSICA (FUNCIÓN MUSCULAR, ESTRÉS OXIDATIVO Y SEÑALIZACIÓN INFLAMATORIA)”**

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 esta 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:

## ANEXOS

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.

<b>Código:</b>	
----------------	--

**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

Si, una vez.

Si, 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?

Si

No

En caso afirmativo indique el motivo:

4. ¿Esta tomando vitaminas o suplementos dietéticos?

Si

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 )					

ANEXOS

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)

**Este es el final del cuestionario, gracias por su participación.**