

*De Teresa, C., y cols.*



¿Puede el ejercicio aeróbico de larga duración ser un riesgo para la salud? Efectos protectores del *Phlebotium decumanum* (EXPLY).

## **Autores:**

**De Teresa, Carlos(1), Alcaide, Antonio (2), Fresno, Manuel (3), Zarzuelo, Antonio (4), Rodríguez, Jesús(5).**

1. Centro Andaluz de Medicina del Deporte. Consejería de Turismo, Comercio y Deporte. Junta de Andalucía. Granada.
2. Departamento Científico. Helsint, S.A.L.
3. Departamento de Inmunología. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa". Universidad Autónoma de Madrid.
4. Departamento de Farmacología. Universidad de Granada.
5. Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Granada.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. EFECTOS GENERALES Y RIESGOS POTENCIALES DEL EJERCICIO FÍSICO..	6
3. RIESGOS ASOCIADOS A LA MEJORA DEL RENDIMIENTO DEPORTIVO.....	8
4. EFECTO INMUNOMODULADOR DEL PHLEBODIUM DECUMANUM.....	10
5. OBJETIVOS DEL ESTUDIO .....	15
6. MATERIALY MÉTODOS .....	17
7. RESULTADOS .....	20
8. DISCUSIÓN .....	29
9. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	34
● ANEXO 1 .....	36
10. REFERENCIAS.....	45

## **1.- INTRODUCCIÓN.**

La evolución de los seres vivos a lo largo de la historia ha supuesto cambios y modificaciones en las especies tanto desde el punto de vista morfológico como funcional, con el fin último de adaptarse al medio para sobrevivir. Así, la evolución de las especies en la tierra se puede considerar como un fenómeno de "ensayo-error" en el que solo sobrevivían aquellos ensayos que se adaptaban a las condiciones del ambiente (1-4).

En cualquier caso, una de las adaptaciones más importantes fue la de la *utilización del oxígeno como fuente de energía*. Por ello, los seres que sobrevivieron fueron aquellos que desarrollaron vías de producción de energía mediante la utilización del oxígeno, tan abundante y disponible en aquel medio, y que además, y de modo paralelo, también desarrollaron medios de protección frente a los daños potenciales derivados de dichos procesos, y muy especialmente a través de mecanismos antioxidantes frente a la acción potencialmente dañina del oxígeno y la producción de radicales libres durante su metabolización (3,5).

De hecho, el proceso de metabolización del oxígeno da lugar a la producción de moléculas muy reactivas (radicales libres) debido a la presencia de un electrón desapareado en la última capa que le hace reaccionar muy fácilmente con distintas moléculas, cuyo efecto sobre los distintos componentes de las membranas (especialmente mitocondriales) reduce la capacidad de producir energía y contribuye a desarrollar los procesos de envejecimiento (6). Aunque durante la evolución se han ido desarrollando mecanismos de

antioxidación para contrarrestar estos efectos deletéreos, finalmente los procesos relacionados con la combustión del oxígeno son los que determinan principalmente el envejecimiento (5,6).

Los fenómenos de oxidación, por lo tanto, son una constante como consecuencia de la adaptación de los organismos al estado de aerobiosis. Normalmente, el daño celular que pueden producir estas especies reactivas del oxígeno, es controlado por mecanismos antioxidantes enzimáticos y compuestos no proteicos (7-9). Pero la protección que confieren estas sustancias y enzimas es limitada y puede ser sobrepasada por diversas situaciones que generan estrés oxidativo, como son, el aumento de la concentración de oxígeno, los efectos de compuestos exógenos, estados inflamatorios, etc.(10).

Sin embargo, volviendo la mirada al proceso evolutivo del ser humano, sobresale un hecho claramente constatable: *la necesidad de movimiento* para sobrevivir. La actividad física, por tanto, no debe tomarse como una función que puede o no ser utilizada, sino más bien como un estímulo que potencia la funcionalidad de todos los órganos y sistemas implicados en el ejercicio. Por esta razón, se ha podido evidenciar que la funcionalidad de sistemas como el cardiovascular, metabólico, o los propios los mecanismos antioxidantes, e incluso inmunes, alcanzan su plenitud funcional ante el estímulo que supone el ejercicio físico, ya que éste determina adaptaciones positivas para cada órgano.

Sin embargo, los cambios en el estilo de vida actual han supuesto una disminución en la actividad física de la población general, hasta alcanzar cifras de sedentarismo de más de un 50% de la población en el mundo occidental en general. Esta deficiencia del estímulo saludable que supone el ejercicio físico es una de las principales responsables del aumento en la incidencia de patologías crónicas degenerativas, como las enfermedades cardiovasculares, la obesidad, la diabetes tipo II y la hipertensión.

En concreto, el aumento creciente en la incidencia de la obesidad, incluso en las poblaciones en edad de crecimiento, ligada al cambio en los hábitos de vida, ha determinado el diseño de estrategias por parte de las administraciones públicas y de organismos internacionales como la OMS, para atajar las consecuencias de esta verdadera epidemia del siglo XXI. La contribución del sedentarismo a los problemas de salud se ha podido evidenciar científicamente. Según algunos estudios (10.1), se estima que en Estados Unidos la inactividad física y los malos hábitos dietéticos han contribuido a la producción de 400.000 muertes en el año 2000 (18,1%), aumentando desde las 300.000 muertes estimadas en el año 1990 (14%), por lo que se considera el segundo problema más importante de salud tras el tabaco con 435.000 muertes en el año 2000 (18,1%), pero en descenso con relación a 1990 (19%).

Esta situación hace aún más necesario un cambio social en el que se abandonen los patrones de vida más sedentarios, y se promuevan los físicamente más activos.

## **2.- EFECTOS GENERALES Y RIESGOS POTENCIALES DEL EJERCICIO FÍSICO.**

Aunque los beneficios del ejercicio practicado regularmente determinan una mejora significativa de una variedad de capacidades funcionales relacionadas con el transporte y utilización de oxígeno, así como del aparato locomotor (16-23), sin embargo, estas respuestas beneficiosas adaptativas dependen de múltiples variables como el tipo de ejercicio, su intensidad, duración y frecuencia, así como de factores relacionados con la salud, como el estado de función del sistema cardiovascular, respiratorio y metabólico, y de otros como la edad, sexo y, sobre todo, el nivel de condición física (24-32).

En cualquier caso, cuando la práctica del ejercicio físico no está suficientemente individualizada y orientada, se podría provocar una carga excesiva que aumentara el riesgo de padecer manifestaciones adversas, tanto desde el punto de vista patofisiológico como psicosomático, pudiéndose comprometer la salud del deportista (33). Existe una mínima diferencia entre entrenar lo justo para conseguir unos excelentes beneficios acompañados de un buen estado de salud, y realizar una preparación excesiva, que pueda provocar lesiones y desencadenar respuestas en distintos órganos que pudieran situar al sujeto en un mayor riesgo de acumulación de fatiga e incluso de un síndrome de sobreentrenamiento (34)

En el informe Physical Activity and Health (2000), se evidenció que el efecto adverso más común de la actividad física tanto recreacional como competitiva, es el padecimiento de lesiones agudas del aparato locomotor, en la mayor parte de los casos por repetición de movimientos inadecuados que sobrecargan la musculatura, pero también otras de mayor trascendencia como los accidentes cardiovasculares, en especial el infarto agudo de miocardio y la muerte súbita (13, 14). Los riesgos asociados al ejercicio aumentan según lo hace la intensidad del esfuerzo, siendo mucho mayores en las personas que no están acostumbradas al ejercicio que en las ya habituadas (15, 18, 27). De hecho, los esfuerzos físicos cuyas intensidades superan la del umbral anaeróbico, son los que más aumentan los riesgos especialmente coronarios, al desencadenar respuestas como la sobrestimulación simpática, un incremento del daño oxidativo y una disfunción inmune, relacionados con el incremento de la producción de radicales libres y de moléculas proinflamatorias (35, 36). En este sentido, diversos estudios en los últimos años han demostrado alteraciones inmunológicas provocadas por el sobre esfuerzo (37- 39). Estos efectos se han podido evidenciar especialmente tras realizar ejercicios de contracciones musculares excéntricas (como bajar cuestas o frenadas bruscas al correr), que provocan mayor daño (40, 41), como lo refleja el incremento sanguíneo de enzimas mio celulares, la lesión de la ultra estructura de sus células y el desarrollo de una marcada respuesta inflamatoria (42)

De este modo, los ejercicios de alta intensidad provocan un verdadero estado inflamatorio, con aumento de producción por parte de los macrófagos, e incluso

por los propios miocitos y miocardiocitos, de citoquinas proinflamatorias (IL-1, IL-6 y TNF) (35,39,41). Dicha respuesta, junto con el aumento de catecolaminas y de cortisol, provoca daños catabólicos musculares e incluso miocárdicos, que aumentan el riesgo de sufrir accidentes coronarios.

Por todo ello, la prescripción del ejercicio físico deberá siempre ser individualizada, teniendo en cuenta todas las condiciones y circunstancias específicas que acompañan a cada sujeto. Para que el ejercicio sea finalmente seguro y saludable, se debería abordar su prescripción considerando todas aquellas medidas (alimentarias, suplementación dietética, descanso y reposo, materiales deportivos, etc.) que evitaren circunstancias que aumentaran el riesgo de sufrir cualquier tipo de lesión.

### **3.- RIESGOS ASOCIADOS A LA MEJORA DEL RENDIMIENTO DEPORTIVO.**

El rendimiento en los deportes de resistencia, está limitado por la de la capacidad de todos los mecanismos implicados en la producción energética, debido a la alta intensidad o a la duración excesiva de los ejercicios. Las limitaciones en la capacidad de generar energía, se asocian al daño inducido en diversas estructuras celulares, principalmente a nivel mitocondrial, relacionadas con un aumento del estrés oxidativo (47). Cuando estas situaciones se perpetúan en el tiempo, o incluso en situaciones agudas, pueden conducir al deterioro funcional en varios órganos, tales como el músculo esquelético

(sarcopenia), el sistema metabólico (resistencia a la insulina), el sistema óseo (osteoporosis) y el miocardio, determinando la denominada "fatiga cardíaca" (59-64). Este cuadro corresponde a un patrón típico de fatiga aguda con el consiguiente riesgo de lesiones musculares.

Las técnicas terapéuticas más recientes para corregir la fatiga aguda, son aquellas basadas en la mejora de la resíntesis del ATP del músculo, mediante productos ergogénicos implicados directamente en este proceso metabólico. En este sentido, el monohidrato de creatina es un buen ejemplo (62-67).

Hay bastantes evidencias de que el entrenamiento aeróbico incrementa la actividad enzimática antioxidante celular (48,49,68,69). Sin embargo, no hay datos substanciales disponibles sobre los efectos de esta clase de entrenamiento en la reversión de los cambios inmunológicos implicados en la fatiga crónica.

El sobreesfuerzo asociado al entrenamiento de alta intensidad, por otra parte, desencadena la sobreactivación del sistema neuroendocrino, caracterizada por un aumento de las respuestas catabólicas. Los daños oxidativos aumentan en este tipo de respuestas, promoviendo una disfunción del sistema inmune, similar a la que ocurre en el síndrome de fatiga crónica (208), y que se caracteriza por el aumento de la producción de citoquinas pro-inflamatorias, tales como la IL-1, la IL-6 y el TNF $\alpha$  (66- 70). La susceptibilidad a las infecciones virales (herpes, Epstein-Barr, etc.), la fatiga, las mialgias, la febrícula, las alteraciones del sueño, la pérdida del apetito, la irritabilidad, la

depresión y la melancolía definen este estado catabólico de acumulación crónica de la fatiga.

Los antioxidantes y las sustancias anabolizantes se utilizan para contrarrestar la disfunción oxidativa catabólica, como herramientas para reducir al mínimo este complejo cuadro clínico (69-71). Sin embargo, hasta el momento no se ha postulado ningún abordaje clínico, para la reversión de la disfunción inmune ligada al sobreesfuerzo y la fatiga crónica. Por ello, debería estudiarse la utilización de productos ergogénicos capaces de incidir o modular positivamente la disfunción inmune relacionada con el sobreesfuerzo físico.

La mayoría de los estudios diseñados para investigar las respuestas agudas al ejercicio continuo supramaximal o máximo durante cortos periodos de tiempo, se han dirigido a estudiar la incidencia de lesiones de tipo traumatológico (63-71). El ciclismo, sin embargo, es un deporte caracterizado por una fuerte demanda energética, que se adapta a un patrón altamente exigente de competición: 2-3 semanas de competición diaria, sin suficiente tiempo de recuperación, determinando cuadros de fatiga muscular debida a cargas de trabajo excesivas.

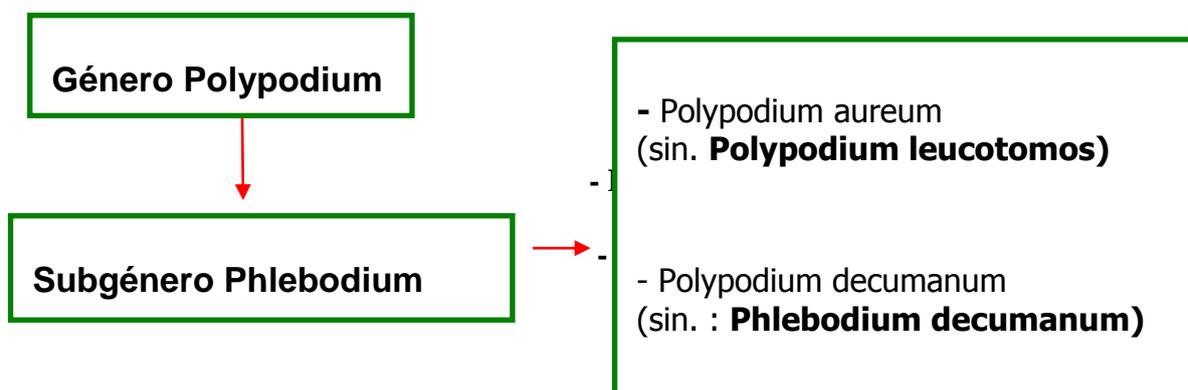
#### **4.- EFECTO INMUNOMODULADOR DEL PHLEBODIUM DECUMANUM**

El término '*calaguala*' se ha utilizado en América Central y Sudamérica para identificar a un elevado número de *Polipodiáceas* estrechamente relacionadas entre sí. Algunos de estos helechos, como el *Polypodium*

*leucotomos*, son utilizados actualmente como productos farmacéuticos para el tratamiento de patologías relacionadas con alteraciones del sistema inmune como el psoriasis, por ejemplo.

La definición específica de estas plantas proviene del acuerdo unánime al que se llegó en 1992 sobre su nomenclatura y clasificación taxonómica. Este acuerdo se llevó a cabo por especialistas de la Escuela Agrícola Panamericana de Honduras, por la Universidad de Uppsala de Suecia y por la Universidad Nacional Autónoma de Honduras.

Las plantas cultivadas en la plantación del lago Yojoa en Honduras, se caracterizan por un amplio fronde provisto de varios soros (3 a 7) y por su grueso, carnoso y vellosos rizoma, debe considerarse como *Phlebodium Decumanun*, reservándose la nomenclatura *Polypodium leucotomos* para la variedad de fronde más corto y estrecho con un único soro. La plantación del lago Yojoa es la única en el mundo donde se cultivan estas dos polipodiáceas, constituyendo un buen ejemplo de cultivos procesados orgánicamente y una importante contribución a la conservación de la biodiversidad. La relación entre las variedades de la calaguala, específicamente del género *Polypodium* es la siguiente :





*Phlebodium decumanum*

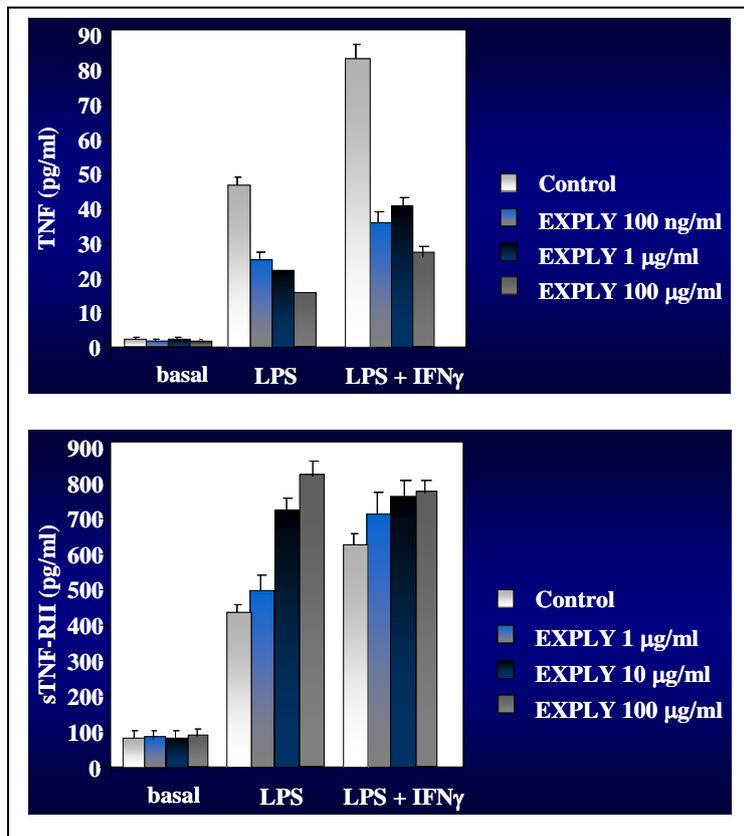
Todas las formulaciones a base de *Phlebodium decumanum* (PhD) se obtienen a partir del helecho cultivado bajo procesos estrictamente ecológicos en la Finca HELSINT del Lago Yojoa en Honduras, específicamente enriquecidas en sus nutrientes. Los controles físico – químicos y biológicos durante las etapas del proceso en el producto final demuestran la requerida reproducibilidad lote a lote. Este riguroso proceso tiene el objetivo de diferenciarlo de otros productos no estandarizados que pudieran obtenerse de plantas silvestres, sin una rigurosa identificación botánica y sin los controles de calidad y criterios de selección y recolección que se aplican a las plantas cultivadas ecológicamente.

Existe una fracción hidrosoluble idónea para formas líquidas (jarabes y cápsulas blandas) y formas sólidas (polvo, cápsulas duras y comprimidos), utilizando distintos excipientes. El rizoma enriquecido, así como la mezcla de fracción hidrosoluble con rizoma esterilizado y triturado, seguida de secado y

homogeneización, dan lugar a un polvo que puede utilizarse como tal o en forma de cápsulas, identificado como EXPLY, cuyo método de procesamiento y utilización como suplemento nutricional en el síndrome de sobre esfuerzo físico están incluidos en varias patentes internacionales (72- 73).

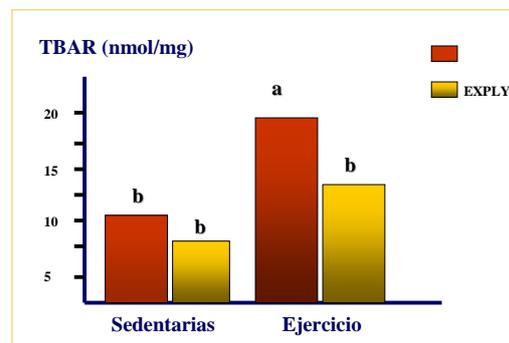
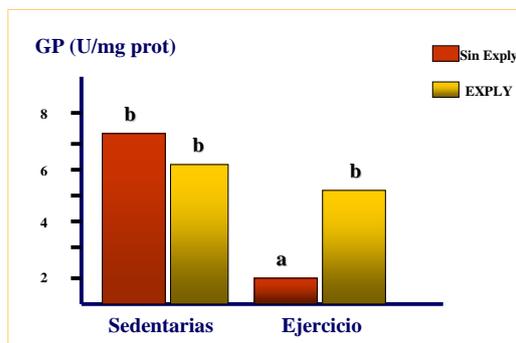
La acción inmunomoduladora del PhD quedó evidenciada es los estudios realizados en modelos in vitro, desarrollados en el Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (de Universidad Autónoma de Madrid) (50). Las conclusiones de dichos estudios fueron las siguientes: el PhD tiene una acción reguladora de la homeostasis de las citoquinas proinflamatorias, (IL-1, IL-6 y TNFalfa), efecto provocado por al aumento de la liberación de receptores solubles del TNF (sTNF-R) y antagonistas de la IL-1 (IL-1ra) que bloquean parcialmente (hasta un 80%) dichos picos de liberación de estas citoquinas.

Figura.



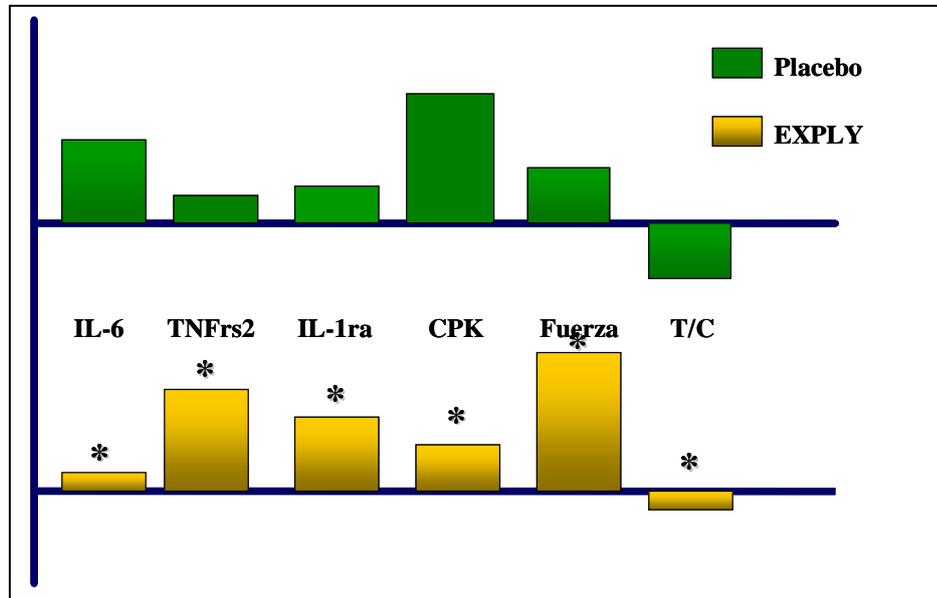
Dado el perfil inmunomodulador evidenciado por el PhD, nuestro grupo investigador llevó a cabo estudios para profundizar en los efectos protectores frente al ejercicio de alta intensidad tanto en animales de experimentación (71) como en humanos (70), con los siguientes resultados:

- Los animales de experimentación (ratas), cuya dieta fue suplementada con PhD, tras ser sometidos a un ejercicio extenuante diario (en cinta rodante) durante 6 semanas, mostraron menor estrés oxidativo (hidroperóxidos y TBARS) y una mayor actividad enzimática antioxidante (glutacion peroxidasa, catalasa y superóxido dismutasa) en músculo esquelético y corazón, que las que no recibieron suplementación (71).



- El entrenamiento de fuerza de alta intensidad en jóvenes evidenció una respuesta inmunológica semejante a la de los estudios in Vitro, en aquellos que habían suplementado su dieta con EXPLY frente a los que tomaron placebo (70).
- La protección frente al aumento catabólico se evidenció por una diferencia significativa del índice testosterona/cortisol (T/C) y del daño

muscular, reflejado por niveles más bajos de creatín-kinasa (CK), en el grupo que tomó EXPLY en comparación con el placebo (70).



## 5.- OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Si bien se habían evidenciado los efectos protectores del PhD frente al ejercicio de alta intensidad, cada vez son más las interrogantes sobre la seguridad del ejercicio aeróbico (de intensidad moderada) cuando se realiza durante un prolongado periodo de tiempo. De hecho, la mayoría de los practicantes de ejercicio y deporte nunca se han sometido a un reconocimiento médico, ni han sido informados sobre riesgos del ejercicio practicado en circunstancias inadecuadas.

Dada la alta incidencia de factores de riesgo coronario en la población general adulta, y que precisamente es en este grupo poblacional en el que se va a hacer mayor hincapié sobre la necesidad de hacer ejercicio para mejorar

su salud, es necesario ampliar los estudios que permitan conocer las situaciones de riesgo y los mecanismos para proteger a los deportistas frente a las situaciones negativas potenciales debidas al ejercicio físico inadecuado.

Por ello, el objetivo de este estudio ha sido evaluar el efecto del EXPLY (*Phlebodium decumanum*), como suplemento nutricional para ejercer una actividad de regulación en los niveles de citoquinas pro-inflamatorias, en el rendimiento de un ciclista y en la reducción de los riesgos debidos al ejercicio de duración prolongada.

Los objetivos principales eran los de investigar:

- a) Los efectos del EXPLY (*Phlebodium decumanum*) en los cambios metabólicos inducidos por el entrenamiento aeróbico prolongado,
- b) Los efectos protectores del EXPLY (*Phlebodium decumanum*) en el daño oxidativo inducido por ejercicios prolongados de alta intensidad aeróbica.
- c) La eficacia total del EXPLY en el rendimiento del ciclismo.
- d) Los cambios eventuales en parámetros inmunológicos basales en respuesta al entrenamiento aeróbico prolongado.

## **6.- MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **Población del estudio**

Veinticuatro ciclistas de sexo masculino, con edades comprendidas entre los 18 y los 22 años, con pesos de 59.1 a 77.7 kilogramos, y alturas de 164 a 183

centímetros, con un porcentaje de grasa de 9.7% a 10.9%, han sido preseleccionados para el estudio. Han estado participando en competencias durante  $2 \pm 2.1$  años y entrenando un promedio de  $18.2 \pm 4.2$  horas por semana. Una semana antes del comienzo del estudio se realizaron exámenes médicos, ECG, análisis hematológicos y de orina. Muestras o síntomas de fatiga, consumo de alcohol, tabaco o uso de drogas que afectaban al rendimiento del ciclista y las enfermedades comunes, fueron criterios estrictos de exclusión. Los criterios principales de la inclusión se muestran en la Tabla I.

Todos los sujetos fueron informados del estudio y dieron su consentimiento por escrito antes de su participación.

### **Diseño del estudio**

Se seleccionaron al azar, según un diseño de distribución aleatoria, y se distribuyeron a los dieciocho ciclistas, que cumplían los criterios de la inclusión, en dos grupos que recibían el tratamiento A o B, sobre un diseño doble ciego.

- El *tratamiento A* consistió en cápsulas de gelatina dura que contenían 400 mg. de EXPLY (rizoma enriquecido del *Phlebodium decumanum*).
- El *tratamiento B* consistió en cápsulas de gelatina duras que contenían 400 mg. de PLACEBO.

Los sujetos del estudio recibieron dos cápsulas tres veces al día de EXPLY o de PLACEBO.

Los participantes realizaron durante 30 días un entrenamiento aeróbico con un protocolo de 10 kilómetros, seguido por una cronoescalada, el día 31, con una pendiente media del 5-10%. La analítica y las determinaciones del funcionamiento fueron registradas los días 0 (T0, basal) y 28 (T1). La ingestión de cafeína no fue permitida durante 24 horas antes de T0, T1. Todos los sujetos ayunaron durante 2 horas antes de las determinaciones en T0, T1.

### **Evaluación funcional deportiva**

#### **1. Medidas antropométricas**

Antes de la prueba, los sujetos fueron medidos, pesados, y se les tomaron las mediciones de 6 pliegues grasos (tríceps, subescapular, abdomen, suprailíaco, muslo y pierna), según los procedimientos estandarizados (75), para determinar la composición corporal.

#### **2. Tests hematológicos**

Se tomaron muestras de sangre de la vena antecubital del brazo no dominante, para analizar el hemograma, la bioquímica sanguínea rutinaria, y los análisis inmunológicos y oxidativos.

*Análisis de Citoquinas.* Fueron tomadas dos muestras de sangre de 10 ml., en tubos de ensayo que contenían 35 micromoles de EDTA y 1500 del inactivador de la kalikreína. Los tubos fueron guardados en hielo hasta su centrifugado a 2150g durante 15 minutos a 4°C. Las partes

alícuotas del plasma fueron separadas y almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$  y analizadas con el método ELISA.

*Estrés oxidativo.* Para evaluar el daño del estrés oxidativo provocado por el ejercicio, las variables dominantes claves relacionadas con el estado antioxidante, tal como CoQ10 y  $\alpha$ -tocopherol, fueron determinadas después de la técnica de Littarru por HPLC (76).

*El daño oxidativo en el ADN mitocondrial linfocitario* (análisis COMET), como marcador específico del daño oxidativo, también fue medido, por el método de Ostling, modificado por Bauch et al. (77-80).

### **3. Prueba de rendimiento (Ergometría).**

Fueron determinados en el laboratorio del Centro Andaluz de Medicina del Deporte (CAMD), de Granada, los vatios totales, el consumo máximo de oxígeno, el umbral ventilatorio, el ritmo cardíaco, el cociente respiratorio y la concentración máxima de lactato, durante y después de una prueba máxima en rampa usando un cicloergómetro electrónico equipado con manillar, asiento de competición y pedales específicos para ciclistas. La carga de trabajo comenzó con 50W y aumentó en 25W cada 2 minutos hasta la extenuación. Todas las medidas fueron tomadas a una temperatura ambiente entre  $19-21^{\circ}\text{C}$ .

El gas espirado fue recogido usando un método ergoespirométrico mediante el modelo CPX, Medical Graphics Corporation (EE.UU.) Las concentraciones de oxígeno fueron evaluadas usando un analizador de oxígeno de circonio, mientras que las concentraciones del dióxido de carbono fueron determinadas

usando técnicas de absorción infrarroja. El analizador ergoespirométrico médico fue calibrado antes de cada prueba usando gases a concentraciones conocidas. El volumen del aire expirado (VE, L/min) fue evaluado mediante un neumotacógrafo Medical Graphics, a través de conductividad termal. El flujo fue calibrado antes de cada prueba usando una jeringa de volumen conocido (3L). El consumo de oxígeno ( $VO_2$ ), la producción de dióxido de carbono ( $VCO_2$ ), el cociente respiratorio (RER), el umbral anaeróbico ventilatorio (VT), y el electrocardiograma (EKG) fueron supervisados antes, durante y después de cada prueba, y la frecuencia cardíaca se registró siempre en los últimos 15 segundos de cada escalón de intensidad.

El consumo máximo de oxígeno ( $VO_2$  max) se definió como el valor obtenido cuando el aumento de dicha variable formaba una meseta, no aumentando pesar del aumento de la carga de trabajo(80). El umbral anaeróbico (VT) fue determinado por el método de la V-slope a partir de los gráficos que evaluaban la ventilación (VE) y los equivalentes de dióxido de carbono ( $VE/VCO_2$ ) y de oxígeno ( $VE/VO_2$ ). Se define VT como la intensidad de esfuerzo en la que la ventilación (VE) crece de una manera no lineal, o cuando el equivalente de oxígeno ( $VE/VO_2$ ) comienza a incrementarse sin que se produzca una elevación simultánea de  $VE/VCO_2$  (77-80).

Las concentraciones de lactato fueron tomadas mediante muestras de sangre capilar de 20  $\mu$ l tomadas del lóbulo de la oreja durante el esfuerzo máximo, y a los 2, 4 y 6 minutos de recuperación, usando un método

electroenzimático (analizador del lactato Yellow Sping). La concentración máxima de lactato se definió como el valor más alto encontrado en las muestras tomadas en el esfuerzo máximo o en el período de recuperación de cada prueba (80).

#### **4. Prueba inicial**

Una prueba inicial en el laboratorio del Centro Andaluz de Medicina del Deporte de Granada, permitió que los candidatos del estudio se familiarizaran con el laboratorio de fisiología de esfuerzo, así como con las distintas metodologías de la prueba. Esta fase inicial permitió seleccionar a 18 ciclistas que cumplieran los criterios de inclusión establecidos en el diseño del estudio. (Tabla I).

#### **5. Protocolo del entrenamiento de los ciclistas**

Después de la evaluación inicial (T0), se aplicó un protocolo de entrenamiento aeróbico intensivo que había sido diseñado para una duración de 30 días, en base a los resultados obtenidos de  $VO_2$  max y a los datos de VT de cada ciclista en la prueba de esfuerzo máxima de la fase T0.

El protocolo del entrenamiento se dividió en tres microciclos de la siguiente forma:

- Diez días de ejercicio aeróbico extensivo (10 lpm por debajo del VT), con una duración diaria de 3.5 horas, en una única sesión por la mañana, 6 días a la semana.
- Diez días de ejercicio aeróbico intensivo (5 lpm por debajo del VT), con una duración diaria de 2.5 - 3 horas, en una única sesión por la mañana, 6 días a la semana.
- Diez días de ejercicio aeróbico intensivo (5 lpm por debajo del VT) 2 horas al día, y 1 hora de entrenamiento interválico con estadios de 5 minutos a 5 lpm por encima del VT, y de 5 minutos con 10 lpm por debajo del VT.

Antes y después cada sesión de entrenamiento, los ciclistas realizaron 10 minutos de calentamiento y de vuelta a la calma.

Durante el período de entrenamiento los ciclistas dispusieron de un cuaderno personal de anotaciones, donde registraban las horas de descanso y de sueño, las modificaciones alimenticias o los desequilibrios en la dieta habitual, el índice de percepción del esfuerzo mediante la escala de Borg una hora después del entrenamiento y en el momento de levantarse cada mañana, así como cualquier otra incidencia que pudiera alterar o modificar su rendimiento físico.

El día 28 de entrenamiento los ciclistas se sometieron por segunda vez al protocolo diseñado de evaluación del rendimiento (T1) en condiciones idénticas al realizado en T0.

### **Análisis Estadístico**

El análisis estadístico fue realizado con un ordenador personal usando el programa SPSS® (versión 11). Se aplicó la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov para confirmar la distribución homogénea de todos los parámetros evaluados en ambos grupos inicialmente. Se aplicó el test de la t-student para las muestras independientes en T0, mientras que en T1 se aplicaron los tests de t para muestras independientes y apareadas.

<b>Parámetros</b>	<b>Valores</b>
Edad (años)	18-22
VO <sub>2</sub> max	55 – 65 mL/Kg. min
Hematocrito	> 41 %
Hemoglobina	> 13 mgr / dL
Recuento de células rojas	> 4.3 x 10 <sup>-6</sup>

TABLA I. Criterios de Inclusión.

## **7.- RESULTADOS.**

### **1. Comparación EXPLY (A) versus PLACEBO (B)**

*Basal (T0).* Las características físicas de los dos grupos de sujetos se presentan en la tabla II. No se encontró ninguna diferencia estadística

significativa entre ambos grupos en medidas antropométricas, de capacidad de trabajo (máximo y submáximo en 250 vatios), hematológicas y de niveles de citoquinas.

Sin embargo, se encontraron diferencias en niveles plasmáticos del CoQ10 entre ambos grupos:  $144.09 \pm 69.45$  (A) versus  $375.71 \pm 249.7$  (B),  $p < 0.05$

<b>Parámetros</b>	<b>Grupo EXPLY</b>	<b>Grupo Placebo</b>
Edad (años)	$19.9 \pm 1.1$	$20.3 \pm 1.7$
Altura (cm)	$178.5 \pm 5.1$	$175.6 \pm 6.4$
Peso (Kg)	$68.50 \pm 1,49$	$71.25 \pm 1.53$
% Grasa	$11.0 \pm 0.2$	$11.0 \pm 0.3$
VO <sub>2</sub> max (mL/ Kg. min)	$59.95 \pm 3.93$	$58.91 \pm 4.21$
Hemoglobina (gr/dL)	$14.59 \pm 0.18$	$14.31 \pm 0.23$
Hematocrito (%)	$41.78 \pm 0.5$	$41.35 \pm 0.61$
Recuento de células rojas ( x 10 <sup>-6</sup> )	$4.73 \pm 0.09$	$4.67 \pm 0.05$

Tabla II. Características físicas iniciales de ambos grupos, previas al estudio.

*Entrenamiento aeróbico (T1).* Los datos del estudio de la prueba realizada (T0) se muestran en la tabla III. Diferencias estadísticas significativas fueron encontradas solamente para la frecuencia cardíaca máxima:  $194.8 \pm 7.67$ (A) versus  $205.7 \pm 11.4$  (B),  $p = 0.05$  mientras que se observa una tendencia cercana a la significación estadística para VO<sub>2</sub> max:  $59.24 \pm 5.13$  (A) versus

55.07 ±3.7 (B),  $p = 0.07$ , y niveles plasmáticos de tocoferol: 5.40 ±3.18 (A) versus 2.94 ±0.77 (B),  $p < 0.06$ . Los cambios estructurales en el ADN mitocondrial linfocitario, como medida del daño del estrés oxidativo (análisis COMET), fueron estadísticamente significativos más bajos en A (EXPLY) que en el grupo B (placebo): 36.31 ±3.1% versus 78.18 ±4.2% ( $p = 0.05$ ).

Parámetros	Grupo EXPLY	Grupo Placebo	Valor de P
VO <sub>2</sub> max (mL/Kg)	59,24 ± 5.13	55,07 ± 3.71	0.07
Vatios Totales	367,50 ± 16.8	378,57 ± 39.3	0.50
Lactato (mMol/L)	11,64 ± 1.55	10,59 ± 1.52	0.18
Frecuencia Cardíaca a 250 w (lpm)	161,40 ± 9.57	158,57 ± 23.7	0.77
RER max	1,43 ± 0.2	1,31 ± 0.2	0.17
Frecuencia cardíaca máxima (lpm)	194,8 ± 7.67	205,71 ± 11.46	0.05 (*)
Análisis COMET (%)	36.31±3.1	78.18 ± 4.2	0.05 (*)

TABLA III. Parámetros de la Ergometría en ambos grupos después del período de entrenamiento aeróbico (T1). Diferencia Estadística significativa (\*).

Parámetros	Grupo EXPLY	Grupo Placebo	Valor de P
Frecuencia Cardíaca Máxima (lpm)	183.3± 8.2	185.5 ± 7.4	0.3
Concentración de Lactato (mmol/L)	11.1 ± 3.2	10.02 ± 4.5	0.6
Análisis COMET (%)	40.13 ± 2.9	70.0 ± 3.5	0.05 (*)

TABLA IV. Parámetros de la Ergometría en ambos grupos después del período de entrenamiento aeróbico (T1). Diferencia Estadística significativa (\*).

## **2. Comparativa grupo PLACEBO (B) T0 versus T1**

No se encontraron diferencias significativas al comparar los valores de las variables del grupo del placebo, cuando se compararon los resultados basales con los obtenidos después del período de entrenamiento de 28 días. Las medidas antropométricas, los niveles hematológicos de los registros de la capacidad de trabajo, aeróbica, anaeróbica y de las citoquinas no cambiaron en el grupo del placebo cuando se compararon sus valores en T0 (basal) y T1 (día 28).

Sin embargo se obtuvieron diferencias que rondaron la significación estadística para los parámetros siguientes: VO<sub>2</sub> max (mL/Kg.min): 58.91 versus 55.07, p = 0.06; vatios totales: 357 versus 378.57, p = 0.07; lactato máximo (mmol/L): 9.35 versus 10.59, p = 0.06 (tabla V).

<b>Parámetros</b>	<b>Grupo PLACEBO T0</b>	<b>Grupo PLACEBO T1</b>	<b>Valor de P</b>
VO <sub>2</sub> max (mL/Kg)	58.91 ± 4.21	55.07 ± 3.78	0.06
Vatios Totales	357.14 ± 27.8	378.57 ± 39.3	0.07
Lactato Máximo (mMol/L)	9.35 ± 2.13	10.59 ± 1.52	0.06

TABLA V. Diferencias en los parámetros ergométricos en el grupo PLACEBO después del período de entrenamiento aeróbico (T1). Diferencia Estadística significativa (\*).

El estrés oxidativo, según lo medido por el daño estructural en el ADN mitocondrial linfocitario (análisis COMET), aumentó claramente: 78.18% (T1) relacionado con su nivel basal.

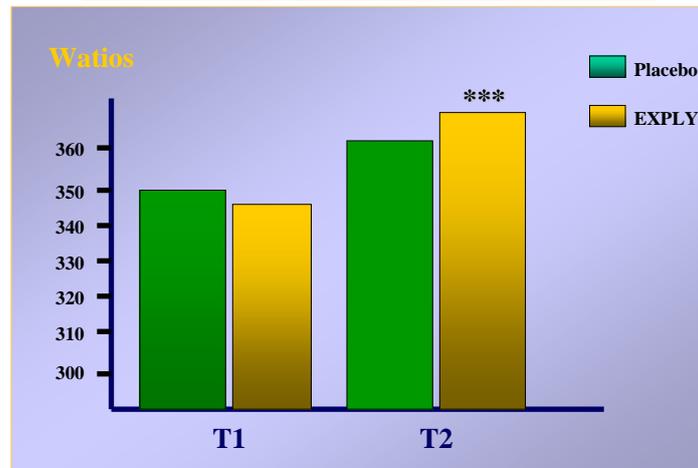
### **3. Comparativa Grupo EXPLY (A) T0 versus T1**

Al comparar los resultados en el Grupo EXPLY inicialmente y tras el periodo de entrenamiento, no se observaron diferencias estadísticas significativas en las medidas antropométricas. En ambos, el peso y la grasa corporal fueron similares en el grupo EXPLY en T0 (basal) y en T1 (día 28). Tampoco hubo diferencias estadísticas significativas en los resultados hematológicos, siendo semejantes a los descritos para el grupo del placebo.

Los resultados de la prueba de esfuerzo se presentan en la tabla VI. Los valores de  $VO_2$  max (mL/Kg.min) fueron similares en el grupo EXPLY en T0 y en T1:  $59.9 \pm 3.9$  versus  $59.2 \pm 5.3$ .  $p = 0,4$ . De la misma manera, el cambio observado en los valores de la frecuencia cardíaca máxima en T0 y en T1 no alcanzaron una significación estadística:  $200.00 \pm 9.57$  versus  $194.8 \pm 7.67$  lpm,  $p = 0,1$ .

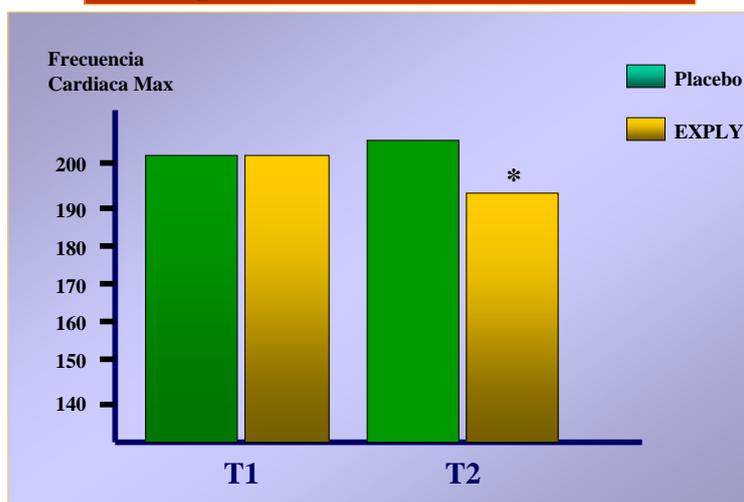
Aunque el  $VO_2$  max no cambió después del período de entrenamiento, la capacidad de trabajo máxima aumentó perceptiblemente del grupo EXPLY:  $340.00 \pm 17.48$  vatios (T0) versus  $367.50 \pm 16.87$  vatios (T1),  $p = 0.0005$ , al igual que la concentración máxima de lactato:  $10.15 \pm 1.68$  versus  $11.64 \pm 1.5$  mmol/L,  $p = 0.0005$  y RER máximo  $1.25 \pm 0.05$  (T0) versus  $1.43 \pm 0.20$  (T1),  $p = 0.01$ .

### Capacidad máxima de esfuerzo.



Además de ello, se encontró una disminución estadísticamente significativa en los valores de la frecuencia cardíaca medidos en el trabajo submáximo (250 vatios)  $173.70 \pm 8.30$  versus  $161.40 \pm 9.57$  respectivamente, ( $p = 0.004$ ).

### Capacidad máxima de esfuerzo.



Se observó una tendencia estadística a aumentar en el plasma los niveles del CoQ10  $144.27 \pm 76.08$  versus  $429.19 \pm 305.7$ ,  $p = 0.08$ , no alcanzando la significación. Los estudios de las citoquinas (TNF, IL-1, IL-6) no mostraron

diferencias entre los grupos, probablemente debido al pequeño tamaño de la muestra.

<b>Parámetros</b>	<b>Grupo EXPLY (T0)</b>	<b>Grupo EXPLY (T1)</b>	<b>Valor de P</b>
VO <sub>2</sub> max (mL/Kg)	59.59 ± 3.9	59.2 ± 5.3	0.4
Vatios Totales	340.0 ± 17.48	367.5 ± 16.87	0.0005 *
Lactato Máximo (mMol/L)	10.15 ± 1.68	11.64 ± 1.5	0.0005 *
Frecuencia Cardíaca a 250 w (lpm)	173.7 ± 8.30	161.4 ± 9.57	0.004 *
RER max	1.25 ± 0.05	1.43 ± 0.20	0.01 *
Frecuencia Cardíaca Máxima (lpm)	200.0 ± 9.57	194.8 ± 7.67	0.1

TABLA VI. Diferencias en los parámetros ergométricos en el grupo EXPLY después del período de entrenamiento aeróbico (T1). Diferencia Estadística significativa (\*).

## **8.- DISCUSIÓN.**

El rendimiento máximo de un ciclista depende en gran medida de un programa de entrenamiento bien diseñado previsto para optimizar la producción energética metabólica. Las competiciones de los ciclistas se caracterizan a menudo por etapas diarias, con elevados gastos energéticos, de 1 a 3 semanas de duración que conducen a la fatiga y a una sobrecarga excesiva muscular factores de riesgo principales que inducen al síndrome de sobreentrenamiento. Los suplementos nutricionales, demandados como antioxidantes, se han utilizado tradicionalmente para prevenir o para contrarrestar la fatiga muscular y el sobreentrenamiento. Sin embargo, no hay

datos disponibles en la prevención o en la inversión de la disfunción inmune como la causa principal que contribuye al desarrollo de esta disfunción fisiológica.

El objetivo principal de este estudio era el de evaluar el efecto del EXPLY (*Phlebodium decumanum*), como suplemento nutricional para ejercer una actividad de regulación del estrés oxidativo y la disfunción inmune en el rendimiento de un ciclista y en la reducción de los riesgos debidos al ejercicio prolongado.

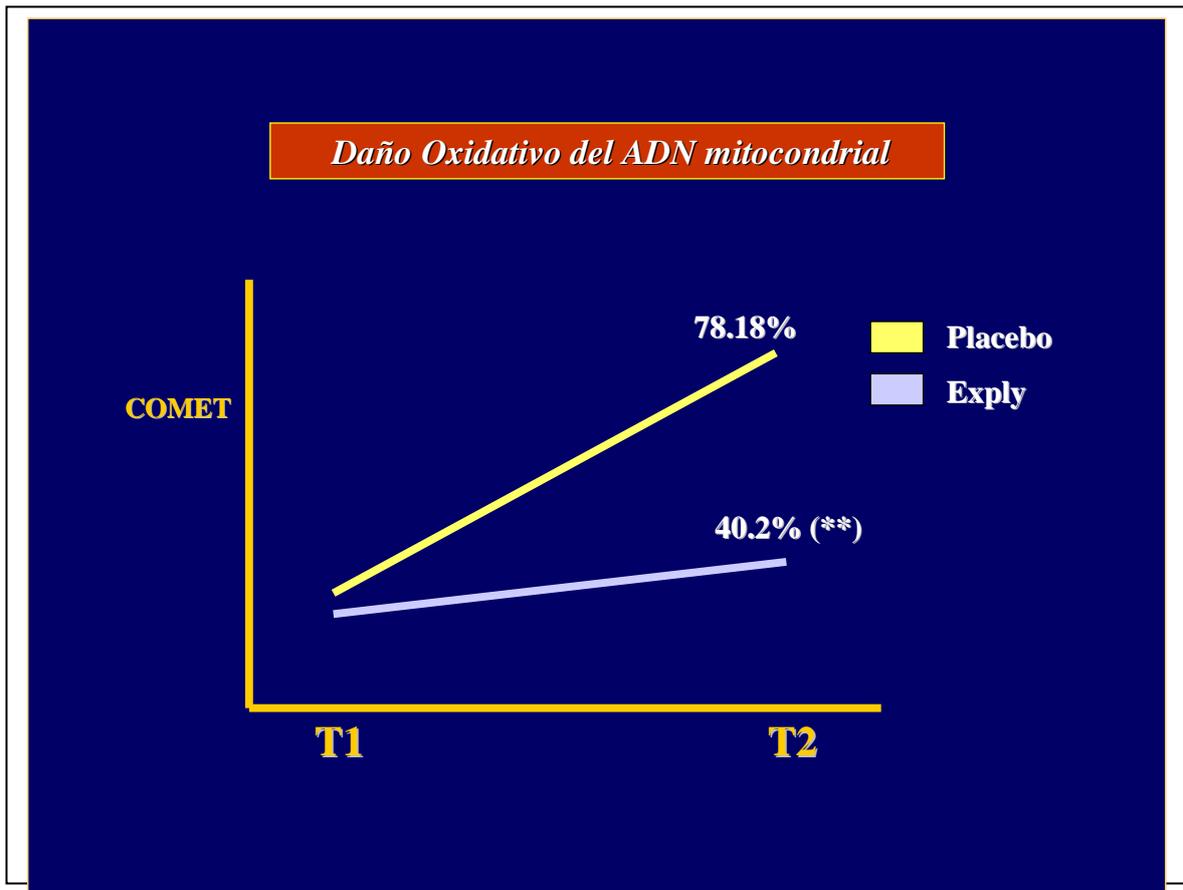
En efecto, los resultados del presente estudio muestran que, a pesar de la prescripción individualizada del entrenamiento, la duración excesivamente prolongada del mismo puede desencadenar respuestas semejantes a las del ejercicio de alta intensidad. Así, la elevación del daño peroxidativo del ADN mitocondrial tras el periodo de entrenamiento refleja el riesgo que entraña un ejercicio muy prolongado, especialmente por la ausencia de sintomatología que evidenciara el proceso subclínico que se estaba desarrollando.

Los resultados del presente estudio evidencian que el entrenamiento utilizado no aumentó la capacidad de esfuerzo en el grupo placebo, pero sin embargo, los efectos antioxidantes del EXPLY consiguieron mejorar el proceso de asimilación del entrenamiento, alcanzando una mejora significativa de la capacidad de esfuerzo (vatios máximos en el cicloergómetro) en este grupo. De igual forma, esta mejora de la capacidad de esfuerzo se acompañó de una disminución de la frecuencia cardiaca máxima en el grupo EXPLY, reflejando

una mayor acción protectora sobre el sistema cardiovascular, capaz de asimilar mejor los esfuerzos cuando se bloquean parcialmente las respuestas negativas oxidativas e inflamatorias.

Pero, si bien los resultados sobre el esfuerzo máximo son importantes, más lo son aún los obtenidos a nivel submáximo. Así, el grupo EXPLY experimentó una mejora de la eficacia micárdica también a nivel submáximo, como lo demuestra la reducción significativa de la frecuencia cardiaca a 250 vatios, en comparación con el grupo placebo. La importancia de este efecto radica en que es precisamente a estos niveles submáximos a los que la población general tiene que ejercitarse, y por lo tanto, la mejora de la asimilación del entrenamiento en el grupo del EXPLY supone la existencia de un menor riesgo, y el desarrollo de una circunstancias metabólicas más positivas, que facilitan la asimilación fisiológica del entrenamiento.

Desde el punto de vista del rendimiento deportivo, los resultados de este estudio demuestran claramente un efecto beneficioso en el grupo de ciclistas con EXPLY con respecto al grupo del placebo. La mejora de los valores máximos (capacidad de trabajo máxima expresada como vatios máximos en la prueba ergométrica, la producción máxima de lactato y el cociente respiratorio máximo) en el grupo EXPLY, al igual que a nivel submáximo, suponen desde el punto de vista deportivo una mayor capacidad de rendir tanto al máximo nivel de intensidad, como una mayor capacidad de recuperación dados los resultados obtenidos en las intensidades intermedias (facilitadoras de la recuperación). Por



lo tanto, los ciclistas que suplementaron su dieta con EXPLY (*Phlebodium decumanum*) podían entrenar más y con un rendimiento energético más eficaz. Es decir este estudio con un programa de entrenamiento aeróbico moderado de 4 semanas de duración no fue lo bastante intenso por sí mismo para mejorar la capacidad de trabajo máxima en el grupo del placebo, pero si en el grupo EXPLY.

Sin embargo, llama la atención los niveles de oxidación del ADN mitocondrial a pesar de la intensidad moderada del estudio. Este efecto posiblemente se debió a la larga duración del entrenamiento diario (aunque los ciclistas en ningún caso refirieron síntomas de acumulación de fatiga), y a los cambios durante este periodo del año (invierno) de las condiciones climáticas, ya que el

frío y el viento puede resultar un estímulo de esfuerzo adicional, especialmente cuando el ejercicio es más prolongado. Este hallazgo es realmente trascendente ya que refleja un proceso oxidativo "silencioso", sin ninguna evidencia clínica perceptible, que puede ser inducido incluso durante la práctica del ejercicio aeróbico moderado.

En este estudio, el EXPLY ha mostrado tener un efecto protector del ADN mitocondrial linfocitario frente al aumento del estrés oxidativo. Esta acción puede estar relacionada con el aumento en los niveles de CoQ<sub>10</sub> y de alfa-tocoferol plasmáticos en el grupo EXPLY con respecto al grupo del placebo.

Los estudios anteriores llevados a cabo con diversas formulaciones que incluían EXPLY-37, una fracción purificada, soluble en agua obtenida de las hojas del *Phlebodium decumanum*, han demostrado los efectos sobre la reversión de la caquexia, sugiriendo una acción correctiva sobre la disfunción inmune similar a la acción inmunomoduladora demostrada en los estudios in vitro (53-54,72). Estos resultados han demostrado que el *Phlebodium decumanum* produce una baja regulación del TNF y aumentan la producción de IL-1Ra en los monocitos. Sin embargo, este estudio no pudo demostrar cambios in vivo similares en tales parámetros inmunológicos. Son necesarios nuevos estudios que impliquen a una población mayor, para alcanzar unos valores estadístico significativos para el TNF, IL-6 e IL-1Ra.

Se puede deducir de este estudio como conclusión final que aunque el ejercicio aeróbico se recomienda para promover la salud, el ejercicio de larga duración realizado diariamente, con un descanso inadecuado o en condiciones climáticas adversas, puede inducir daños subclínicos en la producción energética, conduciendo a un riesgo creciente para la salud del deportista. En este sentido, la suplementación de la dieta con EXPLY (*Phlebodium decumanum*) podría contribuir a la prevención de dicho riesgo.

## **9.- PERSPECTIVAS FUTURAS.**

La necesidad del cambio en el estilo de vida de la población general por uno físicamente más activo obliga a diseñar estrategias que consigan tal fin, teniendo en cuenta que la excesiva estandarización de la práctica del ejercicio y el deporte puede desencadenar riesgos que afecten negativamente a los practicantes. Por ello, la prescripción del ejercicio debe ser segura y saludable, lo que supone la utilización de todos los medios a nuestro alcance para conseguir que el ejercicio sea una actividad promotora de salud.

En este sentido, las acciones y efectos promovidos por el EXPLY protegiendo frente a algunos de los riesgos ligados al ejercicio inadecuado, lo convierten en un buen ejemplo de lo que debería ser un suplemento nutricional ideal para conseguir efectos positivos, aún en condiciones relativamente adversas.

La investigación en esta área de la Medicina y la Salud Pública serían una línea muy adecuada para ser desarrollada en el Campus de la Salud, más aún teniendo en cuenta las posibilidades de desarrollo científico y comercial del

*De Teresa, C., y cols.*

producto, cuyas acciones beneficiosas están aún por establecerse en el campo no sólo de la fisiología sino también de situaciones patológicas con una etiología común, cual es el aumento del estrés oxidativo, los procesos inflamatorios subclínicos y la disfunción del sistema inmune.

## **ANEXO 1**

### **PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN**

### **EXPLY Y EJERCICIO**

**Estudio SPO3799**

PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN: EXPLY Y EJERCICIO

PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN: RESÚMEN

**1.- Título del estudio:**

“¿Puede el ejercicio aeróbico de larga duración ser un riesgo para la salud? Efectos protectores del *Phlebodium decumanum* (EXPLY)”.

**2.- Código del Protocolo:**

SPO3799

**3.- Equipo investigador:**

**3.1.- Investigador principal:** Dr. Carlos de Teresa Galván

**3.2.- Equipo Investigador:** Dr. Antonio Zarzuelo Zurita

Dr. Manuel Fresno

Dr. Jesús Rodríguez Huertas

D. Fernando Devecchi

D. Francisco Pradas de la Fuente

**3.3.- Colaboradores:** Dr. José Quiles

Dra. Antoinette Michelotti

**4.- Centros de realización del estudio:**

#### **4.1.- Centro Principal:**

Centro Andaluz de Medicina del Deporte. Hospital Universitario de San Juan de Dios. Granada. Consejería de Turismo, Comercio y Deporte. Junta de Andalucía.

#### **4.2.- Centros Colaboradores:**

- Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa".Universidad Autónoma de Madrid.
- Instituto de Nutrición y Tecnología de Alimentos. Universidad de Granada.

#### **5.- Monitorización del estudio:**

**5.1.- Coordinador de la monitorización:** Dr. Antonio Alcaide.

#### **6.- Producto objeto del estudio:**

Rizoma enriquecido de *Phlebodium Decumanum*, dosificado en cápsulas de 400 mgr.

Vía de administración : Oral.

#### **7.- Control:**

Placebo de levadura de cerveza inactivada, en cápsulas de 400 mgr.

#### **8.- Objetivos del estudio:**

##### **8.1.- Objetivo principal:**

Evaluación de la capacidad ergogénica del EXPLY, concretada en la potencia aeróbica máxima, la transición aeróbica-anaeróbica y la capacidad de recuperación.

### **8.2.- Objetivos secundarios:**

Estudiar en ciclistas "aficionados" sometidos a 4 semanas de entrenamiento aeróbico intensivo, y a 3 días de entrenamiento anaeróbico máximo, el efecto del EXPLY sobre:

- ▶ La potencia aeróbica máxima (consumo máximo de oxígeno).
- ▶ La transición aeróbico-anaeróbica (umbral anaeróbico).
- ▶ La potencia anaeróbica máxima (lactatemia máxima).
- ▶ El daño oxidativo y la actividad antioxidante
- ▶ La respuesta inmunológica (producción de citoquinas)

### **9.- Diseño experimental:**

Estudio de eficacia, doble ciego, aleatorizado de EXPLY frente a placebo.

### **10.- Población del estudio:**

Ciclistas, de categoría "Aficionados", varones con edades entre 18-22 años.

Número de voluntarios: 18.

### **11.- Duración del estudio:**

- Periodo preinclusión: 21 días

- Periodo de tratamiento : 25 días

## **12.- Desarrollo del estudio:**

- Fecha de inicio: Octubre de 2003.
- Fecha de finalización: Diciembre de 2003.

### **12.1.- Fases del estudio:**

#### **12.1.1.- Periodo de preinclusión:**

Fecha de iniciación: Octubre de 2003.

Desarrollo de la fase: Evaluación médico deportiva de los ciclistas preincluidos en el estudio, para homogeneizar la población a través de un entrenamiento individualizado durante tres semanas. (Periodo T0).

#### **12.1.2.- Periodo de inclusión : (Periodo T1)**

Fecha de iniciación: Octubre de 2003.

Desarrollo de la fase:

#### **Evaluación biomédica del rendimiento deportivo:**

A).- Análisis sanguíneo:

- ▶ Hemograma y bioquímica de rutina (Glucosa, urea, ac.úrico, creatinina, perfil lipídico, bilirrubina, proteínas totales, GOT, GPT, electrolitos, hierro, CPK, LDH).
- ▶ Estudio del daño peroxidativo de membranas mitocondriales y actividad antioxidativa citoplasmática en eritrocitos.

- ▶ Estudio inmunológico: producción de citoquinas (IL-1, IL-6 y TNF)

B).- Antropometría: Peso, talla, composición corporal mediante el método de De Rose y Guimaraes para conocer el porcentaje de grasa y músculo a través de medir: 6 pliegues subcutáneos, 3 diámetros óseos, 4 perímetros musculares.

C).- Ergometría: Protocolo máximo en escalones, en cicloergómetro.

Fase de calentamiento: 5 minutos a 50W y 5 minutos a 100W.

Fase de esfuerzo: comienzo a 125 W, con incrementos de 25 W cada 2 minutos hasta el agotamiento (Cociente Respiratorio > 1.2), con determinación directa de consumo de oxígeno y determinaciones de lactatemia en sangre capilar (en los minutos 2, 4, y 6 de la recuperación)

D).- ECG basal y de esfuerzo.

E).- Espirometría basal.

#### **Criterios de Inclusión:**

- 1.-** Edad y sexo: Varones de 18-22 años ciclistas aficionados.
- 2.-** Consumo máximo de O<sub>2</sub>: 50-70 mL/Kg de peso. Minuto.
- 3.-** Porcentaje de peso graso < 14%.
- 4.-** Consentimiento informado por escrito

#### **Criterios de exclusión:**

- 1.-** Signos y síntomas de fatiga

**2.-** Síndrome anémico evaluado por concentración de hematíes (<4500000)

Hemoglobina (<13 gr/dL), y hematocrito (<42%).

**3.-** Consumo de fármacos o sustancias que afecten al rendimiento físico.

**4.-** Consumo de alcohol y tabaco.

**5.-** Enfermedades intercurrentes u otras que puedan alterar el rendimiento

Al finalizar este proceso, se seleccionará a los voluntarios necesarios para el estudio, y tras la firma del consentimiento informado para participar en el estudio, se distribuirá el EXPLY o placebo de forma aleatoria según la técnica en bloque.

### **12.1.3.- Periodo de entrenamiento aeróbico. (Periodo T2).**

Fecha de iniciación: Noviembre de 2003.

Desarrollo de la fase:

Entrenamiento aeróbico intensivo en bicicleta y en gimnasio durante 21 días.

Durante todo este periodo cada voluntario tendrá un cuaderno de registro diario de la frecuencia cardiaca basal, horas e intensidad del entrenamiento, hora de la toma del EXPLY, incidentes nutricionales y de otra índole que puedan influir en el rendimiento, y horas de sueño diarias.

**12.1.4.- Periodo de evaluación biomédica tras el entrenamiento. (Periodo T3).**

Fecha de iniciación: Diciembre del 2003.

Desarrollo de la fase: Será un desarrollo semejante al del Periodo

T1.

**12.1.5.- Periodo de entrenamiento anaeróbico. (Periodo T4).**

Fecha de iniciación: Diciembre del 2003.

Desarrollo de la fase:

**Periodo de entrenamiento.**

Durante 3 días serán sometidos a un entrenamiento de alta intensidad (anaeróbico máximo).

El último día se realizará una prueba contrarreloj, y al finalizar la misma se determinarán:

- lactatemia durante la recuperación (minutos 2, 4, y 6),
- frecuencia cardiaca máxima y en la recuperación en reposo (minutos 1, 3, 5 y 7),

*De Teresa, C., y cols.*

De igual forma, se tomará muestra de sangre para determinar el daño peroxidativo y la actividad antioxidante, y las alteraciones inmunológicas centradas en los niveles de citoquinas.

## 10.- REFERENCIAS

- 1) Lewin, R. (1980) Evolutionary theory under fire. *Science*, **210**, 883-884.
- 2) Vidal, G. (1981) Oldest eukaryotic cell. *Sc Am*, **250**, 806-807.
- 3) Weiner, J.S. (1971) Man`s Natural History Weidenfeld and Nicolsen, *Sc Am*, **240**, 56-58.
- 4) Washbirn, S.L (1978) The evolution of man, *Sc Am*, **239**, 146-147.
- 5) Ingelmark, B.E. Kholm, R. (1948) A study of variation in the thickness of articular cartilage in association with rest and periodical load, *Uppsala Lakareforening Forhadlinger*, **53**, 61-68.
- 6) Paffenbarger, R.S. Jr. Hyde, R.T. & Wing, A.L. (1990): Physical activity and physical fitness as determinants of health and longevity. *Champaign, IL* **43**, 33-48
- 7) Noble, B.J. Borg, G.A.V., Cafarelli, E. Robertson, R.J. & Pandolf, K.B.(1997): Symposium on recent advances in the estudy and clinical use of perceived exertion. *Medicine and Science*, **14**, 376-411.
- 8) Macintyre, DL. Sorichter, S. Mair, J. Berg, A. Mc Kenzie, DC. (2001): Markers of inflammation and myofibrillar proteins following eccentric exercise in humans. *EurJ App Physiol*, **84**, 180-186
- 9) Akova, B. Surmen -Gur, E. Gur, H. Dirican, M. Sarandole, E. Kucukoglus, S. (2001): Exercise induced oxidative stress and muscle performance in healthy women role of vitamin E. *J Appl Physiol*, **84**, 141-147.
- 10) Bejma, J. Ramirez, P. Ji, LL. (2000) Free radical and oxidative stress with ageing and exercise:differential effects in the myocardium and liver. *Acta Physiol Scand*, **169**, 343-351.
- 10.1) Mokdad AH, Marks JS, Stroup DF y Gerberding JL. Actual causes of death in the United States, 2000. *JAMA* 2004; 291: 1238-1245.

- 11)Salminen, A. Vihko, V. (1983): Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiol Scand*, **117**, 109-113.
- 12)Ji, L.L. (1993): Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc*, **25**, 225-231.
- 13)Higginbotham M.B. Morris, K.C. et al (1993): Determinants of variable exercise performance among patients with severe left ventricular dysfunction. *Circulation* , **61**, 955-959.
- 14)Lakka, TA. Laukkanen, JA. Rauramaa, R. Salonen, R. (2001): Cardiorespiratory fitness and progression of carotid atherosclerosis in middle-aged men. *Ann Intern Med*, **134**, 12-20.
- 15)Birrer, R.B. (1997): Physical activity in the prevention and management of cardiovascular disease. *World Rev Nutr Diet*, **28**, 191-209.
- 16)Hickson, R.C et al.(1992): Reduced training duration effects on aerobic power, endurance, and cardiac growth. *J Appl. Physiol*, **53**, 225-228
- 17)Holloszy, J.O. Coyle, E.F. (1994): Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl. Physiol*, **56**, 831-835.
- 18)Kiessling, K. (1991): Effects of physical training on ultrastructural features in human skeletal muscle. Nueva York, *Plenum Press*.
- 19)Pattengale, P.K. Holloszy, J.O. (1987): Augmentation of skeletal muscle myoglobin by programs of treadmill running. *Am. J Physiol*, **36**,783-787.
- 20)Donovan, C.M. Brooks, G.A. (1993): Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am. J. Physiol*, **244**, 83-89.
- 21)Gollnick, P. Hermansen, L. (1983): Biochemical adaptation to exercise: anaerobic metabolism. Nueva York. *Academic Press*.

22)Thorstensson, A. (1992): Effect of strength training on enzyme activities and fiber characteristics in human skeletal muscle. *Acta Physiol. Scand*, **96**, 392-395.

23)Gollnick, O. (1983): Enzyme activity and fiber composition in skeletal muscle of untrained men. *J. Appl. Physiol*, **33**, 312-315.

24)Larsen, A. Aarsland, T. Kristiansen, M. Haugland, A. (2001): Assessing the effect of exercise training men with heart failure. Comparison of maximal, submaximal and endurance exercise protocols. *Eur Heart J*, **22**, 684-692.

25)Boghossian, S. Alliot, J. (2000): A moderate swimming exercise regularly performed throughout the life induces age and sex-related modification in adaptive macronutrients choice. *Mech Ageing Dev*, **120**, 95-109.

26)Terramot, S. (1998): Theoretical basis for usefulness in COPD patients. *Chest*, **114**, 942-943.

27)American College of Sports Medicine. (1999): Guidelines for exercise testing and prescription. Filadelfia: *Lea & Febiger*.

28)American College of Sports Medicine.(2000): Guidelines for exercise testing and prescription. Filadelfia: *Lea & Febiger*.

29)Howell, J. ( 1996): The 1996 surgeon generals Report on Physical Activity and Health. *Nurse Pract Forum*, **7**, 104-107.

30)Scheuer, J. (1992): Effects of physical training on myocardial vascularity and perfusion. *Circulation*, **66**, 491-495.

31)Froelicker, V.F. (1986): The hemodynamic effects of physical conditioning in healthy young men and middle-aged individuals, and in coronary heart disease. *Academic Press, New York*, **67**; 63-77.

32)Alvárez, M. (1997): Cordova A. Fatiga Muscular en el rendimiento Deportivo. *Editorial Síntesis, S.A*, 186-187.

33)Straus, S.E. Komarof, A.I. Wedner, H.J. (1994): Chronic fatigue syndrome: Point and Counterpoint. *The J. Infect. Dis*, **170**, 1-6.

34)Cordova, A. (1997): Fatiga Muscular en el rendimiento Deportivo. *Editorial Síntesis, S.A*, 336-337.

35)De Teresa, C. (1999): Modificación del perfil de riesgo cardiovascular mediante el ejercicio físico. *Revista de Educación Médica Continuada en Riesgo cardiovascular*, **8**, 8-11.

36) Rotne, H. (2000): Very late reaction to allergen-specific immunotherapy caused by physical exercise. *Allergy*, **55**, 194-150.

37)Pedersen, B.K. Bruunsgaard, H. Heckel, F. (1997): Exercise-induce immunomodulation Possible role of neuroendocrine and metabolic factors. *Int J Sports Med*, **18**, 2-7

38)Venkatraman, J.T. Pendergast, D. (1998): Effects of level of dietary fat intake and endurance exercise on plasma cytokines in runners. *Med Sci Sports Exerc*, **30**, 1198-1204.

39)Koning, D. Gratthwohl, D. Weinstock, C. Northoff, H. Berg, A.(2000): Upper respiratory tract infection in athletes influence of lifestyle, type of sport, training effort, and immunostimulant intake. *Int J Sport Med*, **21**, 294-301.

40)Smith, L.L. Anwar, A. Fragen, M. Rananto, C. Johnson R. Holbert, D.(2000): Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *Eur J. Appl. Physiol*, **82**, 61-67.

41)Macintyre, DL. Sorichter, S. Mair, J. Berg, A. Mc Kenzie, DC. (2001): Markers of inflammation and myofibrillar proteins following eccentric exercise in humans. *EurJ App Physiol*, **84**, 180-186

42)Rohde, T. MacLean, D.A. Richter, E.A. Kiens, B. Pedersen, B.K. (1997): Prolonged submaximal eccentric exercise is associated with increased levels of plasma IL-6. *Am J.Physiol*, **273**, 85-91.

43)Muller Werdan, U. Engelmann, H. (1998): Cardiodepression by tumor necrosis factor-alpha. *Eur Cytokines Netw*, **9**, 689-691.

44)Mazzeo, R.S. (1994): The influence of exercise and aging on immune function. *Med Sci Sports Exerc*, **51**, 2255-62.

45)Reighlin, S. (1993): Neuroendocrine-immune interactions. *New Engl J Med*, **329**, 1246-53.

46)Schneiderman, N. Klimas, N. Fletcher, M.A. (1994): Exercise and psychoneuroimmunology. *Med Sci Sports Exerc*, **26**, 182-90

47)Córdova, A. Alvarez-Mon, M. (1999): Importancia de los inmunomoduladores en la recuperación del deportista. *Archivos de Medicina del deporte*, **70**, 155-164.

**3**, 25-36.

48)Huertas, J.R (2000): Informe de Experto Phlebodium Decumanum.Instituto de *Nutrición y Tecnología de los Alimentos*. Universidad de Granada.

49)Modesti, K. (1992). Tesis Doctoral. Lo stress ossidativo nelleercizio musculare intenso. Universidad de Bologna (Italia).

50)Punzón, C. Alcaide, A. Fresno, M. (2003). In vitro antinflammatory activity of Phlebodium Decumanum modulation of tumor necrosis factor (TNF) and soluble TNF receptors. *International immunopharmacology*: 24:387-95..

51)Pedersen, B.K. (2000): Special feature for the olympics: effects of exercise on the immune system: exercise and cytokines.*Immunol Cell Biol*, **78**, 532-535.

52) Molina, E. (2002). Tesis Doctoral. Efectos del Phlebodium Decumanum sobre el daño oxidativo y la disfunción inmune provocada por el ejercicio físico extenuante. Universidad de Granada.

53) Jenkins, R.R. Free radicals chemistry: relationship to exercise. Sports Med. 5: 156-70. 1988.

54) White, G.P., George, K., Sharma, S., et al. Cardiac fatigue following prolonged endurance exercise of differing distances. Med. Sci. Sports Exerc. 32: 1067-1072, 2000.

55) Douglas, P., O'Toole, M., Hiller, D. et al. Cardiac fatigue after prolonged exercise. Circulation. 76: 1206-1213, 1987.

56) Budgett, R. The immune system, the hyperfit athlete and chronic fatigue. In: Macleod, D. (ed), Intermittent high intensity exercise: preparation, stresses, and damage limitations. London, E and FN, 1993. Pp: 251-60.

57) Saugen, E., Vollestad, N.K., Gibson, H. et al. Dissociation between metabolic and contractile responses during intermittent isometric exercise in man. Exp. Physiol. 82 (1): 213-26. 1997.

58) Terjung, R.L., Clarkson, P., Eichner, E.R., et al. The physiological and health effects of oral creatine supplementation. Med. Sci. Sports. Exerc. 32 (3): 706-17. 2000.

59) Smith, SA., Montain, SJ., Matott, RP., et al. Creatine supplementation and age influence muscle metabolism during exercise. J. Appl. Physiol. 85: 1349-56. 1998.

60) Snow, RJ., McKenna, MJ., Selig, SE., et al. Effect of creatine supplementation on sprint exercise performance and muscle metabolism. J. Appl. Physiol. 84: 1667-73. 1998.

61) Leeuwenburgh, C. and Heinecke, JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise. Curr. Med. Chem. 8(7): 829- 38. 2001.

62) Petersen, EW., Ostrowski, K., Ibfelt, T., et al. Effect of vitamin supplementation on cytokine response and muscle damage after strenuous exercise. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 280(6): C1570- 5. 2001.

63) Buchwald, D., Wener, M.H., Pearlman, T., et al. Markers of inflammation and immune activation in chronic fatigue and chronic fatigue syndrome. *J. Rheumatol.* 24: 372-6. 1997.

64) Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines balance strenuous exercise in humans. *J. Physiol.* 515: 287-291, 1999.

65) Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., et al. Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J. Physiol.* 508: 949-953, 1998.

66) Di Mascio, P., Murphy, M.E., and Sies, H. Antioxidant defense system: the role of carotenoids, tocopherol and thiols. *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 194S- 200S. 1991.

67) Huertas, J.R., Mataix, J., Mañas, M. et al. Dietary polyunsaturated fatty acids and peroxidative risks in sport practice. *Alternatives. J. Sports Med. Phys. Fit.* 34: 101-08. 1994.

68) Apple, F., Rogers, M., Casal, D., et al. Skeletal muscle creatine kinase MB alterations in women marathon runners. *Eur. J. Appl. Physiol.* 56: 49-52, 1987.

69) Niemela, K., Palatsi, I., Ikaheimo, M., et al. Evidence of impaired left ventricular performance after an uninterrupted competitive 24 hours run. *Circulation.* 70: 350-356, 1984.

70) De Teresa, C., Molina, E., Guisado, R y cols. : Sports performance, oxidative metabolism and immune function: Effects of *Phlebodium decumanum*. *Arch. Medicina del Deporte:* 85: 382 – 5. 2001

71) Molina, E. Tesis Doctoral. Efectos del *Phlebodium Decumanum* sobre el daño oxidativo y la disfunción inmune provocada por el ejercicio físico extenuante. Universidad de Granada. 2002.

72) US patent 6,228,366, 2001

73) Spanish patent 2,146,555, 2001

74)Hayes, P.A. Subcutaneous fat thickness measured by magnetic resonance imaging, ultrasound, and calipers. *Med. Sci.Sports Exerc.* 20: 303-15. 1988.

75)Littarru, G.P, Lippa, S., Oradei, A. et al. Metabolic and diagnostic implications of human blood CoQ10. In: *Biomedical and Clinical Aspects of Coenzyme Q. Vol VI.* Folker, K. Littarru, G.P. and Yamagami, T. Editors. 167-178. Elsevier Science. Amsterdam. Netherland. 1991.

76)Ostling, O. and Johanson, KJ. Bleomycin, in contrast to gamma irradiation, induces extreme variation of DNA strand breakage from cell to cell. *Int. J. Radiat. Biol. Relat. Stud. Phys. Chem. Med.* 52: 683- 91. 1987.

77)Bauch, T., Bocker, W., Mallek, U., et al. Optimization and standardization of the "comet assay" for analyzing the repair of DNA damage in cells. *Strahlenther Onkol.* 175 (7): 333- 40. 1999.

78)Collins, A., Dusinska, M., Franklin, M., et al. Comet assay in humans biomonitoring studies: reliability, validation, and applications. *Environ. Mol. Mutagen.* 30 (2): 139- 46. 1997.

79)Wasserman, K., Hansen, J.E., Darryl, Y.S. et al. *Principles of exercise testing and interpretation.* Lea and Febiger. Philadelphia. 1987.

80)Beneke, R. and von Duvillard, S.P. Determination of maximal lactate steady-state response in selected sports events. *Med. Sci. Sports Exerc.* 28: 241-46. 1996.