



Universitat de Lleida

# EXERCICI FÍSIC AERÒBIC EN INTERVALS VERSUS CONTINU: UNA PERSPECTIVA FISIOLÒGICA DE LA RESPOSTA A L'ESTRÈS

**Assumpta Ensenyat i Solé**

---

**ADVERTIMENT.** La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

**ADVERTENCIA.** La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR ([www.tesisenred.net](http://www.tesisenred.net)) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

**WARNING.** On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX ([www.tesisenxarxa.net](http://www.tesisenxarxa.net)) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

---

Universitat de Lleida  
Departament de Medicina Experimental

EXERCICI FÍSIC AERÒBIC EN INTERVALS VERSUS CONTINU:  
UNA PERSPECTIVA FISIOLÒGICA DE LA RESPOSTA A L'ESTRÈS

Memòria presentada per  
Assumpta Ensenyat i Solé

Per optar al títol de Doctora per a la Universitat de Lleida

Sota la direcció del Dr. Manel Portero Otin i del Dr. Reinald Pamplona Gras del  
Departament de Medicina Experimental, Facultat de Medicina, Universitat de  
Lleida

Dr Manel Portero i Otin

Dr Reinald Pamplona i Gras

Assumpta Ensenyat i Solé



# Resum

L'entrenament aeròbic en intervals és un mètode d'entrenament que darrerament s'ha aplicat a programes d'exercici físic regular en l'àmbit de la salut. Des del punt de vista de les adaptacions a llarg termini, l'entrenament aeròbic en intervals s'ha revelat com una eina eficaç per a millorar la condició física i reduir diversos factors de risc de patologia cardíoc-vascular. No obstant, les adaptacions agudes no han estat caracteritzades completament, i l'alta intensitat dels períodes d'esforç podria suposar un major risc de patologia en comparació a un esforç continu de moderada intensitat. La finalitat d'aquest estudi és, des d'una perspectiva fisiològica, descriure i comparar la resposta aguda a dues sessions d'entrenament de càrrega global moderada però de diferent intensitat i distribució de l'esforç, fent especial referència a paràmetres de la resposta de fase aguda, com canvis en el recompte leucocits circulants, de les concentracions plasmàtiques de catecolamines, cortisol, citocines pro-anti-inflamatòries, i biomarcadors de l'estat redox. Addicionalment s'ha valorat l'efecte conjunt de les repercussions de la resposta aguda a l'esforç a partir del metaboloma plasmàtic.

Els participants, 9 homes i 1 dona amb bona condició física, varen realitzar dues sessions d'entrenament que varen consistir en 55 minuts de cursa contínua al 90% de la velocitat del llindar de lactat individual (sessió CC), o 8 sèries de 5 minuts de cursa al 105% de la velocitat del llindar de lactat individual i pauses de 2 minuts (sessió CI). Abans, immediatament després, i als 60 i 180 minuts de recuperació es va procedir a l'extracció de sang venosa per a l'anàlisi dels paràmetres estudiats.

Els resultats indiquen que, per una mateixa càrrega global moderada, l'exercici físic aeròbic en intervals causa una resposta pro-inflamatòria (leucocitosi, neutrofilia, cortisol plasmàtic) i pro-oxidant (grups carbonil proteics) superior a la de l'exercici físic continu d'intensitat moderada, però aquesta és de poca magnitud i transitòria. També s'ha apreciat que les concentracions plasmàtiques de lactat, IL-8 i d'urat augmenten més si la intensitat de l'esforç és elevada; mentre que les de IL-6 i IL-10 s'eleven en major mesura després de l'exercici físic continu. Per altra banda, l'anàlisi del metaboloma plasmàtic suggereix que els canvis induïts per l'exercici estan dominats per alteracions de compostos lipídics, i que aquests difereixen segons la intensitat i la distribució de l'esforç durant les sessions d'entrenament.

En general els canvis varen ser moderats i transitoris, i no sembla que l'exercici aeròbic en intervals de durada mitjana suposi un risc elevat per a persones habituades a realitzar exercici físic i amb bona condició física.



# Resumen

El entrenamiento aeróbico en intervalos es un método de entrenamiento que se ha aplicado en programas de ejercicio físico regular en el ámbito de la salud. Desde el punto de vista de las adaptaciones a largo plazo, el entrenamiento aeróbico en intervalos se ha mostrado como una herramienta eficaz para mejorar la condición física y reducir los factores de riesgo cardiovascular. Sin embargo, las adaptaciones agudas no se han caracterizado totalmente, y la alta intensidad de los periodos de esfuerzo podrían suponer un mayor riesgo de patología en comparación a un esfuerzo continuo de moderada intensidad. La finalidad del estudio es, desde una perspectiva fisiológica, describir y comparar la respuesta aguda a dos sesiones de entrenamiento de carga global moderada pero de diferente intensidad y distribución del esfuerzo. Se hace especial referencia a parámetros de la respuesta de fase aguda, como cambios en el recuento de leucocitos circulantes, en las concentraciones plasmáticas de catecolaminas, cortisol, citocinas pro-anti-inflamatorias, y biomarcadores del estado redox. Asimismo, se ha valorado el efecto conjunto de las repercusiones de la respuesta aguda al esfuerzo a partir del metaboloma plasmático.

Los participantes, 9 varones y 1 mujer con buena condición física, realizaron dos sesiones de entrenamiento que consistieron en 55 minutos de carrera continua al 90% de la velocidad del umbral de lactato individual, o 8 series de 5 minutos de carrera al 105% de la velocidad del umbral de lactato individual y pausas de 2 minutos. Antes, inmediatamente después, y a los 60 y 180 minutos de recuperación se procedió a la extracción de sangre venosa para el análisis de los parámetros estudiados.

Los resultados indican que, para una misma carga global moderada, el ejercicio físico aeróbico en intervalos causa una respuesta pro-inflamatoria (leucocitosis, neutrofilia y cortisol plasmático) y pro-oxidante (grupos carbonilo proteicos) superior a la del ejercicio físico continuo de intensidad moderada, pero de poca magnitud y transitoria. También se ha apreciado que las concentraciones plasmáticas de lactato, IL-8 y urato aumentan más si la intensidad del esfuerzo es elevada; mientras que las de IL-6 y IL-10 crecen en mayor medida después del ejercicio físico continuo. Por otro lado, el análisis del metaboloma plasmático sugiere que los cambios inducidos por el ejercicio están dominados por alteraciones de compuestos lipídicos y que éstos difieren según la intensidad y la distribución del esfuerzo durante las sesiones de entrenamiento.

En general las alteraciones fueron moderadas y transitorias y no parece que el ejercicio aeróbico en intervalos suponga un riesgo elevado para las personas acostumbradas a realizar ejercicio físico regular y con una buena condición física.



# Abstract

Aerobic interval training is a training method that recently has been applied to health oriented physical exercise programs. Long term adaptations to aerobic interval training have revealed that this method can be a valid tool to improve physical condition and reduce cardiovascular risk factors in sedentary people. However, acute adaptations to training sessions strain have not been fully characterized, and the high intensity of exertion periods could entail a greater risk of pathology compared to continuous exercise of moderate intensity. The aim of the study was, from a physiological perspective, to describe and to compare the acute response to two training sessions of moderate global load, but of different intensity and distribution of the exertion, focussing particularly on acute phase response parameters, such as changes in blood leucocyte counts, plasmatic concentrations of catecholamines, cortisol, pro-anti-inflammatory cytokines, and redox status biomarkers. Additionally, as a global indicator of acute adaptation to exertion, changes in plasma metabolome have been analysed.

Participants, 9 men and one woman with good physical condition, performed two training sessions that consisted in 55 minutes of continuous running at the 90% of individual anaerobic threshold speed (CC session) or 8 series of 5 minutes at the 105% of individual anaerobic threshold speed with rest pauses of 2 minutes between them (CI session). Before, immediately after, and at 60 and 180 minutes of the end of the sessions venous blood samples were drawn for the analysis of hematologic and biochemistry parameters.

Results show that aerobic interval training causes more pro-inflammatory and pro-oxidant response compared to continuous running at moderate intensity, but these are moderate and transient. In the same way, lactate, IL-8 and urate plasma concentrations were superior after high intensity exercise, meanwhile IL-6 and IL-10 plasma concentrations were more respondents to continuous running and to the greater duration of the physical work. On the other hand, the non-oriented metabolomic approach suggests that changes in plasma metabolome induced by the exercise are dominated by lipid molecular species and that these are respondents to intensity and physical work distribution along the training sessions

Altogether changes were moderate and transient, and it seems that aerobic interval training does not represent an important risk for trained individuals with a good physical condition.





# Índex



1	Introducció .....	31
1.1	Activitat física, exercici físic i entrenament.....	33
1.1.1	Activitat física/Exercici físic .....	33
1.1.2	Entrenament esportiu .....	35
1.1.3	Entrenament aeròbic en intervals; efectes a llarg termini .....	40
1.1.4	Entrenament aeròbic en intervals; efectes immediats .....	46
1.2	Resposta aguda a l'exercici físic .....	48
1.2.1	Adaptacions musculars agudes .....	50
1.2.2	Sistemes cardíoc-vascular i respiratori .....	59
1.2.3	Adaptacions neuro-endocrines.....	69
1.3	Exercici físic i sistema immune .....	80
1.3.1	Sistema immune i l'activitat física.....	80
1.3.2	Citocines i resposta de fase aguda .....	95
1.4	Exercici físic i estat redox.....	107
1.4.1	Fonts de radicals lliures i exercici físic .....	108
1.4.2	Efectes biològics dels RONS .....	112
1.4.3	Marcadors de l'estat redox .....	115
1.4.4	Efectes observats en la resposta aguda a l'exercici físic.....	116
1.5	Metabolòmica i exercici físic.....	133
1.5.1	Tecnologia metabolòmica .....	134
1.5.2	Evolució històrica.....	136
1.5.3	Metaboloma de l'exercici físic .....	137
2	Objectius.....	145
3	Material i Mètodes .....	149
3.1	Metodologia .....	151
3.1.1	Disseny .....	151
3.1.2	Participants .....	151
3.1.3	Materials, instrumental e instal·lacions .....	153
3.2	Protocols de l'exercici físic .....	153
3.2.1	Proves d'esforç de laboratori.....	153
3.2.2	Sessions entrenament.....	156
3.3	Determinacions analítiques .....	159
3.3.1	Recollida dels espècimens, extracció i processament.....	159

3.3.2	Determinacions hematològiques i plasmàtiques.....	160
3.3.3	Descripció de tècniques específiques .....	161
3.4	Anàlisi estadístic.....	172
4	Resultats.....	175
4.1	Proves d'esforç i sessions d'entrenament.....	177
4.1.1	Proves de laboratori .....	177
4.1.2	Proves de camp.....	182
4.2	Paràmetres hematològics.....	186
4.2.1	Hematòcrit, hemoglobina i volum plasmàtic.....	186
4.2.2	Leucòcits i les seves subpoblacions .....	189
4.3	Paràmetres endocrins .....	194
4.3.1	Epinefrina .....	194
4.3.2	Norepinefrina .....	196
4.3.3	Cortisol.....	197
4.4	Paràmetres de l'estat inflamatori.....	200
4.4.1	IL-6.....	200
4.4.2	IL-10.....	202
4.4.3	IL-8.....	204
4.4.4	TNF- $\alpha$ .....	204
4.4.5	Índex d'inflamació.....	206
4.4.6	Proteïna C reactiva.....	208
4.4.7	Amiloide A sèric .....	208
4.5	Paràmetres d'estat redox .....	209
4.5.1	Àcid úric.....	209
4.5.2	Capacitat de reducció fèrrica del plasma .....	210
4.5.3	Grups carbonil proteics.....	212
4.6	Metabolòmica no dirigida .....	214
4.6.1	Sessió de cursa contínua a moderada intensitat .....	214
4.6.2	Sessió de cursa en intervals i alta intensitat .....	216
4.6.3	Meta-anàlisi (MetaXCMS) .....	218
5	Discussió .....	219
5.1	Sessions d'entrenament .....	221
5.2	Paràmetres hematològics.....	224

5.3	Leucòcits circulants .....	225
5.4	Hormones d'estrès .....	229
5.4.1	Epinefrina i norepinefrina .....	229
5.4.2	Cortisol.....	233
5.5	Estat inflamatori.....	235
5.5.1	IL-6.....	236
5.5.2	IL-10.....	237
5.5.3	IL-8.....	238
5.5.4	TNF- $\alpha$ .....	239
5.5.5	Índex d'inflamació.....	240
5.5.6	Proteïna C reactiva i Amiloide A sèric.....	240
5.6	Estat redox .....	241
5.6.1	Àcid úric.....	241
5.6.2	Capacitat de reducció fèrrica del plasma .....	246
5.6.3	Grups carbonil proteics.....	247
5.7	Metabolòmica .....	249
5.8	Limitacions e implicacions .....	255
6	Conclusions .....	257
7	Agraïments .....	261
8	Referències .....	265
9	Annexos.....	297
9.1	Consentiment informat .....	299
9.2	Qüestionari de salut.....	300
9.3	Reactius i solucions.....	302
9.4	Equació de Dill i Costill per al càlcul del volum plasmàtic.....	309
9.5	Molècules .....	310
9.6	META-XCMS .....	316



# **Abreviaciones**





ATP	Adenosintrifosfat
CC	Cursa contínua
CI	Cursa en intervals
EAI	Entrenament aeròbic en intervals
EC	Entrenament continu
EI	Entrenament en intervals
FC	Freqüència cardíaca
FRAP	Capacitat de reducció fèrrica del plasma
IAT	Llindar anaeròbic individual
METS	Equivalent metabòlic
Pad	Pressió arterial diastòlica
Pas	Pressió arterial sistòlica
PC=O	Grups carbonils proteics
RONs	Espècies reactives de l'oxigen i del nitrogen
ROS	Espècies reactives de l'oxigen
SIT	Entrenament en intervals breus ( <i>sprint interval training</i> )
STPD	Volum sec en temperatura i pressió estàndards (0°C; 760 mmHg)
vIAT	Velocitat al IAT
VMC	Cabal cardíac o volum minut cardíac
VMR	Ventilació o volum minut respiratori
VO <sub>2</sub>	Consum d'oxigen
VO <sub>2max</sub>	Consum d'oxigen màxim
vVO <sub>2max</sub>	Velocitat al VO <sub>2max</sub>



# **Índex de taules**



Taula 1.	Participants i protocols d'esforç que han valorat els efectes a llarg termini de l'entrenament aeròbic en intervals en esportistes del temps de lleure .....	40
Taula 2.	Participants i protocols d'esforç que han valorat els efectes a llarg termini de l'entrenament aeròbic en intervals en persones que presenten diverses patologies. ....	41
Taula 3.	Efectes a llarg termini de l'entrenament aeròbic en intervals sobre diversos factors de risc cardío-vascular. ....	45
Taula 4.	Categorització de les vies energètiques emprades durant l'esforç.....	53
Taula 5.	Característiques dels participants i protocols de diversos estudis que han analitzat la resposta metabòlica aguda en activitats físiques en intervals.....	55
Taula 6.	Resposta fisiològica d'un subjecte al finalitzar 60 minuts d'esforç en cicloergòmetre, amb diferents modalitats d'entrenament de càrrega global similar (635 kJ). ....	62
Taula 7.	Canvis de les concentracions plasmàtiques de catecolamines en la recuperació de diverses activitats físiques.....	74
Taula 8.	Canvis de les concentracions plasmàtiques de cortisol en la recuperació de diversos exercicis físics. ....	75
Taula 9.	Evolució de la insulina en plasma en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.....	77
Taula 10.	Canvis de les concentracions plasmàtiques de glucagó en la recuperació de diversos exercicis físics en intervals. ....	78
Taula 11.	Canvis en el recompte cel·lular dels leucòcits circulants en sang durant i després de l'esforç físic intens. ....	82
Taula 12.	Canvis de les funcions immunes durant i després de l'esforç físic intens. ....	87
Taula 13.	Característiques dels participants i protocols de diverses activitats físiques en intervals en la recuperació de les quals s'han analitzat diversos marcadors del sistema immune .....	90
Taula 14.	Canvis en les concentracions plasmàtiques de diversos factors solubles durant i després de l'esforç físic intens. ....	96
Taula 15.	Canvis de la concentració de l'amiloide A sèric després de l'exercici físic .....	104
Taula 16.	Característiques dels participants i protocols de diverses activitats físiques en intervals en la recuperació de les quals s'han analitzat les concentracions plasmàtiques de diverses citocines o de la proteïna C reactiva. ....	105
Taula 17.	Principals espècies reactives de l'oxigen i del nitrogen .....	108
Taula 18.	Marcadors de l'estat redox .....	115
Taula 19.	Principals biomarcadors de l'estat redox aplicats en l'estudi in vivo de la resposta aguda a l'exercici físic en humans. ....	117
Taula 20.	Evolució de diversos biomarcadors d'estrès oxidatiu durant la recuperació de l'esforç físic.....	117
Taula 21.	Localització i reaccions catalitzades pels enzims antioxidants .....	119
Taula 22.	Nivell d'activitat relativa dels compostos antioxidants presents al plasma, i estimació de la seva contribució a la capacitat de reducció fèrrica total del plasma. ....	123
Taula 23.	Característiques dels participants i protocols de diverses activitats físiques en intervals en les quals s'han analitzat diversos biomarcadors de l'estat redox.....	128
Taula 24.	Mètodes d'anàlisi estadístic multivariables. ....	135
Taula 25.	Participants i protocols dels estudis que han analitzat els efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma plasmàtic en humans. ....	137
Taula 26.	Participants i protocols dels estudis que han analitzat els efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma urinari en humans.....	138

Taula 27.	Estudis que han analitzat els efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma plasmàtic en humans amb patologia.....	143
Taula 28.	Característiques físiques dels participants.....	153
Taula 29.	Esquema de les parts i activitats de les dues sessions d'entrenament. ....	157
Taula 30.	Volum de patrons plasma reduït u oxidat per als punts de la recta patró.....	167
Taula 31.	Valors màxims observats durant la prova d'esforç progressiva màxima de laboratori.....	177
Taula 32.	Valors corresponents al llinar làctic individual.....	181
Taula 33.	Velocitat i freqüència cardíaca previstes i reals per a la sessió CC: carrera contínua al 90% de la velocitat del llinar anaeròbic individual. ....	182
Taula 34.	Velocitat i freqüència cardíaca previstes i reals de la sessió CI: carrera en intervals al 105% de la velocitat del llinar anaeròbic individual. ....	182
Taula 35.	Característiques de la càrrega de la part principal de les sessions d'entrenament CC i CI.....	185
Taula 36.	Mitjana e interval de confiança del 95% del recompte de leucòcits, neutròfils, i limfòcits en repòs.....	189
Taula 37.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques dels leucòcits, i els dels neutròfils i limfòcits a la sessió de CC.....	191
Taula 38.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques dels leucòcits, i els dels neutròfils i limfòcits a la sessió de CI. ....	191
Taula 39.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de les catecolamines i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CC. ....	196
Taula 40.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de les catecolamines i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CI.....	197
Taula 41.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de cortisol i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CC. ....	199
Taula 42.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de cortisol i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CI. ....	199
Taula 43.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-6 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC + CI agrupades.....	201
Taula 44.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-6 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.....	201
Taula 45.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-10 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.....	202
Taula 46.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-8 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.....	204
Taula 47.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de TNF- $\alpha$ i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.....	205

Taula 48.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de TNF- $\alpha$ i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de la sessió d'entrenament CC. ....	205
Taula 49.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$ i els de diversos paràmetres hematològics i endocrins en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.....	207
Taula 50.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-10 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.....	208
Taula 51.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de SAA i els de diversos paràmetres hematològics i endocrins en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades. ....	209
Taula 52.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i FRAP, com elements antioxidants; i dels canvis de nivells plasmàtics de immunoreactivitat per a grups carbonils, com indicadors de dany oxidatiu per a la sessió de CC.....	213
Taula 53.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i FRAP, com elements antioxidants; i dels canvis de nivells plasmàtics de immunoreactivitat per a grups carbonils, com indicadors de dany oxidatiu per a la sessió de CI. ....	213
Taula 54.	Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i FRAP, com elements antioxidants; i dels canvis de nivells plasmàtics de immunoreactivitat per a grups carbonils, com indicadors de dany oxidatiu per a les dues sessions agrupades (CC+CI). ....	213
Taula 55.	Nombre de molècules diferencials entre els metabolomes previ (CC Pre) i posterior (CC Post) a la sessió d'entrenament de carrera contínua. ....	215
Taula 56.	Nombre de molècules diferencials entre els metabolomes previ (CI Pre) i posterior (CI Post) a la sessió d'entrenament de carrera en intervals .....	217
Taula 57.	Masses moleculars diferencials entre els metabolomes previ i posterior a les dues sessions d'entrenament i compostos candidats associats.....	218
Taula 58.	Classificació de les activitats físiques segons la suma de batecs cardíacs.....	222
Taula 59.	Zones d'entrenament determinades a partir del llindar de lactat individual.....	224





# **Índex de figures**



Figura 1.	Model dels efectes de l'exercici físic regular sobre la forma física i la salut. ....	36
Figura 2.	Alguns determinants i moduladors que conformen els estímuls entrenants. ....	37
Figura 3.	Procés d'adaptació al entrenament. ....	47
Figura 4.	Model dels efectes de l'exercici físic sobre la capacitat de gestió de l'al·lòstasi.....	49
Figura 5.	Mobilització seqüencial de les fibres musculars a mesura que augmenta la força muscular efectuada.....	50
Figura 6.	L'enzim ATPasa miofibril·lar localitzada al cap de miosina, hidrolitza l'adenosintrifosfat.....	51
Figura 7.	Control del flux energètic muscular.....	51
Figura 8.	Metabolisme energètic durant l'activitat física. ....	52
Figura 9.	Exemples dels processos metabòlics que tenen lloc durant l'exercici físic de diferent durada e intensitat. ....	53
Figura 10.	Participació relativa de diversos substrats energètics en el metabolisme muscular durant l'exercici físic de diferent durada e intensitat. ....	54
Figura 11.	Concentració de glicogen al tríceps sural i el vast lateral abans i després d'una sessió entrenament en intervals. ....	56
Figura 12.	Evolució del $VO_2$ en els estadis 1, 3, 5 i 7 d'un esforç físic en intervals al $85\%VO_{2max}$ . ....	57
Figura 13.	Evolució de la lactacidèmia en els estadis 1, 3, 5 i 7 d'un exercici en intervals al $85\%VO_{2max}$ . ....	58
Figura 14.	Evolució de la freqüència cardíaca, volum sistòlic i cabal cardíac en relació a la intensitat de l'esforç. ....	60
Figura 15.	Evolució de la freqüència cardíaca durant diverses modalitats d'activitat física.....	61
Figura 16.	Representació esquemàtica d'una arteriola rodejada pels fascicles musculars i mecanismes que podrien estar implicats en la resposta vascular aguda a l'exercici físic.....	63
Figura 17.	Contribució relativa del cabal cardíac a la perfusió de diferents òrgans en activitats físiques de diferent intensitat. ....	64
Figura 18.	Direcció i velocitat del flux sanguini muscular en repòs i, durant i en la recuperació de l'esforç físic de diferents intensitats. ....	65
Figura 19.	Esquema dels mecanismes de control de la pressió arterial durant l'exercici. ....	67
Figura 20.	Esquema d'alguns factors que poden repercutir en l'activitat funcional d'una hormona i que limiten la interpretació de les variacions de les concentracions plasmàtiques. ....	71
Figura 21.	Representació esquemàtica dels mecanismes de control de la secreció endocrina en la regulació del metabolisme durant resposta aguda a l'exercici. ....	72
Figura 22.	Evolució de les concentracions plasmàtiques de norepinefrina i epinefrina en relació a la intensitat de l'esforç físic. ....	73
Figura 23.	Mecanismes que participen en els efectes de l'exercici físic sobre el sistema immune. ....	81
Figura 24.	Teoria de la "finestra oberta".....	81
Figura 25.	Evolució del recompte de leucòcits, neutròfils i limfòcits circulants en sang immediatament després i en la recuperació primerenca de diverses modalitat d'activitat física.....	84
Figura 26.	Evolució del recompte de les subpoblacions limfocitàries circulants en sang immediatament després i en la recuperació primerenca de diverses modalitat d'activitat física.....	86
Figura 27.	Evolució dels leucòcits circulants immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.....	91
Figura 28.	Evolució dels neutròfils i limfòcits totals circulants en sang immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.....	92

Figura 29. Evolució dels limfòcits T (LT), supressor (CD8) i natural killer (NK) circulants en sang immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.....	93
Figura 30. Canvis de les concentracions plasmàtiques de diverses citocines en la resposta de fase aguda enfront a infeccions-traumatismes, o a la pràctica d'exercici físic.....	96
Figura 31. Nombre anual de documents indexats a la base de dades Pubmed que fan referència a humans i que tenen en compte la relació entre l'exercici físic o l'activitat física i l'estat redox. ....	107
Figura 32. Localitzacions de la fibra muscular on es poden originar els radicals lliures. ....	109
Figura 33. Estat redox i activitat contràctil: model proposat per Powers & Jackson (2008).....	112
Figura 34. Possibles dianes de la fibra muscular sensibles a l'estat redox, l'afectació de les quals pot repercutir en la força muscular. ....	113
Figura 35. Model bifàsic dels efectes de l'estat redox sobre la força isomètrica màxima. ....	114
Figura 36. Localitzacions de les defenses antioxidants a la fibra muscular. ....	118
Figura 37. Evolució de l'activitat dels enzims antioxidants, SOD, GPX i CAT en sang immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.....	129
Figura 38. Evolució de la concentració de glutatió en plasma/múscul immediatament després de diverses activitats físiques en intervals.....	129
Figura 39. Evolució de la concentració de les vitamines C, E i de $\beta$ -caroté en plasma immediatament després de diverses activitats físiques en intervals.....	130
Figura 40. Evolució de la concentració d'àcid úric en plasma immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.....	130
Figura 41. Evolució de la concentració plasmàtica de diversos marcadors de peroxidació lipídica immediatament després de diverses activitats físiques en intervals.....	131
Figura 42. Funcions cel·lulars associades amb les tecnologies òmiques que contribueixen a l'estudi i comprensió dels sistemes biològics i la seva relació amb els canvis de l'entorn. ....	134
Figura 43. Esquema de les fases d'anàlisi en les aproximacions metabolòmiques dirigida i no dirigida. ....	135
Figura 44. Evolució anual del nombre de documents indexats la base de dades Pubmed que fan referència a humans i que tenen en compte la relació entre l'exercici físic i la metabolòmica.....	136
Figura 45. Diagrama de Venn que mostra els metabòlits detectats en el sèrum aplicant diferents plataformes metabolòmiques.....	139
Figura 46. Diagrama dels passos seguits al llarg de la fase de presa de dades. ....	151
Figura 47. Etapes de la fase de presa de dades de les sessions d'entrenament. ....	152
Figura 48. Esquema dels estadis de treball físic i les pauses de la prova d'esforç màxima progressiva realitzada al laboratori.....	155
Figura 49. Esquema de les sessions d'entrenament realitzades al camp.....	159
Figura 50. Esquema de la distribució dels tub de recollida de sang emprats en les extraccions de sang.....	160
Figura 51. Formació dels adductes de la dinitrofenilhidrazona. ....	165
Figura 52. Esquema de les reaccions del mètode ELISA per a la determinació de grups carbonil.....	167
Figura 53. Etapes del procés d'anàlisi del metaboloma plasmàtic.....	172
Figura 54. Evolució de la ventilació, consum d'oxigen i de la producció de diòxid de carboni i freqüència cardíaca en el participant 1, en relació a la durada (minuts) de la prova progressiva màxima en tapis. ....	178

Figura 55. Evolució de la ventilació, consum d'oxigen i de la producció de diòxid de carboni, freqüència cardíaca, lactacidèmia, fracció espiratòria de l'oxigen i del diòxid de carboni, equivalents ventilatoris de l'oxigen i del diòxid de carboni en el participant 1 en relació a la velocitat durant la prova progressiva màxima en tapis.....	179
Figura 56. Evolució de la concentració d'àcid làctic (participant 5) en sang en relació a la velocitat al llarg de la prova d'esforç progressiva i màxima. ....	180
Figura 57. Corba velocitat-freqüència cardíaca elaborada a partir de les dades individuals de la prova d'esforç (participant 9). ....	181
Figura 58. Evolució de la freqüència cardíaca en relació a la durada de la sessió CC (carrera contínua al 90% velocitat del IAT).....	183
Figura 59. Evolució de la freqüència cardíaca en relació a la durada de la sessió CI (carrera en intervals al 105% de la velocitat del IAT). ....	183
Figura 60. Evolució de la freqüència cardíaca en el transcurs de les dues sessions d'entrenament (participant 9).....	184
Figura 61. Evolució dels nivells de l'hematòcrit, hemoglobina i volum plasmàtic al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10).....	188
Figura 62. Evolució de les concentracions de leucòcits, neutròfils i limfòcits al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10). ....	190
Figura 63. Canvi de la concentració de leucòcits, neutròfils i limfòcits en sang entre els nivells plasmàtics inicials i a les 3 hores de recuperació de la sessió de CI, en els subgrups de participants determinats pel nivell de condició física (n=10).....	194
Figura 64. Concentracions plasmàtiques de catecolamines al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10). ....	195
Figura 65. Evolució de la concentració de cortisol plasmàtic al llarg de les sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10). ....	198
Figura 66. Relació entre els canvis de la concentració de cortisol plasmàtic al finalitzar l'esforç físic i els del nombre de limfòcits als 60 minuts de recuperació (n=20).....	200
Figura 67. Evolució de la concentració plasmàtica de IL-6, IL-18, IL-10, TNF- $\alpha$ , CRP i SAA al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=5).....	203
Figura 68. Evolució de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$ al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=5). ....	206
Figura 69. Relació entre els canvis de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$ i els del nombre de limfòcits o els de cortisol plasmàtic als 60 minuts de recuperació de l'esforç físic (n=10).....	207
Figura 70. Evolució de la concentració plasmàtica d'àcid úric, FRAP i grups carbonils proteics al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10).....	211
Figura 71. Anàlisi de components principals dels metabolomes plasmàtics inicials e immediatament posteriors a la sessió de CC (n=10).....	214
Figura 72. Anàlisi de PLS-DA realitzat entre els metabolomes plasmàtics obtinguts abans e immediatament després de la sessió d'entrenament de CC (n=10). ....	215
Figura 73. Anàlisi de components principals dels metabolomes plasmàtics inicials e immediatament posteriors a la sessió de CI (n=10). ....	216
Figura 74. Anàlisi de PLS-DA realitzat entre els metabolomes plasmàtics obtinguts abans e immediatament després de la sessió d'entrenament de CI (n=10). ....	217
Figura 75. Diagrama de Veen que representa el nombre de molècules que es modifiquen amb l'exercici físic segons l'anàlisi de 2on ordre metaXCMS. ....	218
Figura 76. Variació en el nombre de leucòcits, neutròfils i limfòcits circulants immediatament després i en la recuperació de 45 minuts de carrera al 50%VO <sub>2max</sub> i al 75%VO <sub>2max</sub> . ....	226
Figura 77. Accions de les catecolamines i el cortisol sobre els leucòcits circulants. ....	229

Figura 78. Model hipotètic dels efectes de l'epinefrina sobre el recompte de limfòcits i neutròfils en sang en resposta a l'exercici físic. ....	233
Figura 79. Model hipotètic dels efectes del cortisol sobre el recompte de limfòcits i neutròfils en sang en resposta a l'exercici físic. ....	235
Figura 80. Evolució de l'àcid úric en plasma en la recuperació de l'esforç. ....	242
Figura 81. Metabolisme de les purines (només adenina) i formació d'àcid úric. ....	243
Figura 82. Model hipotètic del metabolisme de l'àcid úric durant l'exercici físic continu en humans. ....	245
Figura 83. Esquema del metabolisme de la carnitina en el múscul esquelètic .....	253

# **1 Introducció**





## 1.1 Activitat física, exercici físic i entrenament

### 1.1.1 Activitat física/Exercici físic

Segons la Guia de Prescripció de l'Exercici per a la Salut (PEFS, 2007) es considera activitat física qualsevol moviment corporal produït per la musculatura esquelètica a resultes de la qual es produeix una despesa energètica superior a la del metabolisme basal; mentre que exercici físic fa referència a l'activitat física planificada, estructurada i repetitiva que té per objectiu la millora o el manteniment d'un o més components de la condició física. Per la seva banda, l'esport és l'exercici físic dut a terme en un marc reglamentat i competitiu.

L'exercici físic pot adoptar una gran diversitat de formes. Aquesta característica és una de les limitacions del seu estudi, per què dificulta l'extrapolació i la comparació dels resultats obtinguts entre diverses situacions experimentals. Per això, en aquest àmbit d'investigació, és molt important establir clarament la modalitat, durada, e intensitat de l'esforç físic realitzat. En aquest sentit, les classificacions de les activitats físiques poden ser una eina útil que ajudi a sistematitzar les característiques de l'esforç estudiat.

#### 1.1.1.1 Classificació de l'activitat física/exercici físic/esport

Existeixen moltes classificacions de les activitats físiques i els esports que varien segons els criteris de categorització aplicats. Es poden trobar classificacions, que comprenen de 5 (Manno, 1991) fins a 10 o més categories i subcategories, com la de Dal Monte (1983). Per establir els grups d'activitats i esports, la classificació proposada per Dal Monte (1983) es basa en la intensitat, la durada, la magnitud de massa muscular que participa, i el grau de tensió que es realitza durant les accions musculars. També existeixen altres classificacions, algunes de les quals es fonamenten en les demandes cardíoc-vasculars, com la de la 36ena Conferència de Bethesda (Mitchel, Haskell, Snell & Van Camp, 2005), o en la despesa energètica (PEFS, 2007), entre altres. En tot cas, qualsevol classificació de les activitats físiques hauria de proporcionar als investigadors una definició clara i una taxonomia adequada dels requeriments específics de la disciplina investigada, per tal d'inferir correctament els resultats obtinguts en la recerca.

En aquest treball s'ha emprat la classificació proposada per Shephard (1999) que categoritza l'esforç físic en funció de la intensitat i la durada del mateix, per una banda; i per l'altra considera la naturalesa de les accions musculars. Les categories establertes són:

1. Activitats supramàximes de molt curta durada (<10')
2. Activitats de curta durada (10' a 34') i de baixa-moderada intensitat (<75%  $VO_{2max}$ )
3. Activitats de curta durada (10' a 34') i d'intensitat elevada ( $\geq 75\%$   $VO_{2max}$ )
4. Activitats mantingudes (35' a 90') i de baixa-moderada intensitat (<75%  $VO_{2max}$ )
5. Activitats mantingudes (35' a 90') i d'intensitat elevada ( $\geq 75\%$   $VO_{2max}$ )

6. Activitats molt perllongades (> 90')
7. Activitats amb predomini de la força o tensió muscular
8. Activitats en intervals

#### Activitats supramàximes de molt curta durada.

En aquesta categoria s'agrupen les activitats físiques molt breus (<10') i realitzades a una intensitat molt elevada, superior a la que correspondria al 100% del  $VO_{2max}$ . Són esforços on la participació del metabolisme anaeròbic i el nivell de tensió muscular seran molt alts. Són activitats com esprints, curses de velocitat, o proves de laboratori com el test supramàxim de 30" en cicloergòmetre (test de Wingate).

#### Activitats de curta durada (10' a 34') i de baixa-moderada intensitat (<75% $VO_{2max}$ )

Són activitats de curta durada i que a més no es realitzen a la màxima intensitat possible; per exemple: caminar, trotar, passejar en bicicleta. El metabolisme energètic predominant serà l'oxidatiu i el nivell de tensió muscular baix o mig.

#### Activitats de curta durada (10' a 34') i d'intensitat elevada ( $\geq 75\%$ $VO_{2max}$ ).

En aquest grup es troben les activitats de curta durada, inferior a 34', però que es realitzen a una intensitat màxima o quasi-màxima per la seva durada; córrer, ciclisme, nedar. El metabolisme predominant també serà l'aeròbic, i el nivell de tensió muscular elevat.

#### Activitats mantingudes (35' a 90') i de baixa-moderada intensitat (<75% $VO_{2max}$ )

La categoria engloba activitats físiques de més llarga durada que les anteriors. La intensitat però serà baixa-moderada. El metabolisme predominant també serà l'aeròbic, i el nivell de tensió muscular baix o mig. Les activitats incloses en aquest grup, són les mateixes que les de la categoria 2 però es mantenen durant més temps .

#### Activitats mantingudes (35' a 90') i d'intensitat elevada ( $\geq 75\%$ $VO_{2max}$ ).

Comprèn activitats de llarga durada (35' a 90') com les anteriors però que es realitzen a una intensitat màxima o quasi-màxima. El metabolisme predominant serà l'aeròbic i el nivell de tensió muscular elevat. Les activitats incloses en aquest grup, són les mateixes que les de la categoria 3 però es mantenen durant més temps .

#### Activitats molt perllongades (>90')

Agrupa activitats de molt llarga durada, com maratons, etapes ciclistes... on el metabolisme predominant és l'aeròbic i la tensió muscular moderada però repetida al llarg d'un període de temps molt llarg.

### Activitats amb predomini de la força o la tensió muscular

En aquesta categoria s'inclouen les activitats físiques on predomina el paper de la tensió muscular sobre el de les adaptacions sistèmiques. Comprenen sessions d'entrenament de la força (accions concèntriques, isomètriques o/i excèntriques) i curses descendents, on el component excèntric de l'acció muscular serà un determinant important de l'adaptació a l'esforç.

### Activitats en intervals

La categoria agrupa les proves i activitats físiques que no són de naturalesa contínua, sinó que es caracteritzen per l'alternança dels períodes d'esforç i els períodes de descans o pausa. Poden participar tant el metabolisme energètic aeròbic, com l'anaeròbic. El nivell de tensió muscular pot ser baix o molt elevat. Aquí estarien incloses activitats com esports col·lectius, esports d'implement, esports de lluita o les sessions d'entrenaments en intervals analitzades en aquesta tesi.

#### **1.1.1.2 Exercici físic regular i salut**

De la mateixa manera que existeixen múltiples formes d'esforç físic, la finalitat de la pràctica d'exercici físic també és molt diversa. La pràctica regular d'exercici físic pot comprendre un ampli ventall de propòsits que van des de l'optimització del desenvolupament físic en les etapes de creixement, el manteniment de la capacitat física en joves i adults, fins a la cerca de l'excel·lència esportiva, passant per la seva utilització com a eina de diagnòstic, mitjà de prevenció i tractament de certes patologies, o com un component de la rehabilitació després d'una lesió o una intervenció quirúrgica.

Actualment, és ben reconegut que a llarg termini, l'exercici físic regular proporciona molts beneficis a l'organisme, entre els que destaquen la millora de la salut i de les capacitats físiques. Els efectes positius per a la salut i la forma física són la conseqüència de la repetició dels canvis bioquímics, fisiològics i psicològics que es produeixen durant l'esforç físic i la seva recuperació. El procediment a través del qual es pretenen assolir aquests beneficis s'anomena entrenament esportiu.

#### **1.1.2 Entrenament esportiu**

El concepte d'entrenament esportiu, fa referència a un procés d'acció complex, organitzat metodològicament en repeticions cícliques d'esforç i recuperació, i la finalitat del qual es influir, de forma sistemàtica sobre el desenvolupament de l'actuació esportiva (VVAA, 1992; PEFS, 2007).

En els seus orígens, aquest procés estava orientat a l'obtenció de resultats en l'àmbit esportiu, i tenia com objectiu desenvolupar la màxima potencialitat de l'esportista durant un determinat període de temps, que li permetés obtenir un rendiment esportiu elevat en situacions de

competició (Matveiev, 2001). Tanmateix, com s'ha indicat en l'apartat anterior, a banda de l'alt rendiment esportiu, existeixen altres contextos en els que es pot entrenar; com el lleure, l'educació física, el manteniment físic i la salut (Martin, Carl, & Lehnertz, 2001; Tschene, 2002). Així, en contrast amb l'alt rendiment esportiu, en l'àmbit del manteniment físic i la salut, la finalitat de l'entrenament és sobretot, millorar les capacitats físiques, especialment la capacitat cardíoc-respiratòria, sense necessitat d'assolir l'excel·lència esportiva, per tal de contrarestar els efectes negatius dels hàbits sedentaris i reduir els factors de risc de malalties cardíoc-vasculars (PEFS, 2007)

### 1.1.2.1 Resposta biològica a l'entrenament

L'entrenament esportiu es fonamenta en que l'esforç físic (estímul entrenant), promou en els diferents components orgànics, un conjunt de modificacions transitòries, que tenen un paper molt important en els processos de reorganització i adaptació fisiològica del sistema biològic.

A llarg termini, i com a conseqüència de la repetició dels estímuls físics entrenants sobre l'organisme de l'esportista es desenvolupen una sèrie de processos adaptatius en el sistema biològic que desplacen els seus límits de funcionament. La millora de les capacitats físiques i de la prestació esportiva, així com la millora de la salut i la reducció de la mortalitat associades a l'exercici físic regular són el reflex d'aquesta adaptació (Figura 1, A)

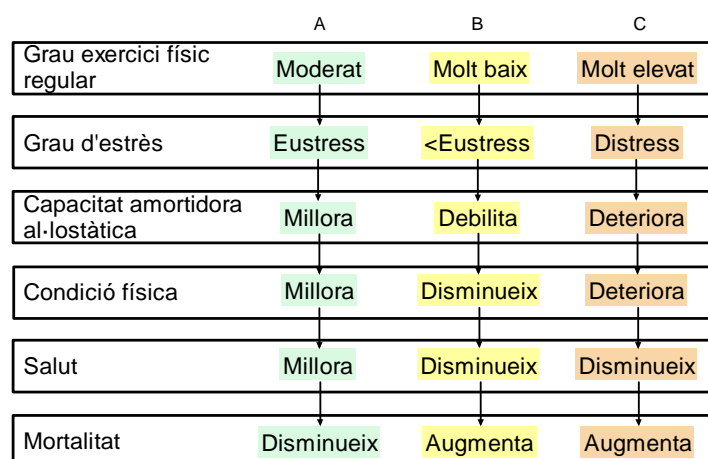


Figura 1. Model dels efectes de l'exercici físic regular sobre la forma física i la salut. A: bona adaptació; B i C: mala adaptació (Adaptat de Li & He, 2009).

Tanmateix, l'adaptació fisiològica òptima no es produeix en resposta a estímuls físics aleatoris, i si la magnitud de l'estímul entrenant és massa baixa o massa elevada es produirà un debilitament de la forma física i la salut (Figura 1, B i C).

### 1.1.2.2 Estímuls d'entrenament

En l'entrenament esportiu, l'estímul per una banda, i l'adaptació per l'altra, són conceptes que estan interrelacionats. Manno (1991) defineix l'estímul com el conjunt de tots els factors, tant de

l'ambient natural o social, com dels òrgans interns del subjecte o de la seva psique que produeixen alteracions del funcionament del sistema biològic. Viru & Viru (2001) els diferencien en factors determinants, amb una influència directa sobre les funcions fisiològiques, i factors moduladors que poden fer variar l'efecte dels primers sobre la resposta de l'organisme (Figura 2).

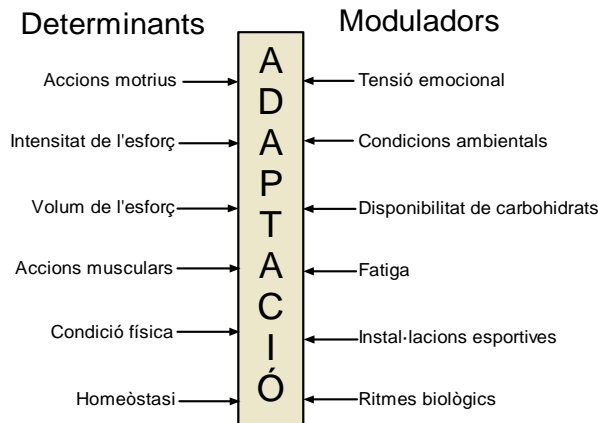


Figura 2. Alguns determinants i moduladors que conformen els estímuls entrenants. (Adaptat de Viru & Viru, 2001)

Els estímuls d'entrenament més elementals són les accions motrius de característiques múltiples (breus, curtes, continues, irregulars, ...) que s'ajusten a les diferents formes d'exercici físic, i a través del seu control en condicions potencialment entrenables poden arribar a provocar processos adaptatius a llarg termini (Lehnert, 1996; Martin-Acero, Lalín, Coblán, Barral, & Arriaza, 2003).

### 1.1.2.3 Càrrega d'entrenament

Per càrrega s'entén cada un dels estímuls, o dosis, d'entrenament (Mirella, 2001; Paish, 1992). Aquesta constitueix la categoria central de l'entrenament donat que per la seva naturalesa, magnitud i orientació permet que s'aconsegueixi un efecte a través de l'entrenament (Platonov, 1988).

La càrrega d'entrenament es descriu habitualment, mitjançant la combinació de tres variables, com són el volum, la intensitat i la freqüència d'entrenament (Mujika, 2006).

#### 1) Volum

El volum d'entrenament és una variable molt fàcil de quantificar, ja que no és altra cosa que la distància recorreguda o el temps destinat (durada) a l'entrenament, el pes mobilitzat o el nombre de repeticions, en una fase determinada del pla d'entrenament (sessió, microcicle, mesocicle, macrocicle) o en tota la temporada.

## 2) Intensitat

La intensitat de l'esforç físic representa el ritme de transferència de l'energia química en energia mecànica. Es podria determinar com la quantitat d'energia gastada per minut per a realitzar una tasca determinada. A causa de les dificultats per a mesurar directament la despesa energètica de forma continuada al laboratori, o al camp, la intensitat s'acostuma a expressar de múltiples maneres com velocitat; potència; freqüència cardíaca (Borrensen & Lambert, 2009; Jeukendrup & Van Diemen, 1998), en percentatge respecte a la freqüència cardíaca màxima ( $FC_{max}$ ), o a la freqüència cardíaca de reserva (Karvonen & Vuorimaa, 1988); consum d'oxigen ( $VO_2$ ), en percentatge respecte al  $VO_{2max}$ , (American College of Sports Medicine [ACSM], 2010); als llistats ventilatoris (Beaver, Wasserman & Whipp, 1986); a la concentració d'àcid làctic en plasma (Faude, Kindermann & Meyer, 2009), al llistat de lactat individual (Stegmann, Kindermann & Schnabel, 1981); segons els equivalents metabòlics o METS (PEFS, 2007); segons la percepció subjectiva de l'esforç (Borg, 1998).

## 3) Freqüència

La freqüència d'entrenament fa referència al nombre de vegades que l'esportista entrena en un temps determinat. Com el volum d'entrenament, aquesta també és una variable fàcil de quantificar.

## 4) Índexs de la càrrega de l'entrenament

De moment, encara no s'ha pogut identificar cap marcador fisiològic, mecànic, o de qualsevol altra natura, que determini acuradament la resposta orgànica i la fatiga als estímuls entrenants. En un intent de quantificar globalment l'esforç que realitza l'esportista durant una sessió o fase d'entrenament s'han proposat diversos mètodes com la suma dels batecs cardíacs (Korcek, 1980); els impulsos d'entrenament (TRIMP: Training impulses) (Banister, MacDougall, & Wenger, 1991; Lucia, Hoyos & Santalla, 2003); la sensació subjectiva de fatiga de la sessió (Foster et al., 2001) o l'índex del temps emprat en diverses zones de freqüència cardíaca (Borrensen & Lambert, 2009). Malgrat les seves limitacions per a reflectir la complexitat dels sistemes biològics i de la resposta a l'activitat física, aquests índexs pretenen proporcionar una idea integrada de les principals variables de la càrrega.

### 1.1.2.4 Mètodes d'entrenament

Els mètodes d'entrenament són procediments organitzatius preestablerts que combinen els determinants dels estímuls entrenants per aconseguir els efectes adaptatius desitjats. En els esports cíclics amb desplaçament, com la carrera, es diferencia entre el mètode continu (EC) i el mètode fraccionat. El primer implica realitzar una única repetició, sense interrupció, de la distància, o temps de treball, amb una velocitat uniforme o variable. El segon suposa repetir diverses vegades estímuls separats per pauses de descans. L'esforç global ve determinat pel nombre de repeticions, la intensitat, i la distància o la durada, de cadascuna; i la intensitat i

durada de les pauses. Si el descans entre repeticions és incomplet i/o actiu, el mètode s'anomena entrenament en intervals (EI). Si el descans és complet el mètode rep el nom de mètode intermitent.

Selecció de la intensitat i durada dels períodes de treball i de les pauses, es pot aconseguir que els requeriments principals de la sessió es concentrin en els aspectes funcionals que es desitgen treballar. Per exemple sobre a) la força muscular sense un increment important del  $VO_2$ ; b) els processos aeròbics sense mobilitzar el metabolisme anaeròbic; c) els processos anaeròbics sense estimular exageradament els aeròbics; d) els processos aeròbics i anaeròbics simultàniament (Astrand & Rodahl, 2010).

Habitualment, els consells d'exercici físic com a hàbit saludable es fonamenten en el mètode d'entrenament continu. La durada recomanada sol ser de 30 a 60 minuts per sessió, la intensitat moderada-baixa (del 40% al 70% de la  $FC_{max}$ ), i la freqüència d'entre 2 a 7 sessions per setmana (ACSM, 2010; Pedersen & Saltin, 2006). Amb tot, darrerament en l'àmbit de la salut, s'ha renovat l'interès en el mètode d'entrenament en intervals; concretament en el mètode d'entrenament aeròbic en intervals (EAI). Aquest fa referència a un tipus d'entrenament en intervals, la finalitat del qual és estimular de preferència els processos metabòlics aeròbics sobre els anaeròbics.

El mètode d'EAI consisteix en la repetició de períodes d'esforç; de molt curta (<1'), mitjana (1' a 8') o llarga durada (>8'), a una intensitat relativament elevada; interromputs per períodes de recuperació, sempre amb la finalitat d'incidir específicament sobre els processos de transport i utilització de l'oxigen, i evitant activar excessivament els processos anaeròbics.

En l'EAI, la intensitat sovint es determina en referència a la velocitat o potència a la qual s'assoleix el  $VO_{2max}$  ( $vVO_{2max}$  o  $pVO_{2max}$ ) en un test progressiu màxim; a la velocitat a partir de la qual s'acumula àcid làctic (vOBLA), o al 50% de la diferència entre la  $vVO_{2max}$  i la vOBLA ( $v\Delta_{50}$ ) (Billat, 2001a).

Com s'ha indicat més amunt, la durada del temps de treball també varia considerablement entre els autors; i pot ser igual per a tots els esportistes, o establir-se de forma individualitzada (Billat, 2001a).

La intensitat (de 0 a 50% $VO_{2max}$ ) i la durada (5" a 3-4') de les pauses també són molt diverses. Aquestes hauran de ser més llargues si la intensitat de l'esforç ha estat elevada.

Com es descriurà més endavant, els períodes d'esforç físic molt intens i de molt curta durada poden estimular el metabolisme aeròbic sense afectar al anaeròbic làctic. Per contra, si els períodes d'esforç són de mitjana o llarga durada és més difícil evitar l'acidosi. En aquest cas, si la intensitat és baixa-moderada i les pauses incompletes els efectes de l'entrenament es centren en el metabolisme aeròbic; mentre que si la intensitat és alta també s'estimula el metabolisme anaeròbic, i es requereixen recuperacions més llargues.



## 1.1.3 Entrenament aeròbic en intervals; efectes a llarg termini

### 1.1.3.1 Estudis

En esportistes d'alt nivell, la finalitat fonamental de l'EAI és millorar els resultats en proves de resistència, a banda d'incrementar la potència aeròbica. Però hi ha relativament pocs estudis que hagin comprovat els efectes de l'EAI en aquest grup d'esportistes, a causa de la seva reticència, i dels riscos que comporta modificar el seu pla d'entrenament. En canvi, en esportistes de lleure i en persones sedentàries o moderadament actives, els efectes dels programes d'EAI sobre la prestació esportiva en proves de resistència i sobre els indicadors fisiològics, són bastant més ben coneguts (Laursen & Jenkins, 2002).

Taula 1. Participants i protocols d'esforç que han valorat els efectes a llarg termini de l'entrenament aeròbic en intervals en esportistes del temps de lleure

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Sèries		Pausas (Durada)	Durada sessió Efectiva Total	d/s S
			Nombre x durada	Intensitat			
Franch (1998)	12H 30,4 (4,8) LI	Carrera	30-40 x 15"	5,7 m·s <sup>-1</sup>	15"	20→-30'	3 6
Helgerud (2007)	10H 24,6 (4) LI	Tapis	47 x 15"	90-95%FC <sub>max</sub>	15"	12' 24'	3 8
Burgomaster (2008)	5H+5D 23 (1) LI	Ciclo- ergòmetre	4 a 6 x 30"	màxima	4'30"	2-3' 20-30'	3 6
Gibala (2006)	8H 21,1(1) LI	Ciclo- ergòmetre	4-6 x 30"	màxima	4'	2-3' 18-27'	3 2
Gorostiaga (1991)	1H + 4D 27 (1,3) LI	Ciclo- ergòmetre	30 x 30"	màxima	30"	15'	3 8
MacDougall (1998)	12H 22 (2) LI	Ciclo- ergòmetre	4 a 10 x 30"	màxima	4' a 2'30"	1'-3' No indic	3 7
Rodas (2000)	5H 20,8 (3) E	Ciclo- ergòmetre	4-7 x 15-30"	màxima	45"-12'	Variable No indic	7 2
Morton (2009)	8H 20 (1) LI	Tapis	5 x 3'	90%VO <sub>2max</sub>	3'	15' 30'	4 6
Franch (1998)	12H 30,4 (4,8) LI	Carrera	4-6 x 4'	4,6 m·s <sup>-1</sup>	2'	16'-24' 20'-30'	3 6
Helgerud (2007)	10H 24,6 (4) LI	Tapis	4 x 4'	90-95%FC <sub>max</sub>	3'	16' 28'	3 8
Perry (2008)	5H+3D 24 (1) LI	Ciclo- ergòmetre	10 x 4'	65%VO <sub>2max</sub>	2'	40' 60'	3 6
Talanian, (2007, 2010)	10D 22 (1) LI	Ciclo- ergòmetre	10 x 4'	90% VO <sub>2pic</sub>	2'	40' 60'	3 6

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; VO<sub>2max</sub>: consum d'O<sub>2</sub> màxim; VO<sub>2pic</sub>: consum d'O<sub>2</sub> pic; FC<sub>max</sub>: freqüència cardíaca màxima; d/s: dies a la setmana; S: setmanes d'entrenament; No Indc: no indica. La durada efectiva fa referència a la suma dels períodes d'esforç de la sessió; durada total és la suma de la durada dels períodes d'esforç i de les pauses.

Els estudis (Taula 1) poden distribuir-se en dos categories; aquells que apliquen intervals de molt curta durada (<1') també anomenat SIT (*sprint interval training*) o HIIT (*high intensity interval training*); i els que apliquen intervals de major durada (de 1' a 8'). La majoria dels estudis s'han realitzat en cicloergòmetre, i en menor mesura en tapis ergomètric. En general, la valoració dels seus efectes a llarg termini, es fonamenta en els canvis dels resultats en proves de resistència, del  $VO_{2max}$ , de la velocitat al  $VO_{2max}$ , dels canvis de l'activitat d'enzims musculars, o de la magnitud de les reserves energètiques musculars.

Taula 2. Participants i protocols d'esforç que han valorat els efectes a llarg termini de l'entrenament aeròbic en intervals en persones que presenten diverses patologies.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Sèries		Pausas (Durada)	Durada sessió Efectiva Total	d/s S
			Nombre x durada	Intensitat			
Mameletzi (2011)	10H 70,1 (6) M coronària	Tapis	No indic	70% $FC_{max}$	No indc	No indc 30'	3 28
Ciolac (2010)	16D 24,4 (3,8) Antecedents familiars de HTA	Tapis	13 x 1'	80-90% $VO_{2max}$	2' 50- 60% $VO_{2ma}$ x	13' 40'	3 16
Guimaraes (2010)	12H + 4D 45 (9) HTA	Tapis	13 x 1'	80%FCR	2' 50%FCR	13' 40'	2 16
Helgerud (2011)	6H + 2D 61,4 (3,7) M coronària	Tapis	4 x 4'	85-95% $FC_{max}$	3'	16' 28'	3 8
Moholdt (2009)	24H + 4D 60,2 (7) Bypass coronari	Tapis	4 x 4'	90% $FC_{max}$	3'	16' 28'	5 4
Rognmo (2004)	6H + 2D 63 (11,2) M coronària	Tapis	4 x 4'	90% $VO_{2pic}$	3'	16' 28'	3 10
Stensvold (2010)	5H + 4D 50 (10,1) Sd metabòlica	Tapis	4 x 4'	90% $FC_{max}$	3'	16' 28'	3 12
Tjona (2008)	7H + 4D 55 (13,2) Sd metabòlica	Tapis	4 x 4'	90% $FC_{max}$	3'	16' 28'	3 16
Tjona (2009)	14H + 14D 14 (0,3) Obesitat	Tapis	4 x 4'	90% $FC_{max}$	3'	16' 28'	3 52
Wisloff (2007)	7H + 2D 76,5 (9) Post IAM	Tapis	4 x 4'	95% $FC_{max}$	3'	16' 28'	3 12

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen;  $VO_{2max}$ : consum d'O<sub>2</sub> màxim;  $FC_{max}$ : freqüència cardíaca màxima; FCR: freqüència cardíaca de reserva; Sd metabòlica: síndrome metabòlica; adol: adolescents; IAM: infart agut de miocardi; HTA: hipertensió arterial; M coronària: malaltia coronària; No indc: no indica. La durada efectiva fa referència a la suma dels períodes d'esforç de la sessió; durada total és la suma de la durada dels períodes d'esforç i de les pauses..

A banda de les dades obtingudes en esportistes de lleure i en persones sedentàries o moderadament actives, actualment, el mètode d'EAI també s'està aplicant a persones que presenten factors de risc càrdio-vascular o que pateixen alguna patologia, com la síndrome metabòlica, cardiopatia isquèmica o insuficiència cardíaca (Taula 2). Tots aquests estudis

assenyalen que en aquestes persones, l'entrenament aeròbic en intervals és més efectiu que el mètode d'entrenament continu tradicional, per a produir beneficis saludables a mig i llarg termini.

### 1.1.3.2 Efectes observats a llarg termini

#### 1) Prestació esportiva

Després del període d'entrenament en intervals, la majoria d'investigadors detecten un increment de la potència màxima assolida en proves incrementals, mentre que els canvis en els resultats de proves de valoració del metabolisme anaeròbic (test de Wingate) són menys concloents. També s'han descrit millores de l'eficiència mecànica, i de la velocitat corresponent al IAT (vIAT), sense canvis en el %VO<sub>2max</sub> al qual aquest apareix. Tot i així, Helgerud et al. (2007) indiquen que els efectes són similars als observats després de l'EC.

#### 2) VO<sub>2max</sub>

En esportistes d'alt nivell, la influència de l'EAI sobre el VO<sub>2max</sub> és mínima, segurament degut a que els esportistes molt entrenats, abans d'iniciar el programa d'EAI, ja eren capaços de mobilitzar un percentatge elevat de les seves capacitats físiques. No obstant, l'EAI els ajuda a millorar el rendiment esportiu, ja que s'incrementa la velocitat que es correspon amb el VO<sub>2max</sub> (vVO<sub>2max</sub>) (Billat et al., 2003).

En grups de persones menys entrenades, en general, el creixement de la potència aeròbica màxima, o VO<sub>2max</sub>, és superior després de l'entrenament en intervals que de l'entrenament continu tradicional. Aquest efecte s'ha descrit tant en esportistes del temps de lleure (Gorostiaga, Walter, Foster, & Hickson, 1991; Helgerud et al., 2007), com en persones amb patologia cardíaca isquèmica (Moholdt et al., 2009; Rognmo, Hetland, Helgerud, Hoff & Slordahl, 2004; Wisloff, et al., 2007), o síndrome metabòlica (Stensvold et al., 2010; Tjonna et al., 2008).

Al comparar la durada dels intervals, Frank, Madsen & Djurhuus (1998) i Helgerud et al. (2007) registren millors resultats en el creixement del VO<sub>2max</sub>, si els intervals són de mitjana durada (4'), que si aquests tant sols duren 15" (+6% versus +3% el primer; +7,6% versus 5,3% el segon).

L'augment del VO<sub>2max</sub> s'ha associat a un increment del volum minut cardíac màxim i del volum sistòlic màxim (Helgerud et al., 2007), major en l'EAI; i a una millora en l'activitat màxima de diversos enzims mitocondrials (Perry, Heigenhauser, Bonen & Spriet, 2008). En pacients amb insuficiència cardíaca estable secundària a cardiopatia isquèmica, l'EAI també va ser superior per a remodelar i millorar els índexs de funció ventricular que l'EC (Wisloff et al., 2007).

Helgerud, et al. (2011) també observen que l'augment del VO<sub>2max</sub> és paral·lel a la millora del volum sistòlic màxim en pacients amb malaltia coronària que varen seguir un programa d'EAI, encara que no varen poder establir comparacions amb un programa d'EC.

### 3) Reserves energètiques musculars

L'EAI també modifica les reserves energètiques musculars i sembla que la durada dels intervals podria modular-ne l'adaptació. Alguns estudis detecten augments dels dipòsits de fosfocreatina (+31%) i de glicogen (+32%) musculars, en tant sols dues setmanes d'entrenament en intervals tipus SIT (Rodas, Ventura, Cadefau, Cussó & Parra, 2000). Perry et al. (2008) obtenen augments lleugerament més importants (+59%) dels dipòsits de glicogen muscular després de 6 setmanes d'entrenament aeròbic en intervals de mitjana durada, però en canvi no detecten modificacions en els dipòsits de fosfocreatina o d'ATP. En contraposició a les dades anteriors Morton et al. (2009) no detecten canvis dels dipòsits de glicogen, ni en el vast lateral, ni en el tríceps sural després de 6 setmanes d'EAI. La durada global de les sessions i els nivells de forma física inicial podrien determinar l'adaptació muscular.

### 4) Enzims musculars

Després de diverses setmanes d'EAI, s'han detectat augments de l'activitat de diferents enzims associats al metabolisme anaeròbic com creatinfosfoquinasa (CPK) (Rodas, et al. 2000), fosfofructoquinasa (PFK) (MacDougall, et al., 1998; Rodas, et al. 2000) i lactat deshidrogenasa (LDH) (Rodas, et al. 2000). En tots els casos els intervals de treball eren molt breus.

També s'han descrit augments de l'activitat dels enzims oxidatius (succinat deshidrogenasa (SDH), citrat sintetasa (CS), malat sintetasa (MS); 3-hidroxiacildeshidrogenasa (3-HAD), citocrom C oxidasa, (Billat, 2001b; Burgomaster et al., 2008; Gibala et al., 2006, MacDougall, et al. 1998; Morton et al., 2009; Perry et al., 2008; Rodas, et al. 2000; Talanian et al., 2010) després de l'EAI.

En alguns casos, els increments són majors després de l'EAI en comparació al EC. Per exemple, Billat (2001a) descriu que després de l'entrenament aeròbic en intervals de 4 minuts al 100%  $VO_{2max}$  la capacitat oxidativa de la SDH i de la citocrom oxidasa augmenten més que després d'un EC a una intensitat mitjana equivalent (79%  $VO_{2max}$ ). Per contra, Gorostiaga et al.(1991) obtenen resultats diferents, i en l'EC l'activitat CS va augmentar més que després d'un període d'entrenament SIT.

Per altra banda, Burgomaster et al. (2008) observen les mateixes adaptacions de activitat enzimàtica en l'exercici màxim i en el submàxim, després d'un període d'entrenament SIT en comparació a les adaptacions detectades després de l'entrenament continu tradicional de càrrega global semblant. Tot i així en l'entrenament SIT, els participants varen dedicar menys temps a l'esforç físic que en l'EC.

A part de l'acreixement de l'activitat específica dels diversos enzims, també s'han descrit altres canvis musculars funcionals, a les 4 setmanes de l'EAI, com un augment de la capacitat d'oxidació dels greixos i una reducció de l'ús del glicogen intramuscular durant els esforços d'intensitat moderada (Burgomaster et al., 2008; Morton et al., 2009; Perry et al., 2008). A més, Burgomaster et al. (2007) i Perry et al. (2008) varen observar que les adaptacions també

repercutien sobre els mecanismes de transport transmembrana. En aquest sentit, descriuen un augment dels transportadors de glucosa (GLUT4) i dels transportadors de lactat (MTC1 i MTC4) que podria relacionar-se amb una major capacitat d'oxidació dels hidrats de carboni. Altres investigadors també han identificat un augment dels transportadors FAT/CD36 i FABPm els quals contribueixen a l'oxidació dels àcids grassos al facilitar-ne el pas a través les membranes cel·lulars (Perry et al., 2008; Talanian et al., 2007; Talanian et al., 2010).

#### 5) Altres canvis musculars

L'EAI té potencialitat per a induir alteracions metabòliques musculars similars a les de l'EC, amb una millora de la capacitat oxidativa global i, afavorint l'ús dels lípids sobre els carbohidrats. També s'han descrit altres canvis en les fibres musculars, com l'augment de PGC-1 $\alpha$  (activador del receptor de proliferació peroxisomal tipus  $\gamma$  (PPAR- $\gamma$ ) coactivador- $\alpha$ 1) després de 6 setmanes d'EAI (Burgomaster, et al. 2008). L'augment va ser similar al registrat en el grup que realitzava EC. També Morton et al. (2009) varen descriure un augment de PGC-1 $\alpha$  intramuscular després del període d'EAI. Aquesta proteïna té un rol molt important en l'al·lòstasi muscular, ja que és considerada com un dels principals agents que regulen les adaptacions metabòliques i mitocondrials a l'entrenament. Segons Little, Safdar, Bishop, Tarnopolsky & Gibala (2011), l'eix p38 $\gamma$ MAPK-PGC-1 $\alpha$  és essencial per a les adaptacions a l'entrenament. Però, a banda de la seva acció sobre la remodelació de la fibra muscular; a curt termini, i en concentracions dins dels límits de la normalitat, la proteïna PGC-1 $\alpha$  també pot activar el transport intracel·lular de glucosa, l'oxidació dels àcids grassos i la sensibilitat a la insulina (Lira, Benton, Yan & Bonen, 2010).

Després d'un període de 6 setmanes d'EAI, Morton et al. (2009) també observen un augment de la quantitat de les proteïnes de xoc tèrmic HSP70, HSP60, i  $\alpha$ B-cristal·lina en el múscul entrenats. Segons els coneixements actuals aquestes proteïnes estarien vinculades; (a) als processos de protecció de les fibres musculars enfront els danys que podrien derivar-se de la contracció muscular, i (b) als processos de remodelació del múscul lligats a l'entrenament esportiu (Kayani, Morton & McArdle, 2008). L'activitat superòxid dismutasa (SOD) muscular també va augmentar suggerint que l'EAI pot impulsar una millora de capacitat antioxidant enzimàtica. En aquest cas, la manca d'un grup que realitzés EC no permet establir comparacions entre mètodes d'entrenament.

#### 6) Mortalitat i risc cardío-vascular

També s'ha destacat que l'EAI redueix els factors de risc cardío-vascular associats a la síndrome metabòlica en rosegadors (Haram et al., 2009) i en humans (Moholdt et al., 2009; Stensvold et al., 2010; Tjonna et al., 2008; Tjonna et al., 2009; Wisloff et al., 2007). Com s'aprecia a la Taula 3 els efectes positius de l'EAI sobre els factors de risc cardío-vascular es centren en els canvis de la composició corporal, l'augment de l'adiponectina i dels paràmetres de funció ventricular, i la disminució de la resistència a la insulina.

Taula 3. Efectes a llarg termini de l'entrenament aeròbic en intervals sobre diversos factors de risc cardíoc-vascular.

Referència	Factor de risc	Efecte Inici - Final	Efecte Intergrups
Ciolac (2010)	Rigidesa vascular (PWC) Pressió arterial (24h)	↓ ↓	EAI>EC EAI=EC
Guimaraes (2010)	Rigidesa vascular (PWC) Pressió arterial (24h)	↓ ↔	EAI>EC EAI=EC
Helgerud (2011)	Cabal cardíac màxim Volum sistòlic màxim	↑ ↑	- -
Mameletzi (2011)	Sensibilitat del reflex pressor Eficàcia del reflex pressor	↑ ↑	EAI>Con EAI>Con
Moholdt (2009)	Adiponectina Funció ventricular esquerra	↑ ↔	- -
Stensvold (2010)	Perímetre de la cintura	↓	EAI>Con
	Pes	↔	EAI=Con
	Funció endotelial	millora	EAI>Con
	Pressió arterial	↔	EAI=Con
	Glicèmia basal	↔	EAI=Con
Tjona (2009)	HDL	↔	EAI=Con
	IMC	↓	EAI > EMD
	Percentatge de greix total	↓	EAI > EMD
	Percentatge de greix central	↓	EAI > EMD
	Perímetre abdominal	↓	EAI > EMD
	Adiponectina	↑	EAI > EMD
	Resistència a la insulina	↓	EAI > EMD
	Pressió arterial	↓	EAI > EMD
	Funció endotelial	millora	EAI > EMD
Wisloff (2007)	HDL	↑	EAI > EMD
	oxLDL	↓	EAI > EMD
	Funció endotelial	↑	EAI > EC
	Funció ventricular esquerra	↑	EAI > EC
	Capacitat antioxidant	↑	EAI > EC

IMC: índex de massa corporal; HDL: lipoproteïnes d'alta densitat; oxLDL: lipoproteïnes de baixa densitat oxidades; EAI: entrenament aeròbic en intervals; EMD: entrenament multidisciplinar; Con: grup control; EC: entrenament continu.

Per altra banda, existeixen evidències que a llarg termini l'exercici físic regular és beneficiós per al control de la pressió arterial (PEFS, 2007; Mora, Cook, Buring, Ridker, & Lee, 2007). Alguns autors han observat que l'entrenament en intervals proporciona resultats superiors a l'entrenament continu de càrrega equivalent (Ciolac et al., 2010; Guimaraes et al., 2010). Tot i que Ciolac et al. (2010) afirmen que la intensitat de l'esforç és un factor determinant, Guimaraes et al. (2010) no aprecien diferències atribuïbles a la modalitat (en intervals versus continu) de l'esforç realitzat, sobre el control directe de la pressió arterial (PA). No obstant, l'entrenament en intervals va ser superior per a la millora de la rigidesa de la pared vascular. Aquesta va passar de 9,44 (0,91) m·s<sup>-1</sup> a 8,90 (0,96) m·s<sup>-1</sup> (p=0,009) en el grup d'entrenament en intervals, però no es va modificar en el grup d'entrenament continu, ni en el grup control (Guimaraes, et al. 2010). Tjonna et al. (2009) també varen obtenir un millor control de la PA en els joves que varen realitzar l'EAI en comparació als del grup del programa multidisciplinar, però en canvi Stensvold et al. (2010) no observen canvis de la PA després de l'EAI. L'entrenament en intervals també té efectes positius sobre la sensibilitat del reflex pressor en pacients amb

patologia coronària (Mameletzi, Kouidi, Koutlianos, & Deligiannis, 2011).

A més com ja s'ha indicat anteriorment, l'EAI també augmenta el  $VO_{2max}$ . Tenint en compte que el  $VO_{2max}$  es relaciona amb la mortalitat i el risc cardíoc-vascular (Myers, Prakash, Frelicher, & Do, 2002), des de la perspectiva de l'àmbit de la salut, la capacitat de millora del  $VO_{2max}$  de l'EAI és un aspecte important a tenir en compte.

En els estudis on s'han comparat diversos mètodes d'entrenament, l'EAI mostra resultats superiors als altres mètodes (Stensvold et al., 2010; Tjonna et al., 2009; Wisloff et al., 2007).

Per als seus defensors el mètode l'EAI és un mètode que optimitza l'ús del temps necessari per a produir adaptacions musculars, metabòliques i cardíoc-respiratòries a mig i llarg termini.

## 7) Adherència

A banda dels beneficis funcionals, i al contrari del que es podria esperar per la baixa condició física d'alguns grups estudiats, les sessions d'entrenament en intervals de durada mitjana han estat ben tolerades per les persones sedentàries o amb patologies associades.

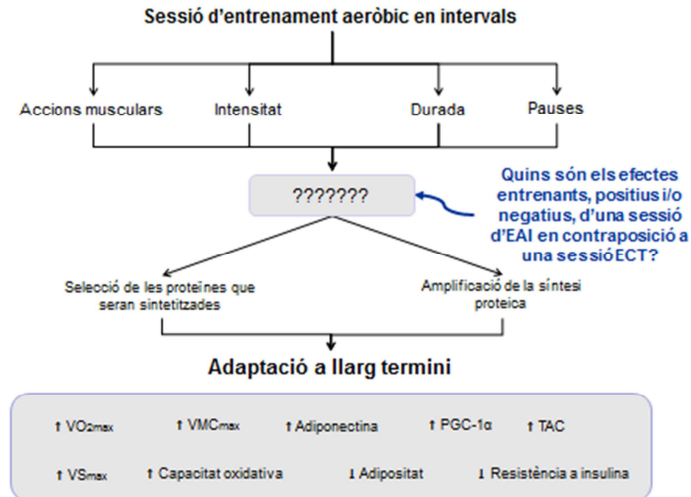
En les sessions d'entrenament en intervals basades en esprints de molt curta durada (menys de 30") s'han descrit símptomes de malestar (mareig, nàusees...) durant o després de les sessions (Richards et al., 2010). En contrast, quan la durada dels períodes d'esforç és relativament llarga (4-5 minuts) no apareixen aquest símptomes, ni en persones moderadament actives sanes (Barlett et al., 2011; Morton et al., 2009), ni en les que pateixen alguna patologia (Tjonna et al., 2008; Tjonna et al., 2009; Wisloff et al., 2007). A més, els participants en resposta al qüestionari de satisfacció Physical Activity Enjoyment Scale (PACES; Kenziarski & DeCarlo, 1991) declaren que els complau més el mètode d'entrenament en intervals que el mètode continu tradicional, tot i que la sensació de fatiga es situa en un nivell una mica més elevat (14 versus 13 sobre 20) de l'escala de percepció de fatiga de Borg (Barlett et al., 2011).

El grau de major gaudiment pot ser degut a la naturalesa variable de la sessió en intervals enfront a la monotonia d'una sessió d'EC; a la intensitat dels intervals (que pot generar un major al·licient i major sensació de repte); o a una combinació de les dues.

Des de la perspectiva de la salut, a part de les repercussions de l'exercici físic sobre els factors de risc i les patologies, també cal tenir en compte els factors, entre ells l'estalvi de temps i la satisfacció dels participants, ja que poden repercutir positivament en la consolidació i manteniment a llarg termini dels hàbits d'exercici físic.

### **1.1.4 Entrenament aeròbic en intervals; efectes immediats**

Les adaptacions orgàniques a l'entrenament són el reflex del desplaçament dels límits de funcionament de l'organisme, però per elles mateixes no expliquen els processos d'adaptació immediats, o aguts, que s'han produït en el moment de l'esforç (Figura 3).



**Figura 3. Procés d'adaptació al entrenament.**

Es coneixen els estímuls d'entrenament i alguns resultats a llarg termini, però quins són els processos d'adaptació immediats?

EAI: entrenament aeròbic en intervals; EC: entrenament continu; VO<sub>2max</sub>: consum d'O<sub>2</sub> màxim; VMC<sub>max</sub>: cabal cardíac màxim; PGC-1α: activador del receptor de proliferació peroxisomal tipus γ (PPAR-γ) coactivador-α1 TAC: capacitat antioxidant total; VS<sub>max</sub>: volum sistòlic màxim.

Els efectes de l'esforç sobre la resposta immediata, o aguda, són específics de la modalitat de les accions motrius, de la intensitat i de la durada de l'esforç, i de la intensitat i durada de les pauses, a part d'altres (Viru & Viru, 2001). Per això, en les sessions d'entrenament en intervals, a més de la intensitat i durada dels intervals, l'existència de les pauses determinarà aspectes diferencials de la resposta aguda a l'esforç, en comparació a la d'un exercici físic de naturalesa contínua. Durant les pauses poden tenir lloc processos com la restitució dels dipòsits d'O<sub>2</sub> de la mioglobina, la refosforilació de la fosfocreatina, i la neteja de l'àcid làctic. Si les pauses són molt breus, aquests processos poden quedar compromesos; mentre que si s'allarguen massa, les demandes sobre el sistema càrdio-vascular i el metabolisme muscular disminuiran excessivament.

Malgrat que les dades dels estudis longitudinals indicats més amunt, suggereixen que l'EAI és efectiu per a millorar la forma física, diversos paràmetres funcionals cardíacs, el metabolisme energètic, i reduir el risc càrdio-vascular; la resposta aguda a l'esforç d'aquest tipus de sessió d'entrenament no s'ha caracteritzat completament. Per aquest motiu, en els següents apartats s'analitza la resposta aguda a l'exercici físic, fent especial incidència en l'esforç físic en intervals; en particular, intervals de mitjana durada i d'intensitat inferior al 100%VO<sub>2max</sub>.



## 1.2 Resposta aguda a l'exercici físic

Des del punt de vista evolutiu, la supervivència és el reflex de la capacitat d'adaptació a les alteracions cel·lulars, orgàniques i sistèmiques que es produeixen enfront als continus canvis de l'ambient. Segons Pacak (Pacak & Palkovits, 2001), els elements responsables de la variabilitat de l'entorn es poden classificar en quatre grans categories: físics (calor, soroll, dolor...); psicològics (afecten a les emocions: ansietat, frustració...); socials (alteracions en les relacions interpersonals: mort d'un familiar o amic, atur, violència...); i elements que pertorben l'homeòstasi del sistema cardío-vascular i del metabolisme (hemorràgia, ortostatisme, hipoglicèmia,...). L'activitat física forma part d'aquest darrer grup per què altera considerablement l'equilibri intern de l'organisme, i particularment les necessitats cardío-vasculars i metabòliques dels músculs esquelètics actius.

L'esforç físic desencadena respostes d'adaptació que regulen la mobilització de les reserves energètiques, la seva utilització en els músculs actius, i l'eliminació dels productes del metabolisme, juntament amb la inhibició temporal d'altres processos fisiològics, com els de digestió.

Per tal de satisfer les demandes musculars, les funcions dels sistemes cardío-vascular i respiratori seran activades. Aquests darrers seran responsables de contrabalançar les necessitats dels músculs esquelètics actius augmentant (a) el subministrament d'O<sub>2</sub> i de substrats energètics, i (b) l'eliminació del CO<sub>2</sub> i altres productes del metabolisme.

Els canvis en els nivells de funció dels sistemes que atenen els músculs actius han d'estar coordinats amb les necessitats de l'activitat muscular. La coordinació només és possible si els diversos òrgans-sistemes del cos poden comunicar-se els uns amb els altres. Per poder respondre a les pertorbacions fisiològiques immediates i tardanes, imposades per l'esforç físic es requereix disposar d'una bona estructura d'integració i comunicació entre cèl·lules, òrgans i sistemes orgànics. Les vies de senyalització intracel·lular i extra cel·lular, entre elles els sistemes nerviós, endocrí e immune, funcionen conjuntament regulant i coordinant les funcions corporals, i contribueixen al procés d'al·lòstasi.

Des de la perspectiva de la salut, i en part també del rendiment esportiu, el procés d'adaptació a la disrupció de l'al·lòstasi és essencial per a desenvolupar respostes més atenuades i amb menys efectes lesius, i, en casos extrems, per a la supervivència.

Per explicar les adaptacions fisiològiques a l'exercici físic, Li & He (2009) proposen un model en el que, mitjançant mecanismes de tipus hormètic, l'exercici físic induiria una millora en la capacitat de gestió de l'al·lòstasi (Figura 4). Durant i després d'una única "dosi entrenant" es produeix una alteració transitòria en les cèl·lules, òrgans i sistemes (A), que si es repeteix amb suficient freqüència i amb una càrrega adequada, els condueix cap un millor estat funcional (C). Tanmateix, si l'estímul entrenant és inferior a un llindar crític (poc eustress) no hi haurà desplaçament dels límits de funcionament del sistema biològic (B), mentre que si l'estímul

ultrapassa aquest llindar crític (distress) es pot superar la capacitat de reorganització del sistema i donar pas a una fase de desequilibri (D).

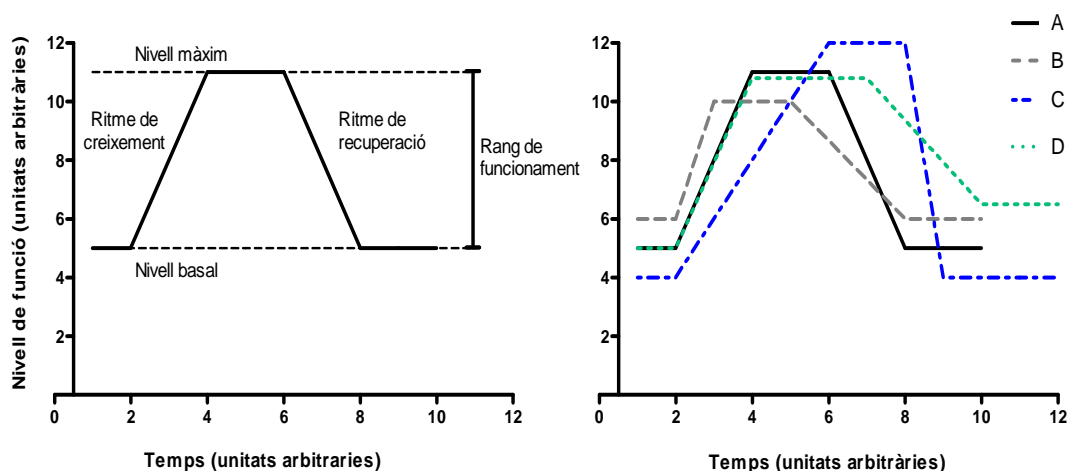


Figura 4. Model dels efectes de l'exercici físic sobre la capacitat de gestió de l'al·lostasi. Es pot mantenir una estabilitat dinàmica del sistema dins dels límits de funcionament (basal, màxim), amb un ritme de creixement i recuperació adequats. A: resposta normal; Canvis produïts per diferents estils de vida B: sedentarisme; C: exercici físic regular; D: excés d'activitat física/sobreentrenament. (Adaptat de Li & He, 2009)

El fracàs de l'adaptació a l'exercici físic pot desembocar en fatiga aguda o crònica, i en una major prevalença de lesions o patologia. Però si la resposta al·lostàtica és eficient es produeixen canvis persistents, i beneficiosos per a la salut i/o la prestació esportiva, tal com s'ha destacat en l'apartat anterior.

La complexitat de la resposta cel·lular-sistèmica a l'exercici físic queda reflectida per l'elevat nombre de vies de senyalització activades; i en la capacitat de produir respostes (a) individualitzades en les cèl·lules i els òrgans, i (b) diferencials segons les característiques de l'esforç físic.

A continuació s'analitzaran en major detall les respostes fisiològiques agudes a l'exercici físic; particularment a l'exercici físic en intervals de durada mitjana e intensitat inferior al  $VO_{2max}$ .

Una de les dificultats i limitacions de les comparacions entre les activitats físiques en intervals i les de naturalesa contínua és que en alguns casos es consideren esforços amb una durada total similar i diferent intensitat per tal d'anivellar els requeriments energètics globals; mentre que en d'altres s'equipara la seva intensitat absoluta, i en conseqüència la durada és diferent.

En aquest apartat no es pretén fer una revisió exhaustiva de tots els aspectes de la fisiologia de l'exercici. Per a un estudi més aprofundit es poden consultar les revisions de Rowel & Shephard (1996) o Tipton (2003) o les darreres edicions de llibres clàssics de fisiologia de l'exercici (Astrand & Rodahl, 2010; Brooks, Fahey & Baldwin, 2005).

## 1.2.1 Adaptacions musculars agudes

L'element bàsic del moviment són els músculs esquelètics. La seva activació, o contracció muscular, produeix diversos graus de tensió al múscul que s'expressen externament, per mitjà de les accions musculars, amb la força i el moviment.

L'estructura i funció del teixit muscular esquelètic han estat extensament estudiades des de les èpoques de Galè i de Vesal, i han estat objecte de diversos premis Nobel. Per a revisions i estudis detallats es poden consultar fonts especialitzades (Alberts, 2010; Guyton, 2007).

### 1.2.1.1 Patró de reclutament muscular

Durant l'activitat física el reclutament de les fibres musculars depèn de les característiques de les accions motrius, i de la intensitat i la durada de les accions musculars. En general, a baixes intensitats es recluten principalment les fibres musculars de contracció lenta (tipus I), i al augmentar la intensitat s'aniran afegint progressivament les fibres musculars de contracció ràpida, les de tipus IIa primer, i després les IIx (Figura 5).

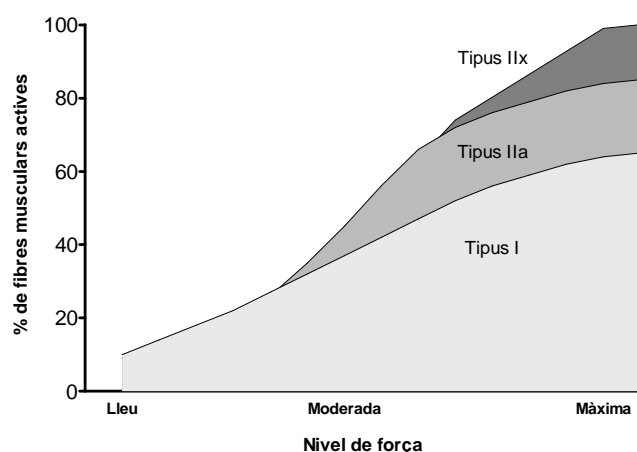


Figura 5. Mobilització seqüencial de les fibres musculars a mesura que augmenta la força muscular efectuada.

Tipus I: fibres musculars de contracció lenta; Tipus IIa: fibres musculars de contracció ràpida oxidatives; Tipus IIx: fibres musculars de contracció ràpida glicolítiques. Adaptat de Wilmore & Costill, 2004.

Segons aquest model, durant els períodes d'esforç de les sessions d'EAI es reclutaran les fibres musculars de tipus I i IIa, i potser també si la intensitat és suficientment elevada, algunes de tipus IIx; mentre que en les sessions d'EC de càrrega global similar a les d'EAI, però en les que la intensitat de l'esforç és necessàriament de baixa-moderada intensitat, seran sobretot les fibres I les responsables de les accions musculars.

Per altra banda, si es comparen esforços físics de la mateixa intensitat, el patró de reclutament de les fibres musculars, en principi, hauria de ser similar en ambdós casos (interval versus continu), amb la diferència que l'esforç es pot mantenir més temps en l'esforç en interval.

obstant, Billat (2001a) i Essen (1978) indiquen que en l'EAI en intervals breus (30 x 15" al 100%VO<sub>2max</sub>) es produeix una depleció de glicogen similar en totes les fibres musculars (I i II), mentre que si l'esforç és continu i d'elevada intensitat (4-6' al 100%VO<sub>2max</sub>), la depleció és major en les fibres de tipus II. Aquest fet suggereix que a banda de la intensitat, la distribució de l'esforç intens al llarg de la sessió també determinarà l'adaptació muscular.

L'exercici físic en intervals, a causa de la intensitat dels períodes de treball i la durada efectiva de l'esforç, activa considerablement el sistema muscular; i per tant es podria esperar, que el patró de reclutament repercuteixi directament; i de forma diferencial en comparació a les activitats contínues; sobre les adaptacions metabòliques i càrdio-respiratòries agudes, i també sobre els beneficis de l'exercici físic a llarg termini.

### 1.2.1.2 Requeriments energètics del múscul actiu

La contracció muscular és el resultat de l'excitació de la fibra muscular i de la seva capacitat de transformar l'energia química de l'adenosintrifostat (ATP) en energia mecànica, i d'aquesta manera generar força i/o moviment (Figura 6).

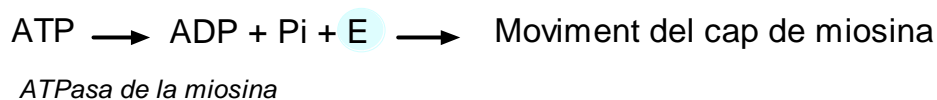


Figura 6. L'enzim ATPasa miofibril·lar localitzada al cap de miosina, hidrolitza l'adenosintrifostat. L'energia alliberada s'utilitzarà per a la flexió del cap de miosina i el lliscament del filament prim cap al centre del sarcòmer. ATP: adenosintrifostat.

A nivell muscular, l'exercici físic suposa un repte important per als sistemes productors d'energia. Per a fer front als processos de contracció, i també de relaxació muscular, requerits per l'esforç físic, les fibres musculars tenen l'habilitat de passar ràpidament d'un nivell de demanda d'energètica baix a un nivell elevat (Astrand & Rodahl, 2010). Això comporta l'existència d'un sofisticat sistema de control del flux energètic cel·lular.

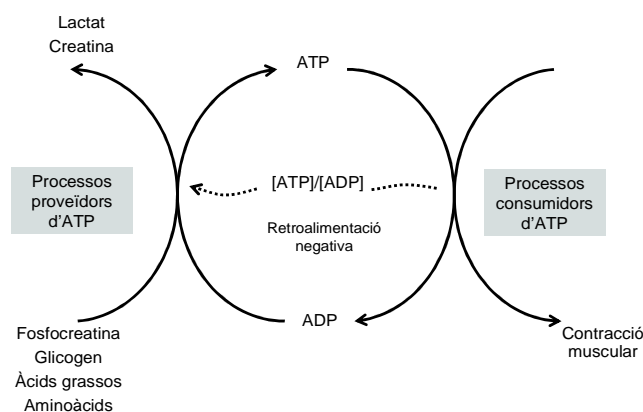


Figura 7. Control del flux energètic muscular.

Petites variacions de l'índex [ATP]/[ADP] actuen com a senyal per a modificar el ritme de síntesi d'ATP, amb la finalitat d'equilibrar els processos proveïdors i els consumidors d'ATP. ATP: adenosintrifostat; ADP: adenosindifostat. Modificat de Newsholme (1988).

El sistema adenosintrifostat/adenosindifosfat ([ATP]/[ADP]) és el principal portador d'energia per a la contracció muscular (Figura 7). El sistema ([ATP]/[ADP]) acobla els processos cel·lulars proveïdors d'energia amb els processos contràctils, de manera que aquests darrers depenen dels primers (Newsholme, 1988).

Fosfàgens, carbohidrats, lípids i proteïnes poden utilitzar-se com a substrats o fonts d'energia (Figura 8), però les demandes energètiques del múscul actiu no es poden suplir completament amb les reserves intramusculars pròpies, i serà necessari mobilitzar els substrats energètics dels dipòsits extra-musculars.

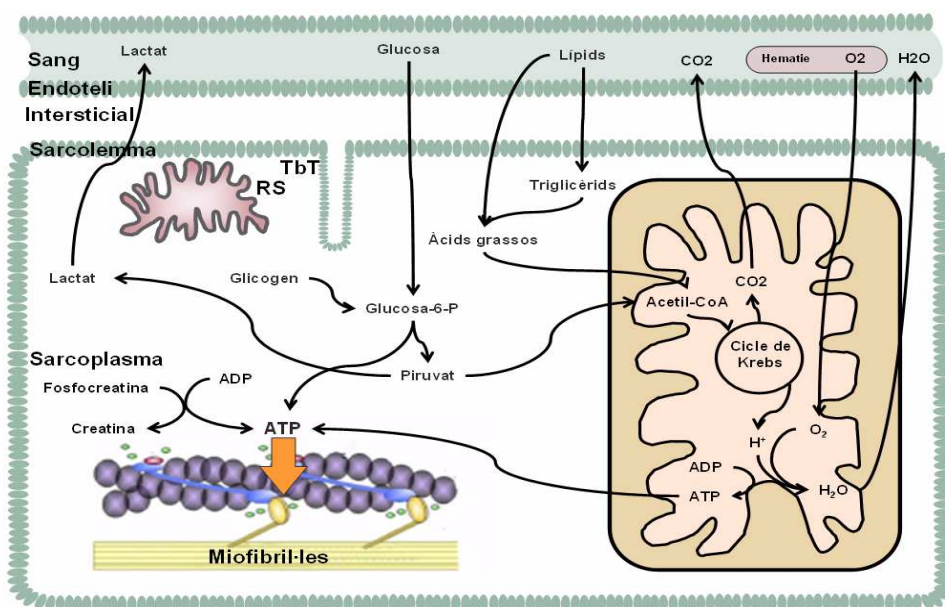


Figura 8. Metabolisme energètic durant l'activitat física.  
 ATP: adenosintrifostat; ADP: adenosindifosfat; TbT: túbuls T; RS: reticle sarcoplasmàtic.

Les vies metabòliques (Taula 4) mitjançant les quals es produeix l'ATP s'han classificat segons la presència de lactat, com a co-producte (làctiques versus alàctiques), i segons la necessitat d'ús o no de l'oxigen en alguna de les reaccions (aeròbiques versus anaeròbiques) (Brooks, Fahey & Baldwin, 2005; Rowel & Shephard, 1996; Tipton, 2003).

La durada i la intensitat seran determinants importants de la resposta metabòlica a l'exercici físic. Per a realitzar un esforç de màxima intensitat i molt breu, com pot ser un esprint, el ritme de producció d'ATP haurà de ser molt elevat per contrarestar-ne les demandes musculars. Segons Soley & Llobera (1997) en aquesta situació (Figura 9), la contracció muscular requereix d'uns 180 mmols d'ATP·s<sup>-1</sup> que provindran de la fosfocreatina (sistema anaeròbic làctic) o/i de la glucosa, procedent del glicogen muscular i degradada per la via d'Embden-Meyerhoff (sistema anaeròbic làctic).

Taula 4. Categorització de les vies energètiques emprades durant l'esforç

	Sistema anaeròbic alàctic	Sistema anaeròbic làctic	Sistema aeròbic u oxidatiu
Fonts d'energia	Fosfocreatina ADP	Glucosa	Glucosa Àcids grassos Aminoàcids
Productes metabòlics	Creatina AMP	Àcid làctic	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, NH <sub>3</sub>
Consum O <sub>2</sub>	No	No	Si

A l'altre extrem del continuum d'activitats físiques es troben les activitats de molt llarga durada e intensitat relativament moderada. Els requeriments energètics per a una marató seran totalment diferents als de les curses de velocitat. La quantitat global d'energia necessària serà elevada (2600 kilocalories (kcal) globals, enfront de les 22 kcal de l'esprint) però, en canvi les necessitats d'ATP per unitat de temps seran més baixes; 30 mmols ATP·s<sup>-1</sup> (Soley & Llobera, 1997). En aquest cas, les vies metabòliques que subministraran l'ATP seran de preferència l'oxidació dels hidrats de carboni i dels greixos (sistema aeròbic), encara que si és necessari també poden intervenir les proteïnes.

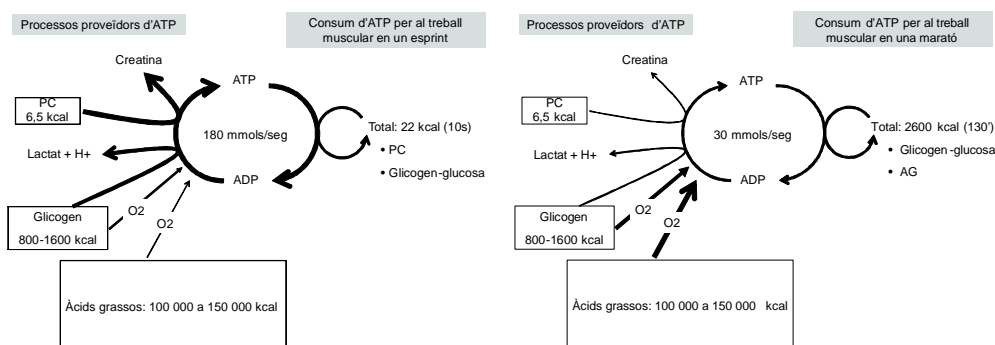


Figura 9. Exemples dels processos metabòlics que tenen lloc durant l'exercici físic de diferent durada e intensitat.

PC: fosfocreatina; ATP: adenosintrifosfat; ADP: adenosindifosfat; AG: àcids grassos. Adaptat de Soley & Llobera (1997).

Tal com s'aprecia a la Figura 10, en les activitats contínues mantingudes, per a una mateixa intensitat, com més llarga sigui l'activitat, més s'afavoreix l'ús dels lípids com a substrat energètic. En canvi per a una mateixa durada, com més intensa sigui l'activitat major serà la participació dels carbohidrats.

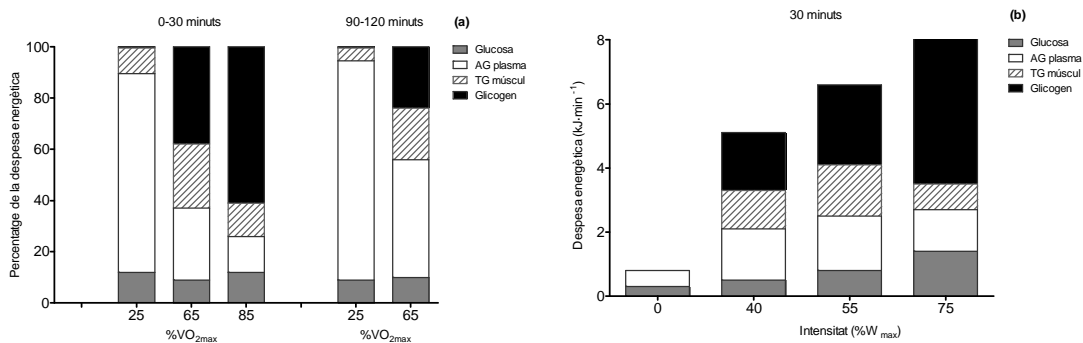


Figura 10. Participació relativa de diversos substrats energètics en el metabolisme muscular durant l'exercici físic de diferent durada e intensitat.

$VO_{2max}$ : consum d'oxigen màxim; AG: àcids grassos; TG: tri-glicèrids.

Adaptat de Romijn (citat a Barnard & Holloszy, 2003) (a) i van Loon (2001)(b).

### 1) Fonts i vies energètiques en l'EAI

Existeixen relativament pocs estudis que hagin analitzat el patró energètic de les activitats físiques en intervals, i en particular de les sessions d'entrenament aeròbic en intervals de durada mitjana. Al tractar-se d'intervals de durada mitjana e intensitat inferior al  $VO_{2max}$ , durant les sèries o períodes d'esforç, el metabolisme energètic serà de predomini aeròbic, tot i que si la intensitat és elevada també es pot activar el metabolisme anaeròbic làctic amb la conseqüent acumulació d'àcid làctic (Billat, 2001a). Per contra en el SIT, on les sèries són molt breus e intenses, el metabolisme energètic serà predominantment anaeròbic alàctic i aeròbic.

Billat (2001a) indica que en una sessió d'entrenament aeròbic en intervals, a una intensitat entre la  $vIAT$  i la  $vVO_{2max}$ , i d'una hora de durada total, la necessitat d'ATP per unitat de temps anirà fluctuant; serà més elevada durant els períodes de treball i més baixa durant les pauses. A cada interval de treball de 3 a 5 minuts de durada, a una intensitat elevada ( $>75-80\%VO_{2max}$ ) per exemple, els requeriments energètics procediran principalment dels hidrats de carboni degradats simultàniament per la via d'Embden-Meyerhoff i per la via oxidativa; mentre que en les pauses, l'ATP provindrà de l'oxidació dels carbohidrats i dels lípids. El glicogen muscular disminuirà respecte als valors inicials (Figura 11). Segons Stepto, Martin, Fallon & Hawley (2001) el glicogen consumit representa el 90% dels carbohidrats oxidats.

A més, com suggereixen els resultats obtinguts per Stepto et al. (2001) a mesura que transcorre el temps, el ritme d'oxidació dels carbohidrats va minvant i augmenta el dels àcids grassos. Stepto et al. (2001) varen observar que el coeficient respiratori (R) va passar de 0,97 al 1er estadi a 0,92 el darrer. Així, tal com s'ha descrit per a les activitats continues, sembla que el ritme d'oxidació dels hidrats de carboni va es reduir una mica, des del primer al darrer estadi (de  $346 \mu mol \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$  a  $328 \mu mol \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ ), mentre que el d'oxidació dels greixos va augmentar (de  $16 \mu mol \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$  a  $25 \mu mol \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ ). També Morton et al. (2009) varen

registrar una activació de l'ús dels àcids grassos durant l'esforç en intervals de durada mitjana i elevada intensitat (Taula 5). Malauradament, la manca en ambdós estudis d'un grup que realitzés un esforç continu no permet establir comparacions amb sessions d'EC a la mateixa intensitat, o de càrrega global similar.

Taula 5. Característiques dels participants i protocols de diversos estudis que han analitzat la resposta metabòlica aguda en activitats físiques en intervals

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Grup interval	Grup de comparació	Paràmetres analitzats
		Modalitat Durada Pauses Intensitat	Modalitat Durada Pauses Intensitat	
Essen (1977)	5H 23 (21-26) LI	Cicloergòmetre 30 x 15" 15" 100% VO <sub>2max</sub>	Cicloergòmetre 60' 0' 55% VO <sub>2max</sub>	Glicogen m Lactat m Glicerol m Citrat m Malat m Glucosa NEFA R
Essen (1978)	7H 23 (20-40) LI	Cicloergòmetre 30 x 15" 15" 100% VO <sub>2max</sub>	Cicloergòmetre 4-6' 0' 100% VO <sub>2max</sub>	
O'Brien (2008)	14H 3D 21,9 (3,9) E	Tapis 5 x 2' 2' 100% vVO <sub>2pic</sub>	Tapis 1 x 20' 0' 75% vVO <sub>2pic</sub>	VO <sub>2</sub> %VO <sub>2max</sub>
Morton (2009)	9H 20 (1) LI	Carrera 5 x 3' 3' 90% VO <sub>2max</sub>	-	Glicerol NEFA Glicogen m
Stepto (2001)	7H 26,0 (5,4) E	Cicloergòmetre 8 x 5' 1' 85% VO <sub>2max</sub>	-	Glicogen m VO <sub>2</sub> Lactat

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; m: múscul. VO<sub>2</sub>: consum d'oxigen; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; VO<sub>2pic</sub>: consum d'oxigen pic; NEFA: àcids grassos no esterificats

Per contra en activitats en intervals molt breus si que s'han realitzat estudis comparant aquest tipus d'esforç amb una activitat física contínua. Essen i col·laboradors (Essen, Hagenfeldt & Kaijser, 1977; Essen & Kaijser, 1978 i Essen, 1978) varen comparar el metabolisme energètic al realitzar 60 minuts d'esforç en intervals de 15" de treball al 100%VO<sub>2max</sub>, alternats amb pauses també de 15", amb un esforç de naturalesa contínua: (a) de la mateixa càrrega global (60' durada al 55%VO<sub>2max</sub> (Essen et al., 1977), i (b) de la mateixa intensitat absoluta (Essen & Kaijser, 1978), però que els participants sols el podien mantenir durant 4-6 minuts. La resposta metabòlica entre l'esforç en intervals i l'esforç continu de la mateixa càrrega global va ser similar. Segons Essen et al. (1977) malgrat la intensitat de l'esforç, en l'exercici físic en intervals, l'augment del citrat, junt amb la recuperació dels dipòsits de fosfocreatina i de l'O<sub>2</sub> de la mioglobina al final de les pauses, podrien retardar una activació massa important de la



glicòlisi i afavorir la utilització dels lípids. Per contra, quan varen comparar l'esforç en intervals amb un de tipus continu a una mateixa intensitat absoluta, la proporció d'energia derivada dels lípids i dels carbohidrats era semblant, però la quantitat total de despesa energètica va ser superior en l'esforç en intervals per què es va poder mantenir més temps. A més, Essen & Kaijser (1978) també va observar concentracions de glucosa-6-fosfat, glicerol, lactat i malat inferiors després de l'exercici intermitent en comparació al continu, suggerint que el ritme de glicòlisi va ser inferior en el primer.

Sembla que en l'exercici físic en intervals s'afavoreix l'ús dels lípids i s'evita o es retarda la depleció de glicogen en comparació a un esforç continu de la mateixa intensitat

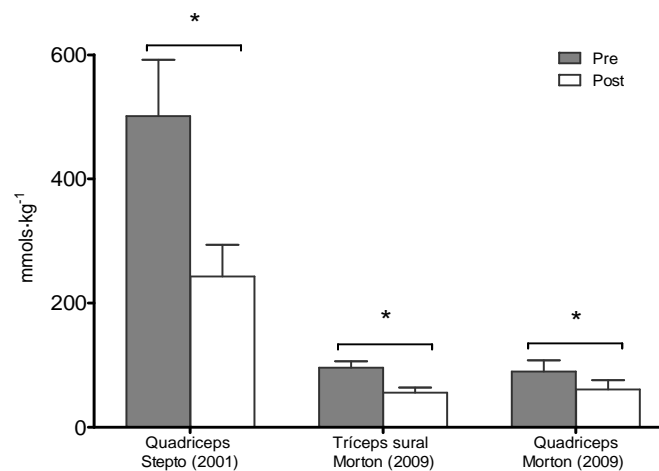


Figura 11. Concentració de glicogen al tríceps sural i el vast lateral abans i després d'una sessió entrenament en intervals.

Adaptat de Stepto et al. (2001) i Morton et al. (2009).

## 2) $\dot{V}O_2$

El consum d'oxigen ( $\dot{V}O_2$ ) s'utilitza com indicador de la magnitud dels requeriments energètics de l'activitat per què és un element decisiu en l'oxidació dels substrats energètics.

En activitats físiques contínues d'intensitat constant i baixa-moderada magnitud el  $\dot{V}O_2$  augmenta ràpidament i seguidament s'estabilitza a un nivell superior al del repòs. Aquest nivell de  $\dot{V}O_2$ , anomenat  $\dot{V}O_2$  de l'estat estable, és proporcional de la intensitat de l'esforç. També en l'exercici físic en intervals de durada mitjana a intensitats situades per sota de la  $v\dot{V}O_{2max}$ , després de la fase d'adaptació inicial, es produeix una estabilització per sota del  $\dot{V}O_{2max}$  (Billat, 2001a; Stepto et al., 2001) (Figura 12). Durant les pauses el  $\dot{V}O_2$  descendeix ràpidament.

Al comparar una carrera en intervals de 2' amb un esforç de carrera contínua de la mateixa durada global, O'Brien, Wibskov, Knez, Paton, & Harvey (2008) indiquen que la mitjana de  $\dot{V}O_2$  de la sessió és superior en la carrera en intervals que en la carrera contínua.

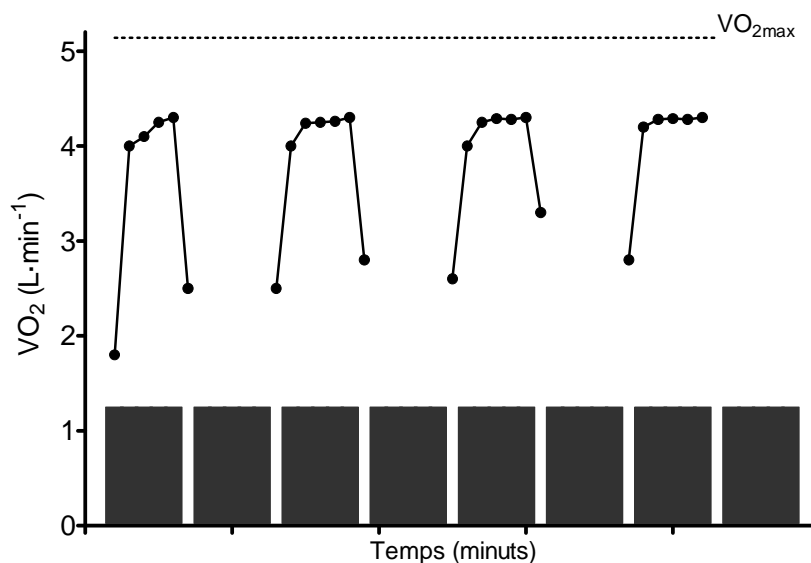


Figura 12. Evolució del  $VO_2$  en els estadis 1, 3, 5 i 7 d'un esforç físic en intervals al  $85\%VO_{2max}$ .  $VO_2$ : consum d'oxigen. S'aprecia que en cada estadi el  $VO_2$  s'estabilitza per sota del  $VO_{2max}$  dels esportistes. Les columnes en negre indiquen els períodes d'esforç. Dades extretes de Stepto (2001).

Per altra banda, en l'EAI, per una mateixa intensitat absoluta, el temps total durant el qual es manté un  $VO_2$  elevat al llarg de la sessió serà superior al temps que aquest es pot mantenir de forma continuada (4-6 minuts) (Astrand & Rodahl, 2010; Billat, 2001b). Així mateix, l'entrenament en intervals mitjans-llargs dóna la possibilitat d'establir programacions en intervals en la que es pot mantenir més temps un  $VO_2$  elevat i amb menor lactacidèmia que si el protocol és continu: 6,5 versus 7,8  $mmols \cdot L^{-1}$  (Billat, 2001b) i 13,3 versus 16,6  $mmols \cdot L^{-1}$  (Astrand & Rodahl, 2010). En esportistes poc entrenats o en persones sedentàries, cal ser molt prudent al determinar la intensitat dels intervals, per què, es produeix el que s'ha anomenat component lent del  $VO_2$ . Així, si la intensitat és elevada, després de la fase inicial el  $VO_2$  anirà augmentant contínuament fins arribar al  $VO_{2max}$ .

Si els intervals són breus (30"), el  $VO_2$  també augmenta ràpidament amb l'esforç, i com que en aquest tipus de sessió, la intensitat sol ser molt elevada ( $>100\%VO_{2max}$ ) els esportistes mantenen el  $VO_2$  a nivell del  $VO_{2max}$  des de la 5<sup>ena</sup> a la 18<sup>ena</sup> repetició. A més, la concentració de lactat en sang augmenta bastant (7,4  $mmols/L$ ) (Billat, 2001b). Si s'allarga la durada dels intervals de treball, i la intensitat és elevada, serà problemàtic mantenir el  $VO_{2max}$  durant els períodes d'esforç, per què simultàniament la lactacidèmia també serà cada cop més elevada (14-18  $mmols \cdot L^{-1}$ ). Aquests tipus d'intervals són complicats de gestionar, i cal reduir la seva intensitat, si es vol evitar l'acidosi.

### 3) Lactacidèmia

La concentració de lactat en sang, malgrat les limitacions (Faude et al., 2009) s'utilitza com a marcador de la participació del sistema anaeròbic làctic en el metabolisme energètic muscular.

En general, per una mateixa intensitat com més curts són els intervals menor serà lactacidèmia (Billat, 2001a).

Segons Astrand & Rodahl (2010), si els períodes d'esforç són breus (30") es poden imposar intensitats molt elevades als músculs i òrgans de transport d'O<sub>2</sub> sense afectar els processos anaeròbics làctics. Però si s'allarga la durada dels intervals fins a 60", tot i mantenir la mateixa intensitat i la relació esforç:descans (1:2), els nivells de lactacidèmia es poden elevar molt (Taula 6).

Si els intervals són mitjans-llargs però d'intensitat inferior al VO<sub>2max</sub>, la lactacidèmia augmenta en els primer períodes però després s'estabilitza (Figura 13). La concentració de lactat va augmentar un 19% en el múscul, i en la sang es va mantenir pròxima als 6 mmol·L<sup>-1</sup> al llarg de tota la sessió (Stepto et al., 2001).

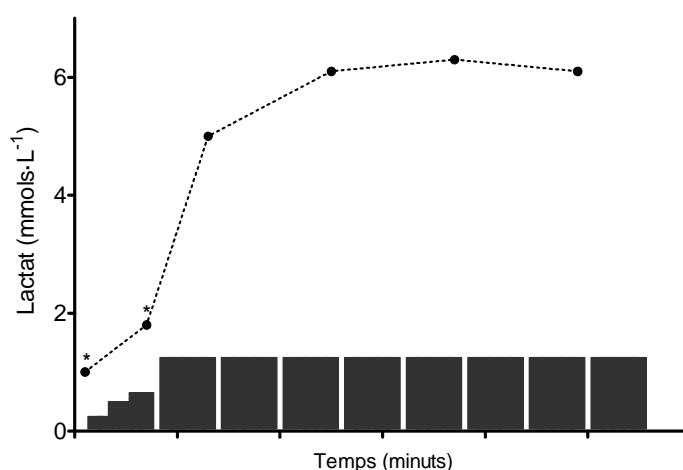


Figura 13. Evolució de la lactacidèmia en els estadis 1, 3, 5 i 7 d'un exercici en intervals al 85%VO<sub>2max</sub>.

\* significativament diferent respecte al nivell posterior a l'estadi 1. Les columnes en negre indiquen els períodes d'esforç. Dades extretes de Stepto et al. (2001).

En una activitat física en intervals però de menor intensitat i durada global, Morton et al. (2009) varen registrar valors de lactacidèmia situats entre 3 i 5 mmols·L<sup>-1</sup>.

Les característiques de les pauses també poden repercutir en la lactacidèmia. És recomana que siguin actives (50%VO<sub>2max</sub>) per afavorir la desaparició de l'àcid làctic i a més, evitar una disminució excessiva del nivell de VO<sub>2</sub> (Brooks et al., 2005). No obstant, si la intensitat de les pauses és massa elevada, es podrien dificultar parcialment els processos restauradors.

Com mostra la Taula 6, en comparació a un esforç continu de la mateixa intensitat mitjana els nivells de lactacidèmia són molt més elevats en l'esforç en intervals de mitjana durada (1,3 mmols·L<sup>-1</sup> versus 13,3 mmols·L<sup>-1</sup>). En canvi, en comparació a un esforç continu a la mateixa intensitat absoluta, l'EAI permet mantenir la intensitat més temps, però amb menor acumulació de lactat en sang (16,6 mmols·L<sup>-1</sup> versus 2,2 a 13,3 mmols·L<sup>-1</sup>).

## 1.2.2 Sistemes cardío-vascular i respiratori

El sistema cardío-vascular és el responsable de la distribució i el transport de la sang per l'organisme. Durant l'exercici físic els requeriments metabòlics musculars i de termoregulació s'eleven considerablement. Això comporta inevitablement, modificacions de la distribució del flux sanguini i el creixement concomitant del cabal cardíac o volum minut cardíac (VMC).

La resposta cardío-vascular a l'esforç és el resultat de la interrelació de diversos mecanismes nerviosos, humorals (catecolamines), "mecànics" (retorn venós-vasodilatació) i metabòlics que permeten augmentar ràpidament l'activitat i els efectes de la funció cardío-vascular.

L'inici de l'esforç s'associa amb la disminució de l'activitat vagal acompanyada de l'activació del sistema nerviós simpàtic. La reducció de l'activitat vagal facilitarà l'efecte cronotrópic positiu de l'activitat simpàtica, i catecolaminèrgica, sobre els nòduls sino-auricular i auriculo-ventricular. A més, el sistema nerviós simpàtic també exerceix un efecte inotrópic positiu sobre el miocardi, i n'augmenta la força contràctil i el volum sistòlic. A tot això s'afegeix l'efecte facilitador de les accions musculars sobre el retorn venós, el qual mitjançant els mecanismes de Baimbridge i Frank-Starling afavoreix l'increment de la FC i de la contractibilitat cardíaca, respectivament (Rowel, Leary & Kellog, 1996; Rowel, 2004).

### 1.2.2.1 Cabal cardíac

En esforços físics d'intensitat creixent, el cabal cardíac tendeix a augmentar progressivament amb la intensitat de l'esforç fins assolir un nivell a partir del qual s'aplana lleugerament (Figura 14 C). El cabal cardíac augmenta a expenses de la freqüència cardíaca (FC) i el volum sistòlic (VS). Els canvis que es puguin produir, durant l'exercici físic, en aquests paràmetres, repercutiran en el VMC.

Durant l'esforç, si aquest és mantingut i d'intensitat constant, com en l'exercici físic continu, el VMC s'eleva notablement en els primers minuts i després s'estabilitza. La FC i el VS segueixen la mateixa evolució que el VMC, amb un creixement ràpid, seguit d'una fase d'estabilització, excepte si es produeix el fenomen anomenat "cardíoc-vascular drift" (Mattsson et al., 2010). En la fase de recuperació de l'esforç físic, el VMC, la FC i el VS retornen als valors previs a l'activitat, primer molt ràpid i després més lentament.

En les sessions d'entrenament aeròbic en intervals, el VMC, la FC i el VS augmentaran ràpidament a l'inici de cada interval d'esforç i s'estabilitzaran, a un nivell més o menys elevat, mentre duri la sèrie de treball. En l'estudi de Stepto et al. (2001) la FC arribava al seu màxim a partir del segon interval. Durant les pauses disminuirà, primer ràpidament i després més lentament. Com s'aprecia a la Figura 15, després de cada interval d'esforç la caiguda de la FC pot ser de 30-40 batecs per minut (bpm) (Stepto et al., 2001), però a mesura que es va acumulant la fatiga la corba de recuperació s'alenteix.

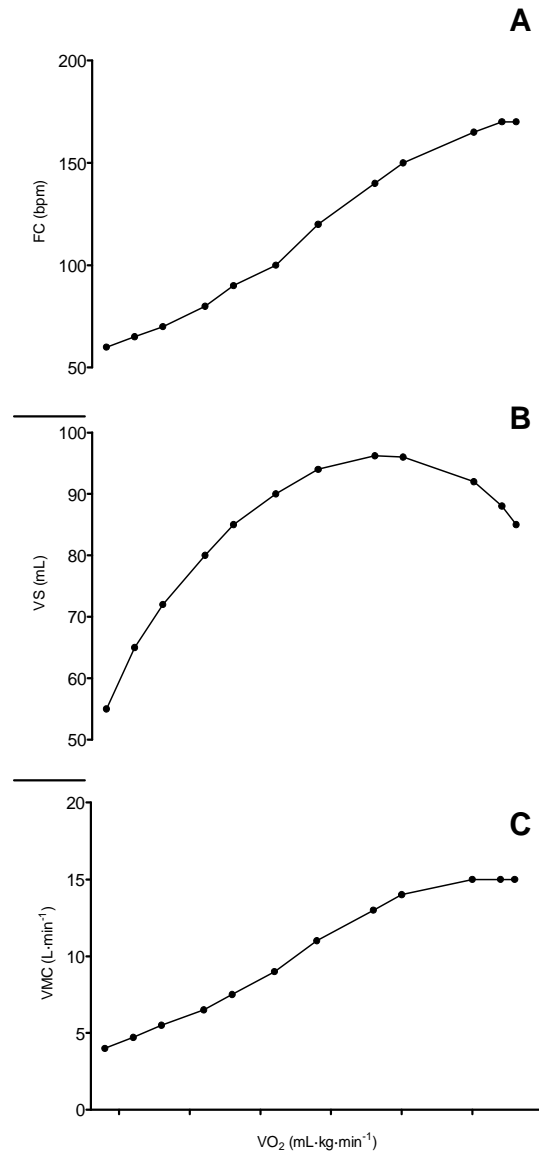


Figura 14. Evolució de la freqüència cardíaca, volum sistòlic i cabal cardíac en relació a la intensitat de l'esforç.

(A) FC: freqüència cardíaca; (B) VS: volum sistòlic; (C) VMC: volum minut cardíac o cabal cardíac.

S'ha observat que la durada dels intervals repercuteix en l'adaptació càrdio-vascular. Si els intervals són molt breus, el nivell de FC assolit en cada interval és inferior que si els intervals són de la mateixa intensitat (des del punt de vista mecànic) però més llargs (Taula 6). Astrand & Rodalh (2010) varen registrar els valors més elevats de FC en els intervals de 3 minuts en comparació als de 30 segons. La FC assolida en l'esforç en intervals de 3 minuts era similar a la FC en un esforç continu a la mateixa intensitat absoluta, però que es va poder mantenir menys temps (30 minuts efectius versus 9 minuts).

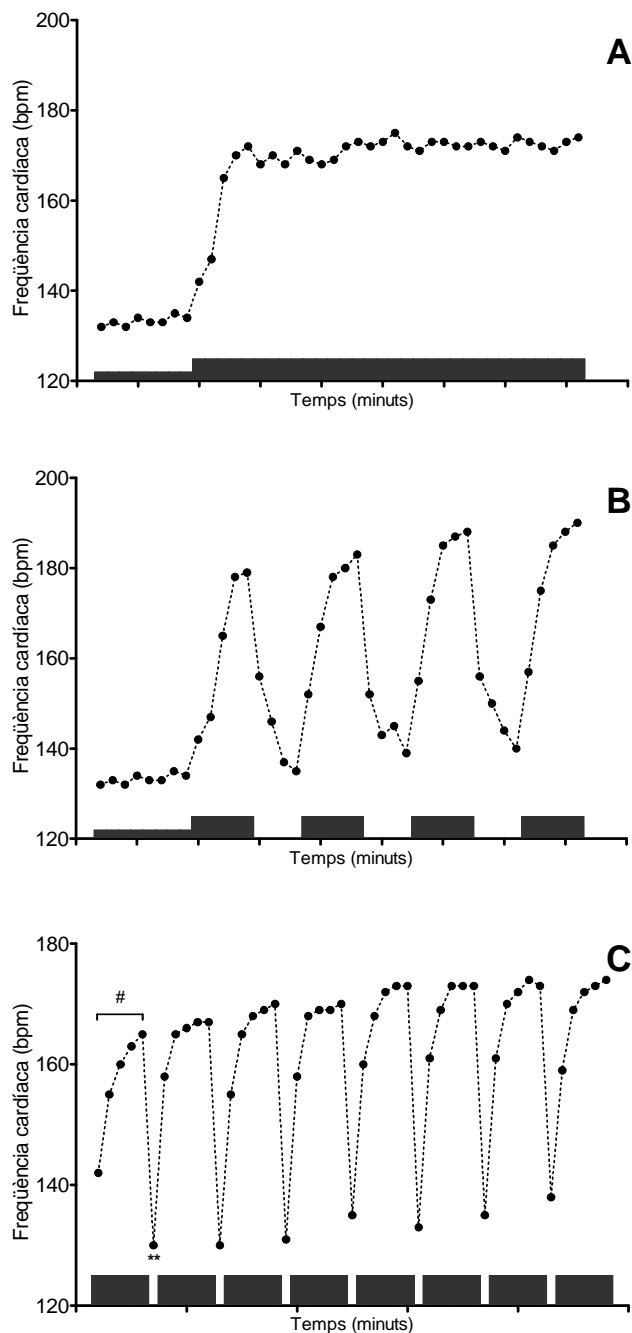


Figura 15. Evolució de la freqüència cardíaca durant diverses modalitats d'activitat física. (A): una sessió d'entrenament continu; (B): una sessió d'entrenament en intervals (8 minuts d'escalfament i 4 intervals de 4 minuts i pauses de 3 minuts); i (C) una sessió d'entrenament en intervals (8 intervals de 5 minuts i pauses de 1 minut). \*\* Significativament diferent de la resta de recuperacions ( $p < 0,05$ ); # Significativament diferent de la resta de períodes de treball ( $p < 0,05$ ). Les columnes en negre indiquen els períodes d'esforç. Adaptat de Stepto et al.(2001) i Astrand & Rodahl (2010).

Taula 6. Resposta fisiològica d'un subjecte al finalitzar 60 minuts d'esforç en cicloergòmetre, amb diferents modalitats d'entrenament de càrrega global similar (635 kJ).

Tipus esforç	Temps	VO <sub>2</sub> (L·min <sup>-1</sup> )	VE (L·min <sup>-1</sup> )	FC (bpm)	Lactacidèmia (mmol·L <sup>-1</sup> )
<b>Continu</b>					
175 watts	60'	2.44	49	134	1.3
350 watts*	9'	4.60	124	190	16.6
<b>Intervals</b>					
350 watts	60 x (30" <sup>+</sup> +30" <sup>+</sup> )	2.90	63	150	2.2
	30 x (1' + 1')	2.93	65	167	5.0
	15 x (2' + 2')	4.40	95	178	10.5
	10 x (3' + 3')	4.60	107	188	13.3

VO<sub>2</sub>: consum d'oxigen; VE: ventilació o volum minut respiratori; FC: freqüència cardíaca. Adaptat d'Astrand (1960) citat a Astrand & Rodahl, (2010).

En els esforços en intervals del tipus EAI es produiran períodes d'alta intensitat intercalats amb períodes de baixa intensitat; mentre que en el continu la intensitat serà constant i de moderada-baixa magnitud. Sobre el sistema càrdio-vascular, l'EAI imposa l'alternança de períodes d'acceleració i desacceleració cardíaca, i de l'estat de paràmetres com la precàrrega, la postcàrrega i la contractibilitat. Foster et al (1999) no troben canvis en la funció ventricular aguda entre l'esforç continu i l'esforç en intervals a la mateixa intensitat mitjana. En aquesta situació, encara que apreciaven les alternances entre esforç i pauses, les demandes hemodinàmiques globals eren molt similars en l'esforç continu i en intervals. Considerant els efectes a llarg termini de l'EAI sobre la funció cardíaca, especialment el volum sistòlic, en persones sanes (Helgerud et al., 2007) i en persones amb malaltia coronària (Helgerud et al., 2011; Wisloff et al., 2007), sembla que la intensitat de l'esforç pot ser un determinant important de la resposta d'adaptació cardíaca.

Per altra banda, l'exercici físic pot suposar un risc per al miocardi, ja que durant i després d'activitats físiques perllongades (Nie et al, 2011; Shave et al., 2007), mantingudes de 45 a 90 minuts (Serrano-Óstariz et al., 2011), o de curta durada (Shave, Ross, Low, George & Gaze, 2011) s'ha identificat l'augment en plasma de marcadors que suggereixen l'existència de dany cardíac. Malgrat tot, en l'actualitat no existeixen evidències que indiquin que les activitats en intervals tingui efectes perniciosos sobre el miocardi. Per exemple, Carranza-Garcia et al. (2011) assenyalen que, en persones físicament actives, durant la recuperació de partits de futbol sala es produeixen elevacions estadísticament significatives, però poc rellevants clínicament, dels nivells plasmàtics de diversos marcadors específics de dany al miocardi (cTNI, NT-ProBNP). George et al. (2004) indiquen que en la recuperació primerenca dels partits de rugbi, no es detecten modificacions significatives dels índex de funció sistòlica ventricular, ni evidències de dany als miòcits, ja que no troben cTnT en plasma. Tant sols, després d'un partit de basquet, Nie et al. (2008) varen registrar un creixement transitori de la cTnT en plasma en alguns dels participants. Tanmateix, els 3 estudis han analitzat esports col·lectius que es

caracteritzen per intervals d'esforç intens molt breus, intercalats amb períodes llargs de menor intensitat, i és possible que si els intervals fossin més duradors i de major intensitat també fos possible apreciar indicis de dany cardíac.

### 1.2.2.2 Flux sanguini

Durant l'activitat física es produeix un creixement del cabal cardíac, junt amb l'increment del retorn venós i de l'emplenament del ventricle esquerre. Aquesta situació hemodinàmica, diferent a la del repòs, s'aconsegueix pels ajustaments de la circulació perifèrica i el transvasament de part del volum vascular perifèric cap a les zones centrals. Concretament tenen lloc dos fets importants que afavoreixen el retorn venós; (a) per una banda la compressió externa de les venes pels músculs actius que evita l'estancament de la sang; i (b) per l'altra la vasoconstricció perifèrica dependent de l'acció del sistema nerviós simpàtic. Aquests canvis possibiliten que el sistema vascular pugui subministrar suficient sang a les zones centrals per a conservar un cabal cardíac elevat, i al mateix temps mantenir una perfusió adequada a les zones musculars actives i un flux sanguini, el mínim indispensable, a les zones no actives.

El flux sanguini de qualsevol òrgan depèn de la seva pressió de perfusió i de les resistències perifèriques al pas de la sang. Es regula per mitjà de mecanismes, generals i locals, que modifiquen l'activitat contràctil del múscul llis que envolta els vasos sanguinis (Figura 16).

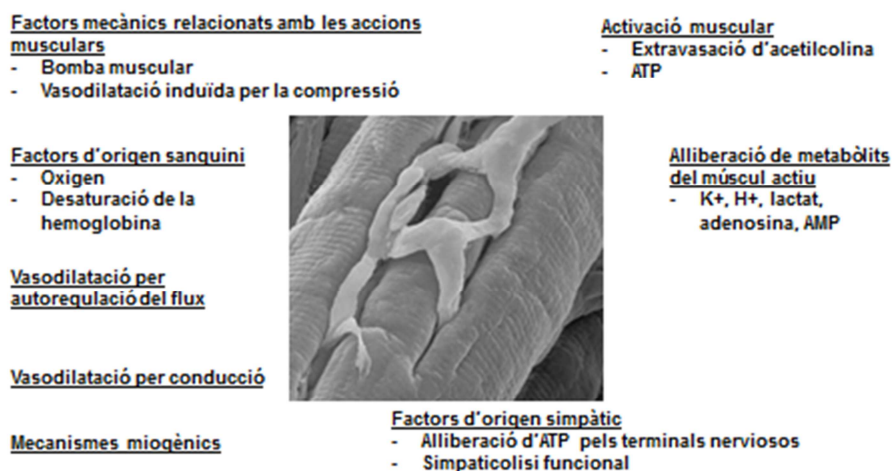


Figura 16. Representació esquemàtica d'una arteriola rodejada pels fascicles musculars i mecanismes que podrien estar implicats en la resposta vascular aguda a l'exercici físic. Adaptat de Laughlin & Roseguini (2008).

Durant l'esforç físic, l'activació dels terminals nerviosos del sistema nerviós simpàtic i l'alliberació de catecolamines produeix vasoconstricció de les arterioles i de les venes i un augment generalitzat de les resistències perifèriques a tot l'organisme.

Per altra banda, en les zones actives es desenvolupa un augment de flux sanguini, o hiperèmia funcional, atribuïda als mecanismes de control local. Els efectes vasodilatadors locals s'inicien



sobre les petites arterioles terminals i els esfínters precapil·lars de les àrees actives. A continuació, la vasodilatació es propaga contracorrent, principalment per fenòmens de comunicació cèl·lula-cèl·lula, des de les petites arterioles cap a les arterioles nutrícies (Laughlin & Roseguini, 2008). L'òxid nítric (NO•) desenvolupa un paper especial en la regulació del flux sanguini a les regions actives, ja que té la capacitat de difondre ràpidament per la paret vascular i relaxar el múscul llis adjacent (Laughlin, 1996).

En els òrgans, com vísceres abdominals, ronyons..., i músculs esquelètics no actius, no es produeixen els estímuls vasodilatadors locals, i per tant, prevaldrà l'efecte vasoconstrictor causat per l'acció del sistema nerviós simpàtic i les catecolamines circulants.

Durant l'exercici físic es manté un flux sanguini adequat cap als músculs esquelètics actius i el múscul cardíac per l'augment de (a) l'activitat cardíaca i el retorn venós; (b) la resistència vascular perifèrica a les vísceres, la pell i els músculs esquelètics no actius; i (c) la conductància vascular als músculs esquelètics actius i cardíac.

El resultat és que durant l'esforç, els músculs actius poden rebre fins al 85-90% del cabal cardíac (Figura 17), mentre que en repòs, en reben tant sols un 15-20% (Rowel, 1996). Per exemple, Calvet et al. (2004) varen mostrar que en un esforç d'intensitat moderada (75%VO<sub>2max</sub>), on participa tota la musculatura del cos, com l'esqui de fons, les extremitats inferiors reben un 60% del VMC i les superiors un 33% .

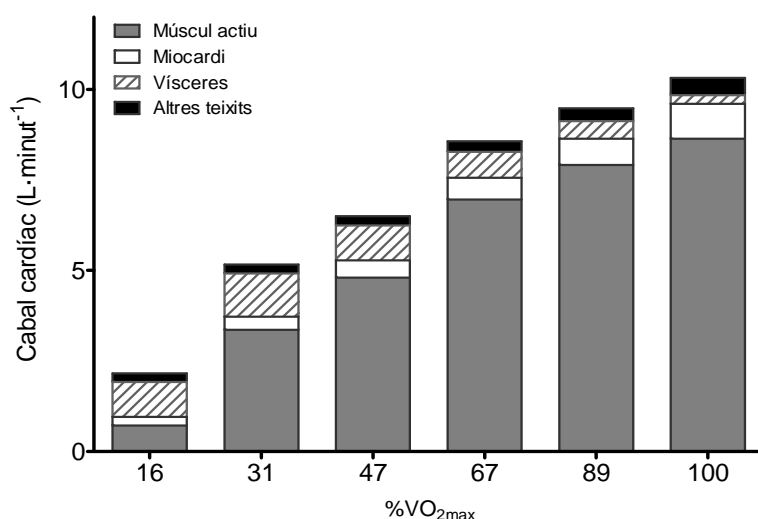


Figura 17. Contribució relativa del cabal cardíac a la perfusió de diferents òrgans en activitats físiques de diferent intensitat. Adaptat de Tipton (2003).

Malgrat que el flux sanguini als músculs actius augmenta amb la magnitud de l'esforç físic, el ritme de perfusió no és uniforme i es generen fenòmens d'isquèmia-reperfusió (Figura 18). Durant les accions musculars els vasos sanguinis són oprimits per les fibres musculars esquelètiques,

extravasculars, que els envolten, produint una reducció transitòria de la seva irrigació (isquèmia) que serà seguida per un augment del flux sanguini (reperfusió) durant la fase de relaxació muscular. La dificultat per irrigar el múscul esquelètic ja apareix en accions musculars, incloses les accions concèntriques, d'intensitat superior al 20% de la intensitat d'una contracció voluntària màxima, i empitjora amb nivells de força superiors. La magnitud de la hiperèmia posterior als períodes d'isquèmia depèn de la durada i força de cada contracció.

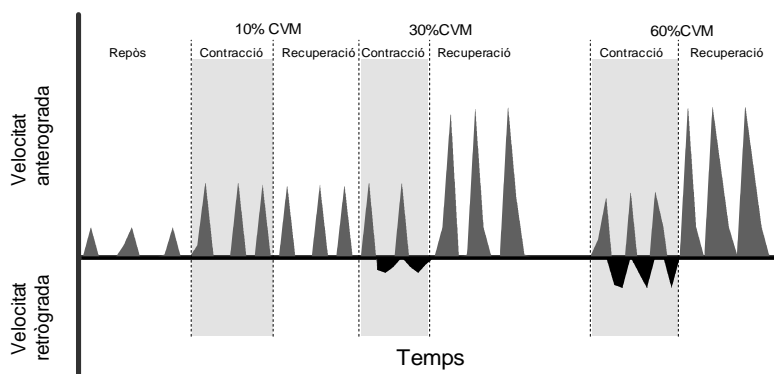


Figura 18. Direcció i velocitat del flux sanguini muscular en repòs i, durant i en la recuperació de l'esforç físic de diferents intensitats. CVM: contracció voluntària màxima. Adaptat de Robergs (1996).

En una sessió d'entrenament continu s'aniran alternant els fenòmens d'isquèmia-reperfusió durant tota la sessió. Aquests seran proporcionals a la intensitat i durada de les accions musculars. A la sessió d'entrenament en intervals, durant els períodes d'esforç també es produiran els fenòmens d'isquèmia-reperfusió, que en aquest cas, s'aniran alternant amb els períodes de descans, en els quals la sang podrà circular més lliurement.

El patró de reclutament muscular també afecta a la distribució del flux sanguini perquè per una mateixa intensitat, les condicions metabòliques que envolten els vasos de resistència, varia considerablement segons les àrees musculars (Laughin & Roseguini, 2008). El flux sanguini segueix una progressió similar a la del reclutament de les fibres musculars; i es proporcional a la capacitat oxidativa de les fibres. En l'EAI, on la intensitat de l'esforç és superior a un esforç continu de càrrega global similar, el patró de reclutament de les fibres serà diferent, i per tant la distribució del flux sanguini també tindrà característiques diferencials respecte a l'EC de moderada intensitat, tot i que el gest esportiu pugui ser molt semblant.

Els resultats obtinguts per Laughin & Roseguini (2008) indiquen que les adaptacions vasculars a llarg termini, que comprenen un augment de la densitat arteriolar i de la capillaritat, i una millora del control de la conductància vascular, depenen del patró de reclutament de les fibres musculars i de la intensitat i durada de l'exercici físic. Alguns investigadors han observat, que a llarg termini, l'EAI millora més la funció endotelial que si l'entrenament es basa en esforços

continus de la mateixa càrrega global en adults sedentaris que pateixen síndrome metabòlica (Tjonna et al. 2008) o cardiopatia isquèmica (Wisloff et al. 2007).

Tjonna, Rognmo, Bye, Stolen & Wisloff (2011) també assenyalen que, després d'una sessió d'entrenament en intervals es produeix una millora, del 6% de la funció endotelial que persisteix fins a les 72 hores. Aquesta millora és superior a la induïda per una sessió d'exercici físic continu de càrrega total equivalent. La millora de la funció endotelial s'associa amb nivells de NO• en sang superiors després de la sessió d'EAI. Rogno et al (2008) també detecten una millora de la funció endotelial i de la disponibilitat de NO• en la recuperació d'una sessió de carrera en intervals (5 x 5' al 90-95%FC<sub>max</sub>) en joves sedentaris. Aquesta resposta no es va produir en esportistes molt entrenats.

### 1.2.2.3 Pressió arterial

Durant l'esforç físic, en conjunt les resistències perifèriques disminueixen per la vasodilatació a nivell de les àrees actives, tot i així, la pressió arterial mitjana (PAm) es manté o augmenta lleugerament (Calvet et al., 2004), degut a la vasoconstricció en les zones no actives i al pronunciat increment del cabal cardíac. La pressió arterial sistòlica (PAs) s'eleva proporcionalment amb la intensitat de l'esforç i pot assolir valors superiors als 180 mmHg. Per la seva banda, la pressió arterial diastòlica (PAd) varia poc, i fins hi tot pot disminuir lleugerament (-10 mmHg); excepte en activitats en les que es mobilitza poca massa muscular i no es redueixen les resistències perifèriques, o en les que es realitzen accions musculars isomètriques que oprimeixen els vasos sanguinis i dificulten el pas de la sang.

Un dels "enigmes" de les adaptacions a l'esforç és l'alteració del reflex baropressor "normal". A l'inici de l'esforç, sembla que es produeix un reajustament del rang operatiu dels baroreceptors cap un nivell de pressió arterial (PA) més elevat (Raven, Fadel, & Ogoh, 2006)). Aquest fet possibilita el manteniment d'una pressió arterial suficientment elevada per a preservar la irrigació muscular, i al mateix temps demora el desencadenament del reflex baropressor observat en repòs. Posteriorment, durant l'esforç, els mecanismes de retroalimentació negativa s'encarregaran del modular la pressió arterial, segons les aferències metabòliques i mecàniques musculars, càrdio-pulmonars i dels baroreceptors carotidis i aòrtics (Figura 19).

Durant la fase de recuperació, les pressions arterials sistòlica i diastòlica poden disminuir bruscament, perquè en les àrees que han estat actives la vasodilatació persisteix, i en canvi el cabal cardíac es redueix ràpidament, amb el consegüent risc d'aparició de lipotímies post-esforç. També s'ha descrit que a resultes de l'exercici físic, la PAs pot mantenir-se per sota dels valors previs durant varies hores després de l'esforç.

En exercicis en intervals, la pressió arterial anirà fluctuant, augmentant durant els períodes d'esforç i disminuint durant les pauses. Es de preveure que les aferències sensibles càrdio-pulmonars i, especialment, les d'origen mecànic i metabòlic, procedents dels músculs actius, siguin diferents segons la intensitat de les accions musculars. Jones, Taylor, Lewis, George &

Atkinson (2009) observen que en els 20 primers minuts de la recuperació d'un esforç físic intermitent amb pauses llargues (10'), la PAm, la PAs i la PAd es mantenen més baixes que després de l'esforç continu (30') a la mateixa intensitat absoluta (70%VO<sub>2pic</sub>). Aquest efecte és més pronunciat si l'esforç es realitza al matí. Tot i que no es coneixen els mecanismes que expliquen aquesta diferència, els investigadors opinen que podria reflectir una estimulació parasimpàtica més elevada.

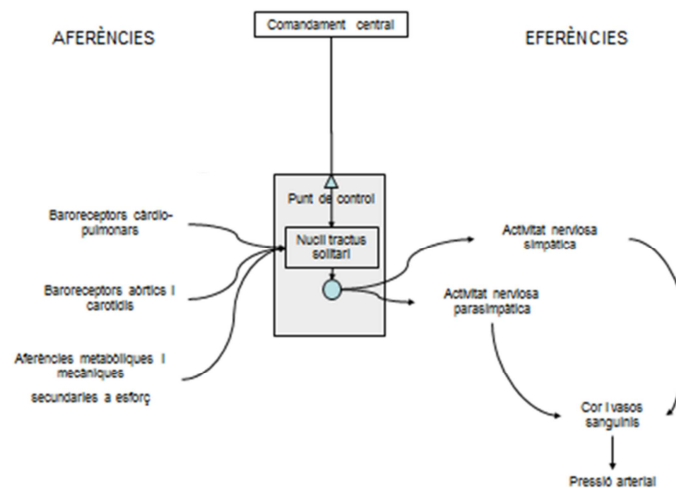


Figura 19. Esquema dels mecanismes de control de la pressió arterial durant l'exercici. Adaptat de Rowel, O'Leary, & Kellogg, (1996) i Raven, Fadel, & Ogoh (2006).

#### 1.2.2.4 Volèmia

Un dels efectes aguts de l'exercici físic sobre la sang és la pèrdua de fluid del compartiment vascular. L'extravasació de fluid, que es veu afavorida per la pressió arterial augmentada, l'increment de ventilació i, especialment, pel major ritme de sudoració, provoca una reducció del volum plasmàtic i de la volèmia.

La pèrdua de fluid plasmàtic comporta una major concentració dels metabòlits plasmàtics i del hematòcrit. Aquesta hemoconcentració es agreujada per la mobilització de leucòcits, especialment neutròfils, adossats a la paret vascular, i/o alliberats per la vasoconstricció de la melsa. El paper de la melsa en la hemoconcentració genera controvèrsia. De fet, no sembla que l'entrada al torrent sanguini d'eritròcits procedents de la melsa tingui un rol rellevant en l'hemoconcentració post-esforç (Stewart & McKenzie, 2002), tot i que alguns investigadors (Laub, Hvid-Jacobsen & Hovind, 1993) han suggerit que la contracció de la melsa podria explicar el 25% de l'augment de l'hematòcrit.

Per altra banda, la pèrdua de fluid del plasma també s'associa a una reducció de la volèmia que pot repercutir en el retorn venós i, de retruc en el volum sistòlic i la capacitat de mantenir el cabal cardíac al nivell adequat.

En sessions d'entrenament en intervals on participaven ciclistes entrenats també s'ha descrit una disminució del volum plasmàtic (Stepto et al., 2001). No obstant, la reducció del volum plasmàtic, va ser més important entre el repòs i el final de l'escalfament de 8 minuts (-9,8% (DE: 2,8)) que entre els diversos períodes d'esforç de la fase principal de la sessió d'entrenament. En aquesta fase, Stepto et al (2001) varen registrar una caiguda suplementària del volum plasmàtic de tant sols un 2%. La presència de les pauses pot afavorir la regulació de la temperatura corporal i la rehidratació durant l'esforç.

#### 1.2.2.5 Ventilació pulmonar

Durant l'activitat física el creixement del ritme metabòlic en el teixit muscular actiu suposa, com en altres òrgans, un repte al sistema pulmonar, que haurà d'augmentar el seu nivell de funcionament amb la finalitat de (a) transferir O<sub>2</sub> de l'aire atmosfèric a la sang per afavorir l'aportació d'O<sub>2</sub> als músculs actius; (b) eliminar l'excés de CO<sub>2</sub> de la sang a l'aire atmosfèric; i (c) participar en el control àcid-base.

L'augment de la ventilació es produeix elevant el ritme (freqüència respiratòria) i la profunditat de la ventilació (volum corrent) a expenses dels volums de reserva inspiratòria i del de reserva espiratòria. Malgrat que la quantitat d'aire mobilitzada augmenta, la resistència al pas de l'aire es manté bastant constant durant l'esforç. Aquest fet es degut a la reducció de l'activitat colinèrgica i a l'activació simpàtica, que afavoreixen l'ampliació de les vies aèries i faciliten el pas de l'aire.

En l'exercici físic la ventilació, o volum minut respiratori (VMR) s'eleva seguint un patró curvilini en relació a la intensitat. A partir d'intensitats pròximes al 75% del VO<sub>2max</sub> la relació entre el creixement de la intensitat de l'esforç i l'augment de la ventilació passa a ser de tipus exponencial (llindar ventilatori). La intensitat d'esforç en la que es produeix aquest canvi va ser descrit com el "punt de compensació respiratòria" per Wasserman (2002).

L'exercici físic constant i de baixa-moderada intensitat es caracteritza per l'estabilitat de la pressió parcial de CO<sub>2</sub> (PaCO<sub>2</sub>) en sang arterial. La pressió parcial d'O<sub>2</sub> (PaO<sub>2</sub>) i la concentració d'hidrogenions de la sang arterial també es mantenen relativament constants (Babb, Wood, & Mitchell, 2010).

Per contra, en l'esforç mantingut i d'alta intensitat, superior a la del segon llindar ventilatori, no s'aprecia la fase d'estabilització i la ventilació continua augmentant mentre dura l'activitat.

En la recuperació de l'esforç es produeix un descens de la ventilació, amb una primera fase ràpida, seguida d'un alentiment del ritme de retorn cap als valors de repòs. Com més intens hagi estat l'exercici físic més es trigarà a recuperar els valors de inicials.

L'augment de la ventilació depèn de la intensitat, però també de la durada i la modalitat de l'exercici. En l'estudi clàssic realitzat per Astrand al 1960 (Astrand & Rodahl, 2010), per una mateixa intensitat, la ventilació va augmentar fins a 107 L·min<sup>-1</sup> quan els intervals eren de 3 minuts, mentre que no va superar els 70 L·min<sup>-1</sup>, si aquests eren de menor durada (≤1'). En l'activitat contínua, la ventilació va assolir els 124 L·min<sup>-1</sup>, tot i que el VO<sub>2</sub> i la FC eren similars a

l'esforç en intervals de 3 minuts. Per la seva banda, Stepto et al. (2001) varen observar un augment més important de la ventilació entre els primers estadis que en els darrers. La ventilació va ser de  $98 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  al finalitzar el primer estadi, de  $106 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  en el 3er i de  $112 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$  en el 5è. En el 8è i darrer estadi la ventilació ja no va augmentar més.

La finalitat de la funció pulmonar és l'intercanvi de gasos entre la sang i l'aire alveolar. Durant l'exercici físic augmenta la ventilació i la perfusió dels pulmons, millorant la relació VMR/VMC i per tant les possibilitats d'intercanvi de gasos.

En general, i en absència de patologia, no es considera que la ventilació pulmonar siguin un factor limitant de l'esforç, ja que habitualment, no sembla que hi hagi dificultats per l'intercanvi de gasos. La  $\text{PaO}_2$  i la concentració d' $\text{O}_2$  en sang arterial ( $\text{CaO}_2$ ) es mantenen estables durant l'exercici físic, així com la  $\text{PaCO}_2$  i la concentració d'hidrogenions en sang. En la resposta aguda a esforços en intervals d'alta intensitat ( $95\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ), Zavorsky, Saul, Murias, & Ruiz (2006) detecten la presència d'un lleuger edema pulmonar que no interfereix en l'intercanvi de gasos i no altera la  $\text{CaO}_2$ . La hipoxèmia induïda per l'esforç (HIE) s'ha observat en esportistes molt entrenats, i en proves en les que assoleixen nivells de rendiment molt alts. Per això, si la intensitat de les sèries no és molt elevada, és poc probable que aparegui HIE. Per altra banda, en malalts respiratoris crònics, les sessions d'entrenament en intervals són ben tolerades, i en base a les dades obtingudes en un meta-anàlisi, Beauchamp et al. (2010) conclouen que l'EAI es pot considerar com una alternativa a altres tipus d'exercici per aquests pacients.

### **1.2.3 Adaptacions neuro-endocrines**

Com s'ha comentat en els apartats anteriors, l'exercici causa canvis importants en les funcions del sistema muscular, cardíocirculatori i pulmonar... Tot i això, aquests processos no es podrien dur a terme de forma eficient sense la participació combinada dels sistemes de control i coordinació, com per exemple, els sistemes nerviosos i endocrí.

#### **1.2.3.1 Sistema nerviosos autònom o vegetatiu**

El sistema nerviosos autònom o vegetatiu (SNA), participa en la regulació i coordinació de múltiples funcions sistèmiques per tal d'assegurar l'homeòstasi corporal. Durant l'esforç, participarà en la regulació de les adaptacions sistèmiques

La reacció del sistema nerviosos vegetatiu a l'exercici físic es caracteritza per una reducció inicial ràpida i immediata de l'activitat vagal, seguida per una activació simpàtica una mica més tardana. L'activitat simpàtica comença a elevar-se quan la inhibició vagal és quasi completa. Per tal de trobar un grau d'activació simpàtica rellevant, és necessari assolir una intensitat d'esforç mínima (equivalent a 100 bpm o al 40%  $\text{VO}_{2\text{max}}$ ) i que participi suficient massa muscular (Rowel, O'Leary & Kellog, 1996).

La disminució de la influència vagal s'ha associat amb l'increment inicial i ràpid de la freqüència cardíaca i amb l'eixamplament de les vies aèries que facilita el treball de la ventilació.

Per la seva banda, l'activació simpàtica participa en la distribució del VMC i la mobilització de la sang estancada en els vasos de capacitat; i en el control de la PA. Així, en les situacions d'exercici físic en les que l'augment de VMC posi en risc el manteniment de la pressió venosa central (PVC), el sistema nerviós simpàtic serà responsable de limitar la conductància vascular a les zones actives e impedir que la vasodilatació de les zones musculars actives pugui superar la capacitat de bombeig del cor (Rowel, 2004).

A més, de la regulació de la distribució del flux sanguini, l'activació simpàtica també participará en (a) l'augment de la contractilitat, (b) l'estimulació de les vies energètiques i la mobilització de les reserves de glicogen hepàtic i de lípids del teixit adipós, (c) la termoregulació, i (d) la modulació del sistema immune.

En contraposició, durant la recuperació de l'esforç, el to simpàtic disminueix i augmenta el grau d'activació del sistema nerviós parasimpàtic per a fer front a les funcions de restauració del cos.

El grau i la magnitud de l'activació simpàtica durant l'esforç dependran dels senyals sensorials procedents dels receptors perifèrics; com per exemple els receptors tipus III i IV dels músculs esquelètics, o dels baroreceptors aòrtics i carotidis. Es possible doncs, que en l'EAI el grau d'activació simpàtica sigui més elevat que en EC moderat degut a la major intensitat dels períodes d'esforç en el primer.

#### 1.2.3.2 Control endocrí

Com el sistema nerviós vegetatiu, el sistema endocrí coordina la funció de diferents òrgans i sistemes per tal d'adequar la seva funció a les necessitats de cada moment. Pel que fa a les adaptacions endocrines a l'exercici físic, el camp és molt ampli, i són molts els equips investigadors que l'han estudiat extensament (Galbo, 1983; Riddell, Ruderman, Tsiani, & Vranic, 2003; Viru & Viru, 2001; Kraemer & Rogol, 2006).

Els àmbits d'interès també són diversos i comprenen aspectes relacionats amb (a) el metabolisme energètic cel·lular i la mobilització de les fonts d'energia, (b) les adaptacions sistèmiques (càrdio-vascular, respiratori, muscular) a l'esforç, (c) l'equilibri hidro-electrolític i la termoregulació, (d) la síntesi de proteïnes i (e) altres respostes, com els canvis de les hormones gonadals o dels opiacis endògens.

La resposta endocrina a l'esforç físic és el resultat de la influència combinada de factors determinants i de factors moduladors. I també, com en tants altres àmbits, l'estudi de la resposta endocrina a l'esforç, especialment en els humans, té les seves limitacions (Figura 20), i ha avançat amb el desenvolupament tecnològic (Ridell et al., 2003).

Degut que l'objectiu de la present tesis es concentra particularment en aspectes relacionats amb la resposta de fase aguda, aquest apartat es centrará exclusivament en la resposta endocrina aguda que intervé en la mobilització i utilització de les fonts d'energia durant l'exercici físic. Per una revisió exhaustiva de la resposta hormonal a l'esforç es poden consultar les fonts citades abans.

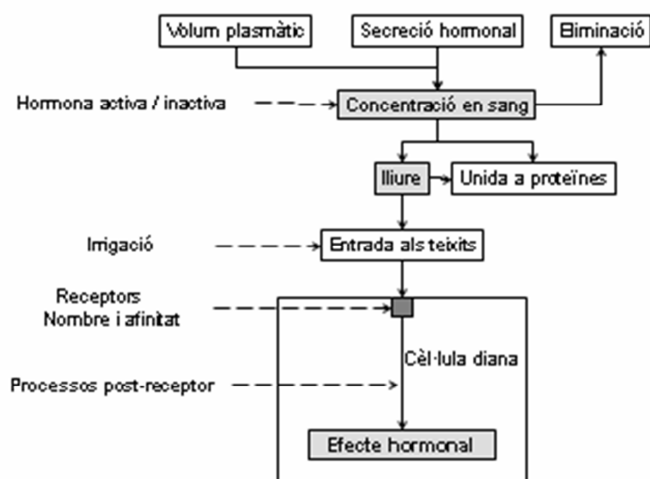


Figura 20. Esquema d'alguns factors que poden repercutir en l'activitat funcional d'una hormona i que limiten la interpretació de les variacions de les concentracions plasmàtiques.

Un dels aspectes més importants de les adaptacions agudes a l'exercici és la necessitat d'activar ràpidament les vies metabòliques per a subministrar ATP a les miofibril·les. Ja que les reserves de substrats energètics de la pròpia fibra muscular no són prou elevades, caldrà mobilitzar-los de les reserves extra-musculars i proporcionar-ne a la fibra muscular activa en quantitat suficient; mentre que al mateix temps es manté una aportació mínima a les resta de cèl·lules, especialment les neurones. Per tal de contrarestar les demandes energètiques muscular, s'estimularà (a) la glicogenòlisi muscular; (b) la producció hepàtica de glucosa, la lipòlisi muscular, i (c) l'alliberació d'àcids grassos del teixit adipós.

Els canvis endocrins són un dels pilars del control de la resposta metabòlica a l'esforç. Les hormones alliberades per la glàndula suprarenal (catecolamines i cortisol), tenen un paper destacat en aquesta regulació, però també les hormones pancreàtiques (insulina i glucagó), o l'hormona del creixement (GH) participaran en el control del metabolisme durant l'activitat física d'una durada aproximada de 60 minuts (Viru & Viru, 2001).

En la regulació endocrina durant l'exercici poden estar involucrats senyals d'anticipació originats al sistema nerviós central; i senyals que actuen per retroalimentació negativa, com petits canvis de glicèmia, estímuls mecànics o químics procedents dels músculs actius o del fetge (Wasserman & Cherrington, 1996).

La resposta hormonal varia amb intensitat i la durada de l'esforç, però habitualment es caracteritza per una disminució de les concentracions d'insulina, i el manteniment o l'augment de les concentracions de glucagó, catecolamines, cortisol, i hormona del creixement.



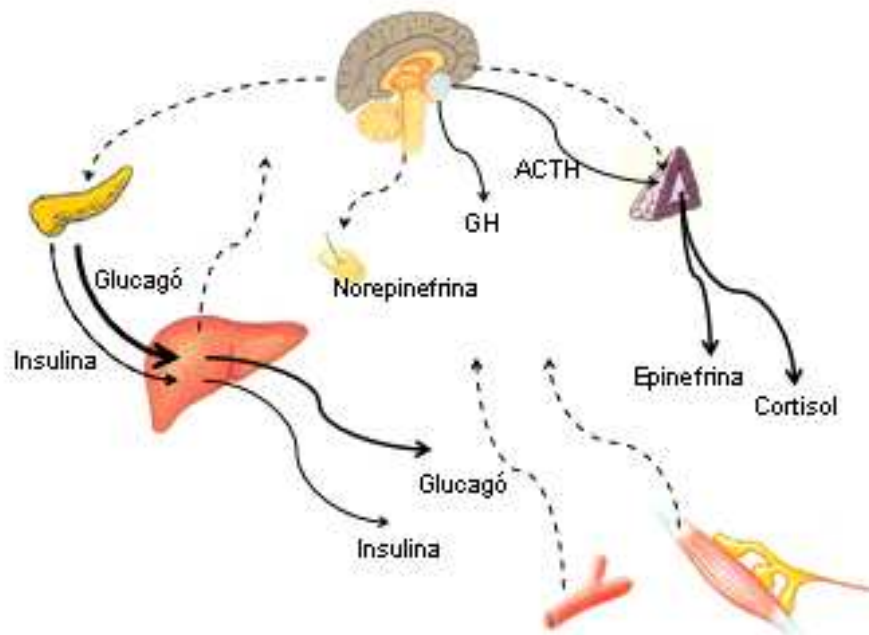


Figura 21. Representació esquemàtica dels mecanismes de control de la secreció endocrina en la regulació del metabolisme durant resposta aguda a l'exercici. La línia contínua indica la secreció hormonal. La línia discontinüa indica els senyals per a la regulació de resposta anticipada o de retroalimentació. GH: hormona del creixement; ACTH: corticotropina

En les activitats físiques de baixa intensitat ( $<50\%VO_{2max}$ ) les concentracions plasmàtiques d'aquestes hormones es modifiquen molt poc respecte als valors de repòs, però a mesura que augmenta la intensitat de l'esforç els canvis es fan més evidents. S'ha descrit l'existència d'una intensitat d'esforç, o llindar, específica per a cada hormona, i a partir de la qual els nivells plasmàtics augmenten notablement (Virus & Virus, 2001).

Per altra banda, per a una mateixa intensitat, les concentracions plasmàtiques hormonals solen elevar-se amb la durada de l'esforç. Però si l'esforç és molt perllongat es pot produir un esgotament de la resposta endocrina i un descens dels seus nivells plasmàtics.

A banda de la intensitat i la durada, el grau d'activació de la resposta endocrina també és modelada pel tipus d'accions musculars, la capacitat individual d'adaptació, les condicions ambientals adverses i diversos aspectes nutricionals, particularment la disponibilitat de glucosa en sang.

### 1) Catecolamines

Les catecolamines (norepinefrina i epinefrina) són segregades a la sang per les terminacions nervioses simpàtiques (proporció 9:1) o per la medulla suprarenal (en una proporció 1:4). Durant exercici, l'increment dels nivells plasmàtics de norepinefrina depèn sobretot de l'activació de les terminacions nervioses simpàtiques (principalment del cor) i de la medulla suprarenal;

mentre que l'augment dels nivells plasmàtics d'epinefrina en sang reflecteix la secreció d'epinefrina per la medul·la suprarenal.

En relació al metabolisme energètic, les catecolamines tenen efectes estimulants sobre la lipòlisi i la glicogenòlisi en els teixits hepàtic, adipós i muscular. La resposta de la norepinefrina és més ràpida que la de l'epinefrina. La norepinefrina, alliberada pels terminals nerviosos hepàtics, podria ser el principal estímul responsable de l'increment de la glicogenòlisi hepàtica al iniciar l'exercici físic (Zorzano & Gumá, 1991). L'epinefrina podria representar un mecanisme de seguretat més tardà, encara que no essencial, per a la producció hepàtica de glucosa amb la finalitat de mantenir la glicèmia dins els límits de la normalitat (Riddell et al., 2003).

En esforços de baixa intensitat ( $<50\%VO_{2max}$ ) les concentracions plasmàtiques de catecolamines, es modifiquen molt poc respecte als valors de repòs. A mesura que augmenta la intensitat de l'esforç els canvis es fan més evidents. A partir d'una intensitat del  $50\%VO_{2max}$ , la norepinefrina plasmàtica comença a augmentar; mentre que per l'epinefrina els increments no seran destacables fins que s'assoleixi una intensitat pròxima al  $75\%VO_{2max}$  (Viru & Viru, 2001). La norepinefrina i epinefrina augmenten molt en l'exercici màxim i supramàxim ( $>100\%VO_{2max}$ ) de curta durada (Viru & Viru, 2001; Wasserman & Cherrington, 1996). Així, Nieman, Henson, Johnson, Lebeck, & Davis (1992) i Gabriel, Schwarz, & Steffens (1992) obtenen increments pròxims al 450% per la norepinefrina i del 420% i 2000% per a l'epinefrina després d'esforços supramàxims de 30" i 60" respectivament.

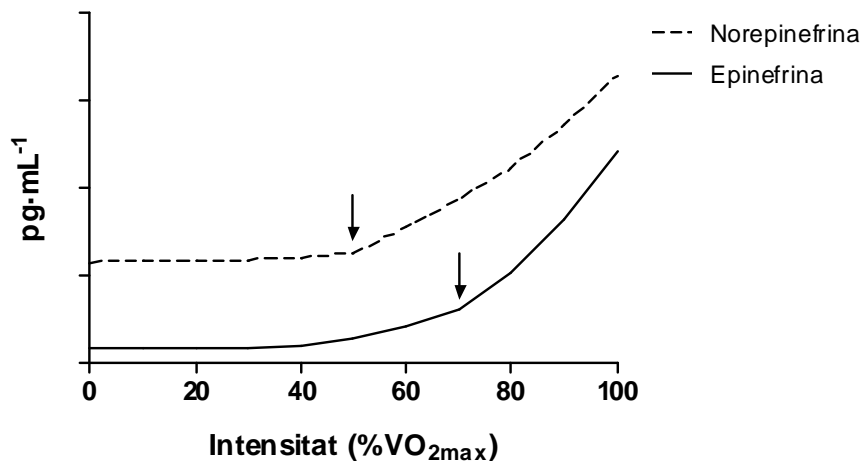


Figura 22. Evolució de les concentracions plasmàtiques de norepinefrina i epinefrina en relació a la intensitat de l'esforç físic.

Les fletxes indiquen el llindar d'intensitat mínim per a cada hormona. (Adaptat de Viru & Viru, 2001)

Com s'aprecia a la Taula 7 en resposta a un exercici físic en intervals les concentracions de norepinefrina solen augmentar. Els increments més importants respecte als nivells basals es registren en els intervals de durada mitjana i alta intensitat, i amb un temps efectiu d'esforç aproximadament de 40 minuts.

Taula 7. Canvis de les concentracions plasmàtiques de catecolamines en la recuperació de diverses activitats físiques.

Ref.	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat Series x Durada Intensitat Pauses	Paràmetre	Pre	Post (% Δ vs Pre)	60'-90'R (% Δ vs Pre)
Gray (1993)	8H 31,5 (4,5) E	Tapis 15 x 1' 100% VO <sub>2max</sub> 1'	Ep	410 pmol·L <sup>-1</sup>	+22	-17
			NE	460 pmol·L <sup>-1</sup>	+109*	-26
Lehman (2010)	13H 32,6 (6,1) E	Tapis 60' 93%IAT / 75%VO <sub>2max</sub> 0'	Ep	0,31 nmol·L <sup>-1</sup>	+32	-
			NE	1,88 nmol·L <sup>-1</sup>	+128*	-
Mitchell (1990)	8H 21,5 (0,7) E	Cicloergòmetre 8 x 12' 70-100%VO <sub>2max</sub> 3'	Ep	No indica	-	-
			NE	2 pg·mL <sup>-1</sup>	+1045	-
Nieman (2007a)	12H 21,0 (1,0) E	Cicloergòmetre 120' 74% VO <sub>2max</sub> 0'	Ep	732 pmol·L <sup>-1</sup>	+138*	+5
Nieman (2007a)	12H 21,0 (1,0) E	Cicloergòmetre 12 x 10' 74% VO <sub>2max</sub> 3'	Ep	698 pmol·L <sup>-1</sup>	+197*	+56
Niess (2003a)	12 H 26,6 (22,3-30,9) E	Carrera 10 x 1000m (≈ 4') 112% vIAT 2'	Ep	0,2 nmol·L <sup>-1</sup>	+900*	+150*
			NE	2 nmol·L <sup>-1</sup>	+525*	+50*

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; IAT: llindar anaeròbic individual; vIAT: velocitat corresponent al IAT; Ep: epinefrina; NE: norepinefrina; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç; R: recuperació. \* indica que la variació significativament diferent respecte Pre.

L'evolució de les concentracions d'epinefrina en resposta a un esforç en intervals és més heterogènia. Alguns investigadors no registren canvis, mentre que d'altres aprecien grans increments. Els augments més destacats respecte als nivells basals també es registren en els intervals de durada mitjana i alta intensitat, i amb un temps efectiu d'esforç aproximadament de 40 minuts.

En resposta a una activitat física en intervals de durada efectiva de 120' de durada Nieman et al. (2007a) observen un creixement de les concentracions plasmàtiques d'epinefrina que es manté almenys fins els 90 minuts de recuperació. Contràriament al que els autors s'esperaven, els canvis apreciats a la sessió en intervals eren similars als registrats en una sessió de la mateixa intensitat i durada però contínua.

## 2) Cortisol

Durant l'exercici físic, l'activació de la secreció de cortisol pot ser causada per l'estimulació de l'eix hipotàlem-hipofisiari-suprarenal, o directament per l'acció de l'epinefrina o el sistema nerviós simpàtic sobre la glàndula suprarenal. El cortisol és poc soluble i es transporta per la sang fonamentalment (90%) unit a la transcortina (CBG). Com que la capacitat de les proteïnes transportadores és limitada, quan el cortisol augmenta, com durant l'activitat física, la porció que s'incrementa més és la fracció lliure.

Taula 8. Canvis de les concentracions plasmàtiques de cortisol en la recuperació de diversos exercicis físics.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat Sèrie Intensitat Pauses	Pre	Post (% Δ vs Pre)	60'-90'R (% Δ vs Pre)
Gray (1993)	8H 31,5 (4,5) E	Tapis 15 x 1' 100% VO <sub>2max</sub> 1'	196 pmol·L <sup>-1</sup>	+43*	+34*
Mitchell (1990)	8H 21,5 (0,7) E	Cicloergòmetre 8 x 12' 70-100%VO <sub>2max</sub> 3'	150 μg·dL <sup>-1</sup>	+13	-
Nieman (2007a)	12H 21,0 (1,0) E	Cicloergòmetre 120' 74% VO <sub>2max</sub> 0'	303 pmol·L <sup>-1</sup>	+60*	+43*
Nieman (2007a)	12H 21,0 (1,0) E	Cicloergòmetre 12 x 10' 74% VO <sub>2max</sub> 3'	310 pmol·L <sup>-1</sup>	+62*	+45*
Nieman (2000)	10H+10D 14-18 anys E	Tenis 120' 81% FC <sub>max</sub> Variable	776 nmol·L <sup>-1</sup>	-42*	-47*
Niess (2003)	12 H 26,6 (22,3-30,9) E	Carrera 10 x 1000m 112% vIAT 2'	670 nmol·L <sup>-1</sup>	+4	+3
Thompson (2003)	16H 24,3 (1,7) LI	Carrera 90' Variable No indica	299 nmol·L <sup>-1</sup>	+136*	+103

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard o rang) AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; IAT: llindar anaeròbic individual; vIAT: velocitat corresponent al IAT; FC<sub>max</sub>: freqüència cardíaca màxima; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç; R: recuperació. \* indica que la variació significativament diferent respecte Pre.

Tot i ser una hormona esteroide, alguns efectes metabòlics dels cortisol apareixen en pocs minuts i són processos que fan intervenir l'AMPc i el Ca<sup>++</sup> com a mediadors (Viru & Viru, 2001). En relació al metabolisme energètic, el cortisol activa la producció hepàtica de glucosa i la

lipòlisi als teixits adipós i muscular. Pot exercir la seva activitat directament o per l'amplificació de l'acció d'altres hormones, com l'epinefrina, el glucagó, o la GH.

Els nivells plasmàtics de cortisol no es modifiquen en esforços d'intensitat moderada (60%  $VO_{2max}$ ) que durin menys de 10 minuts, però si la intensitat de l'esforç és molt elevada (90%  $VO_{2max}$ ), amb tant sols 10 minuts d'exercici ja se'n poden apreciar increments. El cortisol plasmàtic també augmenta en funció de la durada, així, després de 3 hores d'esforç intens, la concentració de cortisol pot multiplicar-se per 3 o 4.

En resposta a l'esforç en intervals, els nivells de cortisol plasmàtic també s'elevan si la durada és llarga i/o la intensitat és suficientment elevada (Taula 8). En alguns estudis és possible que l'esforç hagi estat massa curt i/o poc intens, i els canvis observats no arriben a ser estadísticament significatius (Niess et al., 2003a), o es produeix una disminució (Nieman, Kernodle, Henson & Sonnenfeld, 2000). Com per l'epinefrina, Nieman et al. (2007a) no aprecien diferències en l'evolució del cortisol plasmàtic entre dues activitats de la mateixa intensitat i durada efectiva, però de diferent distribució de l'esforç; contínua versus en intervals.

### 3) Insulina

En els humans, l'exercici físic inhibeix la secreció d'insulina per les cèl·lules  $\beta$  del illots del Langerhans, segurament per l'activació dels receptors  $\alpha$ -adrenèrgics del pàncrees i per la tendència al descens de la glicèmia durant l'esforç.

La disminució és proporcional a la durada del mateix, fins i tot en esforços de molt baixa intensitat. La insulina també disminueix proporcionalment amb la intensitat de l'esforç, especialment si aquest és d'intensitat baixa-moderada, entre el 47%  $VO_{2max}$  i el 77%  $VO_{2max}$  (Galbo, 1983).

La disminució de la insulina en plasma, juntament amb l'augment del flux sanguini i les modificacions dels transportadors de glucosa dels músculs actius, possibiliten que la glucosa disponible a la sang sigui utilitzada de preferència en les zones actives. Aquesta disminució també exerceix un paper permissiu sobre la producció hepàtica de glucosa, la glicogenòlisi, la lipòlisi i la proteòlisi.

Després d'un l'esforç físic en intervals (Taula 9), s'han descrit reduccions de fins el 30% de la concentració d'insulina en plasma (Morton et al., 2009), o no s'han observat canvis significatius (De Sousa, Simoes, Oshiiwa, Rogero, & Tirapegui, 2007; Mitchell et al., 1990). Per contra, en algunes ocasions si l'esforç dels intervals és molt intens s'han descrit lleugers increments de les concentracions plasmàtiques d'insulina (Kraemer et al., 2002; Ghandari-Niaki, Kraemer & Soltani, 2010).

Taula 9. Evolució de la insulina en plasma en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat Durada Intensitat Pauses	Pre	Post (% Δ vs Pre)	60'-90'R (% Δ vs Pre)
De Sousa (2007)	15H 26 (5) E	Carrera 12 x 800m $V_{max}$ als 3km 1'30"	60 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	-17 NS	-
Ghandari- Niaki (2010)	7H 20,2 (2,9) E	Carrera 7 x (5x 35m) Màxim 1'	7 $\text{mU}\cdot\text{L}^{-1}$	+71*	-
Kraemer (2002)	7H E	Cicloergòmetre 4 x no indc 60-75-90-100% $\text{VO}_{2max}$	4.76 $\mu\text{UI}\cdot\text{mL}^{-1}$	+202*	-
Mitchell (1990)	8H 21,5 (0,7) E	Cicloergòmetre 8 x 12' 70-100% $\text{VO}_{2max}$ 3'	10 $\mu\text{UI}\cdot\text{mL}^{-1}$	-40	-
Morton (2009)	9H 20 (1) LI	Carrera 5 x 3' 90% $\text{VO}_{2max}$ 3'	12.6 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	-30*	-

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen;  $\text{VO}_{2max}$ : consum d'oxigen màxim;  $V_{max}$ : velocitat màxima; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç; R: recuperació. \* indica que la variació significativament diferent respecte Pre.

#### 4) Glucagó

Al contrari del que habitualment s'observa amb la insulina, les concentracions plasmàtiques de glucagó augmenten amb la intensitat i la durada de l'esforç. La regulació de la secreció de glucagó per les cèl·lules  $\alpha$  del pàncrees durant l'exercici pot dependre de l'activació  $\alpha$ -adrenèrgica sobre el pàncrees, i dels nivells de glicèmia en sang (Wasserman & Cherrington, 1996). No obstant, alguns investigadors consideren que durant l'esforç no es necessari que hi hagi hipoglucèmia per a que s'estimuli la secreció glucagó (Riddell et al., 2003).

En esforços de llarga durada els nivells plasmàtics de glucagó poden assolir valors del 50 al 300% dels de repòs. Sembla que existeix un període de latència, i els canvis no es detecten fins transcorreguts 60 minuts de l'inici de l'esforç de baixa (30-50% $\text{VO}_{2max}$ ) intensitat o 45 minuts pels de moderada (60% $\text{VO}_{2max}$ ) intensitat (Virus & Virus, 2001). Per altra banda, en activitats de curta durada però molt intenses també s'han descrit elevacions de les concentracions plasmàtiques de glucagó (Bruunsgaard, Galbo, Halkjaer-Kristensen, Johansen, & MacLean, 1997a; Naveri, Kuoppasalmi, & Harkonen, 1985). També s'ha observat increments de glucagó en activitats en intervals (Taula 10).

Taula 10. Canvis de les concentracions plasmàtiques de glucagó en la recuperació de diversos exercicis físics en intervals.

Referència	Participants n i gènere Edat (anys) Grau AF	Modalitat Durada Pauses Intensitat	Pre	Post (% Δ vs Pre)	60'-90'R (% Δ vs Pre)
Kraemer (2002)	7H No indica E	Cicloergòmetre 4 x no indica 60-75-90-100%VO <sub>2max</sub>	73,4 pg·mL <sup>-1</sup>	+93*	NS
Mitchell (1990)	8H 21,5 (0,7) E	Cicloergòmetre 8 x 12' 70-100%VO <sub>2max</sub> 3'	145 pg·mL <sup>-1</sup>	+31*	-

AF: activitat física; H: homes; D: dones; E: esportistes entrenats; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç; R: recuperació; NS: canvi estadísticament no significatiu. \* indica que la variació significativament diferent respecte Pre.

El glucagó és una hormona hiperglucemiant que afavoreix la producció hepàtica de glucosa i disminueix la lipogènesi. Els seus efectes en el control de la glicèmia depenen de l'equilibri entre els nivells plasmàtics de glucagó i els d'insulina (índex glucagó/insulina) i en general aquest augmenta durant l'esforç. Tanmateix cal tenir en compte que les concentracions plasmàtiques venoses d'insulina i glucagó poden no reflectir adequadament els nivells que arriben al fetge directament per via portal, ja que pàncrees i fetge estan funcionalment situats en sèrie (Wasserman, 1996) (Figura 21).

##### 5) Hormona del creixement

La secreció d'hormona del creixement (GH) o somatotropina (STH) per l'adenohipòfisi anterior és activada per l'hormona alliberadora de GH (GRH) en resposta a estímuls com l'exercici físic, l'estrès, la hipoglucèmia, la hiperaminoacidèmia i algunes hormones (testosterona, estrògens i tiroxina). Durant l'esforç físic no és clar si la secreció de GH és estimulada directament per mecanismes de tipus anticipat, o si petites disminucions de la glicèmia desencadenen la secreció de GH per mecanismes de retroalimentació (Riddell et al., 2003). Durant l'esforç, la GH afavoreix la producció hepàtica de glucosa, i participa en la mobilització dels lípids en activitats de llarga durada, ja que necessita almenys dues hores per a que l'acció lipolítica sigui operativa.

En activitats físiques de baixa intensitat la concentració plasmàtica de GH no es modifica o es modifica poc. Es necessari assolir una intensitat propera al 60-80% VO<sub>2max</sub> per a es puguin detectar increments significatius dels seus nivells plasmàtics (Virus & Virus, 2001). Els canvis tampoc apareixen immediatament amb l'inici de l'exercici físic, sinó que existeix un temps de demora que és inversament proporcional a la intensitat de l'esforç (Riddell et al., 2003). Lehman et al. (2010) en una sessió en tapis de 120' de durada e intensitat pròxima al 75%VO<sub>2max</sub> aprecia un augment del 1100% de la GH immediatament després de l'esforç. Però si l'activitat física és de molt llarga durada, els nivells plasmàtics s'estabilitzen.

En les activitats en intervals d'alta intensitat també s'han registrat elevacions dels nivells plasmàtics de GH (Ghandari-Niaki, Kraemer & Soltani 2010).

També en una activitat física en intervals però de menor durada Karagiorgos, Garcia & Brooks (1979) observen elevacions de la GH a partir dels 15 minuts d'exercici. Els canvis eren similars en l'activitat física intermitent en comparació a un esforç continu de càrrega global semblant.

#### 6) Hormones tiroïdals

Les hormones tiroïdals també poden influir en la mobilització i utilització dels substrats durant l'exercici físic. Participen en la mobilització lípids i en l'estalvi del glicogen hepàtic i muscular (Riddell et al., 2003).

Els resultats de múltiples investigacions han mostrat que existeixen molts mecanismes neuro-endocrins, a vegades redundants, que participen en el control de la mobilització i utilització dels substrats energètics durant l'exercici físic. La secreció de les hormones que hi participen està regulada per mecanismes d'anticipació i de retroalimentació complexos. En conjunt, no sembla que per se, l'esforç en intervals presenti una resposta neuro-endocrina aguda diferenciada de la d'un esforç continu de càrrega global semblant.



## 1.3 Exercici físic i sistema immune

L'activitat física produeix nombrosos canvis en les funcions orgàniques, i malgrat que el sistema muscular n'és el principal protagonista, altres sistemes del cos han de modificar les seves funcions per tal d'assolir un estat de funcional adequat a la nova situació. El sistema immune interactua recíprocament amb els sistemes muscular, cardíoc-respiratori, nerviós i endocrí, i en conseqüència, també es veurà sotmès a la influència dels canvis al·lostàtics, que acompanyen la realització de l'activitat física i la seva recuperació (Smith, 1995).

L'estudi de les alteracions induïdes per l'activitat física sobre el sistema immune no són recents, ja que les primeres publicacions varen aparèixer a finals del segle XIX i principis del segle XX, quan Larrabee i Egoroff (citats a Gabriel, 1997) varen descriure la presència d'una leucocitosi important en esportistes que havien participat en una maratón. Tanmateix, segons (Nieman, 1997) no va ser fins a la dècada dels anys 1980 quan, degut als avenços tecnològics i del coneixement dels components del sistema immune, diversos d'investigadors varen dedicar els seus esforços a aquest camp d'estudi. Les àrees d'interès en aquest àmbit es centren en els efectes aguts i crònics de l'activitat física sobre el sistema immune, la susceptibilitat a les infeccions, els efectes de l'activitat física en persones que pateixen malalties que afecten al sistema immune, i efectes de l'exercici físic sobre l'envelliment i la funció immune. En aquest apartat es farà una revisió dels efectes aguts de l'esforç físic sobre el sistema immune, fent especial referència a les activitats físiques en intervals. Per a un estudi més detallat es poden consultar els documents de consens publicats recentment per la International Society of Exercise immunology (Walsh, et al., 2011a; Walsh, et al., 2011b).

### 1.3.1 Sistema immune i l'activitat física

Com a conseqüència de l'adaptació aguda a l'exercici físic, molts components del sistema immune experimenten canvis durant i després de l'esforç. Els canvis inclouen modificacions de la circulació cel·lular; perturbacions del reconeixement d'antígens i de certes funcions efectores, com l'activació dels neutròfils o l'alliberació de citocines pro-inflamatòries i anti-inflamatòries (Figura 23 i Taules 11 a 13).

Algunes alteracions persisteixen diverses hores després de finalitzar l'activitat física; especialment si la càrrega física ha estat elevada. Fins hi tot, s'ha suggerit que en les primeres hores de la recuperació d'un esforç intens podria tenir lloc una disfunció temporal del sistema immune ((Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000) que facilitaria el desenvolupament de patologia infecciosa. Aquest fenomen s'ha descrit com una "finestra oberta" (Figura 24) a l'acció dels agents patògens (Shinkai, Shore, & Shek, 1992).

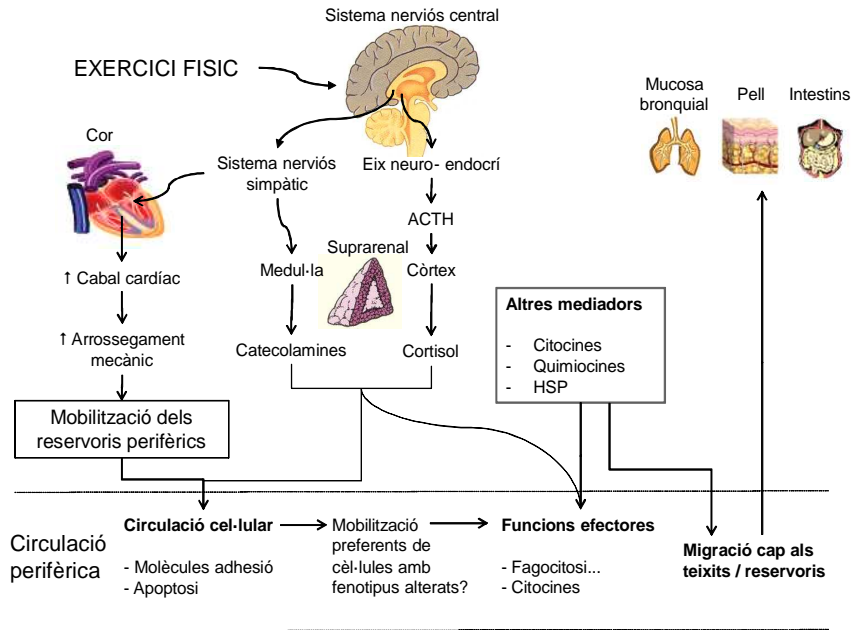


Figura 23. Mecanismes que participen en els efectes de l'exercici físic sobre el sistema immunitari.

ACTH: corticotropina; HSP: proteïnes de xoc tèrmic. Adaptat de Walsh et al. (2001).

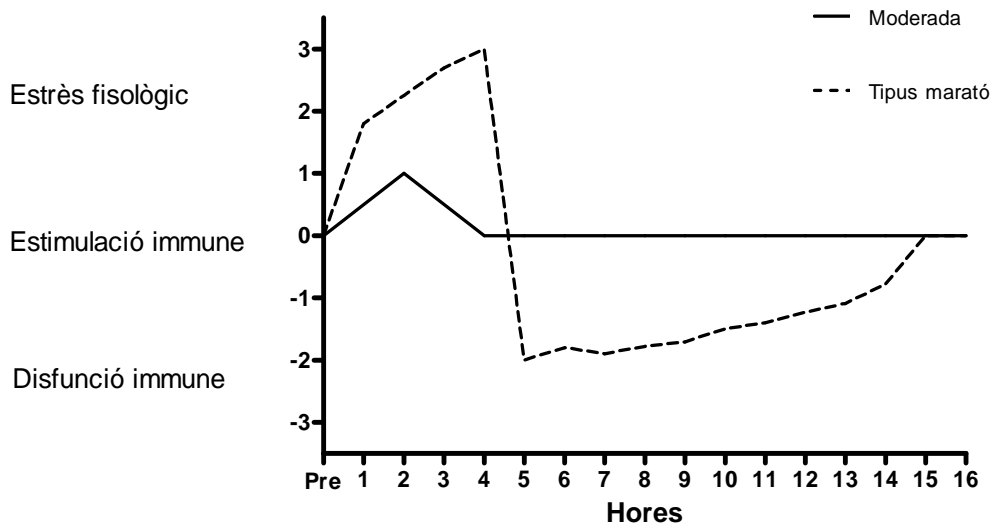


Figura 24. Teoria de la "finestra oberta".

L'exercici físic de càrrega moderada causa canvis discrets en el sistema immunitari; mentre que l'exercici de càrrega elevada (tipus marató) produeix alteracions més profundes. Adaptat de Nieman (2007b)

### 1.3.1.1 Leucòcits circulants i activitat física

Els nivells dels leucòcits circulants en sang perifèrica augmenten durant i en la recuperació de l'activitat física. Els efectes depenen de la durada, la intensitat i/o la modalitat de l'esforç.

La magnitud de l'increment és variable. Els majors augments s'observen immediatament després d'activitats perllongades de més de 2 hores de durada, on el creixement del nombre de leucòcits circulants sempre sol superar el 100% (Nieman et al., 1995). Les activitats supramàximes de <10' (Gray, Telford, Collins & Weidemann 1993; Nielsen, Secher, & Christensen, 1996), les activitats mantingudes d'elevada intensitat (Mooren, Bloming, Lechtermann, Lerch & Volker 2002; Nieman et al., 1994; Robson, Blannin, Walsh & Castell, 1999) i les de predomini de la força, o amb un component excèntric de les accions musculars (Koch, Potteiger, Chan, Benedict & Frey, 2001; Ramel, Wagner & Elmadfa, 2003; Simpson et al., 2005; Sorichter et al., 2006), mostren increments moderats; mentre que en les de baixa-moderada intensitat i curta durada no es produeixen canvis, o aquests són més discrets (Mooren et al., 2002; Nieman, Henson, Austin & Brown, 2005).

Els nivells de leucocitosi més alts solen observar-se immediatament després de l'esforç. Durant la recuperació poden romandre elevats durant un determinat període temps, o començar a reduir-se progressivament. Al cap d'una hora de recuperació els canvis es situen entre el 86% i el 200% respecte als nivells previs a l'esforç.

En certes activitats, com les de predomini de la força, o en activitats en intervals, durant la recuperació, el comportament de la leucocitosi és bifàsic, tal com varen descriure McCarthy et al. (1991); disminuint lleugerament durant la primera hora de recuperació, per tornar a incrementar-se posteriorment.

Taula 11. Canvis en el recompte cel·lular dels leucòcits circulants en sang durant i després de l'esforç físic intens.

	Durant l'esforç	Recuperació primerenca
Neutròfils	↑	↑↑
Limfòcits	↑	↓
CD4+	↑	↓
CD8+	↑	↓
CD19+ (LB)	↑	↓
CD56+ (NK)	↑	↓

Adaptat de Pedersen & Hoffman-Goetz (2000).

La leucocitosi que s'observa amb l'activitat física, en general, inclou neutrofilia i limfocitosi (Figura 25). En les activitats molt curtes (<10') i supramàximes (>100%VO<sub>2max</sub>) sol predominar la limfocitosi sobre la neutrofilia (Gray et al., 1993; Nielsen, Secher & Cristensen, 1996) mentre que les activitats físiques mantingudes (35' a 90') i d'elevada intensitat, o les molt perllongades (>120'), s'acompanyen de neutrofilia molt important i limfocitosi més discreta.

La neutrofilia s'associa a la durada de l'esforç i assoleix els valors més elevats, pròxims a un increment del 331%, en les activitats molt perllongades (Robson et al., 1999). Durant la recuperació la neutrofilia es pot mantenir o accentuar però habitualment es normalitza a les 24 hores.

L'activitat física també produeix canvis immediats en el recompte de limfòcits circulants. Aquests, en general s'incrementen entre un 21% i un 108% durant l'esforç. La limfocitosi és més important en les activitats d'elevada intensitat, particularment les activitats supramàximes (Gray, et al., 1993), seguides de les activitats en intervals i les mantingudes (35' a 90') intenses, i de les curta durada (10' a 34') d'elevada intensitat ( $>75\%VO_{2max}$ ), i de les de predomini de la força. Com indica Pedersen (1998), sembla que el nombre de limfòcits circulants en sang està determinat per la intensitat de l'activitat. A més, per una mateixa intensitat, si l'esforç dura molt, el recompte de limfòcits es pot reduir (Mitchell, Dugas, McFarlin & Nelson, 2002; Nieman et al., 1999; Steensberg, Morrow, Toft, Bruunsgaard & Pedersen, 2002).

Durant la recuperació, al contrari del que s'observa en els leucòcits i neutròfils, el nombre de limfòcits circulants descendeix, assolint valors inferiors als basals (aproximadament del 50% dels nivells previs a l'esforç). La disminució dels limfòcits és més pronunciada en les activitats mantingudes intenses (McFarlin, Mitchell, Mc Farlin & Steinhoff, 2003; Nieman et al., 1994; Robson et al., 1999) i les activitats de llarga durada ( $>120'$ ) (Gabriel, Brechtel & Urhausen, 1994; Krzywkowski et al., 2001; Scharhag, Meyer, Auracher, Gabriel & Kindermann, 2006; Shek, Sabiston & Buguet 1995; Steensberg et al., 2002), seguides de les activitats mantingudes de baixa-moderada intensitat (Nieman, et al., 1994; Nieman et al., 1995; Sinkai, Shore & Sheck, 1992). El punt mínim es produeix aproximadament a les 2 hores de recuperació de l'esforç, però tot i el descens del nombre de limfòcits, tan sols en alguns casos (Robson et al., 1999; Scharhag et al., 2006; Steensberg et al., 2002) s'assoleixen nivells de limfopènia absoluta ( $<1000$  limfòcits $\cdot 10^6\cdot L^{-1}$ ); en els altres, aquesta és relativa.

L'índex neutròfils/limfòcits (N/L), que s'ha utilitzat com un indicador d'estrès del sistema immune, es manté alterat respecte als valors de repòs (N/L = 2) fins 6 hores després de l'esforç. Generalment, immediatament després de l'esforç l'índex N/L no es modifica, a excepció de les activitats físiques molt curtes i supramàximes on es produeix una disminució; o després de les activitats físiques de llarga durada que presenten un increment variable, d'entre 2,6 i 7,4. Durant les primeres hores de recuperació, a causa de la davallada dels limfòcits circulants i el manteniment de la neutrofilia, s'aprecia un increment de l'índex N/L, que és més marcat (8-13) en activitats físiques mantingudes (35' a 90') i perllongades ( $>120'$ ).

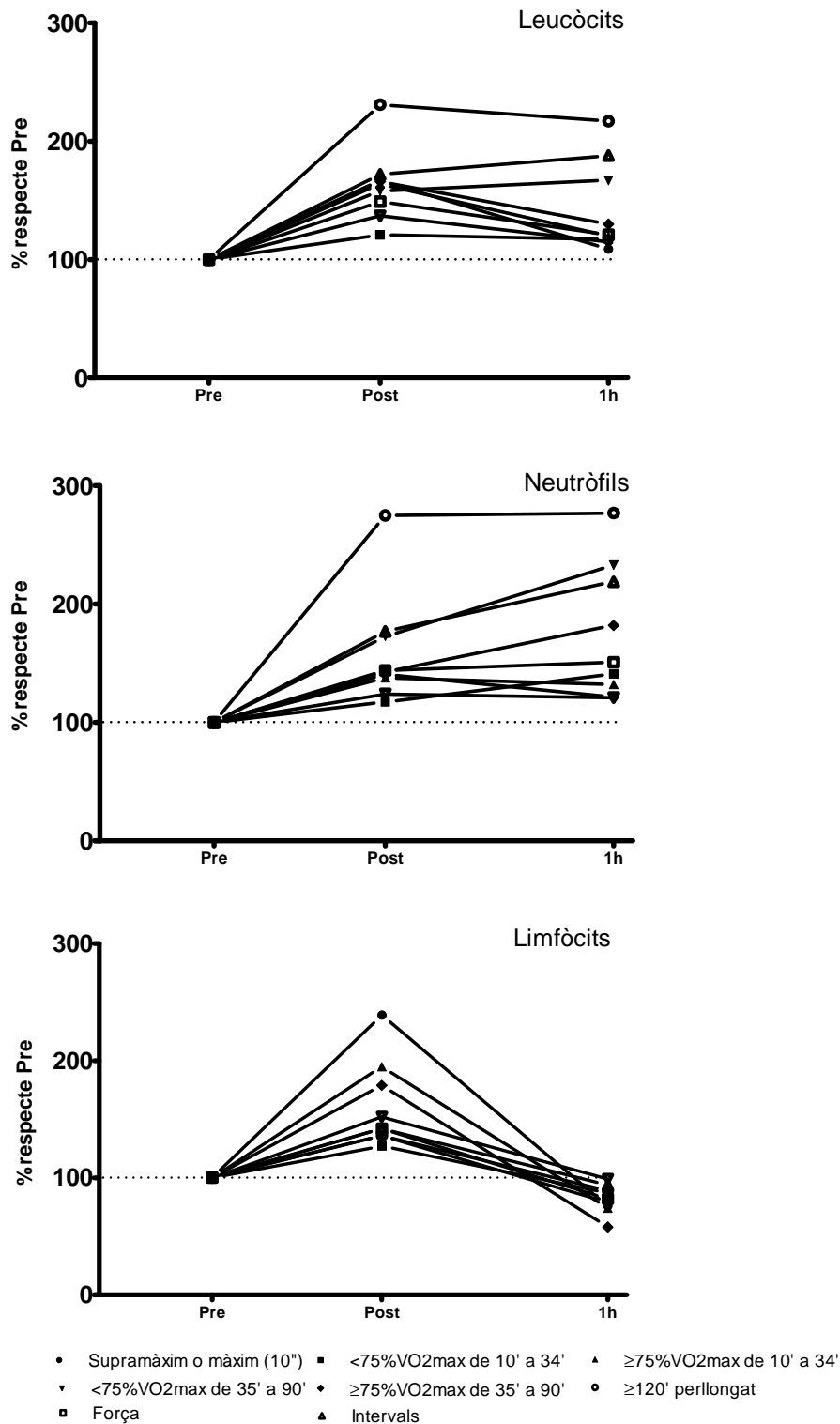


Figura 25. Evolució del recompte de leucòcits, neutròfils i limfòcits circulants en sang immediatament després i en la recuperació primerenca de diverses modalitat d'activitat física. Pre: Inici; Post: immediatament després de l'esforç; 1h: al cap d'una hora de recuperació. Dades expressades en percentatge respecte als valors del moment inicial (Pre).

Els limfòcits comprenen una població heterogènia amb diferents subtipus cel·lulars que evolucionen de forma diversa en resposta a l'exercici físic (Figura 26). Aquest fet repercuteix en la seva distribució percentual. Proporcionalment, els nivells de natural killer (NK) (CD16+CD56+) en sang es modifiquen més que els de les altres subpoblacions; mentre que els canvis del recompte dels limfòcits B (LB) (CD19+) són mínims. En general, l'augment del nombre de limfòcits circulants que es detecta immediatament després de l'esforç es causat pel creixement de les subpoblacions limfocitàries NK, i LT supressor (CD8+) (Weiss et al., 1995). Aquests són més pronunciats en les activitats físiques supramàximes de menys de 10' i en les activitats en intervals de curta durada (<15').

Els NK s'elevan més que els LT en les activitats físiques de baixa-moderada intensitat; i a la inversa, els LT augmenten més si la intensitat és elevada.

Els LT col·laboradors (CD4+) i els CD8+ mostren una evolució diversa, encara que els CD4+ solen augmentar menys que els CD8+, i en conseqüència durant l'esforç l'índex CD4+/CD8+ disminueix transitòriament (Weiss et al., 1995). També sembla que els limfòcits CD4+ i CD8+ mobilitzats a la sang en resposta a l'esforç físic són principalment CD4+ i CD8+ de memòria (CD45RO+, CD28- i amb telòmers curts), i que els canvis no són imputables a la repoblació amb cèl·lules noves (Gannon, Rhind, Shek & Shephard, 2001; Krzykowski et al., 2001; Pedersen, 2000). No obstant, altres autors també han descrit alguns canvis en les poblacions de CD4+ i CD8+ verges (Bruunsgaard, Jensen, Schjerling, Halkjaer-Kristensen & Skinhoj, 1999; Gabriel & Urhausen, 1991; Gabriel, Schwarz & Born, 1992a; Gabriel, Smith, Urhausen & Kindermann, 1993).

Durant la recuperació, la disminució global dels limfòcits circulants es deguda a una reducció de les subpoblacions limfocitàries NK i CD8+. Les activitats físiques en les que el descens és més pronunciat són les de molt llarga durada (>120') i les activitats mantingudes d'elevada intensitat.

L'evolució del recompte de les subpoblacions limfocitàries en sang depèn principalment de la intensitat de l'esforç:

- És esmorteït en les activitats físiques de baixa-moderada intensitat en comparació a activitats de la mateixa durada però d'elevada intensitat.
- És més pronunciat en activitats físiques intenses de curta durada (10' a 34') que en activitats mantingudes (35' a 90') però de baixa –moderada intensitat.
- Per a les activitats amb predomini de la força és més atenuat en les sessions de força submàxima que en les força màxima.

No obstant cal tenir en compte que els limfòcits circulants tant sols representen el 2% del conjunt total; i que a més, els canvis numèrics no sempre són sinònim d'una reducció de la capacitat de resposta del sistema immune.

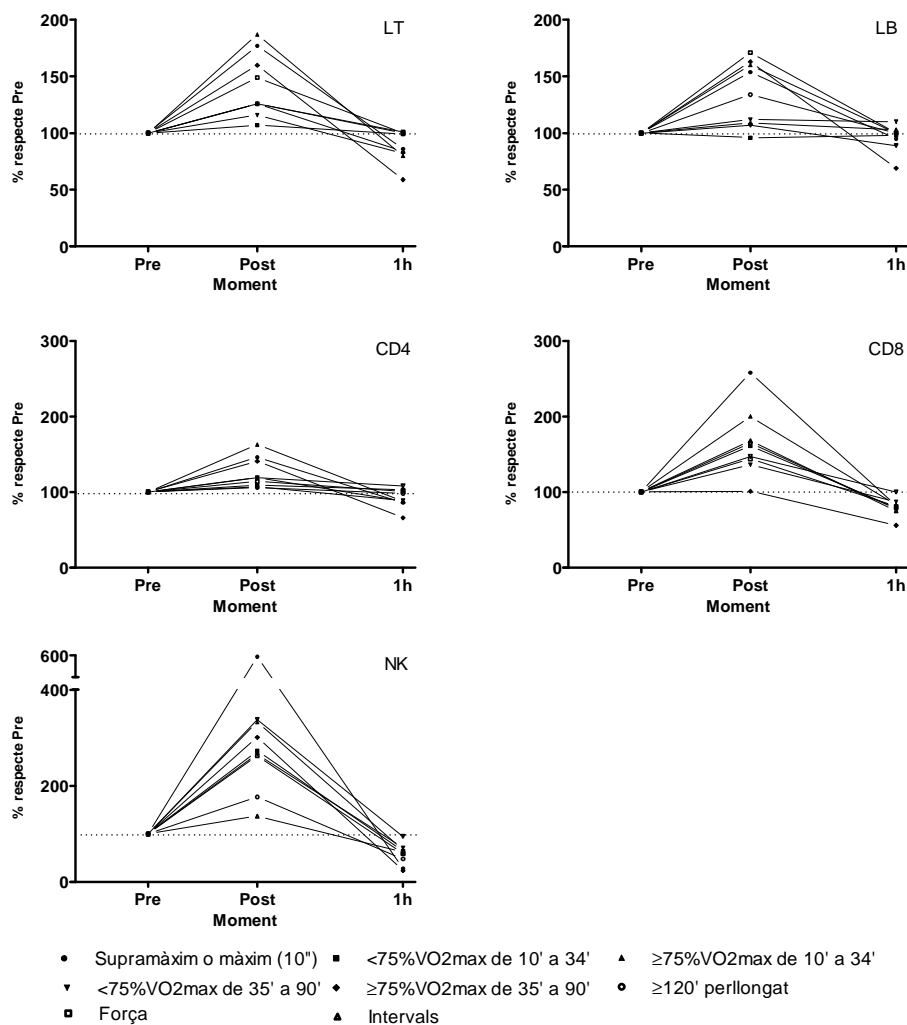


Figura 26. Evolució del recompte de les subpoblacions limfocitàries circulants en sang immediatament després i en la recuperació primerenca de diverses modalitat d'activitat física. Pre: Inici; Post: immediatament després de l'esforç; 1h: al cap d'una hora de recuperació. LT: limfòcits T; LB: limfòcits B; CD4: limfòcits CD4; CD8: limfòcits C8; NK: natural killer. Dades expressades en percentatge respecte als valors del moment inicial (Pre)

Els canvis en el recompte dels monòcits són proporcionalment menors. Aquests augmenten molt en les activitats de curta durada intenses o molt intenses. En activitats físiques de baixa-moderada intensitat gairebé no es modifiquen, i en les activitats molt perllongades les concentracions sanguínies de monòcits poden disminuir. El nombre de monòcits disminueix durant la recuperació d'activitats físiques curtes supramàximes i de molt llarga durada (Gabriel, 1997).

Els mecanismes que podrien explicar la reorganització de la circulació dels leucòcits circulants és relacionen amb l'hematopoesi, l'apoptosi i l'expressió de molècules d'adhesió.

L'increment nombre de cèl·lules circulants s'ha atribuït a l'efecte mecànic d'arrossegament del flux sanguini sobre els leucòcits adossats a la paret endotelial, l'efecte de premsa sobre la melsa i el fetge, l'acció de les catecolamines sobre les molècules d'adhesió que facilitaria el

despreniment dels leucòcits de les cèl·lules de l'endoteli i la sortida dels seus reservoris (Figura 23).

Per contra el retorn del nombre de leucòcits als nivells inicials, i fins hi tot per sota dels mateixos com en el cas dels limfòcits, pot atribuir-se a una reducció de l'efecte mecànic d'arrossegament de la sang, al disminuir el VMC; a una reducció del grau d'estimulació simpàtica que faria recular l'efecte de premsa, a la normalització dels nivells de catecolamines, a la migració de les cèl·lules fora de la circulació i cap als teixits per tal d'intervenir en els processos de reparació tissular, i/o a l'apoptosi cel·lular.

### 1.3.1.2 Funcions del sistema immune i activitat física

La magnitud i qualitat de l'activitat immune reflecteix la influència neta dels mediadors immunopotenciadors i immunosupressors. Per a la valoració de l'estat i la funció del sistema immune durant i després de l'exercici físic en humans en general els estudis es basen en la informació obtinguda a partir d'extraccions de sang venosa o de la saliva (Taula 12). Posteriorment s'apliquen tècniques analítiques que valoren (a) aspectes descriptius i funcionals de les cèl·lules del sistema immune, i (b) les concentracions plasmàtiques dels factors solubles (immunoglobulines, citocines...). En alguns casos també s'apliquen tests de funció del sistema immune in vivo, com són les proves d'hipersensibilitat retardada o l'estimulació de la producció d'anticossos.

Taula 12. Canvis de les funcions immunes durant i després de l'esforç físic intens.

	Durant l'esforç	Recuperació primerenca
Proliferació en resposta als mitògens	↓	↓
Producció anticossos in vitro	↓	↓
Hipersensibilitat retardada		↓
Activitat natural killer	↑	↓
IgA en saliva	↓	↓

Adaptat de Pedersen & Hoffman-Goetz (2000)

A continuació es comentaran els efectes aguts de l'exercici físic sobre algunes de les funcions del sistema immune.

#### 1) Funció dels neutròfils

Una de les modificacions que es produeixen en la resposta aguda a l'exercici físic és la neutrofilia mantinguda en el temps. Els neutròfils representen una part important dels leucòcits, i tenen funcions essencials per a la defensa enfront agents patògens.

S'ha descrit que l'activitat física de carrega moderada pot activar o inhibir les funcions efectores dels neutròfils (quimiotaxis, fagocitosi, desgranulació, i activitat oxidativa). Per contra l'activitat molt intensa redueix algunes funcions, excepte la quimiotaxis i la desgranulació que augmenten, indicant una activació dels neutròfils (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000). S'ha



observat que l'activació dels neutròfils augmenta (major activitat elastasa, major activitat oxidativa) després de l'esforç, però que in vitro la seva capacitat de resposta al liposacàrid bacterià (LPS) disminueix (Peake & Suzuki, 2004; Walsh, Blannin, Bishop, Robson & Gleeson, 2000). Aquest efecte podria ser degut a la menor proporció de neutròfils madurs a causa del reclutament de neutròfils joves cap a la circulació.

Segons Peake & Suzuki (2004), el reclutament de neutròfils madurs dels reservoris marginals i amb major capacitat de produir espècies reactives de l'oxigen (ROS) podria alterar l'estat redox de la sang. No obstant, aquests investigadors també indiquen que és poc probable que els ROS generats pels neutròfils superin la capacitat antioxidant de la sang.

Durant la recuperació, els neutròfils es dirigeixen cap a les mucoses i els teixits, on podrien desencadenar un procés inflamatori i l'alliberació d'espècies reactives de l'oxigen.

## 2) Capacitat de proliferació dels limfòcits T i B

Els limfòcits també representen una part considerable dels leucòcits circulants. Les proves de funció dels limfòcits, basades en l'expressió de molècules de superfície, com CD45RO o CD45RA, indiquen que en resposta a l'esforç es produeix una activació dels limfòcits T (Fry, Morton, Crawford & Keast, 1992; Gabriel et al., 1993; Gray et al., 1993). L'activitat física de moderada intensitat té poca influència sobre la capacitat de proliferació dels limfòcits T enfront a l'estimulació amb concanavalina A (ConA) o fitohematoglutinina (PHA) (Lambert, Flynn, Braun & Mylona, 2000; Nielsen & Pedersen, 1997). Al contrari, l'activitat física intensa sembla que suprimeix la capacitat de proliferació dels limfòcits durant més de 3 hores després de l'esforç (Field & Gougeon, 1991). En aquesta situació, els esportistes tindrien un major risc de patir infeccions d'origen viral.

Per altra banda, la capacitat de proliferació dels limfòcits B enfront el lipopolisacàrid bacterià (LPS) augmenta o no es modifica en resposta a l'esforç físic (Field & Gougeon, 1991). També s'ha demostrat que in vitro els LB mantenen la capacitat de formació d'anticossos (Tvede, Heilmann, Halkjaer-Kristensen & Pedersen, 1989).

## 3) Activitat citolítica dels natural killer

Els NK formen un conjunt de cèl·lules heterogènies que expressen CD19 i CD56. Poden tenir un paper important com a primera línia de defensa enfront les infeccions virals, i en el reconeixement precoç de les cèl·lules tumorals (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000). En resposta a l'exercici físic, hi ha un major nombre de NK circulants que s'acompanya d'un increment de la seva capacitat global de lisis. Aquest augment és lleugerament menor que el creixement del nombre de NK circulants (Shephard, 1999).

Durant la recuperació de l'esforç, en conjunt l'activitat lítica global dels NK pot disminuir i assolir els nivells més baixos en les 2-3 primeres hores, posteriorment anirà retornant als nivells inicial (Nieman et al., 1993). Les causes podrien ser la reducció del nombre de NK circulants i/o a la

supressió de la seva capacitat funcional. No obstant, s'ha indicat que en general, l'activitat lítica per cèl·lula, no es modifica (Nielsen, Secher & Christensen, 1996; Nieman, et al., 1993; Shephard, 1999), a excepció de les activitats físiques molt perllongades o de les de naturalesa excèntrica, on disminueix (Shephard, 1999).

#### 4) Producció anticossos

En l'estudi de la funcionalitat del sistema immune també s'ha valorat la capacitat de producció d'anticossos, i especialment la presència de IgA en la saliva i les mucoses.

L'exercici de baixa intensitat té poques repercussions i no modifica la presència de IgA a les mucoses. Però després de l'activitat física perllongada, en ambients freds o no, s'ha descrit una disminució de IgA en la saliva i la mucosa oral que persisteix durant varies hores (Gleeson et al., 1995; Gleeson, 2000; Libicz, Mercier, Bigou, Le Galais & Castex, 2006; Nieman et al., 2006).

L'alteració dels marcadors d'immunitat de les mucoses s'ha relacionat amb el funcionament del sistema nerviós simpàtic que activa l'exocitosi i transcitosi de IgA. La seva disminució en la saliva probablement es relaciona amb alteracions de l'eix hipotàlem-hipofisiari-adrenal (Walsh et al., 2011a), ja que in vitro, els limfòcits B mantenen la capacitat de secreció d'anticossos (Tvede et al., 1989).

La reducció de IgA en saliva pot afavorir un major del risc de patir infeccions de les vies aèries superiors.

#### 5) Hipersensibilitat retardada (in vivo)

També s'ha demostrat que la hipersensibilitat retardada (immunitat cel·lular), mesurada amb la resposta cutània a 7 antígens diferents, és menor després d'una triatló en comparació al grup control (Bruunsgaard et al., 1997b).

### 1.3.1.3 Activitats en intervals

Una gran part dels coneixements sobre la resposta del sistema immune a l'esforç es basen en dades obtingudes en activitats físiques de naturalesa contínua. De 93 efectes analitzats en el present estudi, 9 fan referència a activitats físiques en intervals. Com ja s'ha indicat en els altres apartats, en l'exercici físic d'aquestes característiques, la repetició dels esforços pot tenir efectes acumulatius, però la presència de les pauses permet realitzar processos de recuperació, i això possibilita poder mantenir una intensitat elevada durant un període de temps efectiu més llarg que si l'activitat fos contínua.

Taula 13. Característiques dels participants i protocols de diverses activitats físiques en intervals en la recuperació de les quals s'han analitzat diversos marcadors del sistema immune

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Sèries		Pauses	Temps
			Nombre Durada	Intensitat	Durada	Efectiu Total
Gray (1983)	8H 31,5 (4,5) E	Tapis	15 x 1'	100% VO <sub>2max</sub>	1'	15' 30'
Hinton (1997)	5H 23,0 (2,5) E	Tapis	15 x 1'	90% VO <sub>2max</sub>	2'	15' 45'
Kargotich (1997) <sup>a</sup>	8H 19,9 (2,2) E	Natació	15 x 100m	95%V <sub>max</sub>	2'	15' 45'
Kargotich (1997) <sup>b</sup>	8H 19,9 (2,2) E	Natació	15 x 100m	70%V <sub>max</sub>	2'	15' 45'
Ensenyat (1997) <sup>a</sup>	15H + 3D 22,1 (2,2) LI	Carrera	4 x 5'	105%vIAT	2'30"	20' 30'
Ensenyat (1997) <sup>b</sup>	15H + 4D 22,7 (2,1) LI	Carrera	8 x 5'	105%vIAT	2'30"	40' 60'
Smith (1998)	9H 19,8 (1,8) E	Carrera en descens	3 x 15'	70% VO <sub>2max</sub>	5'	45' 55'
Nieman (2007a)	12H 21,0 (1,0) E	Ciclo- ergòmetre	12 x 10'	74% VO <sub>2max</sub>	3'	90' 120'
Nieman (2000)	10H + 10D 14-18 anys E	Tenis	15'	81% FC <sub>max</sub>	4-5'	No indc 120'
Koch (2007)	16H 20,6 (1,2) E	Rugbi	No indc	Variable	Variable	No indc
Fahlman (2001)	26D 24,2 (5,8) LI	Ciclo- ergòmetre	3 x 30"	Màxima	3'	1'30" 7'30"
Walsh (1999)	8H 25 (1) E	Ciclo- ergòmetre	20 x 1'	100% VO <sub>2max</sub>	2'	20' 60'
Sari-Sarraf (2006)	8H 24,1 (3,3) LI	Test Futbol	2 x 45'	Variable	Variable	- 90'

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; FC<sub>max</sub>: freqüència cardíaca màxima; vIAT: velocitat al llindar anaeròbic individual; V<sub>max</sub>: velocitat màxima. No indc: no indica.

A la Taula 13 s'aprecia que les activitats en intervals analitzades són molt heterogènies

respecte a la durada total de l'esforç físic que varia entre 15' i 120'; la durada dels diferents intervals de treball que pot ser de 1' a 15'; la intensitat que es troba entre el 70%VO<sub>2max</sub> i el 100%VO<sub>2max</sub>, i que a més s'expressa en diverses unitats, i la durada de les pauses (1' a 3'). La modalitat d'exercici també és diversa i compren carrera (Ensenyat, 1997; Gray et al., 1993; Hinton, Rowbottom, Keast & Morton, 1997; Smith et al., 1998), ciclisme (Nieman et al., 2007a), natació (Kargotich, Keast, Goodman, Crawford & Morton, 1997), tennis (Nieman, Kernodle, Henson, & Sonnenfeld, 2000).

### 1) Circulació cel·lular

Els increments dels leucòcits immediatament després de l'esforç poden ser molt elevats (+170%) o molt discrets (+14%) (Figura 27). Els increments més alts corresponen a la prova en cicloergòmetre en intervals de llarga durada al 65% dels watts màxims obtinguts prèviament en una prova incremental. L'efecte que mostra alteracions més discretes correspon a la sessió d'entrenament de natació a intensitat moderada (Kargotich et al., 1997). La durada total de treball va ser molt més curta que en l'estudi de Nieman et al. (2007a) però similar a la de la sessió d'entrenament de natació al 95% de la velocitat màxima, la qual també mostra un creixement considerable (+83%) del nombre de leucòcits circulants.

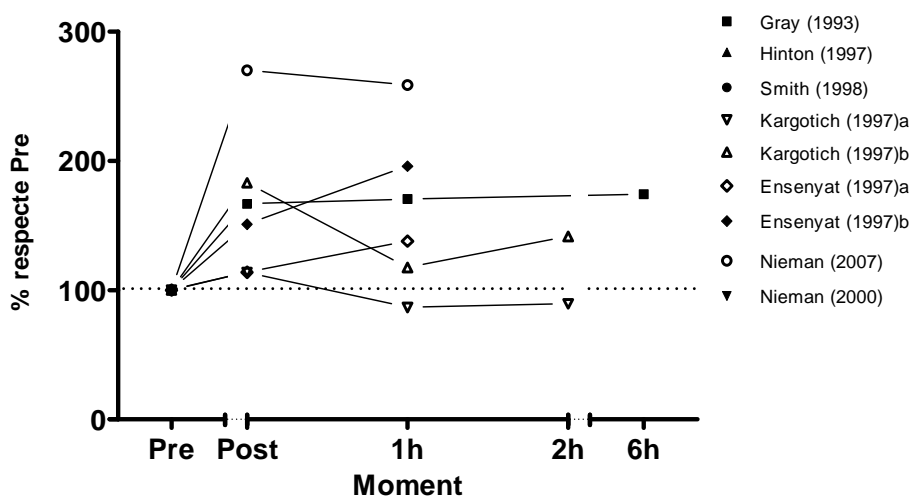


Figura 27. Evolució dels leucòcits circulants immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.

Pre: Inici; Post: immediatament després de l'esforç; 1h,2h i 6h: al cap d'una, dues o sis hores de recuperació. Dades expressades en percentatge respecte als valors del moment inicial (Pre). Veure protocols a la Taula 13.

També en l'esforç en intervals, a banda de la intensitat, la durada de l'esforç efectiu (suma del temps dels períodes de treball) també repercuteix en l'increment dels leucòcits circulants. Al comparar dues sessions d'entrenament de carrera en intervals a la mateixa intensitat (105% IAT) però de diferent durada, el creixement dels leucòcits va ser superior a la sessió que comprenia 8 intervals d'esforç de 5' en comparació a la de 4 intervals (40' versus 20' minuts de

d'esforç efectiu) (Ensenyat, 1997).

En la fase de recuperació en l'exercici físic en intervals de curta-moderada durada, els leucòcits augmenten encara una mica més respecte als valors observats immediatament després de l'esforç, mentre que en els protocols de llarga durada (Nieman, 2007a) els leucòcits es mantenen elevats però estables. La sessió d'entrenament de natació al 70% de la velocitat màxima mostra una evolució diferent a la resta i el nombre de leucòcits circulants es situa lleugerament per sota dels nivells basals fins almenys les 2 hores de recuperació (Kargotich et al., 1997).

La participació dels neutròfils i dels limfòcits en la leucocitosi de l'exercici físic en intervals és diversa (Figura 28). Com es podria esperar, immediatament després de l'esforç, tant els neutròfils com els limfòcits augmenten respecte els valors de repòs, però mentre que en alguns estudis els neutròfils i els limfòcits representen percentatges similars (51% enfront 47%) de la leucocitosi (Ensenyat 1997; Gray et al., 1993) en d'altres, els neutròfils augmenten molt més que els limfòcits i representen una proporció (87%) important de la leucocitosi immediata (Nieman et al. 2007a). Al cap d'una hora de recuperació els neutròfils segueixen augmentant i els limfòcits disminueixen.

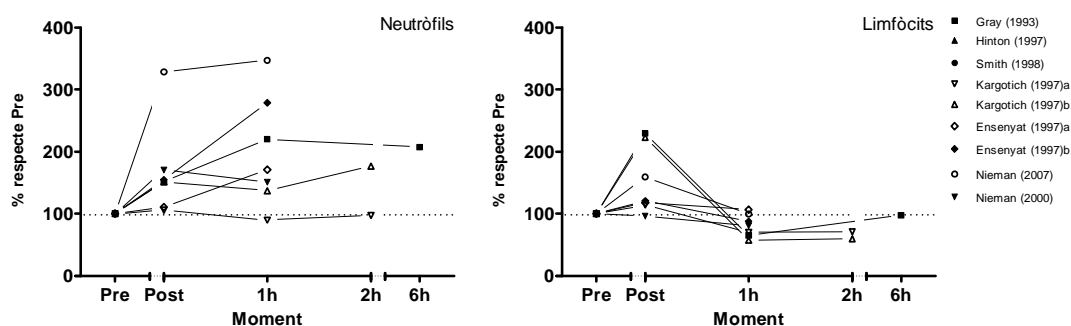


Figura 28. Evolució dels neutròfils i limfòcits totals circulants en sang immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.

Pre: Inici; Post: immediatament després de l'esforç; 1h,2h i 6h: al cap d'una, dues o sis hores de recuperació. Dades expressades en percentatge respecte als valors del moment inicial (Pre). Veure protocols a la Taula 13.

Per a una mateixa intensitat, quan més llarga sigui la durada efectiva de l'activitat en intervals, major serà la neutrofilia, però no afecta a la limfocitosi immediata després de la mateixa (Ensenyat, 1997). En canvi sembla que la disminució dels limfòcits en la recuperació de l'esforç és major si la sessió ha estat llarga. La reducció podria ser deguda al descens més important dels limfòcits CD8+.

La intensitat dels períodes de treball físic també repercuteix en els canvis dels neutròfils i limfòcits circulants. En les sessions en intervals analitzades per Kargotich et al. (1997), les alteracions són majors a la sessió d'alta intensitat. En aquesta sessió es registra més neutrofilia

i més "limfopènia" que a la sessió d'intensitat moderada. Però en canvi Nieman et al. (2007a) no observen diferències estadísticament significatives en els canvis dels neutròfils i limfòcits entre un un esforç de la mateixa intensitat i durada efectiva d'esforç, realitzat de forma contínua (C) o en intervals (I).

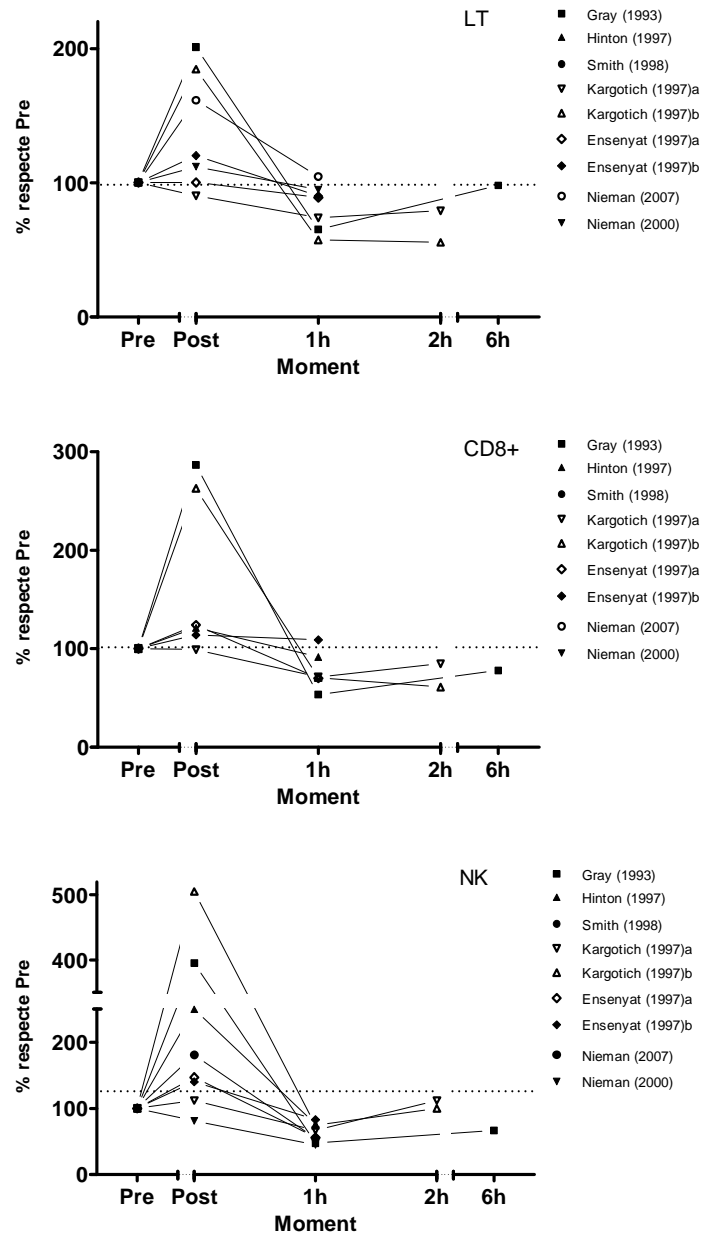


Figura 29. Evolució dels limfòcits T (LT), supressor (CD8) i natural killer (NK) circulants en sang immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals. Pre: Inici; Post: immediatament després de l'esforç; 1h, 2h 6h: al cap d'una, dues o sis hores de recuperació. Dades expressades en percentatge respecte als valors del moment inicial (Pre). Veure protocols a la Taula 13.

En les activitats en intervals els LT, CD8+ i NK circulants augmenten immediatament després

de l'esforç, i durant la recuperació aquests disminueixen per sota dels valors de repòs (Figura 29). A nivell percentual, en la majoria dels estudis els NK són els que varien en major mesura. Per altra banda, els LB i els CD4+ es modifiquen menys, amb increments posteriors a l'esforç de fins al 86% (Kargotich et al., 1997).

La durada efectiva de l'esforç no afecta significativament l'evolució de les poblacions limfocitàries, excepte als LT que augmenten en major mesura i els CD8+ que es mantenen per sota dels nivells inicials durant la recuperació (Ensenyat, 1997). Per contra, la intensitat aguditza els canvis, així Kargotich et al. (1997) indica que totes les subpoblacions limfocitàries (LT, LB, CD4+, CD8+, NK) augmenten molt més després de la sessió en intervals breus e intensos, i que en la recuperació es mantenen per sota dels nivells inicials durant més temps.

En una activitat física perllongada, Nieman et al. (2007a) no aprecia diferències en els canvis observats en els LT i els NK al realitzar un esforç de la mateixa durada e intensitat de forma contínua o en intervals. Tot i que es podria esperar que en l'esforç en intervals els canvis fossin menors, assemblant-se més als detectats en esports col·lectius, o en esports de naturalesa alternant, com el tennis (Nieman et al., 2000).

Nieman et al. (2000) també va comparar la resposta del nombre de leucòcits circulants en sang immediatament i en la recuperació d'una sessió d'entrenament de tennis entre homes i dones, i no va observar diferències atribuïbles al gènere.

## 2) Funcions del sistema immune

### **Proliferació dels limfòcits a estimulació amb fitohemaglutinina (pha)**

Com s'ha indicat anteriorment sembla que la capacitat de resposta dels limfòcits als antígens tipus ConA o PHA, tant sols s'altera si la intensitat de l'esforç és elevada.

Pel que fa a les activitats en intervals, Hinton et al. (1997) indiquen que immediatament després de l'esforç, la capacitat de proliferació dels limfòcits totals disminueix significativament, però es recupera 30 minuts després de la finalització del mateix. Els canvis de la resposta als mitògens es correlacionen ( $r=0.61$ ) significativament amb el nombre de NK circulants, mentre que la capacitat de proliferació dels limfòcits T no es veu afectada. Quan l'activitat és de llarga durada però de moderada intensitat no s'aprecien canvis de la capacitat de proliferació dels limfòcits en resposta a dosis mitjanes ( $25\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) de PHA, però disminueix si la dosi és baixa ( $5\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) (Nieman et al., 2000).

Per contra, en una activitat física en intervals llargs, més duradora que l'esforç de l'estudi de Hinton et al. (1997), però menys intensa, Nieman et al. (2007a) observen que la capacitat de proliferació va elevar-se a causa de augment de LT circulants. No obstant, aquestes alteracions eren semblants a les registrades en el protocol continu.

### **Activitat lítica dels NK**

Nieman et al. (2007a) assenyala que als 60 minuts de la recuperació dels 120' d'esforç en intervals hi ha una reducció de l'activitat lítica dels NK, atribuïble al descens del nombre de NK circulants. També en aquest cas no varen apreciar diferències significatives respecte a l'esforç físic continu. Els investigadors no indiquen si es modifica l'activitat lítica per cèl·lula.

### **Secreció salival d'immunoglobulina A**

Sembla que la resposta salival; és a dir el ritme de secreció de IgA i la concentració de IgA salival són similars en les activitats en intervals en comparació a protocols continus de la mateixa durada e intensitat mitjana (Sari-Sarraf, Reilly, & Doran, 2006). L'esforç físic, continu o en intervals, indueix una reducció transitòria del ritme de secreció de IgA salival, que és aproximadament del 30% (MacKinnon, Ginn & Seymour, 1993; Nieman et al., 2000; Sari-Sarraf, Reilly, & Doran, 2006). Simultàniament, el ritme de secreció de IgM i IgG no es va modificar, indicant que l'efecte és específic sobre la IgA (MacKinnon, et al., 1993). En contraposició, altres investigadors no han detectat alteracions de la secreció salival de IgA en resposta a una competició de rugbi (Koch, et al., 2007), o a tres proves de Wingate consecutives (Fahlman, Engels, Morgan & Kolokouri, 2001). Altres, com Walsh et al. (1999) assenyalen que després d'una sessió en intervals (20 x 1' al 100%VO<sub>2max</sub> + 2') el ritme de secreció de IgA salival va augmentar immediatament després de l'esforç (571 µg·min<sup>-1</sup> en comparació amb als 218 µg·min<sup>-1</sup> del moment inicial).

Tot i que s'ha destacat que la reducció del ritme de secreció de IgA podria contribuir a la gran prevalença d'infeccions de les vies aèries superiors en els esportistes, sembla que aquesta disminució és moderada i de curta durada.

### **1.3.2 Citocines i resposta de fase aguda**

En la fase efectora de la resposta immune, les cèl·lules del sistema immune alliberen diverses citocines que facilitaran les funcions de quimiotaxi i fagocitosi, entre altres. En un intent d'entendre els mecanismes que expliquen els canvis de la composició i distribució de les subpoblacions limfocitàries en resposta a l'exercici físic, diversos investigadors varen centrar el seu treball en l'estudi de les citocines i el seu paper com a possibles senyals entre el sistema immune i el múscul (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000). Els primers resultats es varen publicar als anys 80 i des de aleshores, els avenços en les tècniques de detecció han permès evidenciar que en resposta a un esforç físic es produeix una alliberació seqüencial, i transitòria, de certes citocines (Taula 14).

Originalment les investigacions es centraven en els vincles entre el sistema immune i les citocines en l'adaptació a l'esforç físic. Aquestes són responsables de la comunicació intercel·lular i amplifiquen, o inhibeixen, la majoria d'accions del sistema immune. Però la descoberta de que el propi teixit muscular secretava citocines, especialment IL-6, a la sang, va posar de relleu que, a part de les seves funcions immuno-reguladores, les citocines també



podien ser responsables d'altres canvis associats a l'esforç físic, per exemple de les adaptacions de tipus metabòlic (Pedersen & Febbraio, 2008).

Taula 14. Canvis en les concentracions plasmàtiques de diversos factors solubles durant i després de l'esforç físic intens.

	Durant l'esforç	Després de l'esforç
Proteïna C reactiva		↑
Neoptarina		↑
TNF- $\alpha$	↑	↑
IL-1 $\beta$	↑	↑
IL-6	↑↑	↑
IL-1ra	↑↑	↑
IL-10	↑	↑
TNF-R	↑	↑
IL-8		↑

Adaptat de Pedersen & Hoffman-Goetz (2000).

En general les modificacions dels nivells plasmàtics de citocines en resposta a l'exercici físic es caracteritzen per un creixement inicial, i modest, de les citocines més pro-inflamatòries (TNF- $\alpha$  i IL-1 $\beta$ ), seguit d'una elevació de la concentració plasmàtica de la citocina IL-6. Malgrat això, alguns investigadors consideren que el canvi de la concentració plasmàtica del factor de necrosi tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) és poc significatiu. De fet, Pedersen & Febbraio (2008) afirmen que una diferència important entre la resposta fisiològica a l'exercici físic, en comparació a la de les sèpsies és que en exercici físic la IL-6 augmenta sense necessitat de ser activada pel TNF- $\alpha$  (Figura 30). A continuació de l'elevació en plasma de IL-6 es detecta un augment dels nivells plasmàtics de citocines amb accions anti-inflamatòries, com la citocina 10 (IL-10) o també la proteïna antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1ra) (Nieman et al., 2001; Pedersen & Fischer, 2007). A més a més també s'ha observat que en la recuperació de l'esforç físic es poden modificar les concentracions plasmàtiques de la citocina IL-8.

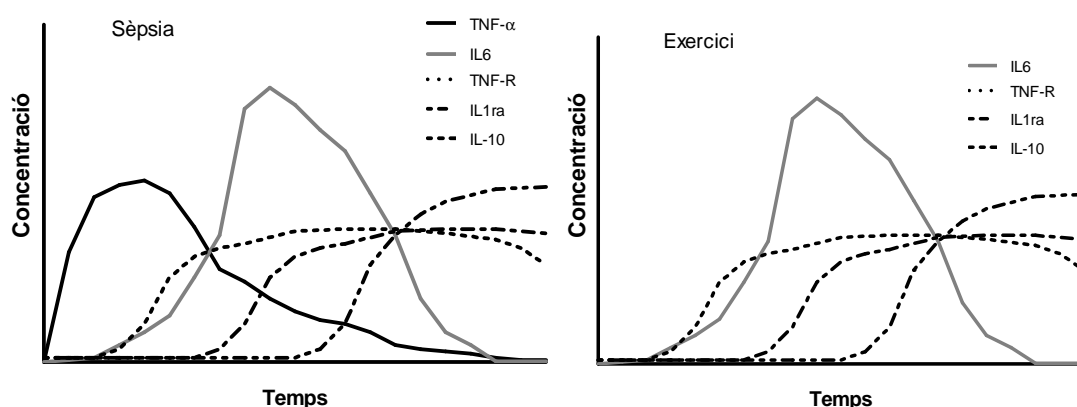


Figura 30. Canvis de les concentracions plasmàtiques de diverses citocines en la resposta de fase aguda enfront a infeccions-traumatismes, o a la pràctica d'exercici físic. (Pedersen & Febbraio, 2008).

Des de la perspectiva del sistema immune es considera que les citocines pro-inflamatòries

afavoreixen una ràpida migració dels neutròfils i monòcits cap als teixits lesionats i altres teixits metabòlicament actius; i faciliten l'inici dels processos de reparació. Tanmateix, com s'ha assenyalat, l'exercici físic no desencadena una resposta sistèmica pro-inflamatòria completa.

A continuació s'aprofundirà en els canvis observats en les citocines TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 i IL-10 i en les proteïnes de fase aguda a l'exercici físic.

### 1.3.2.1 Citocines

#### 1) TNF- $\alpha$

El TNF- $\alpha$  és una citocina pro-inflamatòria que s'associa amb la resposta inflamatòria de fase-aguda ràpida. Els nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$  elevats podrien tenir conseqüències potencialment negatives per al múscul esquelètic, ja que dificulta la captació de glucosa, i afavoreix el catabolisme de les proteïnes musculars (Abbas, Lichtman & Pober, 1994). Per tant, els nivells massa elevats de TNF- $\alpha$  podrien perjudicar els processos energètics, i també els de renovació i adaptació muscular a llarg termini.

En la majoria dels casos, en la resposta d'adaptació a l'exercici físic, les concentracions plasmàtiques de TNF- $\alpha$  gairebé no es modifiquen.

En el transcurs o en les primeres hores de la recuperació de l'esforç físic d'intensitat baixa-moderada, i en el qual les accions musculars són de predomini concèntric, no s'han observat canvis significatius de les concentracions de TNF- $\alpha$  en plasma respecte als valors inicials (Chan, Koch, Benedict & Potteiger, 2003; Henson et al., 2000; Steensberg et al., 2002). Per contra, després de realitzar esforços molt exigents, com una maratón (Nieman et al., 2001; Ostrowsky, Rohde, Zacho, Asp & Pedersen, 1998a; Ostrowsky, Rohde, Asp & Schjerling 1999; Paschalis et al., 2006), una etapa ciclista (Gannon, Rhind, Suzui, Shek, & Shephard, 1997), o menys perllongats però amb pics d'elevada intensitat, com una prova màxima en cicloergòmetre (Steinberg, Ba, Bregeon, Delliaux & Jammes, 2007), s'han detectat increments significatius d'entre el 25% i el 150% respecte als nivells plasmàtics de repòs. A més, també, s'han registrat nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$  elevats en les fases tardanes (48-72 hores) de la recuperació d'una sessió d'exercici físic amb un important predomini excèntric (Silva et al., 2008). En aquesta situació, l'increment dels nivells de TNF- $\alpha$  s'ha atribuït al dany muscular originat durant l'esforç.

L'origen del TNF- $\alpha$  que apareix en resposta a l'exercici físic podria ser el propi múscul. Diversos investigadors han notat que el múscul esquelètic pot produir ARN missatger (ARNm) de TNF- $\alpha$  (Nieman et al., 2003; Starkie, Angus, Rolland & Hargreaves, 2000; Steensberg, et al., 2002). Si el component excèntric de les accions musculars és important, el ARNm de TNF- $\alpha$  pot augmentar discretament (Nieman et al., 2003), o no modificar-se (Steensberg et al., 2002; Ostrowsky et al., 1998a). Si les accions són concèntriques no hi ha canvis del ARNm de TNF- $\alpha$  en el múscul esquelètic després de l'esforç (Chan et al., 2003; Steensberg et al., 2002). Els

monòcits també poden generar TNF- $\alpha$ , no obstant no s'ha pogut demostrar que aquests siguin la font de TNF- $\alpha$  durant l'esforç de moderada o llarga durada (Moldoveanu & Shephard, 2000; Starkie et al., 2000; Vassilakopoulous et al., 2003).

El caràcter excèntric de les accions musculars podria desencadenar la producció de TNF- $\alpha$ . Vassilakopoulous et al. (2003) opinen que els radicals lliures també poden ser responsables de la producció de citocines durant l'exercici físic per què va observar que la ingesta d'un combinat d'antioxidants neutralitzava el creixement de les concentracions plasmàtiques de citocines. No obstant, el component excèntric de les accions musculars era mínim, ja que l'esforç es va realitzar en cicloergòmetre.

La limitació de l'augment del TNF- $\alpha$  podria ser deguda a una acció inhibidora de la IL-10, la IL-1ra i/o la IL-6, que evitarien el desenvolupament d'una inflamació sistèmica completa.

## 2) IL-6

La IL-6 és una citocina de la família de les gp130, considerada com una citocina multifuncional que desenvolupa funcions pro-inflamatòries i antiinflamatòries. No es produeix constitutivament, sinó que la seva secreció és activada per les infeccions, el dany tissular, o l'exercici físic entre altres.

S'ha descrit que els nivells plasmàtics de IL-6 augmenten immediatament després de l'esforç, i segons les característiques de l'exercici físic es mantenen elevats durant la primera hora de recuperació (Davison & Gleeson, 2007; Goussetis, et al., 2009; Neubauer, Konig, & Wagner, 2008a; Nieman et al., 2007a; Ostrowsky et al., 1999, Ostrowsky, Schjerling & Pedersen, 2000; Suzuki et al., 2006) o retornen cap als nivells basals (Steinberg et al., 2007).

Segons Fisher (2006), la durada de l'activitat física és el factor més determinant del creixement de les concentracions plasmàtiques de IL-6, i n'explicaria el 50% de les variacions. Els nivells plasmàtics augmentarien exponencialment amb la durada de l'esforç (Pedersen et al., 2001). Nieman et al. (2003) assenyalen que els valors més elevats s'obtenen després d'activitats de més de 90 minuts i d'alta intensitat, i que en esforços de 3-4 hores de durada els nivells ja no augmenten més. No obstant, Bassit, Sawada, Bacurau & Navarro (2000), Goussetis et al. (2009), Neubauer et al. (2008a) i Ostrowski et al. (2000) descriuen increments de fins el 10500% després de proves molt perllongades com maratons o ultratriatlons. Per altra banda en esforços més curts els increments són menors (Lundby & Steensberg, 2004; Niess et al., 2003b) o no són estadísticament significatius (Bruunsgaard, Galbo, Halkjaer-Kristensen, Johansen, & MacLean, 1997a). Després d'una prova màxima progressiva Steinberg et al. (2007) aprecien elevacions significatives però moderades (+110%).

Per a una mateixa activitat, com per exemple, una marató, els nivells plasmàtics de IL-6 s'associen positivament amb la velocitat de la carrera. Així, a més intensitat, major concentració de IL-6 després de l'esforç (Ostrowski et al., 2000; Pedersen et al., 2001).

En models d'exercici físic amb un component excèntric important, Bruunsgaard et al (1997a) i

Ostrowski et al. (1998a, 1999) han detectat que la cinètica de la IL-6 és diferent a l'observada en les activitats físiques amb predomini del component concèntric, i que el pic màxim apareix durant la recuperació (entre les 2 i 24 hores de recuperació). En el primer estudi, els investigadors (Bruunsgaard et al., 1997a) suggerien que podria haver-hi relació entre els nivells plasmàtics de IL-6 i la producció de dany muscular, ja que varen apreciar una correlació significativa ( $r=0,78$ ) entre el nivell plasmàtic de IL-6 a les dues hores de recuperació i les concentracions plasmàtiques de creatinfosfoquinasa (CPK) a les 48 i 72 hores de l'esforç. No obstant, els resultats obtinguts per Ostrowski et al. (1998b, 1999, 2000) o Chan et al. (2003) no han pogut confirmar aquesta relació entre les concentracions plasmàtiques de IL-6 i de CPK (com a marcador de dany muscular) en la recuperació de l'esforç físic.

La font de IL-6 és diferent segons la situació que activa la seva secreció. La presència de ARNm de la IL-6 en les biòpsies musculars posteriors a l'esforç físic suggereix que en resposta a l'exercici físic, la IL-6 del plasma prové sobretot del múscul actiu (Steensberg, et al., 2002), i no tindria un origen hematopoètic (Ostrowsky, et al., 1998a). En concordança amb aquest fet, Pedersen & Fischer (2007) varen observar que al realitzar una extensió de genoll unilateral, es produïa una alliberació de IL-6 a l'extremitat exercitada que era 17 vegades superior a la de l'extremitat no activa. Aquesta excreció podria explicar part dels increments dels nivells plasmàtics de IL-6 detectats al realitzar un esforç físic. El mateix grup de recerca del Copenhagen Muscle Research Center ha demostrat que la IL-6 també podria ser generada a nivell del peritendó de l'extremitat activa, i en menor quantitat, també en el sistema nerviós central (Pedersen & Febbraio, 2008).

Com s'ha esmentat, durant i en la recuperació de l'esforç físic l'augment de la concentració plasmàtica de IL-6 no depèn de l'acció del TNF- $\alpha$  que gairebé no es modifica. Inicialment, es considerava que els canvis de les concentracions plasmàtiques de IL-6 a l'exercici físic, eren induïts pel dany muscular (Bruunsgaard et al., 1997a) o, per la presència d'endotoxina bacteriana, secundària a isquèmia intestinal. També s'ha suggerit que les catecolamines podrien estimular la secreció de IL-6, tot i que per si soles aquestes no poden explicar l'augment dels nivells plasmàtics de IL-6 durant l'esforç (Bruunsgaard et al., 1997a; Pedersen et al., 2001). Per altra banda, dades més recents assenyalen que la resposta de la IL-6 vindria determinada, principalment, per l'estat metabòlic muscular durant l'esforç físic, i que els factors determinants serien de tipus local; encara que diversos elements sistèmics puguin modelar aquesta resposta. Segons Pedersen, Akerstrom, Nielsen & Fischer (2007), la IL-6 actuaria com un "sensor d'energia" i la seva producció podria estar modelada per la disponibilitat de glucosa i d'oxigen al múscul esquelètic .

Nieman et al. (2003) i els seus col·laboradors han posat de manifest que la ingesta de solucions glicades al 6% durant l'esforç perllongat, atenua el creixement de les concentracions plasmàtiques de IL-6 i IL-10, la resposta inflamatòria i immunològica i manté els nivells de glicèmia. A més també observen que els nivells de ARNm de la IL-6 en les biòpsies musculars

posteriors a l'esforç eren inferiors quan els corredors ingerien la beguda glicada. Els resultats de Chan et al. (2003) confirmen que el creixement de les concentracions plasmàtiques de IL-6 i dels nivells de ARNm d'aquesta citocina en les biòpsies musculars posteriors a l'esforç són més exagerats quan els dipòsits de glicogen muscular són baixos. També, Steensberg, Toft, Schjerling & Halkjaer-Kristensen (2001) mostren que l'alliberació de IL-6 per l'extremitat inferior activa és superior quan prèviament s'ha fet una depleció dels dipòsits de glicogen, mentre que la ingesta de carbohidrats durant l'esforç en disminueix l'alliberació.

La hipoxèmia local o els nivells de lactacidèmia són altres factors que cal considerar. Ostrowsky et al. (1998a) varen apreciar una correlació positiva ( $r=0,76$ ) i significativa entre les concentracions plasmàtiques de IL-6 i els nivells de lactacidèmia després de 30 minuts de carrera al  $75\%VO_{2max}$ . Per contra Steensberg et al. (2001) no varen observar cap relació entre els dos paràmetres després de l'esforç en pacients afectats per mitocondriopaties musculars. Per la seva banda, Lundby & Steensberg (2004) observen que l'exposició aguda a la hipòxia no produeix canvis en els augments de la concentració plasmàtica de IL-6 en resposta a un esforç d'una mateixa intensitat relativa al  $VO_{2max}$ , mentre que al comparar intensitats absolutes, el creixement de la IL-6 és superior quan la persona és exposada a la hipòxia

Les funcions biològiques de la IL-6 són diverses. Per una banda, la IL-6 produïda durant l'esforç podria tenir un efecte de regulació del metabolisme local i de missatger entre el múscul actiu i els òrgans proveïdors de substrats energètics: el fetge i el teixit adipós. Al múscul, la IL-6 activa la captació de glucosa i l'oxidació dels greixos; mentre que a la sang, la IL-6 exerceix una acció endocrina, i afavoreix la producció hepàtica de glucosa, i la lipòlisi en el teixit adipós (Pedersen & Febbraio, 2008).

En segon lloc, la IL-6 és considerada com el principal agent inductor de la producció hepàtica de proteïnes de fase aguda en resposta a situacions d'alarma, com les sèpsies, o en menor mesura l'activitat física. No obstant, Pedersen (2000) opina que el creixement dels nivells plasmàtics de IL-6 durant l'esforç físic no és suficient per activar la producció de les proteïnes de fase aguda. També s'ha suggerit que la IL-6 alliberada en l'exercici físic tindria una acció anti-inflamatòria per mitjà de la inhibició de la producció de TNF- $\alpha$ ; la inducció de la producció de cortisol, de IL1-ra i de IL-10; i també actuaria com a facilitadora de la funció dels neutròfils (Pedersen et al., 2001).

### 3) IL-1ra

La proteïna antagonista del receptor de la interleucina 1 (IL-1ra) és un inhibidor natural de la IL-1. La IL1-ra no té activitat biològica per se, però al unir-se competitivament als receptors de la IL-1 impedeix que aquesta darrera exerceixi les seves accions inflamatòries.

### 4) IL-10

La IL-10 és una citocina anti-inflamatòria que exerceix una acció inhibidora de la producció i activitat de les citocines pro-inflamatòries, i podria, en part, ser responsable d'atenuar la resposta inflamatòria aguda generada per l'exercici físic i el dany muscular (Silva et al., 2008).

Aquesta citocina es produïda per diverses subpoblacions limfocitàries, pels macròfags activats i per algunes cèl·lules no limfocítiques. Com ja s'ha indicat, es considera que les concentracions plasmàtiques de IL-10 podrien créixer en resposta a l'acció de la IL-6 (Pedersen & Febbraio, 2008).

En les activitats físiques on les accions musculars són concèntriques i no s'acompanyen de dany muscular, les concentracions plasmàtiques de IL-10 no es modifiquen. Per contra, diversos estudis han destacat que les concentracions plasmàtiques de IL-10 augmenten significativament immediatament després de l'exercici físic perllongat (MacIntyre, Sorichter, Mair & Berg, 2001; Nieman et al., 2001, 2003 i 2007; Ostrowski et al., 1999; Suzuki et al., 2006). També s'ha descrit que aquestes poden mantenir-se elevades, tant en les fases primerenques (90') de la recuperació d'una marató (Nieman & Henson, 2001); com en les fases més tardanes; per exemple a les 24 hores de finalitzar una ironman (Neubauer, et al., 2008a) o a partir dels 2-4 dies posteriors a la sessió d'entrenament, si l'esforç ha estat de naturalesa excèntrica (Silva et al., 2008; Smith, et al. 2000).

## 5) IL-8

La IL-8 forma part de la família CXC de les quimiocines, que actua com un factor quimiotàctic i activador dels neutròfils, i que a més també té propietats angiogèniques.

Sembla que en les activitats de moderada intensitat i d'una durada mitjana no es produeixen alteracions significatives dels nivells plasmàtics de IL-8 (Niess et al., 2003b); tot i que en ocasions la concentració intramuscular augmenta i existeix un flux net d'alliberament d'aquesta citocina cap al plasma (Akerstrom, et al., 2005; Chan, Carey, Watt & Febbraio, 2004). Per contra, s'han detectat increments mitjans-altos de les concentracions plasmàtiques de IL-8 en la recuperació d'activitats perllongades, com maratons i ultramaratons (Goussetis et al., 2009; Nieman, et al., 2001; Nieman et al., 2002; Nieman et al., 2003; Ostrowski, Rohde, Asp, Schjerling & Pedersen et al., 2001; Suzuki, et al., 2003). A més de la durada, la intensitat de l'esforç també pot ser un factor determinant dels canvis plasmàtics de IL-8. Per exemple, Mucci, Durand, Lebel & Bousquet (2000) assenyalen que les concentracions arterials de IL-8 varen créixer al realitzar una prova màxima progressiva en cicloergòmetre. Per altra banda també s'ha plantejat que les concentracions elevades de cortisol podrien atenuar l'alliberació de IL-8 en els esforços molt perllongats (>180h) (Akerstrom et al., 2005).

En resposta a estímuls inflamatoris la IL-8 és produïda en diverses cèl·lules com: macròfags, monòcits, cèl·lules endotelials. En l'adaptació a l'exercici físic, la IL-8 també pot originar-se en el múscul esquelètic (Akerstrom et al., 2005; Chan et al., 2004; Nieman et al., 2003) i augmentar-ne molt la seva concentració local. Akerstrom et al. (2005) aprecien que les fibres

musculars no expressen IL-8 en repòs, però als 90 minuts de la recuperació de 3 hores de cicloergòmetre, tant les fibres musculars tipus I, com les tipus II, expressen IL-8 al sarcoplasma, al sarcolemma, i també a l'endoteli. Aquest increment assoleix el pic màxim entre les 3 i 6 hores de recuperació, i desapareix a les 24 hores.

En resposta a l'exercici físic el múscul esquelètic augmenta la producció i alliberació muscular de IL-8 però aquests canvis no sempre queden reflectits clarament en les concentracions plasmàtiques (Akerstrom et al., 2005; Chan et al., 2004). Això podria indicar que aquesta quimiocina/miocina exerciria la seva acció a nivell muscular local, més que a nivell sistèmic. Segons Pedersen & Febbraio (2008) la IL-8 podria actuar com un estimulador de l'angiogènesi a llarg termini. En canvi l'acció sistèmica de la IL-8 podria estar relacionada amb el dany muscular i la resposta inflamatòria; així en la recuperació de l'esforç, els neutròfils, i altres cèl·lules seran atrets cap als músculs per exercir funcions d'adaptació i remodelació muscular.

### 1.3.2.2 Proteïnes de fase aguda

La reacció de fase aguda consisteix en una alteració brusca de la composició proteica del plasma que apareix en resposta a estímuls lesius, com infeccions, traumatismes, sèpsies... i exercici físic. Les proteïnes que augmenten en plasma són la proteïna C reactiva (CRP), l'amiloide sèric A (SAA), la  $\alpha_2$ -macroglobulina i el fibrinogen. Mentre que l'albumina, l'haptoglobina, la ceruloplasmina i la transferrina disminueixen. La reacció de fase aguda es caracteritza per la rapidesa del seu inici però pot perdurar un període llarg i conduir a un estat d'inflamació crònica. Algunes de les proteïnes que augmenten en plasma, com la CRP i el SAA, s'han relacionat amb el risc cardíoc-vascular i un mal funcionament orgànic.

#### 1) Proteïna C reactiva

La proteïna C reactiva (CRP), és una proteïna que es produeix al fetge en resposta a estímuls inflamatoris. Afavoreix la fagocitosi bacteriana i cel·lular, i també pot activar l'expressió de molècules d'adhesió en les cèl·lules endotelials i reduir la disponibilitat de sintetasa de l'òxid nítric. La CRP també participa en la inducció de citocines anti-inflamatòries i la supressió de la síntesi de citocines pro-inflamatòries (Petersen & Pedersen, 2005).

Es considera que la IL-6, i també la IL-1 i el TNF- $\alpha$ , activen la producció hepàtica de CRP. Com que la IL-6 augmenta molt després de l'esforç, i en menor mesura també el TNF- $\alpha$ , es podria esperar que es provoqués una estimulació de la producció hepàtica de CRP. No obstant en els estudis duts a terme per Castell, Poortmans, Leclercq, Brasseur & Duchateau (1997) i Niess et al. (2003), immediatament després de l'esforç les concentracions de IL-6 eren superiors a les inicials, però no s'acompanyaven de canvis de la concentració de CRP.

Diversos estudis han examinat l'evolució dels nivells plasmàtics de CRP al realitzar un esforç físic. La majoria fan referència a esforços de molt llarga durada, com maratons o ultratriatlons. En aquest tipus de competicions, els autors aprecien increments marcats de la concentració

plasmàtica de CRP en les fases tardanes de la recuperació però no en les primeres hores després de finalitzar la cursa (Castell et al., 1997; Fallon, 2001; Strachan, Noakes, Kotzenberg, Nel & de Beer, 1984; Suzuki et al., 2006; Taylor et al., 1987; Weight, Alexander & Jacobs, 1991). L'augment de CRP s'acompanya del creixement d'altres marcadors d'inflamació, com la IL-1 (+48%) (Weight et al., 1991), cortisol (Taylor et al., 1987); o de marcadors de dany muscular, per exemple CPK ( Taylor et al., 1987; Weight et al., 1991).

En contraposició a aquestes dades, més recentment, Tomaszewski et al. (2003) han detectat un increment del 600% de la concentració plasmàtica de CRP transcorreguts 10 minuts de la finalització d'una maratón. Els participants eren corredors entrenats que presentaven nivells molts baixos de CRP en repòs i els valors registrats després de la cursa no eren clínicament rellevants. Siegel et al. (2001) obtenen resultats similars. En canvi, Goussetis et al. (2009) i Neubauer et al. (2008a) registren increments notables, immediatament i a les 48h de proves de molt llarga distància (ultramaratón i ultratriatló).

Sembla que la resposta de la CRP seria proporcional a la durada de l'activitat i al dany muscular produït en competicions de carrera de 15 a 88 km (Strachan et al., 1984). En totes les curses el pic màxim de concentració de la proteïna C reactiva es produïa a les 24 hores. En les curses de 15 i 21 km els augments són discrets, mentre que després de les curses de 42 (maratón) i 56 km, aquests són majors. En aquestes distàncies, al finalitzar la cursa encara no s'apreciaven modificacions de les concentracions plasmàtiques, mentre que en les distàncies més llargues, com les ultramaratons de 88km (11 hores de durada) les concentracions de proteïna C reactiva ja s'havien elevat immediatament després de l'esforç. També en les ultramaratons, els valors màxims enregistrats en el zenit varen ser els més elevats de les tres curses. Per contra Taylor et al. (1987) no detecten cap augment de les concentracions plasmàtiques de CRP fins passades 24 hores de la recuperació de la ultratriatló de 166 km. En una ultramaratón de 6 dies de durada Fallon et al. (2001) observen que els nivells plasmàtics de CRP augmenten. El pic màxim es va assolir a les 48 hores i al llarg dels subsegüents dies els nivells es varen mantenir per sobre dels inicials, amb tot, tendien a disminuir lleugerament.

Per altra banda, els resultats obtinguts per Niess et al. (2003) indiquen que en corredors entrenats, les activitats físiques de moderada intensitat i d'una durada mitjana no produeixen canvis significatius dels nivells plasmàtics de CRP. Tampoc es varen observar canvis de la CRP sèrica, en dones sedentàries, després de caminar durant 30 minuts a intensitats baixes-moderades (Davis et al., 2008).

La modalitat i la massa muscular activa durant l'esforç també poden influir; per exemple, Nosaka & Clarkson (1996) no aprecien canvis significatius dels nivells plasmàtics de CRP, ni de cortisol al fer 24 accions de tipus excèntric amb els músculs flexors del colze, malgrat que els indicadors de dany muscular (CPK) varen augmentar considerablement. Tampoc Pyne et al. (1997) observen modificacions de la CRP en les adaptacions posteriors a la cursa ascendent.

L'evolució de la resposta de la CRP també podria variar en funció del nivell de condició física



dels participants. Drenth, Krebbers, Bijzer & van der Meer (1998) no registren canvis de la CRP en la recuperació immediata d'una cursa de 5 km, però aprecia un lleuger augment significatiu a les 16h de la recuperació. Sorpren aquest resultat ja que els participats eren esportistes de lleure i per tant es podria esperar que estiguessin avesats a aquesta distància.

Malgrat que en la resposta aguda a l'exercici físic, els increments de CRP són percentualment importants (+600%), els nivells plasmàtics registrats al finalitzar la marató es trobaven en els límits de la normalitat (Tomaszewski et al., 2003). L'augment de CRP no s'associava a modificacions de les molècules d'adhesió E-Selectina i ICAM-1, indicadors d'inflamació vascular. Per tant, segons Plaisance & Grandjean (2006) és poc probable que s'augmenti el risc cardíoc-vascular immediatament després de l'esforç.

Tanmateix, tot i que la CRP pugui elevar-se després de l'exercici físic, l'activitat física regular s'ha associat a una reducció dels nivells plasmàtics de CRP, la qual cosa es relaciona amb una disminució del risc de patir diverses malalties de tipus cardíoc-circulatori ((Kasapis & Thompson, 2005).

## 2) Amiloide A sèric

L'amiloide A sèric (SAA) és una proteïna formada al fetge en la resposta de fase aguda. La persistència de nivells plasmàtics elevats pot afavorir la formació de dipòsits d'amiloide A localitzats a l'espai intersticial e interferir amb la funció tissular. L'amiloide A sèric també pot formar complexos amb les lipoproteïnes plasmàtiques (SAA-LDL) i s'associa amb un major risc cardíoc-vascular en pacients amb síndrome metabòlica (Kotani et al., 2009).

Pocs estudis han analitzat els efectes de l'exercici físic sobre les concentracions plasmàtiques de SAA però en general sembla que en les activitats molt perllongades el SAA augmenta considerablement, en particular durant la fase de recuperació tardana (Taula 15).

Taula 15. Canvis de la concentració de l'amiloide A sèric després de l'exercici físic

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat Durada Intensitat	Pre	Post (% Δ vs Pre)	24h-48h (% Δ vs Pre)
Drenth (1998)	7 H+3 D 32,7 (8,4) E	Carrera 5 km	0,2 ng·mL <sup>-1</sup>	NS	+150**
Suzuki (2006)	9 H 34 (5) E	Ironman 6-7h	4,8 µg·mL <sup>-1</sup>	NS	+4700**
Goussetis (2009)	10 H 42,8 (1,4) E	Spartatlon (246km) 36h	2,7 mg·L <sup>-1</sup>	NS	+14900**

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). H: homes; D: dones; AF: activitat física regular; E: esportistes que entrenen; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç. \*\* canvi estadísticament significatiu respecte al valor inicial. NS: canvi no significatiu. Normal <8 µg/mL (Suzuki et al., 2006).

### 1.3.2.3 Activitats en intervals

Son escassos els estudis que han valorat les alteracions de les citocines plasmàtiques en les activitats en intervals (Taula 16). La majoria han estat duts a terme pel mateix equip investigador del Department of Health and Exercise Science de la Appalachian State University.

Taula 16. Característiques dels participants i protocols de diverses activitats físiques en intervals en la recuperació de les quals s'han analitzat les concentracions plasmàtiques de diverses citocines o de la proteïna C reactiva.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Sèries		Pauses	Temps	Marcador
			Nombre Durada	Intensitat	Durada	Efectiu Total	
Henson (2000)	15D 22,4 (0,5) E	Rem	8 x 15'	57% VO <sub>2max</sub>	3'	120' 150'	IL-6 IL-8 TNF-α CRP
Nieman (2000a)	10H + 10D 14-18 anys E	Tenis	8 x 15'	81% FC <sub>max</sub>	4-5'	No indica 120'	IL-6 IL1-ra
Nieman (2007a)	12H 21,0 (1,0) E	Ciclo- ergòmetre	12 x 10'	74% VO <sub>2max</sub>	3'	120' 153'	IL-6 IL1-ra IL-8 IL-10
Niess (2003)	12H 26,6 (22,3- 30,8) E	Carrera	10 x 1000m (3'20")	112% IAT	2'	34' 52'	IL-6 IL-8

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes entrenats; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; FC<sub>max</sub>: freqüència cardíaca màxima; IAT: llindar anaeròbic individual; V<sub>IAT</sub>: velocitat al llindar anaeròbic individual; V<sub>max</sub>: velocitat màxima; IL: citocina; TNF-α: factor de necrosi tumoral α; CRP: proteïna C reactiva.

Les concentracions plasmàtiques de TNF-α i de CRP no varen canviar significativament després de 150' de rem en intervals de llarga durada (Henson et al., 2000). Les concentracions plasmàtiques de IL-6 després d'aquesta sessió, o després de 120' de la sessió d'entrenament de tenis tampoc es varen modificar. Per contra, després de les sessions en cicloergòmetre (Nieman et al. 2007a), a una intensitat superior a la de les activitats de rem o tenis, o de la carrera en intervals (Niess et al., 2003), la IL-6 va augmentar significativament immediatament després de l'esforç, i es va mantenir elevada als 60 minuts de recuperació. No obstant, en les sessions en cicloergòmetre, l'increment va ser similar al registrat en una activitat de la mateixa intensitat i durada de treball efectiu però contínua (Nieman et al., 2007a). En aquesta activitat les concentracions plasmàtiques de IL-10 també augmenten immediatament i es mantenen elevades durant la recuperació (Nieman et al. (2007a). Els canvis observats també eren semblants als de l'esforç continu.

La modalitat de l'exercici, i especialment la tipologia de les accions musculars realitzades (excèntric/concèntric) també pot determinar la resposta de la IL-8. En algunes ocasions no s'han apreciat canvis significatius de les concentracions plasmàtiques de IL-8 (Henson et al.,

2000; Niess et al., 2003) i en d'altres es produeixen augments significatius (+70%) (Nieman, 2007a).

Les concentracions de IL-1ra augmenten immediatament després de dues hores d'exercici físic (+111%) i retornen als valors inicials si l'esforç ha estat moderat (Nieman et al., 2000) o segueixen augmentant (+719%) durant la recuperació si la càrrega de l'esforç en intervals és més exigent (Nieman et al. 2007a). Els canvis observats per Nieman et al. (2007a) en l'evolució de la IL-1ra en l'esforç en intervals són similars als d'un esforç de les mateixes característiques (durada efectiva, intensitat, modalitat) però continuu.

En resum, a resultes de les adaptacions agudes a l'exercici físic es produeix una modificació transitòria de la composició de les cèl·lules del sistema immune circulants en sang, caracteritzada per un augment del nombre de neutròfils i una reducció del de limfòcits, especialment NK, CD8+ i LT. Els paràmetres funcionals també es veuen alterats i s'aprecia l'activació d'algunes cèl·lules, una disminució de la capacitat de lisi global, i l'alliberació de factors solubles.

L'acció de l'exercici físic sobre la dinàmica i la funció del sistema immune és mediada per diversos factors que comprenen les citocines pro i anti-inflamatòries alliberades, les hormones d'estrès, i els efectes hemodinàmics. La natura de les interaccions és complexa, amb modificacions de les molècules d'adhesió, de l'apoptosi i de la mitosi, entre altres. (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000).

A primera vista, els canvis són lleus i amb poques probabilitats de tenir repercussions negatives per a la salut, excepte si l'esforç és molt exigent i/o és va acumulant en el temps. Tal com indiquen Nieman et al. (1997), a partir de les evidències actuals es podria considerar que l'activitat física de curta-mitjana durada (<60 minuts) i de baixa-moderada intensitat (<60%VO<sub>2max</sub>) té poques conseqüències per a la funcionalitat del sistema immune; mentre que una activitat de llarga durada (>60 minuts) i/o elevada intensitat tindrà efectes molt més importants.

En l'activitat física en intervals les alteracions són similars a les observades en l'activitat contínua de la mateixa intensitat i durada de treball.

## 1.4 Exercici físic i estat redox

En els darrers anys els coneixements de la relació entre l'esforç físic i l'estrès oxidatiu s'han ampliat notablement. Es considera que el grup de Davies, Quintanilha, Brooks & Parker (1982) va ser un dels primers equips investigadors que varen posar de manifest, en rosegadors, que l'activitat física esgotadora augmenta la producció de radicals lliures derivats de l'oxigen. No obstant, uns anys abans, Brady i Dillard (citats a Powers & Jackson, 2008) ja havien apreciat un increment de la peroxidació lipídica durant l'exercici físic en humans. Des d'aleshores s'han publicat nombrosos estudis, en animals i en humans, que analitzen els vincles entre l'estat redox de l'organisme i l'activitat física (Figura 31).

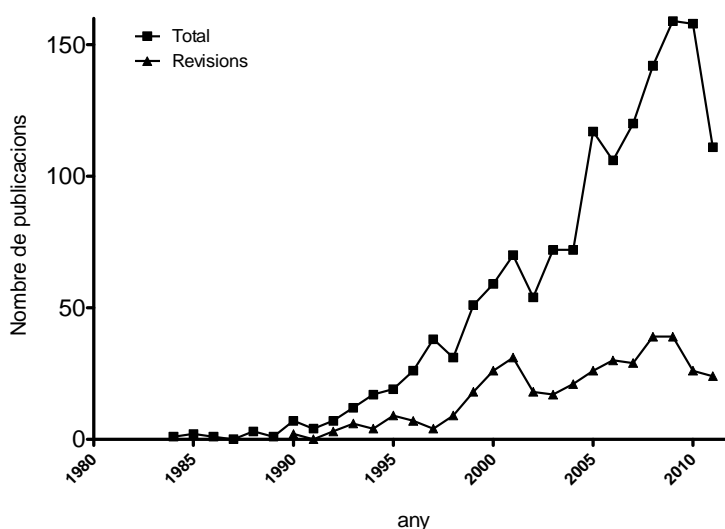


Figura 31. Nombre anual de documents indexats a la base de dades Pubmed que fan referència a humans i que tenen en compte la relació entre l'exercici físic o l'activitat física i l'estat redox.

L'equació de cerca va ser "(oxidative stress [Mesh terms] or free radicals [Mesh terms]) and (exercise [Mesh terms] or physical activity [Mesh terms]). Des de gener 1980 fins desembre 2011 s'han publicat més de 1300 documents; 361 dels quals són revisions.

Les principals àrees d'interès d'aquest àmbit són l'efecte de l'exercici físic agut i de l'entrenament sobre l'estat redox de l'organisme; l'efecte dels radicals lliures sobre la força i la fatiga muscular; el paper dels radicals lliures en les vies de senyalització cel·lular relacionades amb les adaptacions a l'entrenament esportiu o la inactivitat, o amb els efectes saludables de l'exercici físic regular en persones sanes o amb malalties cròniques. Una àrea d'estudi particularment activa és la que fa referència a l'ús dels suplementos antioxidants com a reguladors de l'estat redox i de la prestació esportiva. El camp d'estudi de les relacions entre l'exercici físic i l'estat redox és doncs molt ampli. Per això, considerant els objectius d'aquest treball, en els apartats següents es farà especial referència a l'estat redox de l'organisme en resposta a les adaptacions agudes a l'exercici físic en humans. No s'han tingut en compte els estudis centrats en els efectes de suplementos antioxidants, ni en els efectes a llarg termini de l'entrenament esportiu.

## 1.4.1 Fonts de radicals lliures i exercici físic

### 1.4.1.1 Espècies reactives de l'oxigen i el nitrogen (RONS)

Els radicals lliures són molècules, o fragments moleculars, altament reactives i amb una vida mitjana molt curta, que contenen un o més electrons desaparellats en els seus orbitals. Reaccionen fàcilment amb altres molècules pròximes desencadenant reaccions en cadena que poden causar danys moleculars importants.

Els radicals lliures poden provenir de diferents compostos com: els àtoms d'hidrogen (H), l'oxigen molecular (O<sub>2</sub>), diversos metalls (Fe i Cu), o qualsevol molècula que, pel trencament d'enllaços o al rebre electrons, pot convertir-se en un radical lliure (Taula 17). Els més coneguts formen part de les espècies reactives derivades de l'oxigen (ROS, *reactive oxygen species*). També existeixen espècies reactives derivades del nitrogen que s'anomenen RNS (*reactive nitrogen species*), o del sofre (RSS, *reactive sulphur species*).

Taula 17. Principals espècies reactives de l'oxigen i del nitrogen (RONS)

	Denominació	Abreviatura	Vida mitjana a 37°C	Efectes principals
Radicals	Superòxid	O <sub>2</sub> <sup>•</sup>	10 <sup>-5</sup> s	És poc reactiu però és capaç de donar lloc a altres radicals molt més reactius.
	Hidroxil	<sup>•</sup> OH	10 <sup>-9</sup> s	És molt reactiu.
	Alcoxil	L(R)O <sup>•</sup>	10 <sup>-6</sup> s	
	Hidroperòxid	HOO <sup>•</sup>		Es l'àcid conjugat de l'anió superòxid, i és present en solució aquosa a concentracions dependents del pH
	Peròxid	(R)OO <sup>•</sup>	7 s	
	Òxid nítric	NO <sup>•</sup>	3-5 s	Es produït per l'oxidació dels àtoms de guanina-nitrogen de la L-arginina. El procés és catalitzat per la NOS. Per ell mateix és poc reactiu i a vegades és considerat com a antioxidant en la peroxidació lipídica, però en presència de superòxid forma peròxid nítric, que és un oxidant molt potent
	Diòxid de nitrogen	NOO <sup>•</sup>	1-10 s	
No radicals	Peroxinitrit	ONOO <sup>•</sup>	0,05 <sup>-1</sup> s	És altament oxidant
	Hipocloròs	HOCl	estable	
	Hidroperòxid	L(R)OOH	Varis s	En presència de ions de metalls de transició, permet la formació de radicals alcòxid i peròxid
	Oxigen singulet	<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	10 <sup>-6</sup> s	No és un radical
	Peròxid d'hidrogen	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	estable	No és un radical lliure però és tòxic per què travessa fàcilment les membranes cel·lulars

NOS: sintetasa de l'òxid nítric. Adaptat de Finaud et al. (2006) i Jové (2010).

Els radicals lliures, procedents de l'oxigen o el nitrogen, més rellevants en la regulació de les funcions biològiques són el superòxid i els seus derivats, i també l'òxid nítric (Dröge, 2002).

Els coneixements actuals indiquen que una de les repercussions de les adaptacions fisiològiques i cel·lulars a l'esforç físic és l'increment de la producció de molècules pro-oxidants. La majoria d'estudis assumeixen que el múscul esquelètic actiu n'és el principal productor durant l'exercici físic (Figura 32). Tot i així, no s'ha d'oblidar que també existeixen altres teixits amb potencialitat pro-oxidant, com el miocardi o els leucòcits.

#### 1.4.1.2 Processos musculars productors de RONS

A continuació es descriuen breument diversos mecanismes pels quals la fibra de múscul esquelètic podria generar radicals lliures durant l'esforç físic.

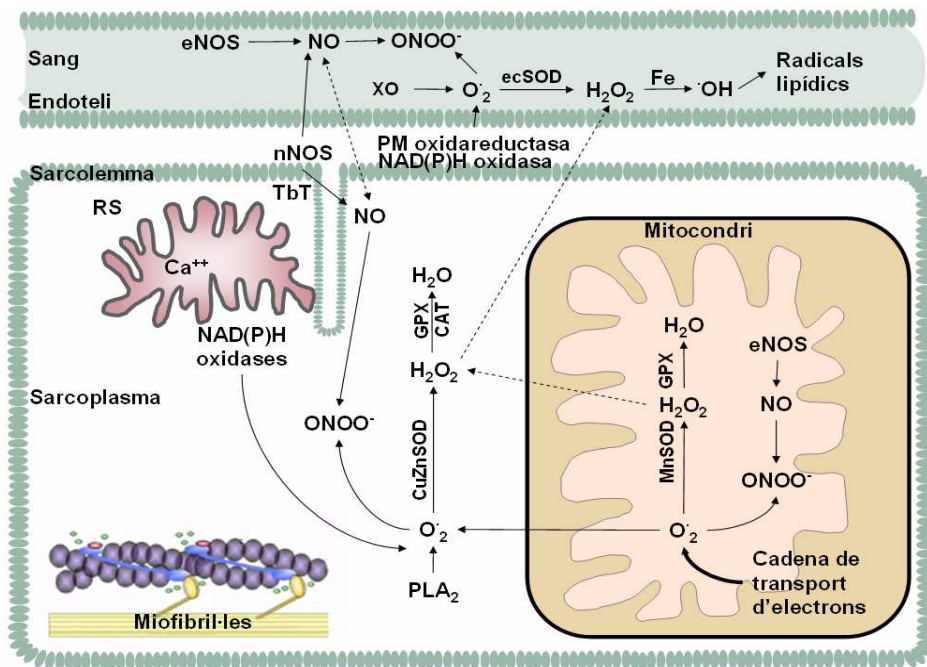


Figura 32. Localitzacions de la fibra muscular on es poden originar els radicals lliures. RS: reticle sarcoplasmàtic; TbT: túbuls T; nNOS: isoforma neuronal de sintetasa de l'òxid nítric; eNOS: isoforma endotelial de sintetasa de l'òxid nítric; SOD: superòxid dismutasa; GPX: glutatió peroxidasa; CAT: catalasa; PLA<sub>2</sub>: fosfolipasa A<sub>2</sub>; XO: xantina oxidasa (Adaptat de Powers & Jackson, 2008)

En el múscul esquelètic, l'activitat física s'acompanya d'un augment del consum d'oxigen i d'un increment del flux d'electrons per la cadena respiratòria. En aquesta, petites quantitats d'O<sub>2</sub> es reduiran de forma incompleta generant una major producció de radicals superòxid. Es considera que entre 1 i 5 % de l'oxigen utilitzat en els mitocondris es transforma en superòxid. Els principals llocs de producció serien els complexos I i III de la cadena respiratòria. Tanmateix, dades recents suggereixen que es pot haver sobreestimat la contribució dels mitocondris a la producció de radicals lliures durant l'esforç (Bailey et al., 2007). En un estudi,

basat en el model experimental escandinau d'exercici físic unilateral de l'extremitat inferior, Bailey et al. (2007) no observen cap relació entre la densitat mitocondrial o el  $\text{VO}_2$ , de l'extremitat activa i la concentració de radicals lliures en el flux sanguini procedent d'aquesta extremitat. Segons Powers & Jackson (2008) les proteïnes desacopladores (UCP3) exercirien un efecte protector dels mitocondris i podrien explicar el baix flux de ROS. A més, segons Gómez-Cabrera (2004) és poc probable que els radicals lliures travessin lliurement les membranes evadint-se de l'acció dels sistemes antioxidants. Powers & Jackson (2008) també indiquen que durant l'esforç els mitocondris es troben en l'estat 3 i que en aquesta situació produeixen menys ROS que en l'estat 4, que correspon al basal. A més, recentment s'ha observat, en rosegadors, que les fibres musculars tipus II produeixen més ROS que les de tipus I que són més oxidatives (Anderson, 2006, citat a Powers & Jackson, 2008).

També s'ha assenyalat que els processos dependents de la fosfolipasa  $A_2$  ( $\text{PLA}_2$ ) poden ser responsables de la producció de superòxid a la fibra muscular. La  $\text{PLA}_2$  trenca els fosfolípids de la membrana i forma àcid araquidònic que al seu torn és un substrat per a les NAD(P)H oxidases i la formació de ROS.

La major producció de potencials d'acció nerviosos i musculars durant les accions musculars podria afavorir la formació de  $\text{O}_2^{\cdot-}$  per mitjà dels enzims de tipus NAD(P)H oxidasa (Finaud et al., 2006). Les NAD(P)H oxidases produeixen superòxid i es relacionen amb l'alliberació de  $\text{Ca}^{++}$  del reticle sarcoplasmàtic. En el múscul s'han localitzat NAD(P)H oxidases al reticle sarcoplasmàtic, als túbuls T, i al sarcolemma. La NAD(P)H oxidasa, per generar superòxid, utilitza el NAD(P)H com a substrat. Aquest darrer augmenta durant l'esforç físic.

També s'ha considerat que l'acció de la xantina oxidasa (XO) pot ser una via alternativa per a la producció de radicals lliures. Aquesta es troba present en la majoria dels teixits humans, especialment a l'endoteli capil·lar, però també, encara que en poca quantitat, a la fibra muscular. La xantina oxidasa catalitza un conjunt de reaccions que converteixen la hipoxantina en àcid úric. Habitualment un 80-90% de la XO es troba en forma deshidrogenada i utilitza el  $\text{NAD}^+$  (nicotinamida adenina dinucleòtid) com acceptor d'electrons. Durant l'exercici físic es converteix a la seva forma oxidada i, utilitza de preferència el  $\text{O}_2$  molecular com acceptor d'electrons, que al ser reduït formarà el radical superòxid (Knez, Coombes & Jenkins, 2006). Els estímuls relacionats amb l'esforç físic que faciliten l'acció de la xantina oxidasa podrien ser la degradació de l'ADP, l'alliberació de  $\text{Ca}^{++}$  intracel·lular, l'estrès tèrmic o fenòmens de desoxigenació, similars als d'isquèmia-reperfusió (Knez et al., 2006).

També s'ha observat que en el múscul esquelètic es produeix contínuament òxid nítric ( $\text{NO}^*$ ) i aquest augmenta amb les accions motrius. A la fibra muscular s'expressen diverses isoformes de sintetasa de l'òxid nítric: la neuronal (nNOS) i la endotelial (eNOS). La eNOS es localitza als mitocondris. Globalment, la NOS és més abundant a les fibres musculars de tipus II que les de tipus I.

Els peroxisomes contribueixen a generar  $H_2O_2$  associat a l'oxidació dels àcids grassos i dels aminoàcids. Com que en l'esforç perllongat els àcids grassos són un substrat energètic important, els peroxisomes podrien ser, en part, responsables de la producció de radicals lliures en aquest tipus d'activitats. Tot i així, segons Gómez-Cabrera (2004) no existeixen evidències directes que confirmin aquesta hipòtesi.

#### 1.4.1.3 Altres processos productors de RONS

L'ambient pro-oxidant derivat de l'activitat física també s'ha relacionat amb processos que tenen lloc fora de la fibra muscular pròpiament dita.

- Les reaccions inflamatòries desencadenades per les lesions o microlesions cel·lulars conseqüència de l'exercici físic generen radicals lliures. Els leucòcits amb funcions fagocitàries (neutròfils, monòcits, macròfags) utilitzen NAD(P)H oxidasa i NOS induïda (iNOS) per a generar de forma programada RONS que els permeten dur a terme les funcions immunològiques.
- Altres mecanismes que podrien estar implicats en el creixement de la formació de radicals lliures durant l'exercici podrien ser:
  - Les catecolamines, que solen augmentar durant l'activitat física, podrien autooxidar-se formant radicals lliures. Aquest fenomen podria estar associat a fenòmens d'isquèmia reperfusió (Ji, 1999)
  - L'autooxidació de l'hemoglobina i la mioglobina pot afavorir la producció de radicals lliures. La degradació d'aquestes proteïnes i la consegüent alliberació de ferro també pot contribuir a l'ambient pro-oxidant de l'exercici físic (Finaud, Lac & Filaire, 2006).
  - La producció d'àcid làctic per les fibres musculars actives, el qual pot transformar l' $O_2^{\bullet -}$  en  $OH^{\bullet}$  (Finaud et al., 2006).
  - L'efecte de diverses citocines (per exemple, TNF- $\alpha$ ) i factors de creixement que podrien desencadenar la producció intracel·lular de RONS al interaccionar amb els seus receptors de membrana (Thannickal & Fanburg 2000).

Així mateix, durant l'esforç físic també existeixen factors que activen o faciliten l'acció de les reaccions productores de RONS, com pot ser l'increment de les concentracions de  $Ca^{++}$  al sarcoplasma o de la temperatura corporal

#### 1.4.1.4 Modalitat de l'esforç físic

Les fonts productores de RONS poden ser distintes segons la modalitat de l'activitat física. La majoria d'autors atribueixen l'increment de la producció de RONS, que associa a l'exercici físic de tipus aeròbic, a l'activació dels mitocondris que s'acompanyaria d'un major consum d' $O_2$  i de la producció del radical superòxid. Mentre que en el cas dels esforços físics de predomini anaeròbic, les fonts proposades són les reaccions xantina oxidasa i NAD(P)H oxidasa



(Bloomer, Goldfarb, Wideman, McKenzie & Consitt, 2005), les majors concentracions d'àcid làctic i de catecolamines, els fenòmens d'isquèmia-reperfusió (Finaud et al. 2006), l'excés de  $Ca^{++}$  i la disrupció de les proteïnes que contenen ferro (Bloomer et al., 2005).

### 1.4.2 Efectes biològics dels RONS

Les conseqüències de la producció de RONS són diverses. Malgrat que la major part dels estudis solen centrar-se en les repercussions nocives dels RONS, aquests també tenen efectes positius importants, i fins i tot indispensables, per al funcionament cel·lular. Com s'ha indicat abans (pàgina 87) els radicals lliures són essencials en la resposta immune, especialment durant el procés de fagocitosi. Però també són fonamentals en altres funcions biològiques, com la regulació del flux sanguini, de la ventilació o de la síntesi d'eritropoetina, entre altres (Dröge, 2002). El control del sistema biològic per part dels radicals lliures pot tenir lloc a qualsevol nivell; des de l'expressió genètica, la regulació de les vies de senyalització cel·lular, a la modulació directa de les funcions cel·lulars, per exemple la manifestació de la força durant les accions musculars (Reid, 2001).

Els efectes nocius dels RONS són conseqüència de la seva capacitat per a modificar la forma i la grandària dels components amb els quals reaccionen, per exemple lípids, proteïnes o àcids nucleics. Els RONS poden generar alteracions que condueixen a la pèrdua de les funcions normals dels compostos modificats, amb ulteriors conseqüències negatives per a les cèl·lules. Per una descripció detallada de les transformacions químiques causades pels radicals lliures es pot consultar Jové (2010) i Naudi (2010).

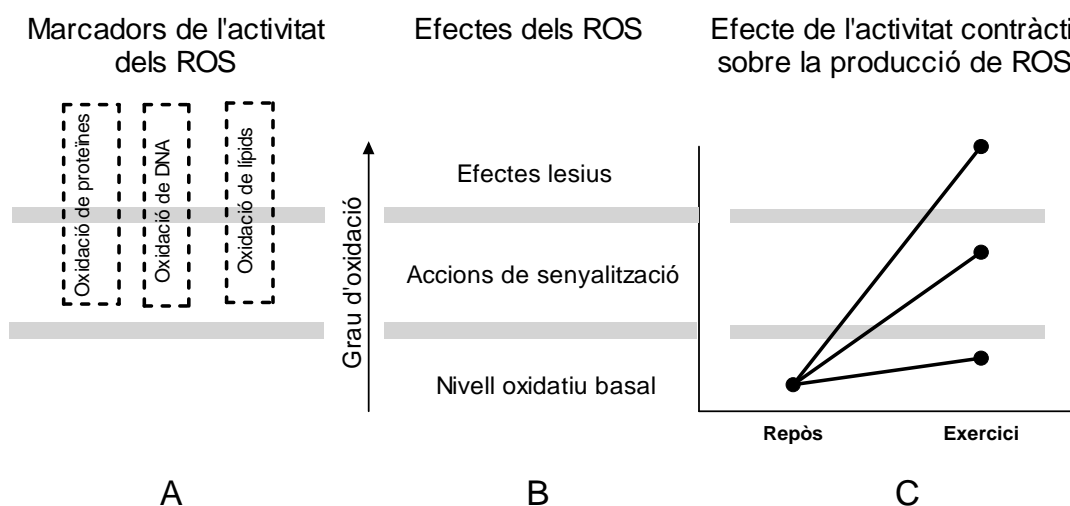


Figura 33. Estat redox i activitat contràctil: model proposat per Powers & Jackson (2008).

A mesura que augmenta la producció de radicals lliures derivats de l'oxigen (ROS), l'oxidació dels components cel·lulars és major (A) i es pot arribar a causar dany cel·lular (B). L'activitat física pot generar ROS (o RONS) però la magnitud de la resposta és variable segons la natura, intensitat i durada de les accions musculars (C).

Per explicar els efectes biològics dels RONS, Powers & Jackson (2008) proposen el model representat a la Figura 33. Segons aquest model, en un sistema biològic, la presència de baixes concentracions de RONS afectarà a les reaccions i vies de senyalització sensibles a l'estat redox. Aquests no seran lesius, produint fatiga aguda o dany oxidatiu, fins que s'assoleixin nivells prou elevats i suficientment duradors.

Així, segons el model, durant l'activitat física els RONS són formats en el múscul esquelètic, però els seus efectes i la magnitud de la resposta serà diferent segons la natura, intensitat i durada de les accions musculars.

A la fibra muscular existeixen diverses localitzacions que poden ser sensibles als RONS (Figura 34). En conjunt sembla que els RONS modulen l'activitat muscular per mitjà de la regulació de l'homeòstasi del  $\text{Ca}^{++}$  i del grau de sensibilitat de les proteïnes que conformen els miofilaments. Per una banda els ROS activen la sortida de  $\text{Ca}^{++}$  del reticle sarcoplasmàtic afavorint l'obertura dels canals de  $\text{Ca}^{++}$ ; i per l'altra dificulten el seu retorn al reticle al inhibir l'acció de la bomba de  $\text{Ca}^{++}$  (ATPasa dependent del  $\text{Ca}^{++}$  del reticle sarcoplasmàtic: SERCA). A elevades concentracions, el  $\text{NO}^\bullet$  té un efecte similar al dels ROS. A més, sembla que certes proteïnes dels miofilaments (miosina, troponina) també responen a l'estat redox que els farà variar la sensibilitat al  $\text{Ca}^{++}$ . Addicionalment i en menor mesura, els RONS també podrien dificultar la producció d'ATP al inhibir la glicòlisi, la respiració mitocondrial i la degradació de la fosfocreatina.

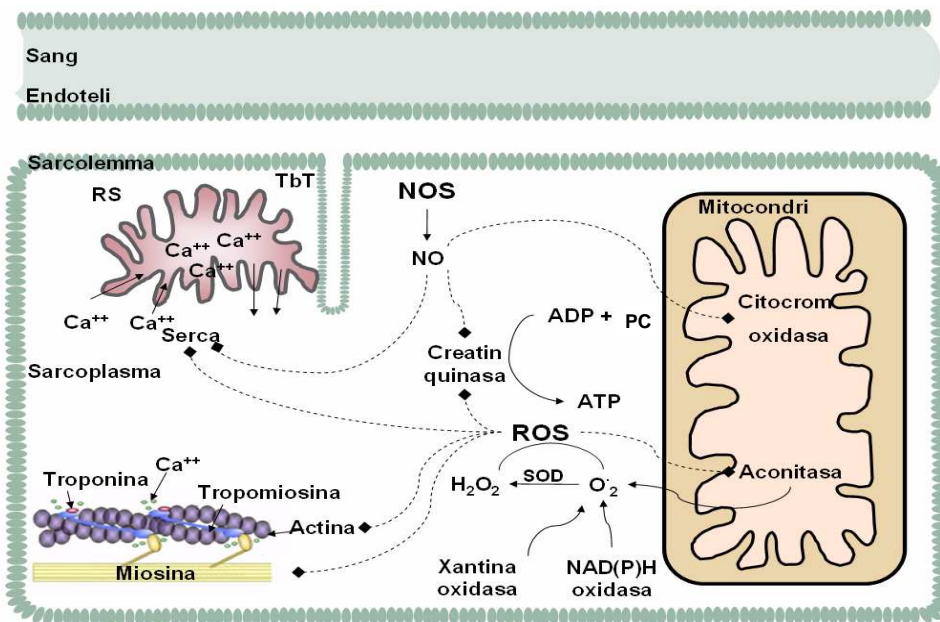


Figura 34. Possibles dianes de la fibra muscular sensibles a l'estat redox, l'afectació de les quals pot repercutir en la força muscular.

RS: reticle sarcoplasmàtic; TbT: túbuls T; Serca: bomba de  $\text{Ca}^{++}$ ; NOS: sintetasa de l'òxid nítric; SOD: superòxid dismutasa; ATP: adenosintrifosfat; ADP: adenosindifosfat; PC: fosfocreatina; ROS: espècies reactives de l'oxigen. Adaptat de Powers & Jackson (2008).

Aquests efectes són dependents de la concentració, i per aquest motiu la repercussió dels RONS sobre la força muscular serà variable. Segons el model bifàsic proposat per Reid (2001) per assolir el millor grau de força isomètrica és necessari un estat anti-pro-oxidant òptim (Figura 35). Reid (2001) considera que en l'estat basal el nivell de ROS és una mica més baix del que seria òptim. Però degut que al efectuar les accions musculars la producció de ROS augmenta, és de suposar que l'estat redox cel·lular assoleix el nivell òptim. No obstant si durant l'activitat física s'arriba a produir un excés de ROS, la força disminuirà. En el cas del  $\text{NO}^\bullet$ , Reid (2001) afirma que aquest disminueix la força muscular independentment de la seva concentració.

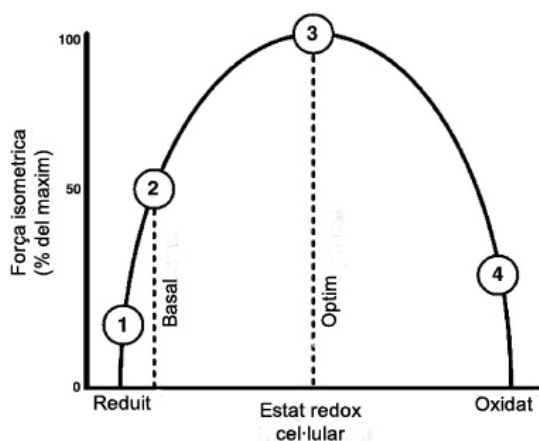


Figura 35. Model bifàsic dels efectes de l'estat redox sobre la força isomètrica màxima. A: estat basal del múscul no fatigat; B: múscul no fatigat exposat a un agent reductor o antioxidant; C: múscul no fatigat exposat a nivells moderats de ROS; D: múscul afectat per l'exposició a nivells elevats de ROS. Les línies discontinuïques indiquen l'estat redox basal (múscul en repòs sense cap estimulació externa) i estat redox òptim (nivell de força isomètrica màxim). Adaptat de Reid (2001).

A banda de l'efecte inhibitor sobre la contracció muscular, el  $\text{NO}^\bullet$  també està implicat en la regulació del flux sanguini i en la captació de glucosa de la sang, ja que sembla que afavoreix la translocació al sarcolemma dels GLUT4 (Reid, 2001).

Els RONS també podrien ser transductors de senyals per les adaptacions musculars a mig i llarg termini, especialment per la síntesi de defenses antioxidants endògenes i de proteïnes de xoc tèrmic (HSP, *heat shock protein*) (Ji, 2007; Morton et al., 2009); el desenvolupament i la hipertrofia muscular o l'adició de sarcòmers (Reid, 2001); o la pèrdua de massa muscular durant els períodes d'immobilitat per l'activació de la calpaina i les calpases (Powers & Jackson, 2008).

#### 1.4.2.1 Mecanismes d'acció

Els RONS poden actuar a través de moltes vies de senyalització sensibles a l'estat redox, com per exemple: vies dependents del  $\text{Ca}^{++}$ , proteïnes quinases i fosfatases, fosfolipases... Els

mecanismes d'acció dels RONS per exercir les funcions de regulació es fonamenten en els canvis de l'estat redox, la modificació oxidativa de les proteïnes, com la guanilat ciclasa, o el grau de fosforilació de diverses quinases i fosfatases (Thannickal et al., 2000). Allen, Lamb & Westerblad (2008) opinen que la majoria dels efectes es produeixen per l'acció de les proteïnes quinases activades per mitògens (MAPK) i del factor nuclear kappa B (NF-κB). L'anàlisi d'aquests mecanismes s'escapa de l'objectiu d'aquesta tesi i el lector pot referir-se a Son et al. (2011).

### 1.4.3 Marcadors de l'estat redox

En els sistemes biològics, la presència de petites quantitats de radicals lliures a més de ser inevitable, també és necessària. La seva concentració dependrà del balanç entre el seu ritme de producció, i el d'eliminació per part dels diversos mecanismes antioxidants (Figura 36).

Independentment del nivell, sempre que el ritme de formació dels radicals lliures sigui equiparable al seu ritme de neutralització es produirà una situació d'equilibri oxidatiu.

Per contra, si existeix un desajust entre la producció de radicals lliures i l'acció dels mecanismes de defensa antioxidant d'un sistema biològic, es produirà desequilibri, o estrès oxidatiu. Aquest desequilibri pot donar lloc, directa o indirectament, a dany cel·lular (Jenkins, 2000; Li & He, 2009).

Taula 18. Marcadors de l'estat redox

<b>Categoria</b>	<b>Exemples</b>	<b>Limitacions</b>
Oxidants	Marcadors de la formació de radicals. Per exemple, els anions superòxid, peròxid d'hidrogen i altres oxidants.	Difícils de valorar. Són molt reactius, i amb una vida mitjana curta. Les sondes "trampa" són tòxiques. Un augment no és indicador per se d'estrès oxidatiu.
Antioxidants	Marcadors de la capacitat antioxidant. Poden ser enzimàtics o no enzimàtics. Es poden mesurar individualment o en conjunt (capacitat antioxidant total).	Els canvis en metabolisme cel·lular o l'alimentació poden modificar els seus nivells. Poden auto-oxidar-se durant la manipulació dels espècimens biològics.
Productes de l'oxidació	Indicadors de les conseqüències de l'atac oxidatiu Peroxidació lipídica Grups carbonil Lesió oxidativa a l'ADN (8-OHdG*)	La seva mesura en els sistemes biològics és difícil per limitacions de les tècniques analítiques. La quantitat de molècules oxidades és petita. Artefactes durant la manipulació.
Equilibri entre els agents antioxidants i els pro-oxidants	GSH/GSSG Estat redox de la cisteïna Estat tiol - disulfur	Limitacions per les tècniques analítiques i la manipulació dels espècimens biològics que poden auto-oxidar-se.

\*8-OHdG: 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (Adaptat de Powers & Jackson, 2008)

En el desequilibri de l'estat redox intervenen diversos agents: els radicals lliures que actuen com a promotors; els sistemes antioxidants que neutralitzen/inhibeixen als anteriors; i les

molècules que es formen com a conseqüència de l'atac oxidatiu. Segons Powers & Jackson (2008) els indicadors de l'estat redox es podrien agrupar en 4 categories (Taula 18).

Malauradament, malgrat l'existència de múltiples biomarcadors per a valorar l'estat redox, tots tenen les seves limitacions, i no n'existeix cap d'ideal. Per aquest motiu Powers, Smuder, Kavazis & Hudson (2010) opinen que per a confirmar l'existència d'estrès oxidatiu en un sistema biològic, cal combinar marcadors de les diverses categories simultàniament.

#### **1.4.4 Efectes observats en la resposta aguda a l'exercici físic**

Els resultats dels estudis que avaluen l'estat redox en sang després de l'exercici físic són conflictius. Factors com la modalitat, intensitat i durada de l'esforç, l'espècimen analitzat, el moment de la presa de mostres, les tècniques analítiques aplicades, el grau d'entrenament, l'estat nutricional, i l'ús d'ajuts ergogènics poden repercutir en els resultats obtinguts i les conclusions que se'n deriven.

##### **1.4.4.1 Metodologia dels estudis realitzats en humans**

Per a l'anàlisi de l'estat redox in vivo s'han aplicat múltiples metodologies. En els humans, les limitacions per accedir a la majoria de teixits i la complexitat de la resposta aguda a l'exercici físic han suposat que solament en alguns estudis s'hagi investigat la presència de RONS, d'antioxidants o de dany oxidatiu directament en el múscul esquelètic (Powers & Jackson, 2008). I per això, els sistemes biològics més estudiats són sang total, plasma/sèrum, eritròcits (especialment pels enzims antioxidants) i diferents subpoblacions leucocitàries. En alguns estudis es prenen mostres d'orina, en particular per a mesurar l'existència de dany oxidatiu als àcids nucleics.

A causa de la dificultat per a valorar directament la presència de radicals lliures, sovint s'han emprat biomarcadors que reflecteixen les concentracions d'agents antioxidants, tant de tipus enzimàtic, com no enzimàtic, i biomarcadors de les conseqüències de l'atac oxidatiu sobre diversos components cel·lulars, ja siguin lípids, proteïnes o àcids nucleics (Taula 19).

Els biomarcadors més utilitzats són els que reflecteixen la peroxidació lipídica, i d'aquests, els principals són el malondialdehid (MDA) i les substàncies reactives de l'àcid tiobarbitúric (TBARS), tot i que alguns investigadors en critiquen la seva pertinència (Sacheck, Milbury, Cannon & Roubenoff, 2003; Powers et al., 2010).

A banda del sistema biològic analitzat (múscul versus sang), la detecció de l'existència d'estrès oxidatiu dependrà de la sensibilitat i especificitat dels biomarcadors (TBARS versus F2-isoprostans) i de la temporalització de la presa dels espècimens. Tal com s'aprecia a la Taula 20, la catalasa es pot considerar com un marcador de resposta ràpida i transitòria, mentre que la presència de grups carbonil a les proteïnes és un marcador de resposta més tardana i estable.

Taula 19. Principals biomarcadors de l'estat redox aplicats en l'estudi in vivo de la resposta aguda a l'exercici físic en humans.

Paràmetre	Nombre d'estudis que utilitzen el marcador						
	Supra-màximes <10'	Aeròbic	Força	Intervals	Prova màxima	Tots	
Peroxidació lipídica	MDA + TBARS	7	13	12	4	8	44
	LH	4	6	3	1	3	17
	Diens conjugats	2	3	2	1	1	9
	F2-isoprostans	0	4	1	0	1	6
	oxLDL	0	3	1	1	0	5
Oxidació proteica	Grups carbonil	1	4	6	0	1	12
Oxidació ADN	8-OHdG (orina)	1	3	2	0	0	6
Antioxidants enzimàtics	SOD	2	6	1	3	3	15
	GPX	3	7	1	2	2	15
	CAT	2	5	0	1	2	10
Antioxidants no enzimàtics	GSH	5	5	4	1	4	19
	GSSG	2	5	3	0	1	11
	Àcid Úric	2	7	0	3	1	13
	Vitamina E	2	8	2	1	2	15
	Vitamina C	1	6	2	1	2	12
	β-caroté	1	1	1	0	2	5
	TAC	0	3	0	0	3	6

Dades extretes d'estudis publicats entre 1990 i 2008. MDA: malondialdehid; LH: hidroperòxids lipídics; TBARS: substàncies reactives de l'àcid tiobarbitúric; oxLDL: lipoproteïnes de baixa densitat oxidades; AOPP: productes de l'oxidació avançada de les proteïnes; SOD: superòxid dismutasa; GPX: glutatió peroxidasa; CAT: catalasa; GSH: glutatió reduït; GSSG: glutatió oxidat; TAC: capacitat antioxidant total.

Taula 20. Evolució de diversos biomarcadors d'estrès oxidatiu durant la recuperació de l'esforç físic.

Marcador	Canvi	Inici	Pic / Nadir	Durada
TBARS	Augmenta	Immediatament (+46%)	Pic 1h (+123%) IC95% (0,8-1,6h)	3h
Grups carbonil proteïnes	Augmenta	Als 30' (+32%)	Pic 4h (+96%) IC95% (4,2-4,6h)	8h
CAT	Augmenta	Immediatament (+50%)	Pic Post 0 (+50%) IC95% (0,2-0,7h)	1h
GSH	Disminueix	Disminueix immediatament (-30%)	Nadir 2h (-63%) IC95% (1,6-2,4h)	5 h
GSSH	Augmenta	Als 30' (+22%)	Pic 2h (+38%) IC95% (1,3-2,3h)	4h
GSH/GSSG	Disminueix	Immediatament (-34%)	Nadir 2h (-73%) IC95% (1,3-2,2h)	5h
TAC	Augmenta	Immediatament (6%)	Pic 2h (+21%) IC95% (1,6-2,8h)	3h

TBARS: espècies reactives de l'àcid tiobarbitúric; CAT: catalasa; GSH: glutatió reduït; GSSG: glutatió oxidat; TAC: capacitat antioxidant total. (Adaptat de Michailidis, et al., 2007).

#### 1.4.4.2 Radicals lliures

Són molt pocs els estudis en humans en els quals s'hagin obtingut dades de la presència directa de radicals lliures en resposta a l'esforç físic a causa de la toxicitat de les sondes i les limitacions de validesa del mètode. Ashton et al.(1999) varen mesurar l'existència de radicals lliures aplicant la tècnica ESR (*electron spin resonance*) en combinació amb l'atrapament dels radicals lliures en extraccions de sang venosa abans i després d'una prova d'esforç progressiva màxima en cicloergòmetre. Els resultats obtinguts indiquen que després de l'esforç la producció de radicals lliures havia augmentat i s'associava a un creixement dels hidroperòxids lipídics en plasma.

#### 1.4.4.3 Sistemes antioxidants

Són substàncies amb capacitat per a inhibir, prevenir o retardar l'oxidació d'un substrat susceptible de ser oxidat (Gutteridge & Halliwell, 2010). Ajuden a reduir el grau d'estrès oxidatiu mitjançant la formació de radicals menys actius, o atenuant les reaccions en cadena (Dekkers, van Doornen & Kemper, 1996).

Els sistemes de defensa antioxidant són múltiples i variats. Es troben en diverses localitzacions cel·lulars (Figura 36), i segons la seva naturalesa es poden classificar en enzimàtics i no enzimàtics.

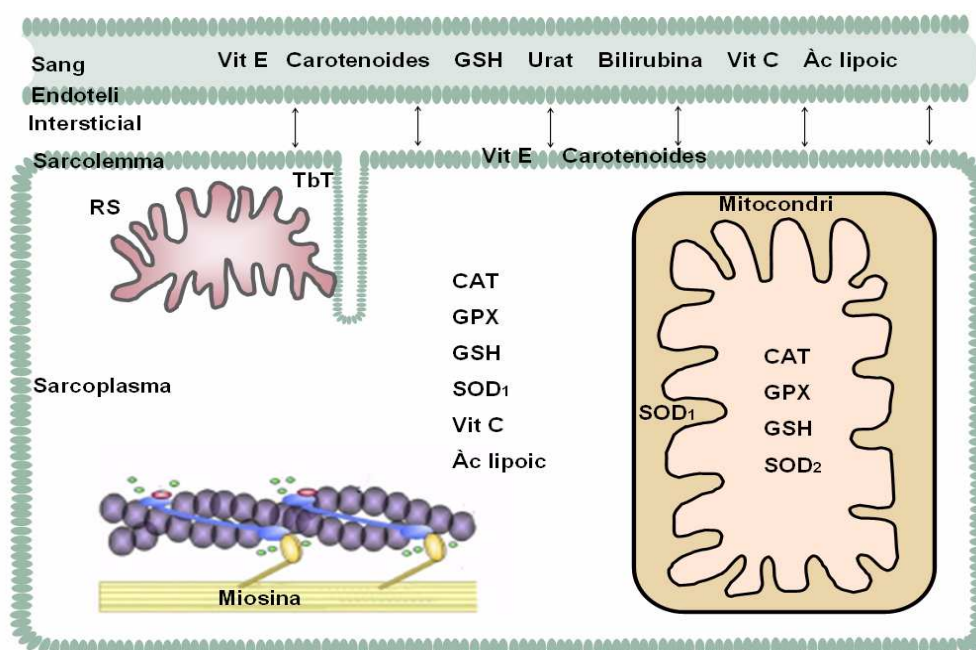


Figura 36. Localitzacions de les defenses antioxidants a la fibra muscular.

RS: reticle sarcoplasmàtic; TbT: túbuls T; SOD<sub>1</sub>: isoforma SOD-Cu-Zn de la superòxid dismutasa; SOD<sub>2</sub>: isoforma SOD-Mn de la superòxid dismutasa; CAT: catalasa; GPX: glutatió peroxidasa; GSH: glutatió; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E. Adaptat de Powers & Jackson (2008).

### 1) Antioxidants enzimàtics

Els sistemes antioxidants enzimàtics comprenen els enzims superòxid dismutasa (SOD), glutatió peroxidasa (GPX) i catalasa (CAT) (Taula 21).

En general en l'esforç físic de predomini aeròbic de curta, moderada o llarga durada, l'activitat antioxidant enzimàtica SOD, GPX i CAT no es modifica o augmenta (Alessio et al., 2000; Fisher-Wellman & Bloomer, 2009). Tant sols puntualment s'ha descrit que en la recuperació d'esforços molt perllongats, l'activitat plasmàtica d'alguns enzims antioxidants disminueix (Aguiló, et al., 2005; Knez et al., 2007; Marzatico, Pansarasa, Bertorelli, Somenzini & Della Valle, 1997; Neubauer et al., 2008a; Tauler et al., 2006).

Taula 21. Localització i reaccions catalitzades pels enzims antioxidants

Enzim	Cofactors	Localització	Reacció
SOD-Mn	Manganèsic	Matriu mitocondrial	$2O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$
SOD-Cu-Zn	Coure i zinc	Citosol-intermembrana mitocondrial	
GPX	Seleni	Citosol i mitocondri	$H_2O_2 + 2 GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$
CAT	Ferro	Peroxisomes, citosol, mitocondri	$2 H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$

SOD: superòxid dismutasa; GPX: glutatió peroxidasa; CAT: catalasa (Finaud et al., 2006).

La intensitat també pot afectar l'activitat dels enzims antioxidants per què en la recuperació primerenca d'esforços breus i supramàxims (Groussard et al., 2003) i de sessions d'entrenament de la força (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009; Liu et al., 2005; Subudhi, Davis, Kipp & Askew, 2001; Surmen-Gur, Ozturk, Gur, Punduk & Tuncel, 1999) també s'han registrat disminucions de l'activitat enzimàtica antioxidant. Tot i així, altres investigadors han apreciat una estabilització (Thomas et al., 2007) o un augment (Inal, Akyuz, Turgut & Getsfrid, 2001; Marzatico et al, 1997) després de l'esforç supramàxim; o en la recuperació tardana de sessions d'entrenament de la força amb un accentuat component excèntric (Childs, Jacobs, Kaminski, Halliwell & Leeuwenburgh, 2001; Nikolaidis et al., 2007; Paschalis et al., 2007).

L'absència de canvis o l'augment de l'activitat poden indicar una bona adaptació a l'ambient pro-oxidant. Tant sols en els casos en els que es produeix una disminució, aquesta podria suggerir un esgotament de la capacitat antioxidant enzimàtica, i un major risc de patir dany oxidatiu.

### 2) Antioxidants NO enzimàtics

Els sistemes antioxidants no enzimàtics inclouen una gran varietat de compostos capaços de reduir la severitat de l'estat pro-oxidant, com tiols, carotenoides, vitamines C i E, àcid úric o urat, flavonoides, coenzima Q10, proteïnes de xoc tèrmic (HSP), ferritina, albúmina, ceruloplasmina, bilirubina... Els utilitzats amb més freqüència es mostren a la Taula 19.



## **Glutatió**

Els tiols són molècules que es caracteritzen per la presència de residus sulfidril (-SH) i que tenen un rol rellevant en l'acció antioxidant. El glutatió (GSH) és format per 3 aminoàcids (àcid glutàmic, cisteïna i glicina) i és el principal tiol no proteic de l'organisme. Malgrat les limitacions derivades de la tècnica analítica, és un dels marcadors antioxidants més utilitzats en la valoració de la resposta aguda a l'esforç físic. En general, les dades indiquen que en la recuperació d'un l'esforç de qualsevol modalitat; supramàxim de molt curta durada (Baker, Bailey, Hullin, Young & Davies, 2004; Cuevas et al., 2005; Groussard, et al., 2003; Inal, et al., 2001) de predomini aeròbic i d'una durada baixa-moderada (Bloomer et al., 2005; Chung, Goldfarb, Jamurtas, Hegde & Lee, 1999) o perllongat (Dufaux, Heine, Kothe, Prinz & Rost, 1997; Palazzetti, Richard, Favier & Margaritis, 2003); de força (Goldfarb, Bloomer & McKenzie, 2005; Lee et al., 2002; Steinberg, Gainnier, Michel, Faucher, Arnaud & Jammes, 2002); de proves progressives màximes (Steinberg et al., 2007), els nivells plasmàtics de GSH solen disminuir, mentre que simultàniament augmenten els de GSSG. La disminució del GSH assoleix el nadir entre els 90' i 150' de recuperació (Michailidis et al., 2007), encara que en alguns casos els nivells plasmàtics es poden normalitzar en tant sols 30' (Fisher-Wellman & Bloomer, 2009; Steinberg et al., 2007).

S'assumeix que la concentració de GSH baixa perquè aquest és utilitzat per a neutralitzar els radicals lliures. Tanmateix, com que la major part de GSH es troba a nivell intracel·lular, la interpretació de les variacions de la seva concentració en plasma és limitada.

A part del GSH, també s'han registrat reduccions dels grups -SH a les proteïnes plasmàtiques després de realitzar una marató (Inayama, Kumagai, Sakane, Saito & Matsuda, 1996). Els grups tiols de les proteïnes també poden exercir funcions antioxidants enfront els radicals lliures produïts durant l'esforç.

L'índex GSH/GSSG, com a indicador de l'equilibri anti-pro-oxidant tendeix a disminuir significativament en la recuperació de l'esforç (Cuevas et al., 2005) o en alguns casos no es modifica (Watson et al., 2005).

## **Carotenoides i vitamines C i E**

Els carotenoides ( $\beta$ -caroté) i les vitamines C i E també tenen propietats antioxidants. Els carotenoides i la vitamina E són liposolubles i es troben a les membranes cel·lulars. El  $\beta$ -caroté desactiva els ROS, especialment l' $O_2$  singulet i els radicals lipídics. El  $\beta$ -caroté és el precursor de la vitamina A (retinol). La vitamina E (o tocoferol) té la capacitat d'aturar les reaccions en cadena de la peroxidació lipídica al reaccionar amb el radical peròxid.

Per les seves propietats hidrosolubles, la vitamina C és el principal antioxidant en el medi aquós. En els fluids corporals pot neutralitzar diversos radicals, mentre que en el medi intracel·lular reforça l'acció de la vitamina E i del GSH al regenerar les seves molècules actives.

Les variacions observades en les concentracions plasmàtiques de les vitamines antioxidants

després de l'esforç físic també són contradictòries. Habitualment, en la resposta aguda a l'activitat física no s'aprecien canvis de les concentracions plasmàtiques de  $\beta$ -caroté, vitamines C o E immediatament després de l'esforç (Aguiló et al., 2003; Chevion et al., 2003; Steinberg et al., 2007; Watson et al., 2005). Tot i això, alguns investigadors han registrat disminucions transitòries de vitamina E (Baker et al., 2004; Bloomer, Goldfarb & McKenzie, 2006a; Groussard et al., 2003) o  $\beta$ -caroté (Baker et al., 2004; Cuevas et al., 2005; Groussard, et al., 2003; Inal et al., 2001); o elevacions de vitamina E (Bailey et al., 2007; Cases et al., 2006; Ramel, Wagner & Elmadfa, 2004; Vasankari, Kujala, Vasankari, Vuorimaa & Ahotupa 1997),  $\beta$ -caroté (Ramel et al., 2004), o vitamina C (Thompson et al., 2003; Palmer et al., 2003; Groussard et al., 2003; Bailey et al., 2007; Maastapoulis, Leonard & Traber, 2001) en les primeres hores de recuperació de l'esforç.

Però en general, en la fase de recuperació primerenca dels esforços perllongats de la majoria d'estudis s'aprecia un increment de les concentracions plasmàtiques de diversos antioxidants no enzimàtics, com vitamina C i vitamina E (Alessio, 2000).

La reducció de la concentració plasmàtica de vitamines podria suggerir que aquestes són desgastades, mentre que els increments es podrien explicar per una producció de radicals lliures limitada, associada a la mobilització de les reserves antioxidants dels teixits.

### **Àcid úric**

L'àcid úric és un antioxidant plasmàtic i muscular important. Això no obstant, cal ser prudents en la interpretació dels canvis de la seva concentració en plasma, per què aquesta també varia amb el metabolisme de les purines i la capacitat d'excreció renal. Finaud et al. (2006) opinen que les variacions de la concentració d'àcid úric en plasma no haurien de considerar-se com una adaptació antioxidant específica. Tot i així, independentment de la seva procedència, l'àcid úric format sempre pot actuar com a molècula antioxidant.

Els resultats obtinguts per diversos grups d'investigadors indiquen que l'àcid úric augmenta després d'un test de Wingate (Groussard, et al. 2003); d'una prova en tapis de 90' al 77%VO<sub>2max</sub> (Child, Wilkinson, Fallowfield & Donnelly, 1998); d'una etapa ciclista (Aguiló et al., 2005), d'una marxa de 50 o 80 km (Chevion, et al. 2003); d'una ironman (Mastapoulis et al., 2001; Neubauer, Konig, Kern, Nics & Wagner, 2008b); o als 60' minuts de recuperació d'una prova progressiva màxima (Watson et al., 2005).

Per contra, altres autors han observat reduccions de l'àcid úric després també d'un test de Wingate (Baker et al., 2004). El grau de condició física podria repercutir en la resposta, ja que en l'estudi de Groussard et al. (2003) participaven esportistes entrenats, mentre que en el de Baker et al. (2004) eren persones no entrenades

L'al·lantoïna, que habitualment és absent dels fluids humans i pot provenir de l'oxidació no enzimàtica de l'àcid úric, també s'ha emprat com a indicador d'estrès oxidatiu. Aquesta augmenta en el múscul després de l'esforç esgotador (90%VO<sub>2max</sub>), la qual cosa suggereix que

s'ha produït un cert grau de radicals lliures en el múscul, i que en aquesta situació l'àcid úric ha actuat com antioxidant (Hellsten et al., 2001).

### 3) Capacitat antioxidant total

Per superar la limitació que representa l'existència d'un nombre tant elevat d'antioxidants presents en el plasma i els teixits s'han desenvolupat mètodes que permeten valorar globalment la capacitat antioxidant d'un espècimen biològic. Existeixen múltiples tècniques analítiques per a quantificar la capacitat antioxidant total plasmàtica (*Trolox equivalent antioxidant capacity*: TEAC; *total antioxidant status*: TAS; *total radical trapping antioxidant parameter*: TRAP; *oxygen radical absorbance capacity*: ORAC; *ferric reducing ability of plasma*: FRAP...) les quals s'han aplicat a l'àmbit de la fisiologia de l'exercici (Powers et al., 2010).

Utilitzant aquestes tècniques diversos investigadors han mostrat que la capacitat antioxidant plasmàtica augmenta entre un 4 i un 50 percent després de proves de moderada intensitat i mantingudes (Child et al., 1998; McAnulty et al., 2007; Simpson et al., 2005; Vasankari et al., 1997); de proves perllongades com una ironman (Neubauer et al., 2008b; Nieman et al., 2003) o una marató (Vasankari et al., 1997), d'una sessió d'entrenament de força (Alessio et al., 2000; McAnulty et al., 2005), o d'una prova d'esforç màxima (Alessio et al. 2000; Steinberg et al., 2007; Vider et al., 2001). Aquest increment es podria considerar com una resposta ràpida de mobilització dels compostos antioxidants amb la finalitat de minimitzar els efectes negatius d'un ambient pro-oxidant excessiu. No obstant, en alguns casos el creixement de la capacitat antioxidant total és insuficient per a contrarestar l'efecte lesiu de l'atac oxidatiu sobre els lípids ((Alessio et al., 2000; Child et al., 1998; McAnulty et al., 2007; Neubauer et al., 2008b; Nieman et al., 2003; Vasankari et al., 1997) o les proteïnes (Alessio et al., 2000; Neubauer et al., 2008b).

L'elevació de la capacitat antioxidant plasmàtica total podria ser deguda a l'augment de les concentracions de vitamina C i E mobilitzades des dels teixits, i també pel creixement de la producció de l'àcid úric (Neubauer et al., 2008b; Nieman et al., 2003). L'àcid úric és un antioxidant abundant en el plasma, per exemple, Benzie & Strain (1996) consideren que l'àcid úric representa un 60% de la capacitat antioxidant del plasma, si aquesta es valora a partir de la capacitat de reducció fèrrica (Taula 22).

En contraposició, als estudis anteriors, altres investigadors (Alessio, Goldfard & Cao, 1997; Child, et al., 1999; Hellsten, Tullson, Richter & Bangsbo, 1997a; McAnulty et al., 2005) no detecten alteracions de la capacitat antioxidant total després de sessions d'entrenament de la força o de proves màximes. L'absència de canvis podria indicar que la producció de radicals lliures ha estat mínima i que no ha estat necessari mobilitzar les reserves antioxidants.

Taula 22. Nivell d'activitat relativa dels compostos antioxidants presents al plasma, i estimació de la seva contribució a la capacitat de reducció fèrrica total (FRAP) del plasma.

Antioxidant plasmàtic	Activitat relativa (rang mesurat)	Estimació de la concentració plasmàtica en dejú ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	Estimació de la contribució a la FRAP (%)
Àcid ascòrbic	2,0 (1,9-2,1)	30-100	15
$\alpha$ -tocoferol	2,0 (1,7-2,1)	15-40	5
Àcid úric	2,0 (2,0-2,4)	150-450	60
Bilirubina	4,0 (4,2-4,6)	<20	5
Proteïnes	0,10 (0,1-0,15)	800-1100	10
Altres	-	-	5

Adaptat de Benzie & Strain (1996).

Fisher-Wellman & Bloomer (2009) opinen que la divergència de dades podria ser deguda al moment en que es realitzen les preses de mostres. No obstant, les diferències també poden ser atribuïdes a les característiques analítiques i a la sensibilitat de la tècnica de detecció aplicada (Jové, 2010), al tipus d'espècimen utilitzat (plasma versus múscul) i al grau de condició física dels participants.

#### 1.4.4.4 Productes de l'oxidació

##### 1) Peroxidació dels lípids

L'oxidació dels lípids és una reacció en cadena que s'inicia amb la pèrdua d'un àtom d'hidrogen en un àcid gras, i segueix amb la formació d'hidroperòxids lipídics i productes de degradació més avançats. Els àcids grassos presents a les membranes cel·lulars són especialment sensibles al dany oxidatiu. L'alteració de la seva estructura afectarà a la fluïdesa i funcionalitat de les membranes cel·lulars. Per a l'estudi del dany produït pels radicals lliures, la majoria d'investigadors utilitzen algun marcador de peroxidació lipídica. Les tècniques analítiques emprades es basen en la determinació de productes primaris de l'oxidació; hidroperòxids lipídics (LH) o diens conjugats, o de productes secundaris, determinats a partir del malondialdehid (MDA) o de les substàncies reactives a l'àcid tiobarbituric (TBARS), o més recentment els F2-isoprostans.

Els LH solen augmentar després de l'esforç de molt curta durada i supramàxims (Baker et al., 2004; Groussard et al., 2003); de les activitats físiques perllongades (Davison et al., 2006; Nieman et al., 2003; Palmer et al., 2003), o de proves progressives màximes (Vincent, Vincent, Braith, Lennon & Lowenthal, 2002). Encara que també, en alguns casos no aprecien canvis significatius dels LH, ni immediatament després d'una prova d'esforç progressiva màxima, ni als 30 minuts de recuperació (Alessio et al., 2000).

Els diens conjugats són radicals lipídics que han sofert un procés de reorganització de

l'estructura molecular que inclou la formació d'enllaços dobles. El més abundant és el 9,11 àcid linoleic. Els diens conjugats també augmenten després d'esforços de molt curta durada i supramàxims (Marzatico et al., 1997); de l'esforç perllongat (Case, Baer & Subbiah, 1999; Neubauer et al., 2008); de les sessions d'entrenament de la força (Ramel et al., 2004); i de proves màximes progressives (Vider et al., 2001). No obstant, en alguns estudis no s'observen canvis significatius d'aquests marcadors de peroxidació lipídica (Vasankari et al., 1997).

El MDA és un aldehid que es produeix durant la descomposició dels hidroperòxids lipídics. Els resultats obtinguts en relació a l'esforç físic són poc conclouents. A la majoria dels estudis els canvis posteriors a l'esforç no són rellevants (Alessio et al., 2000; Bloomer et al., 2005 i 2006a; Bloomer, Fry, Falvo & Moore, 2007; Chung et al., 1999; Dixon et al., 2006; Goldfarb et al., 2005; Saxton, Donnelly & Roper, 1994). Tant sols en alguns casos s'han descrits increments després de l'esforç. Aquest marcador (MDA) podria dependre de la intensitat i de la durada de l'esforç (Bloomer et al., 2006a). Per exemple, les concentracions plasmàtiques de MDA es varen elevar després d'esforços de molt curta durada i supramàxims (Baker et al., 2004; Marzatico et al., 1997); d'esforços molt perllongats (Kneth et al., 2007; Sureda et al., 2005); d'activitats on predomina la tensió muscular (Hoffman et al., 2007; Mc Bride, Kraemer, Triplett-McBride & Sebastianelli, 1998; Ramel et al., 2004); i de proves progressives màximes (Alessio et al., 2000; Lovlin, Cottle, Pyke, Kavanagh & Belcastro, 1987).

La determinació de TBARS (substàncies reactives a l'àcid tiobarbitúric) també s'ha aplicat per a valorar la presència de dany oxidatiu als lípids. Aquesta tècnica també mesura sobretot el MDA, però té poca especificitat i pot reaccionar amb altres molècules biològiques. Per això solen observar-se increments de TBARS després de l'esforç. Fins hi tot, després de proves d'esforç progressives màximes s'aprecia una bona correlació positiva ( $r = 0,83$ ) entre el  $VO_{2max}$  i la concentració de TBARS (Steinberg et al., 2007). Tot i així, l'increment de les concentracions de TBARS és transitori i els nivells es normalitzen entre els 20 i 60 minuts de recuperació (Alessio et al., 2000; Vider et al., 2001; Steinberg et al., 2007). Tanmateix, en altres estudis no s'han trobat canvis significatius dels TBARS en la recuperació de l'exercici físic; ja sigui un esforç perllongat (Dufaux et al., 1997; Inayama et al., 1996; Margaritis, Tessier, Richard & Marconnet, 1997); sessions d'entrenament de la força (Saxton et al., 1994), o proves d'esforç progressives màximes (Miyazaki et al., 2001; Vincent et al., 2002). I fins hi tot, també s'han descrit disminucions després d'un test de Wingate (Cuevas et al., 2005; Groussard et al., 2003).

Els F2-isoprostans són compostos de la família de les prostaglandines generats *in vivo* per la peroxidació no enzimàtica de l'àcid araquidònic. Segons Bloomer, Cole & Fisher-Wellman (2009) és un dels marcadors de dany oxidatiu més vàlids, encara que els procediments analítics són bastant laboriosos. Els F2-isoprostans augmenten immediatament després de l'esforç perllongat, ja sigui en el laboratori o en competicions reals (Palmer et al., 2003; Nieman et al., 2003; Maastaloudis et al., 2001; Steensberg et al., 2002). En algunes activitats físiques

de molt llarga durada, com una ironman, les concentracions plasmàtiques dels indicadors de peroxidació lipídica es poden mantenir elevades almenys 24 hores (Neubauer et al., 2008b). Per altra banda, Watson et al. (2005) indica que les concentracions plasmàtiques de F2-isoprostans disminueixen immediatament després de l'esforç i es recuperen als 60'.

També s'ha descrit que els F2-isoprostans augmenten significativament en la fase de recuperació tardana (dies 3 i 4) d'una sessió de força excèntrica (Childs et al., 2001).

L'estudi de l'oxidació de les lipoproteïnes de baixa densitat (LDL) també s'ha aplicat com a biomarcador de dany oxidatiu. Neubauer et al. (2008b) assenyala que la concentració de LDL-oxidada disminueix després d'una ironman, però l'índex LDL-oxidada/LDL va augmentar discretament i transitòriament a les 24 hores de finalitzar la cursa. L'autor atribueix la reducció de la concentració de LDL-oxidada a una estimulació del metabolisme de les lipoproteïnes i a la baixada global de les LDL.

## 2) Grups carbonil de les proteïnes

Els radicals lliures poden reaccionar directament, o indirectament per mitjà de carbohidrats o lípids, amb els aminoàcids lliures o present en les proteïnes. Les modificacions proteiques conseqüència de l'atac oxidatiu poden tenir lloc per ruptura de la cadena peptídica, formació d'entrecreuaments, o alteracions de les cadenes laterals. El dany oxidatiu a les proteïnes sol ser irreversible, i porta a la modificació de la seva estructura i a la pèrdua de l'activitat funcional enzimàtica, contràctil o de qualsevol alta mena. Les proteïnes danyades seran més susceptibles a la degradació proteolítica. La determinació dels grups carbonil és un dels mètodes més emprats (Bloomer et al. 2005, 2006a, 2006b, 2007) per avaluar els efectes de l'estrès oxidatiu sobre les proteïnes durant l'esforç físic.

Sembla que l'increment de grups carbonil depèn de la intensitat i la durada de l'esforç i es podria mantenir elevat durant algunes hores (8h) després de l'esforç.

En esforços molt intensos i breus (30"), Bloomer et al. (2007) aprecien un lleuger increment dels grups carbonil de les proteïnes immediatament després de realitzar el test. També en la majoria d'estudis basats en esforços aeròbics de curta durada s'observa un increment de les concentracions plasmàtiques de grups carbonil immediatament després de l'esforç, o en els 30' primers minuts de recuperació. Aquest increment ja es pot observar en persones sedentàries que realitzen esforços de curta-moderada durada (30' a 60') i moderada intensitat (70%VO<sub>2max</sub>) (Bloomer et al., 2005 i 2007). Per contra, en les persones entrenades els canvis només s'aprecien si la intensitat és elevada (80%VO<sub>2max</sub>) (Bloomer et al., 2006b). Bloomer et al (2007) tampoc observen diferències en els grups carbonil proteics entre els homes i les dones.

En les activitats perllongades també s'han observat ascensos dels grups carbonil en plasma (Bloomer et al., 2007; Cases et al., 2006; Neubauer et al., 2008b; Radack et al., 2003; Sureda et al., 2005). El creixement és superior quan major és la durada de l'esforç. Després de pedalar durant 120' s'aprecien majors concentracions de grups carbonil, en comparació als nivells

registrats després de 30' i 60' de pedaleig contra la mateixa resistència (Bloomer et al., 2007). Si l'esforç és perllongat (Neubauer et al., 2008b) els nivells elevats poden persistir més de 24 hores, mentre que després d'una prova progressiva màxima poden mantenir-se elevats unes 8 hores (Michailidis et al., 2007). Per altra banda, si l'activitat és de molt llarga durada i la intensitat relativament baixa, les concentracions plasmàtiques de grups carbonil es poden estabilitzar (Radak et al., 2003) o reduir significativament (Chevion et al., 2003), ja que és possible que en el transcurs de l'esforç, s'activin mecanismes d'adaptació (per exemple, el proteasoma) que eviten l'acumulació de les proteïnes oxidades.

En general, en la fase inicial de la recuperació de diverses sessions d'entrenament de força no s'observen canvis significatius de la concentració plasmàtica de grups carbonils proteics (Alessio et al., 2000; Bloomer et al., 2006b; Goldfard et al., 2005; Lee et al., 2002). Tant sols Bloomer et al. (2005 i 2007) registren un increment que apareix immediatament després de 30 minuts o de 15 repeticions d'esquats al 70% d'una repetició màxima (RM), seguit d'un nou increment en la recuperació tardana (24h). Aquests canvis són superiors als registrats després de realitzar 30' d'esforç en cicloergòmetre al 70%VO<sub>2max</sub>. Altres investigadors (Lee et al., 2002) també han descrit creixements dels grups carbonil en plasma en el transcurs de les fases tardanes de la recuperació de sessions de força. Bloomer et al. (2005) ho atribueixen als efectes dels fagòcits que podrien envair el teixit muscular lesionat, i generar radicals lliures. Així mateix, els investigadors detecten una correlació positiva i significativa, però feble ( $r=0,48$ ), entre els nivells de grups carbonil i el grau de dolor muscular (Bloomer et al., 2005) o entre la presència de grups carbonil i la concentració plasmàtica de CPK, i amb el grau de dolor muscular d'aparició tardana (Lee et al., 2002).

La resposta a les proves d'esforç progressives màximes tampoc aporta resultats concloents. Si bé en alguns casos no s'han apreciat canvis significatius dels grups carbonils (Bloomer et al., 2007; Miyazaki et al., 2001), en d'altres s'observa un creixement discret (Alessio et al., 2000; Bloomer et al., 2007).

### 3) Oxidació dels àcids nucleics

L'ADN també pot ser objecte de dany oxidatiu, i la seva importància radica en el risc d'aparició de mutacions durant el procés de replicació. L'alteració oxidativa més freqüent és la presència de 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-OHdG). Aquest és el marcador utilitzat amb major freqüència per a valorar el dany oxidatiu al ADN durant l'esforç físic.

Com pels altres biomarcadors, les evidències actuals són contradictòries. La majoria d'estudis no detecten canvis dels nivells de 8-OHdG en plasma; ni després d'un test de Wingate (Bloomer et al., 2007); d'esforços de curta-moderada durada (Bloomer et al., 2005; Inoue, Mu, Sumikawa, Adachi & Okochi, 1993), de sessions d'entrenament de la força (Bloomer et al., 2005 i 2007) o de proves màximes progressives (Bloomer et al., 2007; Hartmann, Plappert, Raddatz, Grünert-Fucks & Speit, 1994; Sacheck et al., 2003).

Tant sols s'han registrat increments de 8-OHdG en orina després d'esforços molt perllongats (Miyata et al., 2000; Tsai et al., 2001) o en les fases tardanes de la recuperació d'un test de Wingate (Cuevas et al., 2005).

Aquestes dades suggereixen que en activitats de curta-moderada durada i moderada intensitat no es produeix dany oxidatiu al ADN o que els processos de reparació són molt ràpids. En canvi, si l'esforç és molt intens, o perllongat si que pot detectar-se dany oxidatiu als àcids nucleics.

#### 1.4.4.5 Activitat en intervals

En els apartats anteriors queda palès que la gran majoria d'estudis que avaluen l'estat redox en resposta l'exercici físic es fonamenten en activitats de naturalesa contínua. Especialment s'han valorat activitats molt perllongades o activitats de força amb un component excèntric important. No obstant, l'esforç en les activitats en intervals difereix del de les activitats contínues en el sentit que, considerant l'efecte acumulat de les sèries, el primer permet mantenir un esforç d'alta intensitat durant més temps que si el mateix esforç és de naturalesa contínua. Per això cal ser prudent en l'extrapolació de les dades obtingudes en activitats contínues a les activitats en intervals.

Però aquest grup comprèn activitats físiques molt heterogènies, cosa que també dificulta la generalització de les conclusions. La diversitat de les activitats en intervals queda reflectida en els protocols dels estudis de recerca que han valorat els efectes pro-oxidants de l'esforç físic (Taula 23). Entre aquests predominen els que analitzen la resposta a partits de futbol o rugbi, o proves d'esforç, com el Loughborough Intermittent Shuttle Test (LIST) (Nicholas, Nutall & Williams, 2000), que simulen aquests esports.

Els resultats obtinguts mostren que en general a les cèl·lules de la sang l'activitat SOD es modifica poc després de partits de rugbi o de futbol (Chang, Tseng, Hsuuw, Chan & Shieh, 2002; Tauler et al., 2008); l'activitat GPX en sang no es modifica (Chang et al., 2002) o disminueix en els neutròfils (Tauler et al., 2008). També l'activitat CAT en els neutròfils disminueix. En contraposició a les dades anteriors, en l'exercici físic en intervals d'elevada intensitat i mantinguts més temps que en el futbol o el rugbi Marzatico et al. (1997) observa increments significatius de les activitats SOD i GPX, sense canvis de l'activitat CAT. Per altra banda, Tauler et al. (2008) registren un increment important (+208%) de l'activitat GR en els neutròfils després d'un partit de futbol (Figura 37) que atribueixen a la regeneració del glutatió.



Taula 23. Característiques dels participants i protocols de diverses activitats físiques en intervals en les quals s'han analitzat diversos biomarcadors de l'estat redox.

Referència	Participants Nombre i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Sèries		Pauses	Durada
			Nombre Durada	Intensitat	Durada	Efectiva Total
Abbey (2011)	15 H 23,3 (2,6) E	Carrera	12 x 30 m (5")	màxim	30"	1' 6'30"
Marzatico (1997)	6 H 25,2 (3,1) E	Carrera	6 x 150 m (17")	màxim	No indc	6'40" No indc
Bloomer (2006a)	12 H 23 (3) E	Cicloergòmetre	6 x 10"	màxim	3'	1' 16'
Ortenblad (1997)	8 H + 8 H E	Salts de 30"				
Demenice (2010)	10 H 20,1 (2) E	Natació	8 x 100m (1'-2')	màxim	10'	No indc No indc
Hellsten (1998)	7 H 19-28 E	Extensió genoll unilateral	13 x 1' a 5'	variable	variable 2'-5'	48' 90'
Hellsten (1997a)	7 H 20-28 E	Extensió genoll excèntric	5 x 5'	màxim	4'	20' 40'
Wilber (2004)	19 H 30 (7) E	LH -TLO <sub>2</sub> Cicloergòmetre	6 x 100 kJ (5'58")	autoescollida	1:1,5	36' 80'
Svensson (2002)	15 H 24 (2) E	Cicloergòmetre	4 x 4' progressiu + 15 x 10"	55, 65, 75 i 85%VO <sub>2max</sub> + 90% W <sub>max</sub>	10' i 50"	23' 45'
Chang (2002)	15 H 21,5 (3,2) E	Rugbi	2 x 40'	variable	variable	80' 90'
Chang (2002)	6 H 36,3 (9,4) S	Rugbi	2 x 40'	variable	variable	80' 90'
Andersson (2010)	22 D 22 (3) E	Futbol	2 x 40'	variable	variable	80' 90'
Tauler (2008)	11 H No indica E	Futbol	60'	variable	variable	No indc 60'
Ascensão (2008)	16 H 21,3 (1,1) E	Futbol	80'	variable	variable	80'
Kingsley (2005)	16 H 22,6 (0,7) E	Carrera	LIST	variable	variable	90'
Thompson (2003)	8 H E 24,3 (1,7) LI	Carrera	LIST	variable	variable	90'

\*Dades expressades amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; S: persones sedentàries; LH: viure en altitud moderada (1800-1900m); TLO<sub>2</sub>: entrenament amb normòxia (suplement d'O<sub>2</sub> al 21%); LIST: Loughborough Intermittent Shuttle Test (Nicholas et al., 2000); VO<sub>2max</sub>: consum d'O<sub>2</sub> màxim; W<sub>max</sub>: watts màxims; No indc: no s'indica.

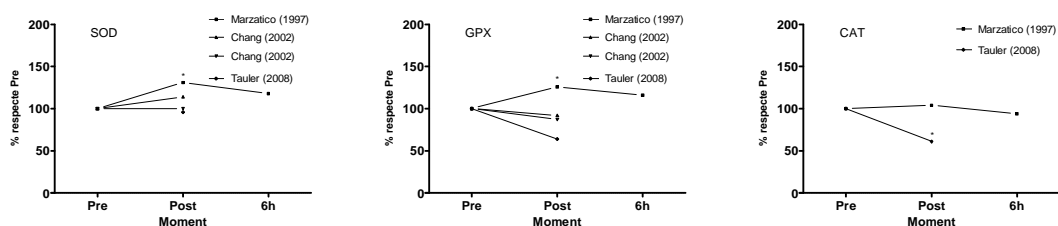


Figura 37. Evolució de l'activitat dels enzims antioxidants, SOD, GPX i CAT en sang immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals. Dades expressades en percentatge respecte el moment inicial. SOD: superòxid dismutasa; GPX: glutatió peroxidasa; CAT: catalasa; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç; 6h: a les 6 hores de recuperació de l'esforç. \* indica diferències estadísticament significatives respecte el moment inicial ( $p < 0,05$ ).

Pel que fa al glutatió (Figura 38), les alteracions observades suggereixen que a les activitats en intervals aquest podria exercir una funció antioxidant. Tot i que les concentracions de GSH augmenten, disminueixen o no es modifiquen, els canvis s'associen a un increment del GSSG, del TGSH, o a una disminució de l'índex GSH/GSSG.

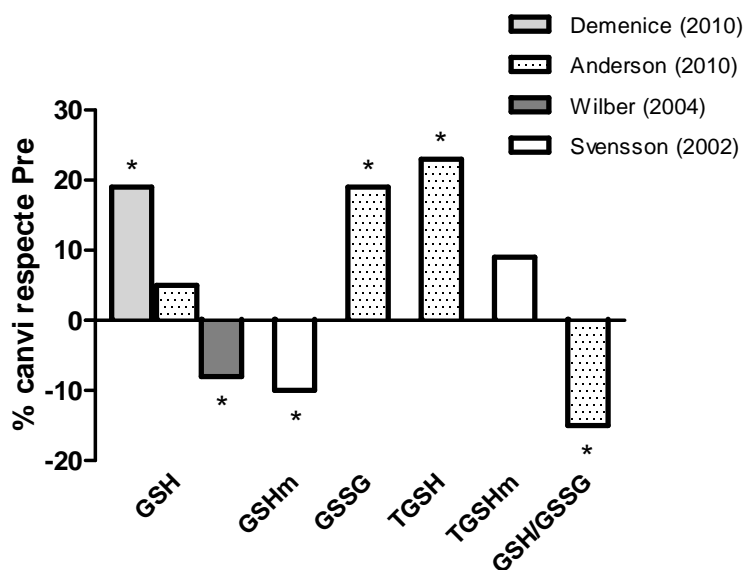


Figura 38. Evolució de la concentració de glutatió en plasma/múscul immediatament després de diverses activitats físiques en intervals. Dades expressades en percentatge respecte el moment inicial. GSH: glutatió reduït en plasma; GSSG: glutatió oxidat en plasma; TGSH: glutatió total (GSH + GSSG) en plasma; GSHm: glutatió reduït en múscul; TGSHm: glutatió total en múscul; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç. \* indica diferències estadísticament significatives respecte el moment inicial ( $p < 0,05$ ).

Dels antioxidants exògens, la vitamina C és la que es modifica en major mesura (Figura 39). Aquesta augmenta considerablement després de les activitats en intervals, mentre que la vitamina E es modifica poc. El  $\beta$ -carotè no varia significativament després de les activitats en intervals.

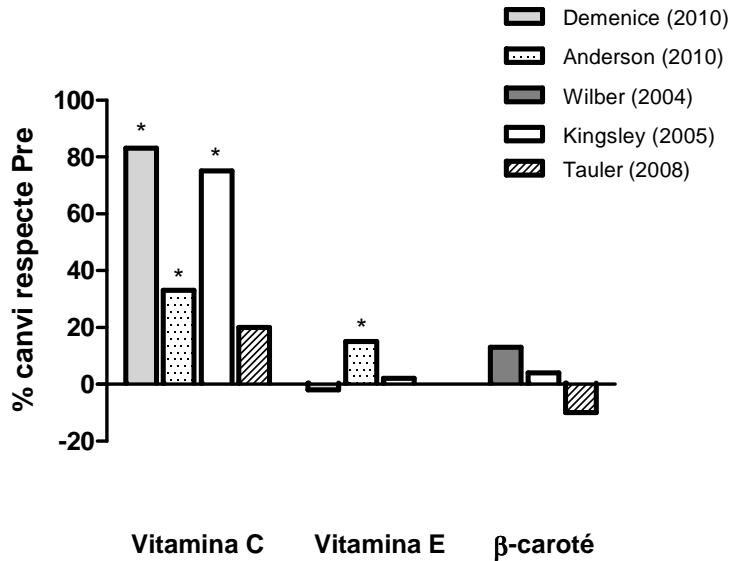


Figura 39. Evolució de la concentració de les vitamines C, E i de  $\beta$ -caroté en plasma immediatament després de diverses activitats físiques en intervals.

Dades expressades en percentatge respecte el moment inicial. Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç. \* indica diferències estadísticament significatives respecte el moment inicial ( $p < 0,05$ ).

Com s'aprecia a la Figura 40, l'àcid úric augmenta després de l'activitat física en intervals, ja sigui immediatament si aquesta és relativament llarga (Andersson, Karlsen, Blomhoff, Raastad & Kadi, 2010; Ascensão, Rebelo, Oliveira, Marques, Pereira & Magalhaes, 2008; Thompson et al., 2003), o al cap de 60 minuts de recuperació en esforços de més curta durada (Hellsten, Sjodin, Richter & Bangsbo, 1998; Svensson et al., 2002).

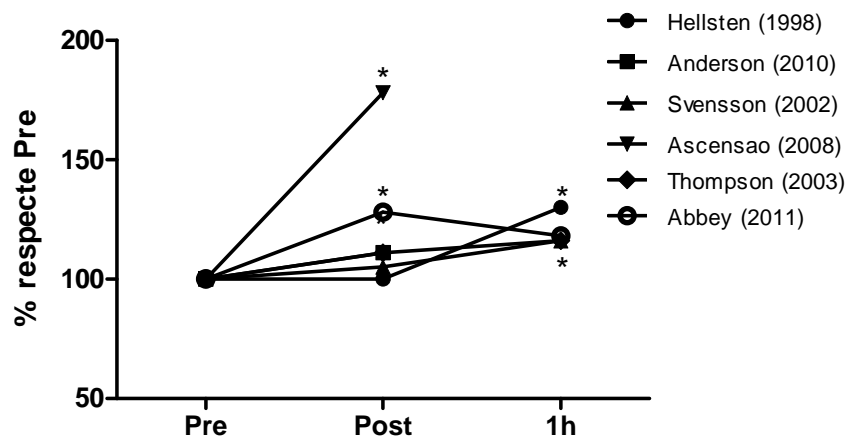


Figura 40. Evolució de la concentració d'àcid úric en plasma immediatament després i en la recuperació de diverses activitats físiques en intervals.

Dades expressades en percentatge respecte el moment inicial. Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç; 1h: als 60 minuts de recuperació de l'esforç. \* indica diferències estadísticament significatives respecte el moment inicial ( $p < 0,05$ ).

En les activitats en intervals només s'han descrit signes de dany oxidatiu en les molècules lipídiques (Figura 41). Alguns marcadors plasmàtics de peroxidació lipídica augmenten en la recuperació de l'esforç en intervals; MDA (Ascensão et al., 2008; Tauler et al., 2008; Thompson et al., 2003), TBARS (Chang et al., 2002; Deminice et al., 2010), LH (Kingsley, Wadsworth, Kilduff, McEnemy & Benton, 2005; Wilber et al., 2004), ox-LDL (Kingsley et al., 2005), mentre que d'altres (dROMS: *diacrons reactive oxygen species*) no es modifiquen (Andersson et al., 2010) o mostren respostes no concloents (Chang et al., 2002; Marzatico et al., 1997). Per contra, no sembla que immediatament després i en la recuperació primerenca de les activitats físiques en intervals es produeixi dany oxidatiu a les proteïnes (Demenice et al., 2010; Tauler et al., 2008), o als àcids nucleics (Wilber et al., 2004).

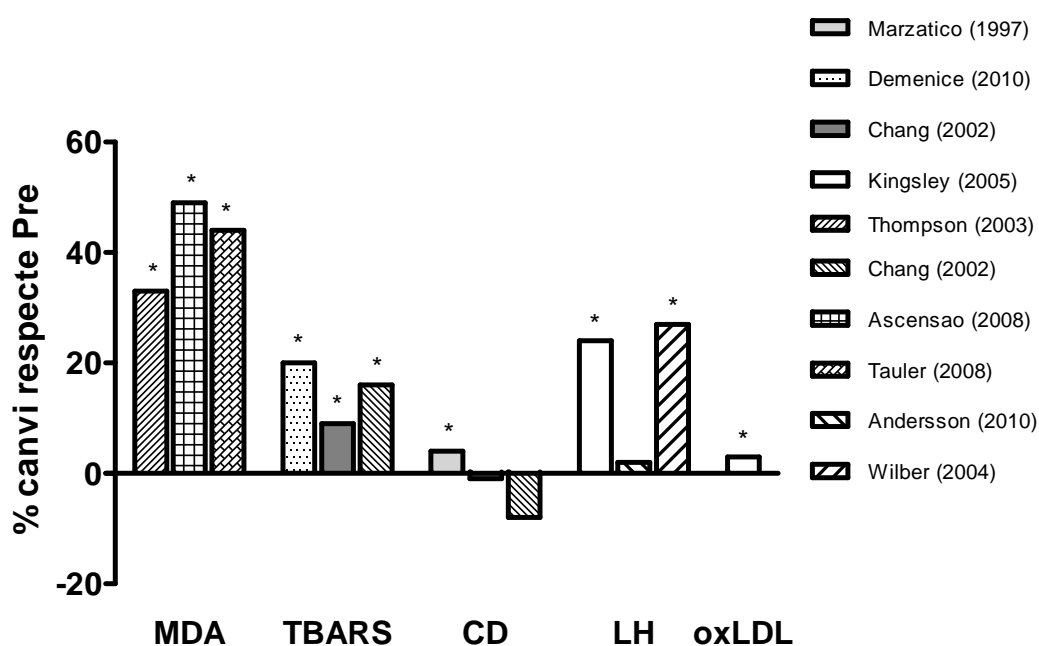


Figura 41. Evolució de la concentració plasmàtica de diversos marcadors de peroxidació lipídica immediatament després de diverses activitats físiques en intervals. Dades expressades en percentatge respecte el moment inicial. MDA: malondialdehid; TBARS: espècies reactives de l'àcid tiobarbitúric; CD: diens conjugats; LH: hidroperòxids lipídics; oxLDL: oxidació de lipoproteïnes de baixa densitat; Pre: abans de l'esforç; Post: immediatament després de l'esforç. \* indica diferències estadísticament significatives respecte el moment inicial ( $p < 0,05$ ).

En conjunt l'exercici físic en intervals, especialment el que simula les demandes fisiològiques dels esports col·lectius, no produeix en la recuperació immediata de l'esforç grans alteracions de l'activitat dels enzims antioxidants en sang, s'acompanya de la utilització del GSH, de la mobilització de la vitamina C i d'un descens de l'equilibri anti-pro-oxidant. Així mateix, s'han detectat indicis de dany oxidatiu als lípids, sense afectació oxidativa significativa de les proteïnes i àcids nucleics.

Però les demandes fisiològiques del futbol són molt diferents de les de les sessions de EAI. Un jugador de futbol professional d'alt nivell realitza entre 150 a 250 accions motrius molt intenses durant els 90 minuts del partit (Bangsbo, laia & Krstrup. 2007). Dels 10 000 metres

recorreguts durant el partit, 370 metres corresponen a esprints; 2030 metres a carrera d'alta velocitat; 3080 metres a carrera suau, i la resta es realitzen caminant (Randers et al., 2010). Per contra, com es veurà més endavant en una sessió d'entrenament en intervals (8 x 5') de 60 minuts de durada, l'esportista pot recórrer uns 8800 metres a alta velocitat. Malgrat que ambdues activitats corresponen a exercicis físics en intervals, les demandes fisiològiques de l'esforç seran diferents. Aquestes també seran diferents dels esforços basats en intervals molt breus e intensos.

En l'actualitat, els efectes de l'exercici físic en intervals de 4-5 minuts de durada, amb pauses de 2-5 minuts, sobre l'estat redox, encara no han estat estudiats o publicats. Tant sols Hellsten et al. (1997) han analitzat un tipus d'esforç en intervals de durada mitjana (4-5 minuts) i pauses també de 4-5 minuts, però en aquest cas les accions musculars, localitzades a l'extremitat inferior, eren de caire excèntric i unilaterals.

## 1.5 Metabolòmica i exercici físic

Tradicionalment gairebé tots estudis que han analitzat els efectes entrenants, o les adaptacions agudes i/o cròniques a l'exercici físic, s'han basat en la mesura i la comparació de les variacions d'un, o d'un conjunt reduït d'indicadors fisiològics, presents en diferents espècimens de fluids corporals (plasma/sèrum/saliva/orina), o procedents de teixits (particularment múscul esquelètic) extrets abans, durant i després de l'esforç.

Malgrat que aquesta aproximació ha permès mostrar els mecanismes de diversos processos fisiològics (Hellsten et al., 2001; Svensson et al., 2002)), la comprensió del funcionament dels mecanismes d'adaptació del sistema biològic pot millorar si es disposa d'una visió de conjunt de les alteracions produïdes, que complementi la informació procedent d'un nombre limitat de components.

La metabolòmica té com a finalitat l'anàlisi global dels metabòlits d'un sistema biològic. La idea fonamental és la caracterització de l'empremta, perfil metabòlic, o metaboloma del sistema biològic estudiat. Idle & Gonzalez (2007) defineixen el metaboloma com el conjunt de tots els metabòlits presents en un moment donat en l'espècimen d'estudi. El metaboloma és determinat mitjançant la detecció i quantificació simultània de totes les petites molècules detectables.

En el context metabolòmic, un metabòlit sol ser qualsevol molècula petita, habitualment de grandària inferior a 1kDa; tot i que poden existir excepcions segons les tècniques de detecció emprades.

A diferència dels mètodes que es basen en la investigació d'un, o d'un nombre reduït de components, la metabolòmica pretén aportar una interpretació holística del perfil metabòlic del fluid, cèl·lula, teixit u organisme d'interès. La metabolòmica pot ser una eina complementària a una aproximació més tradicional perquè permet quantificar e identificar en un mateix espècimen centenars (o milers) de metabòlits; i a més té la capacitat de processar, sintetitzar i comparar la informació de múltiples espècimens fent un retrat global del seu metaboloma.

L'estudi i la comparació de metabolomes de diferents fenotipus pot ajudar a avançar en la comprensió del funcionament de les vies metabòliques, en la descoberta de biomarcadors, i en la monitorització dels efectes de toxines o de tractaments farmacològics. En l'àmbit de l'exercici físic, en el futur les aproximacions metabolòmiques podrien contribuir a la cerca de talents, a la comprensió dels efectes saludables de l'exercici físic, a la detecció de factors de risc de patologia associada a l'activitat física, a la personalització de programes d'entrenament o a la lluita contra el dopatge (Walsh et al., 2011a).

El metaboloma, o empremta metabòlica, d'una persona és sensible tant a les influències genètiques, com ambientals. A diferència de les altres ciències òmiques (genòmica, transcriptòmica, proteòmica...) la metabolòmica té l'avantatge que els metabòlits varien molt més ràpid que l'ARN o les proteïnes, i poden reflectir millor l'estat actual del sistema biològic analitzat.

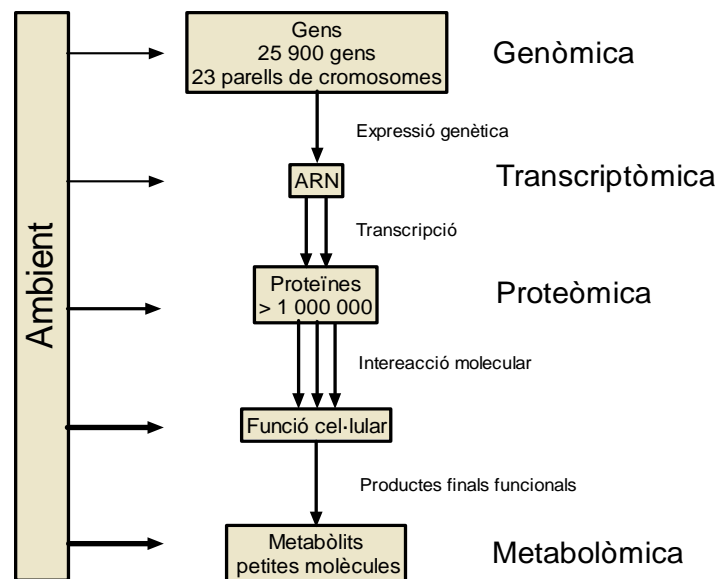


Figura 42. Funcions cel·lulars associades amb les tecnologies òmiques que contribueixen a l'estudi i comprensió dels sistemes biològics i la seva relació amb els canvis de l'entorn.

Les aproximacions basades en tècniques de genòmica, transcriptòmica i/o proteòmica aporten informació sobre fenòmens que hipotèticament podrien ocórrer; però la metabolòmica, com que detecta productes intermedis i/o finals del metabolisme té més potència per expressar el que ha succeït o està succeint en el sistema biològic (Figura 42).

No obstant, les aproximacions metabolòmiques generen tantes dades que és difícil interpretar-ne el seu significat. El nombre d'anàlisis detectats, és molt superior als que s'obtenen amb les altres ciències òmiques; i a banda de les limitacions degudes a la vida mitjana dels metabòlits, els compostos detectats tenen una major complexitat i diversitat química i física, cosa que complica considerablement la seva identificació.

L'evolució de la metabolòmica ha afavorit l'emergència de subdisciplines centrades en l'estudi d'espècies moleculars concretes. Per exemple, aquest és el cas de la lipidòmica, que es concentra en l'anàlisi de l'empremta lipídica del sistema biològic.

### 1.5.1 Tecnologia metabolòmica

La determinació del metaboloma, o del lipidoma, es realitza per mitja de plataformes que combinen tècniques analítiques sensibles, acompanyades o no de tècniques de separació, amb eines estadístiques potents.

Les tècniques de separació més comuns són la cromatografia de gasos (GC), la cromatografia líquida d'alt rendiment (HPLC), o l'electroforesi capil·lar (CE). Aquestes van associades a tècniques de detecció, com espectrometria de masses (MS) o ressonància magnètica nuclear (NMR). La primera combinació que es va utilitzar, i encara la més comú, és la GC-MS.

A més de les tècniques de separació i detecció dels metabòlits, les plataformes metabolòmiques han de disposar d'eines d'anàlisi estadístic uni i multivariables robustes, que permetin transformar les dades en informació manejable que en possibiliti la interpretació dels canvis detectats.

Taula 24. Mètodes d'anàlisi estadístic multivariables.

Base teòrica		Mètode
Valoració global	<b>Selecció dels subgrups</b> Exemple: selecció dels subgrups de predicció.	PCA
Separació per categories	<b>Comparació de perfils metabòlics</b> Exemple: comparació entre nivells de condició física, entre durada de les pauses....	OPLS-DA
Correlacions de la resposta	<b>Efectes metabòlics específics</b> Fer elució de patrons metabòlics relacionats amb un o diversos paràmetres específics. Exemple: predicció de risc cardíoc-vascular.	OPLS

PCA: anàlisi dels components principals; OPLS: mínims quadrats (*orthogonal partial least squares*); OPLS-DA: OPLS anàlisi discriminant. Adaptat de Chorell et al. (2009)

En l'àmbit de la metabolòmica es solen aplicar dos tipus d'aproximacions d'estudi (Figura 43); una no dirigida, amb una visió exploratòria o general; i l'altra, dirigida i amb una orientació més enfocada o guiada (Bain et al., 2009).

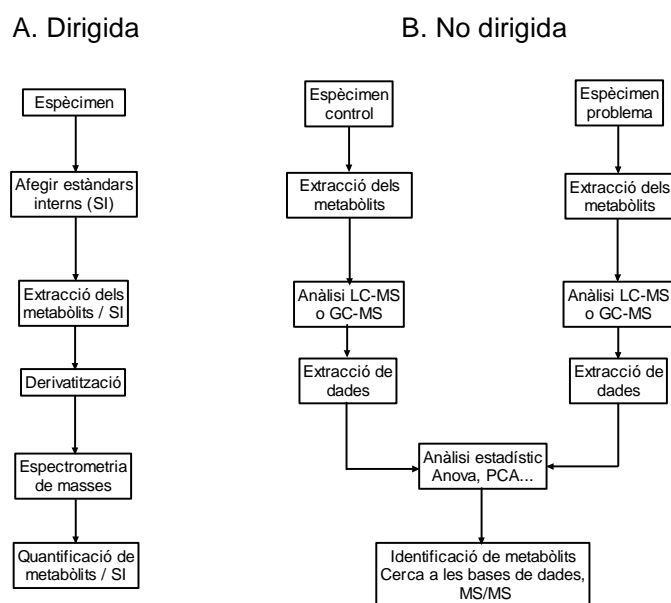


Figura 43. Esquema de les fases d'anàlisi en les aproximacions metabolòmiques dirigida (A) i no dirigida (B).

Adaptat de Bain et al.(2009).

La metabolòmica no dirigida, en general té com a finalitat la comparació global de l'estat d'un nombre important de compostos, entre diferents situacions experimentals (per exemple, repòs



versus exercici físic). Les dades obtingudes a partir del procés de separació i detecció són analitzades i comparades mitjançant tècniques estadístiques uni i multivariables per identificar les molècules que distingeixen les situacions estudiades. No obstant, la manca d'estàndards interns no permet identificar amb certesa moltes de les molècules diferencials, ni quantificar-ne les concentracions. La identificació inequívoca és bastant arriscada, en part a causa de les limitacions actuals de les bases de dades de masses, i per què a una mateixa característica molecular poden correspondre múltiples compostos.

En els estudis de metabolòmica dirigida s'afegeixen estàndards marcats amb isòtops a la mostra, i així es poden identificar i quantificar, amb més certesa, els analits desitjats.

### 1.5.2 Evolució històrica

L'aplicació de la metabolòmica a l'àmbit de l'exercici físic i l'esport és relativament recent. La cerca a Pubmed combinant els termes "metabolom\*" o "metabonom\*" com a paraula continguda en el títol dels documents, o com a terme MESH, mostra com les publicacions referents a aquest àmbit han augmentat ràpidament en els darrers 10 anys. De 3 documents publicats l'any 2000 s'ha passat a 173 al 2006 i més de 1000 al 2011. Si els termes anteriors es combinen amb "exercise or physical activity", en text lliure, s'obtenen 29 documents que podrien tenir alguna relació amb l'exercici físic en humans (Figura 44). La cerca a la base de dades Sports no va aportar cap document.

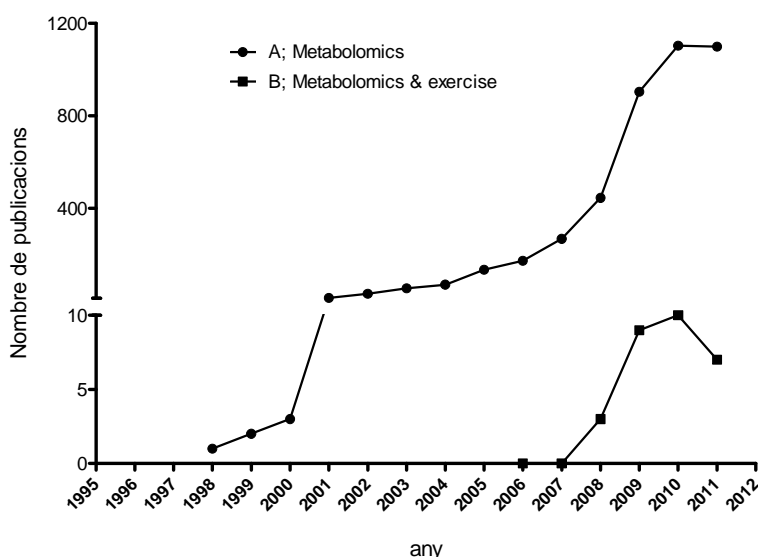


Figura 44. Evolució anual del nombre de documents indexats la base de dades Pubmed que fan referència a humans i que tenen en compte la relació entre l'exercici físic i la metabolòmica. L'equació de cerca va ser en primer lloc (A) "(metabolom\* [Mesh terms] or [Title]) or (metabonom\* [Mesh terms] or [Title])" i a continuació (B) es va combinar amb "and (exercise or physical activity)". En ambdós casos es va limitar la cerca als humans.

La cerca combinant el terme “lipidom” com a paraula continguda en el títol dels documents, o com a terme MESH, mostra que en els darrers anys s’han publicat 347 documents; 10 dels quals també s’associen amb l’exercici físic o l’entrenament. D’aquests darrers, tant sols un fa referència als humans.

Per tant, es pot concloure que a l’actualitat els estudis publicats que hagin utilitzat plataformes metabolòmiques per investigar la resposta que es produeix durant l’esforç físic en humans són molt escassos, especialment si es compara amb els altres àmbits d’estudi tractats en aquesta tesi.

### 1.5.3 Metaboloma de l’exercici físic

#### 1.5.3.1 Tipus d’estudis

Com es pot apreciar a les Taules 25 a 27, en humans, s’han descrit els efectes d’activitats físiques breus i intenses (Enea et al., 2010); mantingudes de baixa i moderada intensitat (Lehmann et al., 2010; Enea, et al. 2010); molt perllongades (Lewis et al. 2010), i en proves progressives màximes (Lewis, et al. 2010; Enea, et al. 2010).

Taula 25. Participants i protocols dels estudis que han analitzat els efectes aguts de l’exercici físic sobre el metaboloma plasmàtic en humans.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Durada Intensitat	Sistema biològic	Tècniques de separació i detecció
Lehmann (2010)	13H 32,6 (6,1) E	Tapis	60' 93%IAT (75%VO <sub>2max</sub> )	plasma	LC-qToF-MS
Lehmann (2010)	8H 30,9 (5,8) E	Tapis	120' 70%IAT (55%VO <sub>2max</sub> )	plasma	LC-qToF-MS
Lewis (2010)	6H2D 48 (14) S	Ciclo-ergòmetre	5-10' Progressiva màxima	plasma	LC-MS
Lewis (2010)	37H8D 58 (13) S	Tapis	4-6' Test de Bruce	plasma	LC-MS
Lewis (2010)	19H6D 42 (9) L	Carrera-Marató	3h Competició	plasma	LC-MS
Chorell (2009) Pohjalen (2007)	24H 25,7 (2,7) E	Ciclo-ergòmetre	9 x [(2' a 40%VO <sub>2max</sub> ) + (6' a 60%VO <sub>2max</sub> ) + (2' a 85%VO <sub>2max</sub> )	plasma	GC-ToF-MS

\*Edat expressada amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; S: persones sedentàries; VO<sub>2max</sub>: consum d’oxigen màxim; GC: cromatografia de gasos; ToF: temps de vol; MS: espectrometria de masses

Les activitats en intervals han estat objecte d’estudi per Pechlivanis et al., (2010), els quals varen avaluar el metaboloma urinari en resposta a una sessió d’entrenament en intervals caracteritzada per esprints intensos i breus, intercalats amb pauses de diferent durada. Així mateix, les proves realitzades per Chorell et al. (2009) i Pohjanen et al. (2007) també tenen un perfil d’intensitat variable que podria considerar-se com una prova en intervals mitjans (2’ al

85%VO<sub>2max</sub>) i pauses llargues actives, però els resultats dels canvis induïts per l'esforç físic no han estat publicats, ja que els autors s'han centrat en els efectes de la hidratació en el període de recuperació.

Per altra banda, la relació entre la realització d'un esforç físic i diverses patologies, com el risc d'isquèmia coronària (Barba et al., 2008; Sabatine et al., 2005), o la claudicació intermitent (Coolen et al., 2008) també han estat objecte d'estudis basats en la metabolòmica.

Però en realitat, com en molts altres àmbits, la major part d'investigacions que han emprat la metabolòmica en l'àmbit de l'exercici físic s'han centrat en els efectes de les intervencions nutricionals o ergogèniques, fent especial referència al període de recuperació de l'esforç (Bruce et al., 2010; Chorell, et al. 2009; Lee, West, Phillips & Britz-McKibbin, 2010; Miccheli et al., 2009; Nelson et al., 2011).

Així mateix també s'han analitzat mitjançant la metabolòmica, les repercussions a mig i llarg termini de la pràctica regular d'activitat física; per exemple diversos microcicles d'entrenament en remers sèniors i juvenils (Yan, et al., 2009); o programes d'exercici físic supervisat en pacients diabètics (Kuhl et al., 2008).

En general en els estudis vinculats a l'àrea de recerca de l'exercici físic i l'esport, el sistema biològic estudiat és el plasma, segurament per la relativa facilitat de recollida dels espècimens. Però, a més també cal considerar que és un dels medis a través del qual les cèl·lules del cos interaccionen entre elles, i que pot reflectir les modificacions agudes amb més celeritat que altres fluids corporals, també fàcils d'obtenir, com l'orina.

Taula 26. Participants i protocols dels estudis que han analitzat els efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma urinari en humans.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat	Durada Intensitat Pauses (entre repeticions i entre sèries)	Sistema biològic	Tècnica
Pechlivanis (2010)	16H 21 (2) LI	Carrera	3 x (2 x 80m) Màxima Pauses 10" i 20'	orina	RMN
Pechlivanis (2010)	6H 20 (1) LI	Carrera	3 x (2 x 80m) Màxima Pauses 1' i 20'	orina	RMN
Enea (2010)	22D 22,1 (0,6)/21,8 (1) S / E	Cicloergòmetre	Fins esgotament 75% VO <sub>2max</sub> -	orina	RMN
Enea (2010)	22D 22,1 (0,6)/21,8 (1) S / E	Cicloergòmetre	30" Màxima -	orina	RMN

\*Edat expressada amb la mitjana (desviació estàndard). AF: activitat física; H: homes; D: dones; Lleure: persones actives en el temps de lleure; E: esportistes que entrenen; S: persones sedentàries; VO<sub>2max</sub>: consum d'oxigen màxim; RMN: ressonància magnètica nuclear.

El plasma i el sèrum són dels sistemes biològics més analitzats en bioquímica clínica i existeixen nombroses taules de valors de referència dels components tradicionals. Darrerament s'ha aplicat la metabolòmica per a caracteritzar el metaboloma del sèrum/plasma. Psychogios et al. (2011) indiquen que respecte als compostos de petita grandària el sèrum i el plasma són molt similars. La principal diferència entre ambdós és la presència, en el sèrum, d'eicosanoides derivats del procés de coagulació. En el plasma hi ha components abundants com ions inorgànics, gasos i metabòlits orgànics. Lawton et al. (2008) combinant tècniques de GC-MS i LC-MS varen detectar més de 300 molècules. Altres investigadors, els quals apliquen la lipodòmica, han descrit en el sèrum més de 500 molècules de naturalesa lipídica (Quehenberger et al., 2010). Globalment agrupant els resultats de totes les plataformes aplicades a l'estudi del metaboloma plasmàtic s'han descrit més de 4000 compostos (Figura 45). Per tal d'ajudar a la seva identificació, s'han reunit els resultats dels diversos estudis en una base de dades d'accés lliure (Serum metaboloma data base: SMDB) que descriu les característiques de cadascun d'aquests compostos (Psychogios, et al. 2011). La conclusió és que en el plasma predominen les espècies lipídiques (diglicèrids, triglicèrids, fosfolípids, àcids grassos, esteroides i derivats esteroides) que cohabituen amb altres petites molècules, com aminoàcids, glucosa, glicerol, lactat, o productes de desfet com urea i creatinina. (Psychogios, et al. 2011).

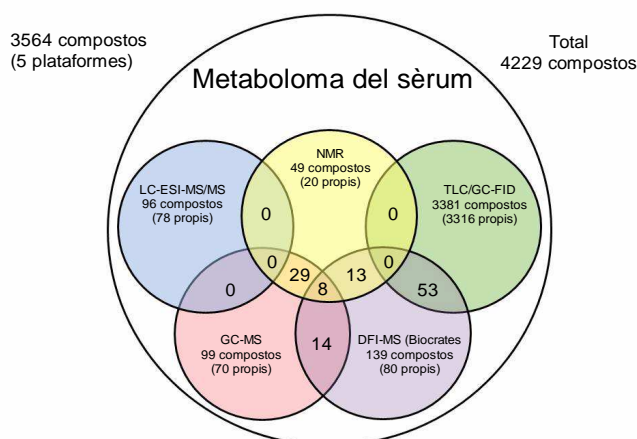


Figura 45. Diagrama de Venn que mostra els metabòlits detectats en el sèrum aplicant diferents plataformes metabolòmiques..

NMR: ressonància magnètica nuclear; GC-MS: cromatografia de gasos- espectrometria de masses; TLC/GC-FID: lipodòmica; DFI-MS: injecció de flux directe-espectrometria de masses; LC-ESI-MS/MS: perfil lipídic (LC: cromatografia líquida-ESI-espectrometria de masses/espectrometria de masses. (Psychogios et al., 2011).

### 1.5.3.2 Efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma plasmàtic

Els resultats obtinguts en els estudis que han analitzat els efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma plasmàtic, o urinari, han confirmat alguns dels canvis que ja havien estat descrits mitjançant tècniques analítiques convencionals i específiques per a cada analit, però

també han aportat nova informació que no s'havia pogut detectar amb les tècniques anteriors.

En general, l'exercici físic agut produeix modificacions en els metabolomes del plasma i la orina. Malgrat el gran nombre de molècules detectades, la majoria d'estudis tant sols identifiquen i quantifiquen uns 25 metabòlits simultàniament: 22 Pechlivanis et al. (2010) i 23 Lewis et al. (2010). Els compostos més discriminants entre l'abans i el després de l'esforç, i que han estat suposadament identificats es poden assignar a diverses rutes metabòliques. Aquestes estan relacionades amb el metabolisme de les purines, el cicle de Krebs, el metabolisme dels carbohidrats, dels lípids i dels aminoàcids; i amb l'estat redox entre altres.

Per exemple, després d'una prova progressiva màxima en cicloergòmetre, Lewis et al. (2010) observen un augment de la concentració de productes del catabolisme dels nucleòtids de l'adenina en el plasma procedent de les extremitats inferiors. Aquest canvi segurament reflecteix l'elevat metabolisme de l'ATP en els músculs actius. També en orina s'ha descrit la presència de productes de la degradació de les purines (inosina i hipoxantina), després d'una sessió en intervals. A més, la quantitat era superior si les pauses entre les repeticions eren llargues (Pechlivanis, et al. 2010). Aquest augment en orina podria reflectir l'elevat ritme d'ús de l'ATP durant els esprints.

A banda del metabolisme dels nucleòtids de l'adenina, mitjançant la metabolòmica també s'ha posat de manifest l'activació del cicle de Krebs. Així, Lewis et al. (2010) després d'una maratón, i Pechlivanis et al. (2010) en la recuperació de les sessions d'entrenament en esprints, han identificat augments de certs d'intermediaris del cicle de Krebs en plasma i orina, respectivament. Tants sols el citrat en orina, va disminuir (Pechlivanis et al., 2010), però els investigadors ho atribueixen a mecanismes de compensació de l'acidosi tubular renal causada per la major quantitat de lactat. La disminució de glicina i hipurat confirmarien aquesta hipòtesi.

Com es podria esperar, en el metaboloma també queda reflectida l'activació del metabolisme de la glucosa, mitjançant increments del lactat i del piruvat en plasma (Lewis et al., 2010) i orina (Pechlivanis et al., 2010). A la sessió d'entrenament en intervals, l'activació de la glicòlisi va ser sensible a la durada de les pauses, ja que el lactat i el piruvat augmenten més si aquestes són curtes (Pechlivanis et al., 2010). A més l'aproximació metabolòmica ha permès detectar també elevacions de productes indicadors de l'activació de la glicogenòlisi (G-6-P i 3-PEG) després de les proves progressives màximes.

De forma similar, l'activació del metabolisme dels lípids a causa de l'exercici físic modifica el metaboloma plasmàtic. Segons Lehman et al. (2010), en activitats físiques mantingudes i de moderada intensitat, els compostos més discriminants entre el metaboloma plasmàtic previ i posterior a la sessió és l'increment d'espècies acil-carnitina de cadena mitjana. Aquests investigadors no varen poder detectar els compostos fortament negatius, com els àcids grassos, perquè només varen aplicar una font d'ionització positiva, però amb tècniques analítiques convencionals varen observar un augment important i significatiu (+223%) dels àcids grassos no esterificats en plasma. En esforços més perllongats (120'), Lehman et al.

(2010) també detecten un increment (+509%) de les espècies acil-carnitina en plasma immediatament després de l'esforç. Per la seva banda, Lewis et al. (2010) varen registrar elevacions de glicerol i de  $\beta$ -hidroxibutirat, immediatament després d'una prova d'esforç progressiva màxima i d'una competició de marató. En conjunt, les dades concorden amb l'activació de la lipòlisi i de l'oxidació dels lípids. Durant la recuperació de l'esforç Chorell et al. (2009) aprecien nivells elevats d'àcids grassos i nivells baixos de carbohidrats i aminoàcids. Les espècies acil-carnitina disminueixen ràpidament als nivells basals durant la recuperació (Lehman et al., 2010).

Per altra banda, si l'exercici físic és exigent, com una marató, també en el metaboloma destaca la producció de cossos cetònics (Lewis et al., 2010). Això no obstant, Pechlivanis et al. (2010) no varen registrar modificacions de les concentracions dels cossos cetònics (acetoacetat i 3-hidroxibutirat) en orina, després de les sessions d'entrenament en esprints. Per aquests investigadors, l'absència de canvis indica que no va haver-hi dificultats d'utilització dels carbohidrats com a font d'energia.

Les variacions dels aminoàcids en plasma són menys regulars. Lewis et al. (2010) varen trobar una reducció dels aminoàcids gliconeogènics, com alanina, treonina i serina. Per contra, després d'activitats de menor durada, s'han descrit increments de l'alanina en plasma i orina. Els augments d'alanina i 2-oxoglutarat registrats després de l'esforç podrien ser el resultat del creixement de piruvat i lactat, ja que els primers es poden formar per transaminació del piruvat i el glutamat.

Altres aminoàcids que poden disminuir després de l'exercici físic són el triptòfan, mentre que els seus productes de degradació augmenten.

L'augment dels productes de degradació dels aminoàcids ramificats, indicaria que durant l'exercici el catabolisme dels aminoàcids musculars és elevat. En les activitats en intervals, la resposta pot ser diferent segons la durada de les pauses. Els productes de degradació de la leucina i la isoleucina augmenten més si les pauses són breus, mentre que els de la valina no responen de forma diferenciada segons la durada de les mateixes (Pechlivanis et al., 2010).

També s'han identificat altres compostos, com l'al·lantoïna i la niacinamida que formarien part dels components discriminants dels metabolomes previ i posterior a l'esforç físic. La formació d'al·lantoïna es localitza en una etapa final del metabolisme de les purines. En els humans l'al·lantoïna prové de l'oxidació no enzimàtica de l'urat pel superòxid. En certes activitats físiques s'ha observat que aquesta disminueix, i per tant indica que la producció de superòxid no era excessiva (Lewis et al., 2010; Pechlivanis et al., 2010). Això no obstant, en altres tipus d'esforç, com una marató, s'han descrit increments d'al·lantoïna que podrien reflectir un estat pro-oxidant (Lewis et al., 2010).

La metabolòmica també ha permès descobrir que la niacinamida augmenta després de l'esforç. La niacinamida és una molècula que modula la sensibilitat a la insulina i podria estar implicada en la regulació de l'ús de la glucosa durant i en la recuperació de l'esforç.

El 2-hidroxitirac, derivat de la metionina en el procés de síntesi de la cisteïna, també és un component que participa en la diferenciació del metaboloma urinari posterior a l'esforç. Es produeix en els teixits que sintetitzen glutatió, principalment el teixit hepàtic. L'índex  $[NADH]/[NAD^+]$  afavoreix la producció de 2-hidroxitirac. En situacions d'exercici intens i d'activació important de la glicòlisi, l'índex  $[NADH]/[NAD^+]$  pot elevar-se i per tant també la producció de 2-hidroxitirac.

El metaboloma plasmàtic varia amb la pràctica d'exercici físic, però les modificacions no sempre són homogènies per tot el sistema. Després d'una prova progressiva màxima Lewis et al. (2010) varen descobrir l'existència de diferències en les empremtes metabolòmiques corresponents a la sang extreta de la vena cava superior (VCS), i de l'artèria pulmonar (AP). La primera recull la sang procedent de la part superior del cos, mentre que la segona reuneix la sang procedent de la zona inferior (73% del flux) i superior de l'organisme. Especialment varen observar majors increments de les concentracions dels productes de degradació de les purines i dels intermediaris del cicle de Krebs en l'artèria pulmonar. El rang de l'índex del canvi de concentració entre les dues localitzacions ( $\Delta AP/\Delta VCS$ ) era de 2,2 a 9,0, pels productes de degradació de les purines i de 1,7 a 2,3 pels intermediaris del cicle de Krebs. Aquest fet indica que la producció dels compostos té lloc a la part inferior del cos, la qual correspon a la zona activa. Durant la recuperació el gradient entre les dues zones va desaparèixer.

Per altra banda, els canvis en compostos com l'acetoacetat o la G-6-P eren similars en ambdues localitzacions. Segons Lewis et al. (2010) això podria ser degut a que exercirien una funció de senyalització cel·lular.

### 1.5.3.3 Efectes de la condició física sobre la resposta aguda a l'exercici

Els estudis basats en la metabolòmica també han confirmat que el grau de condició física repercuteix en les modificacions induïdes per l'esforç físic.

Després d'una prova d'esforç progressiva màxima els participants amb millor condició física varen mostrar majors increments de glicerol i pantotenat, segurament com a conseqüència d'una major utilització de la lipòlisi (Lewis et al., 2010). Els canvis de la metionina i la glutamina varen ser superiors en el grup amb una condició física inferior. També en la recuperació d'una prova en intervals de 90', els participants amb millor condició física presentaven majors concentracions d'aminoàcids i d'àcids grassos (Chorell et al., 2009). Especialment àcid araquidònic, que és l'àcid gras essencial, precursor dels eicosanoides.

Els canvis del metaboloma plasmàtic després d'una marató també varien segons la condició física dels corredors (Lewis et al. 2010). El metaboloma plasmàtic posterior a l'esforç dels corredors més ràpids i amb millor condició física es caracteritza per l'existència de majors concentracions d'intermediaris del cicle de Krebs, d'argininosuccinat i niacinamida; d'un creixement menor dels cossos cetònics i de l'al·lantoïna; i d'un descens menor de la citrul·lina, la qual modula la disponibilitat d'arginina per a la síntesi d'òxid nítric. En canvi no es varen

observar associacions entre la velocitat de cursa i els canvis del glicerol o els de pantotenat (Lewis et al., 2010), com en la prova progressiva màxima indicada anteriorment.

Com en els maratorians més ben preparats, l'anàlisi del metaboloma urinari va mostrar que en les dones entrenades, els increments d'acetoacetat a posteriori d'un esforç intens eren inferiors als registrats en dones sedentàries (Enea et al., 2010).

#### 1.5.3.4 Efectes de l'adaptació crònica a l'exercici en el metaboloma de repòs

En repòs també es detecten diferències del metaboloma plasmàtic entre persones entrenades i sedentàries. Per exemple, els resultats obtinguts per Yan et al. (2009) indiquen que en comparació amb el grup control format per persones sedentàries, els remers entrenats presenten nivells plasmàtics més elevats d'alanina, lactat, cisteïna, àcid glutàmic, valina, glutamina; i nivells més baixos de  $\beta$ -D-metilglucopiranosà, àcid cítric, àcid palmític, àcid linoleic i àcid oleic (Yan et al., 2009).

#### 1.5.3.5 Efectes de l'exercici físic en persones amb patologia

La Taula 27 mostra els estudis que han aplicat la metabolòmica en la resposta aguda a l'esforç físic en persones amb alguna patologia crònica.

Taula 27. Estudis que han analitzat els efectes aguts de l'exercici físic sobre el metaboloma plasmàtic en humans amb patologia.

Referència	Participants n i gènere Edat* (anys) Grau AF	Modalitat Durada Intensitat	Finalitat	Sistema biològic	Tècniques de separació i detecció
Sabatine (2005)	18HD 64 (10) pacients	Tapis 9' Progressiva màxima (Test de Bruce)	Bona adaptació a l'esforç	plasma	LC-qToF-MS
Sabatine (2005)	18HD 64 (10) pacients	Tapis 7' Progressiva màxima (Test de Bruce)	Isquèmia d'esforç	plasma	LC-qToF-MS
Barba (2008)	31HD 68 (2) pacients	Tapis 5-6' Progressiva màxima (Test de Bruce)	Predicció isquèmia d'esforç	plasma	RMN
Coolen (2008)	14HD 51-79 pacients	Caminar 5'	Claudicació intermitent	plasma orina	RMN

\*Edat expressada amb la mitjana (desviació estàndard) o el rang. AF: activitat física; H: homes; D: dones; GC: cromatografia de gasos; ToF: temps de vol; MS: espectrometria de masses; RMN: ressonància magnètica nuclear.

Com en les persones sanes, l'anàlisi del metaboloma plasmàtic després de proves progressives realitzades en pacients també va evidenciar un increment dels metabòlits del catabolisme de les purines en múscul esquelètic, dels intermediaris del cicle de Krebs, del lactat, i de la glucosa (Sabatine et al., 2005; Coolen et al., 2008; Barba et al., 2008). Alguns



dels compostos detectats podrien ajudar a distingir, i explicar, una bona adaptació aguda a l'esforç d'una mala-adaptació. Segons Sabatine et al. (2005), entre els pacients que es varen adaptar correctament a l'esforç i els que varen sofrir isquèmia induïda, hi ha sis metabòlits diferencials. Barba et al. (2008) considera que el lactat i la glucosa, i les porcions metil i metilèniques dels lípids i els aminoàcids de cadena llarga són els principals compostos que permeten discriminar els pacients susceptibles de sofrir isquèmia induïble per l'esforç dels que no.

En conclusió, dels estudis realitzats fins ara es desprèn que els canvis del metaboloma plasmàtic en resposta a l'activitat física estan dominats per l'activació de les vies metabòliques relacionades amb el metabolisme energètic i el reclutament dels substrats energètics dels seus reservoris extra-musculars. Els canvis també evidencien l'existència de diferències entre les zones actives i no actives.

Els resultats obtinguts amb la metabolòmica també suggereix l'existència de metabòlits marcadors de la qualitat de l'adaptació a l'esforç físic (esportistes entrenats versus sedentaris; pacients angina induïda per l'esforç versus pacients sense angina induïda).

No obstant, en l'actualitat els estudis realitzats són escassos, i en la majoria d'aquests s'han valorat esforços d'alta intensitat en relació a la forma física dels participants. De fet, de moment encara no s'ha analitzat el metaboloma plasmàtic en activitats físiques mantingudes de moderada intensitat, ni en activitats en intervals, similars a una sessió d'entrenament aeròbic en intervals.

## **2 Objectius**



La finalitat de l'estudi és valorar i comparar els efectes entrenants (adaptacions agudes) sobre l'organisme, durant i en les primeres hores la recuperació (1 hora i 3 hores) de dues sessions d'entrenament de 60 minuts de durada a dues intensitats distintes (90% del lliandar anaeròbic individual versus 105% del lliandar anaeròbic individual) i amb una distribució diferent dels períodes de treball (continu tradicional versus aeròbic en intervals de 5 minuts i pauses de 2 minuts) en una població de persones sanes i amb bona condició física, en relació als següents aspectes:

I. Descriure els canvis que es produeixen immediatament després i en la recuperació primerenca de les dues sessions d'entrenament respecte a:

1. el recompte i fórmula de la sèrie blanca.
2. les concentracions plasmàtiques de les hormones d'estrès: catecolamines i cortisol.
3. les concentracions plasmàtiques de paràmetres de fase aguda i de l'estat d'inflamació: TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-8, CRP i SAA.
4. les concentracions plasmàtiques de marcadors de dany oxidatiu: grups carbonil proteics.
5. les concentracions plasmàtiques de marcadors de l'estat antioxidant: d'àcid úric i FRAP.

II. Comparar l'evolució dels paràmetres indicats en el punt anterior (I) entre les dues sessions d'entrenament.

III. Relacionar els diferents canvis observats immediatament després i en la recuperació primerenca en les dues sessions d'entrenament, fent especial referència als paràmetres indicats en el punt I.

IV. Aplicar una aproximació metabolòmica no dirigida per a descriure i comparar els canvis observats immediatament després de les dues sessions d'entrenament, des de una perspectiva global e integrada.



## **3 Material i Mètodes**



## 3.1 Metodologia

### 3.1.1 Disseny

L'estudi té un disseny quasi-experimental, amb un protocol pre-post, en el que els participants són els seus propis controls.

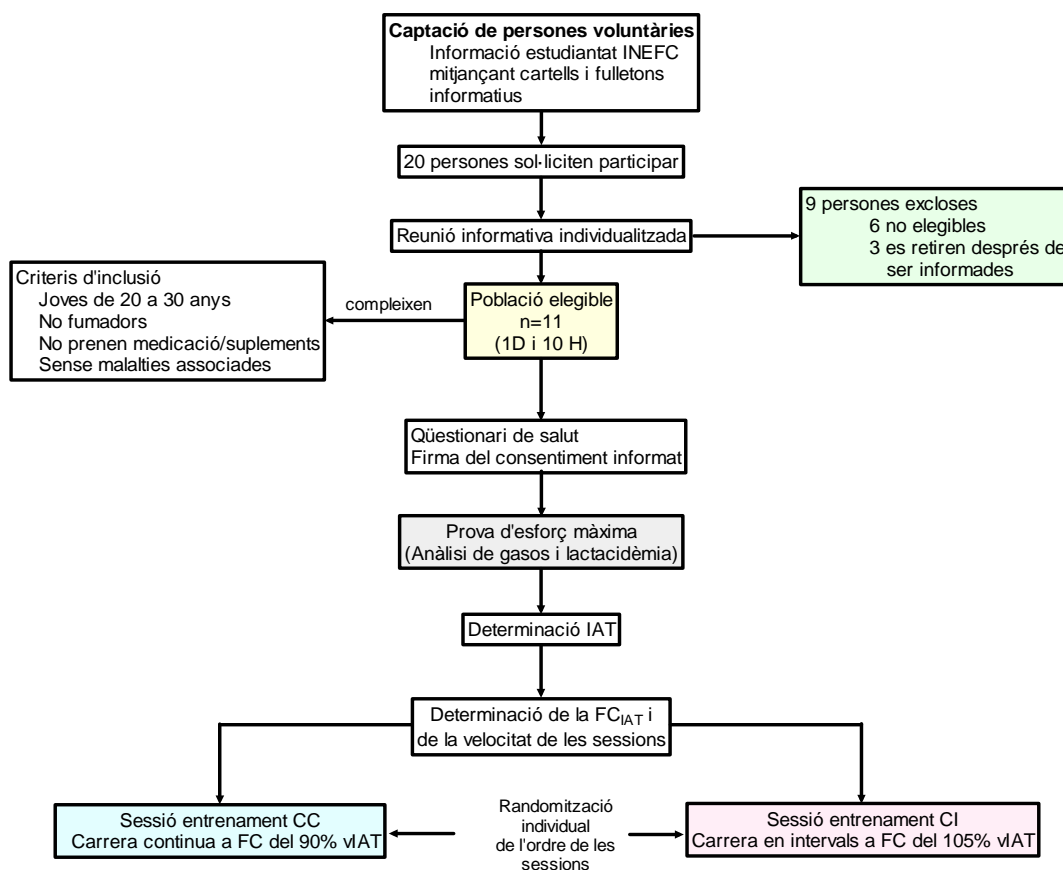


Figura 46. Diagrama dels passos seguits al llarg de la fase de presa de dades.

H: homes; D: dones; IAT: Límit anaeròbic individual.  $FC_{IAT}$ : Freqüència cardíaca corresponent al IAT; vIAT: velocitat del IAT; CC: sessió de carrera contínua; CI: sessió de carrera en intervals.

### 3.1.2 Participants

#### 3.1.2.1 Selecció dels participants

Com s'indica a la Figura 46, mitjançant notes informatives es va demanar a l'estudiantat de l'INEFC de Lleida la participació voluntària en l'estudi. A tots i cadascun dels participants se'ls va explicar verbalment, i per escrit, els objectius i la naturalesa de l'estudi, invitant-los a firmar voluntàriament el document de consentiment informat (Annex 9.1), d'acord amb les normes ètiques sobre els treballs de recerca en els que participen persones voluntàries indicades a la Declaració de Helsinki (59th WMA General Assembly, 2008).



Com a requisit previ a la seva inclusió definitiva a l'estudi, abans de l'inici de les proves experimentals, es va realitzar una història clínica completa, recollint els antecedents personals, familiars i esportius (Annex 9.2). Els participants havien de complir els criteris que es detallen a continuació:

- No registrar en l'anamnesi cap afectació en el moment present que contraindiqui la realització d'una prova d'esforç (ACSM, 2006).
- No patir cap malaltia infecciosa, al·lèrgica o de qualsevol altra etiologia, així com no estar prenent cap fàrmac que pogués afectar el rendiment durant la realització de les proves, o interferir amb la resposta aguda a l'exercici físic.
- No ser fumador.
- Haver firmat el document de consentiment informat on autoritzen per escrit de l'acceptació e inclusió a l'estudi.

Inicialment es va comptar amb la participació voluntària d'onze persones majors d'edat, sanes i amb una bona condició física (consum d'oxigen màxim ( $VO_{2max}$ ) superior a  $50 \text{ ml}\cdot\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Tots ells formaven part de l'estudiantat de la llicenciatura de Ciències de l'Educació Física i l'Esport i complien els següents criteris d'inclusió indicats anteriorment. Al llarg de l'estudi es va excloure un participant per causes mèdiques (Figura 47).

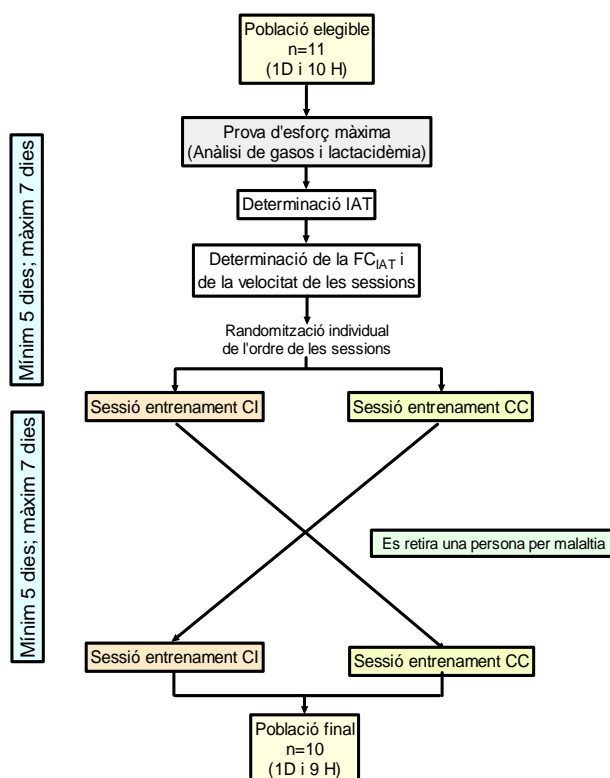


Figura 47. Etapes de la fase de presa de dades de les sessions d'entrenament.

H: homes; D: dones; IAT: Llíndar anaeròbic individual.; FC<sub>IAT</sub>: Freqüència cardíaca corresponent al IAT; CC: sessió de carrera contínua; CI: sessió de carrera en intervals.

El grup final va agrupar un total de 10 participants (9 homes i 1 dona) que complien els criteris d'inclusió establerts. A la Taula 28 es mostren les seves característiques físiques.

Taula 28. Característiques físiques dels participants.

Condicció n = 10	Mitjana (DE)	IC95%	
		Li	Ls
Edat (anys)	23,3 (2,5)	21,8	25,3
Talla (cm)	176,9 (11,5)	168,3	185,6
Pes (kg)	71,9 (10,2)	63,8	79
IMC (kg·m <sup>-2</sup> )	22,7 (1,5)	21,6	23,7

IMC: índex de massa corporal (Pes(kg)·Talla<sup>-2</sup> (m)); DE: desviació estàndard; IC95%: interval de confiança del 95%; Li: límit inferior; Ls: límit superior.

### 3.1.3 Materials, instrumental e instal·lacions

Es va disposar de tot el material fungible i accessoris necessaris per a l'extracció de les mostres de sang (capil·lar i venosa), i per al correcte funcionament dels equips de laboratori. A l'Annex 9.3 s'indiquen els reactius i solucions emprades en les determinacions tècniques analítiques específiques. La descripció de les instal·lacions, i de l'instrumental més rellevant, s'ha inclòs, a continuació en l'apartat corresponent a cada prova o tècnica.

## 3.2 Protocols de l'exercici físic

### 3.2.1 Proves d'esforç de laboratori

Totes les proves d'esforç es varen realitzar al Valoració Funcional de L'INEFC-Lleida entre les 8h30 i 10h30. El laboratori disposa dels mitjans necessaris per mantenir un temperatura òptima estable (20°C ± 2°C ). Aquesta es va controlar abans de la realització de cada prova, mitjançant un termòmetre de mercuri i va oscil·lar entre 20-22°C.

#### 3.2.1.1 Condicions prèvies

Abans de la realització de les proves d'esforç calia complir els següents requisits:

##### 1) Per part del participant voluntari

- No haver realitzat un esforç físic intens<sup>1</sup> en les 24h prèvies a la prova.
- Haver descansat la nit anterior, almenys 8 hores.

<sup>1</sup> L'exercici físic intens comprèn activitats que corresponguin a una despesa energètica superior a 8 METS i mantingudes durant almenys 30 minuts (American College Sports Medicine, 2010)

## 2) Per part del personal investigador

- Comprovar les condicions atmosfèriques ambientals (temperatura, pressió baromètrica, humitat relativa)
- Posar a punt del material utilitzat a cada prova: analitzador de gasos, analitzador de lactat, tapis rodant, cronòmetres, monitors de ritme cardíac, material per a les extraccions de sang.
- Calibrar l'analitzador de gasos introduint les dades meteorològiques (temperatura ambiental, humitat i pressió baromètrica). Els resultats de la calibració havien d'indicar valors pròxims a 20.9% d'oxigen i 0% de diòxid de carboni.
- Col·locar el cinturó toràcic amb els elèctrodes superficials per al registre de la freqüència cardíaca mitjançant el sistema telemètric Polar 610s (Polar electro OY, Kempele, Finlàndia) i comprovar el bon funcionament de la transmissió dels senyals.
- Recordar al participant el protocol i les normes de seguretat de la prova d'esforç.

### 3.2.1.2 Ergoespirometria en tapis rodant

Cada participant va realitzar una prova màxima d'esforç en tapis rodant (Powerjog, Birmingham, Regne Unit). Abans de l'inici de la prova els voluntaris realitzaven un escalfament de 3 minuts de durada, amb un desnivell fix del 3%, i a una velocitat entre 2,22 i 2,27 m·seg<sup>-1</sup>, segons la condició física del participant, per tal que la freqüència cardíaca no superés els 140-150 batecs per minut.

Durant l'escalfament s'ensenyava al participant a sortir i entrar del tapis en moviment, i es comprovava que la monitorització de la freqüència cardíaca fos adequada.

Transcorreguts els 3 minuts, es començava la prova màxima esglaonada mantenint el desnivell fix del 3%, i la mateixa velocitat de l'escalfament. Cada 3 minuts s'incrementava la velocitat en 0,55 m·seg<sup>-1</sup>. Entre cada estadi d'intensitat es feia una pausa de 30" durant la qual s'extreia una mostra de sang capil·lar del lòbul de l'orella (10µL). La prova finalitzava al aconseguir el consum d'oxigen màxim (VO<sub>2max</sub>), o quan el participant no podia mantenir la velocitat i s'aturava voluntàriament (ACSM, 2006).

Posteriorment, els participants feien tres minuts de recuperació activa, a 2,22 m·seg<sup>-1</sup>, i desnivell fix del 3%. A llarg del període de recuperació es va prosseguir fent extraccions de sang del lòbul de l'orella. Aquestes es varen realitzar als minuts 1, 3, 5, 7 i 10 de recuperació.

El test s'acceptava com màxim si es complien dos dels següents criteris: augment del VO<sub>2max</sub> inferior al 10% del VO<sub>2</sub> assolit al final de la càrrega anterior; aconseguir una freqüència cardíaca superior al 95% de la freqüència cardíaca màxima teòrica (calculada segons la fórmula: 220 - edat del participant en anys), aconseguir un quocient respiratori (VCO<sub>2</sub>·VO<sub>2</sub><sup>-1</sup>) major de 1,15, o esgotament del participant (American College of Sports Medicine, 2006).

La Figura 48 mostra un esquema del protocol utilitzat en la prova màxima de laboratori.

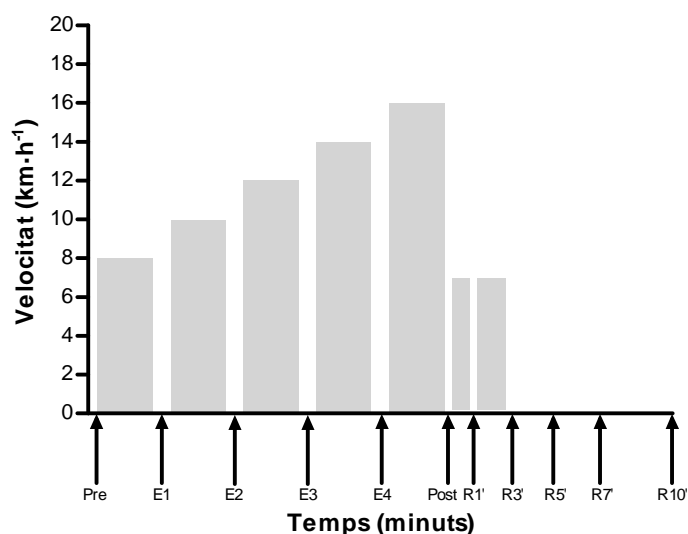


Figura 48. Esquema dels estadis de treball físic i les pauses de la prova d'esforç màxima progressiva realitzada al laboratori.

Es barres indiquen els estadis de treball i les fletxes el moment en que es realitzaven les extraccions de sang capil·lar, mitjançant punció del lòbul de l'orella. Pre: immediatament abans de la prova; Post: al finalitzar la prova; E: al finalitzar l'estadi; R: minut de recuperació.

### 3.2.1.3 Variabes registrades

#### 1) Paràmetres ergoespiromètrics

Durant les proves màximes es varen monitoritzar les dades de l'intercanvi de gasos i de la ventilació de forma contínua mitjançant un analitzador de gasos automatitzat respiració a respiració VO2000 (Medical Graphics Corporation. St. Paul's, Minnesota, EUA). Es tracta d'un sistema integrat en el que existeix una càmera d'anàlisi de gasos, on s'analitzen contínuament les fraccions espiratòries de CO<sub>2</sub> (mitjançant infrarojos) i les fraccions espiratòries d'O<sub>2</sub> (mitjançant una cèl·lula de zirconi). El microprocessador de l'analitzador de gasos es va configurar de manera que establia la mitjana de les variables ergomètriques analitzades en les darreres 8 respiracions.

Durant la realització dels tests màxims es varen recollir diversos paràmetres ergoespiromètrics, entre ells:

- Ventilació (VE en STPD) (L·min<sup>-1</sup>)
- Consum d'oxigen (VO<sub>2</sub> en STPD) (ml·min<sup>-1</sup>)
- Producció de diòxid de carboni (VCO<sub>2</sub> en STPD) (ml·min<sup>-1</sup>)
- Quocient respiratori (R = VCO<sub>2</sub>·VO<sub>2</sub><sup>-1</sup>)
- Fracció espiratòria de l'O<sub>2</sub> (FEO<sub>2</sub>)
- Fracció espiratòria del CO<sub>2</sub> (FECO<sub>2</sub>)
- Equivalent ventilatori de l'O<sub>2</sub> (VE·VO<sub>2</sub><sup>-1</sup>)
- Equivalent ventilatori del CO<sub>2</sub> (VE·VCO<sub>2</sub><sup>-1</sup>)

## 2) Freqüència cardíaca

Es va mesurar mitjançant un monitor de ritme cardíac Polar 610s (Polar electro YO, Kempele, Finlàndia) que registrava i emmagatzemava la FC cada 5 segons. Posteriorment les dades es varen transmetre a un ordinador mitjançant un port infraroig i varen ser analitzades amb el programa Polar Precision performance (Polar electro YO, Kempele, Finlàndia).

Durant la prova d'esforç màxima també es va controlar el registre electrocardiogràfic amb un monitor electrocardiogràfic Bexkop (Bexen-Osatu, Ermua, Espanya) per excloure la presència d'arítmies o signes d'isquèmia cardíaca. A més es disposava de material de reanimació cardíoc-respiratòria i d'un desfibril·lador (Primedix Defibrillator-N, Rottweil, Alemanya).

## 3) Lactacidèmia

Per a l'anàlisi dels nivells de lactat en sang es varen prendre mostres de 10 µL de sang capil·lar del lòbul de l'orella. Les extraccions es varen realitzar abans de la prova, al finalitzar cada estadi i als minuts 1, 3, 5 i 7 de recuperació. Les mostres es recollien en una micropipeta de vidre de volum fix (10µL) (Hach Lange EBP 006, Berlin, Alemanya), i es transferien al flascó del kit LKM140 (Hach Lange, Berlin, Alemanya), que conté la solució tampó. Després de barrejar bé la sang, els flascons es guardaven a la nevera fins al seu posterior anàlisi al finalitzar la prova.

### 3.2.1.4 Determinació del llindar de lactat individual

El llindar de lactat individual es va determinar d'acord amb el mètode del llindar de lactat individual (IAT; *individual anaerobic threshold*) descrit per Stegmann, Kindermann & Schnabel (1981).

Un cop realitzada la prova màxima, i després de determinar el llindar de lactat individual (IAT) i expressar-lo en velocitat (vIAT) i freqüència cardíaca ( $FC_{IAT}$ ), es va calcular la freqüència cardíaca que corresponia a la velocitat equivalent al 90% i al 105% de la velocitat del llindar de lactat individual per a programar les intensitats de les dues sessions d'entrenament.

## 3.2.2 **Sessions entrenament**

### 3.2.2.1 Condicions atmosfèriques

Les sessions d'entrenament també es varen realitzar a les instal·lacions de l'INEFC-Lleida, concretament al camp de gesta natural que es troba a l'aire lliure. En aquest camp es va dissenyar un circuit amb un recorregut de corda de 372 metres.

Tant les proves de laboratori, com les proves de camp es varen realitzar al matí entre les 8:30h i les 10:30h. Durant les sessions d'entrenament realitzades a l'exterior les condicions meteorològiques varen ser favorables (sense vent, ni pluja), i per aquest motiu, no va ser necessari suspendre cap de les sessions previstes. La temperatura es va mantenir entre 17°C i 22°C.

Les sessions d'entrenament eren de naturalesa diferent; mentre que en una (sessió de CC) es va realitzar carrera contínua, en l'altra (sessió de CI) la carrera s'efectuava en intervals. Els participants varen dur a terme les dues sessions d'entrenament amb un període de descans mínim de quatre dies, i màxim d'una setmana entre elles, per tal d'aconseguir una recuperació completa. Entre la prova d'esforç i la darrera sessió d'entrenament varen transcórrer un màxim de 18 dies.

Per a cada participant, l'ordre de les sessions d'entrenament es va determinar aleatòriament.

### 3.2.2.2 Contingut de les sessions

A la Taula 29 es mostren les parts i els continguts de les sessions d'entrenament. Aquestes comprenien tres parts diferenciades. La primera part, idèntica per a les dues sessions, consistia en un escalfament de 5 minuts, en el qual es realitzava carrera contínua suau, series progressives i exercicis de mobilitat articular.

Taula 29. Esquema de les parts i activitats de les dues sessions d'entrenament.

Sessió	Naturalesa	Parts de la sessió		
		Escalfament (5')	Part principal (55')	Retorn a la calma (10')
CC	Contínua	carrera contínua, esprints progressius i mobilitat articular	Carrera contínua a FC del 90% vIAT	Estiraments
CI	En intervals	carrera contínua, esprints progressius i mobilitat articular	8 sèries de 5' de carrera a FC del 105% vIAT Pauses de 2'.	Estiraments

FC: freqüència cardíaca; vIAT: Velocitat corresponent al llindar de lactat individual

La part central de les sessions era diferent per a cada una. A la sessió de CC el participant havia de córrer durant 55 minuts a la freqüència cardíaca corresponent a una velocitat del 90% del llindar làctic individual (90% vIAT). Per contra, a la sessió de CI, els participants varen realitzar vuit series de carrera contínua, de 5 minuts de durada a la freqüència cardíaca del 105% de la velocitat del llindar làctic individual (105% vIAT), i amb pauses de 2 minuts entre sèries. Durant les pauses els participants podien caminar però no se'ls permetia córrer.

Al finalitzar la sessió, i després de les extraccions de sang venosa, els participants varen realitzar 10 minuts d'estiraments. Aquesta part també va ser idèntica per a les dues sessions.

### 3.2.2.3 Variables registrades

#### 1) Freqüència cardíaca

Durant les sessions d'entrenament també es va monitoritzar la FC cada 5 segons mitjançant el

monitor de ritme cardíac Polar 610s (Polar electro YO, Kempele, Finlàndia).

## 2) Distància i velocitat

A la part central de les sessions d'entrenament els participants recorrien el circuit de 372 m marcat sobre el camp de gespa natural. Els participants portaven un sistema GPS (Forerunner 350x, Garmin, Olathe, KS, EUA) que registrava la distància i la velocitat de carrera.

## 3) Càrregues d'entrenament

La càrrega externa es va considerar en base a la distància recorreguda, el temps emprat, i la velocitat mitjana de desplaçament. La càrrega interna de les sessions d'entrenament es va calcular mitjançant la FC mitjana del treball realitzat i de la suma de batecs de la part principal de la sessió.

La càrrega total de la sessió, considerada com el producte del volum per la intensitat, es va calcular mitjançant les unitats TRIMP (training impulses) (Banister et al., 1991; Borresen & Lambert, 2009; Desgorces, Sénégas, Garcia, Decker & Noirez, 2007) d'acord amb les fórmules següents:

$$[1] \quad \text{Unitats TRIMP} = \text{volum (minuts)} \times \text{FCR} \times Y$$

On, FCR és la freqüència cardíaca de reserva determinada segons l'equació següent:

$$[2] \quad \text{FCR} = (\text{FC esforç} - \text{FC repòs}) / (\text{FC màxima} - \text{FC repòs})$$

I, Y correspon a  $0,64e^{1,92\text{FCR}}$  pels homes; i  $0,86e^{1,67\text{FCR}}$  per les dones.

Una premissa del mètode es que cal que la freqüència cardíaca sigui estable, i per aquest motiu, per a realitzar els càlculs es va considerar la FC mitjana de l'estat estable de la sessió de CC i dels estats estables de cadascuna de les 8 sèries de la sessió de CI.

## 4) Extraccions de sang

Abans de l'inici de cada sessió (Pre), immediatament després de finalitzar (Post), i al cap de 1 hora (R1) i 3 hores (R3) de recuperació es varen extreure espècimens de sang venosa, mitjançant punció d'una vena antecubital, per a l'estudi dels paràmetres hematològics i bioquímics. Es varen realitzar 4 extraccions per participant i sessió (Figura 49)

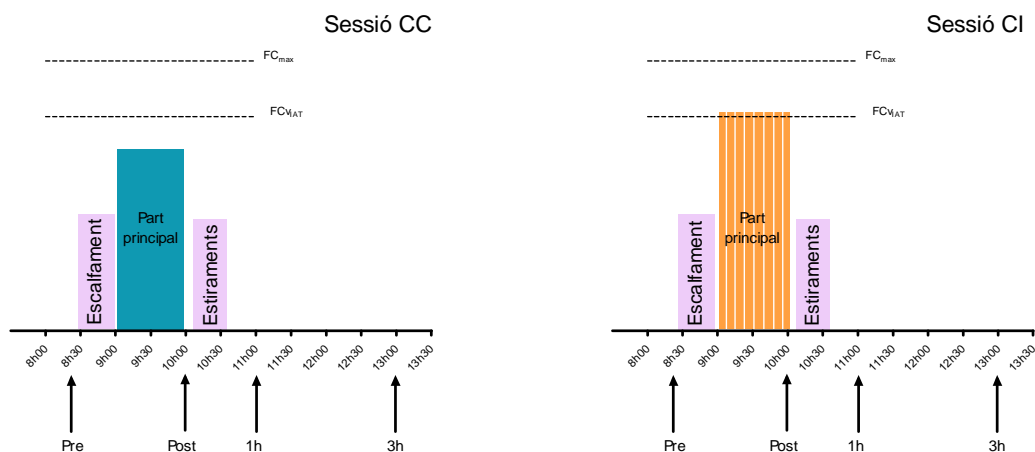


Figura 49. Esquema de les sessions d'entrenament realitzades al camp.

Les columnes indiquen les fases de treball. L'alçada de la columna que representa la part principal de la sessió és proporcional a la freqüència cardíaca prevista en les fases d'esforç físic. Les fletxes indiquen el moment en que es realitzaven les extraccions de sang venosa. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 150 minuts de recuperació;  $FC_{max}$ : freqüència cardíaca màxima;  $FC_{VIAT}$ : freqüència cardíaca de la velocitat del llindar anaeròbic individual; CC: cursa contínua; CI: cursa en intervals.

### 3.3 Determinacions analítiques

#### 3.3.1 Recollida dels espècimens, extracció i processament

Com s'ha indicat anteriorment, es varen realitzar 4 extraccions de sang venosa per a cada sessió i participant. En cada ocasió es varen extreure 13 mL de sang venosa que es varen distribuir (Figura 50) en:

- un tub de recollida de sang amb EDTA de 3 mL per a l'hemograma,
- un tub de recollida de sang amb gel de 5 mL per a l'anàlisi de les catecolamines i cortisol,
- un tub de recollida de sang de 5 mL per a l'anàlisi dels indicadors metabòlics, inflamatoris, d'estrès oxidatiu i per l'aproximació metabolòmica.

Els tubs de recollida de sang destinats a l'hemograma es varen guardar a temperatura ambient, i els destinats a l'anàlisi de les catecolamines i cortisol es varen conservar en fred a 4°C. Un cop finalitzades totes les extraccions es varen traslladar al laboratori d'anàlisi clínics MP Laboratori Drs Masip/Peremiquel on varen ser processades mitjançant sistemes automatitzats.

La sang destinada a l'anàlisi dels indicadors metabòlics, inflamatoris, d'estrès oxidatiu i metabolòmic es va centrifugar (Minifugue T, Heraeus Sephatech, Osterode, Alemanya) immediatament després de l'extracció, a 1000 g durant 10'. El plasma sobrenedant es va extreure tenint en compte de no aspirar la fina capa de leucòcits. Es varen fer alíquotes del plasma, en tubs tipus eppendorfs de 1,5 mL, convenientment identificats. Als tubs eppendorfs es va afegir 100 µL de d'àcid dietilen-triamino-penta-acètic (DTPAC) (10mM) i 10 µL de butilhidroxil-toluè (BHT) (10mM). Les alíquotes es varen conservar a -80°C, fins el moment del seu anàlisi.



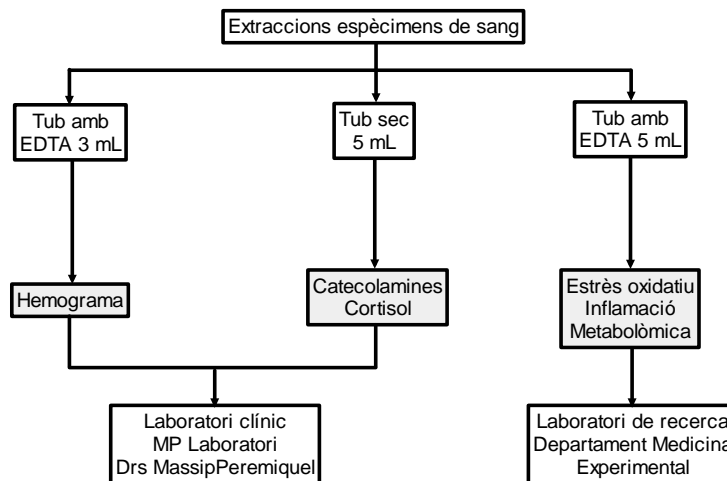


Figura 50. Esquema de la distribució dels tub de recollida de sang emprats en les extraccions de sang

### 3.3.2 Determinacions hematològiques i plasmàtiques

#### 3.3.2.1 Determinació de paràmetres hematològics i endocrins automatitzats

Els anàlisis clínics automatitzats es varen realitzar al laboratori clínic MP Laboratori d'Anàlisi Drs Massip/Peremiquel. Aquests varen ser: hemograma, catecolamines i cortisol.

L'hemograma es va obtenir de forma automàtica amb un lector electrònic CELL-DYN 3700 (Abbot Diagnostics, Abbot Park, IL, USA). Els paràmetres obtinguts comprenen: hematòcrit, concentració d'hemoglobina, recompte d'hematies, recompte i fórmula de leucòcits.

Les catecolamines fraccionades, epinefrina i norepinefrina, es varen obtenir mitjançant cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC)

El cortisol plasmàtic es va valorar mitjançant el mètode d'immunoanàlisi de polarització de fluorescència (FPIA).

#### 3.3.2.2 Determinació de paràmetres plasmàtics no automatitzats

Els anàlisis no automatitzats per a la valoració dels paràmetres plasmàtics bioquímics es varen realitzar als laboratoris del Departament de Medicina Experimental de la Universitat de Lleida. Aquests són: lactat, àcid úric, capacitat de reducció fèrrica, grups carbonil proteics, citocines IL-6, IL-10 i IL-8, factor de necrosi tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), proteïna C reactiva (CRP) i amiloide A sèric (SAA).

#### 3.3.2.3 Metabolòmica no dirigida

Tots els procediments per a la metabolòmica no dirigida es varen realitzar als laboratoris del Departament de Medicina Experimental de la Universitat de Lleida i del Parc Científic i Agroalimentari-Tecnològic de Lleida.

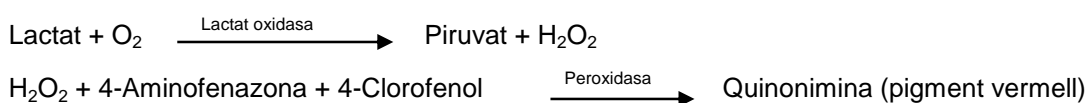
### 3.3.3 Descripció de tècniques específiques

#### 3.3.3.1 Determinació del lactat en sang total

Aquest mètode es va utilitzar per a valorar l'evolució de la concentració de lactat en sang en resposta a la prova d'esforç de laboratori.

##### 1) Principi del mètode

L'àcid làctic és oxidat per la lactat oxidasa (LO) a piruvat i peròxid d'hidrogen que en presència de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) i 4-clorofenol formen un compost rosat (quinonimina). La intensitat de la coloració rosada és proporcional a la concentració d'àcid làctic present a l'espècimen d'estudi.



##### 2) Procediments

Es va utilitzar un kit comercial per a lactat (Hach Lange LKM140, Hach Lange, Berlin, Alemanya) que conté un flascó amb solució tampó i tap de rosca.

La solució tampó Pipes de pH 7,0 conté 4-clorofenol ( $1,8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ), peroxidasa ( $\geq 100 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ), azida sòdica ( $<0,1\%$ ) i detergent ( $0,2\%$ ). Al tap el rosca hi ha un espai amb lactat oxidasa ( $\geq 450 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ), peroxidasa ( $\geq 750 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ) i 4-aminofenazona ( $0,23 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ).

Com s'ha indicat, al final de cada estadi de 3 minuts de la prova progressiva màxima es varen extreure  $10\mu\text{L}$  de sang capil·lar (micropipetes de vidre de volum fix EBP 006 Hach Lange, Berlin, Alemanya) que es varen introduir ràpidament al flascó que conté la solució tampó i es va agitar vigorosament. Immediatament es va produir l'hemòlisi de la sang. Es va guardar en fred fins que al finalitzar la prova d'esforç es varen analitzar tots els espècimens extrets del participant. Tot seguit es va fer una primera lectura de l'absorbància a  $520 \text{ nm}$  (mini-fotometre Hach Lange, Berlin, Alemanya). A continuació es va fer reaccionar, per inversió del flascó, la solució amb els reactius continguts al tap (LO, POD, 4-AF). Es va deixar incubar 3-5 minuts i, a continuació, es va mesurar de nou l'absorbància a  $520 \text{ nm}$ .

L'augment de l'absorbància, mesurat com la diferència entre les dues lectures, és proporcional a la quantitat de lactat present a la mostra.

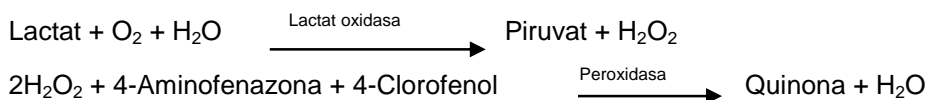
El minifotometre Hach Lange està precalibrat i no cal fer cap recta patró. Els resultats s'indiquen directament en  $\text{mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ .

#### 3.3.3.2 Determinació del lactat en plasma

Aquest mètode es va utilitzar per a valorar els canvis de la concentració de lactat en plasma en resposta a les sessions d'entrenament.

### 1) Principi del mètode

L'àcid làctic és oxidat per la lactat oxidasa (LO) a piruvat i peròxid d'hidrogen que en presència de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) i 4-clorofenol formen un compost rosat (quinona). La intensitat de la coloració rosada és proporcional a la concentració d'àcid làctic present a l'espècimen d'estudi.



### 2) Procediments

Es va utilitzar un kit comercial per a lactat (SP10001330, Spinreact, Sant Esteve d'en Bas, Espanya) que conté dos envasos, R1 i R2, ja preparats i solució patró amb lactat ( $10 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) en aigua.

El flascó R1 conté tampó amb Pipes (50 mM) a pH 7,0 i 4-clorofenol (4 mM). El flascó R2 conté els enzims, lactat oxidasa ( $8800 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ), peroxidasa ( $2000 \text{ U}\cdot\text{L}^{-1}$ ) i 4-aminofenazona (0,4 mM) liofilitzats. Els enzims (R2) es varen reconstituir amb 10 mL de tampó (R1) i la solució es va utilitzar immediatament.

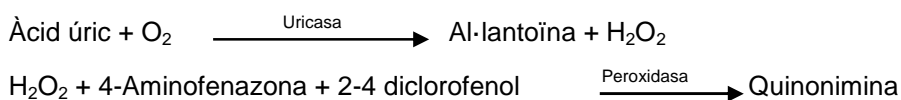
Per a la quantificació es va preparar una recta patró de 0, 2, 4, 6, 8 i  $10 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  de lactat a partir de la solució patró-lactat subministrada amb el kit.

A cada pouet d'una placa (Immunosorp, Rochester, NY, USA) de 96 pouets es varen barrejar  $1,5 \mu\text{L}$  de plasma o patró i  $150 \mu\text{L}$  de tampó i enzims (R1+R2), i es va deixar incubar a temperatura ambient durant 10 minuts. Posteriorment es va fer la lectura de l'absorbància a 530 nm (Multiskan Ascent model 354, Thermolabsystems, Vantaa, Finland). Els resultats s'obtenen en  $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  de lactat. Per a expressar els resultats en  $\text{mmols}\cdot\text{L}^{-1}$  s'ha utilitzat el següent factor de conversió:  $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1} \times 0,1123 = \text{mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ .

### 3.3.3.3 Determinació de l'àcid úric en plasma

#### 1) Principi del mètode

L'àcid úric és oxidat per les uricasas a al·lantoïna i peròxid d'hidrogen que en presència de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) i 2-4 diclorofenol sulfonat (DCPS) formen un compost rosat (quinonimina). La intensitat rosada de la solució és proporcional a la concentració d'àcid úric present a l'espècimen d'estudi.



## 2) Procediments

Es va utilitzar un kit comercial per àcid úric (SP41000, Spinreact, Sant Esteve d'en Bas, Espanya). El kit conté dos envasos, R1 i R2, ja preparats i solució de patró amb àcid úric ( $6 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ). El flascó R1 conté fosfats i DCPS, i el vial R2 conté uricasa, POD, ascorbat oxidasa i 4-AF.

Es va dissoldre un vial R2 en un flascó de R1. La solució R1-R2 es va utilitzar immediatament.

Per a la quantificació es va preparar una recta patró de 0, 1,5, 3 i  $6 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  d'àcid úric a partir de la solució patró-àcid úric ( $6 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) subministrada amb el kit.

A cada pouet d'una placa (Immunosorp, Rochester, NY, USA) de 96 pouets es varen barrejar  $5 \mu\text{L}$  de plasma o patró i  $200 \mu\text{L}$  de reactiu R1-R2, es va deixar incubar a temperatura ambient durant 10 minuts, i posteriorment es va fer la lectura de l'absorbància a  $530 \text{ nm}$  (Multiskan Ascent model 354, Thermolabsystems, Vantaa, Finland). Els resultats s'indiquen en  $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  d'àcid úric.

### 3.3.3.4 Determinació de la capacitat antioxidant del plasma

#### 1) Principi del mètode

El mètode es basa en la transferència d'electrons a partir de la qual es determina la capacitat de reducció fèrrica del plasma (FRAP). La reacció involucra dos components; un oxidant i un reductor (antioxidant). A pH baix, i en presència d'un agent reductor (antioxidant), el complex 2,4,6-tripiridiltriazina (TPTZ) amb  $\text{Fe}^{3+}$  (forma fèrrica) es redueix a  $\text{Fe}^{2+}$  (forma ferrosa), i desenvolupa un color blau intens que té una absorbància màxima a  $595 \text{ nm}$ . El canvi de color serà proporcional a la capacitat de reducció fèrrica del plasma, i s'assumeix que aquesta és equivalent a la capacitat antioxidant (Benzie & Strain, 1996; Huang, Ou & Prior, 2005).



#### 2) Procediments

Es va preparar el reactiu FRAP afegint  $2,5 \text{ mL}$  de 2,4,6-tri(2-pirildil)-s-triazina (TPTZ)  $10 \text{ mM}$  en HCl ( $40 \text{ mM}$ ), i  $2,5 \text{ mL}$  de solució  $\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ( $20 \text{ mM}$ ) en un vas amb  $25 \text{ mL}$  de tampó acetat ( $0,3 \text{ M}$  i pH: 3,6).

Per a la quantificació es va preparar una recta patró de 0 a  $1000 \mu\text{M}$  d'àcid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic (Trolox) dissolt en PBS.

A continuació a cada pouet de les plaques de 96 pouets es varen posar  $7,5 \mu\text{L}$  de plasma o patró,  $22,5 \mu\text{L}$  d'aigua mil-liQ i  $225 \mu\text{L}$  de reactiu FRAP. Es va deixar incubar a  $37^\circ\text{C}$  durant 30 minuts i posteriorment es va fer la lectura de l'absorbància a  $595 \text{ nm}$  (Multiskan Ascent model 354, Thermolabsystems, Vantaa, Finland). Els resultats s'indiquen com a micromols equivalents de trolox ( $\mu\text{MET}$ ).

### 3.3.3.5 Determinació dels grups carbonil de les proteïnes del plasma

A continuació s'exposen de forma resumida les tècniques analítiques aplicades en la determinació dels grups carbonils del plasma. A l'Annex 9.3 es presenten amb més detall els reactius i solucions emprades.

#### 1) Preparació de patrons plasma reduïdes i oxidades

Donat que existeixen diferències en la reactivitat de la formació de grups carbonil en funció de la proteïna, no és oportú emprar albúmina sèrica bovina, com a patró de proteïna plasmàtica (Alamdari et al., 2005). Per aquest motiu, abans de procedir a l'anàlisi de grups carbonil proteics es varen preparar patrons de plasma a partir d'un lot de plasmes elaborat ajuntant 250 µL de plasma de cadascuna de les 80 extraccions realitzades als participants.

#### **Patró plasma reduït (0% oxidació) (PPR)**

Per a obtenir la patró reduïda (PPR), a 14,5 mL del lot de plasmes (que teòricament contenia 1 g de proteïna) es varen afegir 10 mL de PBS. A continuació es va addicionar 0,1 g de NaBH<sub>4</sub> i es va deixar incubar en agitació a temperatura ambient. Transcorreguts 30 minuts, la reacció es va neutralitzar amb HCL 2 N fins aconseguir un pH equivalent a 8. Es va transferir la solució a un sac de diàlisi i es va deixar dialitzar a 4°C i amb agitació contra PBS, que contenia DTPAC 1 mM, durant 3 dies. Cada 12 hores es va fer un canvi de PBS-DTPAC. Transcorreguts 3 dies es va recuperar el plasma amb proteïna reduïda i es varen fer alíquotes que es varen emmagatzemar a – 80°C fins a la seva posterior utilització.

#### **Patró plasma oxidat (100% oxidació) (PPO)**

Per a obtenir la patró oxidada (PPO), a 1500 µL del lot de plasmes (0,1 g de proteïna) es va afegir 500 µL de PBS, 40 µL EDTA (100 mM), 114 µL d'àcid ascòrbic (833 mM) i 4 µL de sulfat amoni ferrós (100 mM). La barreja es va deixar incubar 90 minuts a 37°C. A continuació es va dialitzar contra PBS a 4°C, i amb agitació, durant 3 dies, fent un canvi de PBS cada 12 hores. Transcorreguts 3 dies es varen recuperar 19,5 mL de plasma amb proteïna oxidada mL i es varen fer alíquotes que es varen emmagatzemar a – 80°C fins a la seva posterior utilització.

#### **Ajustament de la concentració de proteïna**

Per tal d'ajustar la concentració de proteïna de les mostres a 4 µg·µL<sup>-1</sup>, es va determinar la quantitat de proteïna present a cadascuna d'elles (plasmes individuals i patrons PPR i PPO) segons el mètode de Bradford (Bradford, 1976).

En tubs de vidre es varen posar 25 µL de patró o mostra problema diluïdes (1:7 i 1:50), utilitzant com a diluent PBS i aigua milliQ, respectivament, per a obtenir una concentració de proteïna dins del rang de mètode (0-20 µg proteïma per 200 µL de reactiu). A continuació es va afegir 1 mL de reactiu de Bradford (500-0006, Protein Assay Dye concentrate, Bio-rad Laboratories,

Richmond, CA, EUA). Als 5 minuts es va llegir l'absorbància a 595 nm utilitzant cubetes semi-micro de plàstic.

D'acord amb els resultats obtinguts, cada mostra es va diluir en PBS amb la finalitat d'aproximar la concentració de proteïna de les mostres a  $4 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ .

## 2) Mètode espectrofotomètric

### Principi del mètode

Segons el mètode proposat per Levine et al. (1990) per a la detecció de grups carbonil proteics per espectrofotometria, els grups carbonil de les proteïnes són derivatitzats amb 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) que dóna lloc a la formació d'un adducte de la dinitrofenilhidrazona estable (Figura 51).



Figura 51. Formació dels adductes de la dinitrofenilhidrazona.  
C=O: grups carbonil de les proteïnes; DNPH: dinitrofenilhidrazina

A continuació la guanidina s'uneix a l'adducte i produeix un canvi de color que serà proporcional a la quantia de grups carbonil.

Aquest mètode s'ha utilitzat per a determinar els grups carbonil proteics de les patrons de plasma.

### Procediments

A 100  $\mu\text{L}$  de patró de plasma reduït (PPR) u oxidat (PPO), ajustada a una concentració de 4  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$  es varen afegir 50  $\mu\text{L}$  de DNPH 10 mM en HCl 2 N. Als controls negatius de derivatització, es varen afegir 50  $\mu\text{L}$  de HCl 2 N sense DNPH.

Després d'agitar en vòrtex, es va deixar en incubació, a temperatura ambient, durant 20 minuts.

A continuació es varen afegir 161  $\mu\text{L}$  d'àcid tricloroacètic (TCA) al 20% fred, es va agitar en vòrtex, i es va deixar incubar 10 minuts a  $4^{\circ}\text{C}$  per a precipitar les proteïnes. Seguidament es va centrifugar (Mikro 120 Hettich, Tuttlingen, Alemanya) a 13000 g durant 5 minuts. Es va descartar el sobrenedant i es varen fer tres rentats del pellet, que conté les proteïnes, afegint 0,5 ml d'etanol:etilacetat (v:v) per a dissoldre el pellet, agitant en vòrtex i tornant a centrifugar 5 minuts a 13000 g.

A continuació es va resuspendre el pellet en 100  $\mu\text{L}$  d'hidroclorur de guanidina 6 M en HCl 2 N, sacsejant enèrgicament amb vòrtex. Per assegurar-ne la disgregació del pellet, les mostres també es varen sonicar (Soniprep 150, Braun biotech, Barcelona, Espanya).

Finalment es va llegir l'absorbància a 370 nm (UV-VS UV-2401PC, Shimadzu, Kyoto, Japó). La diferència de l'absorbància entre les patrons de plasma i el seu corresponent blanc, és proporcional a la quantitat de grups carbonils presents a la mostra.

### **Quantificació de proteïnes**

La quantitat de proteïna present en les mostres derivatitzades amb DNPH es va valorar amb el mètode Bicinchonimic àcid (BCA). L'assaig BCA (Smith, 1985) mesura la formació de  $\text{Cu}^+$  a partir  $\text{Cu}^{2+}$  pel complex de Biuret en solucions alcalines que contenen proteïnes utilitzant l'àcid bicinchoninic (BCA). El BCA forma un complex amb el  $\text{Cu}^+$  que té una forta absorbància a 562 nm. El BCA té l'avantatge que no presenta interferències amb molts components dels tampons.

Es va preparar la mescla d'àcid Bicinchonimic (proporció 50:1) barrejant 60 mL de Bicinchonimic àcid solution (BCA1, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) amb 1,2 mL de solució de sulfat de coure (B9643, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA).

Seguidament, en tubs de vidre marcats es varen posar 5  $\mu\text{L}$  de cada patró de plasma reduït u oxidat, i es varen afegir 95  $\mu\text{L}$  d'aigua milliQ per tal de diluir la mostra i evitar les interferències degudes a una concentració massa elevada de guanidina. A continuació, es varen addicionar 2 mL de la mescla Bicinchonimic (proporció 50:1). Es va deixar incubar 15 minuts a  $60^\circ\text{C}$ , i es va fer la lectura de l'absorbància a 562 nm (UV-VS UV-2401PC, Shimadzu, Kyoto, Japó).

Per a la quantificació de les proteïnes es va construir una recta patró de 6 punts amb BSA (de 0 a  $1 \mu\text{g}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ). Els resultats s'indiquen com a  $\mu\text{g}$  de proteïna.

### 3) Mètode ELISA

#### **Principi del mètode**

Per a la detecció de grups carbonil proteics dels plasmes es varen seguir els mètodes proposats per Buss, Chan, Sluis & Domigan (1997) i Alamdari et al. (2005). Tal com es mostra a la Figura 51, els grups carbonil de les proteïnes són derivatitzats amb 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) que dóna lloc a la formació d'un derivat de la dinitrofenilhidrazona estable. Seguidament, aquest darrer és quantificat per ELISA (Figura 52). Un anticòs primari s'uneix al adducte proteïna-DNPH. El complex format es detectat per un anticòs secundari biotinilat i posteriorment es produeix una reacció de coloració.

#### **Procediments**

Per a la derivatització de les mostres es varen barrejar 15  $\mu\text{L}$  de mostra (plasma o patró) ajustades a 4 mg/ml amb 45  $\mu\text{L}$  de DNPH (10 mM, en 6 M d'hidroclorur de guanidina, 0,5 M tampó fosfat potassi, a pH 2,5) i es va deixar incubar 45 minuts a temperatura ambient, agitant cada 15 minuts. Seguidament es va aturar la reacció afegint 1 mL de tampó fosfat sali (tampó fosfat sali 10 mM amb 140 mM NaCl, pH 7).

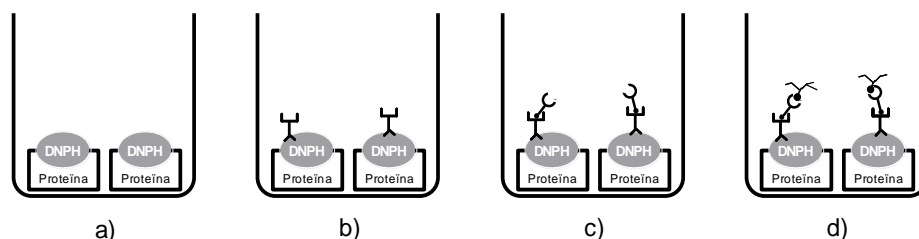


Figura 52. Esquema de les reaccions del mètode ELISA per a la determinació de grups carbonil.

L'adducte proteïna-DNPH s'uneix als punts de la placa; b) l'anticòs anti-DNP-biotin s'uneix a l'adducte proteïna-DNPH; c) la estreptavidina-biotinilada amb peroxidasa de rave s'uneix al complex anterior; d) el peròxid d'hidrogen catalitza la reacció d'oxidació de la o-fenilendiamina que s'uneix al complex format en el pas anterior (c) i es produeix la coloració.

A continuació es varen dipositar 200  $\mu\text{L}$  d'aquesta solució als pouets d'una placa Nunc Immuno Plate Maxisorp (097911, eBioscience, St. Diego, CA, EUA), i es va deixar incubar tota la nit a 4°C amb la finalitat de que les proteïnes quedessin fixades al fons dels pouets (Figura 52a).

Transcorregudes 12 hores es va procedir a la detecció dels grups carbonil. Es varen buidar els pouets per aspiració, i a continuació es varen afegir 250  $\mu\text{L}$  de solució de bloqueig (PBS 0,1% Tween20) i es va deixar incubar una hora a temperatura ambient. Seguidament, després de buidar els pouets de nou, i fer 5 rentats amb PBS, es varen afegir 200  $\mu\text{L}$  de l'anticòs primari (anti-DNP biotinilat-K 3057X, Molecular Probes, Invitrogen, Anglaterra) (1:1000) en PBS 0,1% Tween20 i es va incubar una hora a 37°C (Figura 52b). Es va tornar a buidar i rentar 5 vegades els pouets, i a continuació es varen afegir 200  $\mu\text{L}$  de estreptavidina-biotinilada amb peroxidasa de rave (Streptavidin-biotinilat horseradish peroxidasa RPN1231, WVR International, Radnor, PA, EUA) (1:3000 en PBS 0,1% Tween20) i es va deixar incubar de nou durant una hora a temperatura ambient (Figura 52c). Transcorregut aquest temps, i després de buidar i fer 5 rentats amb PBS, es varen afegir 200  $\mu\text{L}$  d'una solució recent preparada amb o-fenilendiamina (0,6  $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) i peròxid d'hidrogen (dilució 1:2500) en 50 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  més 24 mM d'àcid cítric i es varen esperar 25 minuts per a que es desenvolupés el color (Figura 52d). La reacció es va aturar amb 100  $\mu\text{L}$  d'àcid sulfúric (2,5 M) i a continuació es va llegir l'absorbància a 490 nm. (Multiskan Ascent model 354, Thermolabsystems, Vantaa, Finland)

Per tal de quantificar el grau d'oxidació es va compondre una recta patró de 6 punts (de 0% a 100% oxidació) utilitzant diferents proporcions (Taula 30) dels lots de plasmes reduïts (PPR) i oxidats (PPO), preparats prèviament tal com es descriu a pàgina 164.

Taula 30. Volum ( $\mu\text{L}$ ) de patrons plasma reduït u oxidat per als punts de la recta patró

Grau oxidació	0%	20%	40%	60%	80%	100%
Patró plasma reduït ( $\mu\text{L}$ )	1000	800	600	400	200	0
Patró plasma oxidat ( $\mu\text{L}$ )	0	200	400	600	800	1000



### 3.3.3.6 Determinació de citocines (IL-6, IL-8, IL-10) i TNF- $\alpha$

#### 1) Principi del mètode

Les citocines (en aquest cas, IL-6, IL-8 i IL-10) i el factor de necrosi tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) presents al plasma són capturades per anticossos específics units a microesferes de diferents grandàries que posteriorment són detectades per un anticòs biotinitat. La mescla es incubada amb un conjugat de estreptavidina-ficoeritrina (estreptavidina-PE) per a completar la reacció sobre la superfície de la microesfera.

Durant l'anàlisi, dos feixos de làser travessen les microesferes i n'excitaran els tints interns. Els senyals de cada microesfera són identificats i quantificats per un processador d'alta velocitat.

#### 2) Procediments

Es va utilitzar un kit comercial MILLIPLEX®XMap (MPXHCYTO-60K, Millipore, Billerica, MA, EUA) amb sensibilitat mínima de 0,3; 0,2; 0,3; 0,1 pg/mL i precisió intra-assaig de 8,1; 7,1; 5,2 i 10,5% per a IL-6, IL-8, IL-10 i TNF- $\alpha$ . El kit conté tots els reactius, anticossos, patrons i esferes necessaris per a dur a terme l'anàlisi. A més, també proporciona una placa amb 96 pouets amb el fons porós i dues làmines adhesives que permeten segellar-la. Per a la preparació prèvia dels reactius i dels espècimens de plasma es varen seguir les instruccions especificades al producte.

La recta patró es va preparar amb una dilució seriada de la patró original reconstituïda, amb la finalitat d'obtenir concentracions de 0; 3,2; 16; 80; 400; 2000 i 10 000 pg·mL<sup>-1</sup> de cada analit

En primer lloc es va deixar humitejar la placa amb tampó d'assaig. Un cop, transcorreguts 10 minuts es va extreure el líquid fent el buit a baixa pressió (Vacuum Manifold MSVMHTS00, Millipore, Billerica, MA, EUA) per la part inferior de la placa. Seguidament, als pouets corresponents a les patrons i controls, es varen posar 25  $\mu$ L de patró o control i 25  $\mu$ L de matriu de sèrum reconstituïda. Mentre que als pouets amb plasma s'hi varen posar 25  $\mu$ L de plasma més 25  $\mu$ L de tampó d'assaig. Finalment, a tots els pouets, es varen afegir 25  $\mu$ L de la solució amb les microesferes unides als anticossos primaris. Es va segellar la placa amb una làmina adhesiva, i es va deixar incubar en agitació i a 4°C durant tota la nit.

L'endemà es va buidar la placa fent el buit a baixa pressió i es va treure el líquid sobrant, fent tocs amb paper absorbent sobre la part exterior-inferior de la placa, i sense invertir-la en cap moment. Es varen fer dos rentats més, afegint 200  $\mu$ L de solució tampó de neteja a cada pouet i extraient el líquid fent el buit, i assecant-ne el fons com s'ha indicat més amunt. A continuació, a cada pouet, es varen addicionar 25  $\mu$ L de la solució amb els anticossos secundaris per a la detecció de les microesferes i es va deixar incubar durant 60 minuts a temperatura ambient i agitació. Transcorregut aquest temps, es varen agregar 25  $\mu$ L de estreptavidina-PE a cada pouet i es va tornar a deixar incubar durant 30 minuts a temperatura ambient i en agitació.

Seguidament es va buidar la placa, i es varen realitzar dos rentats, tal com s'ha indicat anteriorment. Es varen incorporar 150 µL de tampó de treball del sistema (*sheath diluent*) a cada pouet i es va deixar 5 minuts en agitació per a resuspendre les microesferes.

Finalment es va realitzar la lectura de la placa en un lector Luminex 200™ IS Luminex XMap (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA). La lectura es va fer sobre un mínim de 50 microesferes per pouet i analit. Els resultats es varen expressar amb la mediana de la intensitat de la fluorescència.

### 3.3.3.7 Determinació de la proteïna C reactiva i del amiloide A

#### 1) Principi del mètode

El principi del mètode és el mateix que s'ha indicat a la pàgina 168 per a la quantificació de les citocines. En aquest cas, els biomarcadors que són capturats pels anticossos primaris units a microesferes són específics per a la proteïna C reactiva (CRP) i l'amiloide A sèric (SAA) presents al plasma.

#### 2) Procediments

Es va utilitzar un kit comercial MILLIPLEX®XMap (HCVD2-67BK), Millipore, Billerica, MA, EUA) amb sensibilitat mínima de 0,0012 i 0.21 ng/mL i precisió intra-assaig de 8,0 i 3.8% per a CRP i SAA. El kit conté tots els reactius, anticossos, patrons i esferes necessaris per a dur a terme l'anàlisi. A més, també proporciona una placa amb 96 pouets amb el fons porós i dues làmines adhesives que permeten segellar-la. Per a la preparació prèvia dels reactius i dels espècimens de plasma es varen seguir les instruccions especificades al producte.

Per a la recta patró es va preparar una dilució seriada de 7 punts de la patró original reconstituïda, per a obtenir concentracions de 0,016 a 50,0 ng·mL<sup>-1</sup> de CRP i de 0,08 a 250,0 ng·mL<sup>-1</sup> de SAA.

En primer lloc es va deixar humitejar la placa amb tampó d'assaig. Un cop, transcorreguts 10 minuts es va extreure el líquid fent el buit a baixa pressió (Vacuum Manifold MSVMHTS00, Millipore, Billerica, MA, EUA) per la part inferior de la placa. Seguidament, als pouets corresponents als blancs, patrons i controls, es varen posar 25 µL de tampó d'assaig, patró o control, més 25 µL de tampó d'assaig. Mentre que als pouets amb plasma s'hi varen posar 25 µL de plasma, prèviament diluït (1:2000) amb solució tampó, i després s'hi varen afegir 25 µL de tampó d'assaig. Finalment, a tots els pouets, es varen afegir 25 µL de la solució amb les microesferes amb els anticossos primaris.

Es va segellar la placa amb una làmina adhesiva, i es va deixar incubar en agitació i durant 60 minuts a temperatura ambient. Posteriorment es va buidar la placa fent el buit a baixa pressió i es va treure el líquid sobrant, fent tocs amb paper absorbent sobre la part exterior-inferior de la placa i sense invertir-la mai. Es varen fer dos rentats més, afegint 200 µL de solució tampó de neteja a cada pouet i després extraient el líquid fent el buit, i assecant-ne el fons com s'ha

indicat més amunt. A continuació, a cada pouet, es varen addicionar 25 µL de la solució amb els anticossos secundaris per a la detecció de les microesferes, i es va deixar incubar durant 30 minuts a temperatura ambient i agitació. Passat aquest temps, es varen agregar 25 µL de estreptavidina-PE a cada pouet i es va tornar a deixar incubar durant 30 minuts a temperatura ambient i en agitació. Seguidament es va buidar la placa, i es varen realitzar dos rentats, tal com s'ha indicat anteriorment. Es varen incorporar 150 µL de tampó de treball del sistema (*sheath diluent*) a cada pouet i es va deixar 5 minuts en agitació per a resuspendre les microesferes.

Finalment es va realitzar la lectura de la placa en un lector Luminex 200™ IS Luminex XMap (Luminex Corporation, Austin, TX, EUA). La lectura es va fer sobre un mínim de 50 microesferes per pouet i analit. Els resultats es varen expressar amb la mediana de la intensitat de la fluorescència.

### 3.3.3.8 Metabolòmica

#### 1) Principi del mètode

La metabolòmica pot definir-se com la mesura quantitativa global dels metabòlits o petites molècules (<1500 Da) d'un espècimen biològic.

El mètode utilitzat es basa en l'extracció dels metabòlits de l'espècimen en metanol, seguida de la seva separació mitjançant tècniques cromatogràfiques; i de la posterior detecció dels compostos per espectrometria de masses (MS). Tot aquest procés és associat a l'anàlisi estadístic multivariable, amb la finalitat d'estudiar la composició global de sistema biològic estudiat (Figura 53).

#### 2) Preparació de les mostres i extracció dels metabòlits

En una primera fase es va procedir a la desproteïnitació dels espècimens de plasma amb metanol segons el mètode descrit per Wikoff, Pendyala, Siuzdak & Fox (2009).

Breument, 100 µL de plasma es varen afegir a 300 µL de metanol fred (proporció 1:3, v:v) i es va sacsejar amb vòrtex durant un minut. Per afavorir la precipitació de les proteïnes es va deixar incubar 60 minuts a -20°C, i a continuació es va centrifugar (Mikro 120 Hettich, Tuttlingen, Alemanya) 3 minuts a 13000 g. Posteriorment, es va separar el sobrenedant, i aquest és va evaporar en un Speed Vac (Thermo Scientific, Rockford, IL, EUA). Finalment, les mostres es varen resuspendre en 100 µL d'aigua milliQ. Per a filtrar les mostres es varen utilitzar eppendorfs Ultrafree (UFC3LTKOO, Millipore, Bedford, MA, EUA) amb filtre de 5 kDa.

Les mostres es varen guardar a -80°C fins el moment del seu anàlisi.

#### 3) Cromatografia líquida

Per a la separació dels metabòlits es va utilitzar un equip LC ESI-Q-ToF-MS/MS 6520 (Agilent

Tecnologies, Barcelona, Espanya). L'anàlisi es va realitzar injectant 4 µL de l'extracte metanòlic en una columna C18 de fase reversa (Luna 3 n pfp(2) 100A 150\*2mm, Phenomenex, Los Angeles, CA, EUA), equipada amb una precolumna (AJO-8326 pfp(2) 4\*2mm, Phenomenex, Los Angeles, CA, EUA).

Les mostres es varen injectar ordenades per participant, sessió i moment de l'extracció.

Durant l'anàlisi el flux es va mantenir constant a 200 µL/min. El gradient es va iniciar a un 5% de fase mòbil B, i es va augmentar fins al 100% de fase mòbil B en el minut 20, i es va mantenir durant 5 minuts més. Posteriorment es va tornar el flux a 5% de fase mòbil B en 1 min i es va reequilibrar durant 6 minuts a un 5% de fase mòbil B.

La fase mòbil A estava composta per aigua milliQ i 0,1% d'àcid fòrmic per a la ionització positiva, o 0,1% d'àcid acètic per a la ionització negativa. La fase mòbil B contenia 95% d'acetonitril i 5% aigua milliQ amb els corresponents contraions.

#### 4) Espectrometria de masses

Les dades es varen recollir en mode MS positiu i MS negatiu operant en mode ToF de rastreig des de 100 fins a 3000 m/z. S'utilitza un voltatge de 3500 V en el capil·lar, i la velocitat d'escaneig d'un escan/s. Com a gas del nebulització s'utilitza N<sub>2</sub> (flux: 5L·min<sup>-1</sup>, temperatura: 350°C). La font ESI fa servir un canal de nebulització separat per a introduir de forma contínua (flux: 10L·min<sup>-1</sup>) els compostos emprats com a masses de referència (121.050873 i 922.009798 pel mode positiu i 119.036320 i 966.000725 pel negatiu).

#### 5) Integració i extracció de dades

Per a la metabolòmica no dirigida en plasma es va utilitzar el processador MassHunter Data Acquisition (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya) per a l'adquisició de dades, i el processador MassHunter Qualitative Analysis (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya) per extreure les molècules de les mostres. L'anàlisi estadístic dels resultats s'indica més endavant (pàgina 172).

#### 6) Identificació

Per a la identificació dels compostos que podrien correspondre a les masses diferencials es varen utilitzar les bases de dades HMDB (Wishart, Knox & Guo, 2009), SMDb (Psychogios et al., 2001), Masstrix (Suhre & Schmitt-Kopplin, 2008), METLIN (Suizdak & Abagyan Lab, 2010) i LIPIDMAPS (LIPIDS MAPS, 2010). La base de dades KEGG & Kanehisa Laboratories (2011) es va fer servir per a l'anàlisi de les vies metabòliques.

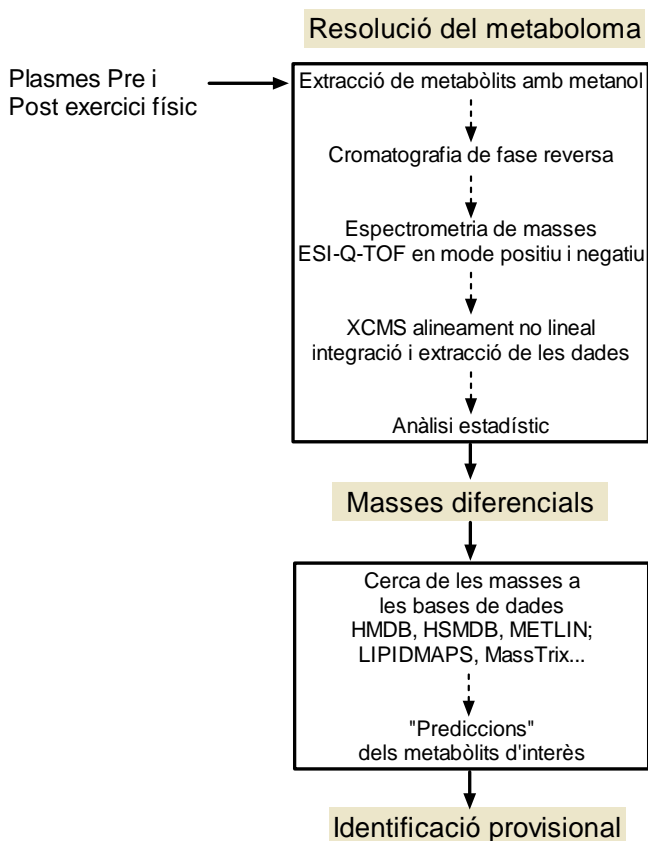


Figura 53. Etapes del procés d'anàlisi del metaboloma plasmàtic

### 3.4 Anàlisi estadístic.

Les dades han estat tractades estadísticament mitjançant els programes informàtics SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) v15.0 per a Windows i GraphPad Prism.

La valoració de la normalitat de la distribució de cada variable s'ha realitzat a partir de la prova de Shapiro-Wilks.

Els paràmetres descriptius s'expressen amb la mitjana  $\pm$  desviació estàndard (DE), error estàndard (EE), i/o l'interval de confiança del 95% (IC95%).

Per a la comparació de les variables de càrrega, intensitat i volum entre sessions es va aplicar la prova inferencial no paramètrica W de Wilcoxon (2 grups aparellats). Les dades de l'evolució de les concentracions plasmàtiques de les diverses variables analitzades, per exemple dels leucòcits, en la recuperació de l'esforç de les dues sessions es varen analitzar mitjançant una prova d'anàlisi de la variància de dos factors (sessió x temps) (two-way ANOVA) associada al test post-hoc de Bonferroni. Si la interacció sessió-temps no era significativa els canvis associats a l'esforç es varen comparar entre sessions aplicant les proves inferencials no paramètriques U de Mann-Whitney (2 grups independents) i W de Wilcoxon (2 grups aparellats) per a la comparació entre parelles de grups. La diferència entre dades s'ha

considerat estadísticament significativa quan  $p < 0.05$ .

Per a valorar l'associació lineal entre les modificacions registrades entre parelles de variables, s'ha aplicat el test de correlació de Pearson. La prova de significació ha estat bilateral.

En l'anàlisi estadística de les dades de metabolòmica no dirigida en plasma es va utilitzar el processador Mass Profiler Professional (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya). Només es varen tenir en compte aquelles molècules que es trobaven en almenys un 75% de les mostres d'un mateix grup. Després d'aplicar una prova T-Student ( $p < 0,05$ ), es va realitzar un anàlisi Volcano Plot on es varen seleccionar per a la identificació les molècules amb un canvi superior a 2 (x 2). L'anàlisi multivariant (anàlisi de components principals [PCA: *Principal Component Analysis*] i anàlisi dels mínims quadrats [PLS-DA: *Partial Least Square Discrimination*]) es va realitzar utilitzant el processador MassHunter Mass Profiler Professional (Agilent Technologies, Barcelona, Espanya). També es va realitzar un meta-anàlisi de les dades metabolòmiques amb el paquet informàtic lliure metaXCMS, tal com descriuen Patti, Tautenhahn & Siuzdak (2012).



## **4 Resultats**





## 4.1 Proves d'esforç i sessions d'entrenament

### 4.1.1 Proves de laboratori

En resposta a l'esforç progressiu imposat pel protocol d'exercici del tapis rodant, les funcions respiratòria, cardíoc-vascular i metabòlica varen modificar el seu nivell de funcionament.

L'evolució al llarg de l'esforç físic dels diversos paràmetres ergoespiromètrics reflecteix els canvis de intensitat del mateix. Com que es tracta d'una prova màxima discontinua, durant els períodes d'esforç el nivell de funció assolit pels paràmetres cardíoc-respiratoris varen ser elevats, mentre que durant les obligades pauses per a realitzar les extraccions de sang, s'aprecia un decreixement del seu nivell de funcionament (Figura 54). En el cas de la freqüència cardíaca (FC) per a cada estadi es distingeix un increment pronunciat, seguit d'un creixement més suau. Durant les pauses la FC baixa ràpidament, tot i això, la davallada és menys pronunciada a mesura que avança la prova i la fatiga es va acumulant.

Tal com mostra la Figura 55 el nivell de funció dels paràmetres ventilatoris, cardíacs i metabòlics va anar creixent en funció de la intensitat (velocitat) de l'esforç físic. La ventilació pulmonar va augmentar significativament durant la prova d'esforç seguint una tendència curvilínia (increments suaus al principi i més pronunciats a intensitats elevades). El consum d'oxigen ( $VO_2$ ) i la producció de diòxid de carboni ( $VCO_2$ ) també varen créixer al llarg de la prova i en relació a la intensitat de l'esforç, però segueixen un patró de creixement més lineal. En els primers estadis els nivells de  $VO_2$  eren molt similars als de  $VCO_2$ , no obstant a mesura que augmenta la velocitat, el creixement del  $VCO_2$  és va accelerar una mica més que el del  $VO_2$ . Així, en els darrers estadis els nivells de  $VCO_2$  superen els de  $VO_2$  (Figura 55). En aquests estadis, el quocient respiratori ( $VCO_2/VO_2$ ) supera 1. De forma similar, la FC va augmentar significativament i seguint un patró lineal durant la prova d'esforç amb un aplanament del seu creixement a partir d'aproximadament 170 batecs per minut (bpm).

La prova d'esforç va finalitzar quan els participants no podien seguir el ritme imposat pel tapis. Els nivells màxims registrats s'indiquen a la Taula 31.

Taula 31. Valors màxims observats durant la prova d'esforç progressiva màxima de laboratori

Condicció n=10	Mitjana	IC95%	
		Li	Ls
$VO_{2pic}$ ( $mL \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$ )	57,7	53,8	61,7
VE màxima ( $L \cdot min^{-1}$ )	113,1	95,1	131,1
FC màxima (bpm)	197,4	191,6	203,8
Lactat màxima ( $mMols \cdot L^{-1}$ )	10,0	8,5	11,5
Velocitat màxima ( $km \cdot h^{-1}$ )	16,2	15,5	16,9

IC95%= interval de confiança del 95%; Li: límit inferior; Ls: límit superior;  $VO_{2pic}$ = Consum d'oxigen més alt aconseguit a la prova d'esforç; VE= Ventilació; FC= Freqüència cardíaca.

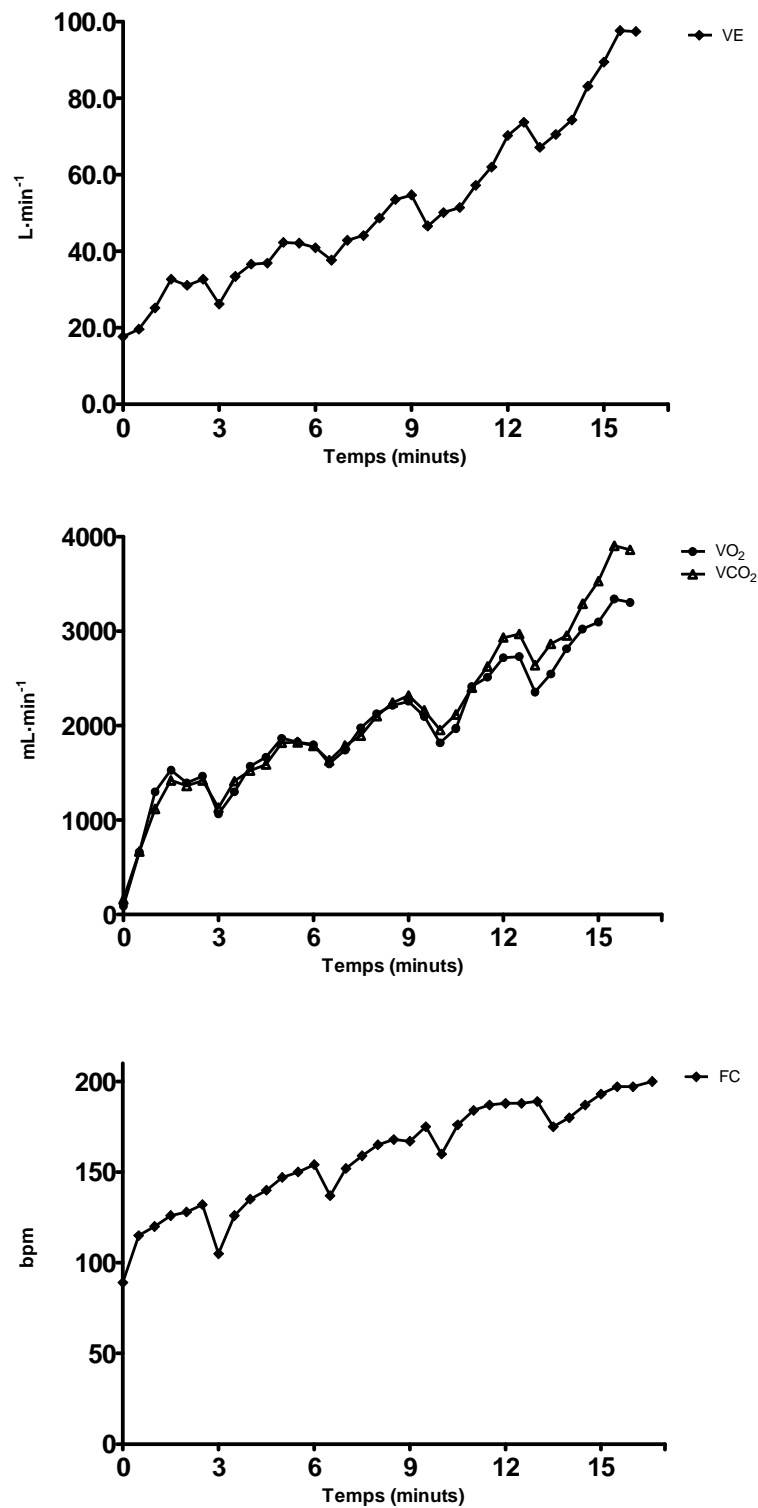


Figura 54. Evolució de la ventilació (VE; L·min<sup>-1</sup>), consum d'oxigen (VO<sub>2</sub>; mL·min<sup>-1</sup>) i de la producció de diòxid de carboni (VCO<sub>2</sub>; mL·min<sup>-1</sup>) i freqüència cardíaca (FC; bpm: batecs per minut) en el participant 1, en relació a la durada (minuts) de la prova progressiva màxima en tapis, amb estadis de 3 minuts, i pauses de 15-30 segons per a efectuar les extraccions de sang.

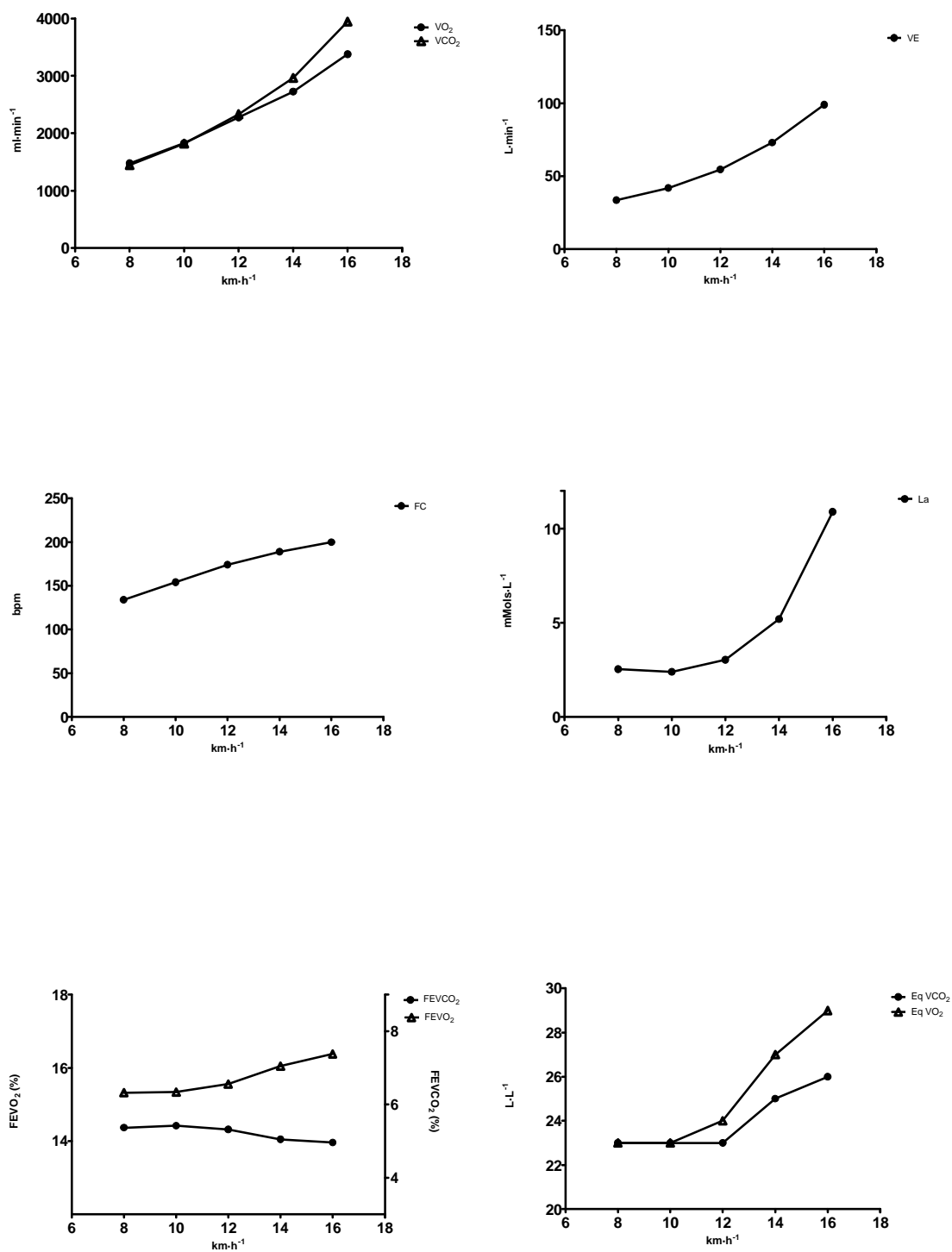


Figura 55. Evolució de la ventilació (VE; L·min<sup>-1</sup>), consum d'oxigen (VO<sub>2</sub>; mL·min<sup>-1</sup>) i de la producció de diòxid de carboni (VCO<sub>2</sub>; mL·min<sup>-1</sup>), freqüència cardíaca (FC; bpm), lactacidèmia (Lactacidèmia; mMols·L<sup>-1</sup>), fracció espiratòria de l'oxigen i del diòxid de carboni (FEV<sub>0</sub><sub>2</sub> i FEVCO<sub>2</sub>; %), equivalents ventilatoris de l'oxigen i del diòxid de carboni (EqVO<sub>2</sub> i EqVCO<sub>2</sub>; L·L<sup>-1</sup>) en el participant 1 en relació a la velocitat (km·h<sup>-1</sup>) durant la prova progressiva màxima en tapis.

A partir del nivell de  $VO_2$  més elevat assolit a la prova d'esforç ( $VO_{2pic}$ ), els participants es varen classificar en dos subgrups; un subgrup que agrupava els participants, amb una condició física excel·lent, i que presentaven nivells de  $VO_{2pic}$  superiors a  $60 \text{ ml}\cdot\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$  pels homes, i superiors a  $50 \text{ ml}\cdot\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$  per a les dones; i un altre subgrup format pels participants que havien assolit nivells de  $VO_{2pic}$  inferiors a  $60 \text{ ml}\cdot\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $< 50$  per a les dones) i superiors a  $50 \text{ ml}\cdot\text{kg}\cdot\text{min}^{-1}$  ( $> 40$  per a les dones). Es va considerar que aquests darrers presentaven una bona condició física (American College Sports Medicine, 2006). La majoria dels components del subgrup amb una condició física excel·lent eren practicants habituals de proves de fons (atletisme), mentre que tots els de l'altre subgrup practicaven futbol.

#### 4.1.1.1 Llindar de lactat

Els nivells de lactacidèmia varen augmentar significativament durant l'esforç i varen seguir augmentant en els primers minuts de la recuperació (Figura 56).

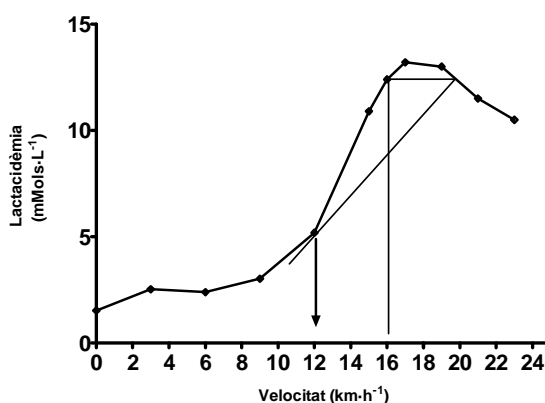


Figura 56. Evolució de la concentració d'àcid làctic ( $\text{mMols}\cdot\text{L}^{-1}$ ) (participant 5) en sang en relació a la velocitat ( $\text{km}\cdot\text{h}^{-1}$ ) al llarg de la prova d'esforç progressiva i màxima. La línia vertical indica el final de la prova d'esforç. La fletxa indica la velocitat del llindar anaeròbic individual (IAT) determinat segons el mètode de Stegmann, Kindermann & Schnabel (1981).

L'evolució de la concentració de lactat en sang durant l'esforç va seguir un patró curvilini, amb petits increments a les intensitats baixes i augments molt més pronunciats entre les intensitats moderades i altes. En la recuperació la concentració de lactat en sang va seguir creixent fins assolir el màxim entre el 1er i 3er minut de recuperació. A continuació els nivells de lactacidèmia varen anar reduint-se progressivament.

A partir d'aquestes dades es va poder determinar el llindar làctic individual (IAT) (Stegmann et al., 1981), en el 100% dels participants inclosos en l'estudi (Figura 56). A la Taula 32 s'indiquen els paràmetres fisiològics i de velocitat del IAT (vIAT). Aquest es corresponia amb una freqüència cardíaca del 81,8% (IC95%: 76,6 a 87,0%) de la freqüència cardíaca de reserva (FCR), i un  $VO_2$  que representava el 78,7% (IC95%: 71,5 a 85,8%) del  $VO_{2pic}$ .

Taula 32. Valors corresponents al llindar làctic individual.

Condicció n=10	Mitjana	IC95%	
		Li	Ls
VO <sub>2</sub> (ml·kg <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup> )	42,3	37,3	47,3
VE (L·min <sup>-1</sup> )	78	61,0	81,5
FC (bpm)	177,1	170,6	184,8
Lactat (mMols·L <sup>-1</sup> )	3,4	3,0	3,8
Velocitat (km·h <sup>-1</sup> )	12,24	11,9	13,0
%VO <sub>2pic</sub>	78,7	71,7	85,8

IC95%= interval de confiança del 95%; Li: límit inferior; Ls: límit superior; VO<sub>2</sub>= Consum d'oxigen; VE= Ventilació; FC= Freqüència cardíaca.

No es varen detectar diferències estadísticament significatives en els valors de corresponents al llindar làctic individual, entre els subgrups determinats segons la seva condició física, o l'esport practicat. Tampoc es va observar cap correlació significativa entre la velocitat, la FC o el VO<sub>2</sub> corresponents al IAT, i els valors màxims de velocitat (V<sub>max</sub>), freqüència cardíaca (FC<sub>max</sub>), o VO<sub>2pic</sub>, aconseguits a la prova d'esforç de laboratori.

#### 4.1.1.2 Estimació de la FC i la velocitat de les sessions d'entrenament

La FC i la velocitat dianes de les sessions d'entrenament es va determinar a partir de la corba velocitat-freqüència cardíaca (Figura 57) obtinguda a la prova d'esforç. Els valors de freqüència cardíaca i velocitat estimats per a cada sessió, així com els valors que realment es varen enregistrar durant les dues sessions d'entrenament realitzades es mostren a la Taula 33 i a la Taula 34.

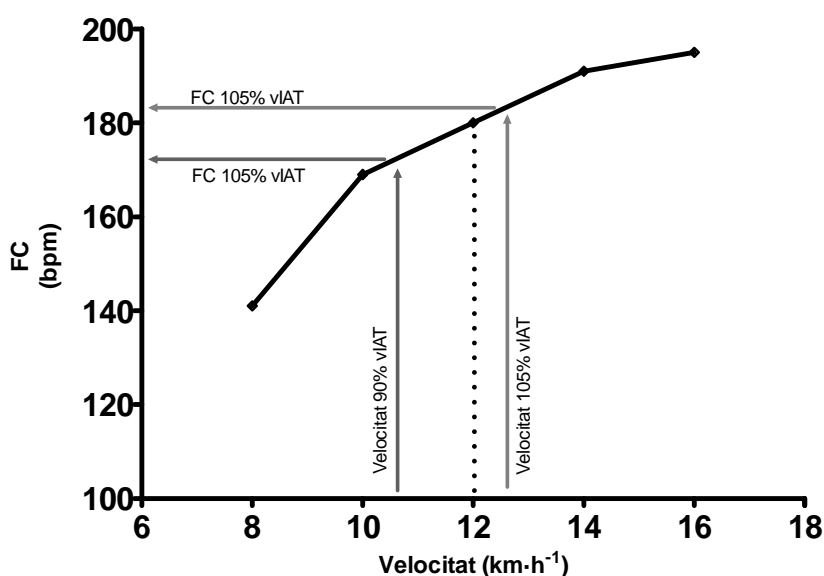


Figura 57. Corba velocitat-freqüència cardíaca elaborada a partir de les dades individuals de la prova d'esforç (participant 9).

En (...) s'indica la velocitat corresponent al llindar de lactat individual (vIAT; km·h<sup>-1</sup>) determinat segons el mètode de Stegmann, Kindermann & Schnabel (1981). Les fletxes indiquen la velocitat i freqüència cardíaca corresponents al 90% i 105% de la vIAT.

Taula 33. Velocitat i freqüència cardíaca previstes i reals per a la sessió CC: carrera contínua al 90% de la velocitat del llindar anaeròbic individual.

Condicció n=10	Mitjana	IC95%	
		Li	Ls
Velocitat prevista (km·h <sup>-1</sup> )	10,8	9,6	11,3
Velocitat real (km·h <sup>-1</sup> )	9,9	9,1	10,8
FC prevista (bpm)	166,2	154,4	177,9
FC real(bpm)	164,6	155,4	173,7

IC95%= interval de confiança del 95%; Li: límit inferior; Ls: límit superior; FC= Freqüència cardíaca.

Taula 34. Velocitat i freqüència cardíaca previstes i reals de la sessió CI: carrera en intervals al 105% de la velocitat del llindar anaeròbic individual.

Condicció n=10	Mitjana	IC95%	
		Li	Ls
Velocitat prevista (km·h <sup>-1</sup> )	12,1	10,9	13,3
Velocitat real (km·h <sup>-1</sup> )	12,5	11,3	13,8
FC prevista (bpm)	180,3	174,5	186,1
FC real (bpm)	175,8	168,4	183,3

IC95%= interval de confiança del 95%; Li: límit inferior; Ls: límit superior; FC= Freqüència cardíaca.

#### 4.1.2 Proves de camp

La Taula 35 mostra els paràmetres indicadors de la càrrega de les dues sessions d'entrenament realitzades.

En ambdues sessions, la FC va augmentar respecte als nivells de repòs, però la seva evolució va ser diferent segons la modalitat de la sessió.

A la sessió de CC (carrera contínua al 90% vIAT) s'aprecia (Figura 58 i Figura 60) com la freqüència cardíaca va augmentar fins assolir el nivell desitjat. A partir d'aquest punt, la FC es manté estable al llarg del temps restant de la sessió, i a més el participant va mantenir una velocitat de cursa constant.

A la sessió de CI (carrera en intervals al 105% vIAT) l'evolució de la FC va ser diferent ja que es produeix una davallada de la FC durant les pauses (Figura 59 i Figura 60). Per a cada sèrie s'aprecia un increment ràpid i pronunciat de la FC a l'inici de la sèrie i a continuació la FC es manté estable al llarg del temps restant del interval. Transcorreguts els 5 minuts, el participant s'aturava i començava a caminar de manera que la FC tornava ràpidament a valors més baixos.

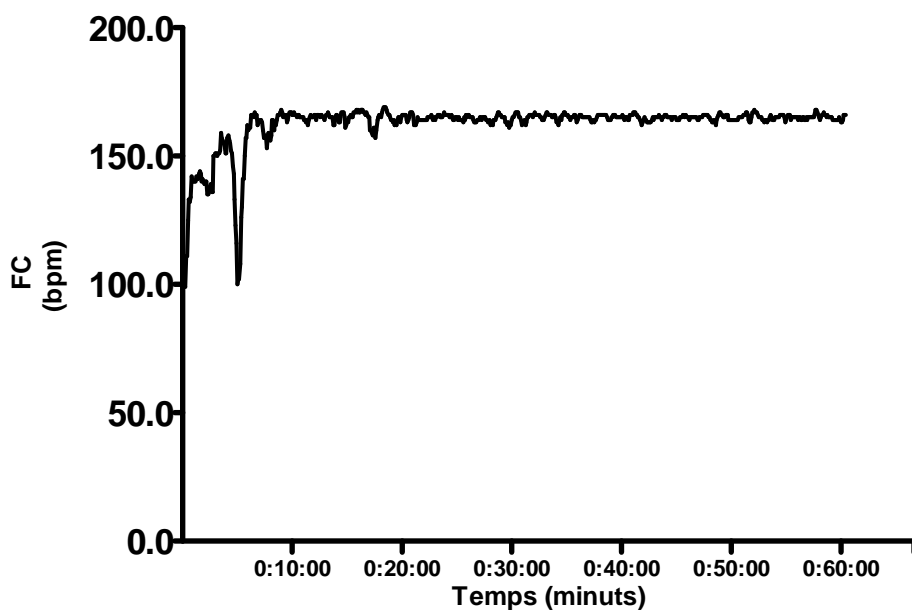


Figura 58. Evolució de la freqüència cardíaca (FC; bpm) en relació a la durada de la sessió CC (carrera contínua al 90% velocitat del IAT).  
CC: carrera contínua; IAT: lliendar anaeròbic individual. A l'inici s'aprecia l'escalfament (participant 9).

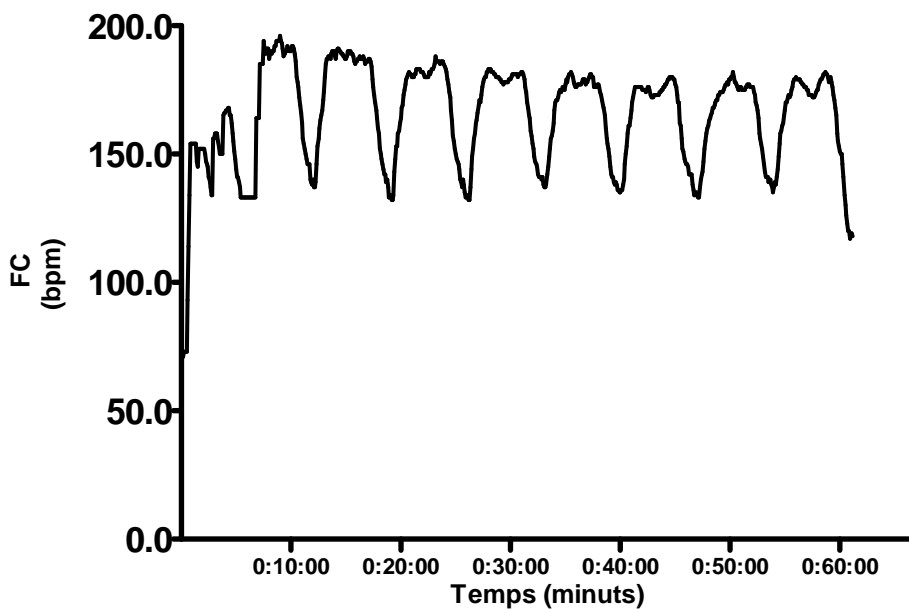


Figura 59. Evolució de la freqüència cardíaca (FC; bpm) en relació a la durada de la sessió CI (carrera en intervals al 105% de la velocitat del IAT).  
CI: carrera en intervals; IAT: lliendar anaeròbic individual. A l'inici s'aprecia l'escalfament. També s'observa que, en aquest cas, el participant (participant 3) té dificultats per a mantenir la FC al nivell desitjat, i a mesura que avancen les sèries i es va acumulant fatiga. En les sèries inicials la FC és més elevada que en les finals.



En general, els participants no varen tenir problemes per a mantenir la intensitat de l'esforç demanada a la sessió de CC. Així, la FC i la velocitat mitjana no varen ser estadísticament diferents de la FC i la velocitat previstes i establertes a partir de les proves d'esforç en el laboratori. Per contra, a la sessió de CI, a mesura que s'anaven efectuant les sèries, alguns participants tenien dificultats per a mantenir la FC als nivells previstos (Figura 59). En aquesta sessió, la FC mitjana dels períodes d'esforç es troba just per sota del límit inferior del rang de FC de treball previst (175-185 bpm) i és 5,6 batecs (IC95%: 3,8 a 7,5 batecs;  $p < 0,01$ ) inferior a la FC mitjana prevista. No existeix cap correlació significativa entre la magnitud de la diferència entre la FC mitjana real i la FC prevista per a la sessió (105% vIAT) i el %VO<sub>2pic</sub> del IAT o el nivell de condició física. Per altra banda, no existeixen diferències estadísticament significatives entre la velocitat real i la velocitat estimada per aquesta sessió.

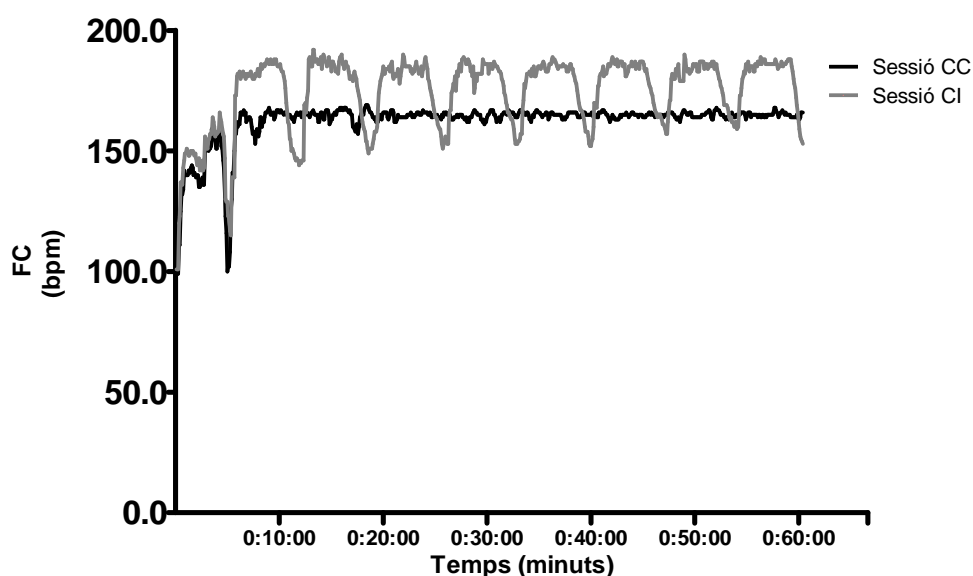


Figura 60. Evolució de la freqüència cardíaca (FC; bpm) en el transcurs de les dues sessions d'entrenament (participant 9).  
CC: carrera contínua CI: carrera en intervals.

La durada total de la part principal de les dues sessions d'entrenament és semblant. Tanmateix si es considera exclusivament el temps dedicat al treball físic, aquest va ser superior (mitjana: +13,1 minuts; IC95%: 10,2 a 16,2 min;  $p < 0,001$ ; Wilcoxon) a la sessió de CC d'entrenament de carrera contínua al 90% vIAT, en comparació a la sessió de CI de carrera en intervals al 105% vIAT. Per altra banda, a la sessió de CC, els participants varen recórrer una distància similar a la de la sessió de CI però varen mantenir una velocitat mitjana inferior (mitjana: -2,5 km·h<sup>-1</sup>; IC95%: -3,3 a -1,8 km·h<sup>-1</sup>;  $p < 0,05$ ; Wilcoxon) en comparació a la de la sessió de CI.

En relació als paràmetres de càrrega interna, no existeixen diferències estadísticament significatives en el nombre total de batecs registrats en la part principal d'ambdues sessions

d'entrenament. No obstant, la sessió de CC presenta un major nombre de batecs (mitjana: +1559 batecs; IC95%: 1048 a 2070 batecs;  $p < 0,002$ ; Wilcoxon) durant el període de treball físic (carrera contínua) en comparació al nombre de batecs del conjunt de les 8 sèries de carrera de la sessió de CI. La freqüència cardíaca mitjana del període de carrera de la sessió de CC és 9,4 batecs inferior (IC95%: -14,4 a 4,4 bpm;  $p = 0,008$  Wilcoxon) a la registrada en les 8 sèries de la sessió de CI. El percentatge de la mitjana de la FC de treball respecte a la freqüència cardíaca de reserva (FCR) era aproximadament un 11% més baix a la sessió de CC en comparació al de la sessió de CI (mitjana: -10,8 %FCR; IC95%: -15,9 a -5,7 %FCR;  $p < 0,001$ ; Wilcoxon).

Taula 35. Característiques de la càrrega, (volum e intensitat) de la part principal de les sessions d'entrenament CC i CI.

Condicció n=10	Sessió de CC Carrera contínua			Sessió de CI Carrera en intervals			p <sup>(1)</sup>
	Mitjana	IC95%		Mitjana	IC95%		
		Li	Ls		Li	Ls	
<b>Temps global (minuts)</b>	53,0	46,9	59,0	53,4	50,4	55,9	NS
<b>Temps treball (minuts)</b>	53,0	46,9	59,0	40,2	38,0	41,5	0,005
<b>Distància (m)</b>	8894	7432	10355	8817	7579	9807	NS
<b>Velocitat (km·h<sup>-1</sup>)</b>	9,9	9,1	10,8	12,5	11,3	13,8	0,018
<b>Suma de batecs global</b>	8661	7552	9759	9029	8424	9770	NS
<b>Suma de batecs treball</b>	8661	7552	9759	7102	6689	7548	0,005
<b>FC mitjana treball (bpm)</b>	164,6	155,4	173,7	175,8	168,4	183,3	0,008
<b>% FCR</b>	58,3	60,9	74,2	78,2	73,2	82,1	0,005
<b>TRIMP (unitats arbitràries)</b>	80,8	58,9	94,1	75,2	57,8	91,7	NS
<b>Lactat Pre (mmols·L<sup>-1</sup>)</b>	1,41	1,25	1,57	1,70	1,47	1,93	0,016
<b>Lactat Post (mmols·L<sup>-1</sup>)</b>	2,74	1,71	3,78	5,02	3,88	6,15	0,005

Dades expressades amb la mitjana i l'interval de confiança (IC95%). Li: límit inferior; Ls: límit superior; FC= Freqüència cardíaca; %FCR= Percentatge de la freqüència cardíaca de reserva; TRIMP= Impulsos d'entrenament.

Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat corresponent al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió.

(<sup>1</sup>) Significació en la comparació entre sessions (test de Wilcoxon). NS= no significatiu

Tampoc hi ha diferències estadísticament significatives en la càrrega de la part de treball de les sessions d'entrenament, expressada en unitats TRIMP. La dispersió dins de cada sessió és considerable.

En repòs, la concentració de lactat en plasma era inferior a  $2 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ . Tot i que a la sessió de CI la concentració de lactat en plasma era lleugerament més elevada (mitjana:  $+0,29 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%: 0,07 a  $0,52 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,016$ ; Wilcoxon) que a la sessió de CC, aquesta diferència no s'ha considerat clínicament rellevant ja que la seva magnitud és petita, i a més, en ambdues sessions les concentracions plasmàtiques de lactat és troben en el rang de la normalitat.

En resposta a l'exercici físic la concentració plasmàtica de lactat augmenta. A la sessió de CC, la concentració lactat en plasma creix en  $1,33 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%: 0,33 a  $2,33 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,005$ ; Wilcoxon) i es situa en valors pròxims als  $3 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ . Aquestes concentracions són lleugerament inferiors a les que corresponen amb el llindar làctic individual (Taula 32)

Mentre que a la sessió de CI l'augment de lactat en plasma és considerablement més important (mitjana:  $+3,31 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%: 2,14 a  $4,48 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,005$ ; Wilcoxon) i s'assoleixen concentracions plasmàtiques pròximes als  $5 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ . Aquestes concentracions superen àmpliament a les que es corresponen amb el llindar làctic individual indicades a la (Taula 32).

L'increment de lactacidèmia és major (mitjana:  $+1,98 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%: 0,82 a  $3,13 \text{ mmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,005$ ; Wilcoxon) a la sessió de CI en comparació a la de CC.

El grau de condició física no va modificar l'evolució de les concentracions plasmàtiques de lactat, i no es varen apreciar diferències entre els participants amb bona i excel·lent condició física.

## 4.2 Paràmetres hematològics

### 4.2.1 Hematòcrit, hemoglobina i volum plasmàtic

Les dades obtingudes al finalitzar les sessions d'entrenament i durant la seva recuperació indiquen que els nivells de l'hematòcrit i la concentració de l'hemoglobina es modifiquen a conseqüència de l'esforç físic (Figura 61).

Els valors mitjans de l'hematòcrit previ a l'esforç físic es varen situar en 45,6 % (IC95%: 42,8 a 48,3 %) per a la sessió de CC, i en 44,5 % (IC95%: 42,8 a 46,4 %) per a la sessió de CI.

Durant l'esforç físic i la seva recuperació es varen produir canvis en l'hematòcrit, que difereixen segons la sessió, ja que l'evolució respecte al temps va ser diferent en les dues sessions (efecte sessió,  $p=0,008$ ; efecte temps,  $p<0,0001$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,47$ ; 2-way ANOVA)

Immediatament després de la sessió de CC d'entrenament, el nivell de l'hematòcrit no va variar significativament respecte al valor enregistrat inicialment, mentre que al finalitzar la sessió de CI, aquest era una mica superior (mitjana: 1,1 %; IC95%: 0,22 a 1,9 %;  $p=0,04$ ; Wilcoxon). En el transcurs de les 3 hores de recuperació de l'esforç físic d'ambdues sessions, l'hematòcrit va disminuir significativament, encara que lleugerament. Als 60 minuts la disminució va ser de -2,27 % (IC95%: -4,7 a -0,17 %;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) per a la sessió de CC i de -1,03 % (IC95%:

-1,9 a -0,1 %;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) per a la sessió de CI.

Després de l'esforç per a la sessió de CC, la concentració d'hemoglobina en sang no es va modificar, però va tendir a disminuir durant la primera hora de recuperació. Als 180 minuts de recuperació la davallada era estadísticament significativa i la seva concentració havia passat de  $15,5 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%: 14,4 a  $16,5 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) a  $15,3 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%: 14,8 a  $15,97 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) (mitjana: -0,75; IC95%: -0,95 a  $-0,19 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ;  $p<0,05$ ; Wilcoxon). A la sessió de CI, la concentració inicial d'hemoglobina al plasma era de  $15,2 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%: 14,5 a  $15,9 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ) i contràriament al que s'havia observat a la sessió de CC, immediatament després de la carrera en intervals, la concentració d'hemoglobina va augmentar en  $0,43 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%: 0,14 a  $0,71 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ;  $p<0,05$ ; Wilcoxon). Posteriorment va anar disminuint fins assolir valors inferiors (mitjana:  $-0,16 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ; IC95%:  $-0,28$  a  $0,03 \text{ g}\cdot\text{dL}^{-1}$ ;  $p<0,05$ ; Wilcoxon) als inicials. L'anàlisi two-way ANOVA va evidenciar que l'evolució de la concentració d'hemoglobina era una mica diferent entre les dues sessions (efecte sessió,  $p=0,046$ ; efecte temps,  $p=0,008$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,70$ )

Degut que les variacions de l'hematòcrit i de les concentracions d'hemoglobina semblen indicar que existeixen modificacions del volum plasmàtic, possiblement a causa de la sudoració o la ingestió de líquid, es va calcular el volum plasmàtic segons el mètode proposat per Dill & Costill (1974). L'anàlisi two-way ANOVA també va posar de manifest que les alteracions del volum plasmàtic respecte al temps va ser diferent en les dues sessions (efecte sessió,  $p=0,001$ ; efecte temps,  $p=0,003$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,49$ ). En conjunt, les variacions del volum plasmàtic (Figura 61) suggereixen que a la tercera hora de recuperació de la sessió d'entrenament A hi ha una lleugera expansió del mateix (mitjana: 8,31%; IC95%: 3,24 a 13,4%;  $p<0,05$ ; Wilcoxon) respecte als valors inicials. Per contra, immediatament després de l'esforç no s'aprecien canvis significatius del volum plasmàtic. A la sessió de CI, sembla que l'esforç físic contribueix a la disminució significativa (mitjana: -4,6%; IC95%: -7,7 a -1,5%;  $p<0,05$ ; Wilcoxon) del volum plasmàtic. Durant la recuperació, el volum plasmàtic recobra, i supera, el nivell inicial, apreciant-se també una lleugera expansió als 60 minuts post esforç (mitjana: 3,0%; IC95%: 1,4 a 4,6%;  $p<0,05$ ; Wilcoxon).

Tenint en compte les fluctuacions del volum plasmàtic al llarg de la recuperació de les sessions d'entrenament, per a la valoració de les concentracions plasmàtiques dels paràmetres immunològics, endocrins, i bioquímics que s'indiquen a continuació, les dades obtingudes han estat corregides pels canvis de l'hemoglobina i l'hematòcrit, segons el mètode proposat per Dill & Costill (1974) i que es mostra a l'Annex 9.4.

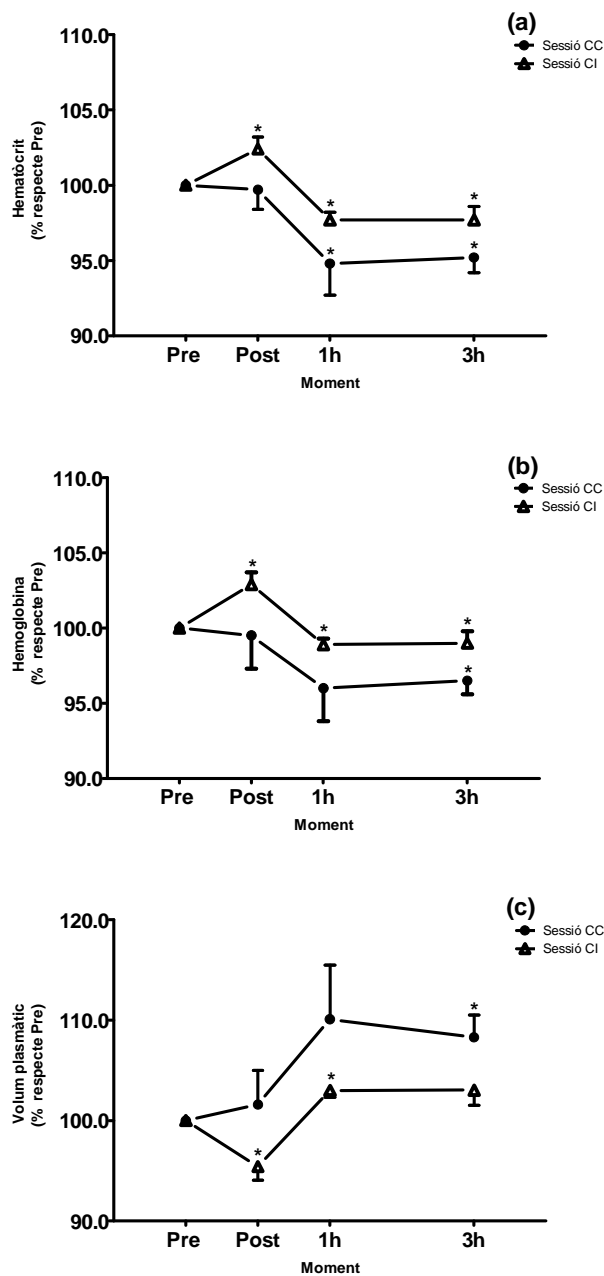


Figura 61. Evolució dels nivells de l'hematòcrit, hemoglobina i volum plasmàtic al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10).

Les dades són expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Els valors de l'hematòcrit, hemoglobina i volum plasmàtic registrats abans de l'esforç varen ser de 45,6% (IC95%: 42,8 a 48,3%), 15,5 g·dL<sup>-1</sup> (IC9%:14,4 a 16,5 g·dL<sup>-1</sup>) i 54,4 mL·dL<sup>-1</sup> (IC95%: 51,6 a 57,2 mL·dL<sup>-1</sup>) per a la sessió de CC; i de 44,6% (IC95%: 42,8 a 46,4%), 15,2 g·dL<sup>-1</sup> (IC9%:14,5 a 15,9 g·dL<sup>-1</sup>) i 55,4 mL·dL<sup>-1</sup> (IC95%: 53,5 a 57,2 mL·dL<sup>-1</sup>) per a la sessió de CI.

Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació.

\* p < 0,05, significativament diferent respecte al moment Pre per a la sessió de CC o B (Test de Wilcoxon). # p < 0,05, significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

## 4.2.2 Leucòcits i les seves subpoblacions

La Figura 62 (a, c i d) mostra l'evolució de les concentracions de leucòcits, neutròfils i limfòcits abans (Pre), al finalitzar (Post) i, una (1h) i 3 (3h) hores després de les sessions d'entrenament. En les extraccions de sang realitzades abans de l'esforç, el recompte cel·lular es trobava en el rang de la normalitat i era similar en ambdues sessions (Taula 36).

Taula 36. Mitjana e interval de confiança del 95% del recompte de leucòcits, neutròfils, i limfòcits en repòs.

Condicció n = 10	Sessió de CC			Sessió de CI			p <sup>(1)</sup>
	Mitjana	IC95%		Mitjana	IC95%		
		Li	Ls		Li	Ls	
<b>Leucòcits</b> (n <sup>o</sup> cèl·10 <sup>3</sup> ·µL <sup>-1</sup> )	6,72	6,05	7,34	6,34	5,56	7,12	NS
<b>Neutròfils</b> (n <sup>o</sup> cèl·10 <sup>3</sup> ·µL <sup>-1</sup> )	3,22	2,82	3,61	3,12	2,58	3,65	NS
<b>Limfòcits</b> (n <sup>o</sup> cèl·10 <sup>3</sup> ·µL <sup>-1</sup> )	2,69	2,33	3,05	2,42	2,10	2,74	NS

Dades expressades amb la mitjana i interval de confiança (IC95%). Li: límit inferior; Ls: límit superior; Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT; Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat corresponent al llindar anaeròbic individual.

(<sup>1</sup>) Significació en la comparació entre sessions (test de Wilcoxon). NS= no significatiu.

Després de la sessió de CC, cursa contínua, es va observar una leucocitosi significativa (p=0,01). Els leucòcits varen augmentar en 0,98 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup> (IC95%: 0,4 a 1,54 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup>; p<0,05; Wilcoxon). Al cap d'una hora de recuperació, la concentració de leucòcits va reduir-se lleugerament però encara era elevada respecte als nivells inicials. Com s'observa a la Figura 62, la leucocitosi es va accentuar durant la recuperació i a les 3 hores era 2,01 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup> superior respecte als valors inicials (IC95%: 1,45 a 2,57 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup>; p=0,01; Wilcoxon).

A la sessió d'entrenament de CI, com a la de CC, també es va observar una leucocitosi significativa (p<0,001) immediatament després de la sessió (Post) que va mantenir-se als 60 minuts de recuperació (1h). Després de l'esforç els leucòcits havien augmentat en 1,93 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup> (IC95%: 1,32 a 2,54 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup>; p=0,01; Wilcoxon). Transcorreguts 180 minuts de recuperació la leucocitosis es va accentuar encara més assolint increments de 3,52 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup> (IC95%: 2,43 a 4,61 cèl·10<sup>3</sup>·µL<sup>-1</sup>; p=0,01; Wilcoxon)

En les dues sessions es va registrar un comportament bifàsic en l'evolució dels nivells de leucòcits en sang, en resposta a l'esforç d'entrenament; amb un increment immediatament després de l'esforç que es manté, o s'atenua una mica, en la primera fase de la recuperació (60 minuts), abans de tornar a augmentar. En ambdues sessions, els nivells més elevats es varen registrar a les 3 hores de recuperació. Tot i això, les variacions varen ser més atenuades a la sessió de CC respecte a la de CI (efecte sessió, p=0,0001; efecte temps, p<0,0001; interacció temps-sessió, p=0,09; 2-way ANOVA).

Les variacions del recompte dels leucòcits són atribuïbles als canvis en les seves

sub poblacions. Així, com s'aprecia a la Figura 62, els neutròfils també varen augmentar de forma significativa immediatament després de l'esforç de la sessió de CC (mitjana:  $0,74 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $0,42 \text{ a } 1,06 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon). Aquest increment va ser encara més pronunciat als 60 minuts de recuperació (mitjana:  $1,0 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $0,27 \text{ a } 1,73 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) i 180 minuts de recuperació (mitjana:  $2,48 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $1,93 \text{ a } 3,04 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ , Wilcoxon).

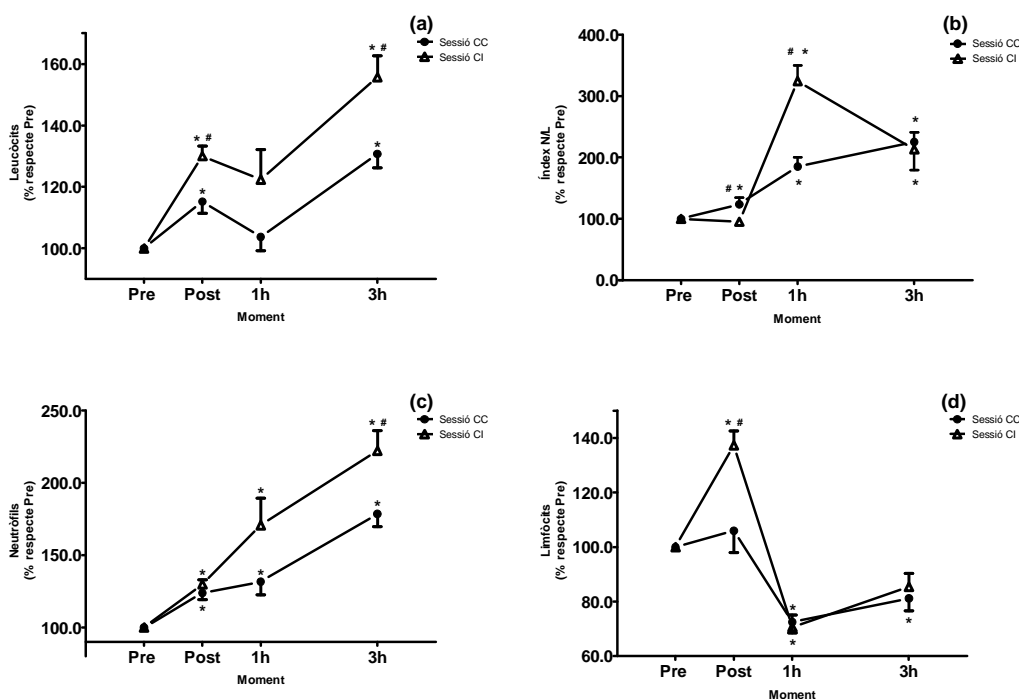


Figura 62. Evolució de les concentracions de leucòcits, neutròfils i limfòcits al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10).

Les dades són expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Les concentracions de leucòcits, neutròfils i limfòcits registrades abans de l'esforç varen ser de  $6,72 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $6,05 \text{ a } 7,34 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ),  $3,22 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $2,82 \text{ a } 3,61 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) i  $2,69 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $2,33 \text{ a } 3,05 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CC; i de  $6,34 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $5,56 \text{ a } 7,12 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ),  $3,12 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $2,58 \text{ a } 3,65 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) i  $2,42 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $2,10 \text{ a } 2,74 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CI. Els valors inicials de l'índex neutròfils/limfòcits varen ser de 1,23 (IC95%:  $1,02 \text{ a } 1,43$ ) i de 1,31 i (IC95%:  $1,07 \text{ a } 1,56$ ) per a les sessions d'entrenament de CC i CI, respectivament.

Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT; Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT= velocitat corresponent amb el llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació.

\*  $p < 0,05$ , significativament diferent respecte al moment pre per a la sessió de CC o CI (Test de Wilcoxon).

#  $p < 0,05$ , significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

També a la sessió de CI, les concentracions de neutròfils en sang varen mostrar diferències estadísticament significatives entre els nivells inicials i els obtinguts en els diferents moments de la recuperació. En aquest cas la concentració va anar creixent progressivament fins els 180 minuts de recuperació, on es varen anotar els valors més alts. Els increments varen ser de  $0,95 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,61 \text{ a } 1,29 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon);  $2,42 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,72$

a  $4,13 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,02$ ; Wilcoxon) i  $3,81 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%: 2,62 a  $5,0 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) per als moments immediatament després de l'esforç, als 60 i 180 minuts de recuperació, respectivament.

Els neutròfils varen incrementar-se amb el transcurs del temps, però els canvis varen ser més atenuats a la sessió de CC (efecte sessió,  $p=0,0016$ ; efecte temps,  $p<0,0001$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,054$ ; 2-way ANOVA)

Com indiquen les Taules 37 i 38, les variacions de les concentracions plasmàtiques dels leucòcits es correlacionen estretament amb els canvis registrats en el recompte de neutròfils, excepte per a la sessió de CI immediatament després de l'esforç.

Taula 37. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques dels leucòcits, i els dels neutròfils i limfòcits a la sessió de CC.

Sessió CC n=10	Neutròfils Pre-Post (%Δ)	Neutròfils Pre-1h (%Δ)	Neutròfils Pre-3h (%Δ)	Limfòcits Pre-Post (%Δ)	Limfòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-3h (%Δ)
Leucòcits Pre-post (%Δ)	$r=0,95$ $p=0,0002$	NS	NS	$r=0,82$ $p=0,004$	NS	NS
Leucòcits Pre-1h (%Δ)	NS	$r=0,91$ $p=0,0003$	$r=0,65$ $p=0,04$	NS	NS	NS
Leucòcits Pre-3h (%Δ)	NS	NS	$r=0,72$ $p=0,02$	NS	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Pre= abans de l'esforç; Post= immediatament després de la sessió; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació.

Taula 38. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques dels leucòcits, i els dels neutròfils i limfòcits a la sessió de CI.

Sessió CI n=10	Neutròfils Pre-Post (%Δ)	Neutròfils Pre-1h (%Δ)	Neutròfils Pre-3h (%Δ)	Limfòcits Pre-Post (%Δ)	Limfòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-3h (%Δ)
Leucòcits Pre-post (%Δ)	$r=0,61$ $p=0,06$	$r=0,70$ $p=0,03$	NS	$r=0,88$ $p=0,0008$	NS	NS
Leucòcits Pre-1h (%Δ)	$r=0,75$ $p=0,01$	$r=0,94$ $p=0,0002$	$r=0,67$ $p=0,03$	NS	NS	NS
Leucòcits Pre-3h (%Δ)	NS	NS	$r=0,92$ $p=0,02$	NS	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Pre= abans de l'esforç; Post= immediatament després de la sessió; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació.

El nombre de limfòcits en sang també va tendir a créixer immediatament després de la sessió de CC (mitjana:  $0,14 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $-0,25$  a  $0,54 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,24$  Wilcoxon). Durant la recuperació el nombre de limfòcits circulants va disminuir respecte als valors inicials. Als 60 i



180 minuts de recuperació, la concentració de limfòcits en sang era significativament inferior a la concentració inicial en  $-0,78 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $-1,07$  a  $-0,48 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) i  $-0,55 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $-0,88$  a  $-0,23 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) respectivament.

Pel que fa a la sessió de CI, la concentració de limfòcits en sang, va augmentar de forma significativa al finalitzar l'esforç físic (mitjana:  $0,89 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%: de  $0,6$  a  $1,18 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon); per disminuir una hora més tard ( $-0,78 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $-1,07$  a  $-0,48 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) i tendir a mantenir-se per sota dels nivells inicials als 180 minuts de recuperació (mitjana:  $-0,36 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $-0,65$  a  $-0,07 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,07$ ; Wilcoxon).

Les variacions dels limfòcits circulants en sang varen ser diferents al llarg de les dues sessions (efecte sessió,  $p=0,0127$ ; efecte temps,  $p<0,0001$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,0017$ ; 2-way ANOVA).

Els coeficients de correlació (Taules 37 i 38) posen de manifest que no existeix associació lineal entre les variacions en les concentracions plasmàtiques dels limfòcits i les dels leucòcits, excepte en el moment immediat després de la sessió de CI.

Al comparar les variacions registrades en les sessions d'entrenament, s'aprecia que immediatament després de l'esforç, el creixement de les concentracions de leucòcits i limfòcits va ser inferior a la sessió de CC (carrera contínua) en comparació al registrat a la sessió de CI (carrera en intervals). Els leucòcits varen augmentar un 14,8% més a la sessió de CI (IC95%: 4,8 a 24,8%;  $p<0,05$ ; Mann-Whitney) que a la de CC. Pels neutròfils el creixement va ser similar en ambdues sessions, mentre que pels limfòcits la diferència a favor de la sessió de CI va ser de 31,3% (IC95%: 12 a 50,7%;  $p<0,05$ ; Mann-Whitney) (Figura 63).

Durant la primera hora de recuperació, l'evolució de l'augment del nombre de leucòcits i neutròfils circulants va ser similar en ambdues sessions. Tanmateix, als 180 minuts de finalitzar l'esforç els canvis expressats en percentatge respecte als valors inicials són majors a la sessió de CI que a la sessió de CC. Pels leucòcits va ser de 24% (IC95%: 14,5 a 35,4%;  $p<0,05$ ; Mann-Whitney) a favor de la sessió de CI; i de 43,7% (IC95%: 0,01 a 67,5%;  $p<0,05$ ; Mann-Whitney) pels neutròfils, també a favor de la sessió de CI.

Com s'ha indicat, els limfòcits en sang augmenten significativament després de les sessions d'entrenament, i ho fan amb major intensitat immediatament després de la sessió de CI. Els coeficients de correlació bivariades (Taules 37 i 38) també reflecteixen que a la sessió de CC l'increment de leucòcits immediatament després de l'esforç físic es relaciona amb el creixement dels neutròfils i dels limfòcits; mentre que a la sessió de CI només existeix una associació significativa i potent amb els canvis dels limfòcits.

En relació amb els paràmetres indicadors del treball cardíac, considerant les dues sessions conjuntament, el grau de creixement dels limfòcits circulants immediatament després de l'esforç

s'associa amb la FC mitjana de la sessió ( $r=0,65$ ;  $p=0,002$ ); mentre l'augment dels neutròfils circulants correlaciona amb la suma de batecs ( $r=0,49$ ;  $p=0,03$ ).

Durant la recuperació, les variacions dels limfòcits en sang són similar en les dues sessions i no s'associen linealment amb els canvis globals dels leucòcits. Per contra la leucocitosi que s'observa a les 3 hores de recuperació s'associa amb la neutrofilia (Taula 37 i Taula 38).

La diversitat de la mobilització de les subpoblacions leucocitàries segons la sessió d'entrenament va repercutir en l'índex neutròfils/limfòcits (N/L) que va augmentar de forma diferencial en la recuperació de les dues sessions (Figura 62 b). El pic més elevat és va produir al cap de 60 minuts de recuperació de la sessió de CI. La relació N/L va ser de 4,4 (IC95%: 3,0 a 5,7).

Així doncs sembla que immediatament després i en la recuperació de la sessió de CI, els increments en el nombre de leucòcits i neutròfils circulants són més pronunciats que a la sessió de CC, i que immediatament després de l'esforç intens també hi ha una major mobilització dels limfòcits. Per contra, no sembla que la diferent natura de les sessions d'entrenament repercuteixi sobre la reducció dels nivells de limfòcits circulants que es registra al llarg de la recuperació de l'esforç.

En el seu conjunt els canvis de mobilització cel·lular reflecteixen un major estrès sobre el sistema immune en la recuperació de la sessió de CI en comparació a la de CC.

En general, per a les dues sessions, immediatament després de l'esforç i al cap d'una hora de recuperació, l'evolució del recompte de les diferents subpoblacions leucocitàries és semblant en els subgrups de participants determinats per la condició física o l'esport practicat.

No obstant, com es mostra a la Figura 63, a les 3 hores de recuperació de la sessió d'entrenament en intervals, els participants amb una bona condició física (futbolistes) mostren un creixement de la leucocitosi (mitjana:  $2,27 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%: 0,83 a  $3,72 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ ; Wilcoxon) i la neutrofilia (mitjana:  $2,45 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ; IC95%: 0,84 a  $4,06 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ;  $p < 0,05$ ; Wilcoxon) més accentuades que el del subgrup d'atletes amb condició física excel·lent. Els canvis en el recompte de limfòcits circulants no es veuen afectats per la condició física o la modalitat esportiva practicada pels participants.

Immediatament després i en la recuperació de la sessió CC no es varen apreciar diferències significatives en l'evolució dels leucòcits circulants i les seves subpoblacions entre els dos subgrups d'esportistes.

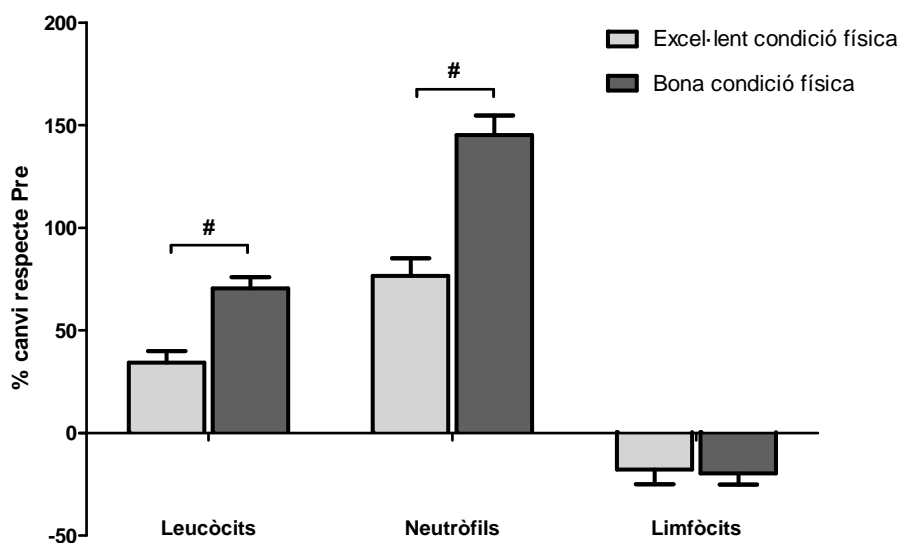


Figura 63. Canvi de la concentració de leucòcits, neutròfils i limfòcits en sang entre els nivells plasmàtics inicials i a les 3 hores de recuperació de la sessió de CI, en els subgrups de participants determinats pel nivell de condició física (n=10).

Les dades són expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge de canvi respecte als valors previs a l'esforç. Les concentracions de leucòcits, neutròfils i limfòcits registrades abans de l'esforç varen ser de  $6,06 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%: 4,66 a  $7,46 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ),  $2,78 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC9%: 2,6 a  $4,3 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) i  $2,42 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%: 1,98 a  $2,86 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) pels esportistes amb excel·lent condició física i de  $6,62 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%: 5,3 a  $7,97 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ),  $3,5 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC9%: 1,87 a  $3,68 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) i  $2,42 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$  (IC95%: 1,72 a  $3,12 \text{ cèl} \cdot 10^3 \cdot \mu\text{L}^{-1}$ ) pels esportistes amb bona condició física.

Pre: abans de la sessió; Excel·lent condició física (n=5):  $\text{VO}_{2\text{pic}} \geq 60 \text{ ml} \cdot \text{kg} \cdot \text{min}^{-1}$  pels homes, o  $\geq 50 \text{ ml} \cdot \text{kg} \cdot \text{min}^{-1}$  per a les dones; Bona condició física (n=5):  $\text{VO}_{2\text{pic}} < 60 \text{ ml} \cdot \text{kg} \cdot \text{min}^{-1}$  pels homes, o  $< 50$  per a les dones.  $\text{VO}_{2\text{pic}}$ : nivell de consum d'oxigen més elevat assolit en la prova d'esforç màxima. Sessió de CC= carrera contínua al 90% de la VIAT; Sessió de CI= carrera en intervals al 105% de la VIAT, VIAT= velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual.

# p < 0,05, significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

## 4.3 Paràmetres endocrins

### 4.3.1 Epinefrina

Les concentracions inicials d'epinefrina plasmàtica són molt semblants en les dues sessions d'entrenament. Aquestes es situen dins del rang de la normalitat ( $20\text{-}60 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), i són de  $42,2 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  (IC95%: 43,1 a  $51,3 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) per a la sessió de CC i de  $45,9 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$  (IC95%: 39,1 a  $52,6 \text{ pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) per a la sessió de CI.

En resposta als 60 minuts de carrera contínua de la sessió de CC, o de les 8 sèries de cursa de la sessió de CI la concentració d'epinefrina plasmàtica no va variar significativament respecte als valors inicials. Al cap d'una hora de recuperació els valors registrats tendien a ser una mica més baixos, però el descens no és estadísticament significatiu (Figura 64).

Tampoc s'han evidenciat diferències significatives en els variacions de la concentració plasmàtica d'epinefrina entre les dues sessions d'entrenament, malgrat que la intensitat i la naturalesa de l'esforç físic varen ser distintes (efecte sessió,  $p=0,54$ ; efecte temps,  $p=0,61$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,90$ ; 2-way ANOVA).

No s'ha detectat cap associació significativa, entre la variació de les concentracions plasmàtiques d'epinefrina i els canvis durant l'esforç (diferència entre els valors inicials i els finals) de les diverses poblacions leucocitàries, ni quan es considera cada sessió individualment; ni si es tenen en compte les dues sessions conjuntament. Per contra, existeix una correlació moderada i positiva entre els canvis de les concentracions d'epinefrina (sessió de CC) i els canvis en el recompte de leucòcits i limfòcits durant la recuperació (Taula 39).

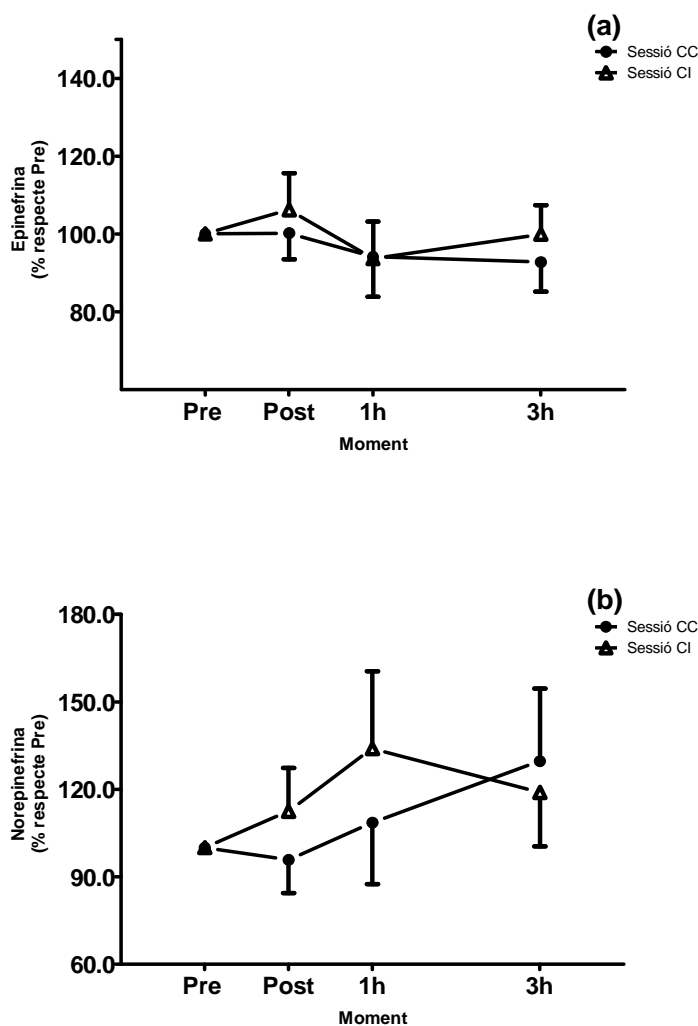


Figura 64. Concentracions plasmàtiques de catecolamines al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10).

Les dades són expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Les concentracions d'epinefrina i norepinefrina registrades abans de l'esforç varen ser de  $42,2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%:  $43,1$  a  $51,3 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) i  $132,2 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC9%:  $94,0$  a  $170,4 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) per a la sessió de CC; i de  $45,9 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%:  $39,1$  a  $52,6 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) i  $136,3 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC9%:  $111,1$  a  $161,5 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) per a la sessió de CI.

Sessió de CC= carrera contínua al 90% de la vIAT; Sessió de CI= carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT= velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació.

\*  $p < 0,05$ , significativament diferent respecte al moment Pre per a la sessió de CC o B (Test de Wilcoxon). #  $p < 0,05$ , significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

### 4.3.2 Norepinefrina

La concentració inicial de norepinefrina plasmàtica també és molt semblant en les dues sessions d'entrenament; 132,2 pg·mL<sup>-1</sup> (IC9%: 94,0 a 170,4 pg·mL<sup>-1</sup>) per a la sessió de CC i 136,3 pg·mL<sup>-1</sup> (IC9%: 111,1 a 161,5 pg·mL<sup>-1</sup>) per a la sessió de CI; i en general es situa a la banda inferior del rang de la normalitat (135 a 300 pg·mL<sup>-1</sup>). Immediatament després de la sessió de CC (carrera contínua) no es detecten canvis de la concentració plasmàtica de norepinefrina respecte als nivells inicials. Posteriorment, durant la recuperació, la concentració plasmàtica de norepinefrina tendeix a créixer però no s'assoleixen nivells estadísticament significatius (Figura 64).

En resposta a les 8 sèries de cursa de la sessió de CI, la concentració de norepinefrina plasmàtica va tendir a elevar-se. Als 60 minuts de recuperació la concentració de norepinefrina encara havia augmentat més, però sense assolir nivells de significació estadística.

Per aquesta hormona, tampoc existeixen diferències en l'evolució de la concentració plasmàtica de norepinefrina entre les dues sessions d'entrenament. Tot i això, fins als 60 minuts de recuperació, aquestes solen ser més elevades a la sessió de CI (efecte sessió, p=0,53; efecte temps, p=0,41; interacció temps-sessió, p=0,73; 2-way ANOVA).

Considerant la sessió de CC individualment, no s'ha detectat cap associació lineal significativa, entre la variació de les concentracions plasmàtiques de norepinefrina i els canvis en les diverses poblacions leucocitàries. Mentre que a la sessió de CI, s'ha observat l'existència d'una relació moderada i positiva entre les variacions de les concentracions plasmàtiques de norepinefrina als 60 minuts de recuperació i els canvis en el recompte de limfòcits als 60 i 180 minuts de recuperació (Taula 40). Per a les dues sessions conjuntament també existeix una correlació positiva entre la variació de la concentració plasmàtica de norepinefrina als 60 minuts de recuperació i el canvi en el recompte de limfòcits circulants també als 60 minuts de recuperació (r=0,52; p=0,02; coeficient de correlació de Pearson).

Taula 39. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de les catecolamines i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CC.

Sessió de CC n=10	Leucòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-3h (%Δ)
Epinefrina Pre-Post (%Δ)	r=0,68 p=0,03	NS	NS
Epinefrina Pre-1h (%Δ)	r=0,60 p=0,07	r=0,65 p=0,04	r=0,68 p=0,03

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació

Taula 40. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de les catecolamines i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CI.

Sessió de CI n=10	Leucòcits Pre-1h (%Δ)	Neutròfils Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-3h (%Δ)
Norepinefrina Pre-1h (%Δ)	NS	NS	r=0,83 p=0,003	r=0,65 p=0,04
Índex Ep/NEp Pre-1h (%Δ)	NS	NS	r=-0,72 p=0,02	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació; Ep= epinefrina; NEp= norepinefrina

L'índex epinefrina/norepinefrina es va mantenir al voltant de  $0,38 \text{ pg}\cdot\text{pg}^{-1}$  (IC95%: 0,35 a 0,42  $\text{pg}\cdot\text{pg}^{-1}$ ) per a totes les extraccions (n=80) i no va evidenciar variacions significatives respecte al temps, ni entre sessions (efecte sessió,  $p=0,42$ ; efecte temps,  $p=0,63$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,68$ ; 2-way ANOVA). Aquest índex mostra una associació negativa significativa entre el seu valor als 60 minuts de recuperació de la sessió de CI i els canvis experimentats pels limfòcits en aquest mateix moment de la recuperació ( $r=-0,72$ ;  $p=0,02$ ; coeficient de correlació de Pearson).

Tenint en compte les característiques de les sessions d'entrenament realitzades i del grup de participants, no sembla que el nivell de condició física o el tipus d'activitat esportiva realitzada habitualment, tinguin molta influència sobre l'evolució de les concentracions plasmàtiques de les catecolamines analitzades. Tant sols s'aprecia que els canvis de les concentracions de norepinefrina són inferiors en els esportistes amb excel·lent condició física immediatament després (mitjana: -54,7% respecte Pre; IC95%:-87,7 a -21,5% respecte Pre ;  $p<0,05$ ; U Mann-Whitney) i a les 3 hores de recuperació (mitjana: -97,0% respecte Pre; IC95%:-189,7 a -4,33% respecte Pre;  $p<0,05$ ; U Mann-Whitney) de la sessió d'entrenament.

### 4.3.3 Cortisol

Els nivells plasmàtics de cortisol inicials eren similars en les dues sessions d'entrenament ( $639,5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; (IC95%: 469,1 a  $810,0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CC; i  $678,7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%: 525,9 a  $831,5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CI, respectivament). Els valors mitjans es situen a la banda superior, del rang de referència ( $140 \text{ a } 690 \text{ nmols}\cdot\text{L}^{-1}$ ) del laboratori pel que fa a extraccions realitzades a primera hora del matí (8:00 a 9:00). En alguns casos individuals fins hi tot es supera aquest límit.

La Figura 65 mostra l'evolució de les concentracions plasmàtiques del cortisol en la recuperació de les sessions d'entrenament. L'anàlisi two-way ANOVA va posar de manifest l'existència d'interacció entre la sessió i el temps ( $p=0,0001$ ), i un efecte significatiu del temps sobre les concentracions de cortisol ( $p<0,0001$ ). Immediatament després dels 60 minuts de carrera contínua a intensitat moderada, la concentració de cortisol plasmàtic va ser significativament

inferior a la inicial (mitjana:  $-110,4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $-222,3$  a  $1,57 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,05$ ; Wilcoxon). Durant la recuperació els nivells plasmàtics de cortisol varen continuar baixant, i a les 3 hores eren  $-295,8 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $-395,0$  a  $-196,5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) inferiors als inicials. Immediatament després de la sessió de CI, el cortisol plasmàtic va ser semblant a la concentració registrada a l'inici de la sessió. Les concentracions de cortisol no es varen modificar significativament fins que varen transcórrer 60 minuts de recuperació (mitjana:  $-195,9 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%: de  $-316,1$  a  $-75,7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,02$ ; Wilcoxon). A les 3 hores de recuperació la concentració de cortisol encara era més baixa (mitjana:  $-359,6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%: de  $-471,0$  a  $-248,3 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon), en relació als valors previs.

Malgrat que a la sessió de CI, els nivells de cortisol no disminueixen immediatament després de l'esforç; cosa que es produeix a la sessió de CC; no es va apreciar cap diferència estadísticament significativa en l'evolució d'aquest paràmetre entre sessions ( $p=0,058$ ; Wilcoxon) encara que s'hi està molt pròxim.

Tampoc es varen detectar diferències en l'evolució del cortisol plasmàtic en la recuperació de les dues sessions d'entrenament entre els subgrups determinats segons la condició física.

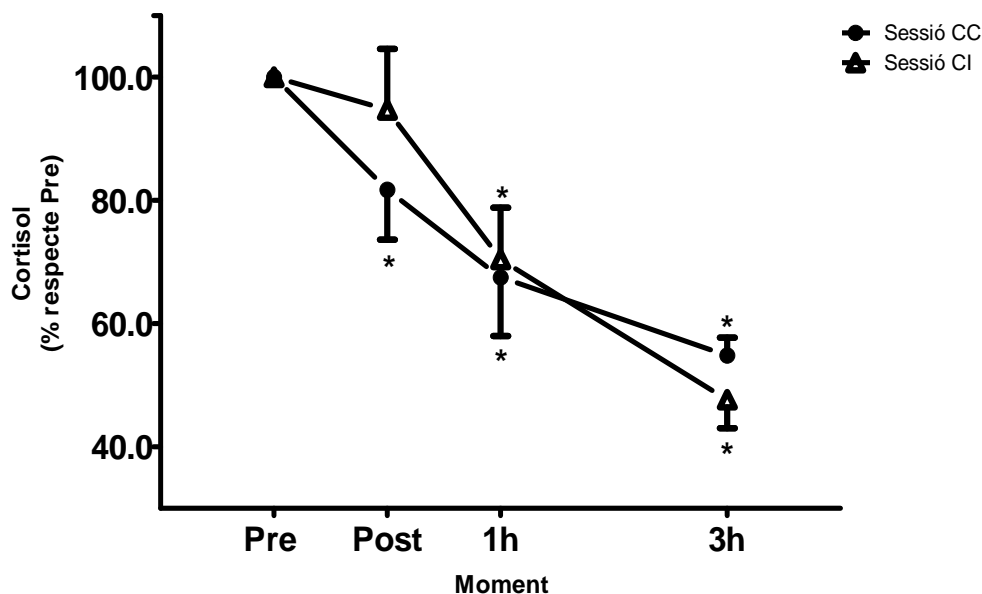


Figura 65. Evolució de la concentració de cortisol plasmàtic al llarg de les sessions d'entrenament i la seva recuperació ( $n=10$ ).

Les dades són expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Les concentracions de cortisol registrades abans de l'esforç varen ser de  $639,5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $469,1$  a  $810,0 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CC; i de  $678,7 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $525,9$  a  $831,5 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CI.

Sessió de CC= carrera contínua al 90% de la vIAT; Sessió de CI= carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT= velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació.

\*  $p < 0,05$ , significativament diferent respecte al moment Pre per a la sessió de CC o B (Test de Wilcoxon).

#  $p < 0,05$ , significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

Per altra banda, les variacions en les concentracions de cortisol s'associen amb els canvis observats en les subpoblacions leucocitàries, especialment els limfòcits (Taulas 41 i 42). Aquesta relació és especialment important entre la variació del cortisol plasmàtic durant l'esforç físic (sessions agrupades) i la reducció dels limfòcits circulants en sang als 60 minuts de recuperació (Figura 66). La relació és negativa, és a dir que com més elevat es va mantenir el cortisol al finalitzar l'esforç físic, major va ser la limfopènia durant la primera hora de recuperació.

Taula 41. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de cortisol i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CC.

Sessió de CC n=10	Leucòcits Pre-3h (%Δ)	Neutròfils Pre-3h (%Δ)	Limfòcits Pre-Post (%Δ)	Limfòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-3h (%Δ)
<b>Cortisol Pre-Post (%Δ)</b>	r=-0,64 p=0,05	NS	NS	r=-0,81 p=0,005	NS
<b>Cortisol Pre-3h (%Δ)</b>	NS	r=0,71 p=0,02	NS	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació.

Taula 42. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de cortisol i dels leucòcits, neutròfils i limfòcits a la sessió de CI.

Sessió de CI n=10	Limfòcits Pre-Post (%Δ)	Limfòcits Pre-1h (%Δ)	Limfòcits Pre-3h (%Δ)
<b>Cortisol Pre-Post (%Δ)</b>	r=0,70 p=0,03	r=-0,79 p=0,01	r=-0,89 p=0,04
<b>Cortisol Pre-1h (%Δ)</b>	NS	NS	r=-0,60 p=0,07

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació.



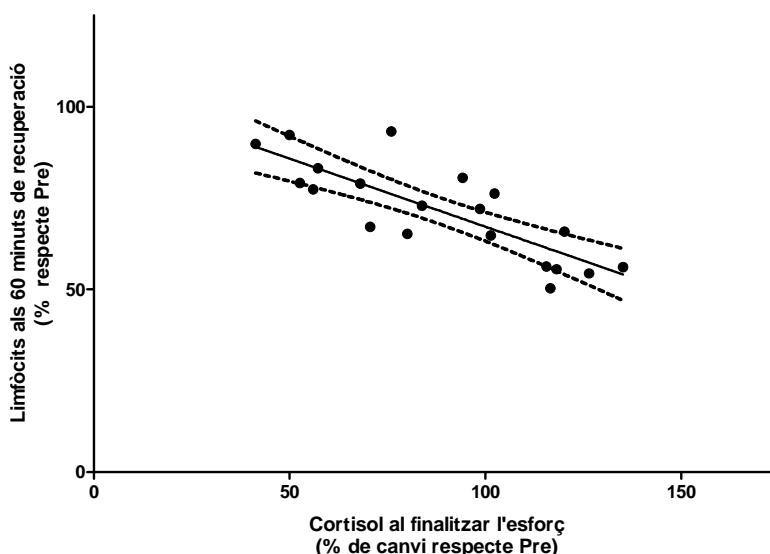


Figura 66. Relació entre els canvis de la concentració de cortisol plasmàtic al finalitzar l'esforç físic i els del nombre de limfòcits als 60 minuts de recuperació (n=20).

Les dades són expressades amb el percentatge de canvi respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Regressió lineal:  $y=104,4 - 0,372x$ ;  $R^2= 0,6667$ ;  $p<0,0001$ .

Les concentracions de cortisol registrades abans de l'esforç (per a les dues sessions conjuntament) varen ser de  $659,1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $556,2$  a  $762,6 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) i els dels limfòcits de  $2,5 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $2,3$  a  $2,8 \text{ cèl}\cdot 10^3\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ). Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió; 1h: als 60 minuts de recuperació;.

## 4.4 Paràmetres de l'estat inflamatori

### 4.4.1 IL-6

Com s'indica a la Figura 67 (a), en conjunt, l'exercici físic va produir un augment de la IL-6 en plasma, però els canvis de les concentracions plasmàtiques de IL-6 no es varen veure afectats per la naturalesa de la sessió, ja que l'evolució respecte al temps va ser similar en les dues sessions (efecte sessió,  $p=0,33$ ; efecte temps  $p<0,0001$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,91$ ; 2-way ANOVA).

Per a la sessió de CC els valors inicials de IL-6 es varen situar al voltant de  $2,34 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%:  $0,87$  a  $3,38 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) i varen augmentar immediatament després de la sessió en  $1,73 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%:  $1,16$  a  $2,30 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $p=0,012$ ; Wilcoxon). A continuació varen tendir a mantenir-se elevats fins als 60 minuts de recuperació (mitjana  $\Delta$ :  $+1,07 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%:  $-0,24$  a  $2,38 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $p=0,093$ ; Wilcoxon). Als 180 minuts de recuperació els nivells de IL-6 eren similars als de repòs.

Els nivells inicials de IL-6 observats a la sessió de CI (mitjana:  $2,22 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%:  $1,05$  a  $3,39 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) no varen diferir dels de la sessió de CC. I de forma similar, al finalitzar la sessió de CI, els nivells de IL-6 varen tendir a créixer (mitjana  $\Delta$ :  $1,28 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%:  $0,10$  a  $2,67 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $p=0,069$ ; Wilcoxon) i varen mantenir-se elevats fins als 60 minuts de recuperació (mitjana  $\Delta$ :  $+1,21 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%:  $0,11$  a  $2,31 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $p=0,036$ ; Wilcoxon).

En ambdues sessions a les 3 hores de recuperació, la concentració plasmàtica de IL-6 havia retornat a nivells similars als inicials.

Considerant les dues sessions conjuntament s'ha observat que existeix una associació lineal significativa entre els canvis en les concentracions plasmàtiques de IL-6 i les modificacions registrades en el recompte de leucòcits i les seves subpoblacions, i en les concentracions plasmàtiques d'algunes hormones, com el cortisol (Taules 44 i 45). A més també s'aprecia una associació lineal significativa amb les variacions de paràmetres pro o anti-inflamatoris, com IL-10, TNF- $\alpha$ , o CRP, o paràmetres de l'estat redox, com carbonils proteics o capacitat antioxidant.

Taula 43. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-6 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC + CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	IL-6 Pre-Post (% $\Delta$ )	IL-6 Pre-1h (% $\Delta$ )	IL-6 Pre-3h (% $\Delta$ )
Leucòcits Pre-3h (% $\Delta$ )	r=0,79 p=0,02	NS	NS
Neutròfils Pre-3h (% $\Delta$ )	r=0,74 p=0,02	NS	NS
Limfòcits Pre-1h (% $\Delta$ )	r=0,91 p=0,002	r=0,74 p=0,02	r=-0,78 p=0,02
Cortisol Pre-Post (% $\Delta$ )	r=-0,71 p=0,001	NS	r=-0,78 p=0,002
Cortisol Pre-3h (% $\Delta$ )	NS	NS	r=-0,64 p=0,05

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (% $\Delta$ ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS= no significatiu; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació; IL-6= citocina 6.

Taula 44. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-6 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	IL-6 Pre-Post (% $\Delta$ )	IL-6 Pre-1h (% $\Delta$ )	IL-6 Pre-3h (% $\Delta$ )
IL-10 Pre-Post (% $\Delta$ )	r=0,65 p=0,006	r=0,86 p=0,00	r=0,78 p<0,001
IL-10 Pre-1h (% $\Delta$ )	r=0,53 p=0,03	r=0,83 p=0,00	r=0,75 p<0,001
IL-10 Pre-3h (% $\Delta$ )	r=0,71 p=0,002	r=0,71 p=0,00	r=0,84 p<0,001
TNF- $\alpha$ Pre-3h (% $\Delta$ )	NS	r=0,60 p=0,013	r=0,54 p=0,03
CRP Pre-1h (% $\Delta$ )	NS	r=0,55 p=0,027	NS
CRP Pre-3h (% $\Delta$ )	r=-0,66 p=0,05	r=-0,53 p=0,033	r=-0,55 p=0,028

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (% $\Delta$ ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS= no significatiu; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació; IL-6= citocina 6; IL-10= citocina 10; TNF- $\alpha$  = factor de necrosi tumoral alfa; CRP= proteïna C reactiva.

#### 4.4.2 IL-10

L'exercici físic va produir un augment de la IL-10 en plasma, i a més les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques de IL-10 tendeixen a ser més elevades a la sessió CC (efecte sessió,  $p=0,09$ ; efecte temps,  $p<0,0001$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,56$ ; 2-way ANOVA) (Figura 67 b).

Per a la sessió de CC els valors inicials es varen situar entre 1,13 i 14,62  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (mitjana: 3,9  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%: -0,18 a 7,99  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Aquests varen tendir a augmentar immediatament després de la sessió en 2,47  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%: 0,75 a 4,87;  $p=0,093$ ; Wilcoxon) i es varen mantenir elevats als 60 minuts de recuperació (mitjana  $\Delta$ : +2,88  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%: 0,54 a 5,22  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $p<0,036$ ; Wilcoxon). Als 180 minuts de recuperació els nivells de IL-10 eren semblants als inicials.

Per altra banda, a la sessió de CI les concentracions plasmàtiques inicials de IL-10 (mitjana: 4,78  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%: 0,47 a 9,10  $\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) eren similars a les de la sessió de CC. Els nivells plasmàtics de IL-10 en els diferents moments estudiats varen mostrar una lleugera tendència a elevar-se, però els canvis no varen assolir nivells estadísticament significatius.

Com s'ha indicat anteriorment, existeix una associació lineal entre els canvis de la IL-6 en plasma i els de IL-10 per a les dues sessions conjuntes. Les variacions de les concentracions plasmàtiques de IL-10 també es correlacionen amb els dels limfòcits circulants als 60 minuts de recuperació i amb els canvis dels nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$ , CRP (Taula 45). No s'han detectat associacions lineals entre els canvis de IL-10 i els del recompte de leucòcits o neutròfils, ni els d'altres paràmetres bioquímics o endocrins mesurats.

Taula 45. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-10 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	IL-10 Pre-Post (% $\Delta$ )	IL-10 Pre-1h (% $\Delta$ )	IL-10 Pre-3h (% $\Delta$ )
Limfòcits Pre-1h (% $\Delta$ )	NS	NS	$r=0,9$ $p<0,001$
TNF- $\alpha$ Pre-1h (% $\Delta$ )	NS	$r=0,53$ $p=0,036$	NS
TNF- $\alpha$ Pre-3h (% $\Delta$ )	$r=0,83$ $p=0,000$	$r=0,85$ $p=0,000$	$r=0,69$ $p=0,03$
CRP Pre-Post (% $\Delta$ )	$r=0,72$ $p=0,002$	$r=0,81$ $p=0,000$	$r=0,54$ $p=0,03$

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (% $\Delta$ ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS: no significatiu; Pre: inici; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació; IL-10: citocina 10; TNF- $\alpha$ : factor de necrosi tumoral  $\alpha$ ; CRP: proteïna C reactiva.

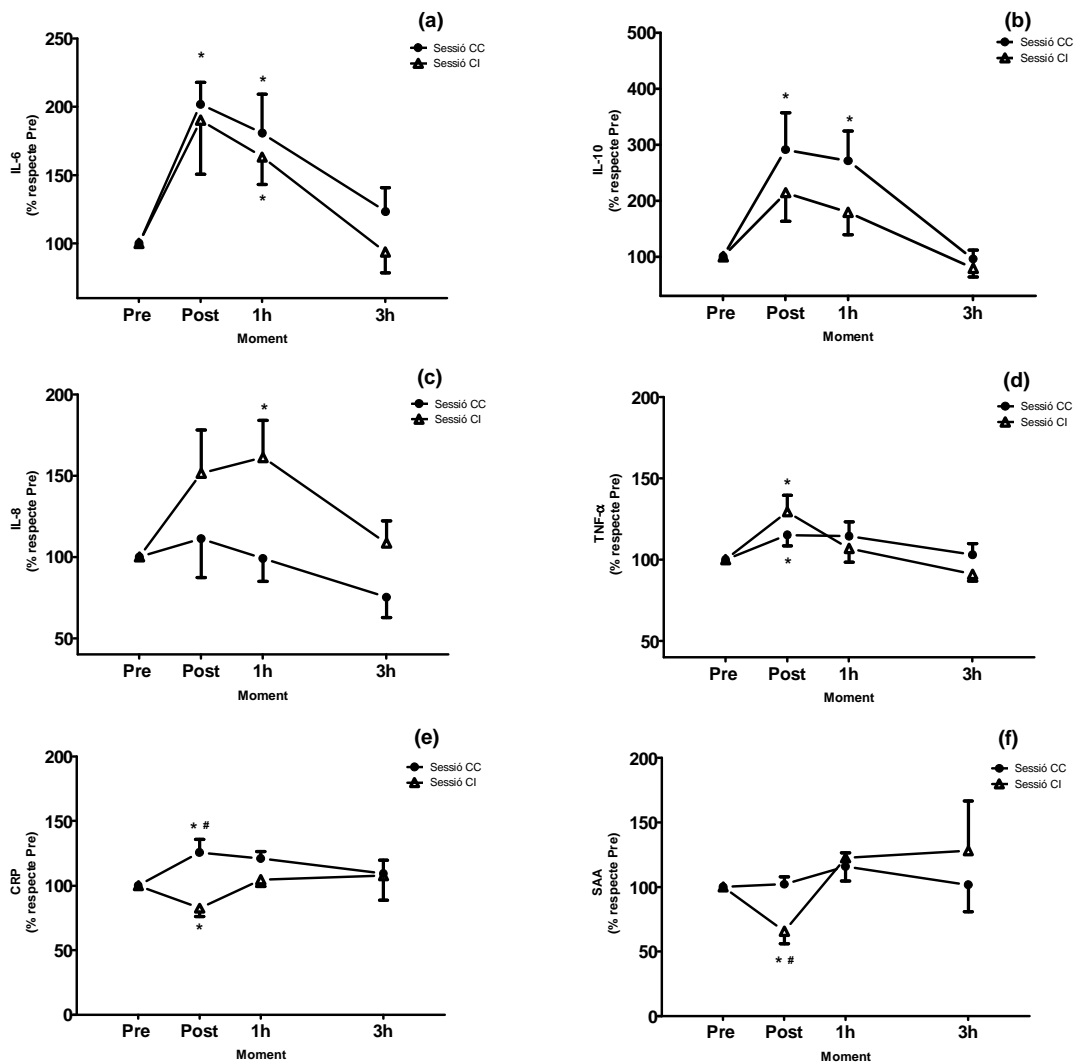


Figura 67. Evolució de la concentració plasmàtica de IL-6, IL-18, IL-10, TNF- $\alpha$ , CRP i SAA al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=5).

Les dades son expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Les concentracions de IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$ , CRP i SAA registrades abans de l'esforç varen ser de 2,34 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 0,87 a 3,38 pg·mL<sup>-1</sup>); 5,83 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 1,27 a 10,38 pg·mL<sup>-1</sup>); 3,9 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: -0,18 a 7,99 pg·mL<sup>-1</sup>); 6,59 pg·mL<sup>-1</sup> IC95%: 5,12 a 8,07 pg·mL<sup>-1</sup>); 0,46 mg·L<sup>-1</sup> (IC95%: 0,34 a 0,58 mg·L<sup>-1</sup>); 1,85 mg·L<sup>-1</sup> (IC95%: 0,83 a 2,86 mg·L<sup>-1</sup>) per a la sessió de CC i de 2,22 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 1,05 a 3,39 pg·mL<sup>-1</sup>); 2,87 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 0,83 a 4,90 pg·mL<sup>-1</sup>); 4,78 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 0,47 a 9,10 pg·mL<sup>-1</sup>); 5,97 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 4,86 a 7,08 pg·mL<sup>-1</sup>); 0,41 mg·L<sup>-1</sup> (IC95%: 0,19 a 0,63 mg·L<sup>-1</sup>); 1,15 mg·L<sup>-1</sup> (IC95%: 0,67 a 1,64 mg·L<sup>-1</sup>) per a la sessió de CI. Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió, post: immediatament després de la sessió, 1h: als 60 minuts de recuperació, 3h: als 180 minuts de recuperació. IL-6: citocina 6; IL-8: citocina 8; IL-10: citocina 10; TNF- $\alpha$ : factor de necrosi tumoral  $\alpha$ ; CRP: proteïna C reactiva; SAA: amiloide A sèric.

\* p < 0,05, significativament diferent respecte al moment Pre per a la sessió de CC o B (Test de Wilcoxon). # p < 0,05, significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

### 4.4.3 IL-8

En conjunt, l'exercici físic va produir variacions de la IL-8 en plasma, i a més les variacions de les concentracions plasmàtiques de IL-8 es varen veure afectades per la naturalesa de la sessió, ja que l'evolució respecte al temps va ser diferent en les dues sessions (efecte sessió,  $p=0,007$ ; efecte temps  $p=0,045$ ; interacció temps- sessió,  $p=0,34$ ; 2-way ANOVA) (Figura 67 c).

Per a la sessió de CC els valors inicials varen ser de  $5,83 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%: 1,27 a  $10,38 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), varen tendir a augmentar immediatament després de l'esforç i posteriorment varen recuperar els valors previs a l'esforç. A les 3 hores de recuperació els nivells plasmàtics tendien a ser inferiors als inicials.

Les concentracions inicials de IL-8 de la sessió de CI eren semblants a les de la sessió de CC (mitjana:  $2,87 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ; IC95%: 0,83 a  $4,90 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). A la sessió de CI, immediatament després de l'esforç els valors plasmàtics també varen tendir a elevar-se. Als 60 minuts de recuperació eren  $1,09 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%: -0,93 a  $3,11 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$ ;  $p=0,05$ ; Wilcoxon) majors que abans de l'esforç.

Els canvis de les concentracions plasmàtiques màximes de IL-8 no mostren cap associació lineal significativa amb els canvis dels nivells plasmàtics de la majoria de paràmetres analitzats. Tant sols s'aprecia una correlació positiva entre els canvis de les concentracions plasmàtiques de IL-8 i el creixement de les concentracions plasmàtiques de norepinefrina i de TNF- $\alpha$  (Taula 46).

Taula 46. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-8 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	IL-8 Pre-Post (% $\Delta$ )	IL-8 Pre-1h (% $\Delta$ )	IL-8 Pre-3h (% $\Delta$ )
Norepinefrina Pre-1h (% $\Delta$ )	NS	$r=0,74$ $p=0,01$	NS
TNF- $\alpha$ Pre-1h (% $\Delta$ )	$r=0,55$ $p=0,035$	$r=0,64$ $p=0,008$	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (% $\Delta$ ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS: no significatiu; Pre: inici; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació; IL-8: citocina 8.

### 4.4.4 TNF- $\alpha$

L'anàlisi de la variància no posa de manifest cap interacció temps-sessió. No obstant, l'exercici físic va produir variacions de la concentració plasmàtica de TNF- $\alpha$  en plasma, però els seus canvis no es varen veure afectats per la naturalesa de la sessió (efecte sessió,  $p=0,78$ ; efecte temps,  $p=0,0012$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,22$ ; 2-way ANOVA).

Com es mostra a la Figura 67 (d), per a la sessió de CC els valors inicials de TNF- $\alpha$  es varen

situar entre 4,49 i 9,83 pg·mL<sup>-1</sup> (mitjana 6,59 pg·mL<sup>-1</sup>; IC95%: 5,12 a 8,07 pg·mL<sup>-1</sup>). Aquests no es varen modificar significativament immediatament després de l'esforç, ni durant la recuperació del mateix.

Els nivells plasmàtics de TNF-α previs a la sessió de CI eren semblants als de la sessió de CC (Figura 67 d), però varen augmentar significativament immediatament després de l'esforç en 1,64 pg·mL<sup>-1</sup> (IC95%: 0,18 a 3,10 pg·mL<sup>-1</sup>; p=0,05; Wilcoxon). Durant la recuperació els nivells plasmàtics de TNF-α varen anar disminuint i als 180 minuts tendien a ser lleugerament inferiors als inicials

Taula 47. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de TNF-α i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	TNF-α Pre-Post (%Δ)	TNF-α Pre-1h (%Δ)	TNF-α Pre-3h (%Δ)
Leucocits Pre-1h (%Δ)	NS	r=0,91 p<0,001	NS
Neutròfils Pre-1h (%Δ)	NS	r=0,98 p<0,001	NS
CRP Pre-Post (%Δ)	NS	NS	r=0,70 p=0,002
SAA Pre-1h (%Δ)	NS	r=0,60 p=0,015	NS
SAA Pre-3h (%Δ)	r=0,68 p=0,03	NS	r=0,74 p=0,01

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC + CI). NS: no significatiu; Pre: inici; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació; TNF-α: factor de necrosi tumoral alfa; SAA: amiloide sèric A.

Taula 48. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de TNF-α i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de la sessió d'entrenament CC.

Sessió de CC n=5	TNF-α Pre-Post (%Δ)	TNF-α Pre-1h (%Δ)	TNF-α Pre-3h (%Δ)
CRP Pre-Post-1h-3h (%Δ)	NS	r=0,90 p=0,04	NS
SAA Pre-1h-3h (%Δ)	NS	r=0,90 p=0,04	NS
Limfòcits Pre-Post (%Δ)	NS	r=0,90 p=0,04	NS
Cortisol Pre-1h (%Δ)	r=0,90 p=0,04	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ) per a la sessió de CC. NS: no significatiu; Pre: inici; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació; IL-10: citocina 10; TNF-α: factor de necrosi tumoral alfa; CRP: proteïna C reactiva; SAA: amiloide sèric A.

Els canvis de les concentracions plasmàtiques de TNF-α es correlacionen positivament amb el creixement dels leucòcits i neutròfils circulants als 60 minuts de recuperació. A més, com s'ha

indicat anteriorment, existeix una associació lineal significativa entre els canvis dels nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$  i els de IL-6 (Taula 43 i Taula 44), IL-10 (Taula 45), IL-8 (Taula 46). A més també s'han detectat associacions significatives amb les variacions de cortisol, CRP i SAA en plasma (Taula 47)

Si es tenen en compte les sessions d'entrenament de forma independent, les fluctuacions de la concentració de TNF- $\alpha$  registrades després de la sessió de CC també es relacionen significativament amb els canvis de les concentracions plasmàtiques de paràmetres pro i anti-inflamatoris (CRP, SAA, IL-10), endocrins (cortisol), o hematològics (limfòcits) (Taula 48).

#### 4.4.5 Índex d'inflamació

L'exercici físic va ocasionar un ascens de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  que es va mantenir elevat als 60 minuts de recuperació. Aquesta evolució va ser similar en ambdues sessions (efecte sessió,  $p=0,22$ ; efecte temps,  $p=0,001$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,72$ ; 2-way ANOVA) (Figura 68).

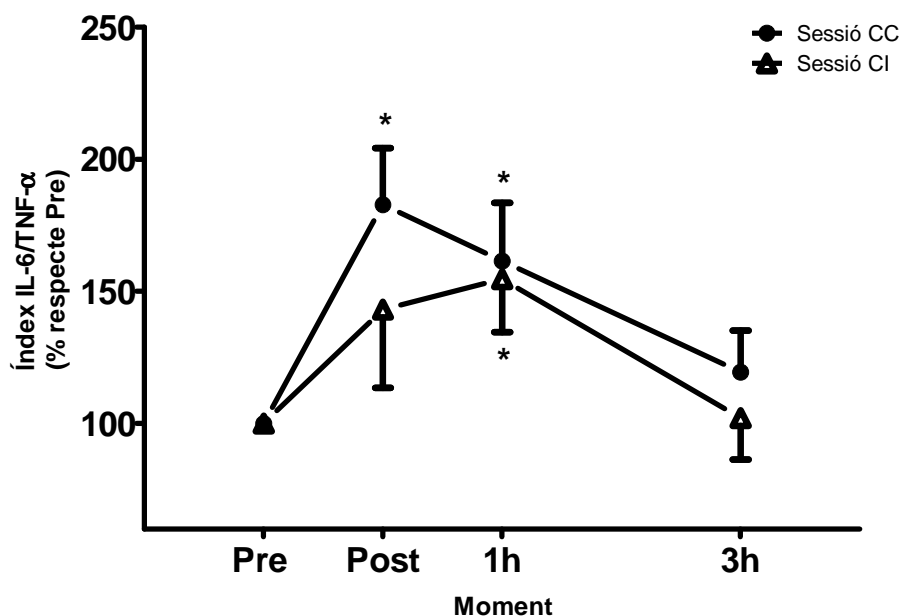


Figura 68. Evolució de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=5).

Les dades son expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Els valors de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  previs a l'esforç varen ser de  $0,35 \text{ pg}\cdot\text{pg}^{-1}$  (IC95%:  $0,15$  a  $0,55 \text{ pg}\cdot\text{pg}^{-1}$ ) per a la sessió de CC i de  $0,36 \text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$  (IC95%:  $0,20$  a  $0,51 \text{ pg}\cdot\text{pg}^{-1}$ ) per a la sessió de CI. IL-6: citocina 6; TNF- $\alpha$ : factor de necrosi tumoral  $\alpha$ ; Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió, post: immediatament després de la sessió, 1h: als 60 minuts de recuperació, 3h: als 180 minuts de recuperació.

\*  $p < 0,05$ , significativament diferent respecte al moment Pre per a la sessió de CC o B (Test de Wilcoxon).#  $p < 0,05$ , significativament diferent entre sessions (Test de Mann-Whitney).

Considerant cada sessió de forma independent es confirma que l'esforç físic indueix un creixement de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  (Figura 68) que és estadísticament significatiu immediatament, després de la sessió de CC (mitjana  $\Delta$ : +0,18 pg·pg<sup>-1</sup>; IC95%: 0,05 a 0,31 pg·pg<sup>-1</sup>; p= 0,017; Wilcoxon) i als 60 minuts de la recuperació de les dues sessions (p=0,05 i p=0,036 per a la sessió CC i CI respectivament; Wilcoxon).

Tal com mostren la Taula 49 i la Figura 69, l'evolució de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  s'associa de forma significativa i positiva amb els del recompte de limfòcits en sang, i de forma significativa i negativa amb els canvis de les concentracions de cortisol plasmàtic.

Taula 49. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  i els de diversos paràmetres hematològics i endocrins en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	Índex IL-6/TNF- $\alpha$ Pre-Post (% $\Delta$ )	Índex IL-6/TNF- $\alpha$ Pre-1h (% $\Delta$ )	Índex IL-6/TNF- $\alpha$ Pre-3h (% $\Delta$ )
Limfòcits Pre-1h (% $\Delta$ )	r=0,66 p=0,04	r=0,81 p=0,01	r=0,74 p=0,04
Cortisol Pre-Post (% $\Delta$ )	r=-0,73 p=0,06	r=-0,76 p=0,011	r=-0,86 p=0,05
Cortisol Pre-1h (% $\Delta$ )	r=-0,65 p=0,013	NS	r=-0,86 p=0,005

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (% $\Delta$ ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS: no significatiu; Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió, post: immediatament després de la sessió, 1h: als 60 minuts de recuperació, 3h: als 180 minuts de recuperació; IL-6: citocina 6; TNF- $\alpha$ : factor de necrosi tumoral.

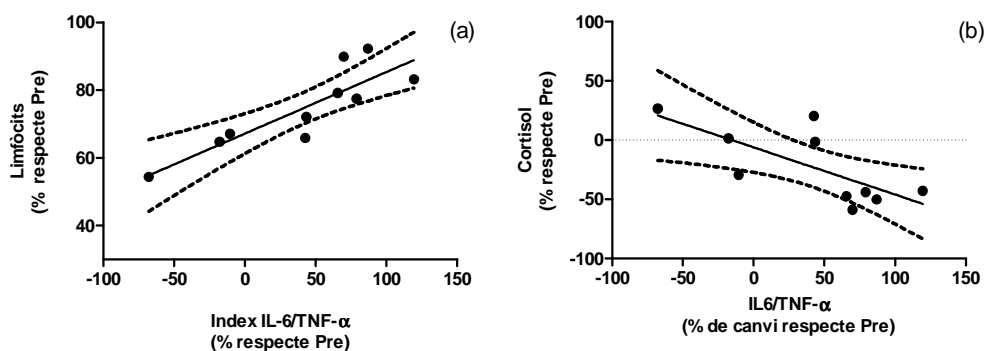


Figura 69. Relació entre els canvis de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  i els del nombre de limfòcits (a) o els de cortisol plasmàtic (b) als 60 minuts de recuperació de l'esforç físic (n=10).

Les dades s'expressen amb el percentatge de canvi respecte als valors previs a l'esforç (Pre). La regressió lineal és de  $y=67,2 + 0,18x$ ;  $R^2= 0,74$ ;  $p<0,0013$  per a (a); i de  $y=-6,2 - 0,40x$ ;  $R^2= 0,52$ ;  $p<0,018$  per a (b).

Els valors de l'índex IL-6/TNF- $\alpha$  registrats abans de l'esforç (per a les dues sessions conjuntament) varen ser de 0,42 pg·pg<sup>-1</sup> (IC95%: 0,28 a 0,56 pg·pg<sup>-1</sup>), els del recompte de limfòcits de 2,5 cèl·103· $\mu$ L<sup>-1</sup> (IC95%: 2,3 a 2,8 cèl·103· $\mu$ L<sup>-1</sup>) i els de cortisol plasmàtic de 660 nmol·L<sup>-1</sup> (IC95%: 555,6 a 762,6 nmol·L<sup>-1</sup>).

Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió, 1h: als 60 minuts de recuperació; IL-6: citocina 6; TNF- $\alpha$ : factor de necrosi tumoral  $\alpha$ .



#### 4.4.6 Proteïna C reactiva

En les dues sessions conjuntament, l'exercici físic no va tenir un efecte significatiu sobre la CRP en plasma (Figura 67 e), per contra, els canvis de les concentracions plasmàtiques de CRP es varen veure afectats per la naturalesa de la sessió, ja que l'evolució respecte al temps va ser diferent en les dues sessions (efecte sessió  $p=0,02$ ; efecte temps,  $p=0,50$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,08$ ; 2-way ANOVA). Inmediatament després de la cursa contínua els nivells plasmàtics de CRP varen augmentar, i després de la cursa en intervals varen disminuir lleugerament. Aquesta diferència va ser estadísticament significativa (mitjana:  $0,29 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $0,06$  a  $0,52 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,02$ ; Mann-Whitney).

La concentració inicial de proteïna C reactiva (CRP) va ser de  $0,46 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,34$  a  $0,58 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CC, i de  $0,41 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,19$  a  $0,63 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CI. Com es mostra a la Figura 67 (e), immediatament després de la sessió de CC els nivells plasmàtics varen incrementar en  $0,28 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,06$  a  $0,50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,05$ ; Wilcoxon) i varen tendir a mantenir-se elevats als 60 minuts de recuperació.

A la sessió de CI la concentració de CRP en plasma va disminuir significativament després de l'esforç. Però als 60 minuts de recuperació les concentracions plasmàtiques de CRP eren semblants a les inicials.

Taula 50. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'IL-10 i els de diversos paràmetres hematològics, endocrins i bioquímics en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	CRP Pre-Post (%Δ)	CRP Pre-1h (%Δ)	CRP Pre-3h (%Δ)
Cortisol Pre-3h (%Δ)	NS	NS	$r=0,75$ $p=0,03$
SAA Pre-Post (%Δ)	$r=0,82$ $p=0,004$	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS= no significatiu; Sessió de CC: cursa contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: cursa en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual; Pre: inici; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació; SAA: amiloide A sèric; CRP: proteïna C reactiva..

Considerant les dues sessions conjuntament, els canvis observats en les concentracions plasmàtiques de CRP a conseqüència de l'exercici físic, mostren associacions significatives amb alguns canvis endocrins i amb els de SAA (Taula 50). També s'ha detectat una associació lineal positiva amb els canvis de la concentració de IL-6 (Taula 44), IL-10 (Taula 45) i TNF- $\alpha$  (Taula 47).

#### 4.4.7 Amiloide A sèric

La concentració inicial de amiloide A sèric (SAA) va ser de  $1,85 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,83$  a  $2,86 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de CC, i de  $1,15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (IC95%:  $0,67$  a  $1,64 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) per a la sessió de

CI. Els nivells inicials eren similars per a les dues sessions, mentre que, com s'evidencia a la Figura 67 (f), l'evolució de la concentració de SAA en plasma va tendir a ser lleugerament diferent segons la sessió (efecte sessió,  $p=0,95$ ; efecte temps,  $p=0,19$ ; no interacció temps-sessió,  $p=0,35$ ; 2-way ANOVA).

Després de la sessió de CC aquest paràmetre no es va modificar, mentre que per contra va disminuir significativament després de la sessió de CI (mitjana:  $-0,30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; IC95%:  $-0,65$  a  $0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ;  $p=0,036$ ; Wilcoxon). Al cap d'una hora de recuperació de la sessió de CC i de la de CI els nivells plasmàtics de SAA eren semblants als inicials.

Com s'ha indicat a les Taules 47, 48 i 50, les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques de SAA es relacionen positivament amb els canvis de les de TNF- $\alpha$  i de CRP. A més, les variacions de SAA també mostren una associació significativa amb els canvis del recompte de leucòcits i neutròfils circulants i amb els de les concentracions plasmàtiques de cortisol (Taula 51).

Taula 51. Correlacions bivariabls entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques de SAA i els de diversos paràmetres hematològics i endocrins en la recuperació de les sessions d'entrenament CC i CI agrupades.

Sessió (CC + CI) n=10	SAA Pre-Post (% $\Delta$ )	SAA Pre-1h (% $\Delta$ )	SAA Pre-3h (% $\Delta$ )
Leucòcits Pre-3h (% $\Delta$ )	NS	NS	$r=0,88$ $p<0,001$
Neutròfils Pre-3h (% $\Delta$ )	NS	NS	$r=0,93$ $p<0,001$
Cortisol Pre-Post (% $\Delta$ )	$r=0,65$ $p=0,04$	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (% $\Delta$ ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS= no significatiu; Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT, vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió, post: immediatament després de la sessió, 1h: als 60 minuts de recuperació, 3h: als 180 minuts de recuperació; SAA: Amiloide A sèric.

## 4.5 Paràmetres d'estat redox

### 4.5.1 Àcid úric

La Figura 70 (a) mostra l'evolució dels nivells d'àcid úric en plasma al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació. Els valors inicials són similars en les dues sessions i es situen en el rang de la normalitat ( $3-7 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  pels homes i  $2-6 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  per les dones). L'anàlisi de la variància no va detectar diferències significatives del patró evolutiu de les concentracions d'àcid úric en plasma entre sessions, però va mostrar un efecte significatiu atribuïble a l'exercici físic i la seva recuperació (efecte sessió,  $p=0,56$ ; efecte temps,  $p=0,0005$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,66$ ; 2-way ANOVA). En ambdues sessions es va apreciar un lleuger increment de

les concentracions plasmàtiques d'àcid úric al finalitzar l'esforç físic que es va mantenir durant la recuperació. A les 3 hores de recuperació de la sessió de carrera contínua, els nivells d'àcid úric en sang eren  $0,8 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%: de  $0,4$  a  $1,3 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ;  $p=0,01$ ; Wilcoxon) superiors als nivells inicials. Per a la sessió de CI l'increment a les 3 hores de recuperació va ser de  $1,1 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%: de  $0,4$  a  $1,9 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ;  $p=0,03$ ; Wilcoxon).

No existeixen diferències en l'evolució dels nivells plasmàtics d'àcid úric entre sessions, però sí entre els subgrups determinats pel nivell de condició física. En el subgrup de participants amb excel·lent condició física, els increments d'àcid úric a les 3 hores de recuperació de la sessió de CC eren  $0,99 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$  (IC95%:  $0,45$  a  $1,52 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ ;  $p<0,05$ ; U Mann-Whitney) inferiors als mostrats pel subgrup amb bona condició física.

#### **4.5.2 Capacitat de reducció fèrrica del plasma**

A l'inici de les sessions, la capacitat de reducció fèrrica del plasma (FRAP) era de  $586,8 \mu\text{mols}$  equivalents de Trolox ( $\mu\text{MET}$ ) (IC95%: de  $549,6$  a  $623,9 \mu\text{MET}$ ) per a la sessió de CC i  $592,8 \mu\text{MET}$  (IC95%: de  $501,71$  a  $684,0 \mu\text{MET}$ ) per a la sessió de CI. En ambdues sessions, al finalitzar l'esforç físic es va observar una lleugera tendència al creixement de les concentracions plasmàtiques de FRAP. Els canvis no varen assolir nivells de significació estadística (efecte sessió,  $p=0,94$ ; efecte temps,  $p=0,55$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,52$ ; 2-way ANOVA)

Tampoc es varen detectar diferències estadísticament significatives en els valors inicials, ni en l'evolució dels nivells plasmàtics de FRAP entre les dues sessions (Figura 70 b), ni entre els participants amb bona i excel·lent condició física.

Tal com s'aprecia a les Taules 52, 53 i 54, immediatament després de l'esforç i en la primera hora de recuperació, l'evolució de la capacitat antioxidant és paral·lela a les modificacions de les concentracions plasmàtiques de l'àcid úric. Per a les dues sessions, l'associació entre els canvis dels dos paràmetres antioxidants és moderada però estadísticament significativa ( $p<0,05$ ). Per contra, no existeix correlació significativa entre els nivells plasmàtics d'àcid úric i FRAP en repòs.

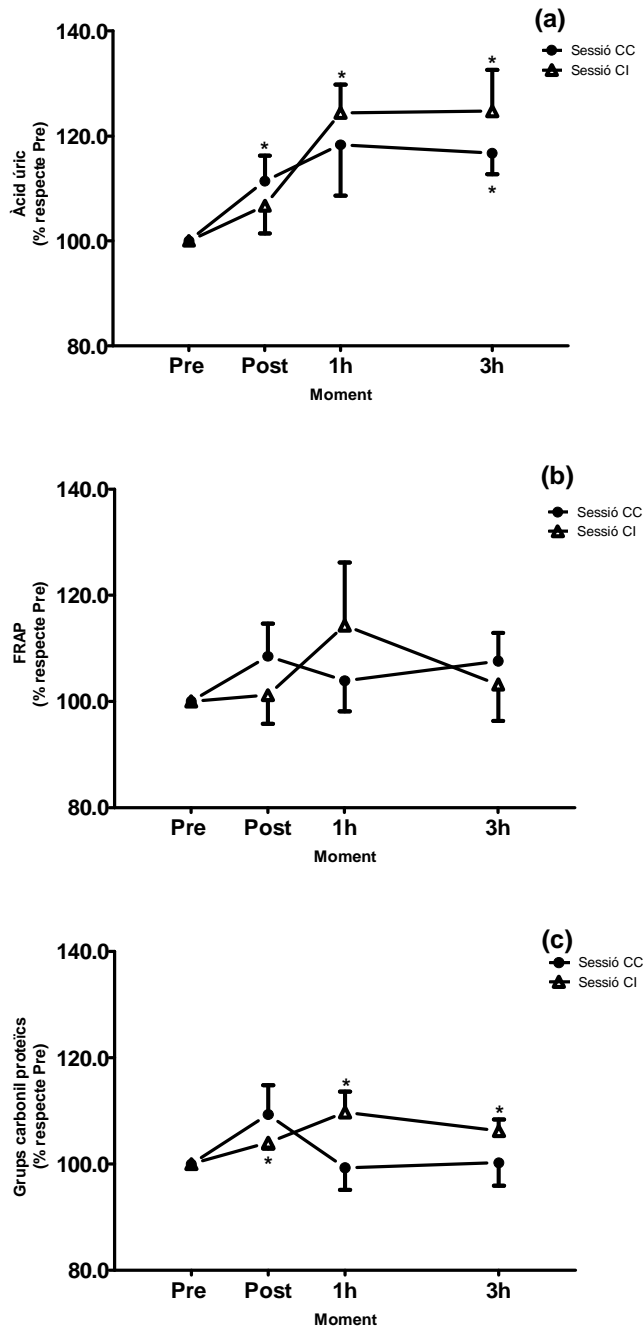


Figura 70. Evolució de la concentració plasmàtica d'àcid úric, FRAP i grups carbonils proteics al llarg de les dues sessions d'entrenament i la seva recuperació (n=10).

Les dades son expressades amb la mitjana i l'error estàndard del percentatge respecte als valors previs a l'esforç (Pre). Les concentracions d'àcid úric registrades abans de l'esforç varen ser de 4,93 mg.dL-1 (IC95%: de 4,26 a 5,59 mg.dL-1); 586,77 μmols equivalents de Trolox (μMET) (IC95%: de 549,60 a 623,94 μMET); 0,700 A492nm (IC95%: de 0,512 a 0,887 A492nm) per a la sessió de CC; i de 4,66 mg.dL-1 (IC95%: de 4,07 a 5,24 mg.dL-1); 592,83 μMET (IC95%: de 501,71 a 683,96 μMET); 0,643 A492nm (IC95%: de 0,407 a 0,819 A492nm) per a la sessió de CI.

Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT, Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT; vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió, post: immediatament després de la sessió, 1h: als 60 minuts de recuperació, 3h: als 180 minuts de recuperació; FRAP: capacitat de reducció fèrrica del plasma.

\* p < 0,05, significativament diferent respecte al moment pre per a la sessió de CC o B (Test de Wilcoxon).

# p < 0,05, significativament diferent entre sessions (Test de Wilcoxon).

### 4.5.3 Grups carbonil proteics

A causa de les limitacions metodològiques, derivades dels problemes d'interpretació de les rectes patró, i de la impossibilitat de repetir la tècnica analítica per l'exhauriment dels espècimens de plasma, s'ha optat per expressar de forma indirecta la presència de grups carbonils en les proteïnes plasmàtiques, ja que totes les mostres corresponents a cada participant varen ser analitzades sempre el mateix dia i en la mateixa placa. L'absorbància a 492 nm reflecteix la immunoreactivitat per a grups carbonil, i aquesta és directament proporcional a la concentració de grups carbonil. Per tant és possible valorar els efectes produïts per les sessions d'entrenament a partir dels canvis observats en l'absorbància a 492 nm ( $A_{492nm}$ ).

Immediatament després de les dues sessions d'entrenament es va registrar un creixement de la immunoreactivitat per grups carbonil (Figura 70 c). A la sessió de carrera contínua (sessió de CC) l'increment no és estadísticament significatiu, tot i que s'observa clarament una tendència a l'augment. A la resta de mostres preses al llarg de les 3 primeres hores de recuperació d'aquesta sessió tampoc s'aprecien modificacions de la immunoreactivitat enfront a carbonils respecte als valors inicials. Per contra a la sessió de CI, de carrera en intervals, immediatament després del esforç es va produir un augment, discret, però estadísticament significatiu de la immunoreactivitat per a grups carbonil proteics en plasma (mitjana:  $0,026 A_{492nm}$ ; IC95%:  $0,008$  a  $0,04 A_{492nm}$ ;  $p=0,007$ , Wilcoxon), que es va accentuar als 60 minuts de recuperació (mitjana:  $0,06 A_{492nm}$ ; IC95%:  $0,003$  a  $0,125 A_{492nm}$ ;  $p=0,022$ , Wilcoxon). A les 3 hores encara es varen detectar nivells lleugerament elevats respecte als valors de repòs (mitjana:  $0,03 A_{492nm}$ ; IC95%:  $0,002$  a  $0,067 A_{492nm}$ ;  $p=0,047$ , Wilcoxon). Als 60 minuts de recuperació de l'esforç de la sessió de CI, els participants amb condició física excel·lent varen presentar variacions de la immunoreactivitat per carbonils un 14,43% menors (IC9%:  $-29,8$  a  $-0,82\%$ ;  $p<0,05$ ; Mann-Whitney) que els participants amb bona condició física.

En l'anàlisi comparatiu entre les dues sessions no s'aprecien diferències significatives entre l'evolució de cadascuna d'elles. Així, si es consideren les dues sessions com un conjunt, només es detecta un creixement significatiu de la immunoreactivitat a grups carbonil immediatament després de l'esforç. Durant la recuperació, no hi ha diferències estadísticament significatives respecte als nivells inicials (efecte sessió,  $p=0,23$ ; efecte temps,  $p=0,24$ ; interacció temps-sessió,  $p=0,10$ ; 2-way ANOVA)

Els canvis registrats en l'absorbància a 492 nm immediatament després de l'esforç són de poca magnitud. Tot i això, com s'indica a la Taula 54, la diferència de l'absorbància registrada entre el moment inicial i als 60 minuts de recuperació es correlaciona positivament, i significativament, amb les fluctuacions dels nivells plasmàtics d'àcid úric, de FRAP i dels leucòcits i neutròfils registrades també als 60 minuts després de les sessions. No obstant, la potència de l'associació és moderada.

Taula 52. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i FRAP, com elements antioxidants; i dels canvis de nivells plasmàtics de immunoreactivitat per a grups carbonils, com indicadors de dany oxidatiu per a la sessió de CC.

Sessió de CC n=10	FRAP Pre-Post (%Δ)	FRAP Pre-1h (%Δ)	FRAP Pre-3h (%Δ)
Àcid úric Pre-Post (%Δ)	r=0,73 p=0,017	NS	r=0,69 p=0,028
Àcid úric Pre-1h (%Δ)	NS	r=0,69 p=0,025	NS
Àcid úric Pre-3h (%Δ)	NS	NS	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT; vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació; FRAP = capacitat de reducció fèrrica del plasma.

Taula 53. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i FRAP, com elements antioxidants; i dels canvis de nivells plasmàtics de immunoreactivitat per a grups carbonils, com indicadors de dany oxidatiu per a la sessió de CI.

Sessió de CI n=10	FRAP Pre-Post (%Δ)	FRAP Pre-1h (%Δ)	FRAP Pre-3h (%Δ)
Àcid úric Pre-Post (%Δ)	NS	r=0,82 p=0,003	NS
Àcid úric Pre-1h (%Δ)	NS	r=0,79 p=0,006	NS
Àcid úric Pre-3h (%Δ)	NS	NS	r=0,73 p=0,02

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ). NS= no significatiu; Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT; vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual; Pre= inici; 1h= als 60 minuts de recuperació; 3h= als 180 minuts de recuperació; FRAP = capacitat de reducció fèrrica del plasma.

Taula 54. Correlacions bivariables entre els canvis registrats en les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i FRAP, com elements antioxidants; i dels canvis de nivells plasmàtics de immunoreactivitat per a grups carbonils, com indicadors de dany oxidatiu per a les dues sessions agrupades (CC+CI).

Sessió (CC + CI) n=20	PC=O Pre-1h (%Δ)	PC=O Pre-3h (%Δ)
Àcid úric Pre-1h (%Δ)	r=0,45 p=0,05	r=0,46 p=0,04
FRAP Pre-1h (%Δ)	r=0,55 p=0,01	NS
Leucòcits Pre-1h (%Δ)	r=0,47 p=0,03	NS
Neutròfils Pre-1h (%Δ)	r=0,48 p=0,03	NS

Per a la correlació de Pearson s'ha considerat el percentatge de canvi respecte a la concentració inicial (%Δ) i les dues sessions agrupades en una sola (CC+CI). NS= no significatiu; Sessió de CC: carrera contínua al 90% de la vIAT; Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT; vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual; Pre: inici; 1h: als 60 minuts de recuperació; 3h: als 180 minuts de recuperació; FRAP: capacitat de reducció fèrrica del plasma; PC=O: grups carbonil proteics.

## 4.6 Metabolòmica no dirigida

L'estudi del metaboloma plasmàtic abans e immediatament després de les dues sessions d'entrenament posa en evidència que existeixen trets diferencials entre les diverses situacions analitzades (Figures 71 a 74).

### 4.6.1 Sessió de cursa contínua a moderada intensitat

La construcció d'un model a partir de l'anàlisi de components principals (PCA) ressaltava l'agrupació dels punts segons els clústers determinats pel moment de les extraccions (Figura 71). En aquest model i en mode positiu, el component principal explica el 61,06% de la variació, el component principal 2 el 8,57% i el component principal 3 el 6,19%. En mode negatiu és del 67,05%, 7,62% i 5,88% respectivament.

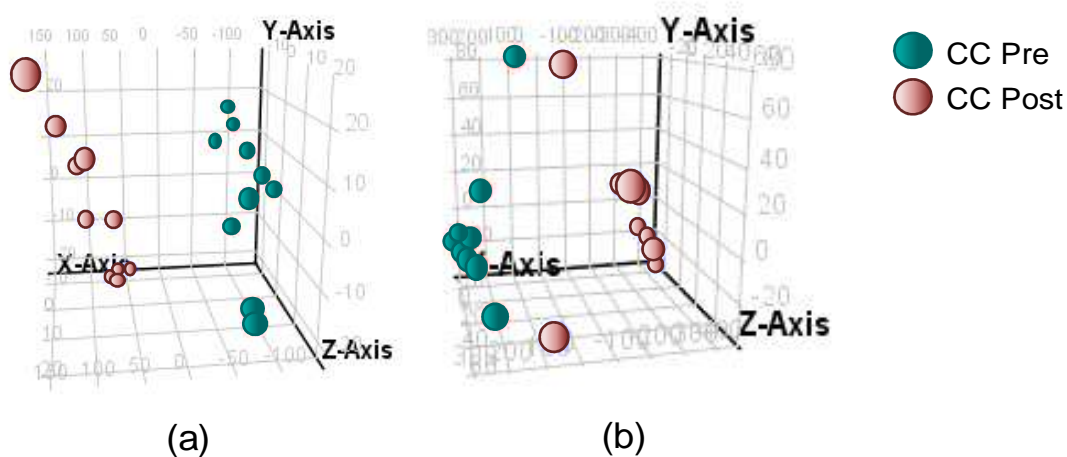


Figura 71. Anàlisi de components principals (PCA) dels metabolomes plasmàtics inicials e immediatament posteriors a la sessió de CC (n=10).

La figura mostra diverses perspectives dels resultats de l'anàlisi del metaboloma realitzada amb ionització positiva (a), i amb ionització negativa (b).

Sessió de CC, carrera contínua al 90% de la vIAT; vIAT: velocitat del llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió. X-Axis (Eix x): component principal 1, Y-Axis (Eix y): component principal 2; Z-Axis (Eix z): component principal 3.

Com mostra la Figura 72, l'elaboració d'un model a partir de l'anàlisi de PLS-DA (*Partial Least Discriminate Analysis*) permet accentuar la separació entre els metabolomes de les distintes situacions analitzades.

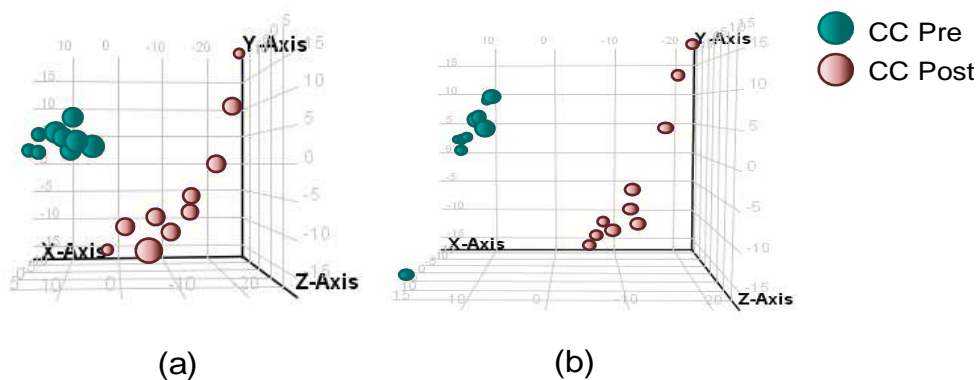


Figura 72. Anàlisi de PLS-DA realitzat entre els metabolomes plasmàtics obtinguts abans e immediatament després de la sessió d'entrenament de CC (n=10).

La figura mostra diverses perspectives dels resultats de l'anàlisi del metaboloma realitzada amb ionització positiva (a), i amb ionització negativa (b). La precisió era de 1 i 0,95 respectivament.

Sessió de CC, carrera contínua al 90% de la vIAT; vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió. X-Axis (Eix x): component PLS-DA 1, Y-Axis (Eix y): component PLS-DA 2; Z-Axis (Eix z): component PLS-DA 3.

Per a les comparances entre el metaboloma plasmàtic previ e immediatament posterior a la sessió de carrera contínua (sessió de CC) s'han determinat 69266 (mode positiu) i 4090 (mode negatiu) molècules; de les quals se n'han apreciat 1408 i 643 respectivament, que són presents en el 75% de les mostres.

D'aquestes, 33 (en mode positiu) i 88 (en mode negatiu) mostren característiques diferencials significatives ( $p < 0,05$ ; T Student) i que superen el llindar mínim de canvi ( $\times 2$ ), entre la situació prèvia (CC Pre) i la posterior (CC Post) a l'esforç físic.

A partir de la cerca en les bases de dades metabolòmiques emprant la massa exacta i el temps de retenció; de les 121 molècules diferencials entre els grups CC Pre i CC Post (Taula 55), en 44 casos se n'han pogut suggerir presumptes candidats; 30 dels quals augmenten a posteriori de l'esforç físic, i 14 disminueixen.

Assumint com a possibles les molècules identificades, entre les que mostren un creixement dominen clarament els compostos lipídics (Annex 9.5. Taula 1), com àcids grassos saturats i àcids grassos mono o poli-insaturats, derivats octanoids i eicosanoides, glicero-fosfolípids, acils-carnitina, i acil-glicerols (diglicèrids (DG) i triglicèrids (TG)). També augmenten significativament alguns compostos que podrien ser nucleòtids, e intermediaris del cicle de Krebs.

Taula 55. Nombre de molècules diferencials entre els metabolomes previ (CC Pre) i posterior (CC Post) a la sessió d'entrenament de carrera contínua.

Ionització	Augmenten respecte CC Pre n (*)	Disminueixen respecte CC Pre n (*)	Total (n)
positiva	13 (10)	20 (8)	33
negativa	62 (20)	26 (6)	88



n: recompte global; (\*): indica el nombre de molècules a les quals es podria assignar un possible compost. CC: Sessió de carrera contínua; CI: sessió de carrera en intervals; Pre: abans de la sessió.

Entre les molècules que disminueixen, també són majoria els lípids, en particular, glicero-fosfolípids i eicosanoides. No obstant, també s'han identificat com a possibles, altres molècules relacionades amb el metabolisme dels nucleòtids, dels carbohidrats i de la taurina (Annex 9.5. Taula 2).

#### 4.6.2 Sessió de cursa en intervals i alta intensitat

En aquesta sessió, el model que s'obté a partir de l'anàlisi de components principals (PCA) ressaltava l'agrupació dels punts segons els clústers determinats pel moment de les extraccions (Figura 73). En aquest model i en mode positiu, el component principal explica el 70,71% de la variació, el component principal 2 el 5,91% i el component principal 3 el 3,94%. En mode negatiu és del 64,6%, 9,78% i 6,88% respectivament.

També en aquest cas, l'elaboració d'un model a partir de l'anàlisi de PLS-DA també permet accentuar la separació entre els metabolomes plasmàtics de les distintes situacions analitzades (Figura 74).

En aquesta sessió, per a les comparances entre el metaboloma plasmàtic previ e immediatament posterior a la sessió de carrera en intervals s'han determinat 67797 (mode positiu) i 2932 (mode negatiu) molècules; de les quals se n'han descobert 1391 i 648 respectivament, que són presents en el 75% de les mostres. D'aquestes, 49 (en mode positiu) i 12 (en mode negatiu) mostren trets diferencials significatius ( $p < 0,05$ ; T Student) i que superen el llindar mínim de canvi ( $\times 2$ ), entre la situació prèvia a l'exercici i la posterior a l'esforç (Taula 56).

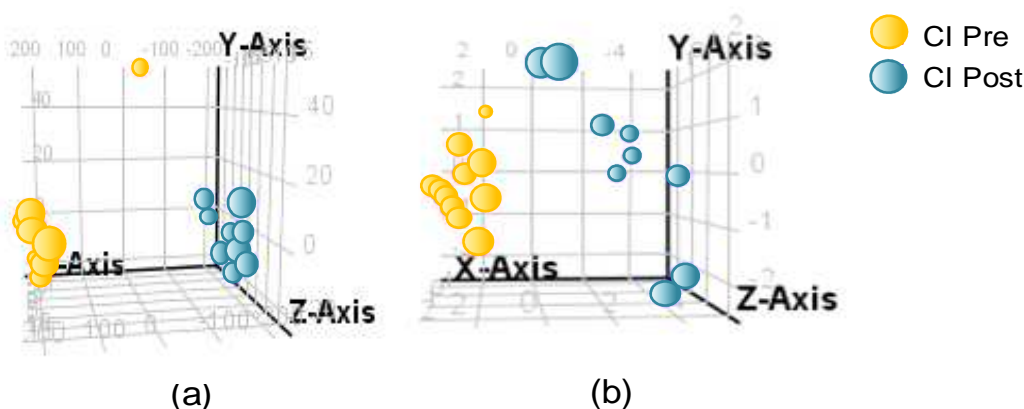


Figura 73. Anàlisi de components principals (PCA) dels metabolomes plasmàtics inicials e immediatament posteriors a la sessió de CI ( $n=10$ ).

La figura mostra diverses perspectives dels resultats de l'anàlisi realitzada amb ionització positiva (a), i amb ionització negativa (b).

Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT; vIAT: velocitat del llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió. X-Axis (Eix x): component principal 1, Y-Axis (Eix y): component principal 2; Z-Axis (Eix z): component principal 3.

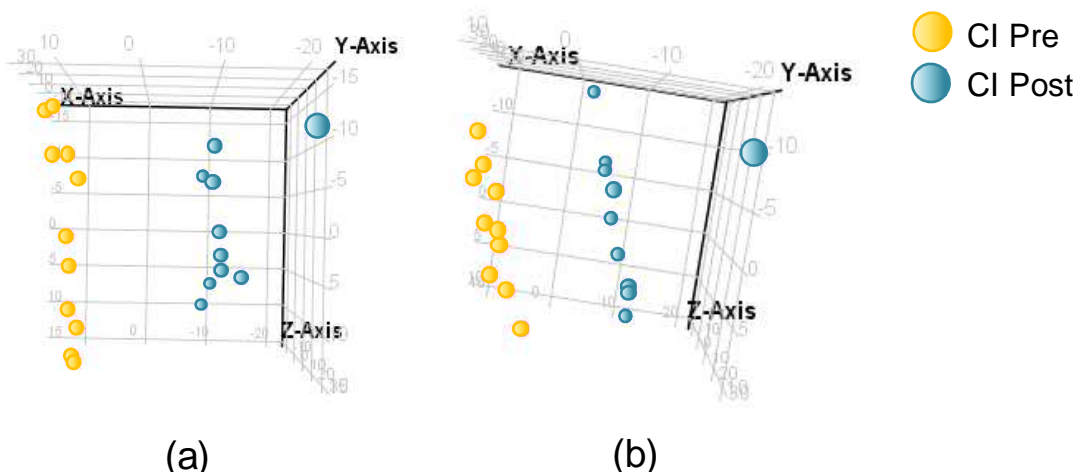


Figura 74. Anàlisi de PLS-DA realitzat entre els metabolomes plasmàtics obtinguts abans e immediatament després de la sessió d'entrenament de CI (n=10).

La figura mostra diverses perspectives dels resultats de l'anàlisi realitzada amb ionització positiva (a), i amb ionització negativa (b). La precisió era de 0,85 i 0,95 respectivament. Sessió de CI: carrera en intervals al 105% de la vIAT; vIAT: velocitat que correspon al llindar anaeròbic individual. Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió. X-Axis (Eix x): component PLS-DA 1, Y-Axis (Eix y): component PLS-DA 2; Z-Axis (Eix z): component PLS-DA 3.

Taula 56. Nombre de molècules diferencials entre els metabolomes previ (CI Pre) i posterior (CI Post) a la sessió d'entrenament de carrera en intervals

Ionització	Augmenten respecte CI Pre n (*)	Disminueixen respecte CI Pre n (*)	Total (n)
positiva	13 (7)	36 (12)	49
negativa	10 (7)	2 (1)	12

n: recompte global; (\*): indica el nombre de molècules a les quals es podria assignar un possible compost. CI: sessió de carrera en intervals; Pre: abans de la sessió.

A partir de la cerca en les bases de dades metabolòmiques emprant la massa exacta, de les 61 molècules diferencials entre el metaboloma plasmàtic previ a la sessió de CI d'entrenament i el posterior a la mateixa se n'han "identificat" 27 presumptes candidates; 14 de les quals augmenten a posteriori de l'esforç físic, i 13 disminueixen.

Com a la sessió de CI, entre les possibles molècules candidates que s'eleven també dominen els lípids, especialment els àcids grassos, mono o poli-insaturats (Annex 9.5. Taula 3). Mentre que entre els compostos candidats de les que disminueixen després de la sessió de CI dominen els glicero-fosfolípids, però també hi ha algun acilglicerol (DG, TG) i esfingolípids (Annex 9.5. Taula 4).

Dels presumptes compostos candidats de les molècules diferencials del metaboloma en resposta a les activitats físiques analitzades, n'hi ha 6, tots ells de característiques lipídiques que augmenten després de les dues sessions d'entrenament (Taula 57). En general el creixement és superior després de la sessió de CC.

Taula 57. Masses moleculars diferencials entre els metabolomes previ i posterior a les dues sessions d'entrenament i compostos candidats associats

Massa exacta	Compost possible candidat	Augment Respecte CC Pre (x n)	Augment Respecte CI Pre (x n)	Classe
203,1151	L-Acetilcarnitina	2,2	2,6	ACETILCARNITINA
226,1932	Miristoleic acid	5439,5	1300,1	MUFA
254,2249	Palmitoleic acid	7,7	3,4	MUFA
278,1884	$\alpha$ -linoleic/linoelaidic	1303,4	2,7	PUFA $\omega$ 3/ $\omega$ 6
280,2396	Linoleic/linoelaidic	3,8	2,4	PUFA
282,2559	Oleic/elaidic	6,3	2,6	MUFA

CC: Sessió de carrera contínua; CI: sessió de carrera en intervals; Pre: abans de la sessió.

#### 4.6.3 Meta-anàlisi (MetaXCMS)

L'anàlisi de 2on ordre, o meta-anàlisi, dels metabolomes de les diferents situacions analitzades amb el paquet informàtic XCMS permet contrastar, entre les dues sessions d'entrenament, les principals molècules alterades per l'exercici físic.

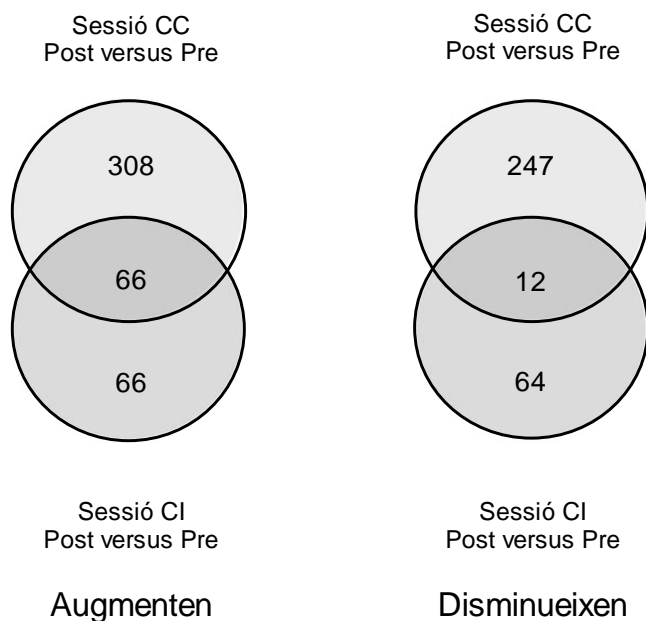


Figura 75. Diagrama de Veen que representa el nombre de molècules que es modifiquen amb l'exercici físic segons l'anàlisi de 2on ordre metaXCMS.

CC: Sessió de carrera contínua; CI: sessió de carrera en intervals; Pre: abans de la sessió; Post: immediatament després de la sessió.

Com s'aprecia a la Figura 75, de les molècules que es modifiquen després de la sessió d'entrenament de CC i CI, n'hi ha 66 que augmenten i 12 que disminueixen en ambdues sessions (Annex 9.6, pàgina 316), mentre que són més nombroses les que es modifiquen de manera diferenciada per a cada sessió: 555 per a la sessió de CC i 130 per a la CI.

## **5 Discussió**



Com s'ha indicat anteriorment (Apartat 1.1.3, pàgina 40) les dades dels estudis longitudinals suggereixen que l'EAI és efectiu per a millorar tant la forma física, com diversos paràmetres funcionals cardíacs o el metabolisme energètic, i reduir el risc cardíoc-vascular. Tanmateix, la resposta fisiològica aguda a l'esforç físic efectuat durant les sessions d'entrenament aeròbic en intervals ha rebut menys atenció. Per tal d'aprofundir en els efectes aguts de l'exercici físic en intervals, particularment, en intervals de mitjana durada i d'intensitat inferior al 100%VO<sub>2max</sub>, s'ha plantejat aquest estudi en el qual es fa especial referència a les modificacions de la circulació de cèl·lules del sistema immune, de les concentracions plasmàtiques de paràmetres endocrins, pro i anti-inflamatoris e indicadors de l'estat redox, i del metaboloma plasmàtic, com aproximació globalitzadora.

La finalitat de l'estudi és valorar i comparar les fluctuacions d'aquests biomarcadors de l'adaptació fisiològica immediata i de les primeres hores de recuperació de dues sessions d'entrenament que es diferencien per la intensitat i dinàmica de la distribució de l'esforç físic dins la sessió.

## 5.1 Sessions d'entrenament

Segons la classificació de les activitats físiques proposada per Shephard (1999), la sessió d'entrenament de carrera contínua (CC) pot catalogar-se com una activitat física mantinguda (de 35 a 90 minuts) de caràcter continu i de moderada intensitat. L'altra, la sessió de carrera en intervals (CI), pel seu caràcter alternant podria incloure's en la categoria d'activitats en intervals. En aquest cas, els intervals eren de mitjana durada i d'elevada intensitat.

Les accions motrius de les dues sessions varen ser iguals o molt semblants. El gest tècnic de la cursa comporta accions musculars de tipus concèntric, excèntric e isomètric de predomini en l'extremitat inferior. La gambada és una acció motriu cíclica, que consta d'una fase principal, d'impulsió i vol; i una fase intermèdia, de recepció i recolzament (Lafortune, Valiant & McLean, 2000). Durant la fase d'impulsió les accions musculars fonamentals involucren la cadena cinètica extensora de l'extremitat inferior i són de naturalesa concèntrica. Per contra, en la recepció dominen les accions musculars excèntriques de frenada per evitar la caiguda a terra. La diferent velocitat de cursa de les dues sessions necessàriament repercuteix en la magnitud de la tensió desenvolupada a nivell dels músculs actius durant les fases d'impulsió i de recepció i podria explicar part de les diferències observades en el present estudi.

L'estímul d'entrenament o càrrega de la sessió es va quantificar mitjançant indicadors, com la suma de batecs i les unitats TRIMP d'acord a la metodologia emprada per Korcek (1980), Banister et al. (1991) i Lucia et al. (2003). Per a l'organisme, les dues sessions varen suposar una càrrega global similar. Així, segons la suma de batecs (Taula 58), les demandes de les sessions es situen en la zona metabòlica de caràcter mixt amb una càrrega global de grau moderat. Tot i això la sessió CI s'aproxima més a la zona metabòlica de caràcter anaeròbic que la CC.

Les unitats TRIMP, com a indicadors globals de la càrrega tampoc varen ser diferents entre les sessions, tot i la tendència en el present estudi a ser una mica superiors a la sessió de CC (Taula 35). Els valors observats són similars als registrats per Padilla, Mujika, Orbañanos & Angulo (2000) en proves ciclistes contra-rellotge curtes (28 km i 39 min; TRIMP: 77), e inferiors als de les contra-rellotge llargues (51 km i 66 minuts; TRIMP: 122) o de les cronoescalades (41 km i 75 minuts; TRIMP: 129).

Taula 58. Classificació de les activitats físiques segons la suma de batecs cardíacs

Zona metabòlica	FC mitjana (bpm)	Suma de batecs	Apreciació de la càrrega
<b>Aeròbica</b>	150	>18000	alta
		9000-17999	moderada
		< 8999	baixa
<b>Mixta</b>	165	>14850	alta
		<b>4950-14849</b>	<b>moderada</b>
		< 4950	baixa
<b>Anaeròbica</b>	180	>16200	alta
		5401-16199	moderada
		< 5400	baixa

FC: Freqüència cardíaca. (Adaptat de Korcek, 1980)

El volum de l'esforç, tant si es considera per mitjà del temps total de la sessió o de la distància recorreguda, també va ser igual per a les dues sessions, i es pot considerar moderat (Shephard, 1999). Així, els principals trets diferencials entre les sessions d'entrenament analitzades venen determinats per la intensitat i la distribució de l'esforç al llarg de les mateixes, i no per la valoració global de l'esforç físic. En conseqüència, les diferències en els paràmetres objectivats en aquest estudi s'hauran d'atribuir a aquests determinants de l'estímul d'entrenament.

Una de les característiques diferencials d'aquest estudi, respecte a altres estudis publicats és, tal com s'ha indicat en l'apartat Protocols d'exercici físic (pàgina 157), que la intensitat de l'esforç de les sessions d'entrenament es va establir en relació a la velocitat corresponent al llindar de lactat individual de cada participant, i no com un percentatge del seu  $VO_{2max}$ , o de la seva  $FC_{max}$ , com és habitual trobar en moltes publicacions. La determinació de la intensitat de l'esforç a partir del  $VO_{2max/pic}$ , es centra en el metabolisme oxidatiu, i no té en compte la contribució d'altres vies metabòliques. Existeixen evidències que suggereixen que l'exercitació a un percentatge donat del  $VO_{2max}$  no produeix les mateixes respostes fisiològiques en persones diferents. Per exemple, Mc Lellan & Gass (1989) varen observar que persones amb una condició càrdio-respiratòria semblant ( $VO_{2max}$  igual) presentaven perfils metabòlics diferents al executar un esforç físic a un mateix percentatge del seu  $VO_{2max}$ . També Baldwin, Snow & Febbraio (2000) també varen notar que al comparar la resposta a un esforç físic d'una intensitat equivalent al  $70\%VO_{2max}$ , entre persones sedentàries i persones entrenades, la

freqüència cardíaca, i diversos paràmetres bioquímics com les concentracions sèriques de lactat, amoni e hipoxantina, evolucionaven de forma distinta. Tot i fer l'esforç a una mateixa intensitat relativa al  $VO_{2max}$ , la resposta fisiològica de les persones no entrenades suggeria l'existència d'una major càrrega al·lostàtica que en les entrenades. Per contra, quan la intensitat de l'esforç s'establí en relació al llindar de lactat individual (95% IAT), els investigadors no varen detectar diferències significatives en la resposta fisiològica a l'esforç entre les persones sedentàries i les entrenades. Sembla doncs, que la resposta metabòlica a l'esforç no estaria relacionada exclusivament amb la magnitud de l'esforç físic i la seva relació amb el  $VO_{2max/pic}$ , assumció que s'ha emprat en aquest estudi

Segons Joyner & Coyle (2008) el grau de producció de lactat, com a reflex de l'estimulació glicolítica, pot descriure millor la capacitat de mantenir un esforç a un percentatge del  $VO_{2max}$ . Malgrat les limitacions degudes a la variabilitat inter e intra-individual de la cinètica de la lactacidèmia, la intensitat d'esforç que correspon al IAT es considera com un indicador objectiu de la capacitat de resistència, o de la capacitat per a mantenir un esforç a una intensitat elevada respecte al seu  $VO_{2max}$ . També es considera com un paràmetre apropiat per a determinar la intensitat de l'entrenament esportiu, malgrat les molèsties derivades de les extraccions de sang.

Des d'una perspectiva poblacional, la intensitat de l'esforç que correspon al IAT sol localitzar-se pròxima al 70-75% $VO_{2max}$ , però degut als determinants individuals, aquest percentatge és variable entre persones. Així, els resultats obtinguts per Meyer, Holger, Gabriel & Kindermann (1999) al examinar la relació entre la intensitat d'esforç equivalent al 75% $VO_{2max}$  i la del IAT, indiquen que a nivell individual existeix molta variabilitat, i que aquestes intensitats es situen en un rang relativament ampli respecte al  $VO_{2max}$ . Per exemple el 75% $VO_{2max}$  es pot trobar entre el 86 i 118% del IAT. Per tant al basar la determinació de les intensitats d'esforç en el  $VO_{2max}$  algunes persones es trobaran per sota del seu IAT mentre d'altres estaran per sobre.

A banda de les característiques individuals de cadascú, la relació % $VO_{2max}$ , o % $FC_{max}$ , i IAT també pot variar amb la condició física (Joyner & Coyle, 2008). Així, per a una persona entrenada, una intensitat del 80% $VO_{2max}$  pot ésser una intensitat moderada e inferior a la del IAT; mentre que per a una persona sedentària aquest mateix percentatge pot representar una intensitat molt elevada i que superi la del IAT. Per això, els canvis metabòlics induïts per l'exercici físic poden ser molt diferents en les dues persones, tot i exercitar-se al mateix percentatge respecte al  $VO_{2max}$ . De fet en els participants del present estudi, el IC95% del IAT expressat en percentatge del  $VO_{2pic}$  comprèn l'interval entre el 71,5% i 85,8% del  $VO_{2pic}$  (Taula 32). Així, tot i ser un grup bastant homogeni i en bona forma física, l'amplitud de l'interval de  $VO_{2pic}$  sembla recolzar l'ús del IAT com a paràmetre d'avaluació de la intensitat de l'exercici físic.

El perfil metabòlic muscular de l'activitat física és diferent segons si l'esforç es realitza a intensitats superiors o inferiors a la del llindar de lactat individual. Així, tal com mostra la Taula



59, les sessions d'entrenament realitzades es localitzen a la zona A2 o d'entrenament aeròbic extensiu (Sessió CC), i a la zona A4 o d'entrenament del llindar (Sessió CI).

Taula 59. Zones d'entrenament determinades a partir del llindar de lactat individual

Zona	Descripció	Zones de FC	Sensació esforç	Lactat (mmols·L <sup>-1</sup> )
A1	Recuperació	<75% FC <sub>IAT</sub>	Suau	<1,5
A2	Aeròbic extensiu	76-85% FC <sub>IAT</sub>	Confortable	1,5-3
<b>A3</b>	<b>Aeròbic intensiu</b>	<b>86-95% FC<sub>IAT</sub></b>	<b>Moderat</b>	<b>3,5-4</b>
<b>A4</b>	<b>Llindar</b>	<b>96-102% FC<sub>IAT</sub></b>	<b>Dur</b>	<b>4-7</b>
A5	Tolerància al lactat	103% FC <sub>IAT</sub>	Molt dur	>7
A6	VO <sub>2max</sub>	Màxim	Màxim	>7

FC= Freqüència cardíaca; IAT= Llindar anaeròbic individual; FC<sub>IAT</sub> = Freqüència cardíaca a la intensitat del IAT. Smith, Telford, Peltol & Tumilty (2000).

En pot doncs concloure que les dues sessions d'entrenament varen consistir en estímuls d'entrenament de càrrega mitjana i de durada global similar. Ambdues sessions es diferencien per la intensitat i distribució de l'esforç durant la sessió; la qual cosa repercuteix en el perfil metabòlic i la tensió muscular generada durant les accions musculars, segons s'ha objectivat en els paràmetres avaluats.

Els resultats indiquen que l'esforç físic, imposat per cadascuna de les dues sessions d'entrenament, va produir alteracions en les concentracions plasmàtiques de diversos paràmetres hematològics, endocrins, biomarcadors de l'estat d'inflamació i de l'estat redox, i del metaboloma plasmàtic.

## 5.2 Paràmetres hematològics

Els canvis de l'hematòcrit i de les concentracions de l'hemoglobina observats (Figura 61) suggereixen que durant les sessions d'entrenament va haver-hi una lleugera hemoconcentració transitòria, seguida d'una hemodilució, també transitòria, durant la recuperació.

Les modificacions de l'hematòcrit i de l'hemoglobina que apareixen a resultes de l'exercici físic s'atribueixen habitualment a una reducció del volum plasmàtic, a causa de les pèrdues d'aigua per la sudoració, o al desplaçament de líquid intravascular cap als compartiments extravasculars (El-Sayed, Ali & El-Sayed, 2005). A més, la mobilització dels leucòcits, o dels eritròcits, des de els seus reservoris (paret vascular, melsa, pulmons) podria afavorir la hemoconcentració (Laub, Hvid-Jacobsen & Hovind, 1993; Stewart & McKenzie, 2002). En el transcurs de les sessions, els participants no varen rehidratar-se, i per tant és molt probable

que part de la hemoconcentració fos deguda a la pèrdua d'aigua per la sudoració i la ventilació, tot i que la temperatura ambiental va ser molt confortable. Tot i això, en base als canvis de l'hematòcrit i de la concentració de la hemoglobina, la magnitud de l'hemoconcentració va ser poc important en comparació als canvis registrats per altres investigadors, i en situacions d'exercici físic diferents. Per exemple, Stewart & McKenzie (2002) varen apreciar un increment del 13% de l'hematòcrit en resposta a una prova submàxima-màxima progressiva de 60 minuts de durada realitzada en ambient calorós. Stepto et al. (2001) també noten una pèrdua d'un 12% de volum plasmàtic que es va produir especialment durant la fase d'escalfament de la sessió (pàgina 67).

Durant la fase de recuperació, l'hematòcrit i la concentració d'hemoglobina varen disminuir. Aquests canvis podrien atribuir-se a una expansió plasmàtica deguda al procés de rehidratació, ja que es va permetre als participants beure aigua ad libitum, i tant sols se'ls va demanar de no ingerir begudes gasoses, alcohòliques o estimulants. El retorn cap als vasos sanguinis del líquid extravasat als compartiments extravasculars també pot haver contribuït a l'expansió del volum plasmàtic.

Tot i que els canvis són poc rellevants clínicament, aquests s'han tingut en compte per tal de corregir les concentracions plasmàtiques de la resta de paràmetres analitzats.

### **5.3 Leucòcits circulants**

Les alteracions detectades en el recompte de leucòcits en sang en les extraccions posteriors a les sessions d'entrenament, confirmen que l'exercici físic produeix modificacions agudes importants en el nombre de leucòcits circulants, i en la distribució percentual de les diferents subpoblacions, tal com s'ha anotat prèviament (Apartat 1.3.1.1, pàgina 82).

En resposta a l'exercici físic mantingut, el nombre de leucòcits circulants en sang augmenta i es manté elevat en les primeres hores de la recuperació. La leucocitosi detectada immediatament després de l'esforç es deguda a neutrofilia i limfocitosi (Figura 25).

Diversos investigadors han mostrat que existeix una relació lineal entre el grau de creixement de la leucocitosi, que pot elevar-se entre un 15% i un 240%, i la durada de l'exercici físic. Així els majors augments s'observen en d'activitats de més de 2 hores de durada; mentre que les activitats que es mantenen menys d'una hora presenten increments més discrets. Aquestes dades concorden amb les modificacions apreciades en les sessions analitzades on els canvis varen ser baixos-moderats (15% i 30%).

Per una mateixa durada, les alteracions són superiors si la intensitat és major. Per exemple, com indica Nieman et al. (1994) (Figura 76) en activitats físiques de 45 minuts de durada els increments són superiors quan major és la intensitat. I a més, el nombre de leucòcits circulants es manté més temps elevat després de l'exercici intens que del de moderada intensitat. Els canvis observats en les sessions d'entrenament realitzades coincideixen amb les dades observades per Nieman et al. (1994): la leucocitosi va ser lleugerament més pronunciada

immediatament, i en la recuperació de la sessió d'entrenament de cursa en intervals en comparació a la sessió de cursa contínua.

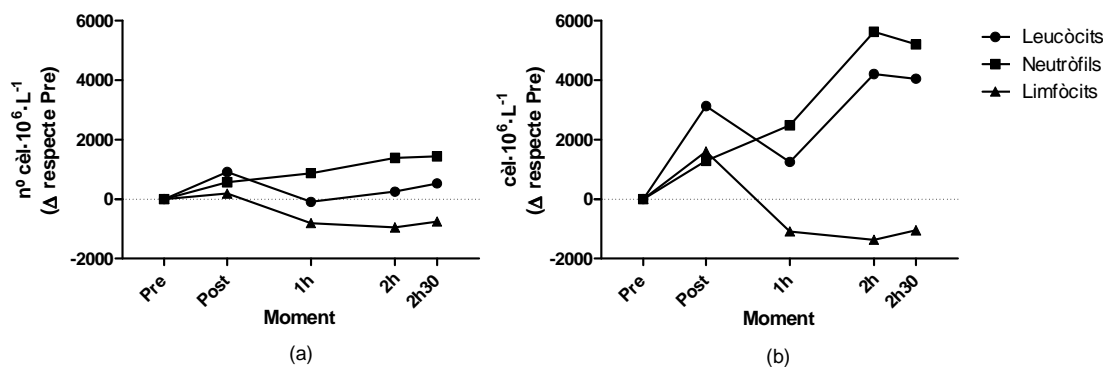


Figura 76. Variació en el nombre de leucòcits, neutròfils i limfòcits circulants immediatament després i en la recuperació de 45 minuts de carrera al 50%VO<sub>2max</sub> (a) i al 75%VO<sub>2max</sub> (b). Les dades són expressades amb la variació del nombre de cèl·lules circulants respecte als valors previs a l'esforç. Pre= abans de l'esforç; Post= Immediatament després de l'esforç; 1h= als 60 minuts de recuperació; 2h= als 120 minuts de recuperació; 2h30= als 150 minuts de recuperació. Dades extretes de Nieman et al. (1994).

A la sessió d'entrenament de CC, la major leucocitosi posterior a l'esforç s'associa al reclutament al torrent sanguini del neutròfils ( $r = 0,95$ ) i en menor mesura dels limfòcits ( $r = 0,82$ ). Mentre que a la sessió d'entrenament CI, la major leucocitosi immediata després de l'esforç és atribuïble a una major limfocitosi ( $r=0,88$ ), i molt menys a la neutrofilia ( $r = 0,65$ ). Aquestes dades en part concorden amb les observades per Nielsen et al. (1996) i les de Gray et al. (1993). Aquests autors indiquen que en la fase de recuperació d'activitats supramàximes ( $>100\% VO_{2max}$ ) o en activitats molt curtes ( $<10'$ ) sol predominar la limfocitosi sobre la neutrofilia; mentre que en les activitats mantingudes de 35' a 90', o en les molt perllongades, predomina la neutrofilia. Segons Pedersen (1998), la intensitat de l'esforç és un dels factors més influents sobre la limfocitosi posterior a l'exercici físic. Tal com mostra la Figura 25, les activitats en les que el nombre de limfòcits augmenta amb major mesura són els esforços supramàxims de menys de 10 minuts de durada, en segon lloc les activitats físiques d'intensitat elevada ( $>75\%VO_{2max}$ ) i mantingudes, després les de força i a continuació les activitats físiques en intervals. La sessió d'entrenament CI es trobaria en aquest grup d'activitats. En les activitats d'intensitat moderada, com la sessió CC, tant si són de curta durada com mantingudes, els canvis en el nombre de limfòcits circulants immediatament després de l'esforç són menors.

Durant la fase de recuperació, les alteracions del recompte de leucòcits i neutròfils són superiors a la sessió de CI, mentre que la limfopènia és semblant en ambdues sessions. La leucocitosi es va mantenir almenys fins a les 3 hores posteriors a l'esforç. En aquest període, els nivells de neutrofilia també eren elevats, mentre que el nombre de limfòcits circulants es va

reduir ràpidament. Aquesta davallada va d'acord al comportament bifàsic de la leucocitosi en resposta a l'exercici físic (McCarthy et al., 1991; Shinkai, 1992).

Altres investigadors també han descrit descensos dels limfòcits de fins el 50% respecte els valors inicials i l'aparició de limfopènia absoluta ( $<1000 \text{ limfòcits} \cdot 10^6 \cdot \text{L}^{-1}$ ) durant les primeres hores de recuperació (Robson et al., 1999; Scharhag, et al., 2006; Steensberg et al., 2002). Com també s'aprecia a la Figura 25, la reducció dels limfòcits circulants és més marcada en les activitats físiques mantingudes e intenses i en les perllongades ( $>120'$ ). Per tant, després de la sessió d'entrenament de CI es podria esperar observar una major disminució del nombre de limfòcits circulants, en comparació a la sessió CC. No obstant, en la recuperació d'ambdues sessions els limfòcits circulants varen disminuir moderadament (entre -27 i -30%) respecte als valors inicials, i contràriament al que s'esperava no es varen registrar diferències estadísticament significatives entre elles. Es possible que malgrat la diferència d'intensitat de l'esforç, la durada d'ambdues sessions no fos suficient per produir una limfopènia important, o que el bon nivell de forma física dels participants n'atenués la resposta.

Malgrat la davallada dels limfòcits circulants registrada durant la recuperació de l'esforç, el recompte de leucòcits en sang es va mantenir elevat, ja que el nombre de neutròfils circulants va seguir creixent. La neutrofilia posterior a l'exercici físic s'associa a la durada i a la intensitat de l'esforç (Robson et al., 1999). Durant la recuperació la neutrofilia es pot mantenir o accentuar, però habitualment es normalitza a les 24 hores (Walsh et al., 2011a). Els resultats obtinguts en aquest estudi concorden amb les observacions fetes per Nieman et al. (1994) que aprecien que per a una mateixa durada, el nivell de neutrofilia durant la recuperació de l'esforç és més elevat si la intensitat és alta.

L'índex neutròfils/limfòcits (N/L), com indicador d'estrès del sistema immune va augmentar durant la recuperació de les sessions d'entrenament. El pic més elevat es va produir al cap de 60 minuts de recuperació de la sessió de CI i reflecteix que l'alta intensitat de l'esforç podria suposar un major estrès per al sistema immune. Els nivells assolits però són superiors als indicats per Nieman et al. (1999) després d'una sessió d'entrenament de rem, però inferiors als observats en activitats molt perllongades, com les maratons (Nieman et al., 1999).

En la recuperació de la sessió de CI, la leucocitosi i la neutrofilia varen ser més elevades en els participants futbolistes amb bona condició física en comparació als atletes amb excel·lent condició física. Així, tot i que la durada, intensitat i càrrega de les dues sessions va ser semblant en els subgrups de participants determinats pel grau de forma física, o l'esport practicat, a les 3 hores de recuperació de la sessió d'entrenament CI, els futbolistes mostraven nivells de leucocitosi i neutrofilia significativament més elevats. En les primeres fases de la recuperació les fluctuacions del recompte de leucòcits i neutròfils en sang varen ser similars en els dos grups. El superior grau de leucocitosi i neutrofilia als 180 minuts de recuperació, podria reflectir una major disrupció muscular i per tant un procés inflamatori més intens. Les diferències en la modalitat esportiva practicada habitualment pels dos grups de participants

podrien justificar aquests canvis, ja que els futbolistes estarien poc avesats a realitzar períodes de cursa d'alta intensitat sostinguts durant 4-5 minuts. El manteniment d'una tensió muscular més alta del que és habitual podria generar microlesions musculars que desencadenarien un procés inflamatori localitzat, a resultes del qual es mobilitzarien els neutròfils.

Els mecanismes que poden explicar les alteracions en el recompte de les diferents subpoblacions leucocitàries són múltiples i poden intervenir a diversos nivells a) canvis a nivell dels òrgans i sistemes, entre els quals destaquen les adaptacions cardíco-vasculars a l'esforç, la resposta del sistema nerviós simpàtic i els canvis endocrins, especialment de les catecolamines i el cortisol; i b) canvis a nivell cel·lular i molecular, com les modificacions de l'estat redox, l'acció de factors solubles pro-inflamatoris, l'expressió, o no, de molècules adhesió, i el desencadenament de mecanismes d'apoptosi (Figura 23).

En aquest estudi no es varen prendre dades del cabal cardíac, però com a paràmetres de l'adaptació cardíco-vascular es va registrar la FC mitjana i la suma de batecs de la sessió. Les correlacions significatives, però febles-moderades, entre la FC mitjana o la suma de batecs de la sessió, i els canvis en el recompte de neutròfils i limfòcits suggereixen que el treball cardíac podria exercir certa influència en la leucocitosi, o que tenen una base fisiològica comú, com els canvis de les hormones suprarenals. Els canvis experimentats pels limfòcits s'associen amb la FC mitjana dels períodes de treball de la sessió, que reflecteix particularment la intensitat de l'esforç; mentre que les alteracions dels neutròfils es correlacionen més amb la suma de batecs que depèn també de la durada durant la qual es manté una certa la intensitat de l'esforç. Tot i que la FC és un informador parcial del treball cardíac, durant l'esforç aquesta s'associa a un volum sistòlic i un cabal cardíac més elevats, i es podria esperar que a major FC, també major treball cardíac, el qual afavoriria l'efecte mecànic d'arrossegament sobre les cèl·lules adossades a la paret endotelial.

En el present estudi la manca de fluctuacions de les concentracions plasmàtiques d'epinefrina i norepinefrina en resposta a les dues sessions d'entrenament analitzades no permeten explicar amb claredat, les modificacions del recompte de leucòcits, neutròfils i limfòcits observades immediatament després de l'esforç. A més, les associacions entre els canvis de l'epinefrina i la norepinefrina per una banda, i el recompte de limfòcits durant la recuperació per l'altra, tampoc confirmen la relació entre l'epinefrina, o la norepinefrina, i la limfopènia (Figura 77).

Per contra, com s'indica més endavant (pàgina 233), sí que s'ha apreciat una associació entre les fluctuacions del cortisol plasmàtic i els canvis en els limfòcits circulants.

Els canvis de l'estat redox també s'han proposat com a mediadors de les alteracions dels leucòcits circulants. Les dades del present estudi no han evidenciat associacions entre els canvis de l'àcid úric en plasma o la FRAP i els canvis de la circulació dels leucòcits. Tot i això, l'augment de la reactivitat per carbonils observat als 60 minuts de recuperació mostra una correlació moderada amb l'augment dels neutròfils circulants que podria suggerir una associació entre ambdós fenòmens

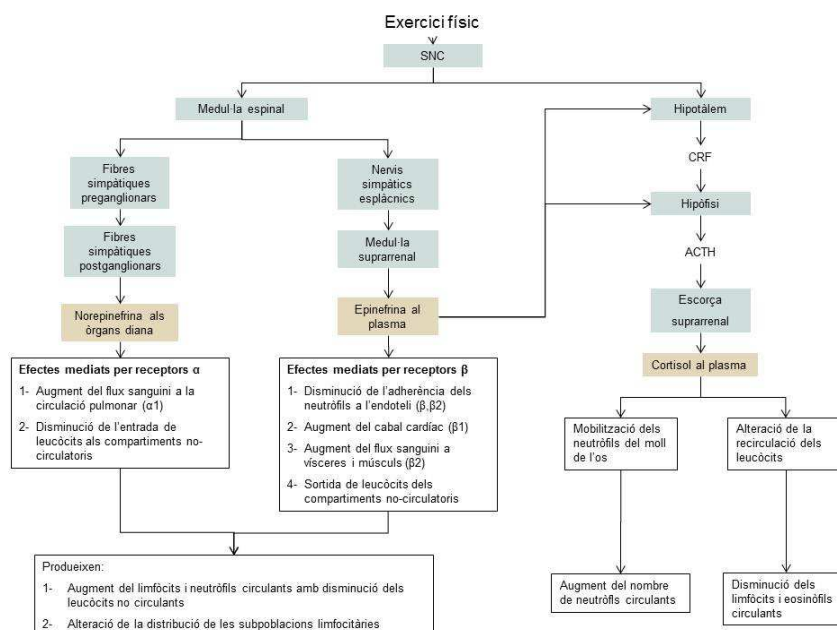


Figura 77. Accions de les catecolamines i el cortisol sobre els leucòcits circulants.

Per últim, en aquest estudi no s'han pres dades que permetin comprovar, ni descartar, els efectes de mecanismes relacionats amb l'expressió de les molècules adhesió o amb el procés d'apoptosi (Figura 23), sobre la circulació dels leucòcits i les seves subpoblacions

## 5.4 Hormones d'estrès

L'activació de l'eix hipotàlem-hipofisiari-suprarenal i del sistema nerviós simpàtic representa un dels pilars de la resposta a l'exercici físic. Els canvis endocrins en general, però especialment els derivats de les hormones suprarenals, catecolamines i cortisol, promouen la coordinació entre els sistemes orgànics durant l'activitat física, i seran essencials per a l'adaptació a la mateixa.

### 5.4.1 Epinefrina i norepinefrina

S'ha descrit que en resposta a l'esforç físic es produeix un increment de les concentracions plasmàtiques de catecolamines, sempre i quan la intensitat de l'esforç superi un llindar d'intensitat mínim (Virus & Virus, 2001). Aquest llindar d'intensitat es situa pròxim al  $50\%VO_{2max}$  per la norepinefrina i al  $75\%VO_{2max}$  per l'epinefrina. També Pritzlaff et al. (2000) varen observar un creixement significatiu dels nivells plasmàtics d'epinefrina i norepinefrina en resposta a 30 minuts de carrera contínua, realitzada a diverses velocitats respecte al IAT dels participants. En general els increments eren major en les velocitats més elevades. La magnitud dels increments era baixa i l'evolució va ser molt diversa entre els participants, especialment per la norepinefrina.

Contràriament al que es podia esperar les sessions d'entrenament de CC i CI no varen causar modificacions significatives dels nivells plasmàtics de catecolamines, ni immediatament després de l'esforç, ni en les primeres hores de la recuperació, respecte als nivells de repòs.

Per a la sessió d'entrenament de CC, la intensitat de l'esforç expressada en  $\%VO_{2pic}$  es troba al voltant del  $60\%VO_{2pic}$ , i per tant es podia esperar que les concentracions plasmàtiques d'epinefrina no es modifiquessin o les alteracions fossin de poca magnitud. Per contra, la concentració plasmàtica de norepinefrina podria haver augmentat, ja que el seu llindar d'intensitat mínima es situa per sota de la intensitat de la sessió de CC. De fet, en un esforç de característiques semblants (60 minuts de carrera en tapis al 93% del IAT) al d'aquesta sessió d'entrenament, Lehman et al. (2010) varen observar un creixement del 127% de la concentració de norepinefrina plasmàtica, mentre que la d'epinefrina no es va modificar significativament (Taula 7).

La sessió d'entrenament de CI es va realitzar a una intensitat superior a la del llindar de lactat ( $105\%vIAT$ ) i pròxima al  $80\%VO_{2max}$ , i en conseqüència ja s'hauria d'haver superat clarament el llindar d'intensitat mínima per a la norepinefrina, i s'estaria una mica per sobre de la intensitat mínima per l'epinefrina. Segons Mazzeo & Grantham (1989) existeix una associació potent ( $r=0,97$ ) entre la intensitat mínima per estimular la secreció d'epinefrina i la intensitat del llindar de lactat individual. I és per aquest motiu que, a la sessió d'entrenament de CI, al ser més intensa, es podia esperar que les concentracions plasmàtiques de catecolamines detectades després de l'esforç fossin superiors als nivells de repòs, i també als nivells registrats a la sessió d'entrenament de CC. Els valors observats en el present estudi són molt inferiors als indicats per Nieman et al (1993) en esforços d'intensitat i durada semblants però de naturalesa contínua (norepinefrina: +900%; epinefrina: + 212%). A la Taula 7 també es pot apreciar que en activitats en intervals, d'intensitat relativa similar a la d'aquest estudi, però de major durada, s'han descrit increments de la concentració plasmàtica d'epinefrina (Nieman et al., 2007a). També, Niess et al. (2003) observen augments de l'epinefrina i la norepinefrina en un esforç en intervals de durada semblant però a una intensitat lleugerament superior a la d'aquest estudi. No obstant, en esforços en intervals curts (1'), tot i que la intensitat de l'esforç era elevada i arribava al  $100\%VO_{2max}$ , tant sols es va detectar un augment, moderat (+109%), de la concentració plasmàtica de norepinefrina, sense canvis de la d'epinefrina (Gray et al., 1993).

L'activació simpàtica durant l'esforç depèn en part dels senyals sensorials procedents dels receptors musculars tipus III i IV. La norepinefrina plasmàtica és considerada com un indicador del grau d'activació de les terminacions nervioses simpàtiques de la massa muscular activa (Malpas, 2010). Per la seva banda, Esler et al. (1990) varen estimar que aproximadament el 60% de la norepinefrina present al plasma durant l'exercici físic, provenia d'aquestes terminacions nervioses. Es podria doncs esperar que a la sessió en intervals, al generar major tensió durant les accions musculars, l'activació simpàtica fos més important, i quedés reflectida almenys en els canvis de les concentracions plasmàtiques de norepinefrina. En el present

estudi, això no ha estat així. Tanmateix, en activitats en intervals altres investigadors també han enregistrat concentracions plasmàtiques de catecolamines inferiors a les esperades per a la intensitat de l'esforç (Gray et al., 1993). La presència de les pauses podria afavorir la seva depuració i frenar el creixement de les concentracions en el plasma. Però segons els resultats obtinguts per Nieman et al. (2007a) (Taula 7) al comparar dues sessions de la mateixa intensitat i durada de treball efectiu igual, no sembla que l'esforç en intervals produeixi respostes diferenciades de l'evolució de les concentracions de catecolamines plasmàtiques. Segons els investigadors, el volum de treball efectiu de la sessió va ser més determinant que l'existència de les pauses.

El grau d'activació del sistema simpàtic-adrenal també varia amb la capacitat individual d'adaptació al mateix. Per una mateixa intensitat absoluta de l'esforç, l'activació simpàtic-adrenal és menor en persones entrenades en comparació a les no entrenades. No obstant no s'han observat canvis atribuïbles a la condició física al comparar esforços de la mateixa intensitat relativa al  $VO_{2max}$  de cada esportista (Kjær, 2006; Zouhal, Jacob, Delamarche & Gratas-Delamarche, 2008). En l'estudi que es presenta aquí la intensitat es va individualitzar per a cada participant, per tant, és poc probable que la manca de fluctuacions de les concentracions de catecolamines en plasma es pugui atribuir a una resposta simpàtic-adrenal atenuada per la bona forma física dels participants.

La valoració de les catecolamines plasmàtiques planteja limitacions relacionades amb les tècniques analítiques degut a la inestabilitat d'aquestes molècules en sang. Zouhal et al. (2008) assenyalen que després de l'exercici físic les concentracions plasmàtiques de catecolamines es redueixen en un 30% cada minut. En el present estudi, entre la finalització de l'esforç físic i l'extracció no varen transcórrer més de 5 minuts. Però a la llum dels resultats és possible que durant aquest lapse de temps, una part considerable de les catecolamines plasmàtiques fos metabolitzada. Un cop feta l'extracció es va mantenir la sang en fred per evitar la seva degradació (pàgina 159) però durant aquest període, tal com indica Rodriguez-Espinosa (1993b), el metabolisme de les catecolamines (30% per hora) també pot haver continuat. Per tal d'eludir la inestabilitat de les catecolamines, en alguns estudis s'han valorat els seus metabòlits en l'orina produïda durant la nit. Per exemple, s'ha analitzat la metanefrina (MN) que reflecteix el grau d'activació adreno-medul·lar, i la normetanefrina (NMN), que es relaciona amb l'activació simpàtica, després de 4 dies d'intrenament intensiu en ciclistes (Filaire et al., 2002). Aquests investigadors varen observar increments del 30% de la NMN en l'orina nocturna del darrer dia del microcicle d'entrenament, mentre que no es varen produir canvis en la concentració urinària de MN.

Les concentracions de catecolamines poden variar ràpidament per l'estrès físic, però també psíquic, així la tensió de la venopunció podria en part emmascarar els canvis deguts a l'exercici físic. Tot i això, en tots els casos, excepte un participant; els valors obtinguts es troben en el rang de la normalitat.



Per evitar les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques a causa de les ineludibles punxions, i el lapse de temps entre la finalització de l'esforç i l'extracció, en molts estudis prèviament es col·loca un catèter, i es manté la via permeable durant tot el procés.

Per altra banda, també podria ser que la tècnica analítica no fos prou sensible per a detectar les fluctuacions induïdes per l'esforç físic (Rodríguez-Espinosa, 1993b).

Per tot això, és possible que la manca de fluctuacions de les concentracions plasmàtiques de l'epinefrina i la norepinefrina en resposta a les dues sessions d'entrenament pugui ser deguda a factors relacionats amb els procediments d'extracció i manipulació de la sang, i a les tècniques analítiques, i no a l'absència de resposta enfront a l'esforç físic.

Aquests factors dificulten la interpretació de la relació entre els canvis de les catecolamines en plasma i les adaptacions sistèmiques, del sistema immune, i la resposta pro-anti-inflamatòria i de l'estat redox a l'esforç físic.

Les catecolamines participen en les adaptacions sistèmiques a l'exercici, activant especialment els sistemes cardíocirculatori, respiratori i muscular. L'epinefrina tindria una acció  $\beta$ -adrenèrgica cromotròpica e inotròpica positiva que augmentaria el cabal cardíac. La norepinefrina exerciria una acció de predomini  $\alpha$ -adrenèrgic i afectaria principalment als vasos sanguinis produint vasoconstricció, excepte en els vasos coronaris. No obstant en intensitats baixes-moderades, com a resultat de la inhibició de l'activitat vagal (o parasimpàtica), l'acció de les catecolamines es podria efectuar sense necessitat d'augmentar-ne les concentracions plasmàtiques. Aquest fet podria explicar la manca de correlació entre els paràmetres indicadors de la càrrega de les sessions d'entrenament, com la freqüència cardíaca mitjana, i les variacions en els nivells plasmàtics d'epinefrina i norepinefrina. Tanmateix, en les sessions d'entrenament estudiades, les freqüències cardíques mitjanes dels períodes d'esforç superaven els 140 batecs per minut. Teòricament, en aquest rang de funció ja és necessari que el sistema nerviós simpàtic efectuï una acció activa per estimular les respostes orgàniques, i addicionalment, aquesta acció hauria de ser superior a la sessió d'entrenament de CI.

Les catecolamines, especialment l'epinefrina (Figura 78), també s'han relacionat amb les alteracions en el recompte de leucòcits circulants, concomitants a l'activitat física. La majoria d'investigadors associen les variacions de les catecolamines plasmàtiques amb canvis en el nombre de limfòcits circulants, particularment la subpoblació de NK. En una primera fase, l'acció de les catecolamines es centraria en la mobilització i reclutament de les cèl·lules dels compartiments marginals (McCarthy & Dalle, 1988; Pedersen & Hoffman-Goetz 2000) i afavoriria la limfocitosi immediata a l'esforç físic; mentre que la seva influència sobre la neutrofilia seria mínima (Gray et al., 1993). En una segona fase, que es produiria durant la recuperació de l'esforç, les catecolamines serien responsables del creixement del recompte de neutròfils associat a un decrement dels limfòcits (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000).

No se'n coneixen exactament els mecanismes i aquestes dades s'han extrapolat a partir d'estudis que analitzen, (a) la presència de receptors  $\beta$ -adrenèrgics en els limfòcits (Nielsen, et

al, 2003), (b) l'acció de les infusions d'anàlegs de les catecolamines o dels agents beta-bloquejants sobre els limfòcits en sang, i (c) el grau de correlació entre els canvis de les concentracions plasmàtiques de catecolamines observats durant l'esforç, i els canvis en el nombre de limfòcits circulants en sang.

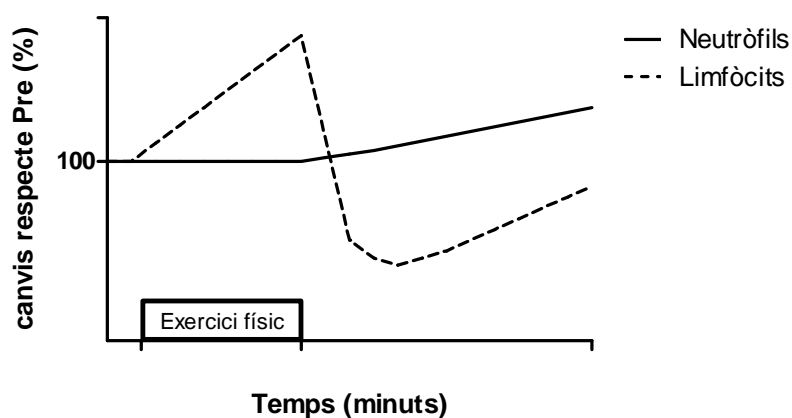


Figura 78. Model hipotètic dels efectes de l'epinefrina sobre el recompte de limfòcits i neutròfils en sang en resposta a l'exercici físic. (Adaptat de Pedersen, 2000).

Com ja s'ha mencionat, en el present estudi les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques d'epinefrina i norepinefrina en resposta a les dues sessions d'entrenament analitzades no permeten explicar amb claredat les modificacions del recompte de leucòcits, neutròfils i limfòcits observades immediatament després de l'esforç. A més, les associacions observades entre els canvis de l'epinefrina i la norepinefrina per una banda, i el recompte de limfòcits durant la fase de recuperació per l'altra, tampoc confirmen la relació entre les variacions de les catecolamines en plasma i la limfopènia, ja que el coeficient de correlació és positiu i suggereix l'existència d'altres mecanismes.

Per altra banda, les catecolamines també s'han relacionat amb la resposta de fase aguda i l'estrès oxidatiu però les limitacions d'interpretació de l'evolució de les concentracions plasmàtiques de catecolamines i la manca d'associacions amb els paràmetres indicadors de l'estat redox no permet establir conclusions en aquest sentit.

#### 5.4.2 Cortisol

Els glucocorticoides, entre ells el cortisol, junt amb les catecolamines reflecteixen l'activació del sistema nerviós simpàtic i de l'eix hipotàlem-hipofisiari-adrenal en la resposta fisiològica enfront situacions que l'organisme percep com estressants (McEwen, 2007).

Els canvis dels nivells de cortisol en plasma que s'observen en resposta a l'esforç físic depenen de la modalitat, durada e intensitat del mateix, com ja s'ha descrit prèviament (Apartat 1.2.3.2, pàgina 75)

A la sessió d'entrenament de CC, la concentració plasmàtica de cortisol va disminuir al llarg del temps, i va seguir la dinàmica de les fluctuacions circadianes d'aquesta hormona. El cortisol es secretat a la sang per l'escorça suprarenal, i habitualment assoleix el seu pic màxim entre les darreres hores del son i les primeres hores del matí. Després, al llarg de les 24 hores següents va disminuint, tot i que poden aparèixer intercalades diverses descàrregues breus (Rodríguez-Espinosa, 1993a). El fet que en resposta a l'esforç de la sessió d'entrenament de CC aquestes concentracions vagin reduint-se, suggereix que l'esforç físic realitzat durant la sessió no va suposar una situació d'alarma important per als participants. Si l'estrès hagués estat elevat s'hagués provocat una secreció de cortisol superposada als nivells plasmàtic determinats pel ritme circadiani. Els resultats obtinguts coincideixen amb les dades aportades per altres investigadors (Taula 8). No obstant, en les activitats físiques mantingudes (45-60') i d'intensitat baixa-moderada pròxima al 60%  $VO_{2max}$ , l'evolució dels canvis de les concentracions plasmàtiques de cortisol és heterogènia. En alguns estudis, immediatament després de l'esforç s'aprecia un increment del 20 al 25% respecte als valors inicials (Bishop, Walsh, Haines, Richards & Gleeson, 2001; Bishop, Fitzgerald, Porter, Scanton & Smith, 2005; Gabriel et al., 1992a); mentre que en d'altres gairebé no es modifica (Pizza et al., 1996; Nieman et al., 1993 i 1994; Lehman, et al. 2010), o hi ha una disminució (Niess et al., 2003; Mitchell et al., 2002; Nieman et al., 1991; Nehlsen-Cannarella et al., 1991). Durant la recuperació d'aquestes activitats les concentracions plasmàtiques de cortisol tendeixen a disminuir, seguint el ritme circadiani, excepte en algun cas (Gabriel et al., 1992a; Niemann et al., 1993 i 1994) on als 90 minuts de recuperació encara es registren valors d'un 26% a 45% superiors respecte als valors inicials.

Tot i que no hi ha diferències estadísticament significatives entre sessions, a la sessió d'entrenament de CI s'aprecia un retard en la davallada dels nivells plasmàtics de cortisol que estaria en concordança amb el fet que per una mateixa durada i modalitat d'esforç, el cortisol és més elevat si la intensitat és alta. En aquesta sessió, l'exercici físic interfereix en la fluctuació circadiana del cortisol en plasma i n'atenua, transitòriament, el descens de les concentracions plasmàtiques. En activitats físiques mantingudes (45-60') però d'intensitat elevada, s'han descrit augments dels nivells plasmàtics de cortisol superiors al 130% (Nieman et al., 1993 i 1994; Robson et al., 1999). En les activitats físiques en intervals, els canvis observats generalment són modestos i variats (Taula 8); immediatament després de l'esforç els nivells de cortisol plasmàtic tendeixen a augmentar lleugerament (Nieman et al., 2007a; Gray et al., 1993; Thompson et al., 2003), no es modifiquen (Niess et al., 2003) o disminueixen (Nieman et al., 2000).

Segons les dades obtingudes per Nieman et al. (2007a) al comparar dues activitats de la mateixa intensitat i durada efectiva, la presència de les pauses en l'activitat física en intervals no va influir significativament sobre l'evolució de les concentracions plasmàtiques del cortisol. En el present estudi, sembla que la major intensitat de l'esforç a la sessió d'entrenament de CI

va accentuar la secreció de cortisol, interferint en la davallada esperada pel ritme circadiari.

Les modificacions de les concentracions plasmàtiques de cortisol associades a l'exercici físic agut s'han relacionat amb la mobilització dels substrats energètics i amb les adaptacions del sistema immunitari.

El cortisol s'ha relacionat amb els canvis en el recompte dels leucòcits circulants que apareixen a conseqüència de l'exercici físic. Així, l'augment dels neutròfils i la disminució dels limfòcits circulants que s'aprecia en la recuperació de l'exercici físic s'ha associat amb els efectes del cortisol plasmàtic (Gabriel, et al. 1992a; Gray, et al 1993; McCarthy & Dalle, 1988; Nieman, et al. 1994; Pedersen, 2000). Segons Pedersen (2000) el cortisol afavoreix la limfopènia (Figura 79), per què inhibeix l'entrada de limfòcits a la circulació i facilita el seu retorn als teixits perifèrics.

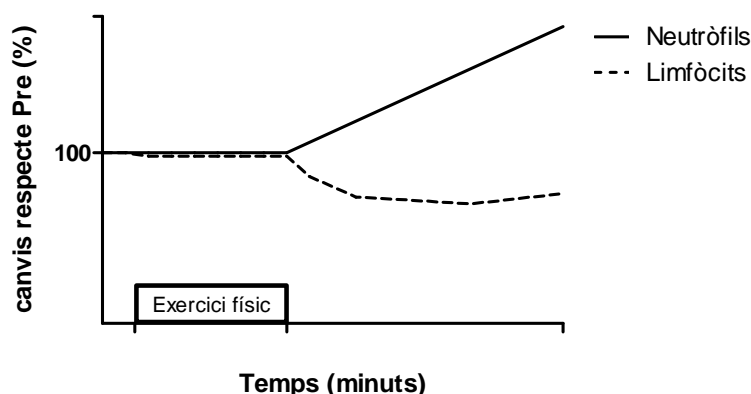


Figura 79. Model hipotètic dels efectes del cortisol sobre el recompte de limfòcits i neutròfils en sang en resposta a l'exercici físic. (Adaptat de Pedersen, 2000).

Les associacions negatives entre els canvis de la concentració plasmàtica de cortisol al finalitzar l'exercici físic i el recompte de limfòcits circulants, observades en el present estudi, avalen la hipòtesi de que el cortisol pot influir sobre la limfopènia de la recuperació (Taules 41 i 42 i Figura 66). Per contra, les dades obtingudes només permeten confirmar la relació dels canvis del cortisol amb la neutrofilia post-exercici per a la sessió de CC (Taula 41).

## 5.5 Estat inflamatori

Els resultats indiquen que les sessions d'entrenament realitzades varen produir alteracions transitòries de les concentracions plasmàtiques de diversos paràmetres indicadors d'un estat pro-inflamatori, així com d'un estat anti-inflamatori que varen desaparèixer als 180 minuts de recuperació. Una de les principals limitacions per a la interpretació dels resultats és el reduït nombre de participants als quals es varen analitzar aquests paràmetres, i la variabilitat de les dades dins del propi grup. Tanmateix, els resultats ofereixen alteracions significatives que s'analitzen a continuació.

### 5.5.1 IL-6

La citocina IL-6 és la citocina més sensible als canvis del medi intern induïts per l'exercici (Walsh et al, 2011). Així, com es podia esperar, a la sessió d'entrenament de CC a una intensitat moderada, els nivells plasmàtics de IL-6 varen augmentar notablement. Durant la recuperació varen retornar lentament cap als nivells inicials. A la sessió d'entrenament de CI a elevada intensitat, les concentracions de IL-6 en plasma també varen créixer immediatament després de l'esforç, i es varen mantenir elevades als 60 minuts de recuperació en comparació als valors inicials. Les dades obtingudes coincideixen amb les descrites per altres investigadors que assenyalen que els nivells plasmàtics de IL-6 augmenten immediatament després de l'esforç i, segons les característiques de l'exercici físic, es mantenen elevats durant la primera hora de recuperació (Davison & Gleeson, 2007; Goussetis et al., 2009; Neubauer et al., 2008a; Nieman et al. 2007a; Ostrowsky et al., 1999, Ostrowsky et al., 2000; Suzuki et al., 2006).

Els increments observats en les dues sessions d'entrenament són moderats, encara que una mica superiors als indicats per Lundby & Steensberg (2004) després de 60' de ciclisme al 45% $VO_{2max}$ , e inferiors als registrats per Niess et al. (2003a) després de 60' de carrera al 75%  $VO_{2max}$ .

L'evolució va ser semblant per ambdues sessions malgrat la diferència de la intensitat i distribució de l'esforç. En aquest sentit, tampoc Nieman et al. (2007a) varen observar que les pauses en l'esforç en intervals repercutissin en l'evolució de les concentracions plasmàtiques de IL-6 al comparar una activitat de la mateixa intensitat i durada de treball efectiu, però de naturalesa contínua versus en intervals.

En realitat, es considera que la durada de l'esforç és el principal determinant del creixement de les concentracions plasmàtiques de IL-6 (Fisher, 2006). En el present estudi, la durada global de les sessions d'entrenament analitzades va ser la mateixa, tot i que la durada del treball efectiu va ser inferior a la sessió de CI.

Tot i així, per a que augmentin els nivells de IL-6 en plasma, la intensitat de l'esforç ha de ser suficient. En les activitats en intervals, tant sols s'han observat augments de la IL-6 en plasma quan la intensitat de l'esforç era moderada-alta. Ni Henson et al. (2000), ni Nieman et al. (2000), detecten canvis significatius dels nivells de IL-6 després de sessions d'entrenament de rem i tennis a baixa-moderada intensitat. Mentre que en esforços en intervals a intensitats més altes, Nieman et al. (2007a) i Niess et al. (2003b) varen registrar augments bastant importants de IL-6. Les dades obtingudes no permeten confirmar l'existència d'associació entre els canvis de la IL-6 i la velocitat de carrera, com indiquen Pedersen et al. (2001) o Ostrowski et al. (2000). Però és possible que la presència de les pauses i la menor durada del treball efectiu de la sessió CI hagin atenuat la resposta de la IL-6. Tampoc s'ha evidenciat l'existència de relació entre els canvis de la IL-6 i els dels nivells de lactacidèmia o els de catecolamines en plasma.

Per altra banda, també s'ha suggerit que la IL-6 és un important factor inductor de la producció

hepàtica de les proteïnes de fase aguda, però els resultats observats en aquest estudi, concorden amb l'opinió de Pedersen (2000) quan afirma que la IL-6 no té una repercussió destacada sobre la producció de proteïnes de fase aguda durant l'esforç físic, ja que les concentracions plasmàtiques de CRP i SAA no varien, o varen disminuir, amb l'esforç, mentre que la IL-6 augmenta significativament. A més l'anàlisi de correlacions no posa de manifest l'existència d'associacions rellevants entre els canvis de IL-6 i els de CRP, o SAA, ja que aquestes són moderades o fins hi tot negatives (Taula 43). De la mateixa manera, en aquest estudi no sembla que la IL-6 tingui una acció inhibidora de la producció de TNF- $\alpha$  o d'estimulació de la producció de cortisol (Taula 44). Per contra, les dades obtingudes reforcen la hipòtesi de que la IL-6 podria exercir un efecte activador de la producció de la IL-10 (Taula 45)

A banda de les accions anti-inflamatòries de la IL-6, també s'ha descrit que aquesta actua com un sensor energètic, especialment sensible a la disponibilitat de glucosa i oxigen en el múscul (Pedersen & Fischer, 2007). En ambdues sessions, globalment, les fluctuacions d'aquests paràmetres poden haver estat similars. Així, durant les sessions la IL-6 activaria la captació muscular de glucosa i l'oxidació dels greixos en el múscul actiu, la producció hepàtica de glucosa, i la lipòlisi en el teixit adipós (Pedersen & Febbraio, 2008).

### **5.5.2 IL-10**

Les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques de IL-10 formen part del conjunt de canvis que conformen la resposta anti-inflamatòria aguda a l'exercici físic (Pedersen & Pedersen, 2005). Després de la sessió d'entrenament de CC les concentracions plasmàtiques de IL-10 varen augmentar, i es varen mantenir elevades durant els primers 60 minuts de la recuperació. Diversos estudis també han posat de manifest que les concentracions plasmàtiques de IL-10 augmenten significativament després de l'exercici físic perllongat i exigent, i aquestes poden mantenir-se elevades durant la recuperació (pàgina 100). Fins i tot en alguns casos aquestes s'eleven al cap de diversos dies de l'esforç. En el present estudi les variacions detectades després de la sessió de CC, són de menor magnitud, però cal destacar que gairebé tots els estudis citats fan referència a activitats físiques de més de dues hores de durada, i per tant la càrrega global de l'esforç era més elevada que en les sessions analitzades en aquest estudi. El seu augment durant la recuperació de l'esforç podria reflectir la necessitat d'atenuar la resposta inflammatòria aguda generada per l'exercici físic (Silva et al., 2008).

Per altra banda, i a la inversa del que s'esperava, després de la sessió d'entrenament de CI, no es varen observar canvis estadísticament significatius de les concentracions plasmàtiques de IL-10. Tot i consistir en períodes de carrera a major velocitat que la de la sessió de CC, i que la mobilització de leucòcits i neutròfils també va ser superior que a la sessió de CC, la tendència al creixement dels nivells plasmàtics de IL-10 va ser atenuada. Com per la IL-6, la menor durada del temps efectiu de treball i la presència de les pauses pot haver contribuït a frenar la

resposta de la IL-10.

S'ha indicat (Petersen & Pedersen, 2005; Pedersen & Febbraio 2008) que les concentracions plasmàtiques de IL-10 podrien créixer en resposta a l'acció de la IL-6. Les correlacions positives entre els canvis de les concentracions plasmàtiques de IL-10 i els de IL-6 semblen confirmar-ho (Taula 44). Per altra banda també s'ha posat de manifest una associació entre els canvis dels nivells plasmàtics de la CRP immediatament després de l'esforç i els de IL-10, la qual podria reflectir la capacitat de la CRP per estimular la síntesi de citocines anti-inflamatòries (Petersen & Pedersen, 2005). Per contra és més difícil interpretar el sentit de les associacions positives entre els canvis de les concentracions plasmàtiques de TNF- $\alpha$  a les 3 hores de l'esforç i els de la IL-10 (Taula 45), ja que aquestes no reflecteixen la suposada acció inhibidora de la IL-10 sobre el TNF- $\alpha$ .

La IL-10, com a citocina anti-inflamatòria, podria frenar la migració cel·lular cap a les zones inflamades. En el present estudi, no s'ha apreciat cap relació entre els canvis de la IL-10 i la mobilització dels leucòcits i neutròfils, possiblement a causa de la moderada magnitud del grau d'inflamació, i per què la mobilització cel·lular no depèn exclusivament de l'existència d'inflamació.

### 5.5.3 IL-8

La IL-8 forma part de les quimiocines que poden produir-se en el múscul esquelètic i que Pedersen et al. (2007) proposen anomenar miocines perquè formen part de la xarxa de senyals entre el múscul esquelètic i la resta de teixits. La IL-8 actua com un factor quimiotàctic i activador dels neutròfils, i a més també té propietats angiogèniques (Abbas et al., 1994; Akerstrom et al., 2005; Prior, Yang & Terjung, 2004)

A la sessió d'entrenament de CC, les variacions dels nivells plasmàtics de IL-8 varen ser disperses entre els participants i no es varen modificar significativament, tot i que varen tendir a augmentar una mica immediatament després de l'esforç. Els canvis observats coincideixen amb els d'altres investigadors que varen observar que en les activitats físiques de moderada intensitat i d'una durada mitjana similar a la de la sessió d'entrenament de CC (Niess et al., 2003a), i/o activitats físiques amb accions musculars de predomini concèntric (Akerstrom et al., 2005; Chan et al., 2004; Henson et al., 2000) no es produeixen alteracions significatives dels nivells plasmàtics de IL-8. A la sessió de CC és possible que el múscul actiu produís IL-8, tal com varen descriure Akerstrom et al. (2005), Chan et al. (2004) i Nieman et al. (2003), però que aquesta no difongués cap al plasma, o ho fes en molt poca quantitat. En aquesta situació l'acció de la IL-8 estaria restringida a nivell muscular local, i podria actuar com un estimulador de l'angiogènesi a llarg termini per mitjà dels receptors endotelials CXCR2 (Frydelund-Larsen et al., 2007).

Per contra, immediatament després de la sessió de CI, les concentracions plasmàtiques de IL-8 varen augmentar i es varen mantenir elevades fins els 60 minuts de recuperació. Aquestes

dades també concorden amb els resultats d'altres estudis en els que es va apreciar que la càrrega de l'esforç, i/o les accions musculars excèntriques eren factors determinants importants dels canvis de la IL-8 en plasma (Goussetis et al., 2009; Mucci et al., 2000; Nieman et al., 2001; Nieman et al., 2002; Nieman et al., 2003. Ostrowski et al., 2001; Suzuki et al., 2003). En aquest tipus d'activitats, a banda de la possible acció local, la IL-8 també podria exercir una acció sistèmica relacionada amb el dany muscular i la resposta inflamatòria; així en la recuperació de l'esforç, els neutròfils i altres cèl·lules seran atrets cap als músculs per exercir funcions d'adaptació i remodelació muscular. No obstant, com en la present tesi, Nieman et al. (2001) no aprecien cap correlació entre les variacions del recompte de neutròfils circulants i les dels nivells plasmàtics de IL-8 en la recuperació d'una ultramarató. Per altra banda, existeix una associació moderada entre els canvis de IL-8 i TNF- $\alpha$  en plasma. Aquesta correlació, juntament amb l'observació que a la sessió de CI ambdues citocines augmenten significativament, fa suposar que la tensió exercida durant les accions musculars, pot estimular la producció muscular de IL-8 i TNF- $\alpha$ .

#### **5.5.4 TNF- $\alpha$**

En les sessions d'entrenament analitzades en el present estudi, s'ha registrat un creixement (+15% i + 29%) de les concentracions plasmàtiques de TNF- $\alpha$ , moderat però significatiu. El creixement va tendir a ser menor a la sessió de CC en comparació a la de CI. Aquest fet coincideix amb el que s'esperava, ja que a la sessió de CI, la major velocitat de cursa implica una major tensió a nivell muscular en les fases de recepció i d'impulsió de la gambada. I en base als coneixements actuals es considera que el component excèntric de les accions musculars pot afavorir la producció de TNF- $\alpha$  a nivell muscular (Silva et al., 2008).

Els canvis observats són de poca magnitud e inferiors als indicats per Vassilakopoulos et al. (2003) després de 45' de pedaleig al 70%VO<sub>2max</sub>, on aprecien un increment, pròxim al 50%, dels nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$  immediatament després de l'esforç; tot i que, en aquest darrer estudi les accions musculars eren principalment de tipus concèntric. Per contra, en una sessió d'entrenament de rem en intervals, de major durada i menor intensitat que les sessions analitzades en aquesta tesi, Henson et al. (2000) tampoc observen canvis significatius dels nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$ .

Els canvis observats en les concentracions de TNF- $\alpha$  s'associen als canvis de molts altres paràmetre analitzats, com per exemple el creixement dels leucòcits i els neutròfils o de l'evolució de les concentracions en plasma de CRP o de SAA. Malgrat que a nivell grupal les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques han estat mínimes, les correlacions podrien reflectir la relació del TNF- $\alpha$  amb l'activació dels neutròfils i de la producció hepàtica de proteïnes de fase aguda.

També s'ha descrit que el TNF- $\alpha$  estimula la producció de IL-6, i que aquesta al seu torn activa a la IL-10. Les associacions positives entre els canvis de TNF- $\alpha$  i els de IL-6 i IL-10 podrien en



part ser el resultat d'aquesta connexió. No obstant les variacions de IL-6 i IL-10 són molt superiors a les de TNF- $\alpha$ . Per això, com manifesta Pedersen (2000), és molt possible que durant l'exercici físic la IL-6 augmenti sense necessitat de ser estimulada pel TNF- $\alpha$ .

### 5.5.5 Índex d'inflamació

L'índex d'inflamació (IL-6/TNF- $\alpha$ ) és un indicador de la relació entre el TNF- $\alpha$ , com paràmetre inflamatori i, la IL-6, com indicador anti-inflamatori. L'exercici físic, a causa dels canvis de les concentracions plasmàtiques de IL-6, va ocasionar un ascens de l'índex d'inflamació que, per a les dues sessions, va ser estadísticament significatiu als 60 minuts de recuperació. Aquest índex s'associa a un menor descens dels limfòcits als 60 minuts de la recuperació (Figura 69 a), i a una menor disruptió de les fluctuacions circadiàries del cortisol (Figura 69 b), la qual cosa coincideix amb les dades observades a partir dels canvis dels nivells IL-6 en plasma.

### 5.5.6 Proteïna C reactiva i Amiloide A sèric

La CRP i el SAA són marcadors d'inflamació generats al fetge en resposta a estímuls inflamatoris. Els canvis d'aquests paràmetres observats immediatament després de l'esforç varen ser diferents per a les dues sessions d'entrenament. La natura de les sessions pot haver repercutit en les modificacions observades, ja que la CRP i el SAA en plasma varen augmentar immediatament després de la sessió de CC i disminuir després de la de CI. Considerant les dues sessions d'entrenament conjuntament, es podria concloure que l'exercici físic no va produir canvis de les concentracions plasmàtiques de CRP o de SAA. A més aquestes es varen mantenir dins del rang de la normalitat (CRP:  $<8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; SAA:  $<8 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ). Altres investigadors també assenyalen que l'activitat física de moderada intensitat i durada no modifica els nivells plasmàtics de CRP (Castell et al., 1997; Davis et al., 2008; Drenth et al., 1998; Niess et al. 2003a). Tampoc en una sessió d'entrenament en intervals Henson et al. (2000) varen observar canvis significatius dels nivells plasmàtics de CRP. Les activitats físiques en les que s'han descrit increments de CRP o de SAA en plasma són activitats físiques molt més perllongades que les sessions de CC i CI (Goussetis et al. 2009; Suzuki et al., 2006). Els valors més elevats s'han registrat particularment, en les fases tardanes (8-12 hores) de la recuperació.

La correlació positiva entre els canvis dels nivell plasmàtics de IL-6 i de CRP als 60 minuts de recuperació podria ser un reflex de l'efecte estimulador de la producció de CRP per part de la IL-6 (Taula 44). No obstant l'associació és moderada i la poca magnitud dels canvis dels nivells plasmàtics de CRP en comparació als de la IL-6 sembla indicar que durant l'esforç l'efecte és dèbil. Aquests resultats concorden en part amb les observacions de Niess et al. (2003a).

Algunes associacions indicades a les Taules 50 i 51 semblen corroborar lleugerament la vinculació entre ambdós marcadors d'inflamació. No obstant, l'absència d'un augment significatiu dels nivells plasmàtics de CRP i SAA suggereix que les sessions d'entrenament de càrrega global moderada, independentment de la intensitat i distribució de l'esforç, no causen

una reacció de fase aguda complerta/destacada.

Malgrat les limitacions dependents del reduït nombre de participants i de la variabilitat de les respostes individuals, a partir de les dades obtingudes en les dues sessions d'entrenament es pot concloure que la resposta de les citocines a l'exercici físic ve determinada en part per la durada efectiva de l'esforç i per la tensió muscular efectuada durant les accions musculars. Ambdues sessions corresponen a esforços de càrrega global moderada i es diferencien per la intensitat i la distribució dels períodes de treball físic.

Sembla que les citocines IL-6 i IL-10 són més sensibles a la durada de l'esforç que a la seva intensitat. Si la càrrega ha estat moderada, els canvis de les seves concentracions no s'acompanyen d'una reacció de fase aguda, ni d'un ambient pro-inflamatori complets. És possible que, en aquest tipus d'activitats, l'adaptació de les citocines IL-6 i IL-10 respongui més a factors d'origen metabòlic que de tipus inflamatori.

Per altra banda, si les accions musculars generen nivells de tensió muscular elevats, encara que la durada efectiva de l'esforç sigui menor, es causa un major estrès muscular que afavoreix la producció de TNF- $\alpha$  i IL-8. És poc probable que l'elevació moderada i transitòria dels nivells plasmàtics de TNF- $\alpha$  immediatament després de l'esforç tingui repercussions negatives per als processos metabòlics i de renovació muscular. En contraposició, les IL-6 i IL-10 no s'eleven tant.

Globalment, l'absència de canvis significatius dels nivells plasmàtics de CRP i SAA suggereix que les sessions d'entrenament de càrrega global moderada, independentment de la intensitat i distribució de l'esforç, no causen una reacció de fase aguda complerta/destacada. Es doncs poc probable que la pràctica regular de sessions d'entrenament aeròbic en intervals afavoreixi una situació d'inflamació crònica per mitjà d'aquest mecanisme. Tanmateix cal considerar que els participants en aquest estudi presentaven un bon nivell de forma física.

Els canvis són transitoris, i en tots els casos, als 180 minuts de finalitzar l'esforç, les concentracions plasmàtiques de les citocines i proteïnes de fase aguda analitzades s'han normalitzat.

## **5.6 Estat redox**

Com s'ha indicat prèviament (Apartat 1.4.4, pàgina 116) l'activitat física, especialment si és intensa i de llarga durada, té potencialitat per a modificar l'estat redox de l'organisme. En les sessions d'entrenament analitzades s'han detectat canvis en alguns biomarcadors de l'estat redox que es comenten a continuació.

### **5.6.1 Àcid úric**

En el transcurs de les primeres hores de recuperació de les sessions d'entrenament analitzades en aquest estudi s'aprecia un increment, encara que moderat de la concentració

d'àcid úric en sang. Aquest augment és més evident passats 60 minuts de l'esforç que immediatament després de la seva finalització.

Diversos investigadors també han assenyalat que l'àcid úric plasmàtic augmenta després de l'esforç. Els augments descrits varien de +11% fins a +75% respecte als valors inicials (Aguiló et al., 2005; Baker et al., 2004; Chevion et al., 2003; Child et al., 1998; Mastapoulis et al., 2001; Neubauer et al., 2008b; Watson et al. 2005). En alguns casos no s'han detectat canvis (Hellsten et al., 1997a) o s'han observat disminucions d'un 10% respecte als nivells plasmàtics d'àcid úric previs a l'esforç ( Groussard et al., 2003; Watson et al., 2005). I com es mostra a la Figura 40 a les activitats físiques en intervals també es produeix un increment de la concentració d'àcid úric en plasma semblant als resultats obtinguts en les sessions d'entrenament de CC i CI del present estudi.

En general, en aquells estudis en els quals es varen prendre dades durant les primeres hores de recuperació (Aguiló et al., 2005; Hellsten, et al., 1998; Thompson et al., 2003; Watson et al., 2005) destaca que als 60-120 minuts de finalitzar l'esforç, els nivells d'àcid úric en plasma encara es mantenen elevats respecte als valors previs a l'exercici físic. La qual cosa concorda amb les dades observades en la recuperació de les sessions d'entrenament analitzades en aquest estudi (Figura 80).

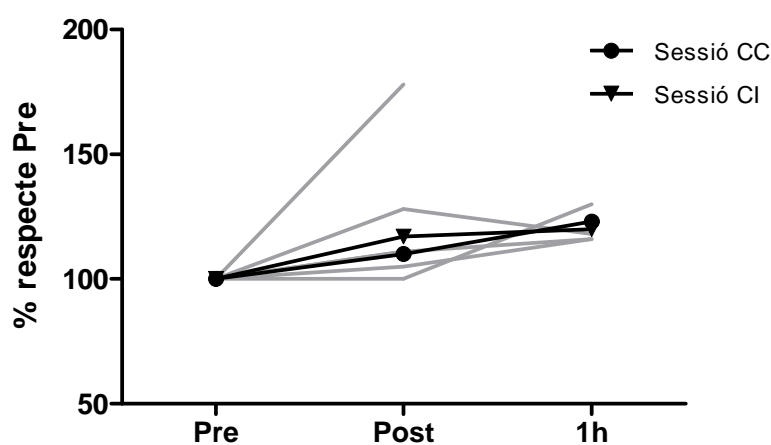


Figura 80. Evolució de l'àcid úric en plasma en la recuperació de l'esforç.

En negre s'indiquen les sessions d'entrenament analitzades; en gris els resultats obtinguts per altres investigadors. CC: carrera contínua; CI: carrera en intervals

Dades extretes d'Aguiló et al. (2005), Hellsten, et al. (1998), Thompson et al. (2003) i Watson et al. (2005).

L'evolució de les concentracions plasmàtiques d'àcid úric en la recuperació de les dues sessions d'entrenament va ser semblant. Per tant no sembla que la major intensitat de la sessió de CI repercuteixi en la presència d'àcid úric en sang.

Les dades obtingudes per altres investigadors tampoc permeten establir conclusions respecte a la influència de la intensitat i la durada de l'esforç sobre les concentracions plasmàtiques d'àcid úric. La majoria analitzen activitats físiques en esforços perllongats, i sembla que tant la

intensitat, com la durada, poden afavorir un major creixement dels nivells plasmàtics d'àcid úric (marxa de 50 km versus *Ironman*; marxa de 50 km versus 80 km). En activitats supramàximes, les dades tampoc són concloents, ja que s'han observat creixements (Baker et al., 2004) i disminucions (Groussard et al., 2003) dels nivells plasmàtics d'àcid úric immediatament després del test de Wingate.

La concentració d'àcid úric en plasma depèn de l'equilibri entre l'entrada a la sang (producció) i la seva sortida (utilització, difusió als teixits i excreció [orina, femta]). Durant i en la recuperació de l'exercici físic, la concentració plasmàtica d'àcid úric pot variar a resultes de l'activació del catabolisme de les purines i de la formació de novo al fetge, per alteracions de la depuració renal o per mecanismes d'oxid-reducció.

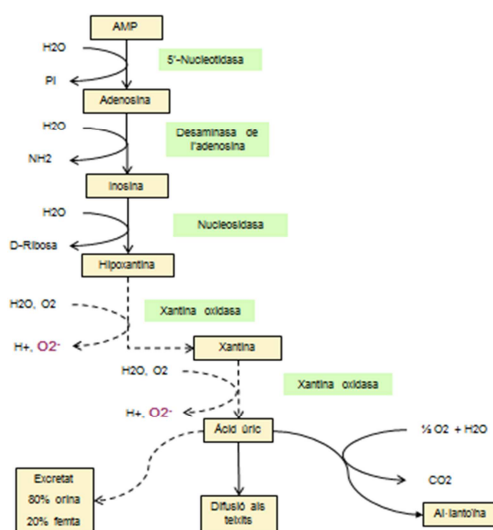


Figura 81. Metabolisme de les purines (només adenina) i formació d'àcid úric. En ---- s'indiquen les reaccions que no tenen lloc al múscul esquelètic dels humans. Adaptat de Lehninger (1982).

Durant l'exercici físic augmenta el catabolisme dels nucleòtids de l'adenina en el músculs actius, amb la consegüent formació i acumulació d'IMP (inosina monofosfat) intracel·lular. Com que, en humans, el múscul esquelètic no pot produir àcid úric, ja que no disposa de xantina deshidrogenasa/oxidasa (Hellsten, Ekblom, Kaijser & Sjodin, 1994), el catabolisme de les purines donarà lloc a la formació d'hipoxantina, que serà alliberada a la sang. Els hepatòcits, oxiden la hipoxantina a àcid úric i el descarreguen a la sang. La formació d'àcid úric al fetge és proporcional a la concentració plasmàtica d'hipoxantina (Hellsten, Ekblom, Kaijser & Sjodin, 1994). A continuació, l'àcid úric format al fetge pot ser excretat per l'orina i la femta, o podrà difondre cap als teixits, entre ells el múscul esquelètic actiu (Figura 81).

A banda de l'increment del metabolisme de les purines, l'exercici físic també pot afavorir les fluctuacions de l'àcid úric plasmàtic per reaccions d'oxid-reducció, o per alteracions de la depuració renal. Per exemple, s'ha descrit que els nivells elevats de lactat inhibeixen

competitivament la secreció renal d'urat (González-Tallada & González-Sastre, 1993).

Hellsten i els seus col·laboradors han realitzat un conjunt d'investigacions en les que varen analitzar simultàniament les concentracions musculars i en sang venosa i arterial d'àcid úric, hipoxantina, al·lantoïna, glutatió i altres marcadors (Hellsten et al, 1997a, 1997b, 1998, 1999, 2001). A partir dels resultats d'aquests estudis varen apreciar que el metabolisme de l'àcid úric és diferent durant l'esforç de naturalesa contínua i supramàxim ( $>100\%VO_{2max}$ ), en comparació al d'elevada intensitat, però inferior al  $100\%VO_{2max}$ . Tal com es representa en els models de la Figura 82, en l'esforç d'elevada intensitat la producció intramuscular d'hipoxantina augmentaria a causa del major catabolisme de les purines i podria ser alliberada a la sang. No obstant Hellsten et al. (2001) no varen enregistrar cap flux net de sortida d'hipoxantina del múscul cap al plasma, ni d'entrada d'àcid úric del plasma al múscul. Els investigadors suggereixen que la hipoxantina podria ser metabolitzada per l'enzim xantina deshidrogenasa/oxidasa, localitzada a nivell endotelial, i que l'àcid úric format podria difondre directament al múscul per a protegir-lo dels radicals lliures. Aquest mecanisme també explicaria la causa de que els nivells intramusculars d'àcid úric no es modifiquin malgrat ser utilitzat com a antioxidant i transformat en al·lantoïna. Segons Hellsten et al. (2001) l'augment de les concentracions intramusculars d'al·lantoïna, junt amb l'absència de la disminució dels dipòsits intramusculars d'àcid úric suggereix que s'han produït espècies reactives de l'O<sub>2</sub> que han estat neutralitzades amb àcid úric, i que el ritme de restitució del mateix dins la fibra muscular ha estat suficient per compensar el que s'ha utilitzat. També és possible que en l'exercici físic intens, el flux d'hipoxantina procedent del múscul sobrepassi la capacitat de la cèl·lula endotelial per a formar àcid úric; l'excedent d'hipoxantina seria alliberada al plasma i al seu torn aquesta seria metabolitzada a àcid úric al fetge.

Per contra, si la intensitat de l'esforç és supramàxima ( $>100\%VO_{2max}$ ), durant l'activitat física disminueixen els dipòsits d'àcid úric intramusculars, suggerint que aquest ha estat utilitzat com a antioxidant, a un ritme que supera la capacitat dels enzims endotelials per a restituir-lo de nou a partir de la hipoxantina.

Per altra banda, també Hellsten et al. (1998) han observat que en l'esforç físic intermitent i d'elevada intensitat es produeix un flux significatiu de purines, principalment hipoxantina, del múscul actiu cap a la sang, associat a una captació important d'àcid úric de la sang cap al múscul esquelètic actiu. Si l'esforç és de naturalesa contínua i d'elevada intensitat, però curta durada ( $<20'$ ) aquest flux d'hipoxantina cap a la sang apareix durant la recuperació de l'esforç (Hellsten et al., 1999, 2001). De la mateixa manera, el flux d'entrada d'àcid úric del plasma al múscul tampoc es detecta immediatament després de l'esforç, sinó que apareix més tard durant la recuperació (Hellsten et al., 1999, 2001).

Les sessions d'entrenament analitzades varen ser de major durada (60 minuts versus 20' o 5') i menor intensitat que els esforços analitzats per Hellsten et al. (1997b, 1998, 1999, 2001). Però és possible que durant l'esforç la hipoxantina produïda fos transformada en àcid úric a nivell

endotelial i que posteriorment en la recuperació aquesta fos alliberada a la sang. L'augment de les concentracions plasmàtiques d'àcid úric observades en la recuperació de les sessions d'entrenament pot reflectir que la síntesi hepàtica a partir de la hipoxantina és superior a la seva utilització o excreció.

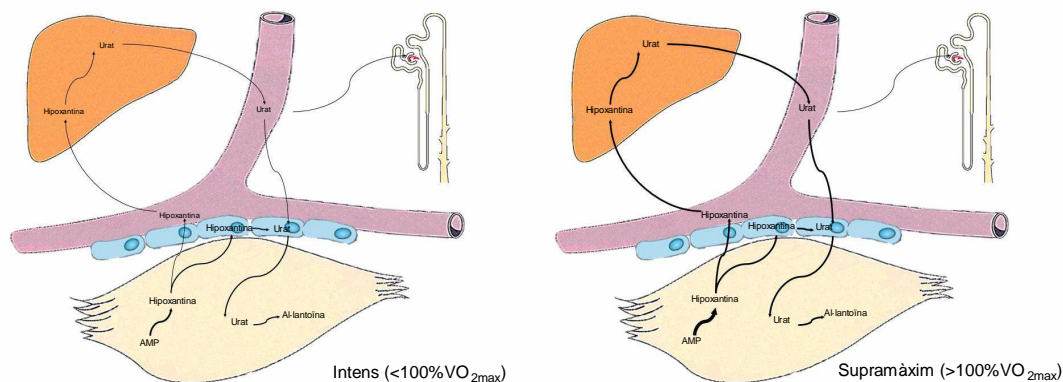


Figura 82. Model hipotètic del metabolisme de l'àcid úric durant l'exercici físic continu en humans. (Adaptat de Hediger, Johnson, Miyazaki & Endou, 2005; Hellsten et al., 2001).

La producció d'àcid úric pel fetge té una doble funció; (a) evitar l'acumulació de productes intermediaris de les purines formats durant l'esforç i, (b) mantenir, o augmentar, la capacitat antioxidant del plasma, i dels teixits. L'àcid úric és un dels principals antioxidants del plasma i del múscul (Finaud et al., 2006). Com a antioxidant no enzimàtic pot actuar directament sobre el superòxid, l'àcid hipoclorós, el radical peròxid, el peròxid nítric o l'ozó (Finaud et al., 2006); o indirectament, gràcies a la seva capacitat per formar complexos estables amb els ions fèrrics i actuant com a protector de les reaccions catalitzades pel ferro (Finaud et al., 2006). El fet que la concentració plasmàtica s'elevi, és compatible amb el fet que es restitueixin els dipòsits intracel·lulars d'urat gastats. No obstant, les fluctuacions plasmàtiques d'hipoxantina i d'àcid úric no reflecteixen completament els canvis que s'han produït a nivell muscular, ja que com s'ha indicat la síntesi d'àcid úric també pot tenir lloc localment a nivell endotelial.

En el present estudi no s'ha mesurat específicament l'al·lantoïna en el plasma i en l'anàlisi de metabolòmica no dirigida no hi ha cap característica molecular diferencial entre els metabolomes de repòs i el posterior a l'esforç que pugui atribuir-se a l'al·lantoïna (158,11 Da). Aquest fet podria indicar una manca d'increment o la seva eliminació per via urinària.

L'augment de l'àcid úric en plasma observat en la recuperació de la sessió de CI, on la intensitat dels intervals es situava lleugerament per sobre del llindar de lactat es podria atribuir a una major producció d'hipoxantina conseqüència d'un major catabolisme de les purines, en comparació al grau que es produeix si l'esforç es realitza a una intensitat una mica per sota del

llindar de lactat. Aquest augment facilitaria la producció d'àcid úric al fetge i el manteniment de la capacitat antioxidant del plasma.

Els participants amb millor condició física varen mostrar alteracions de l'àcid úric en sang inferiors a les dels altres participants (Apartat 4.5.1, pàgina 209). Aquest fet es podria atribuir a una menor producció de productes de degradació de les purines, o que la hipoxantina generada ha estat transformada a àcid úric a nivell endotelial i aquest ha retornat al múscul sense passar per la sang, reforçant en aquest cas la importància de l'entrenament esportiu per una millor tolerància a l'estat pro-oxidant associat a l'exercici.

### **5.6.2 Capacitat de reducció fèrrica del plasma**

En aquest estudi no es varen observar canvis estadísticament significatius de la capacitat de reducció fèrrica del plasma (FRAP) en resposta a les dues sessions d'entrenament. Aquestes dades concorden amb les obtingudes per Alessio et al. (1997), Hellsten, et al. (1997b), McAnulty et al. (2005), Satchek et al. (2003) i Waring et al. (2003), però difereixen de les proporcionades per altres investigadors que han observat un increment de la capacitat antioxidant plasmàtica en la recuperació de diverses d'activitats físiques, la majoria de les quals són de llarga durada (Neubauer et al., 2008b; Nieman et al., 2003; Vasankari et al., 1997).

Les sessions d'entrenament analitzades són activitats físiques menys perllongades i exigents que les activitats de llarga durada, com les maratons o ultramaratons dels estudis citats abans (Neubauer et al., 2008b; Nieman et al., 2003; Vasankari et al., 1997). Pot ser possible que en les sessions d'entrenament del present estudi, l'ambient pro-oxidant no hagi estat suficient per a consumir els recursos antioxidants del plasma, o mobilitzar-los intensivament d'altres localitzacions. No obstant, en un estudi de cursa contínua a una intensitat del 80%VO<sub>2max</sub>, similar a la intensitat de la sessió d'entrenament de CI del present estudi, McAnulty et al. (2007) varen apreciar un increment del 12% de la FRAP.

L'exercici físic té potencialitat per a produir radicals lliures, com s'ha descrit a la introducció. Si aquesta producció és molt important es podria esperar que durant l'esforç els recursos antioxidants plasmàtics fossin utilitzats, i que per aquest motiu immediatament després de l'exercici físic la capacitat antioxidant del plasma disminuís transitòriament. També podria passar, que per tal de protegir les cèl·lules de la sang i els teixits enfront als radicals lliures es mobilitzessin els recursos antioxidants d'altres compartiments cap al plasma, i en aquest cas la capacitat antioxidant total augmentaria.

Cap d'aquests fets es varen produir en les sessions d'entrenament analitzades i la capacitat antioxidant en plasma es va mantenir estable. Existeix doncs la possibilitat que la càrrega de l'esforç de les sessions, independentment de la diferència d'intensitat i distribució de l'esforç, no hagi ocasionat un efecte pro-oxidant suficient per a desencadenar un esgotament dels nivells d'antioxidant en el plasma, o una mobilització "massiva" des d'altres compartiments.

Per altra banda, la manca de canvis estadísticament significatius de la FRAP, en part es podria

atribuir a la variabilitat intra e interindividual, o també a la sensibilitat de la tècnica analítica.

La FRAP reflecteix l'acció global de diversos antioxidants, però segons Benzie & Strain (1996) la major contribució prové de l'àcid úric. En la present tesi, els canvis de la FRAP no han estat concloents; mentre que els nivells d'àcid úric en plasma varen augmentar significativament durant la recuperació d'ambdues sessions d'entrenament. Malgrat la diferent evolució d'ambdós paràmetres, existeix una associació lineal positiva entre els canvis de les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i les de FRAP en diversos moments de la recuperació. Aquesta associació és més potent quan els increments de l'àcid úric en plasma varen ser més marcat (sessió de CI versus sessió de CC). També és possible que altres antioxidants presents al plasma, com la vitamina C, (o E), disminuïssin, al mateix temps que l'àcid úric augmentava i per aquest motiu la capacitat antioxidant global no es veies afectada per l'esforç. Tanmateix, en l'aproximació de metabòlica no dirigida no es va detectar cap canvi en aquest sentit.

El nivell de forma física no va influir en l'adaptació de la capacitat de reducció fèrrica del plasma, malgrat que l'àcid úric es va modificar en menor mesura en el subgrup d'atletes amb excel·lent condició física. També en aquest cas, és possible que altres antioxidants, com la vitamina C, fossin mobilitzats en major mesura, i així es va compensar el menor creixement d'àcid úric; o que l'estat pro-oxidant fos més atenuat en aquest grup d'esportistes. No obstant, cal no oblidar que no es va estandarditzar la dieta, per la qual cosa la ingesta de micronutrients amb capacitat de modular l'estat redox podria diferir en ambdues situacions o entre els participants.

### **5.6.3 Grups carbonil proteics**

Tal com s'ha indicat en resposta a l'esforç físic de les sessions d'entrenament, la immunoreactivitat per a grups carbonil proteics en el plasma no es va modificar significativament després de la sessió de CC, mentre que va augmentar en la recuperació de la sessió d'entrenament de CI.

A la sessió d'entrenament de CC existeix una gran variabilitat de la resposta entre els participants que dificulta la generalització dels resultats.

Les dades observades concorden amb les aportades per grups d'investigadors, especialment el grup de Bloomer i col·laboradors, que han abordat l'estudi de la presència de grups carbonil proteics en plasma durant i en la recuperació de l'exercici físic de diferent naturalesa, durada e intensitat. A partir dels seus resultats sembla que tant la intensitat, com la durada de l'esforç són determinants de l'increment de grups carbonil en plasma que es produeix immediatament després de l'esforç, i el qual es pot mantenir durant algunes hores (8h) després de la seva finalització.

En les activitats físiques de naturalesa contínua i d'intensitat baixa-moderada, com la sessió d'entrenament de CC, s'han descrit increments de grups carbonil proteics en persones sedentàries; mentre que en les persones entrenades l'elevació dels grups proteics només



s'aprecia si la intensitat és elevada (Fisher-Wellman & Bloomer et al., 2009). Per altra banda, per una mateixa intensitat, la presència de grups carbonil proteics en plasma és superior a mesura que s'allarga la durada de l'esforç; així immediatament després de 30, 60 o 120 minuts de pedaleig en cicloergòmetre al 70%VO<sub>2max</sub>, Bloomer et al. (2007) varen observar increments dels grups carbonil proteics en plasma de 160%, 196% i 244% respectivament. Als 60 minuts de recuperació els PC=O plasmàtics havien disminuït, però es mantenien encara un 60%, 92% i 180% per sobre dels valors inicials.

Els canvis observats en les sessions d'entrenament analitzades són molt inferiors als indicats per Bloomer et al (2007) i s'acosten més als assenyalats per altres investigadors, com Sureda et al. (2005). De fet el grup de Bloomer destaca per aportar sempre resultats més elevats que els d'altres investigadors.

Les dades obtingudes en el present estudi suggereixen que per una mateixa càrrega global, el nivell de tensió muscular efectuat en les accions musculars és un factor que pot influir sobre l'atac oxidatiu a les proteïnes. Així, per una mateixa càrrega global, moderada i de finalitat mixta, quan la intensitat de l'esforç és elevada i supera el llindar de lactat individual, sembla que l'ambient pro-oxidant és suficient per causar modificacions oxidatives a les proteïnes presents al plasma, mentre que si la intensitat és baixa-moderada no es detecten aquestes modificacions.

El grau de condició física, i la especificitat de l'esport practicat habitualment, també varen repercutir en la immunoreactivitat per a grups carbonils. Així, tot i que la intensitat es va determinar individualment per a cada participant, els canvis de la immunoreactivitat per a grups carbonils varen ser menor en els atletes amb excel·lent condició física en comparació als observats en els futbolistes. Aquesta dada suggereix que en els atletes l'ambient pro-oxidant va ser menor, segurament perquè els seus músculs estan més avesats a mantenir un grau de tensió elevat (velocitat de cursa) durant més temps que els futbolistes. Suposant que la font principal de radicals lliures fos el múscul actiu, també és possible que els atletes poguessin neutralitzar millor un atac oxidatiu, com podria suggerir el fet que la concentració d'àcid úric en plasma va augmentar en menor mesura en els atletes respecte als futbolistes. Com s'ha proposat més amunt, la hipoxantina generada al múscul actiu podria ser transformada a àcid úric a nivell endotelial, i aquest retornar a la fibra muscular on exerciria funcions antioxidant, i tot això sense passar per la sang. Aquestes troballes de nou reforcen la importància de l'entrenament, com a inductor d'una major tolerància a l'ambient pro-oxidant, aquest cop amb evidències moleculars.

L'increment de immunoreactivitat enfront als grups carbonils proteics mostra una associació positiva amb les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques d'àcid úric i de FRAP. No obstant l'augment de l'àcid úric i el manteniment de la FRAP en plasma no varen poder impedir completament l'atac oxidatiu a les proteïnes i l'elevació de la immunoreactivitat enfront als grups carbonil en plasma, tal com també indiquen Alessio et al. (2000) i Neubauer et al.

(2008b). No obstant, és palès que l'estat antioxidant del plasma no reflecteix, per se, la situació antioxidant en altres localitzacions de l'organisme; intracel·lular, intersticial, entre altres. I és molt possible que l'atac oxidatiu a les proteïnes es produeixi fora del plasma; en la fibra muscular, per exemple; i posteriorment les molècules danyades difonguin al plasma, per bé que el mecanisme d'exportació selectiva és desconegut. Per demostrar-ho caldria fer un estudi de proteonòmica redox del plasma, que es troba fora de l'abast actual d'aquesta tesi.

Lamentablement degut als problemes sorgits amb les patrons de plasma reduït (PPR) i oxidat (PPO) durant els procediments analítics dels grups carbonils, no va ser possible quantificar la magnitud de PC=O proteics. Al llarg de les valoracions, la patró PPR mostrava una immunoreactivitat enfront grups carbonils superior a la dels plasmemes. Aquest efecte va empitjorar a mesura que es repetien els anàlisis i es varen anar fent processos de congelació-descongelació de les mostres.

L'opció d'utilitzar patrons plasma com a referència es va prendre a partir dels suggeriments d'Alamdari et al. (2005), i amb la finalitat de disposar d'unes patrons que fossin el màxim de similars a la composició proteica de les mostres d'estudi. El plasma és format per un conjunt heterogeni de proteïnes que presenten diferents susceptibilitat per oxidar-se, i segons Shacter (2000) el fibrinogen té molta més facilitat per oxidar-se que altres proteïnes plasmàtiques abundants (albúmina, immunoglobulines, transferrina).

El fet que la immunoreactivitat enfront carbonils proteics anés augmentant en les PPR a mesura que es repetien els procediments d'anàlisi, pot indicar que malgrat haver-les reduït totalment, les proteïnes de la patró s'anaven oxidant amb els processos de congelació-descongelació. En els plasmemes d'estudi el possible efecte oxidant no es produïa, o no era tant marcat, perquè al plasma complet a més de les proteïnes, també conté compostos antioxidants que poden haver-les protegit de l'oxidació. Per contra en el procés d'elaboració de la PPR s'havien aïllat les proteïnes plasmàtiques i descartat els compostos antioxidants del plasma. Per tant, és possible que aquestes quedessin més "desprotegides" malgrat l'addició d'antioxidants exògens.

Tot i que hagués estat convenient, no es va tornar a repetir el procés d'elaboració de patró plasma reduïda, ni es va preparar BSA patró reduïda, a causa de que les reserves de plasmemes d'estudi congelats eren insuficients, i també havien sofert molts processos de congelació-descongelació, per a repetir tot el procediment. Es per aquest motiu que en aquest estudi s'ha valorat la immunoreactivitat per a grups carbonil i els resultats s'han expressat en percentatge de canvi en relació als valors previs a l'esforç.

## 5.7 Metabolòmica

Els resultats obtinguts en l'aproximació de metabolòmica no dirigida dels plasmemes corresponents a les dues sessions d'entrenament destaquen la gran potencialitat de la metabolòmica, però al mateix temps fa sobresortir les importants limitacions actuals. Tal com es

podia esperar, el present estudi posa de relleu que existeixen diferències entre els metabolomes plasmàtics previs i posteriors a l'esforç. Les diferències venen determinades per un gran nombre de molècules que augmenten o disminueixen després de l'esforç físic; les quals a més, reflecteixen la diferent natura de l'activitat física realitzada, CC versus CI. En contraposició, també s'han posat de manifest les febleses de la tecnologia emprada, ja que per una banda no s'han pogut detectar els components del plasma amb massa molecular inferior als 100 Da, i per l'altra, al tractar-se d'una aproximació metabolòmica no dirigida, la manca d'estàndards interns no ha permès identificar amb certesa les molècules que varien a conseqüència de l'esforç físic realitzat.

No obstant, a continuació es presenten algunes reflexions derivades de les dades obtingudes. En el present estudi s'han descobert més de 70 molècules (de 100 a 3000 Da) diferencials entre els moments previ i posterior a l'esforç físic presents en la majoria (75%) de les mostres, i que a més es modifiquen substancialment (x2) amb l'exercici físic. Com ja s'ha indicat, al realitzar una aproximació de metabolòmica no dirigida, no ha estat possible identificar-les amb certesa, i tant sols s'ha pogut extrapolar la naturalesa d'un percentatge reduït de molècules. Així doncs, a partir dels les dades obtingudes, s'aprecia que les diferències entre els metabolomes plasmàtics previs i posteriors a l'exercici físic de càrrega global moderada, venen determinades per molècules de tipus lipídic. Això també era d'esperar, ja que en el sèrum predominen les espècies lipídiques (Psychogios, et al. 2011). En el plasma/sèrum també hi ha compostos no lipídics abundants; aminoàcids, glucosa, glicerol, lactat, urat, urea, creatinina, gasos i ions orgànics; però molts d'ells tenen una massa molecular inferior a 100 Da i no ha estat possible localitzar-los amb la tècnica de detecció (LC/MS) emprada en el present estudi. Per exemple, el L-lactat té una massa molecular de 90,07 Da que es troba per sota del llindar mínim de detecció (100 Da) de la tècnica emprada.

Les molècules amb característiques lipídiques que es modifiquen amb l'esforç són compatibles amb àcids grassos, acil-glicerols, glicero-fosfolípids i compostos acil-carnitina, i acetil-carnitina. Dels suposats compostos lipídics extrapolats que augmenten a posteriori de l'esforç, i que a més són comuns a les dues sessions d'entrenament, tots augmenten amb major magnitud després de la sessió d'entrenament de CC en comparació a la de CI. La qual cosa podria indicar una major mobilització dels lípids des de les seves reserves, per a ser emprats com a font d'energia, a la cursa contínua respecte a la cursa en intervals. Això coincidiria amb els resultats obtinguts per Romijn (citada a Barnard & Holloszy, 2003) i van Loon (2001) que es mostren a Figura 10, segons el qual el ritme d'oxidació dels greixos és superior a intensitats moderades ( $43 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  a  $65\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ) en comparació al registrat en intensitats més elevades ( $30 \mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$  al  $85\% \text{VO}_{2\text{max}}$ ). En tot cas, estarien d'acord amb l'estimulació de la lipòlisi.

Els presumptes àcids grassos no esterificats (NEFA) que augmenten després de les sessions d'entrenament, i determinen la diferència entre els metabolomes previ i posterior a l'esforç físic

serien àcids grassos de 14 a 18 carbonis, la majoria insaturats. Alguns són abundants en el plasma (oleic, esteàric, i en menor mesura el linoleic) però d'altres habitualment hi són presents en petites quantitats (miristoleic, palmitoleic, làuric i decenoic).

Lehmann et al. (2010), emprant tècniques analítiques convencionals, varen registrar un augment important i significatiu del conjunt d'àcids grassos no esterificats al finalitzar l'esforç. Mougiou & Kotzamanidis (1995) varen analitzar més específicament la resposta dels àcids grassos a l'esforç físic i aplicant també tècniques analítiques convencionals, varen apreciar després d'un partit d'handbol (30' x 2 parts) un major augment dels àcids grassos insaturats (oleic (18:1) i linoleic (18:2)) que dels saturats. En conseqüència, l'índex àcids grassos insaturats/saturats s'incrementava de 1,1 en repòs a 1,6 immediatament després de l'esforç.

Un dels NEFA pressuposats, que podria augmentar després de les sessions d'entrenament analitzades és l'àcid palmitoleic o palmitoleat (16:1). Si fos així, l'àcid palmitoleic augmentaria en major mesura després de la sessió d'entrenament de CC (x7), que de la sessió de CI (x3). Aquest NEFA és un àcid gras mono-insaturat (16:1) comú en la composició dels acil-glicèrids del teixit adipós. A partir dels resultats d'estudis fets en ratolins, Cao et al. (2008) han evidenciat la participació de l'àcid palmitoleic en les xarxes de comunicació entre òrgans, atribuint-li un paper endocrí. L'àcid palmitoleic alliberat pels adipòcits afavoreix la sensibilitat a la insulina en el teixit muscular i hepàtic, contribuint així a la millora del control de la glicèmia dels animals estudiats. El seu augment en els humans en resposta a l'esforç físic podria ser un reflex de l'estimulació de la lipòlisi, i de la mobilització dels recursos energètics, i podria també tenir un rol en la millora a la sensibilitat a la insulina que es produeix durant i en la recuperació de l'esforç. No obstant, en humans és difícil determinar els efectes metabòlics de l'àcid palmitoleic, ja que pot tenir efectes desiguals segons el seu origen, hepàtic o adipós, i de la complexitat de la seva regulació (Mozzaffarian et al., 2010).

En els humans, a llarg terme, els nivells plasmàtics d'àcid palmitoleic elevats s'han associat amb diversos factors de risc metabòlic de forma divergent; ja que per una banda s'associen positivament amb indicadors de baix risc metabòlic (menys LDL, més lipoproteïnes d'alta densitat (HDL), menor índex colesterol total/HDL-colesterol) i per l'altra també mostren una associació amb indicadors d'alt risc metabòlic (nivells de triglicèrids en plasma elevats, major resistència a la insulina) (Mozzaffarian et al., 2010). No obstant, els nivells plasmàtics d'àcid trans-palmitoleic, el qual és d'origen exogen, es relacionen positivament amb una reducció dels factors de risc metabòlic, independentment del consum de productes làctics de la dieta (Mozzaffarian et al., 2011).

Després de les sessions d'entrenament, també hi ha canvis en la concentració d'alguns acil-glicerols (tri-acil-glicerols [TG] i di-acil-glicerols [DG]). Algunes espècies de TG augmenten, mentre que certs DG augmenten i d'altres disminueixen. L'augment dels TG podria ser un indicador de que l'alliberació de TG del teixit adipós supera la seva captació pel múscul actiu. El glicerol plasmàtic és un biomarcador del grau d'activació de la lipòlisi utilitzat amb freqüència.

En l'estudi de metabolòmica ddut a terme per Lewis et al. (2010) es va detectar un augment de glicerol plasmàtic després d'una maratón i de dues proves d'esforç progressives màximes. L'augment va ser superior en les persones amb bona condició física. En el present estudi no s'ha pogut valorar la participació del glicerol en el metaboloma plasmàtic, ja que, en aquest cas, la seva massa molecular (92,04 Da) és inferior al llindar de detecció de les tècniques emprades.

Uns altres compostos de característiques lipídiques que podrien formar part dels metabòlits que es modifiquen després de les sessions d'entrenament són compostos associats a la carnitina; com l'acetil-carnitina i els acil-carnitina. La L-acetil-carnitina s'incrementa després de les dues sessions d'entrenament; una mica més després de la sessió de CI. Els compostos acil-carnitina extrapolats, també augmenten després de l'esforç, i són diferents segons la sessió d'entrenament. Aquests canvis estan en concordança amb els resultats obtinguts per Lehmann et al. (2010) després d'un esforç de característiques similars al de la sessió d'entrenament de CC. Lehman et al. (2010) varen apreciar que la causa principal de la diferenciació dels metabolomes previs e immediatament posteriors a l'esforç era l'increment de la concentració en plasma de diverses espècies d'acil-carnitina de cadena mitjana-llarga (C8-C12/14). En base als resultats obtinguts per Lehmann (2010) es podia esperar que els canvis dels compostos acil-carnitina fossin un tret diferencial del metaboloma posterior a l'esforç físic, almenys a la sessió de CC. En aquest estudi s'ha identificat un possible increment de decanoil-carnitina (C10) després de la sessió de CC i de propionil-carnitina (C3) després de la sessió de CI, però no s'han identificat molècules diferencials que podrien correspondre als altres compostos acil-carnitina.

La sessió de CC, 60 minuts de carrera contínua al 90% de la  $V_{IAT}$  té característiques de càrrega molt similars a les de l'esforç realitzat en l'estudi de Lehmann et al. (2010) que consistia en 60 minuts de carrera en tapis al 93% de la  $V_{IAT}$ . De tots els compostos acil-carnitina que es modifiquen, el decanoil-carnitina és el que varia amb major magnitud, i podria coincidir amb el que en el present estudi s'eleva després de la sessió de CC. Hiatt, Regensteiner, Wolfel, Ruff, & Brass (1989) també observen augments dels acil-carnitina de cadena mitjana-llarga en plasma en la recuperació de 60 minuts d'esforç al 50% IAT. Els canvis no s'acompanyen d'alteracions en els compostos acil-carnitina de cadena curta.

Per la seva banda, els resultats obtinguts a la sessió de CI també concorden amb les dades aportades per Hiatt et al. (1989) i Friolet, Hoppeler & Krähenbühl (1994). Aquests autors, utilitzant tècniques bioquímiques convencionals, han descrit elevacions pronunciades dels acil-carnitina de cadena curta en plasma, després de l'exercici físic mantingut d'elevada intensitat, semblant al de la sessió CI. Els increments dels acil-carnitina de cadena curta no s'associaven a canvis en els de cadena llarga (Friolet et al., 1994). Per contra, el creixement dels acil-carnitina de cadena curta es va relacionar amb un augment de l'acetil-carnitina i a una disminució del contingut muscular de carnitina lliure. En contraposició, Lehmann et al. (2010)

no indiquen l'existència de canvis significatius de l'acetil-carnitina en el metaboloma posterior a l'esforç, com sembla que es podria produir al finalitzar les sessions d'entrenament de CC i CI.

La presència d'acils-carnitina i d'acetil-carnitina al plasma pot estar produïda per la seva sortida des del múscul cap a la sang, i reflectir indirectament els canvis del metabolisme muscular (Figura 83). La formació d'acils-carnitina és una etapa necessària per a la translocació dels grups acil-CoA dels àcids grassos des del citoplasma a la matriu mitocondrial. L'augment del flux de sortida d'acils-carnitina del múscul a la sang pot tenir lloc quan l'entrada d'acetil-CoA al mitocondri excedeix la capacitat d'oxidació completa dels àcids grassos. Aquest fenomen pot ocórrer durant l'exercici físic, degut a una sobre oferta de substrats, que donaria lloc a un augment d'acils-carnitina de cadena llarga al plasma (Soeters, Sauerwein, Duran, Wanders & Ackermans, 2009).

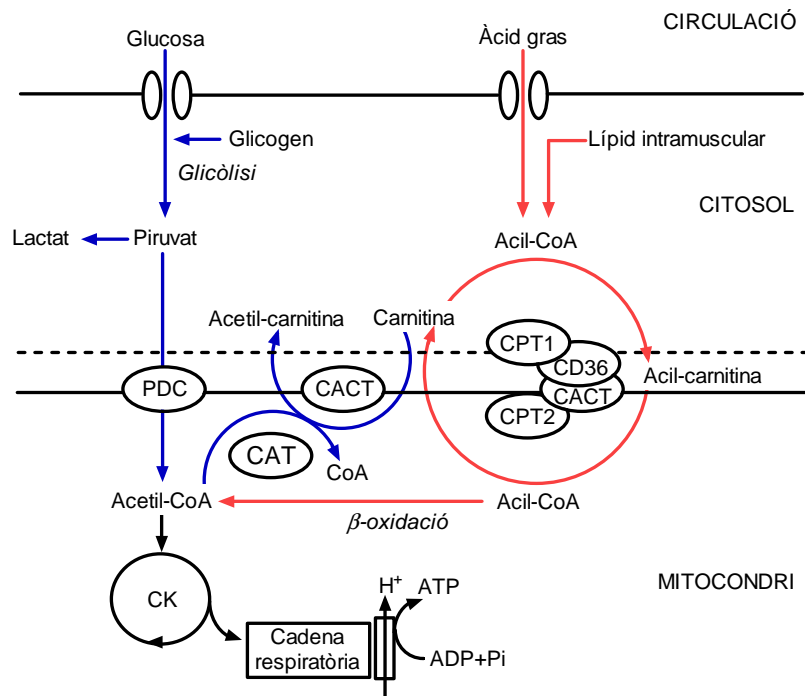


Figura 83. Esquema del metabolisme de la carnitina en el múscul esquelètic

En vermell reaccions associades a la lipòlisi; en blau: reaccions associades a la glicòlisi. PDC: complex piruvat deshidrogenasa; TCA: cicle dels àcids tricarbòxics; CAT: acil-transferasa de la carnitina; CACT: carnitina acil-carnitina translocasa; CPT: carnitina palmitoil-transferasa; CD36: translocasa dels àcids grassos. Adaptat de Stephen et al. (2007)

També s'ha postulat que la formació d'acils-carnitina, especialment els de cadena curta, pot funcionar com un mecanisme amortidor de les reserves de CoA, amb la finalitat de mantenir la seva concentració intramuscular (Friolet et al. 1994; Stephens, Constantin-Teodosiu & Greenhaff, 2007; Wall et al., 2011). Els acils-CoA de cadena curta es converteixen en acils-carnitina, que podran ser exportats fora dels mitocondris. El CoA produït en aquesta reacció es utilitza per formar acetil-CoA (Figura 83).

Per altra banda, la principal font d'acetil-carnitina és l'acetil-CoA, derivat de la reacció del complex piruvat deshidrogenasa.

A partir dels resultats observats en els experiments in vitro utilitzant miotúbuls, Lehmann et al. (2010) teoritzen sobre la possibilitat de que els acils-carnitina de cadena mitjana-llarga (C8 a C12/14) puguin tenir la capacitat d'activar la beta-oxidació i de mantenir el ritme de lipòlisi durant l'exercici físic.

A banda dels àcids grassos i de les espècies acil-carnitina, l'aproximació metabòlica també ha posat de manifest canvis de molècules compatibles amb diverses espècies d'eicosanoides. Els eicosanoides són lípids bioactius derivats del metabolisme de l'àcid araquidònic o d'àcids grassos poli-insaturats (PUFAs) relacionats. L'àcid araquidònic (20:4) o PUFAs de cadenes més curtes, per exemple l'àcid linoleic (C18:2) poden ser metabolitzats per diversos enzims (COX, LOX, CYs) o ser auto-oxidats i donar lloc a molècules bioactives (9-HODE: 9-hidroxi-octadecadienoic). L'activació dels leucòcits durant la manipulació de les mostres, o durant l'exercici físic, pot haver donat lloc a la formació d'eicosanoides. Sembla que algunes espècies d'eicosanoides i d'octanoides varen disminuir després de la sessió de CC.

Diversos tipus de glicero-fosfolípids també es modifiquen a conseqüència de l'exercici físic efectuat durant les sessions de CC i CI. La majoria tendeixen a disminuir. Aquestes molècules formen part de les membranes cel·lulars, però també tenen funcions biològiques, com per exemple anti-inflamatòries. En contraposició, a la sessió CC, també augmenten molècules compatibles amb certes amines, com la palmitoleoil-etanolamida que té efectes anti-inflamatoris i anti-nocioceptius.

També sembla que algunes molècules amb capacitat anti-oxidant podrien disminuir després de l'esforç; per exemple la hipotaurina que participa en el metabolisme de la taurina (sessió CC) o la vitamina E (sessió CI).

A partir de les dades obtingudes no és pot afirmar que l'esforç realitzat en les sessions d'entrenament indueixi un increment d'al·lantoïna (estat pro-oxidant), niacinamida (sensibilitat a la insulina) o cossos cetònics com indiquen altres autors (Lewis et al., 2010).

El meta-anàlisi XCMS posa de manifest que existeixen molècules que varien amb l'esforç físic independentment de la natura de l'esforç, però que també existeixen nombroses molècules que varien de forma diferenciada segons les característiques d'intensitat i distribució dels períodes d'esforç.

Malauradament, al no poder identificar amb certesa les molècules, l'aproximació metabòlica no dirigida tant sols permet establir hipòtesis, i no és possible extreure conclusions sòlidament fonamentades respecte al significat dels canvis observats. En futures investigacions, l'ús d'estàndards interns i una aproximació metabòlica dirigida pot ajudar a aclarir algunes de les especulacions/hipòtesis plantejades en aquest estudi. També pot facilitar la identificació específica de compostos que puguin ser d'interès, i que amb l'aproximació metabòlica no dirigida no han estat detectats, com per exemple, la hipoxantina, l'al·lantoïna o la niacinamida.

## 5.8 Limitacions e implicacions

En els apartats anteriors s'han anat indicant puntualment alguns aspectes, relacionats amb les extraccions de sang, les tècniques analítiques, la variabilitat de la resposta individual, el reduït nombre de participants analitzats en alguns paràmetres; que en part limiten la interpretació dels resultats obtinguts.

Com s'ha indicat prèviament, l'absència de canvis es podria atribuir a que l'exercici físic realitzat no va activar una resposta biològica, o que diverses limitacions externes emmascassin la resposta biològica real. Per exemple, és molt probable que a causa de la facilitat de degradació, les concentracions plasmàtiques de catecolamines registrades després de l'esforç físic no reflecteixin adequadament els nivells assolits durant l'esforç físic. També és possible que la variabilitat de les respostes individuals i el reduït nombre de participants als quals es va fer la valoració analítica, hagin contribuït a la manca de significació estadística.

La diferència de intensitat entre sessions és bastant petita, aquest fet també podria explicar l'absència de diferències de les adaptacions de certs paràmetres entre sessions. Habitualment en els estudis que comparen diverses intensitats de l'esforç, el rang de separació és més ampli i varien entre el 60%VO<sub>2max</sub> i el 80%VO<sub>2max</sub>.

Un altre factor a tenir en compte en el moment de valorar els resultats prové del sistema biològic analitzat. Les dades d'aquest estudi es fonamenten en els canvis observats a la sang i el plasma procedent d'extraccions de sang venosa. La sang/plasma és un medi mitjançant el qual les cèl·lules del cos es comuniquen e interaccionen entre elles. La sang/plasma pot reflectir ràpidament els canvis que es produeixen en els teixits, però les concentracions de qualsevol analit són el resultat de l'equilibri entre la seva aparició a la sang/plasma i la seva desaparició d'aquest medi; a més del factor de dilució. Es per aquest motiu, que com reflecteixen els estudis de Hellsten et al. (1997b, 1998, 1999, 2010), o de Lewis et al. (2010) les concentracions dels analits són molt diferents si els espècimens de sang/plasma es prenen directament a les venes que recullen la sang de les zones actives en comparació a si aquests s'extreuen d'una zona no activa. La presa d'espècimens de sang/plasma en diferents localitzacions permet descriure i comprendre millor les adaptacions agudes a l'esforç físic que si tant sols es realitzen extraccions venosa. Però en contraposició, la complexitat instrumental i tecnològica desnaturalitza el model d'exercici físic i l'allunya de la pràctica real.

Per altra banda, tot i que la sang/plasma pot reflectir ràpidament els canvis que es produeixen en els teixits, és necessari que els analits d'interès passin d'aquests a la sang/plasma. En alguns casos, els compostos són produïts al múscul actiu, però no són alliberats a la sang sinó que exerceixen una acció local de tipus paracrina o autocrina; aquest podria ser el cas de la hipoxantina o la IL-8. La presa d'espècimens de sang/plasma i teixits en múltiples localitzacions, també possibilitaria una millor comprensió dels mecanismes d'adaptació aguda a l'esforç. Però com també en aquest cas es requereixen models d'exercici físic que s'allunyen de les situacions reals.



Els participants a l'estudi eren persones avesades a la pràctica esportiva, però les dades obtingudes indiquen que en certs aspectes, l'adaptació a l'exercici físic es modulada per l'especificitat de la pràctica esportiva habitual i pel nivell de condició física. El fet que el subgrup de participants que practiquen atletisme, especialment curses de fons, mostrés una resposta dels leucòcits, neutròfils, índex N/L, àcid úric e immunoreactivitat per a carbonils més atenuada que en els participants futbolistes, suggereix que malgrat individualitzar les intensitats de l'esforç físic a partir del IAT, la resposta a l'estímul entrenant va ser lleugerament diferent.

En general els canvis varen ser moderats i transitoris, i no sembla que l'exercici aeròbic en intervals de durada mitjana suposi un risc elevat per a persones habituades a realitzar exercici físic i amb bona condició física. No obstant, és arriscat extrapolar aquesta conclusió a altres tipus de poblacions. Per això seria recomanable analitzar la resposta aguda a l'exercici físic aeròbic en intervals en persones sedentàries, amb o sense factors de risc o patologia cardíovascular. Ja que com s'ha indicat a la introducció, l'entrenament aeròbic en intervals és un mètode d'entrenament que actualment es recomana a les persones sedentàries, amb o sense patologies associades, pels seus efectes saludables a llarg termini.

En tot cas, tot i les limitacions, aquest estudi permet establir la importància, a nivell molecular, de la intensitat de l'esforç físic i de l'especificitat de l'entrenament previ.

## **6 Conclusions**



1. Les dues sessions d'entrenament de carrera contínua (exercici continu a intensitat moderada) i carrera en intervals (exercici aeròbic en intervals), varen suposar una càrrega d'esforç semblant i de magnitud moderada. Aquestes es varen diferenciar per la intensitat de l'esforç (moderada versus elevada), i la distribució del mateix al llarg de la sessió (continu versus en intervals).
2. L'exercici físic causa alteracions agudes, amb dinàmiques diferents segons la modalitat de l'esforç físic, en el recompte dels leucòcits circulants i les seves subpoblacions (neutròfils i limfòcits), les concentracions plasmàtiques de factors pro-anti-inflamatoris, factors indicadors de l'estat redox i metabòlits circulants.
3. Algunes alteracions són transitòries i es produeix una normalització (limfòcits circulants, cortisol, IL-6; IL-10, IL-8, TNF- $\alpha$ , CRP, SAA, índex d'inflamació) durant les primeres hores de recuperació; mentre que d'altres (leucòcits i neutròfils circulants, índex N/L, àcid úric, immunoreactivitat per a carbonils) persisteixen més enllà dels 180 minuts de recuperació.
4. Diversos paràmetres analitzats presenten canvis semblants en resposta a ambdós modalitats d'exercici físic; mentre que d'altres mostren una evolució diferenciada. Així, malgrat que les dues sessions eren de càrrega global similar, la major intensitat de l'exercici físic aeròbic en intervals (CI) tendeix a produir (a) una resposta pro-inflamatòria i (b) un estat pro-oxidant lleugerament superiors a l'exercici físic de moderada intensitat i continu.
5. Els principals trets diferencials de l'exercici físic aeròbic en intervals respecte al continu són una atenuació de la disminució circadiària del cortisol plasmàtic; un estrès sobre el sistema immune més elevat, el qual repercuteix en un major creixement del nombre de leucòcits, neutròfils i limfòcits circulants, i de l'índex N/L; i un ascens de les concentracions plasmàtiques de TNF- $\alpha$  i de la immunoreactivitat per a grups carbonil proteics superiors. De forma similar, la major tensió muscular realitzada durant les accions musculars de l'exercici aeròbic en intervals causa adaptacions metabòliques diferencials, que queden reflectides en el plasma per la tendència a un major increment de lactat, IL-8, àcid úric, i per l'existència de molècules diferencials entre els metabolomes plasmàtics.
6. Altres analits, com les citocines plasmàtiques IL-6 i IL-10, o algunes molècules compatibles amb espècies d'àcids grassos, varen ser més sensibles a la durada efectiva de l'esforç que a la intensitat de les accions musculars. Les fluctuacions de les concentracions plasmàtiques d'aquestes citocines varen tendir a ser superiors després de l'exercici físic continu a una intensitat moderada en comparació a l'exercici físic aeròbic en intervals.
7. Alguns paràmetres, com la limfopènia relativa, no varen respondre a la diferent natura de l'esforç (intensitat i distribució) i les alteracions registrades varen ser semblants en ambdues sessions.
8. L'epinefrina, la norepinefrina, la proteïna C reactiva, l'amiloide A sèric i la capacitat de reducció fèrrica del plasma no es varen modificar significativament a resultes de l'esforç físic realitzat en cap de les dues sessions d'entrenament.

9. L'anàlisi de metabolòmica no dirigida del plasma va evidenciar modificacions del metaboloma plasmàtic en resposta a l'exercici físic dominades pels compostos de tipus lipídic i nombroses molècules varien de forma distinta en resposta a les dues sessions d'entrenament.
10. Tot i l'homogeneïtat dels participants, en certs aspectes (leucocitosi, neutrofilia, limfopènia, àcid úric, grups carbonil proteics), l'adaptació a l'exercici físic es modulada per l'especificitat de la pràctica esportiva habitual.

## **7 Agraïments**



El camí per arribar a completar aquesta tesi doctoral ha estat llarg, molt llarg..., i són moltes les persones que han contribuït de manera directa, o indirecta, a la realització d'aquest treball. A totes elles vull agrair la seva contribució. Sense elles, aquesta tesi no hagués estat possible.

Voldria destacar molt especialment el meu agraïment;

Al Joan Ramón Barbany de la mà del qual vaig iniciar-me en el món de la Fisiologia Humana primer, i després en el de la Fisiologia de l'Exercici.

Al Manel i al Reinald; per aixoplugar-me amb el seu equip i donar-me l'oportunitat d'acabar la tesi i de fer un "tast" del treball de laboratori.

A tot l'equip del laboratori del Departament de Medicina Experimental; Alba, Anna, Ana, Dani, David, Hugo, Jordi, José, Mariona, Maria Josep, Meri, Núria, Omar, Vicky; per fer-me sentir gairebé una més del grup, per donar-me sempre un cop de mà i per respondre amb paciència i eficiència les meves preguntes. Especialment a la Maria Josep, a la Mariona i al José, per tenir sempre un moment per escoltar-me, per respondre les meves preguntes, per animar-me, per ensenyar-me, per les seves reflexions. Moltíssimes gràcies!

A la Clínica de Ponent-Grup Aliança, pel seu ajut en els anàlisis clínics automatitzats.

A la Divina, la Isa i la Lucia per la seva motivació, i per la feina feta durant les proves d'esforç i les sessions d'entrenament.

A l'alumnat d'INEFC que va participar en les proves d'esforç i les sessions d'entrenament, que va suar i va deixar-se treure tantes mostres de sang, també moltes gràcies.

Als professors i al personal d'administració i serveis de l'INEFC-Lleida, que sempre m'ha animat i facilitat la feina. Però molt especialment al personal de biblioteca (Teresa Maria, Blanca, Antònia, Trini, Lluís) i del servei d'informàtica (Òscar i Jordi).

A les directives de l'INEFC-Lleida i de l'OA que sempre m'han donat totes les facilitats per tirar endavant.

A la família i als amics, per tot el temps que no els he pogut dedicar i que aquesta tesi els ha robat.

I a totes/tots les/els que han contribuït de manera directa o indirecta a la realització d'aquest treball de recerca.

Moltes gràcies.





## **8 Referències**



- Abbas, A., Lichtman, A., & Pober, J. (1994). *Cellular and molecular immunology*. (2 ed.) Philadelphia,PN: W.B. Saunders company.
- Abbey, E. L. & Walberg, J. (2011). Effect of quercetin supplementation on repeated-sprint performance, xanthine oxidase activity, and inflammation. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 91-96.
- Aguilo, A., Tauler, P., Guix, P., Villa, J. G., Córdova, A., Tur, J. et al. (2003). Effect of exercise intensity and training on antioxidant and cholesterol profile in cyclists. *J Nutr Biochem*, 14, 319-325.
- Aguilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J. A., Córdova, A., & Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiol Behav*, 84, 1-7.
- Akerstrom, T., Steensberg, A., Keller, P., Keller, C., Penkowa, M., & Pedersen, B. K. (2005). Exercise induces interleukin-8 expression in human skeletal muscle. *J Physiol*, 563, 507-516.
- Alamdari, D. H., Kostidou, E., Paletas, K., Sarigianni, M., Konstas, A. G. P., Karapiperidou, A. et al. (2005). High sensitivity enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method for measuring protein carbonyl in samples with low amounts of protein. *Free Radical Biology and Medicine*, 39, 1362-1367.
- Alberts, B. (2010). *Biología molecular de la célula*. (5 ed.) Barcelona: Omega.
- Alessio, H. M., Goldfarb, A. H., & Cao, G. (1997). Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *International Journal of Sport Nutrition*, 7, 1-9.
- Alessio, H. M., Hagerman, A. E., Fulkerson, B. K., Ambrose, J., Rice, R. E., & Wiley, R. L. (2000). Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32, 1576-1581.
- Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev*, 88, 287-332.
- American College of Sports Medicine (2006). *ACSM's resource manual for guidelines for exercise testing and prescription*. (6 ed.) Baltimore (MD): Lippincott Williams & Wilkins.
- American College of Sports Medicine (2010). *ACSM's guidelines for exercise testing and prescription*. (8 ed.) Baltimore (MD): Lippincott Williams & Wilkins.
- Andersson, H., Karlsen, A., Blomhoff, R., Raastad, T., & Kadi, F. (2010). Plasma antioxidant responses and oxidative stress following a soccer game in elite female players. *Scand J Med Sci Sports*, 20, 600-608.
- Ascensao, 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.
- Ashton, T., Young, I. S., Peters, J. R., Jones, E., Jackson, S. K., Davies, B. et al. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *Journal of Applied Physiology*, 87, 2032-2036.

- Astrand, P. O. & Rodahl, K. (2010). *Manual de fisiología del ejercicio*. (4 ed.) Barcelona: Paidotribo.
- Babb, T.G., Wood, H., & Mitchell, G. (2010). Short and long-term modulation of the exercise ventilatory response. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *42*, 1681-1687.
- Bailey, D. M., Lawrenson, L., McEneny, J., Young, I. S., James, P. E., Jackson, S. K. et al. (2007). Electron paramagnetic spectroscopic evidence of exercise-induced free radical accumulation in human skeletal muscle. *Free Radical Research*, *41*, 182-190.
- Bain, J. R., Stevens, R. D., Wenner, B. R., Ilkayeva, O., Muoio, D. M., & Newgard, C. B. (2009). Metabolomics applied to diabetes research: moving from information to knowledge. *Diabetes*, *58*, 2429-2443.
- Baker, J. S., Bailey, D. M., Hullin, D. A., Young, I., & Davies, B. (2004). Metabolic implications of resistive force selection for oxidative stress and markers of muscle damage during 30 s of high-intensity exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *92*, 321-7.
- Baldwin, J., Snow, R., & Febbraio, M. A. (2000). Effect of training status and relative exercise intensity on physiological responses in men. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *32*, 1648-1654.
- Bangsbo, J., Iaia, F. M., & Krstrup, P. (2007). Metabolic response and fatigue in soccer. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, *2*, 111-127.
- Banister, E., MacDougall, J., & Wenger, H. (1991). *Modeling elite athletic performance: physiological testing of high-performance athlete*. Champaign: Human Kinetics Publishers.
- Barba, I., de L. G., Martin, E., Cuevas, A., Aguade, S., Candell-Riera, J. et al. (2008). Nuclear magnetic resonance-based metabolomics predicts exercise-induced ischemia in patients with suspected coronary artery disease. *Magn Reson.Med*, *60*, 27-32.
- Barlett, J., Close, G., MacLaren, D., Gregson, W., Drust, B., & Morton, J. P. (2011). High-intensity interval running is perceived as more enjoyable than moderate-intensity continuous exercise: implications for exercise adherence. *Journal of Sports Sciences*, *29*, 547-553.
- Barnard, R. & Holloszy, J. (2003). The metabolic systems: aerobic metabolism and substrate utilization in exercising skeletal muscle. In C.Tipton (Ed.), *Exercise Physiology: people and ideas* (pp. 292-321). New York (NY): Oxford University Press.
- Bassit, R. A., Sawada, L. A., Bacurau, R. F. P., & Navarro, F. (2000). The effect of BCAA supplementation upon the immune response of triathletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *32*, 1214-1219.
- Beauchamp, M. K., Nonoyama, M., Goldstein, R. S., Hill, K., Dolmage, T. E., Mathur, S. et al. (2010). Interval versus continuous training in individuals with chronic obstructive pulmonary disease--a systematic review. *Thorax*, *65*, 157-164.
- Beaver & Wasserman, K. (1986). A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol*, *60*, 2020-2027.

Benzie, I. F. & Strain, J. J. (1996). Ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70-76.

Billat, V. L. (2001a). Interval training for performance: a scientific and empirical practice. Special recommendations for middle- and long-distance running. Part I: aerobic interval training. *Sports Med*, 31, 13-31.

Billat, V. L. (2001b). Interval training for performance: a scientific and empirical practice. Special recommendations for middle- and long-distance running. Part II: anaerobic interval training. *Sports Medicine*, 31, 75-90.

Billat, V. L., Sirvent, P., Py, G., Koralsztein, J., & Mercier, J. (2003). The concept of maximal lactate steady state: a bridge between biochemistry, physiology and sport science. *Sports Med*, 33, 407-426.

Bishop, N. C., Walsh, N. P., Haines, D. L., Richards, E. E., & Gleeson, M. (2001). Pre-exercise carbohydrate status and immune responses to prolonged cycling: I. Effect on neutrophil degranulation. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 11, 490-502.

Bishop, N. C., Fitzgerald, C., Porter, P. J., Scanlon, G. A., & Smith, A. C. (2005). Effect of caffeine ingestion on lymphocyte counts and subset activation in vivo following strenuous cycling. *Eur.J Appl.Physiol*, 93, 606-613.

Bloomer, R. J., Goldfarb, A. H., Wideman, L., McKenzie, M. J., & Consitt, L. A. (2005). Effects of acute aerobic and anaerobic exercise on blood markers of oxidative stress. *J Strength Cond Res*, 19, 276-85.

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., Falvo, M. J., Fry, A. C., Schilling, B. K., Smith, W. A., & Moore, C. A. (2006). Oxidative stress response in trained men following repeated squats or sprints. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38, 1436-1442.

Bloomer, R. J., Fry, A. C., Falvo, M. J., & Moore, C. A. (2007). Protein carbonyls are acutely elevated following single set anaerobic exercise in resistance trained men. *Journal of Science & Medicine in Sport*, 10, 411-417.

Bloomer, R. J., Cole, B., & Fisher-Wellman, K. (2009). Racial differences in postprandial oxidative stress with and without acute exercise. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 19, 457-472.

Borg, G. (1998). *Borg's perceived exertion and pain scales*. Champaign, IL: Human Kinetics Publishers.

Borrensens, J. & Lambert, M. (2009). The quantification of training load, the training response and the effect on performance. *Sports Med*, 39, 779-795.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.

- Brooks, G., Fahey, T. D., & Baldwin, K. (2005). *Exercise physiology: human bioenergetics and its application*. (4 ed.) New York: Mayfield-McGraw-Hill.
- Bruce, S. J., Breton, I., Decombaz, J., Boesch, C., Scheurer, E., Montoliu, I. et al. (2010). A plasma global metabolic profiling approach applied to an exercise study monitoring the effects of glucose, galactose and fructose drinks during post-exercise recovery. *J Chromatogr.B Analyt.Technol.Biomed.Life Sci*, 878, 3015-3023.
- Brunsgaard, H., Hartkopp, A., Mohr, T., Konradsen, H., Heron, I., & Mordhorst, C. H. (1997a). In vivo cell-mediated immunity and vaccination response following prolonged, intense exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 29, 1176-1181.
- Brunsgaard, H., Galbo, H., Halkjaer-Kristensen, J., Johansen, T., & MacLean, D. A. (1997b). Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. *J Physiol*, 499, 833-841.
- Brunsgaard, H., Jensen, M., Schjerling, P., Halkjaer-Kristensen, J., & Skinhoj, P. (1999). Exercise induces recruitment of lymphocytes with an activated phenotype and short telomeres in young and elderly humans. *Life Sci*, 65, 2623-2633.
- Burgomaster, K. A., Cermak, N. M., Phillips, S. M., Benton, C. R., Bonen, A., & Gibala, M. J. (2007). Divergent response of metabolite transport proteins in human skeletal muscle after sprint interval training and detraining. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 292, R1970-R1976.
- Burgomaster, K. A., Howarth, K. R., Phillips, S. M., Rakobowchuk, M., Macdonald, M. J., McGee, S. L. et al. (2008). Similar metabolic adaptations during exercise after low volume sprint interval and traditional endurance training in humans. *J Physiol*, 586, 151-160.
- Buss, H., Chan, T. P., Sluis, K. B., Domigan, N. M., & Winterbourn, C. C. (1997). Protein carbonyl measurement by as a sensitive ELISA method. *Free Radical Biology and Medicine*, 23, 361-366.
- Calvet, J., Jensen-Urstad, M., Van Hall, G., Holmberg, H., Rosdahl, H., & Saltin, B. (2004). Maximal muscular vascular conductance in body upright exercise in humans. *Journal of Physiology*, 558, 319-331.
- Cao, H., Gerhold, K., Mayers, J. R., Wiest, M. M., Watkins, S. M., & Hotamisligil, G. S. (2008). Identification of a lipokine, a lipid hormone linking adipose tissue to systemic metabolism. *Cell*, 134, 933-944.
- Carranza-Garcia, L. E., George, K., Serrano-Ostariz, E., Casado-Arroyo, R., Caballero-Navarro, A. L., & Legaz-Arrese, A. (2011). Cardiac biomarker response to intermittent exercise bouts. *Int J Sports Med*, 32, 327-331.
- Case, D., Baer, J. T., & Subbiah, M. T. R. (1999). The effect of prolonged exercise on lipid peroxidation in eumenorrhic female runners. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 31, 1390-1393.
- Cases, N., Sureda, A., Maestre, I., Tauler, P., Aguiló, A., Córdova, A. et al. (2006). Response of antioxidant defences to oxidative stress induced by prolonged exercise: antioxidant enzyme gene expression in lymphocytes. *European Journal of Applied Physiology*, 98, 263-269.

- Castell, L. M., Poortmans, J. R., Leclercq, R., Brasseur, M., & Duchateau, J. (1997). Some aspects of the acute phase response after a marathon race, and the effects of glutamine supplementation. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 75, 47-53.
- Chan, M. A., Koch, A. J., Benedict, S. H., & Potteiger, J. A. (2003). Influence of carbohydrate ingestion on cytokine responses following acute resistance exercise. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 13, 454-465.
- Chan, M. H., Carey, A. L., Watt, M. J., & Febbraio, M. A. (2004). Cytokine gene expression in human skeletal muscle during concentric contraction: evidence that IL-8, like IL-6, is influenced by glycogen availability. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 287, R322-R327.
- 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. *Ann Nutr Metab*, 46, 103-107.
- Chevion, S., Moran, D. S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B. et al. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100, 5119-23.
- Child, R. B., Wilkinson, D. M., Fallowfield, J. L., & Donnelly, A. E. (1998). Elevated serum antioxidant capacity and plasma malondialdehyde concentration in response to a simulated half-marathon run. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30, 1603-1607.
- Child, R. B., Brown, S., Day, S., Donnelly, A., Roper, H., & Saxton, J. (1999). Changes in indices of antioxidant status, lipid peroxidation and inflammation in human skeletal muscle after eccentric muscle actions. *Clin Sci (Lond)*, 96, 105-115.
- Childs, A., Jacobs, C., Kaminski, T., Halliwell, B., & Leeuwenburgh, C. (2001). Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in human after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic Biol Med*, 31, 745-53.
- Chorell, E., Moritz, T., Branth, S., Antti, H., & Svensson, M. B. (2009). Predictive metabolomics evaluation of nutrition-modulated metabolic stress responses in human blood serum during the early recovery phase of strenuous physical exercise. *J Proteome Res*, 8, 2966-2977.
- Chung, S. C., Goldfarb, A. H., Jamurtas, A. Z., Hegde, S. S., & Lee, J. (1999). Effect of exercise during the follicular and luteal phases on indices of oxidative stress in healthy women. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 31, 409-413.
- Ciolac, E. G., Bocchi, E. A., Bortolotto, L. A., Carvalho, V. O., Greve, J. M., & Guimaraes, G. V. (2010). Effects of high-intensity aerobic interval training vs. moderate exercise on hemodynamic, metabolic and neuro-humoral abnormalities of young normotensive women at high familial risk for hypertension. *Hypertens Res*, 33, 836-843.
- Coolen, S. A., Daykin, C. A., van Duynhoven, J. P., van Dorsten, F. A., Wulfert, F., Mathot, J. et al. (2008). Measurement of ischaemia-reperfusion in patients with intermittent claudication using NMR-based metabolomics. *NMR in Biomedicine*, 21, 686-695.
- Cuevas, M. J., Almar, M., Garcia-Glez, J. C., Garcia-Lopez, D., De Paz, J. A., Alvear-Ordenes, I. et al. (2005). Changes in oxidative stress markers and NF-kappaB activation induced by sprint exercise. *Free Radical Research*, 39, 431-9.



- Dal Monte, A. (1983). *La valutazione funzionale dell'atleta*. (1 ed.) Firenze: Sansoni.
- Davies, J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *107*, 1198-1205.
- Davis, J., Murphy, M., Trinick, T., Duly, E., Nevill, A., & Davison, G. (2008). Acute effects of walking on inflammatory and cardiovascular risk in sedentary post-menopausal women. *J Sports Sci*, *26*, 303-309.
- Davison, G. W., Morgan, R. M., Hiscock, N. J., Garcia, J. M., Grace, F., Boisseau, N. et al. (2006). Manipulation of systemic oxygen flux by acute exercise and normobaric hypoxia: implications for reactive oxygen species generation. *Clin Sci (Lond)*, *110*, 133-141.
- Davison, G. W. & Gleeson, M. (2007). The effects of acute vitamin C supplementation on cortisol, interleukin-6, and neutrophil responses to prolonged cycling exercise. *European Journal of Sport Science*, *7*, 15-25.
- De Sousa, M. V., Simoes, H. G., Oshiiwa, M., Rogero, M. M., & Tirapegui, J. (2007). Effects of acute carbohydrate supplementation during sessions of high-intensity intermittent exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *99*, 57-63.
- Dekkers, C., van Doornen, L. J. P., & Kemper, H. C. G. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Medicine*, *21*, 213-238.
- Deminice, R., Trindade, C. S., Degiovanni, G. C., Garlip, M. R., Portari, G. V., Teixeira, M. et al. (2010). Oxidative stress biomarkers response to high intensity interval training and relation to performance in competitive swimmers. *Journal of Sports Medicine & Physical Fitness*, *50*, 356-362.
- Desgorces, F. D., Sénégas, X., Garcia, J., Decker, L., & Noirez, P. (2007). Methods to quantify intermittent exercises. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, *32*, 762-769.
- Dill, D. B. & Costill, D. L. (1974). Calculation of percentage changes in volumes of blood plasma, and red cells in dehydration. *Journal of Applied Physiology*, *37*, 247-248.
- Dixon, C. B., Robertson, R. J., Goss, F. L., Timmer, J. M., Nagle, E. F., & Evans, R. W. (2006). The effect of acute resistance exercise on serum malandialdehyde in resistance-trained and untrained collegiate men. *Journal of Strength & Conditioning Research*, *20*, 693-698.
- Drenth, J. P., Krebbers, R. J., Bijzet, J., & van der Meer, J. W. (1998). Increased circulating cytokine receptors and ex vivo interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1beta production but decreased tumour necrosis factor-alpha production after a 5-km run. *Eur J Clin Invest*, *28*, 866-872.
- Dröge, W. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev*, *82*, 47-95.
- Dufaux, B., Heine, O., Kothe, A., Prinz, U., & Rost, R. (1997). Blood glutathione status following distance running. / Etats du glutathion sanguin suivant un exercice de course a pied d ' endurance. *International Journal of Sports Medicine*, *18*, 89-93.
- El-Sayed, M. S., Ali, N., & El-Sayed, Z. (2005). Haemorheology in exercise and training. *Sports Medicine*, *35*, 649-670.

Enea, C., Seguin, F., Petitpas-Mulliez, J., Boildieu, N., Boisseau, N., Delpech, N. et al. (2010). (1)H NMR-based metabolomics approach for exploring urinary metabolome modifications after acute and chronic physical exercise. *Anal.Bioanal.Chem.*, 396, 1167-1176.

Ensenyat, A., Blanco, A., & Calvo, F. (1997). Lymphocyte subpopulations before and after two different intensity training sessions. In J. Bangsbo, B. Saltin, H. Bonde, Y. Hellsten, B. Ibsen, M. Kjaer, & G. Sjogaard (Eds.), *Sport science in a changing world of sports* (pp. 722-723). Copenhagen: University of Copenhagen.

Esler, M., Jennings, G., Lambert, I., Meredith, M., Home, & Eisenhofer, G. (1990). Overflow of catecholamine neurotransmitters to the circulation: Source, fate and functions. *Physiological Reviews*, 70, 963-985.

Essen, B., Hagenfeldt, L., & Kaijser, L. (1977). Utilization of blood-borne and intramuscular substrates during continuous and intermittent exercise in man. *J Physiol*, 265, 489-506.

Essen, B. & Kaijser, L. (1978). Regulation of glycolysis in intermittent exercise in man. *J Physiol*, 281, 499-511.

Essen, B. (1978). Studies on the regulation of metabolism in human skeletal muscle using intermittent exercise as an experimental model. *Acta Physiol Scand Suppl*, 454, 1-32.

Fahlman, M. M., Engels, H. J., Morgan, A. L., & Kolokouri (2001). Mucosal IgA response to repeated Wingate tests in the females. *International Journal of Sports Medicine*, 22, 127-131.

Fallon, K. E. (2001). The acute phase response and exercise: the ultramarathon as prototype exercise. *Clin J Sport Med*, 11, 38-43.

Faude, O., Kindermann, W., & Meyer, T. (2009). Lactate threshold concepts. How valid are they? *Sports Med*, 39, 469-490.

Field, C. J. & Gougeon, R. (1991). Circulating mononuclear cell numbers and function during intense exercise and recovery. *J Appl Physiol*, 71, 1089-1097.

Filaire, E., Legrand, B., Bret, K., Sagnol, M., Cottet-Emard, J. M., & Pequignot, J. M. (2002). Psychobiologic responses to 4 days of increased training and recovery in cyclists. *International Journal of Sports Medicine*, 23, 588-594.

Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative Stress: relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 36, 327-358.

Fischer, C. P. (2006). Interleukin-6 in acute exercise and training: what is the biological relevance? *Exercise Immunology Review*, 12, 6-33.

Fisher-Wellman, K. & Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress: 30 year history. *Dynamic medicine*, 8, 1-25.

Foster, C., Florhaug, J., Franklin, J., Gottschall, L., Hrovatin, L., Parker, S. et al. (2001). A New approach to monitoring exercise training. *J Strength Cond Res*, 15, 109-115.

Foster, C., Meyer, K., Georgakopoulos, N., Ellestad, A. J., Fitzgerald, D. J., Tilman, K. et al. (1999). Left ventricular function during interval and steady state exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 31, 1157-1162.

Franch, J., Madsen, K., Djurhuus, M. S., & Pedersen, P. K. (1998). Improved running economy following intensified training correlates with reduced ventilatory demands. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30, 1250-1256.

Friole, R., Hoppeler, H., & Krahenbuhl, S. (1994). Relationship between the coenzyme A and the carnitine pools in human skeletal muscle at rest and after exhaustive exercise under normoxic and acutely hypoxic conditions. *Journal of Clinical Investigation*, 94, 1490-1495.

Fry, R. W., Morton, A. R., Crawford, G. P., & Keast, D. (1992). Cell numbers and in vitro responses of leucocytes and lymphocyte subpopulations following maximal exercise and interval training sessions of different intensities. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 64, 218-227.

Frydelund-Larsen, L., Penkowa, M., Akerstrom, T., Zankari, A., Nielsen, S., & Pedersen, B. K. (2007). Exercise induces interleukin-8 receptor (CXCR2) expression in human skeletal muscle. *Exp Physiol*, 92, 233-240.

Gabriel, H. H. W. & Urhausen, A. (1991). Circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations before and after intensive endurance exercise to exhaustion. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 63, 449-457.

Gabriel, H. H. W., Schwarz, L., & Steffens, G. (1992). Immunoregulatory hormones, circulating leucocyte and lymphocyte subpopulations before and after endurance exercise of different intensities. *Int J Sports Med*, 13, 359-366.

Gabriel, H. H. W., Schwarz, L., & Born, P. (1992). Differential mobilization of leucocyte and lymphocyte subpopulations into the circulation during endurance exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 65, 529-534.

Gabriel, H. H. W., Schmitt, B., Urhausen, A., & Kindermann, W. (1993). Increased CD45RA+CD45RO+ cells indicate activated T cells after endurance exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 25, 1352-1357.

Gabriel, H. H. W., Brechtel, L., & Urhausen, A. (1994). Recruitment and recirculation of leukocytes after an ultramarathon run: preferential homing of cells expressing high levels of the adhesion molecule LFA-1. *International Journal of Sports Medicine*, 15, 148-153.

Gabriel, H. H. W. (1997). The acute immune response to exercise: what does it mean? *International Journal of Sports Medicine*, 18, S28-S45.

Galbo, H. (1983). *Hormonal and metabolic adaptation to exercise*. New York, NY: Thieme-Stratton.

Gannon, G. A., Rhind, S. G., Suzui, M., Shek, P. N., & Shephard, R. J. (1997). Circulating levels of peripheral blood leucocytes and cytokines following competitive cycling. *Can J Appl Physiol*, 22, 133-147.

Gannon, G. A., Rhind, S. G., Shek, P. N., & Shephard, R. J. (2001). Differential cell adhesion molecule expression and lymphocyte mobilisation during prolonged aerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *84*, 272-282.

George, K. P., Dawson, E., Shave, R. E., Whyte, G., Jones, M., Hare, E. et al. (2004). Left ventricular systolic function and diastolic filling after intermittent high intensity team sports. *Br J Sports Med*, *38*, 452-456.

Ghanbari-Niaki, A., Kraemer, R. R., & Soltani, R. (2010). Plasma nesfatin-1 and glucoregulatory hormone responses to two different anaerobic exercise sessions. *European Journal of Applied Physiology*, *110*, 863-868.

Gibala, M. J., Little, J. P., van, E. M., Wilkin, G. P., Burgomaster, K. A., Safdar, A. et al. (2006). Short-term sprint interval versus traditional endurance training: similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. *J Physiol*, *575*, 901-911.

Gleeson, M., McDonald, W. A., Cripps, A. W., Pyne, D. B., Clancy, R. L., & Fricker, P. A. (1995). Exercise, stress and mucosal immunity in elite swimmers. *Adv Exp Med Biol*, *371A*, 571-Hunter.

Gleeson, M. (2000). Mucosal immunity and respiratory illness in elite athletes. *International Journal of Sports Medicine*, *21*, S33-S43.

Goldfarb, A. H., Bloomer, R. J., & McKenzie, M. J. (2005). Combined antioxidant treatment effects on blood oxidative stress after eccentric exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *37*, 234-9.

Gomez-Cabrera, MC. (2004). *Papel de los radicales libres en el ejercicio físico agotador. Efecto de la administración de antioxidantes*. Tesis de doctorat Universidad de Valencia.

González-Tallada, A. & González-Sastre, F. (1993). Avaluació de la funció renal i de l'aparell urinari. In F. González-Sastre (Ed.), *Bioquímica clínica* (pp. 191-210). Barcelona: Barcanova.

Gorostiaga, E. M., Walter, C. B., Foster, C., & Hickson, R. C. (1991). Uniqueness of interval and continuous training at the same maintained exercise intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *63*, 101-107.

Goussetis, E., Spiropoulos, A., Tsironi, M., Skenderi, K., Margeli, A., Graphakos, S. et al. (2009). Spartathlon, a 246 kilometer foot race: effects of acute inflammation induced by prolonged exercise on circulating progenitor reparative cells. *Blood Cells Mol Dis*, *42*, 294-299.

Gray, A. B., Telford, R., Collins, M., & Weidemann, M. (1993). The response of leukocyte subsets and plasma hormones to interval exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *25*, 1252-1258.

Groussard, C., Rannou-Bekono, F., Machefer, G., Chevanne, M., Vincent, S., Sergent, O. et al. (2003). Changes in blood lipid peroxidation markers and antioxidants after a single sprint anaerobic exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *89*, 14-20.

Guimaraes, G. V., Ciolac, E. G., Carvalho, V. O., D'Avila, V. M., Bortolotto, L. A., & Bocchi, E. A. (2010). Effects of continuous vs. interval exercise training on blood pressure and arterial stiffness in treated hypertension. *Hypertens Res*, *33*, 627-632.

Gutteridge, J. M. & Halliwell, B. (2010). Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. *Biochem.Biophys.Res Commun.*, 393, 561-564.

Guyton, A. (2007). *Tratado de fisiología médica*. (11 ed.) Madrid: Elsevier.

Haram, P. M., Kemi, O. J., Lee, S. J., Bendheim, M. O., Al-Share, Q. Y., Waldum, H. L. et al. (2009). Aerobic interval training vs. continuous moderate exercise in the metabolic syndrome of rats artificially selected for low aerobic capacity. *Cardiovascular Research*, 81, 723-732.

Hartman, A., Plappert, U., Raddatz, K., Grünert-Fucks, M., & Speit, G. (1994). Does physical activity induce DNA damage? *Mutagenesis*, 9, 269-272.

Hediger, M. A., Johnson, R. J., Miyazaki, H., & Endou, H. (2005). Molecular physiology of urate transport. *Physiology*, 20, 125-135.

Helgerud, J., Hoydal, K., Wang, E., Karlsen, T., Berg, P., Bjerkaas, M. et al. (2007). Aerobic high-intensity intervals improve VO<sub>2</sub>max more than moderate training. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39, 665-671.

Helgerud, J., Karlsen, T., Kim, W. Y., Hoydal, K. L., Stoylen, A., Pedersen, H. et al. (2011). Interval and strength training in CAD patients. *Int J Sports Med*, 32, 54-59.

Hellsten, Y., Ekblom, B., Kaijser, L., & Sjodin, B. (1994). Exchange of purines in human liver and skeletal muscle with short-term exhaustive exercise. *American Journal of Physiology*, 266, R81-R86.

Hellsten, Y., Tullson, P. C., Richter, E. A., & Bangsbo, J. (1997a). Oxidation of urate in human skeletal muscle during exercise. *Free Radic Biol Med*, 22, 169-174.

Hellsten, Y., Frandsen, U., Ortenblad, N., Sjodin, B., & Richter, E. A. (1997b). Xanthine oxidase in human skeletal muscle following eccentric exercise: a role in inflammation. *Journal of Physiology*, 498, 239-248.

Hellsten, Y., Sjodin, B., Richter, E. A., & Bangsbo, J. (1998). Urate uptake and lowered ATP levels in human muscle after high-intensity intermittent exercise. *Am J Physiol*, 274, E600-E606.

Hellsten, Y., Richter, E. A., Kiens, B., & Bangsbo, J. (1999). AMP deamination and purine exchange in human skeletal muscle during and after intense exercise. *Journal of Physiology*, 520, 909-920.

Hellsten, Y., Svensson, M. B., Sjodin, B., Smith, S. R., Christensen, A., Richter, E. A. et al. (2001). Allantoin formation and urate and glutathione exchange in human muscle during submaximal exercise. *Free Radic Biol Med*, 31, 1313-22.

Henson, D. A., Nieman, D. C., Nehlsen-Cannarella, S. L., Fagoaga, O. R., Shannon, M., & Bolton, M. R. (2000). Influence of carbohydrate on cytokine and phagocytic responses to 2 h of rowing. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32, 1384-1389.

Hiatt, W. R., Regensteiner, J. G., Wolfel, E. E., Ruff, L., Brass, & E.P. (1989). Carnitine and acylcarnitine metabolism during exercise in humans: dependence on skeletal muscle metabolic state. *Journal of Clinical Investigation*, 84, 1167-1173.

- Hinton, J. R., Rowbottom, D. G., Keast, D., & Morton, A. R. (1997). Acute intensive interval training and in vitro t-lymphocyte function. *Int J Sports Med*, 18, 130-135.
- Hoffman, J. R., IM, J., Kang, D., Maresh, C. M., Kraemer, W. J., French, D. et al. (2007). Comparison of low-and high-intensity resistance exercise on lipid peroxidation: role of muscle oxygenation. *Journal of Strength & Conditioning Research*, 21, 118-122.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 1841-1856.
- Idle, J. R. & Gonzalez, F. J. (2007). Metabolomics. *Cell metabolism*, 6, 348-351.
- Inal, M., Akyuz, F., Turgut, A., & Getsfrid, W. M. (2001). Effect of aerobic and anaerobic metabolism on free radical generation swimmers. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33, 564-567.
- Inayama, T., Kumagai, Y., Sakane, M., Saito, M., & Matsuda, M. (1996). Plasma protein-bound sulfhydryl group oxidation in humans following a full marathon race. *Life Sciences*, 59, 573-578.
- Inoue, T., Mu, Z., Sumikawa, K., Adachi, K., & Okochi, T. (1993). Effect of physical exercise on the content of 8-hidroxydeoxyguanosine in nuclear DNA prepared from human lymphocytes. *Japanese Journal of Cancer Research*, 84, 720-725.
- Izquierdo, M. (2008). Estructura y análisis del movimiento. In M.Izquierdo (Ed.), *Biomecánica y bases neuromusculares de la actividad física y el deporte* (1 ed.), pp. 115-122). Madrid: Editorial Panamericana.
- Jenkins, R. R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 670S-674S.
- Jeukendrup, A. & Van Diemen, A. (1998). Heart rate monitoring during training and competition in cyclists. *Journal of Sports Sciences*, 16, S91-S99.
- Ji, L. L. (1999). Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 283-292.
- Ji, L. L. (2007). Antioxidant signaling in skeletal muscle: a brief review. *Exp Gerontol*, 42, 582-593.
- Jones, H., Taylor, C. E., Lewis, N. C., George, K., & Atkinson, G. (2009). Post-exercise blood pressure reduction is greater following intermittent than continuous exercise and is influenced less by diurnal variation. *Chronobiol.Int*, 26, 293-306.
- Jones, N. L., Makrides, L., Hitchcock, C., Chypchar, T., & McCartney, N. (1985). Normal standards for an incremental progressive cycle ergometer test. *American Review of Respiratory Disease*, 131, 700-708.
- Jové, M. (2010). *Noves eines per a la caracterització d'efectes funcionals de derivats vegetals sobre mecanismes bàsics de l'envelliment i patologies associades*. Tesis doctoral Universitat de Lleida.
- Joyner, M. J. & Coyle, E. F. (2008). Endurance exercise performance: the physiology of champions. *J Physiol*, 586, 35-44.

Karagiorgos, A., Garcia, J. F., & Brooks, G. A. (1979). Growth hormone response to continuous and intermittent exercise. *Med Sci Sports, 11*, 302-307.

Kargotich, S., Keast, D., Goodman, C., Crawford, G. P., & Morton, A. R. (1997). The influence of blood volume changes on leucocyte and lymphocyte subpopulations in elite swimmers following interval training of varying intensities. *Int J Sports Med, 18*, 373-380.

Karvonen, J. & Vuorimaa, T. (1988). Heart rate and exercise intensity during sports activities: practical application. *Sports Med, 5*, 303-311.

Kasapis, C. & Thompson, P. D. (2005). The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. *Journal of the American College of Cardiology, 45*, 1563-1569.

Kayani, A. C., Morton, J. P., & McArdle, A. (2008). Exercise-induced stress response in skeletal muscle: failure during aging. *Appl Physiol Nutr Metab, 33*, 1033-1041.

KEGG & Kanehisa Laboratories (2011). Kyoto Encyclopedia of genes and Genomes. KEGG [On-line].

Kenzierski, D. & DeCarlo, K. (1991). Physical activity enjoyment scale: two validation studies. *Journal of Sport Psychology, 13*, 50-64.

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.

Kjaer, M. (2006). Adrenal gland: fight or flight implications for exercise and sports. In W.J.Kraemer & A. D. Rogol (Eds.), *The endocrine system in sports and exercise* (1 ed.), pp. 194-199. Malden (MS): Blackwell Publishing.

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.

Knez, W. L., Jenkins, D. G., & Coombes, J. S. (2007). Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 39*, 283-288.

Koch, A. J., Potteiger, J. A., Chan, M. A., Benedict, S. H., & Frey, B. B. (2001). Minimal influence of carbohydrate ingestion on the immune response following acute resistance exercise. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism, 11*, 149-161.

Koch, A. J., Wherry, A. D., Petersen, M. C., Johnson, J. C., Stuart, M. K., & Sexton, W. L. (2007). Salivary immunoglobulin response to collegiate rugby game. *Journal of Strength & Conditioning Research, 21*, 86-90.

Korcerek, F. (1980). Nuevos conceptos en el entrenamiento del futbolista. *El entrenador español de futbol, 4*, 45-52.

Kotani, K., Satoh, N., Kato, Y., Araki, R., Koyama, K., Okajima, T. et al. (2009). A novel oxidized low-density lipoprotein marker, serum amyloid A-LDL, is associated with obesity and the metabolic syndrome. *Atherosclerosis, 204*, 526-531.

- Kraemer, R. R., Acevedo, E. O., Synovitz, L. B., Durand, R. J., Johnson, L. G., Petrella, E. et al. (2002). Glucoregulatory endocrine responses to intermittent exercise of different intensities: plasma changes in a pancreatic beta-cell peptide, amylin. *Metabolism*, *51*, 657-663.
- Kraemer, W. J. & Rogol, A. D. (2006). *The endocrine system in sports and exercise*. (vols. XI) Malden, MS: Blackwell Publishing.
- Krzywkowski, K., Petersen, E. W., Ostrowski, K., Kristensen, J. H., Boza, J., & Pedersen, B. K. (2001). Effect of glutamine supplementation on exercise-induced changes in lymphocyte function. *Am J Physiol Cell Physiol*, *281*, C1259-C1265.
- Kuhl, J., Moritz, T., Wagner, H., Stenlund, H., Lundgren, K., Bavenholm, P. et al. (2008). Metabolomics as a tool to evaluate exercise-induced improvements in insulin sensitivity. *Metabolomics*, *4*, 273-282.
- Lambert, C. P., Flynn, M. G., Braun, W. A., & Mylona (2000). Influence of acute submaximal exercise on T-lymphocyte suppressor cell function in healthy young men. *European Journal of Applied Physiology*, *82*, 151-154.
- Laub, M., Hvid-Jacobsen, K., & Hovind, P. (1993). Spleen emptying and venous hematocrit in human during exercise. *J Appl Physiol*, *74*, 1024-1026.
- Laughlin, M. (1996). Control of blood flow to cardiac and skeletal muscle during exercise. In L. Rowel & R. Shephard (Eds.), *Handbook of Physiology: Exercise, Regulation and integration of multiple systems* (pp. 705-769). Bethesda, MD: American Physiological Society.
- Laughlin, M. & Roseguini, B. (2008). Mechanisms for exercise training-induced increases in skeletal muscle blood flow capacity: differences with interval sprint training versus aerobic endurance training. *Journal of Physiology and Pharmacology*, *59*, 71-88.
- Laursen, P. & Jenkins, D. (2002). The scientific basis for high-intensity interval training. *Sports Med*, *32*, 53-73.
- Lawton, K. A., Berger, A., Mitchell, M., Evans, A. M., Guo, L., Hanson, R. W. et al. (2008). Analysis of the adult human plasma metabolome. *Pharmacogenomics*, *9*, 383-397.
- Lee, J., Goldfarb, A. H., Rescino, M. H., Hegde, S. S., Patrick, S. W., & Apperson, K. (2002). Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *34*, 443-8.
- Lee, R., West, D., Phillips, S. M., & Britz-McKibbin, P. (2010). Differential metabolomics for quantitative assessment of oxidative stress with strenuous exercise and nutritional intervention: thiol-specific regulation of cellular metabolism with N-acetyl-L-cysteine pretreatment. *Analytical Chemistry*, *82*, 2959-2968.
- Lehmann, R., Zhao, X., Weigert, C., Simon, P., Fehrenbach, E., Fritsche, J. et al. (2010). Medium chain acylcarnitines dominate the metabolite pattern in humans under moderate intensity exercise and support lipid oxidation. *PLoS One.*, *5*, e11519.
- Lehnert, A. (1996). La preparación para las competiciones importantes. *Revista de entrenamiento deportivo*.



- Lehninger, A. L. (1982). *Principios de bioquímica*. Barcelona: Ediciones Omega.
- Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G. et al. (1990). Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology*, 186, 464-478.
- Lewis, G. D., Farrell, L., Wood, M. J., Martinovic, M., Arany, Z., Rowe, G. C. et al. (2010). Metabolic signatures of exercise in human plasma. *Sci Transl Med*, 2, 37.
- Li, G. & He, H. (2009). Hormesis, allostatic buffering capacity and physiological mechanism of physical activity: a new theoretic framework. *Medical Hypotheses*, 72, 527-532.
- Libicz, S., Mercier, B., Bigou, N., Le, G. D., & Castex, F. (2006). Salivary IgA response of triathletes participating in the French Iron Tour. *International Journal of Sports Medicine*, 27, 389-394.
- LIPID MAPS (2011). LipidsMaps: Nature Lipidomics Gateway. <http://www.lipidmaps.org/> [On-line]. Available: <http://www.lipidmaps.org/>
- Lira, V., Benton, C. R., Yan, Z., & Bonen, A. (2010). PGC-1 $\alpha$  regulation by exercise training and its influences on muscle function and insulin sensitivity. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 299, E145-E161.
- Little, J. P., Safdar, A., Bishop, D., Tarnopolsky, M. A., & Gibala, M. J. (2011). An acute bout of high-intensity interval training increases the nuclear abundance of PGC-1 $\alpha$  and activates mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 300, R1303-R1310.
- Liu, J. F., Chang, W. Y., Chan, K. H., Tsai, W. Y., Li, C. L., & Hsu, M. C. (2005). Blood lipid peroxides and muscle damage increased following intensive resistance training of female weightlifters. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1042, 255-261.
- Lovlin, R., Cottle, W., Pyke, I., Kavanagh, M., & Belcastro, A. N. (1987). Are indices of free radical damage related to exercise intensity? *European Journal of Applied Physiology*, 56, 313-316.
- Lucia, A., Hoyos, J., & Santalla, A. (2003). Tour de France versus Vuelta a España: which is harder? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 35, 872-878.
- Lundby, C. & Steensberg, A. (2004). Interleukin-6 response to exercise during acute and chronic hypoxia. *European Journal of Applied Physiology*, 91, 88-93.
- MacDougall, J., Hicks, A., Macdonald, J., McKelvie, R., Green, H., & Smith, K. (1998). Muscle performance and enzymatic adaptations to sprint interval training. *J Appl Physiol*, 84, 2138-2142.
- MacIntyre, D., Sorichter, S., Mair, J., & Berg, A. (2001). Markers of inflammation and myofibrillar proteins following eccentric exercise in humans. *European Journal of Applied Physiology*, 84, 180-186.
- MacKinnon, L. T., Ginn, E., & Seymour, G. J. (1993). Decreased salivary immunoglobulin A secretion rate after intense interval exercise in elite kayakers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 67, 180-184.
- Malpas, S. C. (2010). Sympathetic nervous system overactivity and its role in the development of cardiovascular disease. *Physiol Rev.*, 90, 513-557.

Mameletzi, D., Kouidi, E., Koutlianos, N., & Deligiannis, A. (2011). Effects of long-term exercise training on cardiac baroreflex sensitivity in patients with coronary artery disease: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil*, 25, 217-227.

Manno, R. (1991). *Fundamentos del entrenamiento deportivo*. Barcelona: Paidotribo.

Margaritis, I., Tessier, F., Richard, M. J., & Marconnet, P. (1997). No evidence of oxidative stress after a triathlon race in highly trained competitors. *International Journal of Sports Medicine*, 18, 186-190.

Martin-Acero, R., Lalín, C., Coblán, C., Barral, R., & Arriaza, R. (2003). Plan de competición: adaptación y distribución de la carga en el mundial 2002 de fútbol. *Revista de entrenamiento deportivo*, 17, 5-14.

Martin, D., Carl, K., & Lehnertz, K. (2001). *Manual de metodología del entrenamiento deportivo*. Barcelona: Paidotribo.

Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L., & Della Valle, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *Journal of Sports Medicine & Physical Fitness*, 37, 235-239.

Mastaloudis, A., Leonard, S. W., & Traber, M. G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med*, 31, 911-22.

Mattsson, C., Enqvist, J., Brink-Elfegonn, T., Johanson, P., Bakkman, L., & Ekblom, B. (2010). Reversed drift in heart rate but increased oxygen uptake at fixed work rate during 24h ultra-endurance exercise. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 20, 298-304.

Matveiev, L. (2001). *Teoria general del entrenaeminto deportivo*. Barcelona: Paidotribo.

Mazzeo, R. S. & Grantham, P. A. (1989). Sympathetic response to exercise in various tissues with advancing age. *Journal of Applied Physiology*, 66, 1506-1508.

McAnulty, S. R., McAnulty, L. S., Nieman, D. C., Morrow, J. D., Utter, A. C., & Dumke, C. L. (2005). Effect of resistance exercise and carbohydrate ingestion on oxidative stress. *Free Radical Research*, 39, 1219-1224.

McAnulty, S. R., Hosick, P. A., McAnulty, L. S., Quindry, J. C., Still, L., Hudson, M. B. et al. (2007). Effect of pharmacological lowering of plasma urate on exercise-induced oxidative stress. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.*, 32, 1148-1155.

McBride, J. M., Kraemer, W. J., Triplett-McBride, T., & Sebastianelli, W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 30, 67-72.

McCarthy, D. & Dale, M. M. (1988). The leucocytosis of exercise: a review and model. *Sports Medicine*, 6, 333-336.

McCarthy, D., Grant, M., Marbut, M., Watling, M., Wade, A., & MacDonald, I. (1991). Brief exercise induces an immediate and a delayed leucocytosis. *British Journal of Sports Medicine*, 25, 191-195.

- McEwen, B. S. (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev.*, *87*, 873-904.
- McFarlin, B. K., Mitchell, J. B., McFarlin, M. A., & Steinhoff, G. M. (2003). Repeated endurance exercise affects leukocyte number but not NK cell activity. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *35*, 1130-1138.
- McLellan, T. M. & Gass, G. C. (1989). Metabolic and cardiorespiratory responses relative to the anaerobic threshold. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *21*, 191-198.
- Meyer, T., Holger, H. W., Gabriel, H. H. W., & Kindermann, W. (1999). Is determination of exercise intensities as percentages of VO<sub>2</sub>max or HRmax adequate? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *31*, 1342-1345.
- Miccheli, A., Marini, F., Capuani, G., Miccheli, A. T., Delfini, M., Di Cocco, M. E. et al. (2009). The influence of a sports drink on the postexercise metabolism of elite athletes as investigated by NMR-based metabolomics. *J Am Coll Nutr*, *28*, 553-564.
- Michailidis, Y., Jamurtas, A. Z., Nikolaidis, M. G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Papassotiriou, I. et al. (2007). Sampling Time is Crucial for Measurement of Aerobic Exercise-Induced Oxidative Stress. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *39*, 1107-1113.
- Mirella, R. (2001). *Las nuevas metodologías del entrenamiento de la fuerza, de la resistencia, la velocidad y la flexibilidad*. Barcelona: Paidotribo.
- Mitchell, J. B., Costill, D. L., Houmard, J. A., Flynn, M. G., Fink, W. J., & Beltz, J. D. (1990). Influence of carbohydrate ingestion on counterregulatory hormones during prolonged exercise. *Int J Sports Med*, *11*, 33-36.
- Mitchell, J. B., Dugas, J. P., McFarlin, B. K., & Nelson, M. J. (2002). Effect of exercise, heat stress, and hydration on immune cell number and function. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *34*, 1941-1950.
- Mitchell, J. H., Haskell, W., Snell, P., & Van Camp, S. P. (2005). Task force 8: Classification of sports. *Journal of the American College of Cardiology*, *45*, 1364-1367.
- Miyata, M., Kasai, H., Kawai, K., Yamada, N., Tokudome, M., Ichikawa, H. et al. (2007). Changes of Urinary 8-Hydroxydeoxyguanosine Levels during a Two-Day Ultramarathon Race Period in Japanese Non-Professional Runners. *International Journal of Sports Medicine*.
- Miyazaki, H., Oh-Ishi, S., Ookawara, T., Kizaki, T., Toshinai, K., Ha, S. et al. (2001). Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *84*, 1-6.
- Moholdt, T. T., Amundsen, B. H., Rustad, L. A., Wahba, A., Lovo, K. T., Gullikstad, L. R. et al. (2009). Aerobic interval training versus continuous moderate exercise after coronary artery bypass surgery: a randomized study of cardiovascular effects and quality of life. *Am Heart J*, *158*, 1031-1037.
- Moldoveanu, A. I. & Shephard, R. J. (2000). Exercise elevates plasma levels but not gene expression of IL-1beta, IL-6, and TNF-alpha in blood mononuclear cells. *J Appl Physiol*, *89*, 1499-1504.

- Mooren, F. C., Bloming, D., Lechtermann, A., Lerch, M. M., & Volker, K. (2002). Lymphocyte apoptosis after exhaustive and moderate exercise. *J Appl. Physiol*, *93*, 147-153.
- Mora, S., Cook, N., Buring, J., Ridker, P., & Lee, I. (2007). Physical activity and reduced risk of cardiovascular events. *Circulation*, *116*, 2110-2118.
- Morton, J. P., Holloway, K., Woods, P., Cable, N. T., Burniston, J., Evans, L. et al. (2009). Exercise training-induced gender-specific heat shock protein adaptations in human skeletal muscle. *Muscle and Nerve*, *39*, 230-233.
- Mougios, V. & Kotzamanidis, C. (1995). Exercise-induced changes in the concentration of individual fatty acids and triacylglycerols of human plasma. *Metabolism: Clinical and Experimental*, *44*, 681-688.
- Mozaffarian, D., Cao, H., King, I. B., Lemaitre, R. N., Song, X., Siscovick, D. S. et al. (2010). Circulating palmitoleic acid and risk of metabolic abnormalities and new-onset diabetes. *American Journal of Clinical Nutrition*, *92*, 1350-1358.
- Mozaffarian, D., Cao, H., King, I. B., Lemaitre, R. N., Song, X., Siscovick, D. S. et al. (2011). Trans-palmitoleic acid metabolic risk factors and new-onset diabetes in U.S. adults: a cohort study. *Ann Intern Med*, *153*, 790-799.
- Mucci, P., Durand, F., Lebel, B., & Bousquet, J. (2000). Interleukins 1-beta, -8, and histamine increases in highly trained exercising athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *32*, 1094-1100.
- Mujika, I. (2006). Métodos de cualificación de las cargas de entrenamiento y competición. *Revista Kronos*, *V*, 1-10.
- Myers, J., Prakash, M., Frélicher, V., & Do, D. (2002). Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. *New England Journal of Medicine*, *346*, 793-799.
- Naudi, A. (2010). *Mecanismes d'acció de diferents tipus d'intervencions nutricionals sobre l'estrès oxidatiu i les seves implicacions en el procés fisiològic de l'envelliment*. Tesis doctoral Universitat de Lleida.
- Naveri, H., Kuoppasalmi, K., & Harkonen, M. (1985). Plasma glucagon and catecholamines during exhaustive short-term exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *53*, 308-311.
- Nehlsen-Cannarella, S. L., Nieman, D. C., Jessen, J., Chang, L., Gusewitch, G., & Blix, G. (1991). The effects of acute moderate exercise on lymphocyte function and serum immunoglobulin levels. *Int J Sports Med*, *12*, 391-398.
- Nelson, A. R., Phillips, S. M., Stellingwerff, T., Rezzi, S., Bruce, S. J., Breton, I. et al. (2011). A protein-leucine supplement increases BCAA and nitrogen turnover but no performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, published ahead of print.
- Neubauer, O., König, D., & Wagner, K. H. (2008a). Recovery after an Ironman triathlon: sustained inflammatory responses and muscular stress. *European Journal of Applied Physiology*, *104*, 417-426.
- Neubauer, O., König, D., Kern, N., Nics, L., & Wagner, K. H. (2008b). No indications of persistent oxidative stress in response to an ironman triathlon. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *40*, 2119-2128.

- Newsholme, E. A. (1988). Application of knowledge of metabolic integration of the problem of metabolic limitations in sprints, middle distance and marathon running. In J.R. Poortmans (Ed.), *Principles of exercise biochemistry* (pp. 194-211). Basel: Karger.
- Nicholas, C. W., Nutall, F. E., & Williams, C. (2000). The Loughborough intermittent shuttle test: A field test that simulates the activity pattern of soccer. *Journal of Sports Sciences, 18*, 97-104.
- Nie, J., Tong, T. K., Shi, Q., Lin, H., Zhao, J., & Tian, Y. (2008). Serum cardiac troponin response in adolescents playing basketball. *Int J Sports Med, 29*, 449-452.
- Nie, J., George, K. P., Tong, T. K., Gaze, D., Tian, Y., Lin, H. et al. (2011). The influence of a half-marathon race upon cardiac troponin T release in adolescent runners. *Curr. Med Chem., 18*, 3452-3456.
- Nielsen, H. B., Secher, N. H., & Christensen, N. (1996). Lymphocytes and NK cell activity during repeated bouts of maximal exercise. *Am J Physiol, 271*, 222-227.
- Nielsen, H. B. & Pedersen, B. K. (1997). Lymphocyte proliferation in response to exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol, 75*, 375-379.
- Nielsen, H. B. (2003). Lymphocyte responses to maximal exercise: a physiological perspective. *Sports Medicine, 33*, 853-867.
- Nieman, D. C., Nehlsen-Cannarella, S. L., Donohue, K., Chritton, D., Haddock, B., & Stout, R. (1991). The effects of acute moderate exercise on leukocyte and lymphocyte subpopulations. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 23*, 578-585.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Johnson, R. L., Lebeck, L., & Davis, J. M. (1992). Effects of brief, heavy exertion on circulating lymphocyte subpopulations and proliferative response. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 24*, 1339-1345.
- Nieman, D. C., Miller, A. R., Henson, D. A., Warren, B. J., Gusewitch, G., & Johnson, R. L. (1993). Effects of high- vs moderate-intensity exercise on natural killer cell activity. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 25*, 1126-1134.
- Nieman, D. C., Miller, A. R., Henson, D. A., Warren, B. J., Gusewitch, G., & Johnson, R. L. (1994). Effect of high- versus moderate-intensity exercise on lymphocyte subpopulations and proliferative response. *International Journal of Sports Medicine, 15*, 199-206.
- Nieman, D. C., Buckley, K. S., Henson, D. A., Warren, B. J., Suttles, J., & Ahle, J. C. (1995). Immune function in marathon runners versus sedentary controls. *Medicine & Science in Sports & Exercise, 27*, 986-992.
- Nieman, D. C. (1997). Exercise immunology: practical applications. *International Journal of Sports Medicine, 18*, S91-S100.
- Nieman, D. C., Nehlsen-Cannarella, S. L., Fagoaga, O. R., Henson, D. A., Shannon, M., & Davis, J. M. (1999). Immune response to two hours of rowing in elite female rowers. *International Journal of Sports Medicine, 20*, 476-481.

- Nieman, D. C., Kernodle, M. W., Henson, D. A., & Sonnenfeld, G. (2000). The acute response of the immune system to tennis drills in adolescent athletes. *Research-quarterly-for-exercise-and-sport*, 71, 403-408.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Smith, L. L., Utter, A. C., Vinci, D. M., Davis, J. M. et al. (2001). Cytokine changes after a marathon race. *J Appl Physiol*, 91, 109-114.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., McNulty, S. R., McNulty, L., Swick, N. S., Utter, A. C. et al. (2002). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and immune changes after an ultramarathon. *J Appl Physiol*, 92, 1970-1977.
- Nieman, D. C., Dumke, C., Henson, D. A., McNulty, S. R., McNulty, L. S., Lind, R. H. et al. (2003). Immune and Oxidative Changes During and Following the Western States Endurance Run. *International Journal of Sports Medicine*, 24, 541-547.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Austin, M. D., & Brown, V. A. (2005). Immune response to a 30-minute walk. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 37, 57-62.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Dumke, C. L., Lind, R. H., Shooter, L. R., & Gross, S. J. (2006). Relationship between salivary IgA secretion and upper respiratory tract infection following a 160-km race. *Journal of Sports Medicine & Physical Fitness*, 46, 158-162.
- Nieman, D. C. (2007). Marathon training and immune function. *Sports Medicine*, 37, 412-415.
- Nieman, D. C., Henson, D. A., Gojanovich, G., Davis, J. M., Dumke, C., Utter, A. C. et al. (2007). Immune changes: 2h of continuous vs intermittent cycling. *Int J Sports Med*, 28, 625-630.
- Niess, A. M., Fehrenbach, E., Strobel, G., Roecker, K., Schneider, E. M., Buergler, J. et al. (2003a). Evaluation of stress responses to interval training at low and moderate altitudes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 35, 263-269.
- Niess, A. M., Fehrenbach, E., Lehmann, R., Opavsky, L., Jesse, M., Northoff, H. et al. (2003b). Impact of elevated ambient temperatures on the acute immune response to intensive endurance exercise. *Eur.J Appl.Physiol*, 89, 344-351.
- Nikolaidis, M. G., Paschalis, V., Giakas, G., Fatouros, I. G., Koutedakis, Y., Kouretas, D. et al. (2007). Decreased Blood Oxidative Stress after Repeated Muscle-Damaging Exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39, 1080-1089.
- Nosaka, K. & Clarkson, P. M. (1996). Changes in indicators of inflammation after eccentric exercise of the elbow flexors. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 28, 953-961.
- O'Brien, B. J., Wibskov, J., Knez, W. L., Paton, C. D., & Harvey, J. T. (2008). The effects of interval-exercise duration and intensity on oxygen consumption during treadmill running. *Journal of Science & Medicine in Sport*, 11, 287-290.
- Ostrowski, K., Hermann, C., Bangash, A., Schjerling, P., Nielsen, J. N., & Pedersen, B. K. (1998a). A trauma-like elevation of plasma cytokines in humans in response to treadmill running. *J Physiol*, 513, 889-894.

- Ostrowski, K., Rohde, T., Zacho, M., Asp, S., & Pedersen, B. K. (1998b). Evidence that interleukin-6 is produced in human skeletal muscle during prolonged running. *J Physiol*, *508*, 949-953.
- Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol*, *515*, 287-291.
- Ostrowski, K., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (2000). Physical activity and plasma interleukin-6 in humans--effect of intensity of exercise. *European Journal of Applied Physiology*, *83*, 512-515.
- Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (2001). Chemokines are elevated in plasma after strenuous exercise in humans. *European Journal of Applied Physiology*, *84*, 244-245.
- Pacak, K. & Palkovits, M. (2001). Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders. *Stressor specificity of central neuroendocrine responses: implications for stress-related disorders*, *22*, 502-548.
- Padilla, S., Mujika, I., Orbañanos, J., & Angulo, F. (2000). Exercise intensity during competition time trials in professional road cycling. *Medicine and Science in Sports*, *32*, 850-856.
- Paish, W. (1992). *Entrenamientos para alcanzar el máximo rendimiento*. Madrid: Tudor.
- Palazzetti, S., Richard, M. J., Favier, A., & Margaritis, I. (2003). Overload training increases exercise-induced oxidative stress and damage. *Canadian Journal of Applied Physiology*, *28*, 588-604.
- Palmer, F. M., Nieman, D. C., Henson, D. A., McAnulty, S. R., McAnulty, L. S., Swick, N. S. et al. (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *European Journal of Applied Physiology*, *89*, 100-107.
- Paschalis, V., Giakas, G., Baltzopoulos, V., Jamurtas, A. Z., Theoharis, V., Kotzamanidis, C. et al. (2007). The effects of muscle damage following eccentric exercise on gait biomechanics. *Gait.Posture.*, *25*, 236-242.
- Patti, G. J., Tautenhahn, R., & Siuzdak, G. (2012). Meta-analysis of untargeted metabolomic data from multiple profiling experiments. *Nature Protocols*, *7*, 508-516.
- Peake, J. & Suzuki, K. (2004). Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol.Rev*, 129-141.
- Pechlivanis, A., Kostidis, S., Saraslanidis, P., Petridou, A., Tsalis, G., Mougios, V. et al. (2010). (1)H NMR-based metabolomic investigation of the effect of two different exercise sessions on the metabolic fingerprint of human urine. *J Proteome Res*, *9*, 6405-6416.
- Pedersen, B. K. (1998). Exercise immunology: integration and regulation. *Immunol Today*, *19*, 204-210.
- Pedersen, B. K. & Hoffman-Goetz, L. (2000). Exercise and the Immune System: Regulation, Integration, and Adaptation. *Physiological Reviews*, *80*, 1055-1081.

- Pedersen, B. K. (2000). Effects of exercise on lymphocytes and cytokines. *British Journal of Sports Medicine*, 34, 246-251.
- Pedersen, B. K., Bruunsgaard, H., Ostrowski, K., Krabbe, K., Hansen, H., & Krzywkowski, K. (2001). Cytokines in aging and exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 21, S4-S9.
- Pedersen, B. K. & Saltin, B. (2006). Evidence for prescribing exercise as therapy in chronic disease. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 16, 3-63.
- Pedersen, B. K. & Fischer, C. P. (2007). Physiological roles of muscle-derived interleukin-6 in response to exercise. *Curr Opin.Clin Nutr Metab Care*, 10, 265-271.
- Pedersen, B. K., Akerstrom, T., Nielsen, A. R., & Fischer, C. P. (2007). Role of myokines in exercise and metabolism. *J Appl.Physiol*, 103, 1093-1098.
- Pedersen, B. K. & Febbraio, M. A. (2008). Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiological Reviews*, 88, 1379-1406.
- PEFS (2007). *Guia de prescripció de l'exercici físic per a la salut (PEFS)*. Barcelona: Generalitat de Catalunya.
- Perry, C. G., Heigenhauser, G. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2008). High-intensity aerobic interval training increases fat and carbohydrate metabolic capacities in human skeletal muscle. *Appl Physiol Nutr Metab*, 33, 1112-1123.
- Petersen, A. M. W. & Pedersen, B. K. (2005). The anti-inflammatory effect of exercise. *Journal of Applied Physiology*, 98, 1154-1162.
- Pizza, F. X., Davis, B. J., Henrickson, S., Mitchell, J. B., Pace, J., & Bigelow, N. (1996). Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression. *J Appl Physiol*, 80, 47-55.
- Plaisance, E. P. & Grandjean, P. W. (2006). Physical activity and high-sensitivity C-reactive protein. *Sports Medicine*, 36, 443-458.
- Platonov, V. (1988). *El entrenamiento deportivo. Teoría y metodología*. Barcelona: Paidotribo.
- Pohjanen, E., Thysell, E., Jonsson, P., Eklund, C., Silfver, A., Carlsson, I. B. et al. (2007). A multivariate screening strategy for investigating metabolic effects of strenuous physical exercise in human serum. *J Proteome Res*, 6, 2113-2120.
- Powers, S. K. & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress:cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol Rev*, 88, 1243-1276.
- Powers, S. K., Smuder, A. J., Kavazis, A. N., & Hudson, M. B. (2010). Experimental guidelines for studies designed to investigate the impact of antioxidant supplementation in exercise performance. *Methods in sport nutrition research*, 20, 2-14.



- Prior, B. M., Yang, H. T., & Terjung, R. L. (2004). What makes vessels grow with exercise training? *J Appl. Physiol*, *97*, 1119-1128.
- Pritzlaff, C. J., Wideman, L., Blumer, J., Jensen, M., Gaesser, G. A., Veldhuis, J. D. et al. (2000). Catecholamines release, growth hormone secretion and energy expenditure during exercise vs. recovery in men. *Journal of Applied Physiology*, *89*, 937-946.
- Psychogios, N., Hau, D. D., Peng, J., Guo, A. C., Mandal, R., Bouatra, S. et al. (2011). The human serum metabolome. *PLoS. One.*, *6*, e16957.
- Pyne, D. B., Baker, M., Telford, R., & Weidemann, M. (1997). A treadmill protocol to investigate independently the metabolic and mechanical stress of exercise. *Australian Journal of Science and Medicine in Sport*, *29*, 77-82.
- Quehenberger, O., Armando, A. M., Brown, A. H., Milne, S. B., Myers, D. S., Merrill, A. H. et al. (2010). Lipidomics reveals a remarkable diversity of lipids in human plasma. *Journal of Lipid Research*, *51*, 3299-3305.
- Radak, Z., Ogonovszky, H., Dubecz, J., Pavlik, G., Sasvari, M., Pucsok, J. et al. (2003). Super-marathon race increases serum and urinary nitrotyrosine and carbonyl levels. *Eur J Clin Invest*, *33*, 726-30.
- Ramel, A., Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2003). Acute impact of submaximal resistance exercise on immunological and hormonal parameters in young men. *Journal of Sports Sciences*, *21*, 1001-1008.
- Ramel, A., Wagner, K. H., & Elmadfa, I. (2004). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *European Journal of Nutrition*, *43*, 2-6.
- Randers, M. B., Mujika, I., Hewitt, A., Santisteban, J., Krstrup, P., & Mohr, M. (2010). Application of four different football match analysis systems: a comparative study. *Journal of Sports Sciences*, *28*, 171-182.
- Raven, P., Fadel, P., & Ogoh, S. (2006). Arterial baroreflex resetting during exercise: a current perspective. *Experimental Physiology*, *91*, 37-40.
- Reid, M. B. (2001). Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *Journal of Applied Physiology*, *90*, 724-731.
- Richards, J. C., Johnson, T. K., Kuzma, J. N., Lonac, M. C., Schweder, M. M., Voyles, W. F. et al. (2010). Short-term sprint interval training increases insulin sensitivity in healthy adults but does not affect the thermogenic response to beta-adrenergic stimulation. *J Physiol*, *588*, 2961-2972.
- Riddell, M., Ruderman, N., Tsiani, E., & Vranic, M. (2003). The endocrine system: metabolic effects of the pancreatic, adrenal, thyroidal and growth hormones. In C. Tipton (Ed.), *Exercise physiology: people and ideas* (1 ed.), New York, NY: Oxford university press.
- Roeborgs, R. (1996). *Exercise physiology: exercise, performance and clinical applications*. St Louis: Mosby.
- Robson, P. J., Blannin, A. K., Walsh, N. P., & Castell, L. M. (1999). Effects of exercise intensity, duration and recovery on in vitro neutrophil function in male athletes. *Int J Sports Med*, *20*, 128-135.

Rodas, G., Ventura, J. L., Cadefau, J. A., Cussó, R., & Parra, J. (2000). Short training programme for the rapid improvement of both aerobic and anaerobic metabolism. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *82*, 480-486.

Rodriguez-Espinosa, J. (1993). Catecolamines i medul·la suprarenal. In F.Gonzalez-Sastre (Ed.), *Bioquímica clínica* (pp. 429-474). Barcelona: Barcanova.

Rodriguez-Espinosa, J. (1993). Avaluació bioquímica de la funció glucocorticoide i androgènica de l'escorça suprarenal. In F.Gonzalez-Sastre (Ed.), *Bioquímica clínica* (pp. 377-428). Barcelona: Barcanova.

Rognmo, O., Hetland, E., Helgerud, J., Hoff, J., & Slordahl, S. A. (2004). High intensity aerobic interval exercise is superior to moderate intensity exercise for increasing aerobic capacity in patients with coronary artery disease. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, *11*, 216-222.

Rognmo, O., Bjornstad, T., Kahrs, C., Tjonna, A. E., Bye, A., Haram, P. M. et al. (2008). Endothelial function in highly endurance-trained men: effects of acute exercise. *J Strength Cond Res*, *22*, 535-542.

Rowel, L., O'Leary, D., & Kellogg, D. (1996). Integration of cardiovascular control systems in dynamic exercise. In L.Rowel & R. Shephard (Eds.), *Handbook of Physiology: Exercise, Regulation and integration of multiple systems* (1 ed.), pp. 776-829). Bethesda, MD: American Physiological Society.

Rowel, L. & Shephard, R. (1996). *Exercise, Regulation and integration of multiple systems*. (1 ed.) (vols. 12) Bethesda, MD: American Physiological Society.

Rowel, L. (2004). Ideas about control of skeletal and cardiac muscle blood flow (1876–2003): cycles of revision and new vision. *Journal of Applied Physiology*, *97*, 384-392.

Sabatine, M. S., Liu, E., Morrow, D. A., Heller, E., McCarroll, R., Wiegand, R. et al. (2005). Metabolomic identification of novel biomarkers of myocardial ischemia. *Circulation*, *112*, 3868-3875.

Sacheck, J. M., Milbury, P. E., Cannon, J. G., Roubenoff, R., & Blumberg, J. B. (2003). Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radic Biol Med*, *34*, 1575-88.

Sari-Sarraf, V., Reilly, T., & Doran, D. A. (2006). Salivary IgA response to intermittent and continuous exercise. *Int J Sports Med*, *27*, 849-855.

Saxton, J., Donnelly, A. E., & Roper, H. (1994). Indices of free-radical-mediated damage following maximum voluntary eccentric and concentric muscular work. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, *68*, 189-193.

Scharhag, J., Meyer, T., Auracher, M., Gabriel, H. H. W., & Kindermann, W. (2006). Effects of graded carbohydrate supplementation on the immune response in cycling. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *38*, 286-292.

Serrano-Ostariz, E., Terreros-Blanco, J. L., Legaz-Arrese, A., George, K. P., Shave, R. E., Bocos-Terraz, P. et al. (2011). The impact of exercise duration and intensity on the release of cardiac biomarkers. *Scand J Med Sci Sports*, *21*, 244-249.

Shacter, E. (2000). Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metabolism Reviews*, 32, 307-326.

Shave, R. E., George, K. P., Atkinson, G., Hart, E., Middleton, N., Whyte, G. et al. (2007). Exercise induced cardiac troponin T release: a meta-analysis. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39, 2099-2106.

Shave, R. E., Ross, P., Low, D., George, K. P., & Gaze, D. (2010). Cardiac troponin I is released following high-intensity short-duration exercise in healthy humans. *Int J Cardiol*, 145, 337-339.

Shek, P. N., Sabiston, B. H., & Buguet, A. (1995). Strenuous exercise and immunological changes: a multiple-time-point analysis of leukocyte subsets, CD4/CD8 ratio, immunoglobulin production and NK cell response. *International Journal of Sports Medicine*, 16, 466-474.

Shephard, R. J. (1999). Effects of exercise and training on natural killer cell counts and cytolytic activity: a meta-analysis. *Sports Medicine*, 28, 177-195.

Shinkai, S., Shore, S., & Shek, P. N. (1992). Acute exercise and immune function. Relationship between lymphocyte activity and changes in subset counts. *International Journal of Sports Medicine*, 13, 452-461.

Siegel, A. J., Stec, J. J., Lipinska, I., Van Cott, E. M., Lewandrowski, K. B., Ridker, P. M. et al. (2001). Effect of marathon running on inflammatory and hemostatic markers. *Am J Cardiol*, 88, 918-920.

Silva, L. A., Silveira, P. C., Pinho, C. A., Tuon, T., Dal, P. F., & Pinho, R. A. (2008). N-acetylcysteine supplementation and oxidative damage and inflammatory response after eccentric exercise. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 18, 379-388.

Simpson, R. J., Wilson, M. R., Black, J. R., Ross, J. A., Whyte, G. P., Guy, K. et al. (2005). Immune Alterations, Lipid Peroxidation, and Muscle Damage Following a Hill Race. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 30, 196-211.

Smith, D., Telford, R., Peltola, E., & Tumilty, D. (2000). Protocols for the physiological assessment of high-performance runners. In C.J.Gore & Australian Sports Commission (Eds.), *Physiological test for elite athletes* (pp. 334-344). Champaign (IL): Human Kinetics.

Smith, J. A. (1995). Guidelines, standards, and perspectives in exercise immunology. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 24, 497-506.

Smith, L. L., Bond, J., Holbert, D., Houmard, J., Israel, R., & McCammon, M. (1998). Differential white cell count after two bouts of downhill running. *Int J Sports Med*, 19, 432-437.

Smith, L. L. (2000). Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 32, 317-331.

Smith, P. K., Krohn, R. I., Hermanson, G. T., Mallia, A. K., Gartner, F. H., Provenzano, M. D. et al. (1985). Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry*, 150, 76-85.

Soeters, M. R., Sauerwein, H. P., Duran, M., Wanders, R. J., Ackermans, M.-T., Fliers, E. et al. (2009). Muscle acylcarnitines during short-term fasting in lean healthy men. *Clinical Science*, 116, 585-592.

- Soley, M. & Llobera, M. (1997). *Esquemes bàsics de regulació del metabolisme*. (1 ed.) Barcelona: Edicions de la Universitat de Barcelona.
- Son, Y., Cheong, Y. K., Kim, N. H., Chung, H. T., Kang, D. G., & Pae, H. O. (2011). Mitogen-activated protein kinases and reactive oxygen species: how can ROS activate MAPK pathways? *Journal of Signal Transduction* ID 792639[1], 6. Hindawi Publishing Corporation.
- Sorichter, S., Martin, M., Julius, P., Schwirtz, A., Huonker, M., Luttmann, W. et al. (2006). Effects of unaccustomed and accustomed exercise on the immune response in runners. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38, 1739-1745.
- Starkie, R., Angus, D., Rolland, J., & Hargreaves, M. (2000). Effect of prolonged, submaximal exercise and carbohydrate ingestion on monocyte intracellular cytokine production in humans. *J Physiol*, 528, 647-655.
- Steensberg, A., Toft, A., Schjerling, P., & Halkjaer-Kristensen, J. (2001). Plasma interleukin-6 during strenuous exercise: role of epinephrine. *Am J Physiol Cell Physiol*, 281, 1001-1004.
- Steensberg, A., Morrow, J. D., Toft, A. D., Bruunsgaard, H., & Pedersen, B. K. (2002). Prolonged exercise, lymphocyte apoptosis and F2-isoprostanes. *European Journal of Applied Physiology*, 87, 38-42.
- Stegmann, H., Kindermann, W., & Schnabel, A. (1981). Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *International Journal of Sports Medicine*, 2, 160-165.
- Steinberg, J. G., Gainnier, M., Michel, F., Faucher, M., Arnaud, C., & Jammes, Y. (2002). The post-exercise oxidative stress is depressed by acetylsalicylic acid. *Respir Physiol Neurobiol*, 130, 189-199.
- Steinberg, J. G., Ba, A., Bregeon, 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.
- Stensvold, D., Tjonna, A. E., Skaug, E. A., Aspenes, S., Stolen, T., Wisloff, U. et al. (2010). Strength training versus aerobic interval training to modify risk factors of metabolic syndrome. *J Appl Physiol*, 108, 804-810.
- Stephens, F. B., Constantin-Teodosiu, D., & Greenhaff, P. L. (2007). New insights concerning the role of carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. *Journal of Physiology*, 581, 431-444.
- Steputo, N. K., Martin, D. T., Fallon, K. E., & Hawley, J. A. (2001). Metabolic demands of intense aerobic interval training in competitive cyclists. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33, 303-310.
- Stewart, I. B. & McKenzie, D. C. (2002). The human spleen during physiological stress. *Sports Medicine*, 32, 361-369.
- Strachan, A. F., Noakes, T. D., Kotzenberg, G., Nel, A. E., & de Beer, F. C. (1984). C reactive protein concentrations during long distance running. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 289, 1249-1251.
- Subudhi, A. W., Davis, S. L., Kipp, R. W., & Askew, E. W. (2001). Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, 11, 32-41.

Suhre, K. & Schmitt-Kopplin, P. (2008). MassTRIX: Mass TRanslator Into Pathways. *Nucleic Acids Research*, 36, W481-W484.

Suizdak, G. & Abagyan Lab (2010). METLIN: Scripps Center for Mass Spectrometry. METLIN [On-line]. Available: <http://metlin.scripps.edu/>.

Sureda, A., Tauler, P., Aguilo, A., Cases, N., Fuentespina, E., Córdova, A. et al. (2005). Relation between oxidative stress markers and antioxidant endogenous defences during exhaustive exercise. *Free Radical Research*, 39, 1317-1324.

Surmen-Gur, E., Ozturk, E., Gur, H., Punduk, Z., & Tuncel, P. (1999). Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers: with special reference to haemoconcentration effect. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 79, 472-478.

Suzuki, K., Nakaji, S., Kurakake, S., Totsuka, M., Sato, K., Kuriyama, T. et al. (2003). Exhaustive exercise and type-1/type-2 cytokine balance with special focus on interleukin-12 p40/p70. *Exerc Immunol.Rev*, 9, 48-57.

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.

Svensson, M. B., Ekblom, B., Cotgreave, I. A., Norman, B., Sjoberg, B., Ekblom, O. et al. (2002). Adaptive stress response of glutathione and uric acid metabolism in man following controlled exercise and diet. *Acta Physiol Scand*, 176, 43-56.

Talanian, J. L., Galloway, S. D., Heigenhauser, G. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2007). Two weeks of high-intensity aerobic interval training increases the capacity for fat oxidation during exercise in women. *J Appl Physiol*, 102, 1439-1447.

Talanian, J. L., Holloway, G. P., Snook, L. A., Heigenhauser, G. J., Bonen, A., & Spriet, L. L. (2010). Exercise training increases sarcolemmal and mitochondrial fatty acid transport proteins in human skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 299, E180-E188.

Tauler, P., Aguilo, A., Gimeno, I., Fuentespina, E., Tur, J. A., & Pons, A. (2006). Response of blood cell antioxidant enzyme defences to antioxidant diet supplementation and to intense exercise. *European Journal of Nutrition*, 45, 187-195.

Tauler, P., Ferrer, M., Sureda, A., Pujol, P., Drobnic, F., Tur, J. A. et al. (2008). Supplementation with an antioxidant cocktail containing coenzyme Q prevents plasma oxidative damage induced by soccer. *European Journal of Applied Physiology*, 104, 777-785.

Taylor, C., Rogers, G., Goodman, C., Baynes, R. D., Bothwell, T. H., Bezwoda, W. R. et al. (1987). Hematologic, iron-related, and acute-phase protein responses to sustained strenuous exercise. *J Appl Physiol*, 62, 464-469.

Thannickal, V. J. & Fanburg, B. L. (2000). Reactive oxygen species in cell signalling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 279, 1005-1028.

- Thomas, C., Perrey, S., Ben Saad, S., Delage, M., Dupuy, A.M. et al. (2007). Effects of supplementation during exercise and recovery. *International Journal of Sports Medicine*, 28, 703-712.
- Thompson, D., Williams, C., Garcia-Roves, P., McGregor, S. J., McArdle, F., & Jackson, M. J. (2003). Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 89, 393-400.
- Tipton, C. (2003). *Exercise physiology: people and ideas*. (1 ed.) New York, NY: Oxford university press.
- Tjonna, A. E., Lee, S. J., Rognmo, O., Stolen, T. O., Bye, A., Haram, P. M. et al. (2008). Aerobic interval training versus continuous moderate exercise as a treatment for the metabolic syndrome: a pilot study. *Circulation*, 118, 346-354.
- Tjonna, A. E., Stolen, T. O., Bye, A., Volden, M., Slordahl, S. A., Odegard, R. et al. (2009). Aerobic interval training reduces cardiovascular risk factors more than a multitreatment approach in overweight adolescents. *Clin Sci (Lond)*, 116, 317-326.
- Tjonna, A. E., Rognmo, O., Bye, A., Stolen, T. O., & Wisloff, U. (2011). Time course of endothelial adaptation after acute and chronic exercise in patients with metabolic syndrome. *J Strength Cond Res*, 25, 2552-2558.
- Tomaszewski, M., Charchar, F. J., Przybycin, M., Crawford, L., Wallace, A. M., Gosek, K. et al. (2003). Strikingly low circulating CRP concentrations in ultramarathon runners independent of markers of adiposity: how low can you go? *Arterioscler. Thromb Vasc Biol*, 23, 1640-1644.
- Tsai, K., Hsu, T. G., Hsu, K. M., Cheng, H., Liu, T. Y., Hsu, C. F. et al. (2001). Oxidative DNA damage in human peripheral leukocytes induced by massive aerobic exercise. *Free Radic Biol Med*, 31, 1465-1472.
- Tschiene, P. (2002). Algunos aspectos de la preparación a la competición. La preparación a la competición según un enfoque basado en la teoría de sistemas. *Revista de entrenamiento deportivo*, 16, 5-15.
- Tvede, N., Heilmann, C., Halkjaer-Kristensen, J., & Pedersen, B. K. (1989). Mechanisms of B-lymphocyte suppression induced by acute physical exercise. *J Clin Lab Immunol*, 30, 169-173.
- Vasankari, T. J., Kujala, U. M., Vasankari, T. M., Vuorimaa, T., & Ahotupa, M. (1997). Effect of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defenses. *Free Radic Biol Med*, 22, 509-513.
- Vassilakopoulos, T., Karatza, M. H., Katsaounou, P., Kollintza, A., Zakyntinos, S., & Roussos, C. (2003). Antioxidants attenuate the plasma cytokine response to exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*, 94, 1025-1032.
- Vider, J., Lehtmaa, J., Kullisaar, T. E., Vikhalemm, T. E., Zilmer, K., Kairane, C. et al. (2001). Acute immune response in respect to exercise-induced oxidative stress. *Pathophysiology*, 7, 263-270.
- Vincent, K. R., Vincent, H. K., Braith, R. W., Lennon, S. L., & Lowenthal, D. T. (2002). Resistance exercise training attenuates exercise-induced lipid peroxidation in the elderly. *European Journal of Applied Physiology*, 87, 416-23.

Viru, A. & Viru, M. (2001). *Biochemical monitoring of sports training*. (1 ed.) Champaign: Human Kinetics.

VVAA (1992). *Diccionario de las Ciencias del Deporte*. (1 ed.) Málaga: Unisport.

Wall, B. T., Stephens, F. B., Constantin-Teodosiu, D., Marimuthu, T. K., MacDonald, I., & Greenhaff, P. L. (2011). Chronic oral ingestion of L-carnitine and carbohydrate increases muscle carnitine content and alters muscle fuel metabolism during exercise in humans. *Journal of Physiology*, *589*, 963-973.

Walsh, N. P., Blannin, A. K., Clark, A. M., Cook, L., Robson, P. J., & Gleeson, M. (1999). The effects of high-intensity intermittent exercise on saliva IgA, total protein and alpha-amylase. *J Sports Sci*, *17*, 129-134.

Walsh, N. P., Blannin, A. K., Bishop, N. C., Robson, P. J., & Gleeson, M. (2000). Effect of oral glutamine supplementation on human neutrophil lipopolysaccharide-stimulated degranulation following prolonged exercise. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism*, *10*, 39-50.

Walsh, N. P., Gleeson, M., Shephard, R. J., Gleeson, M., Woods, J. A., Bishop, N. C. et al. (2011a). Position statement. Part one: Immune function and exercise. *Exerc Immunol.Rev*, *17*, 6-63.

Walsh, N. P., Gleeson, M., Pyne, D. B., Nieman, D. C., Dhabhar, F., Shephard, R. J. et al. (2011b). Position statement. Part two: maintaining immune health. *Exerc Immunol.Rev*, *17*, 64-103.

Waring, W. S., Convery, A., Mishra, V., Shenkin, A., Webb, D. J., & Maxwell, R. J. (2003). Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clinical Science*, *105*, 425-430.

Wasserman, D. & Cherrington, A. D. (1996). Regulation of extrafuel sources during exercise. In L.Rowel & R. Shephard (Eds.), *Exercise, Regulation and integration of multiple systems* (1 ed.), pp. 1036-1074). Bethesda, MD: American Physiological Society.

Wasserman, K. (2002). *Cardiopulmonary exercise testing and cardiovascular health*. (1 ed.) Armond, NY: Futura Publishing Company.

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.

Weight, L. M., Alexander, D., & Jacobs, P. (1991). Strenuous exercise: analogous to the acute-phase response? *Clin Sci (Lond)*, *81*, 677-683.

Weiss, C., Kinscherf, R., Roth, S., Friedmann, B., Fischbach, T., & Reus, J. (1995). Lymphocyte subpopulations and concentrations of soluble CD8 and CD4 antigen after anaerobic training. *Int J Sports Med*, *16*, 117-121.

Wikoff, W. R., Pendyala, G., Siuzdak, G., & Fox, H. S. (2009). Metabolomic analysis of cerebrospinal fluid reveals changes in phospholipase expression in the CNS of SIV-infected macaques. *Journal of Clinical Investigation*, *118*, 2661-2669.

Wilber, R. L., Holm, P. L., Morris, D. M., Dallam, G. M., Subudhi, A. W., Murray, D. M. et al. (2004). Effect of FIO<sub>2</sub> on oxidative stress during interval training at moderate altitude. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 36, 1888-1894.

Wilmore, J. H. & Costill, D. L. (2004). *Fisiología del esfuerzo y el deporte*. (5 ed.) Barcelona: Paidotribo.

Wishart, D. S., Knox, C., & Guo, A. C. (2009). HMDB: a knowledgebase for the human metabolome. *Nucleic Acids Research*, 37, D603-D610.

Wisloff, U., Stoylen, A., Loennechen, J. P., Bruvold, M., Rognmo, O., Haram, P. M. et al. (2007). Superior cardiovascular effect of aerobic interval training versus moderate continuous training in heart failure patients: a randomized study. *Circulation*, 115, 3086-3094.

World Medical Association. (2008). Declaration of Helsinki - Ethical principles for medical research involving human subjects. <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html> . Seul. 1-4-2012.  
Ref Type: Online Source

Yan, B., Wang, G., Lu, H., Huang, X., Liu, Y. et al. (2009). Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength-endurance training. *J Appl Physiol*, 106, 531-538.

Zavorsky, G. S., Saul, L., Murias, J. M., & Ruiz, P. (2006). Pulmonary gas exchange does not worsen during repeat exercise in women. *Respir Physiol Neurobiol.*, 153, 226-236.

Zorzano, A. & Gumà, A. (1991). Metabolismo del músculo y bioquímica del ejercicio. In E.Herrera (Ed.), *Bioquímica. Aspectos estructurales y vías metabólicas* (2 ed.), pp. 1481-1502). Madrid: McGraw-Hill-Interamericana.

Zouhal, H., Jacob, C., Delamarche, P., & Gratas-Delamarche, A. (2008). Catecholamines and the effects of exercise, training and gender. *Sports Medicine*, 38, 401-423.





## **9 Annexos**



## 9.1 Consentiment informat

**Nom i Cognoms:**

**DNI:**

**Declaro que:**

Després d'haver estat informat amb claredat sobre el projecte de recerca Exercici físic en interval versus continu: una perspectiva fisiològica.

Em comprometo a participar en les següents activitats de valoració que es faran al llarg de l'estudi:

- Una prova d'esforç màxima en tapis amb anàlisi de gasos i extraccions de sang del lòbul de l'orella per a la determinació de la lactacidèmia.
- Una sessió d'entrenament de carrera contínua de 60 minuts de durada i a una intensitat del 90% del llindar anaeròbic individual.
- Una sessió d'entrenament de carrera en intervals amb 8 series de 5 minuts de durada a una intensitat del 105% del llindar anaeròbic individual i pauses de 2 minuts entre series.
- En les dues sessions d'entrenament que realitzaré al camp de gespa de l'INEFC-Lleida deixaré que m'extreguin 15 ml de sang venosa en quatre ocasions (abans, després, i al cap de 60 i 180 minuts de cada sessió) i que em registrin la freqüència cardíaca mitjançant un monitor de ritme cardíac, i accepto els possibles riscos derivats d'aquests processos.
- Els dies previs a les sessions d'entrenament em comprometo a:
  - No fer un esforç intens en les 24 hores prèvies a les sessions de valoració
  - Fer una alimentació equilibrada en els 4 dies previs a les sessions
  - No prendre medicaments, ni suplementos vitamínics, ni fumar en els 4 dies previs a les sessions.
- Durant les 3 hores de recuperació de les sessions
  - No realitzaré cap altre esforç físic que pugui interferir en els resultats.
  - Podré dutxar-me, llegir, fer activitats sedentàries però estaré disponible en els moments que calgui fer les extraccions de sang (60 minuts i 180 minuts de recuperació)
  - Podré beure tanta aigua com desitgi però no prendré begudes que puguin interferir amb els resultats (café, begudes ensucrades amb gas, alcohol...)
  - També podré menjar algun entrepà però no faré un àpat copiós.

**Ús confidencial:**

Durant tot l'estudi es mantindrà absoluta confidencialitat de les meves dades personals i al finalitzar el mateix rebré informació dels meus resultats.

Ofereixo la meva col·laboració de forma lliure i voluntària i em comprometo a complir les indicacions donades pels investigadors durant la participació en l'estudi.

No obstant, en qualsevol moment em podré retirar del projecte, indicant-ho amb claredat per escrit o verbalment, i sense que aquest fet repercuteixi negativament sobre la meva persona.

Sóc conscient de la informació inclosa en aquest formulari, comprenc els procediments (extraccions, proves, sessions), i accepto lliurement participar en el projecte de recerca Exercici físic en interval versus continu: una perspectiva fisiològica

A.....de..... de 2009

Persona Voluntària

Investigador/a

DNI:

DNI:

## 9.2 Qüestionari de salut

### QUESTIONARI DE SALUT (Adaptat de ACSM, 2005)

### DATA

NOM

DATA DE NAIXEMENT

TELÈFON

EDAT

e-mail de contacte:

#### ESTADI 1 - MALALTIES CONEGUDES

1- Teniu diabetis?	NO	SI
Si heu respost afirmativament, indiqueu si es tracta d'una diabetis tipus I o tipus II Des de quan?		anys
2- Heu patit algun accident vasculo-cerebral?	NO	SI
3- El vostre metge us a dit mai que teniu problemes del cor?	NO	SI
4- Preneu medicació per l'asma?	NO	SI
5- Patiu alguna altra malaltia crònica? Quina (quines)?	NO	SI
Feu un llistat dels medicaments que preneu habitualment		

#### ESTADI 2 - SIGNES I SIMPTOMES

6- Patiu sovint de dolor al cor, tòrax o en les àrees veïnes, especialment durant l'exercici?	NO	SI
7- Patiu sovint pèrdues de coneixement o teniu crisis de mareig importants durant l'exercici?	NO	SI
8- Noteu fatiga important o falta d'aire en repòs o al fer exercici suau?	NO	SI
9- Heu patit alguna crisi de manca d'aire després de fer exercici?	NO	SI
10- Us heu despertat alguna vegada a la nit a causa d'una crisi de manca d'aire?	NO	SI
11- Teniu els turmells inflats o amb acumulació de líquid?	NO	SI
12- Noteu sovint que el vostre cor batega ràpid o de forma irregular, en repòs o durant l'exercici?	NO	SI
13- Patiu regularment dolor als panxells o cames durant l'exercici i que no sigui degut a cruiximents o contractures?	NO	SI
14- Us ha dit mai el vostre metge si teniu algun buf cardíac?	NO	SI

**ESTADI 3 -FACTORS DE RISC CARDIAC**

15- Sou fumador o éreu fumador i heu deixat de fumar fa menys de 2 anys?	NO	SI
Si heu respost afirmativament, quants cigarrets fumeu (o fumàveu) al dia		
16- Teniu algun familiar (pare, mare, germans o germanes) que hagin patit un atac de cor o tinguessin una malaltia càrdio-vascular abans dels 65 anys?	NO	SI
17- Quina és la vostra pressió sistòlica?	mmHg	
18- Quina és la vostra pressió diastòlica?	mmHg	
19- Quins són els vostres nivells de colesterol total en sang?	mmol/L o mg/dL	
20- Quins són els vostres nivells de HDL en sang?	mmol/L o mg/dL	
21- Quins són els vostres nivells de triglicèrids en sang?	mmol/L o mg/dL	

**ESTADI 4 – HÀBITS D'EXERCICI FISIC**

22- La vostra feina requereix estar assegut la major part del dia?	NO	SI
23- Quin és el vostre patró d'exercici físic habitual		
freqüència	nº sessions/setmana	
intensitat	<input type="checkbox"/> Lleugera <input type="checkbox"/> Moderada <input type="checkbox"/> Intensa	
durada	minuts/sessió	
historia	<input type="checkbox"/> <3 mesos <input type="checkbox"/> 3-12 mesos <input type="checkbox"/> >12 mesos	
modalitat (tipus)		
24- Participeu en competicions esportives?	NO	SI
Quin tipus i nivell?		
25- Preneu suplementes vitamínics, minerals o de qualsevol altre tipus habitualment?	NO	SI
En cas afirmatiu indiqueu quins		

**QUINA DISPONIBILITAT HORARIA /TEMPORAL TENIU?**

### 9.3 Reactius i solucions

Les Taules Annex 9.3 Taula 1 a 16 que es presenten a continuació indiquen els reactius i solucions emprades en les tècniques analítiques per a la valoració de l'àcid úric, capacitat de reducció fèrrica del plasma (FRAP), de grups carbonil proteics, i de metabòlica no dirigida descrites a l'apartat Determinacions analítiques (pàgina 159).

Annex 9.3. Taula 1. Reactius necessaris per a l'anàlisi de l'àcid úric en plasma

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Fosfat sòdic monobàsic	Panreact (Barcelona, Espanya)	121672
Fosfat sòdic dibàsic (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Riedel-de Haën (Seelze, Alemanya)?	30412
Clorur sòdic (NaCl)	Panreact (Barcelona, Espanya)	121652

Annex 9.3. Taula 2. Solució necessària per a l'anàlisi de l'àcid úric en plasma

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
PBS (Tampó fosfat salí)	Fosfat sòdic monobàsic 58 mM Fosfat sòdic dibàsic 17 mM Clorur sòdic 68 mM Aigua milliQ

Annex 9.3. Taula 3. Reactius necessaris per a l'anàlisi de la capacitat de reducció fèrrica del plasma

REACTIUS	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Àcid acètic	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	A9967
Acetat sòdic	Panreact (Barcelona, Espanya)	131632
Àcid clorhídric	Merck (Darmstad, Alemanya)	100.317.000
2,4,6-tri(2-pirildil)-s-triazina (TPTZ)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	93285
Clorur fèrric (FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	770857
Àcid 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxilic (Trolox)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	23881-3
Etanol	Carlo Erba (Milà, Italia)	64-17-5
Aigua milliQ		

Annex 9.3. Taula 4. Solucions necessàries per a l'anàlisi de la capacitat de reducció fèrrica del plasma

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
Tampó acetat	Àcid acètic 0,3 M Acetat sòdic 0,3 M Ajustat a pH 3,6
Àcid clorhídric 40 mM	Àcid clorhídric 40 mM en aigua milliQ
Solució TPTZ	TPTZ 10 mM en àcid clorhídric 40 mM
Clorur fèrric 20 mM	Clorur fèrric 20 mM en aigua milliQ
Reactiu FRAP	25 mL de tampó acetat 0,3 M 2,5 mL de solució de TPTZ 10 mM 2,5 mL de clorur fèrric 20 mM
Sèrie patró Trolox	Trolox 0, 100, 250, 500, 750 i 1000 µM dissolt en etanol

Annex 9.3. Taula 5. Reactius necessaris per a la preparació dels patrons de plasma reduït i oxidat

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Fosfat sòdic monobàsic	Panreact (Barcelona, Espanya)	121672
Fosfat sòdic dibàsic (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Riedel-de Haën (Seelze, Alemanya)?	30412
Clorur sòdic (NaCl)	Panreact (Barcelona, Espanya)	121652
Borohidrur sòdic (NaBH <sub>4</sub> )	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	45288-2
Àcid clorhídric (HCl)	Merck (Darmstadt, Alemanya)	100.317.000
Àcid diethylenetriaminepentaacètic (DTPAC)		
Àcid ethylenediaminetetraacetic (EDTA)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	E4884
Àcid ascòrbic	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	A5960
Sulfat amoni ferrós	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	09721
Aigua milliQ		



Annex 9.3. Taula 6. Solucions necessàries per a la preparació dels patrons de plasma reduït i oxidat

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
PBS	Fosfat sòdic monobàsic 58 mM Fosfat sòdic dibàsic 17 mM Clorur sòdic 68 mM Aigua milliQ
HCl 2 N	HCl 2 N en aigua milliQ
DTPAC 1 mM	DTPAC 1 mM en PBS
EDTA 100 mM	EDTA 100 mM en aigua milliQ
Àcid ascòrbic 833 mM	Àcid ascòrbic 833 mM en aigua milliQ
Sulfat amoni ferrós 100 mM	Sulfat amoni ferrós 100 mM en aigua milliQ

Annex 9.3. Taula 7. Reactius necessaris per a quantificar les proteïnes segons el mètode de Bradford

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Fosfat sòdic monobàsic	Panreact (Barcelona, Espanya)	121672
Fosfat sòdic dibàsic (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Riedel-de Haën (Seelze, Alemanya)	30412
Clorur sòdic (NaCl)	Panreact (Barcelona, Espanya)	121652
Albúmina sèrica bovina (BSA)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	A2153
Protein assay dye concentrate – Blau Brillant de Comassie (CBBG)	Bio-rad (Richmond, CA, EUA)	500-0006
Aigua milliQ		

Annex 9.3. Taula 8. Solucions necessàries per a quantificar les proteïnes segons el mètode de Bradford

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
PBS	Fosfat sòdic monobàsic 58 mM Fosfat sòdic dibàsic 17 mM Clorur sòdic 68 mM Aigua milliQ
BSA 1%	BSA 1% en aigua milliQ
Recta patró amb BSA	Sèrie de 8 punts de BSA 1% dissolta en aigua milliQ dins del rang de 0 a 20 µg

Annex 9.3. Taula 9. Reactius necessaris per a la determinació de grups carbonil del plasma humà – Mètode espectromètric

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	D2630
Hidroclorur de guanidina	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	G4505
Àcid clorhídric (HCl)	Merck (Darmstadt, Alemanya)	100.317.000
Àcid tricloroacètic (TCA)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	T9159
Etanol	Carlo Erba (Milà, Itàlia)	64-17-5
Etilacetat	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	45770
Aigua milliQ		

Annex 9.3. Taula 10. Solucions necessàries per a la determinació de grups carbonil del plasma humà – Mètode espectromètric

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
DNPH 10mM	DNPH 10 mM en HCl 2 N
HCl 2 N	HCl 2 N en aigua milliQ
TCA 20%	TCA al 20% en aigua milliQ
Etanol/etilacetat	Etanol:etilacetat (1:1, v:v)
Hidroclorur de guanidina 6 M	Hidroclorur de guanidina 6 M en HCl 2 N
Patró de plasma reduït	
Patró de plasma oxidat	

Annex 9.3. Taula 11. Reactius necessaris per a quantificar les proteïnes segons el mètode BCA (Bicinchoninic acid)

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Albúmina sèrica bovina (BSA)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	A2153
Bicinchonimic àcid solution (BCA1)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	BCA1
Sulfat de coure	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	B9643
Aigua milliQ		

Annex 9.3. Taula 12. Solucions necessàries per a quantificar les proteïnes segons el mètode BCA (Bicinchoninic acid)

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
Solució BCA (50:1)	60 mL Bicinchonimic àcid solution BCA1 1,2 mL Sulfat de coure
BSA (1 mg·mL <sup>-1</sup> )	BSA en aigua milliQ
Recta patró amb BSA	Sèrie de 5 punts de BSA (1 mg·mL <sup>-1</sup> ) dissolta en aigua milliQ dins del rang de 0 a 1 mg

Annex 9.3. Taula 13. Reactius necessaris per a la determinació de grups carbonil del plasma humà – Mètode ELISA

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Fosfat sòdic monobàsic	Panreact (Barcelona, Espanya)	121672
Fosfat sòdic dibàsic (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Riedel-de Haën (Seelze, Alemanya)	30412
Clorur sòdic (NaCl)	Panreact (Barcelona, Espanya)	121652
2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	D2630
Hidroclorur de guanidina	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	G4505
Fosfat potàssic monobàsic (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	P5379
Fosfat potàssic dibàsic (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O)	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	P5504
Tween 20	Amersham Bioscience (Madrid, Espanya)	17-1310-01
Anti-DNP biotinilat-K	(Molecular Probes, Invitrogen, Anglaterra)	A6435 3057X
Estreptavidina biotinilada amb peroxidasa de rave	(WVR International, Radnor, PA, EUA)	RPN1231
o-fenilendiamina	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	P9029
Peròxid d'hidrogen	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	H1009
Àcid cítric	Panreact (Barcelona, Espanya)	131018
Àcid sulfúric	Panreact (Barcelona, Espanya)	211058
Aigua milliQ		

Annex 9.3. Taula 14. Solucions necessàries per a la determinació de grups carbonil del plasma humà – Mètode ELISA

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
Tampó fosfat potàssic 0,5 M	Fosfat potàssic monobàsic (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) 0,5 M Fosfat potàssic dibàsic (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O) 0,5 M Aigua milliQ Ajustat a pH 2,5
Guanidina 6 M per ELISA	Hidroclorur de guanidina 6 M Tampó fosfat potàssic 0,5 M
DNPH 10 mM	DNPH 10 mM Guanidina 6 M
Tampó fosfat salí 10 mM	Fosfat sòdic monobàsic 10 mM Fosfat sòdic dibàsic 10 mM Clorur sòdic 140 mM Aigua milliQ Ajustat a pH 7
PBS	Fosfat sòdic monobàsic 58 mM Fosfat sòdic dibàsic 17 mM Clorur sòdic 68 mM Aigua milliQ
Solució de bloqueig	PBS 0,1% Tween 20
Solució anti-DNP biotinilat (anticòs primari)	anti-DNP biotinilat (dilució 1:1000) Solució de bloqueig
Solució de estreptavidina-biotinilada amb peroxidasa de rave (anticòs secundari)	Estreptavidina-biotinilada amb peroxidasa de rave (dilució 1:3000) Solució de bloqueig
Solució de reacció colorimètrica	o-fenilendiamina (0,6 mg/dl) Peròxid d'hidrogen (dilució 1:2500) Fosfat sòdic dibàsic 50 mM Àcid cítric 24 mM Aigua milliQ
Àcid sulfúric 2,5 M	Àcid sulfúric 2,5 M en aigua milliQ
Sèrie de patró de plasma oxidat/reduït	Combinacions de patró de plasma reduït i patró plasma oxidat per obtenir una sèrie amb 0, 20, 40, 60, 80 i 100% d'oxidació

Annex 9.3. Taula 15. Reactius necessaris per a l'anàlisi de metabolòmica no dirigida del plasma

REACTIU	CASA COMERCIAL	REFERÈNCIA
Metanol	Carbo Erba (Milà, Italia)	67-56-1
Acetonitril per LC/MS	Baker (Phillipsburg, NJ, EUA)	9821
Àcid fòrmic per LC/MS	Baker (Phillipsburg, NJ, EUA)	9820
Àcid acètic per LC/MS	Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA)	49199
Aigua milliQ		

Annex 9.3. Taula 16. Solucions necessàries per a l'anàlisi de metabolòmica no dirigida del plasma

SOLUCIÓ	COMPOSICIÓ I PREPARACIÓ
Fase mòbil A ionització positiva	Aigua milliQ 0,1% àcid fòrmic
Fase mòbil B Ionització positiva	Acetonitril : Aigua milliQ 0,1% àcid fòrmic (95:5, v/v)
Fase mòbil A ionització negativa	Aigua milliQ 0,1% àcid acètic
Fase mòbil B ionització negativa	Acetonitril : Aigua milliQ (95:5, v/v) 0,1% àcid acètic

## 9.4 Equació de Dill i Costill per al càlcul del volum plasmàtic

Els percentatges de canvi del volum plasmàtic ( $\Delta VP$  (%)) en els moments immediatament després i al cap de 60 i 180 minuts de la sessió es varen calcular segons l'equació proposada per Dill i Costill (1974):

$$\Delta VP (\%) = 100 [Hb_{pre}/Hb_{post} \times (1-Hct_{post} \times 10^{-2}) / (1-Hct_{pre} \times 10^{-2})] - 100$$

on,

VP = volum plasmàtic

Hb = hemoglobina (gr·dL)

Hct = hematocrit

i,

pre = abans de la sessió

post = després de la sessió

A continuació les concentracions plasmàtiques dels diversos analits es varen corregir aplicant la següent fórmula:

$$\text{Concentracions corregides} = \text{concentracions no corregides} \times [100 - \Delta VP (\%) ] / 100$$

## 9.5 Molècules

Les Taules Annex 9.5 Taula 1 a 4 que es presenten a continuació indiquen les molècules obtingudes en l'aproximació metabòmica no dirigida associades a les possibles molècules proposades per les bases de dades SMDB, METLIN, Maastrix, i LipidMaps.

Annex 9.5. Taula 1. Possibles candidats per a les molècules que augmenten després de la sessió de cursa contínua (CC)

Massa exacta	Temps retenció (min)	Canvi respecte Pre (x n)	SMDB	METLIN (3ppm)	MAASTRIX	LM (0,05)	Anotacions
189.9658	1.5282632	2133.2156	1			0	Àcid Oxalo succínic
203.1151	2.473082	2.1796353	3			0	L-acetilcarnitina. També pot ser triptofanamina i àcid 3-indolebutíric
210.1621	20.996222	8595.049	1	12	13	13	MUFA (13:1) / PUFA (13:2)
226.1932	19.262077	5439.5127	5	30	33	40	MUFA (14:1) Àcid miristoleic
254.2249	20.684738	7.6996646	4	37	23	50	MUFA (16.1) Àcid palmitoleic
258.1829	16.692698	320.21136	1	4	8	14	PUFA (14:2) Àcid tetradecanedioc
258.1832	15.1073	2.2399902	1	4		14	PUFA (14:2) Àcid tetradecanedioc
278.1884	18.181229	1303.389	5	3	7	57	PUFA (18:2) $\omega$ 3/ $\omega$ 6 Àcids $\alpha$ -linoleic, $\alpha$ -linoelaidic
280.2396	21.0012	4.251907	6	99	93	118	PUFA (18:2) Àcids linoleic, linoelaidic
280.2413	21.087246	3.4199405	6	99	93	118	PUFA (18:2) Àcids linoleic, linoelaidic
282.2559	21.913307	4.4554067	3	44	41	71	MUFA (18:1) Àcids oleic, elaidic
282.2562	22.04242	1.9662083	3	44	41	71	MUFA (18:1) Àcids oleic, elaidic
294.1861	19.406288	3825.0989	8	1		32	13-OxoODE i similars. Derivats octanoids HMDB04668
297.2675	20.999893	38416.1	1	8	8	7	Palmitoleoiletanolamida HMDB13648 Esfingolípid
299.28	21.902079	12013.065	4	9		7	Palmitoleoiletanolamida HMDB13648 Esfingolípid HMDB00252
300.2138	19.151276	634.4159	11			34	Retinol i derivats MG (14:1/0:0/0:0) PUFA (20:3) Eicosanoics
315.2403	12.464244	2.7696798	1	2	1	4	Acil-carnitina. Decanoyl-carnitine HMDB00651 - C03299
336.2274	20.683336	7197.0713	12			30	EICOSANOIDES. Leukotriens, prostaglandines,



Massa exacta	Temps retenció (min)	Canvi respecte Pre (x n)	SMDB	METLIN (3ppm)	MAASTRIX	LM (0,05)	Anotacions
							HPETE, DiHETE
354.2134	21.795563	472.27206	16			93	EICOSANOIDES. Prostaglandines
364.2584	22.050482	2.025182	7			15	Esterols
481.977	20.961754	6644.8984	1			0	Nucleòtid. Timidina 5'-trifosfat
486.2917	20.754541	1602.8539	1		1	4	Acil-amina PA(20:4/2:0)
558.4632	21.088957	713.0392	3			1	TG (20:0/20:4/20:4) DG (14:1/18:4/00) o (18:4/14:1/00)
564.5107	21.086489	247.87784	7			6	DG (14:1/18:1/0:0), DG (16:1/16:1/0:0) i altres Hidroxi-àcid gras
564.5122	22.016644	1052.7747	8			6	DG (14:0/18:2/0:0), DG (16:1/16:1/0:0) i altres Hidroxi-àcid gras
660.4799	20.966663	4567.16	3			22	DG
869.7076	28.512352	2270.9426	12			8	GPCho (18:1/24:1), GPCh (20:1/22:1) i altres
930.7724	20.35032	557.4047	6			53	TG (16:0/20:5/22:3) i altres
958.8063	21.884102	844.1198	1			50	HMDB05420
1117.5068	1.7616366	483.47815	1			1	Acil-CoA.Tetracosanoyl-CoA

Pre: abans de la sessió; SMDB: sèrum metaboloma data base; LM: LIPIDS MAPS; MUFA: àcid gras monoinsaturat; PUFA: àcid gras poliinsaturat; MG: monoacilglicerol; DG: diacilglicerol; TG: tri-acil-glicerol; HPETE: hidroxiperoxi-eicosatetraenoic; DiHETE: dihidroxiperoxi-eicosatetraenoic; GPCho: glicerofosfocolina; GPSer: fosfatidilserina (glicerofososerina); GPG: glicerofosfoglicerol; GPET: glicerofosfoetanolamina.

Annex 9.5. Taula 2. Possibles candidats per a les molècules que disminueixen després de la sessió de cursa contínua (CC)

Massa exacta	Temps retenció (min)	Canvi respecte Pre (x n)	SMDB	METLIN	MAASTRIX	LM	Anotacions
109.0014	28.550915	2.8329437	1			0	Aminoàcid. Hipotaurina HMDB00965.
260.0366	19.712938	19.834.216	20			1	Carbohidrats i productes de la glicòlisi, per exemple inositol (HMDB02985)
294.1868	19.24439	35.643.733	9	1		36	13-OxoODE i similars. Derivats octanoids HMDB04668
343.8683	28.573792	2.2533798	1			0	Molybdopterin precursor Z
344.0448	29.416714	2.322517	1			69	Amina. Tiamina monofosfat o vitamina B1 HMDB02666
360.1903	29.428688	21.123.665	4	2			Cortisona, aldosterona
370.2222	20.36017	840.42725	7			17	EICOSANOIDES. Prostaglandines, tromboxans
442.995	2.3860114	2172.5168	1			0	Nucleòtid. Guanina difosfat
566.5266	22.068443	11107.071	8			7	DG(14:0/18:1/0:0) i altres
643.4935	17.861725	1622.6476	2			1	GPEt o esfingolípids
660.0234	29.421118	2.3188498	3				DG (/0:0)
763.4839	29.443089	2.0678444	24			21	GPEt,
783.5357	27.146656	1811945.6	23			46	GPSer, GPCho
795.572	25.956627	9495.027	30			38	GPCho, GPEt

Pre: abans de la sessió; SMDB: sèrum metaboloma data base; LM: LIPIDS MAPS; MUFA: àcid gras monoinsaturat; PUFA: àcid gras poliinsaturat; MG: monoacilglicerol; DG: diacilglicerol; TG: tri-acil-glicerol; HPETE: hidroxiperoxiicosatetraenoic; DiHETE: dihidroxiperoxiicosatetraenoic; CPCho: glicerofosfocolina; GPSer: fosfatidilserina (glicerofososerina); GPG: glicerofosfoglicerol; GPEt: glicerofosfoetanolamina.

Annex 9.5. Taula 3. Possibles candidats per a les molècules que augmenten després de la sessió de cursa en intervals (CI)

Massa exacta	Temps retenció (min)	Canvi respecte Pre (x n))	SMDB	METLIN	MAASTRIX	LM	Anotacions
203.1163	2.4749618	2.630201	3	2		0	L-acetilcarnitina. També pot ser triptofanamina i àcid 3-indolebutíric
217.1305	3.3501053	2.1926425	4	1		1	Acil-carnitina. Propionilcarnitina
226.1931	19.277494	1300.0511	5	30	22	40	MUFA (14:1) Àcid miristoleic
242.2216	20.722376	1671.7991	3	10		35	Àcid n-oxotetradecanoic (14:0) PUFA (14:2) Àcid hidroxitetradecenoic
254.2248	20.698616	3.3775172	4	37	23	59	MUFA (16:1) Àcid palmitoleic
270.2214	17.977884	12376.452	2	18		50	Àcid 3-oxohexadecanoic (16:0) Àcid heptadecanoic (
278.2246	20.31334	2.7092686	2	50	49	65	PUFA (18:3) ω3/ ω6 Àcids α-linoleic, α-linoelaidic
280.2407	21.098915	2.3739862	5	99	93	118	PUFA (18:2) Àcids linoleic, linoelaidic
282.2558	21.8573	2.5812173	3	44	41	71	MUFA (C18:1) Àcids oleic o elaidic
362.2437	21.100748	1275.4685	4	10		16	DOCOSANOIDS. 19,20-DiHDPA, 10,11DiHDPE i altres similars
368.3435	27.729378	406871.16	1	1	1	19	Àcid Tetracosanoic (24:0) Deoxivitamina-D3
642.5203	27.710125	12662.352	26	26		8	DG (16:0/22:5/0:0) i altres
654.3075	23.096292	448.41006	4			0	Coproporfirines
1544.9622	3.0801475	2061.9578	1	1		0	CL(22:6/22:6/18:2/18:2))

Pre: abans de la sessió; SMDB: sèrum metaboloma data base; LM: LIPIDS MAPS; MUFA: àcid gras monoinsaturat; PUFA: àcid gras poliinsaturat; MG: monoacilglicerol; DG: diacilglicerol; TG: tri-aci-glicerol; HPETE: hidroxiperoxiicosatetraenoic; DiHETE: dihidroxiperoxiicosatetraenoic; CPCho: glicerofosocolina; GPser: fosfatidilserina (glicerofososerina); GPG: glicerofosoglicerol; GPET: glicerofosfoetanolamina.

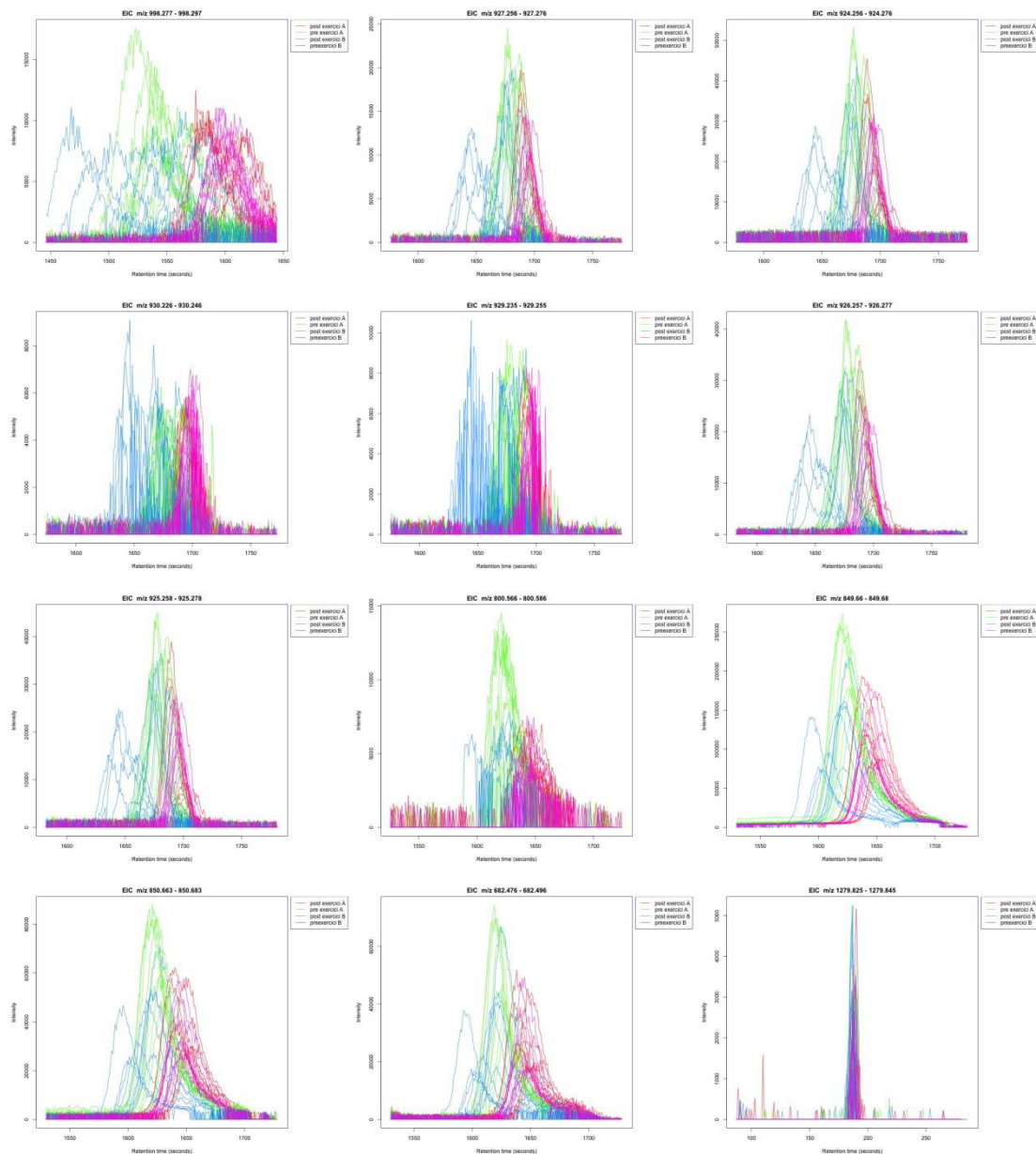
Annex 9.5. Taula 4. Possibles candidats per a les molècules que disminueixen després de la sessió de cursa en intervals (CI)

Massa exacta	Temps retenció (min)	Canvi respecte Pre (x n)	SMDB	METLIN	MAASTRIX	LM	Anotacions
302.2789	20.93912	8556.274	2			3	MG (0:0/14:0/0:0) / (14:0/0:0/0:0)
368.3425	28.101576	413115.9	1	13	1	19	Àcid Tetracosanoid (24:0) Deoxivitamina D3
446.3389	26.738777	2367.5747	1	19	22	4	13'-hydroxy-alpha-tocopherol (vitamina E)
520.3595	25.095152	2817.2327		2		4	Deoxivitamina D3
642.5196	28.077991	21588.494	26	26		8	DG (16:0/22:5/0:0) i altres
662.4456	27.334623	1847655.8	12	1		16	DG (18:3/22:6/0:0) i altres
679.4722	27.333996	1189524.4	1			7	GPSer (14:0/14:0)
707.504	27.335533	352072.78	2			11	GPSer (14:0/16:0) / GPSer (16:0/14:0)
720.5024	27.337513	382699.03	2	2		30	GPG (16:0/16:1) / GPG (16:1/16:0)
735.5351	27.333996	467046.34	3			12	GPSer (16:0/16:0) / (14:0/18:0) / (18:0/14:0)
791.5958	27.333277	254033.7	15	16		30	GPEtn / GPCho
797.5515	27.342964	19730.564	16			48	GPEtn (18:1/22:2)
884.6902	28.506107	1788.2725		1	1	14	TG (17:2/18:3/20:5)

Pre: abans de la sessió; SMDB: sèrum metaboloma data base; LM: LIPIDS MAPS; MUFA: àcid gras monoinsaturat; PUFA: àcid gras poliinsaturat; MG: monoacilglicerol; DG: diacilglicerol; TG: tri-acil-glicerol; HPETE: hidroxiperoxiicosatetraenoic; DiHETE: dihidroxiperoxiicosatetraenoic; CPCho: glicerofosfocolina; GPSer: fosfatidilserina (glicerofososerina); GPG: glicerofosfoglicerol; GPEt: glicerofosfoetanolamina.

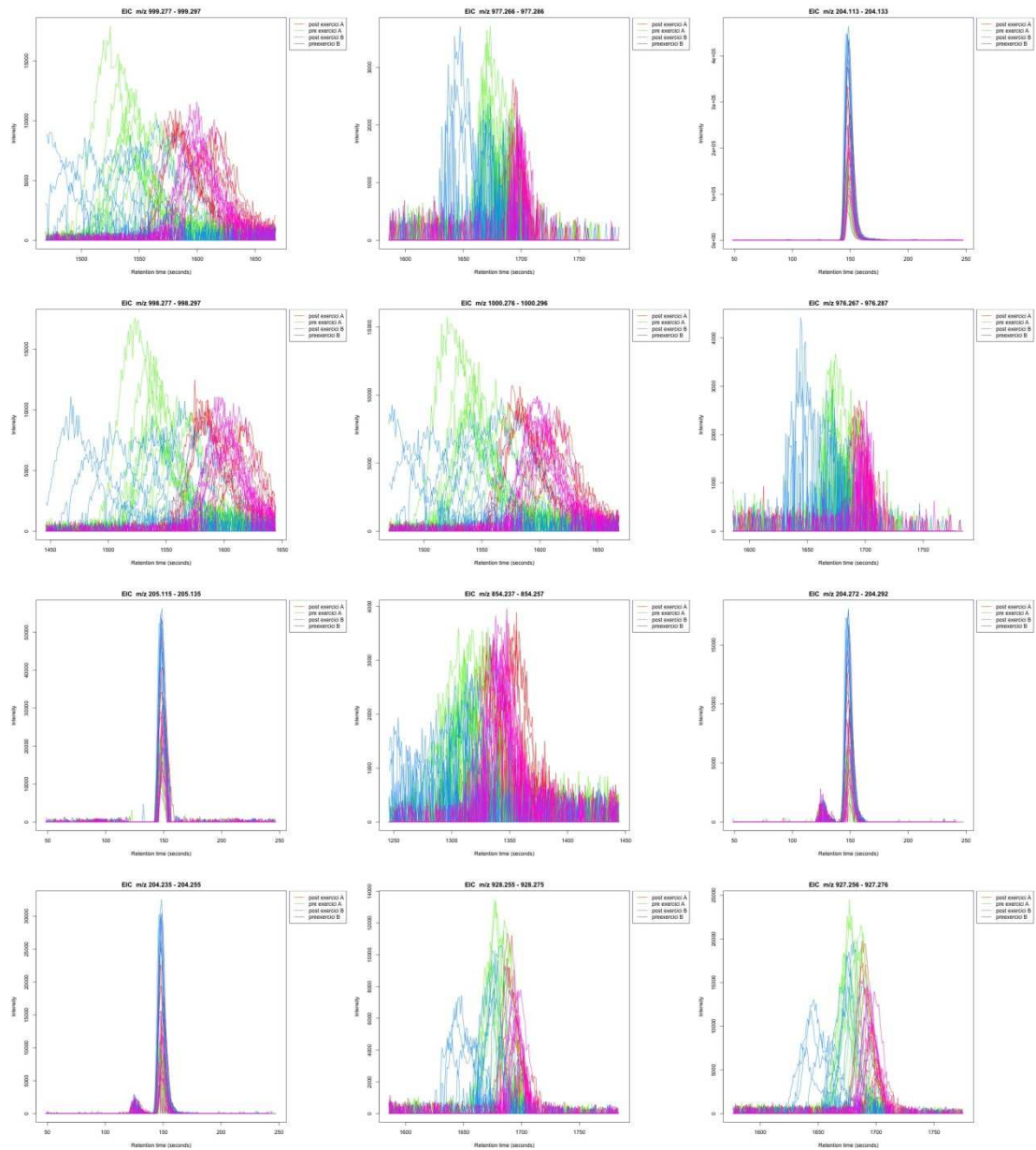
## 9.6 META-XCMS

Les Figures Annex 9.6 Figura 1 i Annex 9.6. Figura 2 presenten els cromatogrames de diverses molècules que es modifiquen per l'exercici físic i que són comuns a les dues sessions d'entrenament, segons l'anàlisi meta-XCMS.



Annex 9.6 Figura 1. Cromatogrames corresponents a diverses molècules que disminueixen en les dues sessions d'entrenament, segons l'anàlisi meta-XCMS.

A: sessió CC de cursa contínua; B: sessió CI de cursa en intervals; Retention time: temps de retenció; Intensity: intensitat. Verd: CC Pre; Vermell: CC Post; Magenta: CI Pre; Cian: CI Post. Pre: abans de la sessió; Post immediatament després de la sessió.



Annex 9.6. Figura 2. Cromatogrames corresponents a diverses molècules que augmenten en les dues sessions d'entrenament, segons l'anàlisi meta-XCMS.

A: sessió CC de cursa contínua; B: sessió CI de cursa en intervals; Retention time: temps de retenció; Intensity: intensitat. Verd: CC Pre; Vermell: CC Post; Magenta: CI Pre; Cian: CI Post. Pre: abans de la sessió; Post immediatament després de la sessió.