



CB12/03/30038

Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL 2017

**EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA EN LA
COMPOSICIÓN CORPORAL, LA ESTRUCTURA
MUSCULAR Y LA EFICIENCIA DE LA CADENA
RESPIRATORIA MITOCONDRIAL EN EL DEPORTISTA**

Victoria Pons Sala



CB12/03/30038

Universitat
de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL 2017

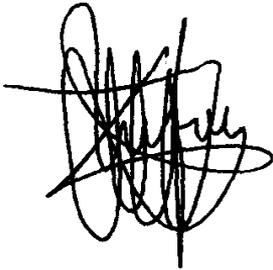
Nutrició Humana

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL, LA ESTRUCTURA MUSCULAR Y LA EFICIENCIA DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL EN EL DEPORTISTA

Victoria Pons Sala

Director/a: Antoni Pons Biescas
Director/a: Franchek Drobnič Martínez

Con el beneplácito de los Directores



Dr. Antoni Pons Biescas

*Catedrático de Universidad
Área de Bioquímica y Biología Molecular
Dep. Biología Fundamental i Ciències de la Salut*



Dr. Franchek Drobnič Martínez

*Centre d'Alt Rendiment de Sant Cugat
Responsable Depto. Investigación*

El interesado



Victoria Pons Sala

Este estudio fue subvencionado parcialmente con una ayuda del Ministerio de Educación y Ciencia del Gobierno Español con el expediente nº **07033C0301** al proyecto titulado “Impacto de un breve periodo de tiempo de restricción calórica en la adaptación fisiológica al esfuerzo”

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Antoni Pons por su amplia disposición para considerar cualquier propuesta que facilite el trabajo, por su persistente ánimo y su consejo experto.

Al Dr. Franchek Drobnič por plantar la semilla que ha germinado en el desarrollo de este estudio y estar tan atento a mis demandas. Por alegrar y compartir un día a día que nos ha facilitado crecer.

A mis compañeros del Departamento de Fisiología y Nutrición del CAR de Sant Cugat, por su colaboración incondicional y su gran profesionalidad.

Y también a todos los colegas y alumnos indispensables, que han influido decisivamente en mi motivación para implicarme en proyectos diversos, y de los que no dejaré nunca de aprender.

A mi familia.

ÍNDICE

Agradecimientos.....	6
Índice.....	7
1. Abreviaturas.....	9
2. Resumen.....	11
3. Introducción.....	14
4. Plan experimental.....	19
5. Hipótesis.....	20
6. Objetivos.....	21
6.1. Principal.....	21
6.2. Secundarios.....	21
6.3. Colaterales.....	21
7. Metodología.....	22
7.2. Aspectos Éticos.....	22
7.3. Proceso de obtención de datos.....	23
7.3.1. Valoración nutricional y prescripción de la restricción calórica.....	23
7.3.2. Valoración fisiopatológica y deportiva.....	23
7.3.3. Valoración somática. Técnicas antropométricas.....	23
7.3.4. Valoración somática. Bioimpedancia.....	24
7.3.5. Valoración somática. Densitometría por imagen.....	26
7.3.6. Valoración somática. Resonancia magnética nuclear.....	27
7.3.7. Valoración funcional. Pruebas de esfuerzo.....	31
7.3.8. Valoración de parámetros del componente lipídico, antioxidante, daño oxidativo y expresión génica.....	35
7.3.9. Valoración estructura muscular. Biopsia muscular.....	38
7.4. Material.....	39
7.4.1. Instrumentos para el cálculo de requerimientos energéticos y el análisis nutricional de la dieta.....	39
7.4.2. Instrumentos de valoración somática. Técnicas antropométricas.....	40
7.4.3. Instrumentos de valoración somática. Bioimpedancia.....	40
7.4.4. Instrumentos de valoración funcional en las pruebas de esfuerzo.....	41
7.4.5. Instrumentos para la determinación de lactato en sangre.....	41
7.5. Diseño.....	41
7.5.1. Protocolo.....	41
7.5.2. Análisis estadístico.....	42
7.5.3. Espacio de realización.....	43
8. Resultados.....	44
8.1. Valoración nutricional de la dieta habitual y la dieta de la restricción calórica.....	44
8.1.1. Requerimientos energéticos y pauta de restricción calórica.....	44
8.1.2. Análisis nutricional, cobertura nutricional y distribución de la ración calórica.....	47
8.2. Valoración de la composición corporal.....	49
8.3. Valoración de los parámetros sanguíneos.....	54
8.3.1. Hemograma.....	54
8.3.2. Bioquímica sanguínea.....	54
8.3.4. Patrón oxidativo y patrón inflamatorio.....	56
8.3.5. Distribución de los ácidos grasos en plasma, músculo y eritrocitos.....	58
8.4. Adaptación fisiológica al ejercicio en restricción calórica.....	61
8.5. Variaciones en la estructura muscular.....	64
8.5.1. Resonancia magnética nuclear.....	64
8.5.2. Medición antropométrica de la pierna.....	64

8.5.3 Medición antropométrica manual del muslo.....	65
8.5.4 Biopsias musculares	66
9. Discusión.....	67
9.1. La dieta y sus implicaciones nutricionales.....	67
9.2. Valoración de la pérdida de grasa por densitometría (DEXA).....	69
9.3. Valoración de la pérdida de grasa mediante bioimpedancia (BIA).....	71
9.4. Valoración de la pérdida de grasa por resonancia magnética nuclear (RMN)	71
9.5. Rendimiento aeróbico y eficiencia energética	72
9.6. Implicación en otros procesos de adaptación metabólica: patrón oxidativo e inflamatorio.....	75
9.7. Composición de ácidos grasos.....	77
9.8. Propuesta y recomendaciones	79
10. Conclusiones.....	81
12. Bibliografía.....	83
Anexo I	93

1. ABREVIATURAS

18S	Parte del RNA ribosómico
2-cp	“Croissing point”
2 ^{-ΔΔCp}	Diferencia respecto del gen de referencia; diferencia respecto del grupo control de referencia
ADN	Ácido dexoxiribonucleico
ADNc	ADN complementario
ADN _P	Programa informático. Análisis Dietético Nutricional
AEC	Agua extracelular
AG	Ácidos Grasos
AIC	Agua intracelular
AT	Agua total
BIA	Bioimpedancia
BIBA	Sistema multifrecuencia por sectores
CAR	Centre d’Alt Rendiment, Sant Cugat
CESNID	Centre d’Ensenyament Superior de Dietètica i Alimentació Humana
CMO	Contenido mineral óseo
CST	Consorcio Sanitario de Terrassa
DEXA	Absorciometría de energía dual de rayos X
EqCO ₂	Equivalente para el carbónico
EqO ₂	Equivalente para el oxígeno
Fatmax	Máximo consumo de grasas
FC	Frecuencia cardiaca
GREC	Grupo Español de Cineantropometría
IDR	Ingestas diarias recomendadas
IGF-1	Factor de crecimiento de la insulina 1
IGFBF-3	Proteína 3 de unión al factor de crecimiento parecido a la insulina
IL 6	Interleukina L6
IMC	Índice de masa corporal (peso/talla ²)
ISAK	International Society for the Advancement of Kinanthropometry
LV	Ventrículo izquierdo
MDA	Malonaldehido
mDNA	ADN mitocondrial
MLG	Masa libre de grasa
MUFA	Ácidos grasos monoinsaturados
n-3	Ácidos grasos omega 3
n-6	Ácidos grasos omega 6
PAM	Potencia aeróbica máxima
PBMCs	Células mononucleares de sangre periférica
PCR	Proteína C reactiva

PUFA	Ácidos grasos poliinsaturados
RC	Restricción calórica
RE	Requerimientos energéticos
REento	Requerimientos energéticos derivados del contenido de entrenamiento
RMN	Resonancia magnética nuclear
RNA	Ácido ribonucleico
RNA _m	RNA mensajero
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RQ	Cociente respiratorio
RT-PCR	Reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa.
SFA	Ácidos grasos saturados
SOD	Superoxido dismutasa
TG	Tejido graso
TM	Tejido muscular
TNF	Factor de necrosis tumoral
TnoG	Tejido no graso
UB	Universidad de Barcelona
UIB	Universitat de les Illes Balears
VCO ₂	Volumen de carbónico
VE	Ventilación
VO ₂	Consumo de oxígeno

2. RESUMEN



Universitat de les
Illes Balears

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL, LA ESTRUCTURA MUSCULAR Y LA EFICIENCIA DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL EN EL DEPORTISTA

Tesis Doctoral, Victoria Pons Sala, Departamento de fisiología y nutrición del centro de Alto rendimiento de Sant Cugat del Vallés de Barcelona, España.

RESUMEN

Palabras clave: Restricción calórica, pérdida de peso, composición corporal, eficiencia energética, estrés inflamatorio, estrés oxidativo, ácidos grasos en tejido y eritrocitos.

Introducción: Se propone trabajar sobre un modelo de Restricción Calórica (RC) o Dieta del Ayuno Intermitente o Intermitent Fasting Diet, que consideramos una buena opción para perder peso en determinadas circunstancias e individuos. Se considera RC cuando establecen periodos intermitentes de 16-48h de ayuno o de restricción del 30 al 60% del contenido calórico, respecto a la ingesta habitual, que por otra parte se mantiene sin modificaciones entre estos periodos. Estudios recientes en humanos exponen sus efectos beneficiosos a través de mecanismos de adaptación celulares y moleculares, aportando su efecto positivo sobre patologías de gran morbilidad como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurológicas propias de la senescencia como el Alzheimer o el Parkinson. Algunos de estos efectos adaptativos que se incluyen generan un nivel bajo de patrón inflamatorio de base como se evidencia por los bajos niveles circulantes de la proteína C reactiva y del factor de necrosis tumoral, niveles séricos de triyodotironina que se hallan en el extremo inferior del rango de normalidad, e incluso de carácter estructural, como la presencia de un ventrículo izquierdo (LV) más elástico cuando se evalúa su rigidez mediante eco-doppler; que son efectos similares a los que se observan en los animales que se someten a una vida en RC. Todos ellos pueden considerarse una ventaja en relación al estrés y la sobrecarga que puede ocasionar la práctica de ejercicio. De forma esquemática, el modelo de RC pretende reducir el total de calorías ingeridas por semana manteniendo una dieta completa y proporcionada en macronutrientes y micronutrientes. Las dos formas más usuales de alcanzar el déficit calórico deseado (% RC) son reducir cada día ese porcentaje o establecer unos días intermitentes de ayuno, donde el impacto de la restricción sea más importante. Varady (Varady 2011) encuentra válidos ambos métodos cuando los compara en relación a su éxito sobre la disminución de peso, aunque en el segundo, el hecho de alternar un día de restricción con otro de dieta normal parece ofrecer tres puntales a considerar en el sujeto deportista, tiene menor repercusión sobre la pérdida de masa muscular, no se activan los mecanismos de reserva energética y está más facilitada la adherencia al modelo de dieta.

Contenido de la investigación: Dieciocho sujetos sanos y físicamente activos, siguieron una pauta de restricción calórica ($34,3 \pm 15,4\%$) durante 6 semanas, en las que mantuvieron su actividad física regular. Al inicio y al final del experimento se determinaron parámetros fisiológicos de eficiencia energética en el esfuerzo, parámetros hematológicos y bioquímicos, se valoró el patrón inflamatorio y oxidativo ante el ejercicio, se determinó la composición corporal y se practicaron biopsias musculares; todo ello orientado a identificar los cambios inducidos por la restricción calórica.

Conclusiones: Así pues considerando que la pérdida de peso es en principio a expensas del peso graso (de predominio androide), que existe una mejor adaptación al rendimiento aeróbico y que no hay modificaciones en el patrón de estrés inflamatorio y oxidativo, consideramos la restricción calórica como una buena opción para el ajuste de peso en deportistas.

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL, LA ESTRUCTURA MUSCULAR Y LA EFICIENCIA DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL EN EL DEPORTISTA

Tesis Doctoral, Victoria Pons Sala, Departamento de fisiología y nutrición del centro de Alto rendimiento de Sant Cugat del Vallés de Barcelona, España.

SUMMARY

Key words: Caloric restriction, weight loss, body composition, energy efficiency, inflammatory stress, oxidative stress, tissue fatty acids and erythrocytes.

Introduction: It is proposed to work on a model of caloric restriction (CR) or Intermittent Fasting Diet, which we consider a good option to lose weight in certain circumstances and individuals. It is considered CR when the individuals establish intermittent periods of 16-48h fasting or restriction of 30 to 60% of the caloric content, with respect to the habitual intake, which, on the other hand, remains unchanged between these periods. Recent studies in humans show their beneficial effects through cellular and molecular adaptation mechanisms, contributing a positive effect on pathologies of great morbidity such as diabetes, obesity, cardiovascular diseases, cancer and neurological diseases of senescence such as Alzheimer's or Parkinson's. Some of these adaptive effects included generate a low level of baseline inflammatory pattern as evidenced by the low circulating levels of C-reactive protein and tumor necrosis factor, serum levels of triiodothyronine that are at the lower end of the range of normality, and even of a structural nature, such as the presence of a more elastic left ventricle (LV) when its stiffness is evaluated by echo-doppler; which are similar effects to those observed in animals that submitted to CR. All of them can be considered an advantage in relation to stress and overload that can be caused by exercise practice. In a schematic way, the CR model aims to reduce the total calories ingested per week by maintaining a complete and proportionate amount of macronutrients and micronutrients. The two most common ways to achieve the desired caloric deficit (% CR) are to reduce that percentage each day or to establish intermittent fasting days, where the impact of the restriction is more important. Varady (Varady 2011) finds both methods valid when comparing them in relation to their success on weight loss; although, in the second, the fact of alternating a day of restriction with another one of normal diet seems to offer advantages to consider in the athlete; less impact on muscle mass loss, does not activate the mechanisms of energy reserve and an easier adherence for this diet model.

Content of the research: Eighteen healthy and physically active subjects followed a CR pattern ($34.3 \pm 15.4\%$) for 6 weeks, during which they maintained their regular physical activity. At the beginning and at the end of the experiment, physiological parameters of energy efficiency, hematological and biochemical parameters, the inflammatory and oxidative pattern were determined. Body composition was determined as well, and muscle biopsies were performed; all aimed at identifying changes induced by caloric restriction.

Conclusion: Considering that weight loss is fundamentally from fat mass (predominantly android), that there is a better adaptation to aerobic performance and that there are no changes in the pattern of inflammatory and oxidative stress; we consider the caloric restriction as a good option for weight adjustment in athletes.



Universitat de les
Illes Balears

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA EN LA COMPOSICIÓN CORPORAL, LA ESTRUCTURA MUSCULAR Y LA EFICIENCIA DE LA CADENA RESPIRATORIA MITOCONDRIAL EN EL DEPORTISTA

Tesis Doctoral, Victoria Pons Sala, Departamento de fisiología y nutrición del centro de Alto rendimiento de Sant Cugat del Vallés de Barcelona, España.

RESUM

Paraules clau: Restricció calòrica, pèrdua de pes, composició corporal, eficiència energètica, estrès inflamatori, estrès oxidatiu, àcids grassos en teixit i eritròcits.

Introducció: Es proposa treballar sobre un model de Restricció Calòrica (RC) o Dieta del Dejuni Intermitent o Intermitent Fasting Diet, que considerem una bona opció per perdre pes en determinades circumstàncies i individus. Es considera RC quan s'estableixen períodes intermitents de 16-48h de dejuni o de restricció del 30 al 60% del contingut calòric, respecte a la ingesta habitual, que d'altra banda es manté sense modificacions entre aquests períodes. Estudis recents en humans exposen els seus efectes beneficiosos a través de mecanismes d'adaptació cel·lulars i moleculars, aportant el seu efecte positiu sobre patologies de gran morbiditat com diabetis, obesitat, malalties cardiovasculars, càncer i malalties neurològiques pròpies de la senescència com l'Alzheimer o el Parkinson. Alguns d'aquests efectes adaptatius que s'inclouen generen un nivell baix de patró inflamatori de base com s'evidencia pels baixos nivells circulants de la proteïna C reactiva i del factor de necrosi tumoral, nivells sèrics de triiodotironina que es troben en l'extrem inferior del rang de normalitat, i fins i tot de caràcter estructural, com la presència d'un ventricle esquerre (LV) més elàstic quan s'avalua la seva rigidesa mitjançant eco-doppler; que són efectes similars als que s'observen en els animals que se sotmeten a una vida en RC. Tots ells poden considerar-se un avantatge en relació a l'estrès i la sobrecarrega que pot ocasionar la pràctica d'exercici.

De forma esquemàtica, el model de RC pretén reduir el total de calories ingerides per setmana mantenint una dieta completa i proporcionada en macronutrients i micronutrients. Les dues formes més usuals d'arribar al dèficit calòric desitjat (% RC) són reduir cada dia aquest percentatge o establir uns dies intermitents de dejuni, on l'impacta de la restricció sigui més important. Varady (Varady 2011) troba vàlids tots dos mètodes quan els compara en relació al seu èxit sobre la disminució de pes, encara que en el segon, el fet d'alternar un dia de restricció amb un altre de dieta normal sembla oferir més punts a considerar en el subjecte esportista, té menor repercussió sobre la pèrdua de massa muscular, no s'activen els mecanismes de reserva energètica i està més facilitada l'adherència al model de dieta.

Contingut de la investigació: Divuit subjectes sans i físicament actius, van seguir una pauta de restricció calòrica ($34,3 \pm 15,4\%$) durant 6 setmanes, en les que van mantenir la seva activitat física regular. A l'inici i al final de l'experiment es van determinar paràmetres fisiològics d'eficiència energètica a l'esforç, paràmetres hematològics i bioquímics, es va valorar el patró inflamatori i oxidatiu davant l'exercici, es va determinar la composició corporal i es van practicar biòpsies musculars; tot això orientat a identificar els canvis induïts per la restricció calòrica.

Conclusions: Així doncs considerant que la pèrdua de pes és en principi a costa del pes gras (de predomini androide), que hi ha una millor adaptació al rendiment aeròbic i que no hi ha modificacions del patró d'estrès inflamatori i oxidatiu; considerem la restricció calòrica com una bona opció per a l'ajust de pes en esportistes.

3. INTRODUCCIÓN

Una composición corporal óptima supone una ventaja para la competición en la mayoría de los deportes. En ese sentido, los deportistas que buscan mejorar su fuerza relativa o su eficiencia, en general tienen que perder peso para alcanzar un peso ideal competitivo (Trexler ET 2014). El secreto del éxito es conseguir una buena calidad del entrenamiento durante esa pérdida de peso, y por supuesto la mejor condición en la competición. Por otro lado, la incorporación de la actividad física en los programas para perder peso en sujetos obesos o con sobrepeso es un estándar (Larson-Meyer DE 2010), y su adherencia generalmente va muy ligada a las sensaciones de vigor o fatiga que les acompañan en el proceso. En ambas situaciones la estrategia nutricional más idónea será aquella capaz de mantener, o si cabe, mejorar el rendimiento, tanto en los entrenamientos como en la práctica del ejercicio físico que conviven con el periodo de dieta. Así como en las competiciones en los deportistas, que son las que motivan el ajuste de peso.

La mayoría de deportistas reconoce que existe un peso de referencia ideal para la competición, en el que sus facultades de rendimiento físico y habilidades motrices son óptimas. Este hecho, con independencia del deporte practicado, goza de mayor valor en aquellas modalidades deportivas donde el peso mínimo adecuado es una condición fundamental en el rendimiento. En muchas ocasiones sirve para delimitar la categoría (karate, lucha, halterofilia), favorece la técnica del gesto deportivo (pértiga, gimnasia); o es determinante en los resultados de pruebas donde importa el consumo de oxígeno relativo al peso corporal (carreras, marcha, ciclismo). Como se ha comentado, los deportes de lucha, sujetos a categorías de peso, judo, lucha libre o grecorromana, taekwondo, karate, boxeo son los más comprometidos; aunque también lo son aquellos donde el sujeto depende de su peso para ejercitar las acciones técnicas, gimnasia, saltos, trampolín, remo, piragüismo, vela; y en los que el peso es determinante para mejorar su eficiencia energética, carreras, triatlón, natación, ciclismo.

Si mantener un peso adecuado es necesario para gozar de una buena salud, en el deportista alcanzar el peso objetivo es vital para situarle en el rendimiento óptimo. Con independencia del nivel deportivo, tanto si es de élite o lúdico, juvenil o veterano, el peso influye en el rendimiento.

La experiencia en el deporte, y en definitiva en la población general, es que el individuo vive y entrena bajo unas costumbres y condicionantes que le mantienen en un peso superior al idóneo. Cuando se acerca la competición se introducen modelos de dieta diversos, muchas veces rutinas aprendidas y trasladadas de generación en generación entre deportistas, o desde entrenadores y técnicos a los alumnos que se inician; que no siempre permiten alcanzar el objetivo, y pocas veces son verdaderamente saludables (Martínez A 2015). No es raro observar que los sujetos

que compiten en categorías de peso inician la restricción de alimentos dos o tres semanas antes de una gran competición sin demasiado éxito (Bourke L 2009). Llegan, a no alcanzar el objetivo deseado en muchos casos, al ayuno previo al evento, durante dos o tres días, con una restricción calórica e hídrica exagerada; tanto más cuando su entrenamiento diario se mantiene. Precisamente cuando el entrenamiento es de más calidad, donde físicamente se deben recuperar bien y de forma completa, sin contratiempos. Esta situación perjudica en diversos aspectos de los cuales hay cuatro importantes; primero, pone en peligro la salud; segundo impide entrenar al mismo nivel técnico, táctico y de intensidad justo en los momentos más necesarios; tercero, la capacidad anímica y social se merma por lo que la afrontación del evento se modifica; cuarto, la reposición de nutrientes necesarios para la práctica eficiente del deporte difícilmente será completa, y por último la falta de capacidad en los días previos a la competición puede facilitar la aparición de lesiones, sobre todo en los deportes de combate (Kininghan RB 2001, Horswill CA 1993, Hicker RC 1991), o incluso repercutir en el futuro de la condición física o de la salud del deportista (Oopik V 1996, Wenos DL 1998, Smith SA 1994). Por otro lado la práctica de estas dietas restrictivas extremas puede inducir conductas compulsivas compensatorias que alternadas con las restricción, aumentan la fragilidad para padecer trastornos de la conducta alimentaria, de forma más acentuada en los practicantes más comprometidos (Resch M 2007, Wermer A 2013, Escobar-Molina R 2014).

El consejo nutricional para disminuir el peso es una consulta que debe ser individualizada, y se planifica considerando el perfil y la idiosincrasia personal en cuanto a hábitos, preferencias, entorno, rutinas y personalidad; porque nada es útil para todo el mundo por igual. Por eso consideramos necesario trabajar sobre un modelo de dieta que sea funcional, práctico, atractivo y que goce de una buena adherencia, no solo en el periodo precompetitivo, sino durante los momentos de la temporada en que se precise ajustar el peso corporal o mantener un peso ideal de entrenamiento.

En este proyecto de Tesis doctoral se propone trabajar sobre un modelo de Restricción Calórica (RC) o Dieta del Ayuno Intermitente o Intermittent Fasting Diet, que consideramos una buena opción para perder peso en determinadas circunstancias e individuos; y justificamos con las revisiones e investigaciones expuestas en los estudios consultados que abordan el tema sobre aspectos diversos y que citamos a continuación. Se identifica como RC el procedimiento que establece periodos intermitentes de ayuno o de 16-48h de restricción del 30 al 60% del contenido calórico, respecto a la ingesta habitual, que se mantiene sin modificaciones entre estos periodos hipocalóricos.

La restricción del aporte calórico se acompaña de cambios a nivel de las hormonas circulantes, de la eficiencia mitocondrial, y del gasto energético, que se ocupan de compensar el déficit nutricional, atenuar la pérdida de peso muscular y promover su

recuperación (Trexler ET 2014). La RC induce la biogénesis mitocondrial y la eficiencia mitocondrial, reduciendo el consumo de oxígeno mitocondrial, generando por ello menor cantidad de radicales libres, mientras la mitocondria mantiene su nivel crítico de producción de ATP (Lopez LLuch G 2006).

Recientes estudios en humanos (Mattson MP 2005, Mattson MP 2016) resaltan los efectos beneficiosos de la RC que aportan un mayor potencial físico y cognitivo a través de los mecanismos de adaptación mediados por mecanismos celulares y moleculares. Su efecto positivo se ha observado sobre patologías de gran morbilidad como diabetes, obesidad, enfermedades cardiovasculares, cáncer y enfermedades neurológicas como la de Alzheimer o el Parkinson, que se cita en gran número de referencias. Algunos de estos efectos son la presencia de un nivel bajo de patrón inflamatorio de base como se evidencia por los bajos niveles circulantes de la proteína C reactiva (PCR) y del factor de necrosis tumoral (TNF), niveles séricos de triyodotironina que se hallan en el extremo inferior del rango de normalidad, o la presencia de un ventrículo izquierdo (LV) más elástico cuando se evalúa su rigidez mediante eco-doppler, que son efectos similares a los que se observan en los animales que se someten a una vida en RC.

Si nos remitimos al modelo animal se ha evidenciado que los animales sometidos a RC muestran niveles más bajos de peroxidación lipídica que los alimentados “ad libitum”, resisten por más tiempo el ejercicio, sean sedentarios o entrenados; por lo que parece que la RC puede afectar tanto al estrés oxidativo como al rendimiento. Por otra parte, también en animales la RC podría tener un papel importante en la mejora del rendimiento físico (Ishihara 2005).

Otros trabajos defienden que las manipulaciones dietéticas que tienden a disminuir el aporte calórico, con reducción de la biodisponibilidad de hidratos de carbono durante un breve periodo de entrenamiento de resistencia, aumentan la actividad enzimática mitocondrial y el contenido de proteínas (Morton 2009 JP, Van Proenyan K 2011), aumentan la oxidación lipídica intramuscular (Hulston CJ 2010), y mejoran la capacidad de rendimiento (Cochran AJ 2015, Marquet LA 2016). La RC induce la proliferación de las mitocondrias con un sistema de transporte de electrones más eficiente que se acompaña de un menor consumo de oxígeno, reduciendo así el daño oxidativo sobre el mDNA y los organelos celulares (Civitarese 2016). Es importante observar que la combinación de RC y ejercicio mejora la sensibilidad a la insulina, disminuye el LDL-colesterol, y disminuye la tensión arterial (Larson-Meyer DE 2010). En ese sentido, se ha valorado la utilidad de tres semanas de RC en hombres con normopeso y vieron que se reduce el flujo de leucina y la respuesta oxidativa durante el ejercicio con un balance de nitrógeno negativo, moderando la pérdida de masa magra a favor de la utilización de la grasa y manteniendo el rendimiento (Friedlander AL 2005).

Los deportistas que consumen una dieta baja en hidratos de carbono promueven la oxidación de ácidos grasos (AG) (Phinney SD 1983, Volek JS 2016); de modo que los AG pasan a ser un combustible más disponible para el trabajo muscular que los hidratos de carbono y las proteínas, por lo que se facilita la oxidación de las grasas a este nivel. La composición de AG de la dieta parece afectar a la composición de los lípidos plasmáticos (Vessby B 1980, Martorell M 2014a), de este modo, la RC puede influir en la disponibilidad de AG en sangre y también en su utilización en el trabajo de contracción muscular. Más aún, parece que el contenido de AG en la dieta incide en la composición de los lípidos estructurales y de reserva en diferentes partes del organismo, como son además del plasma (Vessby B 1980, Capó X 2016), las membranas de los eritrocitos (Glatz JF 1989, Capó X 2016, Martorell M 2015) de las células del epitelio bucal (Connor SL 2000), del tejido adiposo (Beynen AC 1980, Garlan M 1998), del músculo esquelético (Andreson A 2002, Anderson A 2000) y de las células del sistema inmune (Toft AD 2000). Los AG de la dieta se incorporan a las membranas celulares modulando su función (Capó X 2015, Molfino A 2014); se trata de un sistema dinámico, aunque su regulación no queda del todo clara (Tepsic J 2009). Algunas intervenciones sobre la dieta utilizan las modificaciones en los AG del eritrocito como un indicador de los cambios en los AG en los tejidos (Capó X 2015, Martorell M 2014, Hodson L 2008), en relación la cantidad de AG de la dieta que se incorporan a los diferentes tejidos (Mcglory C 2014, Browning LM 2012). Sin embargo, la utilización del contenido de los AG en los eritrocitos para asesorar los cambios en el músculo durante la RC y ejercicio no ha sido validada. Un objetivo secundario en nuestro proyecto es determinar la composición de los AG de la membrana de los eritrocitos y del músculo mediante la utilización de muestras obtenidas por biopsia, y determinar la correlación después de la RC.

En cualquier caso, todos los supuestos comentados respecto a los efectos de la RC, pueden considerarse una ventaja en relación al estrés y la sobrecarga que puede ocasionar la práctica de ejercicio.

Para ajustar nuestro protocolo consideramos otros estudios que analizan distintas pautas de RC que establecen la ingesta de la misma ración calórica en una o tres comidas al día, y encuentran que en la primera situación se produce un aumento de la glucosa en ayunas por la mañana y menor respuesta a la insulina (Carlson O 2007). En nuestro planteamiento nos inclinamos por la distribución más amplia de la ingesta porque, en primer lugar, consideramos que la primera ingesta del día ayuda a los sujetos a activarse por la mañana, y las otras dos permiten mantener el ritual de los tiempos de descanso y un ritmo circadiano estable (Lopez-Minguez J 2016, Ruiz-Lozano T 2016); además de que también parece tener un efecto sobre el apetito atenuando la sensación de hambre (La Bounty PM 2011). Por otra parte, ingestas más copiosas y espaciadas se relacionan con mayor probabilidad de obesidad central (Aparicio A 2017). Por último, y con la intención de estabilizar el ritmo de la

alimentación, se decidió mantener también la distribución en 3 comidas, en los días de dieta normal.

El principal problema es que los seres humanos, abandonados a su libertad de ingesta nutricional, no siguen una RC de una forma natural cuando se da la opción de comer, pero sí se benefician de los efectos favorables de la RC, como es la pérdida de peso y la adiposidad visceral cuando esa RC supera un 20% del aporte calórico adecuado al peso del sujeto. Por este motivo se decidió mantener una estrecha relación con el grupo, cambiando impresiones dos veces por semana durante las seis semanas del estudio, con el objetivo de motivar y reforzar el compromiso.

De una forma esquemática, el modelo de RC pretende reducir el total de calorías ingeridas por semana manteniendo una dieta completa y proporcionada en macronutrientes y micronutrientes. Las dos formas más usuales de alcanzar el déficit calórico deseado (% RC) es reducir cada día ese porcentaje o bien establecer unos días intermitentes de ayuno, donde el impacto de la restricción es más importante. Varady al compararlos encuentra validos ambos métodos en relación al éxito sobre la disminución de peso, aunque en el segundo, el hecho de alternar un día de restricción con otro de dieta normal tiene menor repercusión sobre la pérdida de masa muscular, facilita la adherencia y no activa los mecanismos de reserva energética (Varady KA 2011). Davis en un experimento parecido consigue una disminución de peso también muy próxima a la de Varady, sin diferencias en el tejido muscular, aunque en su estudio los sujetos no realizan actividad física (Davis CS 2015). Decidimos también considerar el testimonio de Harvie que estudia estas estrategias en población obesa y que estimula la inicitiva de otros estudios con población sana, y la elaboración de un modelo de dieta basada en la RC, práctico y aplicable por los deportistas en su casas, en las residencias deportivas o durante los traslados por motivos de entrenamiento (Harvie M 2017, Harvie M 2016).

En definitiva, si se considera que la pérdida de peso se debe casi en su totalidad a la pérdida del peso graso, que no va a verse afectada con seriedad la mása muscular con la posibilidad de que a nivel funcional se mejore la adaptación al rendimiento aeróbico, se reduzca el estrés inflamatorio y oxidativo asociado al ejercicio, y que la adherencia a la dieta es factible; nos parece oportuno aplicar de forma prolongada el seguimiento de deportistas que sigan el protocolo propuesto de RC.

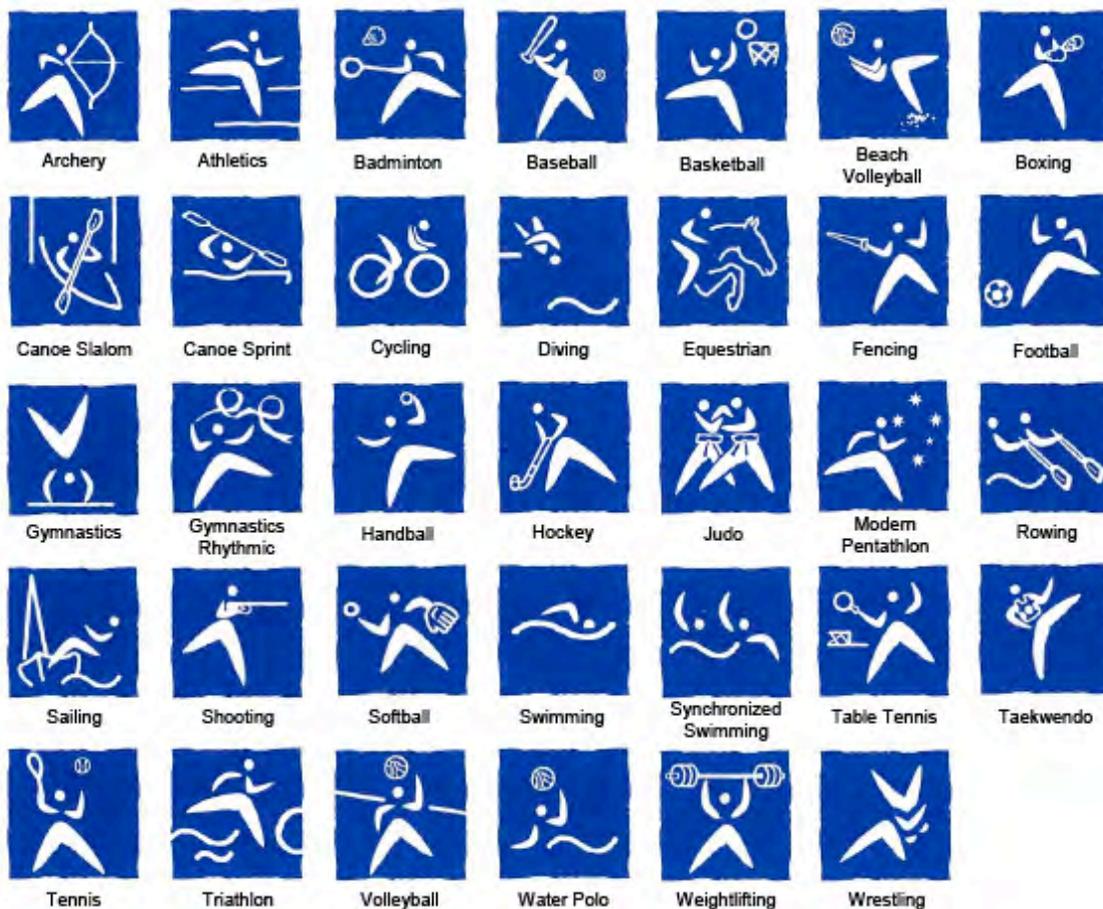
4. PLAN EXPERIMENTAL

El plan experimental considera seleccionar con unos criterios de rigor, compromiso y exigencia una muestra de sujetos masculinos que sigan minuciosamente el plan nutricional que se les propone y asuma participar en todas las pruebas que se han considerado, en un periodo de 6 semanas; establecido de acuerdo a los resultados de la bibliografía revisada, que consiguen resultados. Interesa ver los cambios adaptativos que sufren a causa de la dieta en este plazo, y expresan en la composición corporal, la adaptación al ejercicio, en los parámetros sanguíneos (hematológicos, bioquímicos), en la respuesta inflamatoria y oxidativa al esfuerzo de moderada intensidad; e incluso, llegar a explorar si se producen cambios en el tejido muscular en relación a su composición de ácidos grasos, o tamaño y número de mitocondrias en el músculo. Para indagar en todo ello seguirán un protocolo que incluye pruebas de esfuerzo en el laboratorio con análisis de gases, extracciones sanguíneas, estudios de la composición corporal por densitometría, resonancia magnética, bioimpedancia y técnicas antropométricas, también biopsias musculares; además de respetar la dieta de RC.

También se pretende evaluar los diferentes métodos que conviven en la indispensable tarea de valorar la composición corporal, comparándolos con el método de referencia, la densitometría; que no suele estar disponible para todos y en cualquier lugar. Supervisar los cambios en la composición corporal es tan indispensable en el campo de la fisiología del ejercicio, como en la investigación, cuando es un poderoso indicador de la respuesta a fenómenos, sustancias activas o estrategias de cualquier índole.

5. HIPÓTESIS

La Restricción Calórica es un método útil y práctico para los deportistas que precisan bajar de peso, mantener su rendimiento físico y, en su medida, mejorarlo.



6. OBJETIVOS

6.1. PRINCIPAL

Determinar la utilidad de un modelo de dieta aplicado durante un periodo de 6 semanas, en la pérdida de peso, la modificación de los compartimentos corporales y la adaptación fisiológica al ejercicio en individuos practicantes de ejercicio físico de forma regular.

6.2. SECUNDARIOS

- Caracterizar los cambios en la composición corporal derivados de la práctica de una dieta estructurada durante un corto periodo de tiempo.
- Observar la modificación del patrón de disposición grasa en el cuerpo, extremidades, tronco, abdomen.
- Validar la dieta en RC como un método eficaz, sencillo y saludable para perder peso.
- Identificar el impacto sobre la adaptación cardiorrespiratoria y metabólica al ejercicio, mediante la valoración funcional del metabolismo aeróbico, con especial énfasis en determinar los cambios en la eficiencia energética por la restricción calórica.
- Determinar, en caso de existir, la adaptación del perfil lipídico en ese periodo.
- Determinar la posible respuesta del proceso oxidativo e inflamatorio en reposo y en el esfuerzo, antes y después del periodo de RC.
- Describir las modificaciones, si existen, a nivel estructural y metabólico de la fibra muscular.
- Verificar y describir los cambios que pudieran darse en la composición de los ácidos grasos en la membrana del eritrocito y en el tejido muscular obtenido por biopsia.

6.3. COLATERALES

- Evaluar la precisión de los métodos usados en la valoración de los compartimentos corporales en el deporte, plicometría e impedanciometría, frente a métodos de imagen más sensibles y considerados patrón de referencia, como la densitometría e imagen por resonancia magnética.
- Determinar las pautas de RC para alcanzar la ración diaria recomendada (RDR) de micronutrientes, y evaluar los nutrientes más afectados
- Observar los niveles AG en plasma y en tejido en función de la modificación de la dieta.
- Diseñar un menú o modelo de dietas para los días de RC práctico y asequible.

7. METODOLOGÍA

7.1. SUJETOS

Para el estudio se reclutaron 22 sujetos del sexo masculino practicantes de taekwondo y de carreras de fondo de nivel regional o nacional. Los criterios de inclusión-exclusión fueron los siguientes: edad entre los 18 y los 50 años, género masculino, no fumadores, sanos, sin patología inflamatoria activa, no tomar suplementos nutricionales, seguir dieta variada y el compromiso en un entrenamiento regular de tres sesiones semanales, sin modificaciones en el contenido de las mismas, durante el periodo establecido para el experimento. También debían disponer de un nivel de entrenamiento que garantizará unos de potencia aeróbica máxima (PAM) superior a 45 ml/kg^(*).

Antes de ser aceptados para participar en la investigación, se practicó un examen médico completo a todos los sujetos, que consistió en una historia clínica y ECG de reposo con objeto de descartar cualquier problema médico que contraindicase su participación en el estudio por limitarlo, modificarlo o dificultar su cumplimiento. De los sujetos iniciales, en el transcurso del estudio, se perdieron definitivamente 4 por la incapacidad de llevar a cabo la metodología completa con el rigor que se planteaba y no cumplir con todas las pruebas; quedando finalmente un grupo de 18 sujetos, que caracterizamos en base a la media y la desviación estándar ($X \pm SD$) de edad $32,0 \pm 8,4$ años, talla $1,78 \pm 0,05$ m, peso $80,9 \pm 7,5$ kg e IMC $25,6 \pm 2,8$ (kg/m²).

A lo largo del estudio la participación de los 18 sujetos en cada una de las mediciones evaluadas puede modificarse en relación a los aspectos investigados, como puede evidenciarse en las tablas; debido a la exigencia y nivel de complejidad en el seguimiento de las pruebas incluidas.

7.2. ASPECTOS ÉTICOS

Todos los sujetos fueron informados de la finalidad, requisitos y posibles riesgos del estudio antes de dar su consentimiento por escrito a participar. La investigación se ha llevado a cabo respetando la Declaración de Helsinki para la investigación en seres humanos y siendo autorizada por el Comité de Ética de Investigaciones del Consell Català de l'Esport de la Generalitat de Catalunya. El proyecto está registrado en ClinicalTrials.gov (NCT02533479).

En todo momento se ha respetado el compromiso moral y ético de la confidencialidad en el manejo de los datos recopilados y que conforman la muestra objeto de estudio, así como en el manejo ulterior de la información que se derive del mismo.

**La PAM es la potencia que corresponde al VO_2max , a partir del cual, la energía suplementaria proviene del metabolismo anaeróbico. Puede expresarse en VO_2max/kg , velocidad, vatios, Kcal/min, o en cualquier otro parámetro de rendimiento que corresponda a la máxima contribución del metabolismo aeróbico.*

7.3. PROCESO DE OBTENCIÓN DE DATOS

7.3.1. Valoración nutricional y prescripción de la restricción calórica

En una fase previa, la semana antes de las pruebas iniciales, se valoró la dieta de los sujetos con la finalidad de conocer su ración calórica y la cobertura nutricional de sus necesidades individuales, estimadas de acuerdo a su actividad cotidiana y a los contenidos de su entrenamiento.

Se procedió, mediante una entrevista a conocer los hábitos alimentarios y de vida de los sujetos, registrando en detalle el entrenamiento que seguían y ratificando que no tomaban ni medicación ni suplementación alguna. La valoración nutricional se estableció mediante la administración de una encuesta dietética semanal sobre su comportamiento espontáneo, anotando todos los alimentos y líquidos consumidos a lo largo de una semana, especificando las raciones, la elaboración de los alimentos y su distribución a lo largo del día. Para calibrar el tamaño de las raciones se utilizaron gramajes, medidas caseras y un manual de fotos (Hercbergs S 2004), y a partir de esta información se realizó el análisis de la dieta con el programa informático ADN_p.

Como se trató en la justificación en párrafos anteriores, para el presente estudio se estipuló prescribir una RC que se hallara entre un 30 y un 40% respecto a la dieta habitual de cada uno de los participantes. Durante un periodo de 6 semanas se estableció una pauta de restricción de la ingesta para 3 días alternos (lunes, miércoles y viernes) y se solicitó mantener el comportamiento alimentario habitual sin modificaciones en la ración calórica y la distribución de comidas respecto a los registros previos al estudio en los días restantes.

Durante todo el periodo de restricción calórica, se contactó con los sujetos una o incluso dos veces por semana, para garantizar y facilitar su adherencia, solventar consultas e inquietudes, y valorar el proceso general del proyecto. Además, se realizó un registro semanal intermedio para verificar que se mantenía la RC pautada.

7.3.2. Valoración fisiopatológica y deportiva

Con el fin de tener controlados posibles factores de confusión, se valoraron los antecedentes fisiopatológicos relacionados, mediante: a) historia clínica; b) historial deportivo; c) registro del entrenamiento y competiciones; d) historial de lesiones; e) hábitos fisiológicos. Con el objeto de completar esta información se realizó una exploración clínica completa que incluyó un electrocardiograma en reposo y una espirometría basal forzada, que nos permitió no tener que descartar a ningún sujeto por problemas de base en su función ventilatoria pulmonar.

7.3.3. Valoración somática. Técnicas antropométricas

En la administración de las técnicas antropométricas para la realización de este estudio se han seguido las normas y técnicas de medida recomendadas por el

“*International Working Group of Kinanthropometry*” (Ross & Marfell-Jones, 1982), adoptadas por la “*International Society for the Advancement of Kinanthropometry*” (ISAK) y por el “*Grupo Español de Cineantropometría*” (GREC).

Se registró la hora de la medida que respetaba una relación postprandial mínima de 90 min, y se mantuvo en los controles sucesivos.

Previa a la localización y marcado de los puntos anatómicos que son necesarios como referencia para la obtención de las medidas antropométricas, se procedió a la determinación del peso, altura, pliegues cutáneos, diámetros óseos y perímetros, comprometidos en las ecuaciones seleccionadas.

A continuación se aplicaron las ecuaciones de Yuhaz, Falulkner y Drinkwater, para la estimación de la composición corporal (Cabañas M 2009, Fernandez Vieitez JA 2001), con el objetivo de analizar la distribución de los cambios de peso en los diferentes compartimentos y establecer la relación de cada una de estas ecuaciones con la densitometría (DEXA) y la resonancia magnética nuclear (RMN), que son considerados métodos de referencia (Guglielmi G 2016). La elección de estas ecuaciones y no de otras, responde a que son las más utilizadas en las publicaciones de referencia en el ámbito de las Medicina del Deporte (Pons V 2015).



Toma de medidas antropométricas

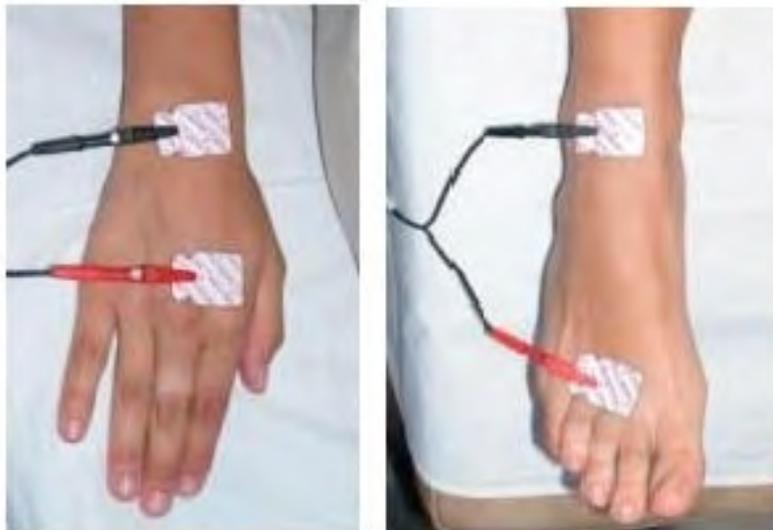
7.3.4. Valoración somática. Bioimpedancia

En la década de los '60 se empezaron a obtener parámetros correspondientes a la composición corporal a partir de las mediciones de la impedancia eléctrica que el cuerpo humano emite al paso de una corriente eléctrica. La corriente a baja frecuencia no puede atravesar las membranas celulares, por lo que la resistencia está determinada por el líquido extracelular; mientras que a elevadas frecuencias la

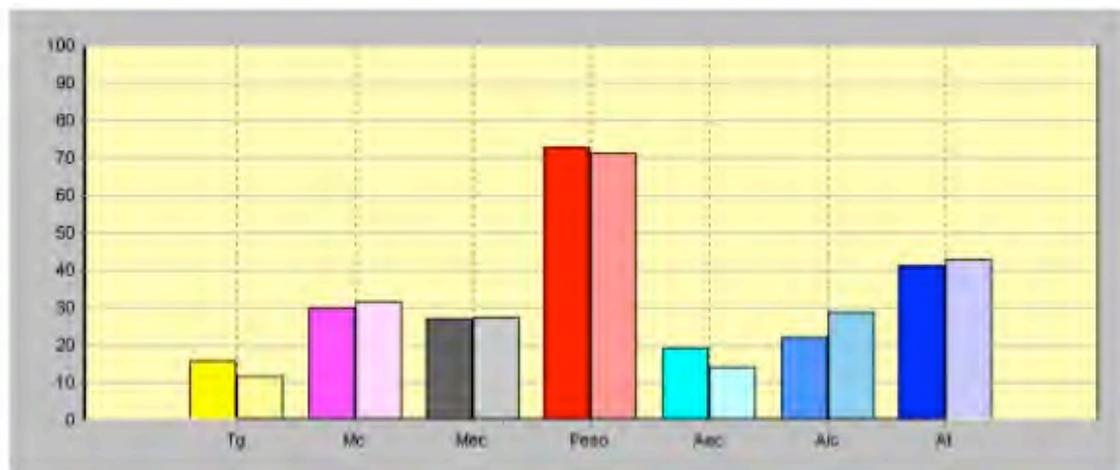
corriente cruza las membranas y la resistencia que se expresa corresponde tanto al líquido intracelular como extracelular. Con posterioridad los valores de impedancia se compararon con otros métodos como la densimetría, el agua pesada, el isótopo Potasio 40, el DEXA; que han permitido su interpretación sobre los componentes corporales (Boulier A 1990, Van Loan MD 1992, Boulier A 1992).

En este proyecto se ha valorado los diferentes compartimentos orgánicos por bioimpedancia eléctrica (Huygens W 2002, Jebb SA 2017, Montagnani M 1998) utilizando un sistema de dos frecuencias, estimándose los cambios a nivel de agua total (AT), agua intracelular (AIC), agua extracelular (AEC), tejido graso (TG), tejido no graso (TnoG), y tejido muscular (TM).

Se registró la hora de la medida que respetaba una relación postprandial mínima de 90 min, y se mantuvo en los controles sucesivos. El sujeto se colocó en una camilla en posición decúbito supino y permaneció relajado unos 5 min antes de la medición, con el objetivo de estandarizar las condiciones previas a la exploración. En este tiempo se le colocaron los electrodos en ambas manos y pies, se entró el peso y la talla en el programa informático del sistema y se procedió a la medición que nos aporta información sobre los parámetros descritos, según se muestra en las imágenes a continuación.



Posicionamiento de los electrodos en el registro de bioimpedancia.



Descripción	Actual		Ideal		Diferencia Cantidad
	Cantidad	%	Cantidad	%	
Peso	72,8 Kg		71,2 Kg		1,6 Kg
TG Tejido graso	15,9 Kg	21,8 %	11,8 Kg	16,5 %	4,1 Kg
MC Masa celular	30,1 Kg	41,3 %	31,8 Kg	44,7 %	-1,7 Kg
MEC Masa extracelular	26,9 Kg	37,0 %	27,6 Kg	38,8 %	-0,7 Kg
AEC Agua extracelular	19,2 Kg	26,4 %	14,2 Kg	19,9 %	5,0 Kg
AIC Agua intracelular	22,2 Kg	30,5 %	28,8 Kg	40,5 %	-6,6 Kg
AT Agua total	41,4 Kg	56,9 %	43,0 Kg	60,4 %	-1,6 Kg

Tabla de datos del sistema de bioimpedancia

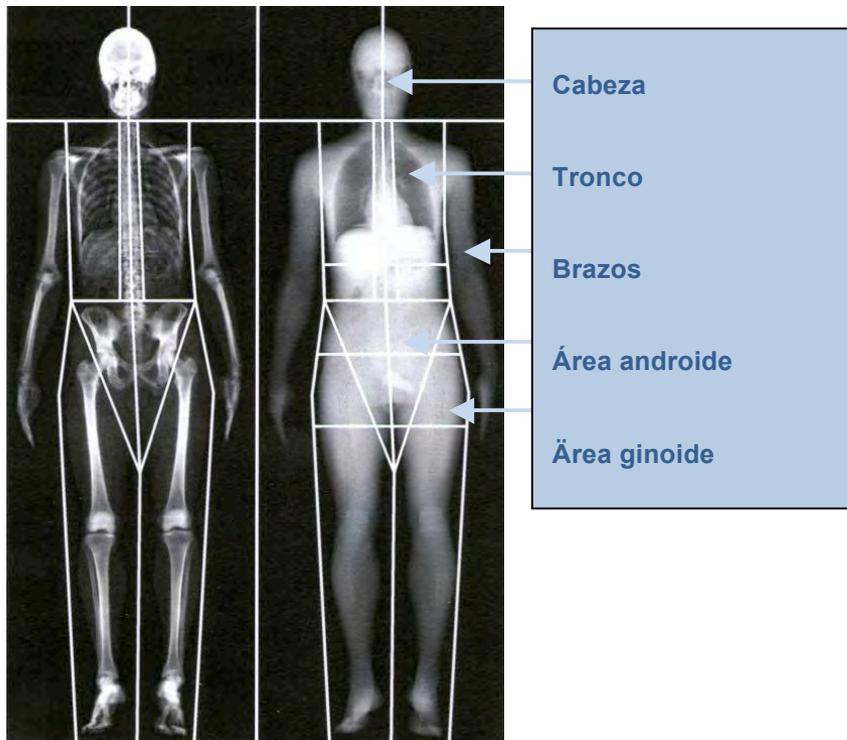
7.3.5. Valoración somática. Densitometría por imagen

El DEXAi^(*) es una técnica indirecta de análisis de la composición corporal, basada en la absorciometría, a través de la cual detecta la diferencia de atenuación que sufren los fotones emitidos, en relación a la composición y grosor del tejido que atraviesan. En el caso del cuerpo humano, el haz de rayos X atraviesa diferentes tejidos orgánicos que difieren en composición, y por tanto en densidad específica. A través del DEXA se puede determinar las diferentes atenuaciones del haz de rayos X al atravesar los componentes óseo, graso y magro. Es decir, que en función de la composición del tejido que la energía atraviesa, ésta sufrirá atenuaciones de diferente intensidad. Una vez detectada la atenuación y conociendo los diferentes coeficientes de atenuación de masa de cada tejido, se puede estimar los porcentajes de masa de la zona deseada.

Se ha practicado densitometría según el protocolo estándar de composición corporal (Rothney MP 2012, Nana A 2012a, Nana A 2012b). Se evaluaron los cortes y las referencias según los modelos publicados por consenso, y de este modo, el sistema nos permite cuantificar de forma segmentaria cabeza, tronco, brazos, piernas, área

**En algunos textos se referencia como iDEXA, donde la "i" parece corresponder al concepto de que la medición proviene de una imagen. Aunque este aspecto, no muy bien referenciado, también puede deberse a la "i" de inteligente, debido a que los datos se obtienen de algoritmos y fórmulas provenientes de los valores ofrecidos por el sistema gracias a la inteligencia humana.*

androide y ginoide, en deportistas como se establece de un modo consensuado (Drobnic F 2012).



Cuantificación segmentaria

7.3.6. Valoración somática. Resonancia magnética nuclear (RMN)

La RMN también nos permite determinar la composición corporal. Ante la presencia de un campo magnético, los átomos de hidrógeno se modifican (se alinea su espín magnético), de manera que al aplicarse una radiofrecuencia estos átomos interfieren con la radiación y se pueden registrar las distintas interacciones que produce cada material.

Se trata de un método muy preciso (Middleton MS 2017), pero costoso y que requiere de una gran cantidad de tiempo; por ello no se emplea como método de rutina, sino para investigación o en deportistas de élite. Las ventajas que ofrece este método

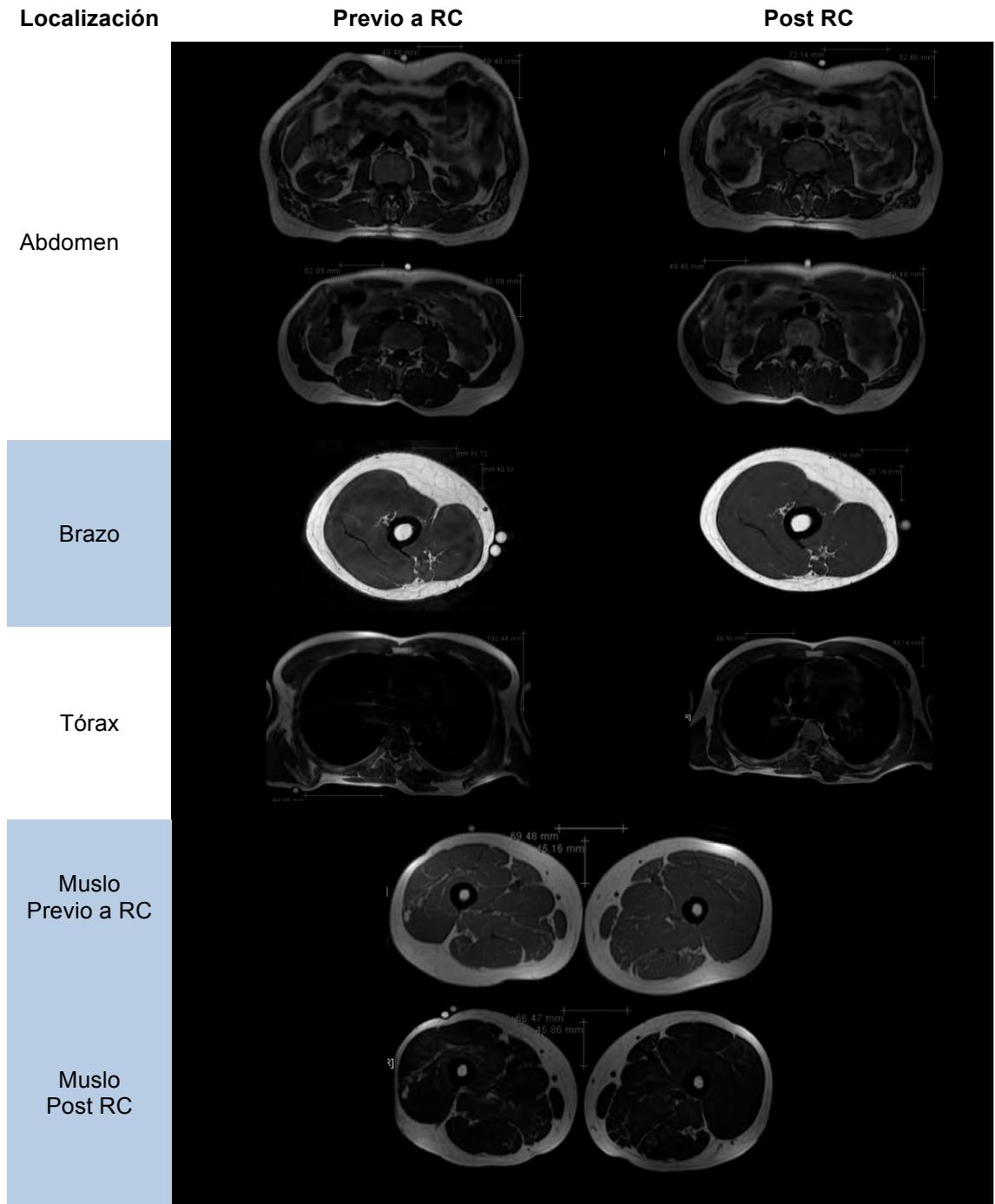
*Perla de aceite
como referencia espacial*



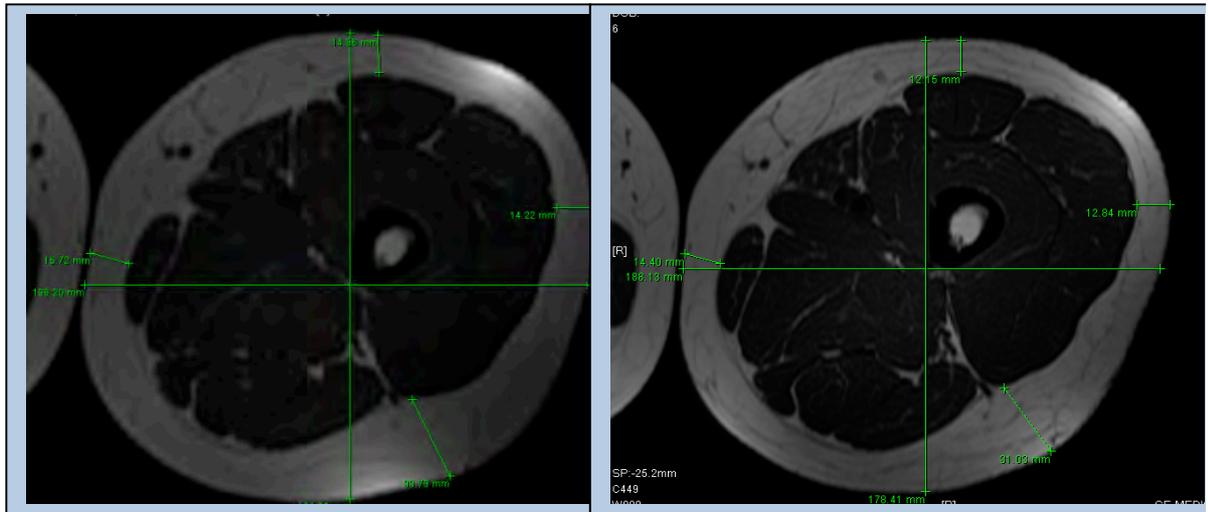
son la ausencia de radiación nociva, la buena resolución que ofrece de las partes blandas y la posibilidad de obtener imágenes tridimensionales. La resonancia magnética también se puede emplear de manera cuantitativa, es decir, gracias a ecuaciones que tienen en cuenta la diferencia entre las resonancias nucleares entre los átomos de hidrógeno y la densidad de éstos en los diferentes tejidos, calcula directamente parámetros como la masa grasa, la masa magra o el contenido total de agua.

Se obtuvieron las imágenes por RMN de los lugares precisos donde se toman los pliegues cutáneos según normativa ISAK, en brazo, muslo y pierna derecha, en abdomen y en tórax, a nivel del pliegue subescapular. Se efectuaron cinco cortes con una distancia entre los mismos de 2mm, cada uno con el objeto de ajustar a las referencias óseas los cortes antes y después de la intervención con el objeto de evaluar los niveles de grasa y tejido magro. Para identificar una referencia espacial, antes de la exploración se colocó una perla con aceite adherida a la piel, en la localización precisa, que posteriormente nos ayudaría en la interpretación. Los resultados se analizaron a partir de las medidas tomadas directamente de la imagen.

Imágenes de referencia de la RMN

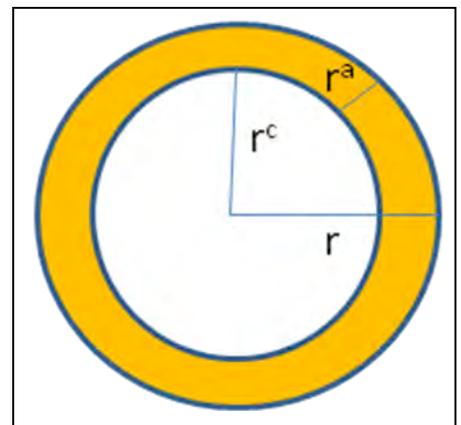


7.3.6.1. Valoración por RMN del muslo



Para el cálculo de la grasa del segmento estudiado se asume que la extremidad, en el punto donde hemos medido, es un círculo perfecto y que el tejido celular subcutáneo se distribuye de forma uniforme alrededor de un núcleo central formado por huesos, músculos y vasos sanguíneos. A partir de las medidas realizadas sobre las imágenes de la RMN, se realizan los siguientes cálculos:

Para hallar el radio del segmento (r) se establece el promedio de los diámetros medidos y se divide entre dos. La magnitud se transforma de mm, como aparece en la imagen, a cm. Para hallar el radio correspondiente al “anillo” (r^a) de grasa periférica se establece el promedio de las cuatro medidas periféricas (que corresponden a la grasa subcutánea) y se transforma en cm de nuevo. Para determinar el radio de la zona central el segmento (r^c), se halla la diferencia entre los radios r y r^a (Banquells M 1992).



Utilizaremos las siguientes fórmulas:

Perímetro del segmento medido: $2\pi r$

Área total: πr^2

Área del círculo central o supuestamente de hueso, músculos y vasos: πr^{c2}

Área del anillo de grasa: Área total – área central

7.3.6.2 Valoración por RMN de la pierna

A nivel de la pierna y dado que es difícil establecer una semejanza con una circunferencia, se evaluaron los datos promedio medidos, en los 7 sujetos que fueron explorados por RMN antes y después de la RC, correspondientes a tres medidas en el corte de la pierna en mm (pliegues medial, externo y posterior a nivel de el perímetro de máxima circunferencia de la pierna), tal como se muestra en las imágenes, a continuación.



*Determinación de la grasa superficial en la pierna.
Eje máximo externo, medial y posterior.*

7.3.7. Valoración funcional. Pruebas de esfuerzo

Para valorar la adaptación fisiológica del metabolismo aeróbico y anaeróbico (Buchfuhrer MJ 1983, Wasserman K 1993, Córdova A 2015a) y registrar los parámetros de esfuerzo que nos pueden indicar cambios a nivel de la eficiencia energética, se llevaron a cabo pruebas de esfuerzo en laboratorio, en cinta ergométrica, con análisis de los gases espirados y determinación de lactato en sangre, de acuerdo a los protocolos que se describen a continuación.

7.3.7.1 Prueba de esfuerzo máxima.

Se ha realizado una prueba estándar de valoración de la adaptación al esfuerzo, progresiva y máxima. Comprobando que se cumplieran los criterios de exclusión sobre disponer de una potencia aeróbica máxima (PAM) superior a 45 ml/kg.

La prueba se realizó en cinta ergométrica, partiendo de una velocidad inicial de 6 km/h y un 3% de pendiente se incrementó la velocidad de la en un 0.5 km/h cada minuto hasta el esfuerzo máximo sostenible, determinado por fatiga muscular, o por

una estabilización o disminución en el consumo máximo de oxígeno. La pendiente permaneció fija a un 3%.

Esta prueba permitió caracterizar la muestra de sujetos, asegurar que cumplieran los criterios de exclusión y concretar las velocidades que se incluirían en la prueba de eficiencia energética. También facilitó la determinación del umbral anaeróbico ventilatorio de acuerdo a los criterios de Wasserman (Wasserman K 2011), observando los cambios en la linealidad que presentan los parámetros relativos a los gases espirados (VO_2 , VE, VCO_2 , RQ, EqO_2 , $EqCO_2$).

7.3.7.2. Prueba de esfuerzo de eficiencia energética.

En función de la carga máxima alcanzada se establecieron tres ritmos de velocidad individualizada para cada sujeto que mantuvo en secuencias progresivas de 5 minutos, al 50, 60 y 70 % del máximo, y un cuarto, a la velocidad a la que se alcanzó el umbral anaeróbico si este no estaba en o por debajo del 70%.

Este protocolo aplicando antes y al final de la RC permitió comparar los parámetros obtenidos y valorar si nuestra estrategia de RC era capaz de inducir una adaptación más eficiente, retrasar el umbral anaeróbico y facilitar un mayor consumo de las grasas. Dicho consumo se calcula a partir de la fórmula utilizada para evaluar el máximo consumo de grasas, Fatmax (Astchen J 2003, Venables MC 2005), que relaciona una determinada participación de grasas e hidratos de carbono para cada valor de consumo de oxígeno y cociente respiratorio. En esta zona se alcanza la tasa máxima de oxidación de lípidos en términos absolutos (gramos de grasas que son oxidados por minuto), aunque el porcentaje de contribución de las grasas no sea máximo. De hecho, a estas intensidades se estarán oxidando simultáneamente cantidades significativas de hidratos de carbono, y probablemente uno de los factores que determine significativamente el tiempo límite a esta intensidad, sea el agotamiento de la reserva de glucógeno hepático.

El valor del VO_2 y VCO_2 se determina respiración por respiración y se expresa en valores promedio de forma minutada. La oxidación y gasto energético proveniente de la grasa y los hidratos de carbono se calcula mediante ecuaciones estequiométricas (Frayn KN 1983) y equivalentes energéticos apropiados, con la asunción de que la excreción de nitrógeno ureico es negligible.

Oxidación de grasa: $1.67 \times VO_2 - 1.67 \times VCO_2$

Oxidación de hidratos de carbono: $4.55 \times VCO_2 - 3.21 \times VO_2$

Los cálculos estequiométricos usados como calorimetría indirecta se basan en el concepto de que todo el CO_2 que se origina proviene del consumo de proteínas, grasas e HC. Sin embargo, el VO_2 sólo será una estimación fiable de la producción de CO_2 en el tejido en presencia de un almacén estable de bicarbonato (Astchen

2003). Se ha demostrado en los deportistas, que después del entrenamiento de resistencia, la oxidación de la grasa a una intensidad dada aumenta cuando coincide con un aumento en el rendimiento (Hickson RC, 1977, Holloszy JO 1984). Estas observaciones indican que la capacidad de oxidar los ácidos grasos está relacionada con un rendimiento mejorado. Es probable que estos cambios sean los resultados de un aumento general de la capacidad aeróbica (Jeukendrup A 1998).

En ambos protocolos se mantuvo el registro continuo del electrocardiograma de esfuerzo, la monitorización de la frecuencia cardíaca y el análisis de los gases espirados con la consiguiente valoración de parámetros de rendimiento, que nos van a describir la adaptación fisiológica de los sujetos.



Prueba de esfuerzo de laboratorio en cinta ergométrica

7.3.7.3. Determinación de lactato en sangre

El lactato es un producto intermedio del metabolismo en la degradación de la glucosa, que se acumula en la sangre proporcionalmente a la participación de la vía anaeróbica en el curso del ejercicio físico y a la mayor o menor reutilización por los tejidos. Su nivel en sangre se interpreta en teoría del entrenamiento como un indicador de la adaptación del organismo a las diferentes intensidades de trabajo. Su conocimiento permite ajustar la planificación del entrenamiento individual para cada sujeto, obteniendo de este modo una progresión más rápida en sus adaptaciones.

En intensidades ligeras interesa tomar la muestra de inmediato al finalizar el ejercicio, puesto que cursan con un discreto acúmulo de lactato que se recupera de forma rápida. Al aumentar la intensidad del ejercicio, la producción de lactato será mayor. A partir de intensidades que alcancen cantidades por encima de los 4

mmol/L, identificadas en la literatura con el umbral anaeróbico, existe un mayor tiempo de difusión desde la célula muscular hasta la sangre periférica, siendo necesario retrasar el tiempo de la toma de muestra para identificar el valor máximo de lactato que ocurría en el músculo cuando se realizaba el ejercicio de alta intensidad.

En las pruebas donde se valora la eficiencia energética basada en la oxidación de las grasas y de los hidratos de carbono con oxígeno, y por lo tanto por debajo del umbral anaeróbico, la toma de las muestras de sangre se realizó inmediatamente al terminar cada uno de los niveles o intensidades del ejercicio, es decir, al 50-60 y 70% de la PAM; y se tomó en los minutos 0-1 en el nivel de umbral anaeróbico. Esta temporalidad se estableció después de llevar a cabo 4 pruebas piloto con determinaciones al 0-1-3 minutos en todos los niveles y comprobar que el valor máximo de lactato se alcanzaba a los 0 en los primeros niveles y al minuto 1 en el umbral, descendiendo en todos los casos al tercer minuto.

Para la medición del lactato se procedió de la siguiente manera:

- 1.- Se realizó la punción del lóbulo de la oreja con una lanceta, y la toma de la muestra con un capilar calibrado de 10 μ l.
- 2.- La muestra se colocó en un tubo donde, mediante una prueba cromoenzimática, siguiendo el método LOD-PAP y analizando la sangre de forma directa, se vierte en una solución tampón que la hemoliza al instante. con una solución tamponadora (4-clorofenol 1,8mmol/L, ácido de sodio < 0,1%, sustancia tampón 20mmol/L), y posteriormente se le añade un reactivo (oxidasa de lactato (LOD) >450U/L; peroxidasa (POD) >750U/L, 4-aminofenazona 0,23mmol/L) para proceder al análisis de colorante iminaquinona que revela la concentración de lactato en sangre cuando se mide con un fotómetro.



Obtención de la muestra de sangre para determinación de lactato

7.3.8. Valoración de parámetros del componente lipídico, antioxidante, de daño oxidativo y expresión génica.

En el mismo laboratorio de fisiología se realizaron extracciones de sangre por venopuntura antes y después del ejercicio en las pruebas de eficiencia energética correspondientes a antes y después de la RC. Una fracción se preparó para la determinación de los parámetros sanguíneos estándar; hemograma completo, perfil metabólico, lipídico, hepático y renal. Otra muestra se reservó para analizar los ácidos grasos, el patrón inflamatorio y oxidativo.

Los ácidos grasos en plasma se determinaron por cromatografía de acuerdo a un método descrito (Martorell 2014b, Martorell 2015), después de tratarlos con un reactivo Meth-Prep™ (GRACE). EL cromatógrafo de gases utilizado fue un Agilent 5890 model (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) con detector de ionización (FID) y una columna Supelcomax 10 Capillary Gc, 30m x 0,53mm, df 0,5 µm.

La composición de ácidos grasos de los hematíes y del músculo esquelético fue determinada por cromatografía. Según métodos descritos, los lípidos totales fueron extraídos del plasma, del precipitado de eritrocitos o del músculo mediante cloroformo-metanol, utilizando el método de Folch (Folch J 1957). Se añadió ácido heptadecanoico (Nu-Chek Prep, Mn) en hexane como patrón. El extracto lipídico total fue secado en nitrógeno y reconstituido en 1mL de cloroformo. El perfil de los ácidos grasos de las muestras se determinó mediante el método de Lepage y Roy (Lepage G 1986). Las muestras de los diferentes tejidos, conteniendo un 0,01% de butilhidroxitolueno como antioxidante, fueron convertidas en esteres metílicos por una reacción con cloruro de acetilo durante 60 minutos a 100°C. Se realizó un análisis por cromatografía de gases mediante un Shimadzu GCMS-QP2010 Plus gas chromatograph/mass spectrometer (GCMS; Shimadzu, Kyoto, Japan). Se utilizó la columna Supramax-280 (Teknokroma, Barcelona, Spain), de 15m de longitud x 0,10 mm de diámetro x 0,10 mcm de espesor de la película. Los datos fueron registrados por GCMS solution software. Los parámetros de la espectrometría de masas fueron los siguientes: velocidad de escaneo de 10.000 amu/s (unidad de masa atómica por segundo), rango de masa de 40-400 m/z, detector de voltaje de 1'0 kV. Las temperaturas del interfaz I de la fuente iónica fueron 225°C y 200°C respectivamente. La ionización electrónica fue por un sistema MS ionización. Los picos de los esteres metílicos de los ácidos grasos fueron identificados por espectrometría de masas y comparando el patrón de elución y el tiempo relativo de retención de estos con una mezcla de referencia (GLC-744 Nu-Chek-Prep. Inc., Elysian MN, USA). Los resultados fueron expresados en cantidades relativas (porcentaje molar de los ácidos grasos totales).

La actividad de los enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa se determinó en plasma con un espectrofotómetro Shimadzu UV-2100 a 37°C. La actividad catalasa se determinó por el método de Aebi, basado en la descomposición

del H₂O₂, siguiendo la disminución en la absorbancia de la muestra a 240 nm (Aebi H 1984). La actividad superóxido dismutasa se determinó por el método de McCord y Fridovich (McCord JM 1969). Se usó un sistema de xantina/xantina oxidasa para generar anión superóxido. La reducción del citocromo C por este anión superóxido se monitorizó a 550 nm. La superóxido dismutasa presente en la muestra consumió el anión superóxido y por tanto produjo una inhibición en la reducción del citocromo C. Los niveles de malondialdehído (MDA) como marcador de peroxidación lipídica se determinaron en plasma, utilizando un kit comercial colorimétrico (Calbiochem). Las muestras fueron desproteinizadas en acetonitrilo-metanol (3:1) e incubadas en medio ácido en presencia de n-metil-fenilindol durante 60 min a 45°C. Tras la incubación se determinó la absorbancia de la muestra a 586 nm. Para calcular la concentración de MDA en las muestras se realizó una recta patrón con diferentes concentraciones de MDA purificado proporcionado en el kit.

La determinación de proteínas carboniladas se realizó mediante un método inmunológico utilizando un Oxiselect Protein Carbonyl Inminoblot kit (Cell Biolabs, INC). La concentración de proteínas totales se midió con el método de Bradford (Bradford MM 1976). Las muestras se transfirieron a una membrana de nitrocelulosa por el método de transferencia de puntos. El análisis de imagen se realizó utilizando el software de análisis de cantidad One-1D (Bio-Rad Laboratories).

La expresión génica de IL-6, Sirtuina-3, P₅₃ se determinó en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) aisladas de sangre por el procedimiento previamente descrito (Boyund A 1964). El extracto final de células se trató con medio Tripure y se purificó el ARN por extracción con fenol-cloroformo por procedimientos previamente descritos (Ferrer MD 2009). La expresión de ARNm se determinó por RT-PCR utilizando la expresión del gen del ribosoma 18S como referencia. El ADNc se sintetizó a partir de 1mg de ARN total utilizando la transcriptasa inversa con cebadores oligo-dT. La PCR semicuantitativa se realizó utilizando un Light-Cycler (Roche Diagnostics) con DNAmaster SYBR Green I. Los cebadores (primers) utilizados se presentan en la tabla 0. Para todas las PCRs se realizaron un ciclo a 95°C durante 10 minutos, seguido de 40 ciclos a las condiciones indicadas en la misma tabla. La cuantificación relativa se ejecutó mediante un cálculo rutinario considerando que el número de copias de ARNm iniciales es equivalente al número de copias que hay en el punto de corte de la PCR multiplicado por 2^{-Cp}. Dado que en el punto de corte de la PCR todos los genes presentan el mismo número de copias, la expresión relativa de un gen respecto de la del gen ribosómico 18S se calcula mediante la ecuación 2^{-ΔΔCp}. Los valores iniciales pre-ejercicio se consideraron arbitrariamente como 1, valor de referencia de expresión del gen.

Tabla 0. Cebadores y condiciones utilizadas en tiempo real PCRs

	<i>Genes cebadores</i>	<i>Condiciones</i>	
18S	Fw: 5'-ATG TGA AGT CAC TGT GCC AG-3'	95°C	10s
	Rv: 5'-GTG TAA TCC GTC TCC ACA GA-3'	60°C	7s
		72°C	12s
SIRT3	Fw: 5'-GAG CTT CTG GGC TGG ACA GA-3'	95°C	10s
	Rv: 5'-TGG GAT GTG GAT GTC TCC TAT G-3	35°C	5s
		72°C	7s
IL-6	Fw: 5-TACATCCTCGACGGCATCTC-3	95°C	10s
	Rv: 5-ACTCATCTGCACAGCTCTGG-3	63°C	10s
		72°C	12s
P53	FW 5'- AAGTCTGTGACTTGCACG-3'	95°C	10s
	Rv 5'-CTGGAGTCTTCCAGTGTG-3'	24°C	10s
		72°C	15s

7.3.9. Valoración estructura muscular. Biopsia muscular

La biopsia muscular consiste en la obtención de una muestra de tejido muscular mediante una pistola Vacora, de la zona correspondiente al vasto externo del m. quadricipitalis.

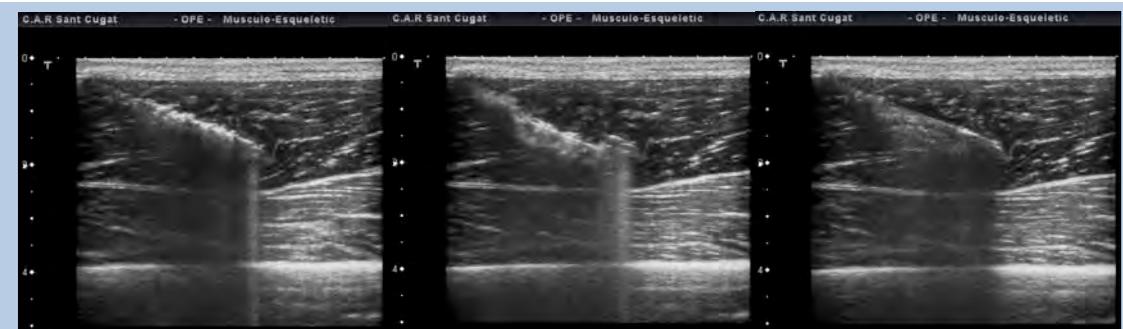
El método de trabajo requirió la secuencia de pasos siguiente:

- Limpiar y esterilizar la zona de abordaje
- Preparar el campo quirúrgico
- Cortar la dermis con el objeto de visualizar aponeurosis muscular (<2,5 cm)
- Identificar la aponeurosis y cortarla
- Proceder a la punción y extracción mediante el sistema Vacora, limpiar y suturar
- Depositar la muestra sobre un portaobjetos
- El fragmento muscular fue dividido en seis fragmentos que se procesaron de inmediato en fresco de la siguiente manera: dos se fijaron en formaldehído y se incluyeron en parafina, un fragmento para inmunohistoquímica y otro fragmento para hibridación in situ. Otro fragmento, el tercero, se fijó en glutaraldehído para microscopía electrónica. El cuarto, quinto y sexto se congelaron en nitrógeno líquido en crioviales independientes.



En las imágenes siguientes puede verse como se monitoriza la punción por ecografía, se toma el fragmento y queda un espacio sin tejido en el fascículo

muscular que se ha biopsiado. Y seguidamente se procede a la preparación del tejido para proceder al examen de los distintos fragmentos.



Introducción de la aguja de biopsia, aspiración del tejido muscular y deposición del mismo sobre la aguja y corte. Se observa el espacio vacío de tejido (color negro), a lo largo del borde superior de la aguja.



Separación de la muestra de tejido muscular y almacenamiento en formol y glutaraldehido y de forma inmediata en nitrógeno líquido, de donde es trasladado a la nevera de <math><80\text{ }^\circ\text{C}</math>.

7.4. MATERIAL

7.4.1. Instrumentos para el cálculo de RE y el análisis nutricional de la dieta

Se estimaron los requerimientos energéticos (RE), en los que se consideraba la energía necesaria para la vida diaria considerando el peso corporal utilizando las ecuaciones de la OMS; y la energía consumida en el entrenamiento semanal (RE_{ento}), a partir de una aplicación desarrollada en el sistema Open Acces, basada en el Compendio de actividades físicas de Ainsworth (Ainsworth BE 2011).

Para el análisis de la dieta se utilizó el programa informático ADN, basado en las tablas de composición de alimentos CESNID (Farrán A 2004) así como las referencias para la interpretación de las medidas caseras (Palma I 2004), ambas publicadas por la Universidad de Barcelona (UB).

7.4.2. Instrumentos de valoración somática. Técnicas antropométricas

Las técnicas antropométricas utilizan la medida del peso, alturas, diámetros, perímetros y pliegues cutáneos para la estimación de la composición corporal, el somatotipo y la proporcionalidad, mediante la aplicación de las fórmulas y métodos propuestos por diferentes autores.

Para realizar cualquier medida antropométrica es muy importante seguir un protocolo y respetar unas normas básicas establecidas, puesto que de ello dependerá el rigor y fiabilidad de la medición. Es necesario un material preciso y mantener una rigurosa calibración del mismo. Además de seguir el protocolo de medición escrupulosamente, por los mismos evaluadores y a la misma hora del día, respetando la misma relación prandial. Y marcando las referencias óseas necesarias para cerciorarse de que las mediciones se toman siempre en la misma localización.

- Estadiómetro Holtain con precisión de 1mm para medir la altura.
- Balanza Sartorius EA 150 FEG 1^o con precisión de 5g, entre 0 y 150 kg para medir el peso corporal.
- Cinta antropométrica, Holtain con precisión de 1 mm para la medición de las longitudes segmentarias y de los perímetros.
- Lipómetro Holtain T/W Skinfold Caliper, para medir los pliegues cutáneos y estimar la grasa corporal en un rango de 0 a 48 mm, con una precisión de 0,2 mm. Y mediante una presión constante de 10gr/mm².
- Antropómetro Holtain Harpenden Anthropometer que consta de una barra con regleta, un indicador numérico, alargadores (100, 400, 500, 500) y 4 ramas (2 rectas y 2 curvadas). Permite la medición de segmentos corporales, diámetros y alturas con una precisión de 1 mm.
- Paquímetro Holtain Bicondyliar Vernier para la valoración de pequeños diámetros con una precisión de 1 mm.
- Banco de altura conocida.
- Lápiz dermatográfico para el marcado del sujeto.

7.4.3. Instrumentos de valoración somática. Bioimpedancia

Se trabajó con el sistema CardioFitness PROMIS, para el análisis de la bioimpedancia cuyo fundamento radica en las propiedades físicas del medio celular. Los campos eléctricos se clasifican en campos eléctricos de baja frecuencia y de alta frecuencia que al atravesar el medio celular provocan una respuesta diferente. Los campos de baja frecuencia no cruzan la pared celular y la resistencia que ofrece el cuerpo humano se produce a expensas del líquido extracelular. Los campos de alta

frecuencia la traspasan y la resistencia ofrecida se encuentra determinada tanto por el líquido intracelular como extracelular.

El CardioFitness PROMIS utiliza un sistema de multifrecuencia y por sectores (BIVA), de modo que facilita la obtención de los parámetros siguientes: tejido graso, tejido no graso, masa celular, masa extracelular, agua extracelular, agua intracelular, agua total y masa muscular. Todos estos parámetros se disponen en forma de porcentaje y peso, relativos a la cantidad de tejido graso y no graso por sectores (brazo derecho, brazo izquierdo, pierna derecha, pierna izquierda y tronco).

7.4.4. Instrumentos de valoración funcional en las pruebas de esfuerzo

En las pruebas de esfuerzo, para determinar el consumo de oxígeno se ha utilizado un analizador de gases Master Screen CPX (Erich Jaeger, Wuertzburg, Germany), y una cinta ergométrica ISSA que permite ajustar la pendiente y la velocidad según el protocolo establecido.

Durante la prueba se recogieron parámetros ventilatorios (ventilación por minuto (VE), fracción espirada de oxígeno y de anhídrido carbónico de la que se obtiene junto a la anterior el consumo de oxígeno (VO_2) y la eliminación de anhídrido carbónico (VCO_2)), la frecuencia respiratoria (FR), la frecuencia cardiaca (FC), lactato y se administró una escala de percepción subjetiva de esfuerzo (Borg G 1970), para evaluar la percepción subjetiva de esfuerzo en cada uno de los niveles de trabajo.

Durante la prueba se monitorizó el electrocardiograma del sujeto con el fin de evaluar la idoneidad en la salud de la prueba.

7.4.5. Instrumentos para la determinación de lactato en sangre

Se utilizó un Miniphotometer Diaglobal cuya longitud de onda es 520nm, y permite la medición del lactato en sangre en un rango de 0,2 a 30 mmol/L (1,8-2,73mg/dL).

7.5. DISEÑO

7.5.1. Protocolo

Durante las 2 semanas previas al inicio del proyecto, se convocó individualmente a cada uno de los sujetos y después de explicar con detalle los pormenores del estudio y recoger su firma en el consentimiento informado; se procedió a realizar la historia clínica, la revisión médica con ECG en reposo, y el registro del entrenamiento.

Una vez realizada esa caracterización, los sujetos acudieron para evaluación en 2 sesiones distantes de 2 días, en la misma semana, y en una tercera cita distante de 6 semanas, donde se realizaron las pruebas siguientes:

Primera sesión:

Analítica de sangre en ayunas con el objeto de caracterizar el estado de salud del sujeto. En el análisis se evalúa el hemograma completo, el recuento leucocitario, el perfil lipídico (colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos) el perfil hepático (GOT, GPT, GGT, bilirrubina total y directa), el perfil básico inflamatorio con la VSG, hierro y ferritina, y el perfil renal, (urea, creatinina, ácido úrico). Se obtuvo además una muestra de sangre para la determinación del perfil antioxidante e inflamatorio que se repetiría después del ejercicio.

La evaluación antropométrica se realizó por plicometría y bioimpedancia. Se tomaron las medidas antropométricas para la estimación de la composición corporal, % y pesos de tejido adiposo, tejido muscular, tejido óseo, tejido residual, y seguidamente la valoración mediante BIA; todo ello se efectuó por la mañana, previo a la primera ingesta diaria y después de la extracción sanguínea. A continuación se realizó en cada sujeto la prueba de esfuerzo máxima para caracterizar el consumo máximo de oxígeno o potencia aeróbica máxima y el umbral anaeróbico individual. A los 30 minutos, se extrajo sangre por segunda vez para evaluar la respuesta inflamatoria y oxidativa al ejercicio. En el término de un par de horas, se practicó la biopsia muscular. También tuvo lugar la primera intervención nutricional basada en la historia alimentaria y la información sobre el procedimiento del registro de la ingesta semanal.

Segunda sesión:

En la segunda sesión se practicó la prueba de esfuerzo de eficiencia energética, que se repetiría junto al protocolo completo a las 6 semanas una vez formalizado el periodo de dieta en RC.

En el margen de dos días previos o posteriores a esta valoración de eficiencia energética, antes y después del periodo de RC, se realizaron la densitometría y la resonancia magnética. En cada prueba dirigida al estudio de la composición corporal se determinó el peso inmediatamente antes del procedimiento, que fue el utilizado para la valoración de cada uno de ellos, de modo que pueden observarse pequeñas diferencias en cada una de ellas, aunque correspondan a momentos muy cercanos.

7.5.2. Análisis estadístico

Los estadísticos se han presentado para el total de sujetos que han completado su participación en el periodo establecido de RC y precisados para cada uno de los aspectos valorados; por lo que en las tablas puede observarse algunas modificaciones del número de sujetos (n), determinadas por el cumplimiento de las pruebas de los participantes en el estudio.

Los resultados, se han tratado de forma individualizada y oportuna para cada aspecto evaluado en el estudio, y se han expresado en:

Estadísticos descriptivos básicos.

Se ha caracterizado la distribución de probabilidad de las distintas variables de estudio mediante el cálculo de estadísticos descriptivos básicos: a) media (*Promedio*) b) desviación típica (*SD*) c) error estándar de la media (*SE*).

Prueba T de Student.

Esta prueba estadística de comparación de dos medias se ha utilizado para la comprobación de la existencia o no de diferencias significativas entre dos variables pareadas y repetidas, frente a la administración del protocolo objetivo de estudio. Solo al comparar el contenido en AG entre los eritrocitos y el tejido muscular se trabajó con variables no apareadas.

Correlación bivariada (*r* de Pearson).

Se analiza, mediante el coeficiente de correlación *r* de Pearson, la magnitud y el signo de la relación lineal existente entre las variables consideradas en el estudio.

ANOVA

Análisis de varianza de dos vías para medidas repetidas sobre dos factores, el ejercicio y la RC.

Significación estadística

Se consideraron diferencias significativas para $P < 0,05$.

Para el análisis estadístico se utilizó el software Statistical Package for Social Sciences (SPSS v21.0 for Windows).

7.5.3. Espacio de realización

El estudio se ha realizado en el espacio físico correspondiente a las instalaciones del Centre d'Alt Rendiment de Sant Cugat del Vallés en Barcelona (CAR). En concreto a las dispuestas en los laboratorios del Departamento de Fisiología y Nutrición de la Unidad de Ciencias Medicina y Tecnología, donde se procesaron las muestras de sangre, se realizaron las valoraciones antropométricas y la bioimpedancia; y en la Unidad de Medicina CAR-CST, donde se practicaron las biopsias musculares.

Las densitometrías se realizaron en los servicios médicos del Fútbol Club Barcelona, y las RMN en el Centro de Resonancia Magnética de la Dra Guirado.

La extracciones y preparación de las muestras para determinar los parámetros sanguíneos se llevaron a cabo en el Departamento de Fisiología y Nutrición del CAR de Sant Cugat del Vallés, y se analizaron en el laboratorio Echevarne de Barcelona, y en el Departamento de Biología Fundamental y ciencias de la Salud la Universitat de les Illes Balears.

8. RESULTADOS

8.1. VALORACIÓN NUTRICIONAL DE LA DIETA HABITUAL Y LA DIETA DE LA RC

8.1.1. Requerimientos energéticos y pauta de restricción calórica

En el presente estudio, nos planteamos alcanzar una RC cercana al 35-40%; valores que consideramos suficientes para facilitar las adaptaciones fisiológicas que se planteaban en la hipótesis de trabajo (Harvie M 2017, Davis CS 2015).

Los datos promedio de los requerimientos energéticos (RE) calculados para los 18 sujetos que participaron en el estudio, corresponden a la energía necesaria para cubrir el consumo energético en reposo y la actividad física de las rutinas diarias. A este valor debemos añadir los RE correspondientes al entrenamiento de la semana que dividiremos por los 7 días que la componen, hallando de este modo los RE totales diarios (tabla 1).

También se valoró la dieta de los sujetos con la finalidad de conocer la ración calórica diaria de su ingesta habitual y la cobertura nutricional individual, para ajustar la pauta de restricción calórica; que se estableció entre 600-800Kcal/día durante 3 días alternos semanales. En la tabla 2 se muestra un ejemplo de menú para los días de RC.

Tabla 1. Requerimientos energéticos

n=18	Pre-RC	RC
	<i>Promedio ± SD</i>	<i>Promedio ± SD</i>
RE diarios (Kcal/día)	1.862 ± 119	
RE entrenamiento semanal (Kcal/sem)	3.426 ± 1.147	
RE totales (Kcal/día)	2.351 ± 156	
Ingesta real (Kcal/día)	2.292 ± 547	1.537 ± 338
Ratio restricción calórica (%)		34,3 ± 15,4

Conocida la ración calórica diaria que ingería cada sujeto, se estableció la restricción calórica teórica de un 40%, que con la variabilidad individual, al final del estudio y de acuerdo a nuestros cálculos se situó en el 34,3±15,4 %, tal como se indica en la tabla 1.

A continuación, en las tablas 2-a y 2-b, se muestra un ejemplo de la ingesta para un día de RC, el análisis nutricional de los alimentos incluidos, y el análisis correspondiente a una dieta de 600 Kcal. Es una dieta muy exigente, por lo que los sujetos tuvieron que estar muy comprometidos y experimentar tras la primera semana, la compensación de la pérdida de peso, su buen estado general, su

sensación de bienestar y ausencia de fatiga y la posibilidad de comer con normalidad en los días intermedios sin que se alteraran sus compromisos personales.

Tabla 2-a Ejemplo de pauta de restricción calórica 600Kcal

Desayuno	Comida	Cena
1 vaso de leche desnatado o yogur natural desnatado	35g de arroz o pasta hervidos	100g de judía verde o espinacas o acelgas o cualquier variedad de lechuga o coliflor o brócoli o col
1 rebanada de pan de molde blanco o integral	70g de pechuga de pollo o pavo plancha	100g de pescado al vapor
1 loncha de fiambre de pavo o pollo o jamón dulce	1 tomate crudo pequeño (70g)	1 yogur natural desnatado
	1 kiwi o 1 pera o 1 naranja o 100g de piña o melón	

Se recomienda aumentar el consumo de agua o infusiones entre horas.

Las opciones son intercambiables entre los días.

Se incide en evitar el consumo de grasas trans de cualquier forma, fritos, embolsados, etc y de bollería y azucarados.

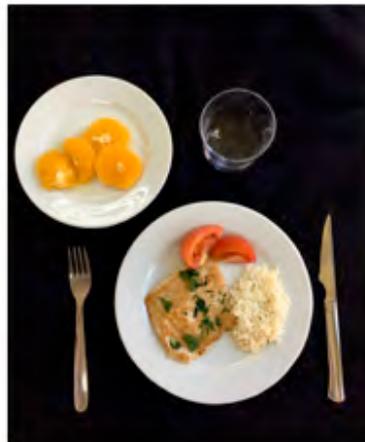


Tabla 2-b. Análisis nutricional de las pautas de RC

<i>Ración calórica (Kcal/día)</i>	<i>600</i>	<i>800</i>	<i>IDR</i>
Glúcidos (g)	72,1	106,5	
Polisacáridos (g)	41,8	54,7	
Azúcares(g)	30,2	53,1	
Proteína (g)	57,9	67,6	
Proteína Animal (g)	49,6	57,7	
Proteína Vegetal (g)	8,3	11,2	
Lípidos (g)	12,3	13,8	
AG monosaturados (g)	5,7	6,2	
AG Poliinsaturados (g)	2,1	2,5	
AG Saturados (g)	2,6	3,1	
Colesterol (mg)	114	123	
Micronutrientes			
Fibra (g)	7,5	10,8	
Calcio (mg)	543	735	800
Hierro (mg)	4,6	5,3	10
Magnesio (mg)	166	208	350
Sodio (mg)	692	875	
Potasio (mg)	1.805	2.273	3.500
Fósforo (mg)	789	986	700
Zinc (mg)	3,9	5,0	15
Carotenoides (mcg)	882	1011	
Vit. B ₉ , Ac. Fólico (mcg)	155	187	400
Vit. B ₃ , Niacina (mg)	16,1	17,8	20
Retinoides (mcg)	0,14	0,26	
Vit. B ₂ , Riboflavina (mg)	0,99	1,31	1,8
Vit. B ₁ , Tiamina (mg)	0,74	0,95	1,2
Vit. A, Retinol (mg)	147	168	1.000
Vit. B ₆ , Piridoxina (mg)	0,98	1,24	1,8
Vit. D, Calciferol (mcg)	0,13	0,17	5
Vit. E, Tocoferol (mg)	2,42	3,18	12
Vit. B ₁₂ , Cobalamina (mcg)	2,07	2,49	2
Vit. C, Ac. Ascórbico (mg)	86	103	60

AG= ácidos grasos, Vit.= Vitamina.

8.1.2. Análisis nutricional, cobertura nutricional y distribución de la ración calórica

El análisis nutricional de la dieta de partida y la distribución de los cambios experimentados en el aporte de energía y macronutrientes en el periodo de RC (tabla 3), permiten observar que la RC promedio del grupo de sujetos tiene una mayor repercusión en la ingesta de hidratos de carbono y grasas respecto a las proteínas cuyo aporte se pretendió garantizar en la pauta propuesta.

En dicha pauta se garantiza un aporte de vegetales, incluso en los días de RC, lo que se evidencia en los mínimos cambios que experimenta la proteína vegetal.

El colesterol de la dieta disminuye notablemente, al imponerse los 3 días de dieta prefijada con técnicas culinarias muy sencillas.

Tabla 3. Distribución de la ración calórica Pre-RC y durante RC

n=18	Pre-RC	RC	Diferencia	P
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	%	
Peso (kg)	80,5 ± 7,8	76,3 ± 8,0	5	0,000 *
Ración calórica (Kcal/día)	2.291 ± 546	1.536 ± 338	33	0,000 *
Glúcidos (g)	233 ± 63	155 ± 41	34	0,000 *
Polisacáridos	122 ± 42	80,7 ± 29,6	34	0,002 *
Azúcares	83,7 ± 36,5	62,2 ± 19,7	26	0,025 *
CHO/kg (g)	2,94 ± 0,87	2,06 ± 0,63	30	0,001 *
Proteína (g)	102 ± 30	77 ± 18	25	0,001 *
Prot. animal	64,9 ± 20,0	52,8 ± 14,8	19	0,041 *
Prot vegetal	27,5 ± 14,3	21,0 ± 12,9	24	0,126
Prot/kg (g)	1,28 ± 0,39	1,02 ± 0,25	21	0,005 *
Lípidos (g)	96,3 ± 26,4	63,4 ± 20,2	34	0,001 *
AG Monosaturados	36,3 ± 9,88	26,6 ± 11,1	27	0,011 *
AG Poliinsaturados	14,0 ± 4,2	8,7 ± 2,9	38	0,001 *
AG Saturados	30,7 ± 9,9	19,2 ± 6,6	37	0,001 *
Colesterol (mg)	363 ± 156	245 ± 82	33	0,007 *

*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$)

Para valorar la cobertura de los micronutrientes se ha considerado los valores de la Ingestas Dietéticas de Referencia (IDR) propuestas para la población española por la Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética FESNAD, (Cuervo M 2010), como se presenta en la tabla 4.

Tabla 4. Cobertura nutricional de la RC

n=18	Pre-RC		Post-RC		P
	Promedio ± SD	%IDR	Promedio ± SD	%IDR	
Fibra (g)	16,5 ± 5,5		13,6 ± 3,4		0,038 *
Calcio (mg)	848 ± 322	106%	729 ± 271	91%	0,160
Hierro (mg)	12,2 ± 5,0	122%	8,58 ± 1,30	86%	0,003 *
Magnesio (mg)	270 ± 65	77%	223 ± 32	64%	0,007 *
Sodio (mg)	2.616 ± 833		1.923 ± 677		0,007 *
Potasio (mg)	2.599 ± 672	74%	2.015 ± 364	58%	0,003 *
Fósforo (mg)	1.135 ± 461	162%	1.056 ± 336	151%	0,579
Zinc (mg)	9,1 ± 2,6	60%	7,12 ± 1,29	47%	0,005 *
Carotenoides (mcg)	1.978 ± 1.247		1.985 ± 904		0,982
Vit. B ₉ , Ac. Fólico (mcg)	254 ± 147	64%	207 ± 84	54%	0,341
Vit. B ₃ , Niacina (mg)	22,3 ± 8,3	112%	17,0 ± 3,9	85%	0,007 *
Retinoides (mcg)	613 ± 965		150 ± 67		0,073
Vit. B ₂ , Riboflavina (mg)	1,65 ± 0,74	92%	2,43 ± 4,29	75%	0,111
Vit. B ₁ , Tiamina (mg)	1,35 ± 0,50	113%	1,17 ± 0,28	97%	0,088
Vit. A, Retinol (mg)	920 ± 1039	92%	482 ± 166	48%	0,097
Vit. B ₆ , Piridoxina (mg)	2,50 ± 2,60	139%	1,49 ± 0,25	83%	0,134
Vit. D, Calciferol (mcg)	2,96 ± 2,00	59%	1,67 ± 1,00	33%	0,052
Vit. E, Tocoferol (mg)	9,20 ± 2,66	77%	7,01 ± 2,93	58%	0,018 *
Vit. B ₁₂ , Cobalamina (mcg)	6,2 ± 4,8	311%	3,5 ± 0,9	176%	0,048 *
Vit. C, Ac. Ascórbico (mg)	91,1 ± 54,1	152%	74,7 ± 40,1	125%	0,173

*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$)

Vit. = vitamina.

Según se muestra en la tabla previa, durante el periodo de la RC se redujo la ingesta diaria de micronutrientes, ofreciendo el análisis nutricional valores inferiores a la IDR. (Farrán A 2004). Existe un cierto déficit de algunos micronutrientes, especialmente en el hierro, magnesio, potasio, zinc, ac.fólico, niacina, tocoferol y cobalamina.

8.2. VALORACIÓN DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL

8.2.1 Densitometria

Tabla 5. Cambios en la composición corporal DEXA

n=14	Pre-RC	Post-RC	P
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	
Masa total (kg)	81,8 ± 8,5	77,4 ± 8,3	0,000 *
Tejido total (kg)	78,9 ± 8,7	74,1 ± 8,3	0,000 *
Grasa total (kg)	20,5 ± 6,4	17,4 ± 5,8	0,000 *
MLG total (kg)	58,4 ± 5,5	56,7 ± 6,0	0,004 *
CMO total (kg)	2,82 ± 0,32	2,81 ± 0,32	0,044 *
Brazo total			
Grasa (g)	1.797 ± 515	1.634 ± 521	0.000 *
MLG (g)	7.148 ± 979	6.961 ± 965	0,015 *
CMO (g)	466 ± 59	468 ± 53	0,550
Masa total (g)	9.412 ± 1.151	9.064 ± 1.196	0.000 *
Piernas total			
Grasa (g)	6.590 ± 2.149	5.904 ± 1.898	0.000 *
MLG (g)	20.537 ± 2.133	19.825 ± 240	0.000 *
CMO (g)	1.313 ± 150	.315 ± 151	0,536
Masa total (g)	28.442 ± 3.361	27.045 ± 3.295	0.000 *
Tronco total			
Grasa (g)	10.330 ± 3.708	8.532 ± 3.343	0.000 *
MLG (g)	7.129 ± 2.440	26.463 ± 2440	0,002 *
CMO (g)	984 ± 144	970 ± 144	0,038 *
Masa total (g)	8.444 ± 4.739	35.965 ± 4237	0.000 *
Androide total			
Grasa (g)	1.740 ± 713	1.356 ± 624	0.000 *
MLG (g)	3.598 ± 395	3.444 ± 445	0.000 *
CMO (g)	55,4 ± 9,0	55,6 ± 9,4	0,666
Masa total (g)	5.394 ± 841	4.856 ± 727	0.000 *
Ginoide total			
Grasa (g)	3.739 ± 1.177	3.223 ± 1044	0.000 *
MLG (g)	8.421 ± 856	8.199 ± 932	0,002 *
CMO (g)	347 ± 43	348 ± 45	0,462
Masa total (g)	2.508 ± 1.508	11.771 ± 1379	0,000 *

*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$).
CMO= contenido mineral óseo. MLG= masa libre de grasa.

Se puede considerar la DEXA como el sistema de referencia en la estimación de la composición corporal, para valorar la distribución de la pérdida de peso. Por ese

+ El valor de Tronco corresponde a la medición entre cada uno de los marcadores mencionados previamente desde la parte superior del tórax (nacimiento de primera costilla), hasta la zona superior de la pelvis. Es una medida que recoge todo el tórax y la mayor parte del abdomen.

motivo es interesante estudiar la relación entre los diferentes sistemas de estimación que se han administrado, es decir, DEXA, técnicas antropométricas y bioimpedancia.

De los 18 sujetos que continuaron el estudio consiguieron completar todas las mediciones en los plazos establecidos 14 sujetos (tabla 5). El CMO no sufre variaciones en el corto periodo de tiempo que se administra la dieta. La grasa total experimenta cambios significativos a todos niveles, como masa total grasa del sujeto, en extremidades superiores o inferiores y a nivel central cuando se evalúa por la segmentación “androide” o “ginoide”. Es de especial interés visualizar un porcentaje más elevado en la reducción de su distribución androide⁽¹⁾ (grasa localizada en la parte superior de la cadera y por debajo de las costillas) respecto a la grasa ginoide (grasa localizada en nalgas y muslos); dado que la grasa androide se relaciona con un patrón de mayor riesgo de morbilidad (tabla 6).

Tabla 6. Porcentaje de pérdida de grasa

n= 14	Pre-RC	Post-RC	%
Grasa total (kg)	20,460	17,430	15%
Grasa Ginoide (kg)	3,739	3,223	14%
Grasa Androide (kg)	1,741	1,357	22%

8.2.1.1 Estudio comparativo de los métodos empleados en el estudio

Conocidas las diferencias metodológicas y asumidos los diferentes rangos de medida (tabla 7-1), interesa evaluar de forma objetiva cada uno de los métodos que utilizados para estimar el tejido graso y determinar sus cambios.

Tabla 7-1. Descripción de los resultados obtenidos entre los diferentes métodos

n=14	Variables	Unidad	Promedio ± SD
	DEXA	Kg	18,16 ± 5,87
	PGT Drinkwater	Kg	10,8 ± 2,7
	PGT Yuhasz	Kg	10,3 ± 3,5
	PGT Faulkner	Kg	13,25 ± 4,11
	∑ 4 pliegues	mm	61,9 ± 22,1
	∑ 6 pliegues	mm	94,8 ± 28,6
	Bioimpedancia	kg	19,2 ± 6,5

Las zonas androide y ginoide corresponden a un espacio virtual que se calcula mediante un algoritmo, que depende de la distancia entre el marcador que se coloca en la imagen de la densitometría a nivel del nacimiento de la primera costilla con la vértebra cervical en la parte superior, y el marcador que se coloca en la parte más elevada de las caderas a nivel inferior. En función de esa distancia se ofrece un espacio por encima de las caderas denominado “androide” y que corresponde a una zona de almacén de tejido graso más propio de los varones; y en la parte inferior, cadera, nalgas y parte proximal del muslo, el lugar de reserva es más propio de las mujeres y que se denomina por ese motivo “ginoide”.

Se observa una elevada correlación entre el método considerado de referencia, DEXA (tabla 7-2), y las técnicas antropométricas; observando que las fórmulas de Faulkner, implican a los pliegues tríceps, subescapular, supraespinal y abdominal, Drinkwater incluye a los pliegues tríceps, subescapular, abdominal y del muslo anterior, y Yuhasz utiliza mayor número de pliegues, tríceps, subescapular, supraespinal, abdominal, muslo anterior y pierna medial.

Tabla 7-1. Descripción de los resultados obtenidos entre los diferentes métodos

<i>n=14</i>	<i>Variables</i>	<i>r</i>
	PGT DEXA - PGT Drinkwater	0,93
	PGT DEXA - PGT Yuhaz	0,95
	PGT DEXA - PGT Faulkner	0,91
	PGT DEXA - \sum 4 pliegues	0,91
	PGT DEXA - \sum 6 pliegues	0,96
	PGT DEXA - Bioimpedancia	0,75
	PGT Bioimpedancia - PGT Drinkwater	0,72
	PGT Bioimpedancia - PGT Yuhaz	0,87
	PGT Bioimpedancia - PGT Faulkner	0,90

Coefficiente de correlación de Pearson (r).

PGT= peso graso total.

En las mediciones por bioimpedancia encontramos una correlación algo inferior. Al relacionar la bioimpedancia con las técnicas antropométricas, el mejor ajuste corresponde a los métodos de Yuhasz y Faulkner.

Con el objeto de facilitar la visualización de los resultados se presenta una a representación gráfica (gráfico 1) donde encontramos algunas informaciones relevantes, que se comentan en la discusión.

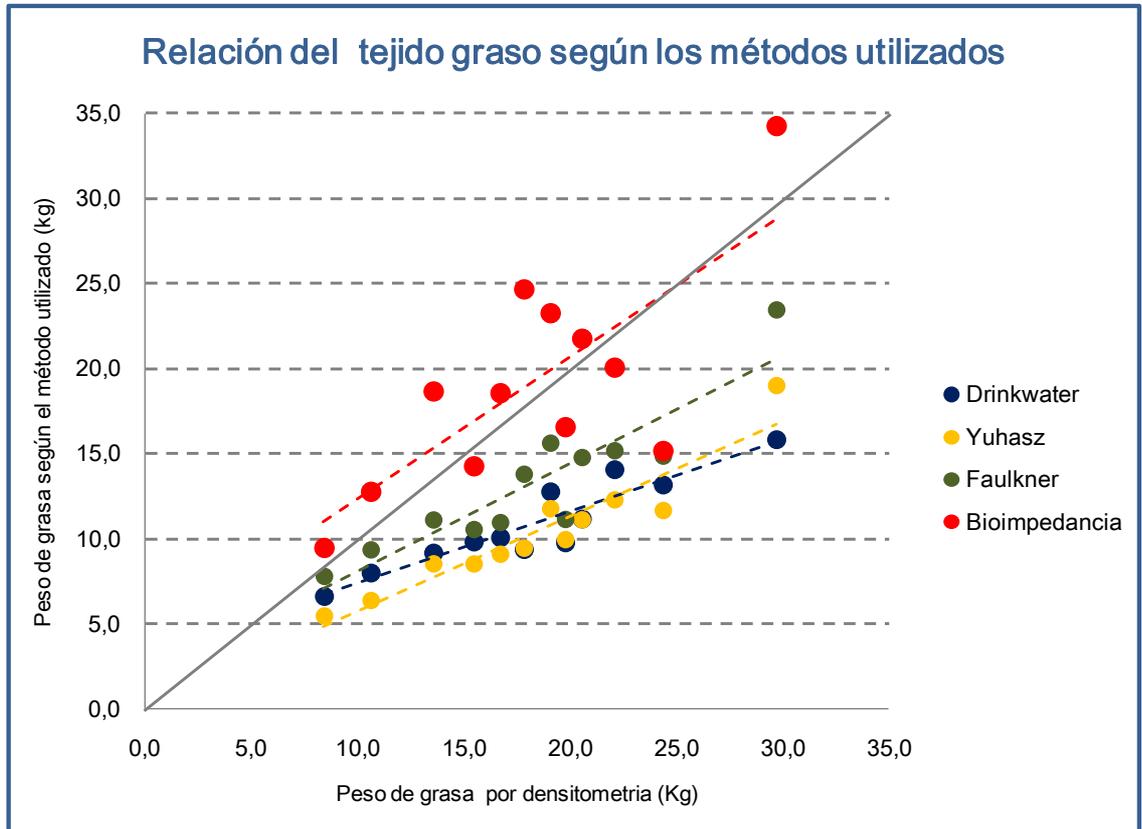


Gráfico 1. Representación gráfica de las correlaciones

8.2.2 Valoración de la redistribución del agua corporal mediante BIA

La exploración por bioimpedancia nos ha permitido además valorar los cambios en la distribución del agua corporal en nuestro experimento (tabla 8), encontrando una disminución promedio en el agua total del 0,93% (2,51L), que se distribuye en un incremento a nivel extracelular de 2,23%(0,90L) y un descenso de la intracelular de 2,97% (3,44L). El tejido graso reduce 0,35%(0,81kg) y el tejido no graso también en 0,09% (2,93kg). El tejido muscular aumenta un 3,30% (0,47kg).

Tabla 8. Cambios en la distribución del agua corporal

n=6	Pre-RC	Post-RC	P
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	
Peso (kg)	80,5 ± 8,7	76,5 ± 8,8	0,000
AEC (%)	24,0 ± 2,7	26,3 ± 2,6	0,001
AIC (%)	32,7 ± 3,3	29,7 ± 4,9	0,052
AT (%)	56,7 ± 4,1	55,8 ± 6,9	0,423
TG (%)	22,4 ± 5,6	22,0 ± 7,5	0,752
MLG (%)	77,6 ± 5,6	77,7 ± 7,4	0,925
TMus (%)	39,4 ± 6,6	42,7 ± 5,2	0,018
AEC (kg)	19,2 ± 1,8	20,1 ± 1,6	0,038
AIC (kg)	26,2 ± 2,7	22,8 ± 3,9	0,003
AT (kg)	45,4 ± 2,6	42,9 ± 3,6	0,001
TG (kg)	18,4 ± 6,6	17,6 ± 7,5	0,301
MLG (kg)	62,1 ± 3,5	59,2 ± 4,9	0,003
TMus (kg)	32,2 ± 5,4	32,6 ± 4,3	0,577
TG piernas (%)	16,5 ± 1,2	16,0 ± 2,6	0,427
TG piernas (kg)	2,1 ± 0,0	2,0 ± 0,3	0,293

**Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC (p<0,05). AEC= agua extracelular, AIC= agua intracelular, AT= agua total, TG= tejido graso, MLG= Masa libre de Grasa, TMus= tejido muscular.*

8.3. VALORACIÓN DE LOS PARÁMETROS SANGUÍNEOS

La presentación de los resultados de los parámetros sanguíneos muestra diferente número de sujetos según la disponibilidad de resultados, sujeta a los subgrupos que surgieron en el estudio y ocasionalmente a problemas logísticos en la gestión de las muestras.

8.3.1. Hemograma

En los datos correspondientes al hemograma se observan discretas modificaciones que se hallan dentro del rango de referencia y pueden considerarse dentro de la normalidad (tabla 9). No se observaron cambios significativos atribuibles a la RC en los parámetros celulares ni en los relacionados con el metabolismo del hierro, recuento de eritrocitos, hematocrito, hemoglobina sanguínea, hierro plasmático, ferritina, bilirrubina, saturación de transferrina o hierro sérico.

Tabla 9. Hemograma

n = 18				Pre-RC	Pre-RC	P
Determinación	Rango Normalidad	U	n	Promedio ± SD	Promedio ± SD	
Hematíes	4,6-5,9	10^6 cel/mL	17	5,1 ± 0,3	5,1 ± 0,5	0,910
Hemoglobina	13-16	g/dL	17	15,1 ± 1,7	15,2 ± 2,2	0,791
Hematocrito	40-50	%	17	44,9 ± 3,7	45,1 ± 5,1	0,847
Plaquetas	150-440	fl	17	212 ± 57	197 ± 41	0,045 *
Leucocitos	4,1-10	10^9	17	6,1 ± 1,6	5,9 ± 1,7	0,585
Neutrófilos	50-75	10^9	17	55 ± 8	54 ± 5	0,574
Linfocitos	36-56	10^9	17	32 ± 7	32 ± 4	0,919
Monocitos	3,1-8	10^9	17	8,6 ± 2,2	9,4 ± 1,9	0,176
Eosinófilos	0,2-8,4	10^9	17	3,3 ± 1,9	3,6 ± 2,0	0,237
Basófilos	0,2-1,8	10^9	17	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2	0,872
Neutrófilos	2,0-7,5	%	17	3,4 ± 1,4	3,2 ± 1,0	0,561
Linfocitos	1,1-4	%	17	1,9 ± 0,6	1,9 ± 0,5	0,803
Monocitos	0,2-0,8	%	17	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,2	0,270

*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$).

8.3.2. Bioquímica sanguínea

Los parámetros bioquímicos (tabla 10) aportan informaciones interesantes. Seis semanas de CR no causaron daño tisular, teniendo en cuenta que se mantuvieron

las actividades séricas de GPT, GOT, GGT y creatina quinasa. La RC no influyó en los niveles de glucosa en plasma ni en los marcadores del metabolismo del nitrógeno, como los niveles plasmáticos de urea, creatinina y urato. Los niveles circulantes de colesterol y triglicéridos fueron significativamente más bajos después de las seis semanas de RC que los niveles anteriores, pero HDL y LDL mantuvieron sus valores pre-RC. El nivel de calcio se mantuvo, pero la vitamina D aumentó en valores plasmáticos después de seis semanas de RC.

Tabla 10. Parámetros bioquímicos

n = 18				Pre-RC	Pre-RC	P
Determinación	Rango Normalidad	U	n	Promedio ± SD	Promedio ± SD	
Glucosa	74,1-106,1	mg/dl	14	84,1 ± 6,3	80,9 ± 11,3	0,250
Urea	<49,9	mg/dl	14	31,2 ± 9,2	35,4 ± 8,3	0,194
Ac. úrico	3,4-7,1	mg/dl	14	5,7 ± 1,2	5,9 ± 1,2	0,672
Creatinina	0,7-1,3	mg/dl	14	0,9 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,292
Bilirrubina	0,1-1,4	mg/dl	13	0,9 ± 0,6	0,9 ± 0,6	0,882
Calcio	8,6-10,2	mg/dl	13	9,5 ± 0,4	10,8 ± 4,4	0,317
GPT	3,0-40,2	UI/L	15	23,6 ± 5,5	25,1 ± 10,9	0,588
GOT	1,2-40,8	UI/L	15	21,8 ± 7,8	20,4 ± 6,9	0,467
GGT	7,8-60,2	UI/L	14	24,2 ± 17,7	33,9 ± 39,9	0,253
Creatinquinasa	39-308	UI/L	12	178 ± 103	165 ± 136	0,568
Colesterol total	<200	mg/dL	17	184 ± 37	176 ± 41	0,050 *
HDL	>56	mg/dL	17	53 ± 12	53 ± 10	0,807
LDL	<4,3	mg/dL	17	110 ± 32	107 ± 42	0,488
Triglicéridos	<197,8	mg/dL	17	99,4 ± 38,3	85,3 ± 41,3	0,050 *
Hierro	59-158	mcmol/L	14	87 ± 43	104 ± 62	0,416
Transferrina	200-360	g/L	13	266 ± 36,813	257 ± 31	0,050 *
Hierro unido TF	35,8-71,6	mcmol/L	13	66 ± 9	65 ± 8	0,138
Sat. Transferrina	20-45	%	13	23 ± 12	29 ± 18	0,396
Ferritina	30-400	ng/mL	14	158 ± 69	235 ± 357	0,435
Vitamina D	>30	ng/mL	15	21,6 ± 19,1	25,3 ± 18,9	0,001 *
TP	70-120	%	9	104 ± 9	100 ± 9	0,050
TP Índice	0,8-1,25	1	9	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1	0,144
INR		1	9	0,98 ± 0,05	1,0 ± 0,06	0,252
TPT	24-35	s	9	29,9 ± 2,2	30,0 ± 2,0	0,928
TPTp Índice	0,8-1,25	1	9	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,334

*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$). Se colorea en azul el perfil lipídico estándar. TF= Transferrina, T P= tiempo de protrombina. TP índice= índice internacional normalizado de protrombina. INR= ratio internacional normalizado. TPT= tiempo parcial de tromboplastina. TPTp índice= índice internacional normalizado de tromboplastina parcial.

8.3.4. Patrón oxidativo y patrón inflamatorio

No se aprecian efectos significativos de la restricción calórica ni del ejercicio ni efectos de interacción entre estos factores sobre los indicadores de daño oxidativo en lípidos (MDA) y en proteínas (Carbonilos) ni en las actividades plasmáticas de los enzimas antioxidantes catalasa y superóxido dismutasa (SOD) (tabla 11).

Tabla11. Respuesta oxidativa en plasma

n=18		Pre-RC	Post-RC	ANOVA		
		Promedio ± SD	Promedio ± SD	E	RC	E x RC
Catalasa (K/L)	Pre-E	374 ± 789	389 ± 738	NS	NS	NS
	Post-E	207 ± 277	520 ± 2206	NS	NS	NS
SOD (pkatal/L)	Pre-E	740 ± 216	717 ± 407	NS	NS	NS
	Post-E	700 ± 237	728 ± 267	NS	NS	NS
MDA (mM)	Pre-E	8,27 ± 5,5	9,98 ± 12,7	NS	NS	NS
	Post-E	8,91 ± 21,2	8,79 ± 7,0	NS	NS	NS
Carbonilo (%)	Pre-E	100 ± 29,7	101 ± 38,2	NS	NS	NS
	Post-E	111 ± 46,7	110 ± 29,7	NS	NS	NS

E= efecto ejercicio; RC= efecto restricción calórica; ExRC= efecto interacción.

NS= no hay diferencias significativas.



Consecuencias de la inflamación-oxidación

Tabla 12. Respuesta inflamatoria. Cambios en la expresión génica en relación a la RC y el ejercicio

n = 18	Condición		Valor	Valor de P	
			Promedio \pm SD	C1	C2
IL-6	Basal	Pre-E	1,000 \pm 1,001		0,195
		Post-E	0,973 \pm 1,058	0,612	
	RC	Pre-E	1,251 \pm 1,645		0,257
		Post-E	1,123 \pm 1,246	0,940	
P53	Basal	Pre-E	1,000 \pm 1,000		0,857
		Post-E	1,184 \pm 1,230	0,230	
	RC	Pre-E	0,968 \pm 0,698		0,081
		Post-E	0,739 \pm 0,704	0,066	
SIRT-3	Basal	Pre-E	1,000 \pm 1,000		0,137
		Post-E	0,993 \pm 0,420	0,569	
	RC	Pre-E	0,802 \pm 0,333		0,087
		Post-E	1,259 \pm 0,772	0,047 *	

**Diferencias significativas respecto a los valores c1 y c2 ($p < 0,05$). C1= corresponde a la evaluación entre la condición previa al ejercicio y posterior al mismo en el periodo basal o posterior a la RC. C2= Corresponde a la evaluación entre la condición entre el periodo previo al ejercicio en el periodo basal y en el de RC y a la condición posterior al ejercicio en el periodo basal y posterior a la RC.*

En la tabla 12, se presentan los datos correspondientes a la expresión génica de IL-6, Sirtuina-3 y P₅₃ en células mononucleares de sangre periférica referidas a la expresión del gen ribosomal 18S. No se aprecian efectos significativos inducidos por el ejercicio o la restricción calórica en la expresión de estos genes. Sin embargo, tras el periodo de restricción calórica la expresión de la Sirt-3 incrementa ligeramente un 25% por efecto del ejercicio agudo.

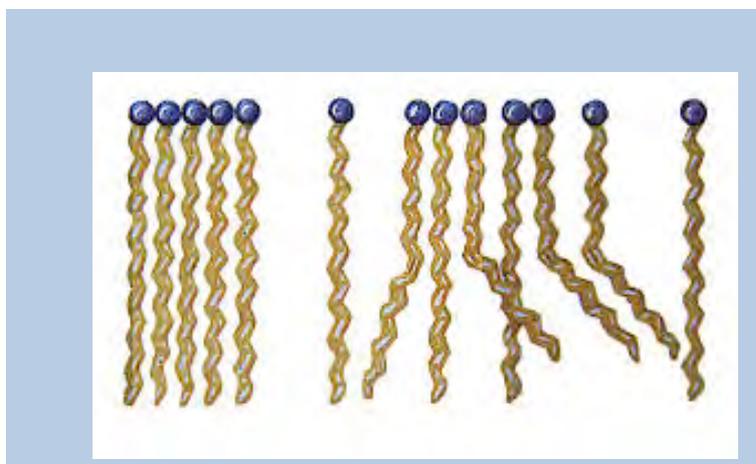
8.3.5. Distribución de los ácidos grasos en plasma, músculo y eritocitos

Al valorar los AG en plasma antes y después del periodo de RC nos encontramos que no se han producido cambios en ninguna de las fracciones analizadas: SFA (AG saturados) representados por los AG, C14:0, C16:0, C18:0, C20:0, C22:0, C24:0; MUFA (AG monoinsaturados) representados por los AG, C14:1n5, C16:1n7, C18:1n9, C18:1n7, C20:1n9, C22:1n9, C24:1n9; PUFA (AG poliinsaturados) representados por los AG, C18:2n6, C18:3n6, C18:3n3, C18:4n3, C20:2n6, C20:3n6, C20:4n6, C20:3n3, C20:5n3, C22:2n6, C22:4n6, C22:5n6, C22:5n3, C22:6n3; n-6 (AG omega 6) representados por C18:2n6, C18:3n6, C20:2n6, C20:3n6, C20:4n6, C22:2n6, C22:4n6, C22:5n6; n-3 (AG omega 3) representados por C18:3n3, C18:4n3, C20:3n3, C20:5n3, C22:3n3, C22:5n3, C22:6n3; así como las relación n-3/n-6, indicador de estado inflamatorio, (Lands B 2017) y el n-3 INDEX, indicador de riesgo cardíaco (Harris WS 2008) (tabla13).

Tabla 13. Contenido de AG en plasma

n=18	Pre-RC	Post-RC	P
AG (%)	Promedio ± SD	Promedio ± SD	
SFA	31,3 ± 1,7	31,2 ± 2,7	NS
MUFA	26,9 ± 2,5	26,6 ± 2,7	NS
PUFA	41,7 ± 3,2	42,4 ± 3,0	NS
n-6	38,8 ± 3,5	37,4 ± 3,9	NS
n-3	2,9 ± 1,4	4,9 ± 3,0	NS
n-6/n-3	17,5 ± 9,8	11,1 ± 7,1	NS
n-3 INDEX	2,4 ± 1,2	3,2 ± 1,5	NS

*NS Sin diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$).



Ácidos grasos

El músculo presenta una composición en sus AG distinta a los eritrocitos. La fracción de MUFA es mayor que la SFA y la de PUFA en el músculo, mientras que la de SFA es más elevada que la de mufa y PUFA en los eritrocitos, según vemos en la tabla 14. Los AG omega-6 son más elevados que los omega-3, tanto en el músculo como en los eritrocitos. Los AG omega-3 y el omega-3 INDEX son 2,2 y 3,2 veces mayores en los eritrocitos que en el músculo, respectivamente, pero el omega-6/omega-3 ratio es 2.7 veces mayor en el músculo que en los eritrocitos. MUFA, PUFA, y los A G omega-6 de los eritrocitos están positivamente correlacionados con sus respectivos AG en el músculo, pero no así, los SFA ni los AG omega-3.

Tabla 14. Contenido de AG en músculo y eritrocitos

n=11	MÚSCULO	ERITROCITOS	C.Pearson
	Promedio ± DS		r
SFA (%)	32.8 ± 3.0	52.1 ± 5.0*	-0.218
MUFA (%)	39.0 ± 6.6	21.0 ± 2.7 *	0.661†
PUFA (%)	28.2 ± 6.6	26.9 ± 7.3	0.617†
Omega-6 (%)	26.0 ± 6.0	22.0 ± 5.6	0.639†
Omega-3 (%)	2.16 ± 0.7	4.83 ± 2.0 *	0.213
Omega-6/Omega-3	13.3 ± 5.6	4.97 ± 1.3 *	-0.237
Omega-3 Index	1.11 ± 0.6	3.53 ± 1.5 *	-0.014

PPearson= Coeficiente de Pearson. (†) significativas $p < 0.05$

En el gráfico 2 podemos ver la representación gráfica de la distribución individual de los AG de cada grupo, en músculo y eritrocitos. En esta podemos deducir que los AG de los eritrocitos que correlacionan positivamente con sus respectivos en el músculo son C16:1n7 como MUFA, C18:2n6, C20:4n6 y C22:4n6 como PUFA y omega-6. Ningún SFA de los eritrocitos correlaciona con sus respectivos en el músculo (tabla15).

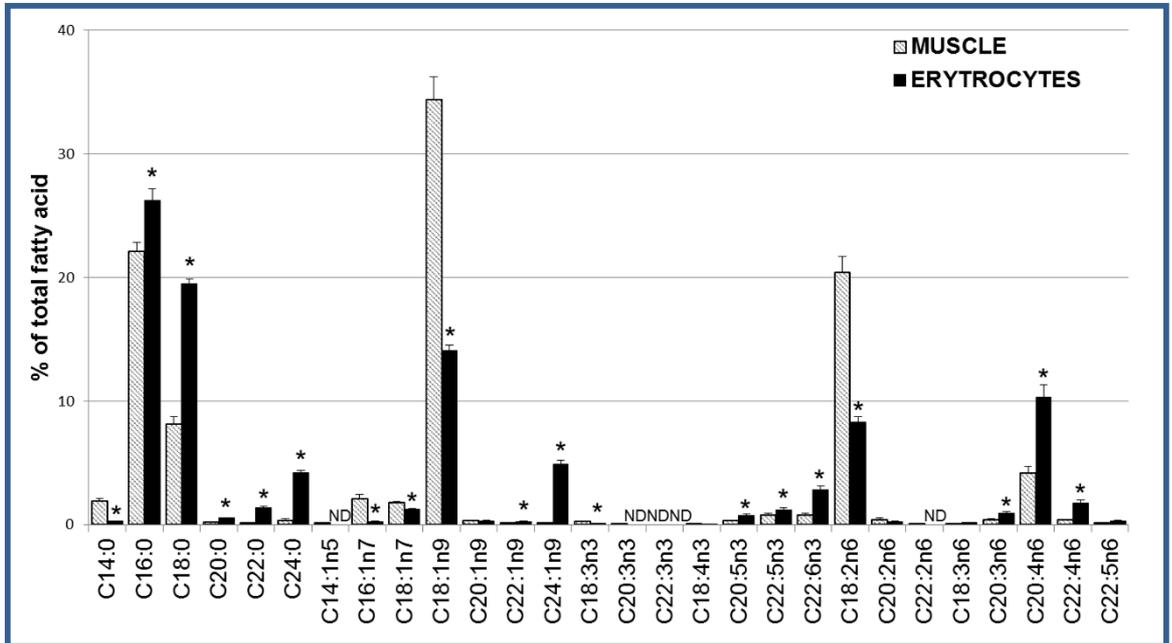


Gráfico 2. ND= No se detecta diferencias. Análisis estadístico: Student t-test para variables no pareadas. (*) Diferencias significativas entre músculo y eritrocitos $p < 0.05$.

Tabla 15. Correlación entre los AG del músculo y los eritrocitos

Ácidos grasos	Pearson	Ácidos grasos	Pearson
C14:0	0.364	C20:3n3	-
C16:0	0.296	C22:3n3	-
C18:0	-0.301	C18:4n3	-0.107
C20:0	-0.098	C20:5n3	-0.036
C22:0	0.248	C22:5n3	0.076
C24:0	-0.178	C22:6n3	-0.025
C14:1n5	-	C18:2n6	0.759 ^{††}
C16:1n7	0.782 ^{††}	C20:2n6	-0.246
C18:1n7	-0.593	C22:2n6	-
C18:1n9	0.585	C18:3n6	-0.336
C20:1n9	0.107	C20:3n6	0.347
C22:1n9	-0.042	C20:4n6	0.698 [†]
C24:1n9	-0.135	C22:4n6	0.657 [†]
C18:3n3	-0.445	C22:5n6	0.508

Pearson= Coeficiente de Pearson. (†) significativas $p < 0.05$.

Pearson= Coeficiente de Pearson. (††) significativas $p < 0.01$.

8.4. ADAPTACIÓN FISIOLÓGICA AL EJERCICIO EN RC

En la prueba de esfuerzo máxima realizada en cinta ergométrica permite individualizar las velocidades de trabajo para diseñar las pruebas de eficiencia energética. La caracterización del grupo ofrece unos valores promedio de peso $80,8 \pm 7,3$ (kg), de consumo máximo de oxígeno ($VO_2\text{max}$) de 3.832 ± 562 (mL/min), de este valor en relación al peso o $VO_2\text{max/kg}$ de $47,6 \pm 7,2$ (mL/kg/min) y una velocidad máxima (V_{max}) de $14,6 \pm 1,4$ (km/h).

Una vez calculadas las intensidades individualizadas de trabajo para la prueba de eficiencia energética y llevadas a cabo las dos valoraciones antes y después de la RC, evaluamos mediante calorimetría indirecta los parámetros fisiológicos que se representan en las tablas 16-1 y 16-2.

La RC redujo la frecuencia cardiaca de los sujetos al realizar el mismo ejercicio con la misma duración y el mismo nivel de potencia. Del mismo modo, el gasto de energía para correr al 50% ,60% y 70% de su PAM de rendimiento y corriendo en su umbral anaeróbico fue menor después de la RC (10% ~ en referencia al gasto energético respectivo a cada intensidad de carga del mismo ejercicio antes de la intervención dietética.

El VO_2 (mL/min) es significativamente inferior en todas las velocidades practicadas en la segunda valoración, lo que indica un menor consumo por cada una de las intensidades de trabajo Cuando se expresa en valores relativos al peso del sujeto, como el VO_2/kg (mL/min/kg), considerando incluso que el peso es sustancialmente inferior en la segunda prueba por efecto de la dieta de RC.

La FC (lat/min) es significativamente más baja en el trabajo al 60% y en el umbral, lo que indica una mejor tolerancia a las cargas de trabajo en estos 2 niveles intermedios y se mantiene en los niveles más livianos. El cociente respiratorio (RQ), que indica la relación entre la producción de anhídrido carbónico y el consumo de oxígenos (VCO_2/VO_2) expresa una cierta significación estadística en las intensidades correspondientes al 50% y 70%, pero manifiesta una tendencia a la baja en todos los niveles. Sin embargo, el consumo de grasa no se modifica en esas intensidades sino sólo en la intensidad más ligera, y cuya significación podría interpretarse como una mejor o más rápida respuesta del metabolismo oxidativo aeróbico de las grasas.

El parámetro metabólico que orienta la implicación anaeróbica de los hidratos de carbono, es la lactatemia. El comportamiento del lactato en sangre es quizás el parámetro más significativo, se mantiene en todo el trabajo por debajo de los parámetros obtenidos en la primera prueba.

Tabla 16-1 Test de eficiencia energética: parámetros de rendimiento

n=18	Pre-RC	Post-RC	P
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	
Reposo			
Peso (kg)	80,9 ± 7,6	75,8 ± 7,7	0,000 *
VO ₂ (mL/min)	408 ± 71	411 ± 78	0,908
VO ₂ (mL/ min/kg)	5,04 ± 0,78	5,41 ± 0,84	0,229
FC (l/min)	79 ± 11	79 ± 18	0,869
VE (L/min)	12,6 ± 2,1	12,1 ± 1,8	0,213
50% VO₂max			
VO ₂ (mL/min)	2.422 ± 294	2.157 ± 348	0,001 *
VO ₂ /kg (mL/kg/min)	30,3 ± 4,4	28,6 ± 4,9	0,074
VCO ₂ (mL/ min)	2.181 ± 324	1.838 ± 385	0,000 *
RQ (VCO ₂ /VO ₂)	0,90 ± 0,08	0,85 ± 0,11	0,009 *
C Grasas (g/min)	402 ± 346	533 ± 399	0,041 *
VE (L/min)	54,1 ± 7,6	46,8 ± 7,7	0,000 *
O ₂ /V (mLO ₂ /km)	314 ± 35	279 ± 41	0,001 *
FC (l/min)	135 ± 18	129 ± 21	0,076
LAC (mmol/L)	2,2 ± 0,9	1,8 ± 0,6	0,001 *
BORG	8,6 ± 1,8	8,1 ± 1,5	0,046 *
60% VO₂max			
VO ₂ (mL/min)	2.794 ± 350	2.512 ± 308	0,000 *
VO ₂ /kg (mL/kg/min)	34,9 ± 5,1	33,4 ± 4,8	0,086
VCO ₂ (mL/ min)	2.654 ± 400	2.295 ± 427	0,000 *
RQ (VCO ₂ /VO ₂)	0,94 ± 0,06	0,91 ± 0,10	0,058
C Grasas (g/min)	232 ± 315	364 ± 434	0,121
VE (L/min)	65,8 ± 10,8	57,8 ± 8,5	0,000 *
O ₂ /V (mL O ₂ /km)	306 ± 36	266 ± 32	0,001 *
FC (l/min)	150 ± 17	143 ± 19	0,002 *
LAC (mmol/L)	2,9 ± 1,9	2,3 ± 1,3	0,009 *
BORG	11,0 ± 1,7	10,0 ± 1,7	0,007 *

*Diferencias significativas respecto a los valores c1 y c2 (p<0,05).

VO₂ (mL/min)= consumo de oxígeno. VO₂/kg (mL/kg/min)= consume de oxígeno por kg por minuto. VCO₂ (mL/ min)= volumen de carbónico. RQ O RER (VCO₂/VO₂) = cociente respiratorio o "respiratory exchange ratio". C grasas (g/min)= consumo de grasas. VE (L/min)= ventilación. O₂/V (mL O₂/km)= eficiencia mecánica. FC (lat/min)= frecuencia cardiaca. LAC (mmol/l)= lactato sanguíneo. Borg = escala de fatiga.

Tabla 16-2 Test de eficiencia energética: parámetros de rendimiento

n=18	Pre-RC	Post-RC	
	Promedio ± SD	Promedio ± SD	P
70% VO₂max			
VO ₂ (mL/min)	3.167 ± 391	2.842 ± 380	0,000 *
VO ₂ /kg (mL/kg/min)	39,5 ± 5,6	37,8 ± 5,8	0,019 *
VCO ₂ (mL/ min)	3.127 ± 488	2.646 ± 439	0,000 *
RQ (VCO ₂ /VO ₂)	0,98 ± 0,08	0,93 ± 0,09	0,003 *
C Grasas (g/min)	No valorable	No valorable	
VE (L/min)	81,1 ± 15,6	67,5 ± 8,9	0,000 *
O ₂ /V (mLO ₂ /km)	301 ± 32	262 ± 29	0,000 *
FC (l/min)	162 ± 16	154 ± 18	0,009 *
LAC (mmol/L)	4,3 ± 3,1	3,1 ± 1,9	0,005 *
BORG	12,6 ± 1,0	11,8 ± 1,8	0,018 *
Umbral			
VO ₂ (mL/min)	3.501 ± 310	3.164 ± 234	0,003 *
VO ₂ /kg (mL/kg/min)	43,7 ± 5,2	41,7 ± 3,1	0,171
VCO ₂ (mL/ min)	3.494 ± 382	2.996 ± 285	0,002 *
RQ (VCO ₂ /VO ₂)	0,99 ± 0,08	0,94 ± 0,08	0,060
C Grasas (g/min)	No valorable	No valorable	
VE (L/min)	94,4 ± 11	82,6 ± 7,8	0,001 *
O ₂ /V (mLO ₂ /km)	291 ± 18	257 ± 27	0,001 *
FC (l/min)	173 ± 14	163 ± 11	0,029 *
LAC (mmol/L)	5,5 ± 2,7	3,9 ± 1,4	0,026 *
BORG	13,9 ± 1,2	12,68 ± 1,4	0,031 *

*Diferencias significativas respecto a los valores c1 y c2 (p<0,05).

VO₂ (mL/min)= consumo de oxígeno. VO₂/kg (mL/kg/min)= consume de oxígeno por kg por minuto. VCO₂ (mL/ min)= volumen de carbónico. RQ O RER (VCO₂/VO₂) = cociente respiratorio o "respiratory exchange ratio". C grasas (g/min)= consumo de grasas. VE (L/min)= ventilación. O₂/V (mL O₂/km)= eficiencia mecánica. FC (lat/min)= frecuencia cardiaca. LAC (mmol/l)= lactato sanguíneo. Borg = escala de fatiga.

8.5. VARIACIONES EN LA ESTRUCTURA MUSCULAR

8.5.1 Resonancia magnética nuclear

Se practicó la RMN a todos los sujetos en la primera valoración, pero debido a dificultades técnicas y de logística, solo se pudo practicar esta prueba antes y después a 7 sujetos.

Las imágenes obtenidas por RMN nos ilustran sobre las variaciones individuales que pueden llegar a existir, ya entre los individuos, antes de cualquier intervención. En algunos existen verdaderos haces de tejido graso entre las fibras musculares en relación a otros; que no siempre se relaciona con su peso graso total. Seguramente influido por el historial de actividad física, alimentación y los condicionantes genéticos de cada uno. A continuación mostramos algunas imágenes representativas de estas diferencias.

8.5.2 Medición antropométrica de la pierna

Como se indicó en el apartado de metodología, en la pierna D se evaluaron los datos promedio medidos en 7 sujetos por RMN, correspondientes a las medidas de los pliegues anterior, medio y posterior en un corte a nivel del perímetro en la máxima circunferencia de la pierna, tal como se muestra en las imágenes. Se compararon con la valoración de densitometría de toda la extremidad inferior que incluye muslo, piernas y pie. El modelo de medición se muestra en la imagen que se presenta a continuación.



Determinación en un sujeto de la grasa superficial en la pierna.
Eje máximo externo, medial y posterior.

Ambas técnicas detectan diferencias significativas con la RC y se observa una elevada correlación 0,86, entre la suma de las medidas de la pierna en la resonancia respecto al DEXA (tabla 17).

Tabla 17. Relación entre la RMN y el DEXA para la masa grasa de la pierna derecha

Técnica de medición de grasa	Medida	Pre RC	Post RC	Diferencia (%)	Valor de P	r en referencia al valor de DEXA
RMN (mm)	Externa	5,92 ± 2,82	5,22 ± 2,70	12,9 ± 8,0	0,000 *	0,207
	Medial	7,59 ± 3,28	6,73 ± 2,75	10,7 ± 9,7	0,010 *	0,770
	Posterior	10,18 ± 5,14	8,87 ± 4,23	12,2 ± 5,7	0,005 *	0,860
	Suma	23,7 ± 10,7	20,8 ± 9,10	12,9 ± 8,0	0,001 *	0,860
DEXA (kg)		3,61 ± 1,17	3,24 ± 0,94	10,2 ± 2,9	0,001 *	

*n= 7.*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC (p<0,05). El coeficiente de correlación entre la suma de las medias RMN y el valor de grasa de la DXA de 0,860. La correlación de Pearson de la suma de todas las medidas, antes y después de la RC en relación a la masa grasa de toda la extremidad inferior antes y después de la RC es de 0,906.*

8.5.3 Medición antropométrica manual del muslo

De igual manera que se indica en la metodología se presentan en la tabla 15, los valores de las medidas de la masa grasa en el anillo externo o superficial y los valores de la masa total a nivel central, donde se incluye todos los tejidos (hueso, médula ósea, grasa intramuscular, vasos y músculo).

Por los datos expuestos, se obtienen diferencias significativas a nivel del perímetro del muslo, el área total y área periférica en la RNM, y también a nivel de la MLG y la masa grasa en el DEXA, antes y después de la RC. Al relacionar la masa grasa del área periférica con la central de la extremidad inferior en la RC, observamos que se produce una mayor pérdida de grasa de localización periférica que central (tabla 15).

Se encontraron diferencias significativas a nivel del perímetro del muslo, el área total y área periférica en la RNM y también a nivel de la MLG y la masa grasa en DEXA, antes y después de la RC. Al relacionar la masa grasa del área periférica con la central de la extremidad inferior en la RC, observamos que se produce una mayor pérdida de grasa de localización periférica que central (tabla 18).

Tabla 18. Relación entre la grasa del área central y el área periférica.

N=7	Pre RC		Post RC		P
		Promedio ± SD	r	Promedio ± SD	
Perímetro muslo	cm	55,6 (2,9)		53,7 (2,8)	0,003 *
Área TOTAL	cm ²	247 (26)		231 (24)	0,003 *
Área central	cm ²	172 (14)	0,653	168 (13)	0,744
MLG DEXA	kg	10,1 (1,1)		9,6 (1,0)	
Área Periférica	cm ²	75,5 (18,6)	0,812	62,5(18,1)	0,814
Grasa DEXA	kg	3,8 (1,3)		3,4 (1,0)	

*Diferencias significativas respecto a los valores Pre-RC ($p < 0,05$), r es el coeficiente de correlación entre el área central y la periférica medidas en la RMN antes de la RC y después de la RC.

8.5.4 Biopsias musculares

Se consiguió una muestra de tejido muscular para la biopsia en 6 sujetos en la primera convocatoria. Sin embargo, solo 5 cumplieron con la segunda y aunque la muestra es discreta, no existen diferencias significativas en los valores numéricos de los parámetros analizados.

Tabla 19 . Biopsias musculares: fibras musculares

n=5	Pre-RC	Post-RC	P	r
	Promedio ± SD	Promedio ± SD		
Fibras (n)	25, 3 ± 11,0	27,4 ± 4,86	0,524	0,318
MTC A (n ^o /mcm ²)	0,50 ± 0,17	0,39 ± 0,06	0,078	-0,075
Área (*1000)	5,29 ± 0,44	4,67 ± 0,88	0,164	0,385

* Diferencias significativas ($p < 0,05$).

9. DISCUSIÓN

Los dos aspectos más importantes del presente estudio, evaluar la idoneidad de un modelo de dieta para perder peso graso en deportistas y su repercusión positiva en el rendimiento han sido satisfactorios. Ninguno de los 18 sujetos evaluados, mostró ningún malestar en su práctica y la adherencia fue completa. El comentario global respecto a la experiencia es positivo, y el balance de pérdida de peso de 5kg en 6 semanas sin percepción de fatiga, es óptimo. La conclusión que extraemos es que si bien 3 días alternos de RC a la semana, es en ocasiones, exigente y difícil, hacerlo durante 2 días es muy factible. En la actualidad aún alguno de los participantes sigue realizando la RC de forma continuada para controlar el peso de entrenamiento y competición. Todos los sujetos, consideraron el hecho de combinar al día siguiente una dieta correcta, muy facilitador.

9.1. LA DIETA Y SUS IMPLICACIONES NUTRICIONALES

La RC como se ha planteado, alternando 3 días de restricción cercana al 40% con otros de ración calórica habitual, puede ser una estrategia nutricional interesante para todos aquellos sujetos que no sean constantes en el seguimiento de una dieta hipocalórica estándar. Facilita su convivencia con los compromisos sociales y permite ajustar la restricción de modo que se garantice la recuperación en los días de entrenamiento más intenso, que pueden coincidir con el día sin restricción si es preciso.

A efectos de los resultados sobre la reducción de peso, son muy similares a los que persiguen otras dietas con el mismo objetivo. En general se establece en una pérdida de 500-1000g por semana, si se pretende garantizar una cobertura nutricional mínima de micronutrientes. Si observamos los datos obtenidos a partir de los análisis nutricionales, cabe puntualizar que, para mantener esta estrategia nutricional de forma continuada es recomendable suplementar la alimentación con un complejo polivitamínico y mineral con el objeto de prevenir cualquier déficit que repercutiría en el rendimiento deportivo, tanto más cuando no existen IDR para deportistas a este respecto. Esta afirmación, se desprende del resultado de los análisis nutricionales, pues en este estudio y en el periodo estipulado, ninguno de los sujetos voluntarios que participaron, percibió sensación alguna de fatiga o debilidad, ni alteró el ritmo o intensidad de sus entrenamientos. Ni siquiera el aporte de los micronutrientes más comprometidos con el rendimiento como son el hierro, el zinc, el magnesio o las vitaminas del grupo B, se ha visto seriamente perjudicado.

El periodo de restricción es de corta duración como para que un déficit de nutrientes pueda solicitar la reutilización del almacén mineral del hueso, por eso, se asume que el mantenimiento del CMO está de acuerdo con la falta de significación respecto al aporte de calcio y de la vitamina D que incluso aumenta discretamente. Esta

tendencia al incremento de los niveles de vitamina D, podría explicarse por la mejora de las condiciones ambientales y mayor exposición solar que coincidió con el final del proyecto, en pleno verano; pero en cualquier caso la RC en ningún momento condiciona la ingesta de fuentes de vitamina D.

Llama la atención el detalle de la baja ingesta espontánea de fibra que observamos en este grupo, que aun disminuye algo más al reducir la ingesta. Nuestro experimento se realizó aplicando la RC sin modificar la dieta de los individuos, solo dando una pauta con opciones sencillas para la RC, que pretenden salvar dificultades en el caso de que alguno de los sujetos prescindiera de forma voluntaria de algún alimento en su dieta. Pero, si consideramos una prioridad el consejo nutricional, como debiera ser, si se decide trabajar con un modelo de RC como el utilizado, debe prescribirse una dieta equilibrada e individualizada, diseñada para cubrir las necesidades individuales, lo que creemos factible, ajustando la ingesta de fibra alimentaria y los micronutrientes como se ha mencionado.

A partir de este estudio, hemos ajustado la pauta de RC de modo que proponemos una pauta de menús fijos y equilibrados, que garantizan la cobertura nutricional, como puede verse en el anexo 1. Este modelo de dieta o recomendaciones ordenadas y equilibradas se decidió no aplicarlo para el estudio, puesto que hubiera mejorado la dieta de la mayoría de sujetos, pudiendo ser un factor de confusión en la interpretación de los resultados, dado que hubiéramos influido sobre los diferentes parámetros cuyos cambios pretendíamos estudiar.

Las dietas hipocalóricas para perder peso, pueden limitar en exceso el aporte de grasa y condicionar la utilización de sustratos energéticos a nivel del músculo. Se reduce la lipólisis y la oxidación de las grasas durante el ejercicio, y se asocia a una baja concentración de triglicéridos intramusculares (Jeukendrup A 2002, Coyle EF 2001). La dieta en RC consigue mantener un aporte de sustratos energéticos equilibrados.

Los datos correspondientes al hemograma informan de una discreta modificación que se halla dentro del rango de referencia de normalidad y puede considerarse así, sin orientar ningún trastorno del metabolismo del hierro o de neoformación de los eritrocitos. En los parámetros bioquímicos el hecho de que la urea y la creatinina permanezcan estables, confirma que los sujetos toleran de manera adecuada la carga de entrenamiento a pesar de la dieta y la pérdida de peso. Conocemos que la urea podría aumentar en el caso de que las proteínas intervinieran en mayor proporción en el metabolismo aeróbico ante la limitación de los hidratos de carbono, y también que un ascenso de la creatinina, podría relacionarse con un mayor catabolismo proteico, sea por sollicitación mecánica o metabólica (López-Chicharro J 2008).

El metabolismo de los lípidos fue influenciado por la RC, puesto que se produjo un descenso del colesterol y de los triglicéridos, seguramente influido por la pretendida

mayor participación de las grasa en el metabolismo energético, dados los supuestos que se consideraron a partir de los estudios precedentes consultados sobre RC.

Un aspecto interesante que se consultó pero que no fue medido es el seguimiento de la adherencia al estudio, fue el estado de ánimo, que se mantuvo cooperador y positivo, debido a que los resultados eran bastante evidentes. Se consiguió mantener una elevada motivación por alcanzar los objetivos planteados. La sensación general era de mayor vitalidad al hacer ejercicio en este periodo de RC (Roth GS 2005). La respuesta a la escala de Borg apoya este juicio.

9.2. VALORACIÓN DE LA PÉRDIDA DE GRASA POR DEXA

En la composición corporal evaluada con DEXA comprobamos la disminución de la masa total con una afectación discreta del mal llamado *tejido magro*^(*), que se entiende en densitometría como todo lo que no es mineral de hueso y grasa, es decir, el continente y contenido del resto de células del organismo, vísceras, huesos, sangre, músculos, vasos, nervios y el agua. Es decir, el tejido magro es “lo que no es grasa ni mineral”.

Se pierde un volumen de grasa nada despreciable y en buena parte de la zona abdominal, de predominio androide más que ginoide, en relación al tronco. Es interesante considerar que una amplia gama de alteraciones metabólicas en suero desfavorables se asocian con obesidad abdominal, resistencia a la insulina e inflamación moderada (Bogal LH 2016).

La supuesta mejora de la tolerancia a la insulina y el aumento de la oxidación de las grasas se observa con cierta celeridad en la aplicación de este modelo de dietas cuando se asocia a ejercicio, tal como se orienta en la prevención del riesgo cardiovascular en pacientes obesos, dislipémicos o diabéticos (Racette SB 2006, Weis EP 2006). Aspecto que se apoya con nuestros resultados al detectar esta mayor pérdida de grasa de localización abdominal, y nos lleva a considerar la RC como una dieta adecuada para los sujetos con sobrepeso y factores de morbilidad que siguen programas de actividad física. Hombres y mujeres sedentarios con sobrepeso y con síndrome metabólico confirmado, a los 55 años de edad, consiguen pérdidas de peso corporal después de una RC del 30% durante 12 semanas, que se ve potenciada cuando se introduce, además, la práctica de ejercicio aeróbico moderadamente intenso. El ejercicio conduce a una mayor reducción de la adiposidad central, de la masa de grasa del tronco e incluso colabora en la mejora el consumo máximo de oxígeno (Straznicky NE 2012).

La RC de seis semanas resulta en una discreta pérdida de masa magra, similar a lo que se encuentra en otros ensayos de RC, (Mettler S 2010) para una reducción calórica del 40% durante dos semanas y una ingesta de proteínas de 1 g/kg/día, que

* Del lat. *Macer macri, Flaco o enjuto, con poca o ninguna grosura. Carne magra, es la carne sin grasa o nervios.*

coincide con la practicada en esta investigación. La pérdida de masa corporal magra durante la reducción de peso se considera un efecto negativo que conduce a un rendimiento comprometido (Fogelholm M 1994). Esta pérdida de masa corporal magra durante la RC mediante ayuno parcial intermitente, probablemente podría evitarse aumentando la ingesta de proteínas, que algunos autores proponen alrededor de 2,3 g/kg/día (Mettler S 2010), o complementando la dieta con aminoácidos de cadena ramificada que contribuyen a mantener la masa magra, mientras se promueve la pérdida de masa grasa (Dudgeon WD 2016). Con independencia de cómo se haga, los deportistas deben aspirar a preservar la masa corporal magra durante la reducción de peso (Fogelholm M 1994; Mettle S 2010). De hecho una de las mayores preocupaciones de los deportistas que entrenan grandes volúmenes e intensidades, es preservar el tejido muscular, siendo una práctica habitual en estos casos la suplementación con leucina (Kanda A 2013, Cholewa JM 2017) o con su metabolito hidroximetilbutirato o HMB (Zanchi NE 2011), a los que se les atribuye propiedades anticatabólicas y potenciadoras de la síntesis proteica.

Como venimos comentando, la intervención de RC que hemos conseguido con nuestro grupo de estudio redujo significativamente el peso corporal total, y también a nivel segmentario en tronco, en extremidades superiores e inferiores. Se redujo de forma sustancial la masa grasa corporal, pero también se observó una menor pero significativa reducción en la masa corporal magra, que como decíamos también incluye al agua. En ese sentido, sabemos que la RC severa da lugar a una reducción elevada de la masa corporal que parece estar bien explicada por una reducción rápida en el contenido de agua corporal (Consolazio CF et al. 1968), como ocurre en muchos de los regímenes restrictivos usados de forma tradicional en muchos deportes de categoría de peso (Drobnic F 2014). En este punto, los datos que ofrece la exploración bioimpedancia parecen indicar que la disminución de agua intracelular es la que puede aducirse a por la disminución de las reservas energéticas ocurridas.

La RC alrededor del 35% a través de ayuno parcial intermitente durante seis semanas condujo a una disminución de 0,7-0,9 kg por semana, que está de acuerdo con otros autores que han observado una pérdida de peso corporal de alrededor de 1 kg por semana con una ingesta energética de aproximadamente 25 Kcal/kg/día (Fogelholm M 1994), y cuyas pérdidas se reflejan igualmente en una disminución similar de grasa corporal y músculo (Consolazio CF 1968).

Al comparar los diferentes métodos utilizados en el estudio y considerar el DEXA como sistema de referencia se confirma una intensa correlación, que nos conduce a validarlos, aún cuando el rango de expresión de valores entre ellos es distinto. En el ámbito de la Medicina del Deporte no siempre existe la disponibilidad de acceder a una valoración con DEXA, y lo más habitual es recurrir a las técnicas antropométricas; cuyas ecuaciones ofrecen la ventaja de estimar unos valores para el peso y porcentaje de cuatro compartimentos, grasa, muscular, óseo y residual, lo que facilita la interpretación de los cambios inducidos por el entrenamiento o la dieta.

La elevada correlación que encontramos entre DEXA y antropometría apoya su sensibilidad para el seguimiento de deportistas. En el gráfico 1, donde se marca la línea de identidad con el patrón de referencia, la DEXA se observa que los datos de bioimpedancia, a pesar de ser de distribución más variable están más cerca de ella. Este dato nos lleva a pensar que la bioimpedancia puede proporcionar una medida más global y cercana al peso total de los sujetos explorados. También observamos que el error muestra una tendencia a aumentar siguiendo al incremento del peso graso. Sin duda debido a una mayor dificultad en las técnicas antropométricas por plicometría en los pesos más altos. Por último encontramos una distribución simétrica, que confirma la sensibilidad de los métodos que comparamos para medir un mismo fenómeno. Esta correlación, elevada y aceptable, se mantiene también al relacionar el DEXA con el sumatorio de pliegues en algunos deportes, utilizado como la referencia más sensible, observando que siempre será más riguroso trabajar con el mayor número de ellos. Lo que confirma que puede ser una herramienta sencilla y sensible a los cambios de peso graso en deportistas (tabla 7-1).

9.3. VALORACIÓN DE LA PÉRDIDA DE GRASA MEDIANTE BIA

La bioimpedancia, se ha introducido en el seguimiento de la composición corporal de los deportistas con gran aceptación por su inocuidad y su rápida y sencilla administración (Marra M 2016, Esco MR 2015). En la actualidad disponemos de estudios comparativos con DEXA y técnicas antropométricas que aportan resultados controvertidos respecto a su rigor (Kreitzman SN 1992). Es posible que sea debido a que su medición se ve afectada de forma sensible por los cambios de agua corporal y la variación de la temperatura interna durante el día- Por eso, cuando se mide la composición corporal mediante bioimpedancia es relevante seguir un riguroso protocolo respecto a las condiciones previas de reposo, temperatura estable y relación prandial y de ingesta hídrica, que puedan alterar la estimación. Nosotros encontramos una disminución del peso graso y no graso sin afectación del tejido muscular. Detectamos una disminución del agua corporal con mayor afectación intracelular respecto a la extracelular, que podría explicarse por un descenso de las reservas energéticas de glucógeno a nivel muscular, a consecuencia del menor aporte de hidratos de carbono en la dieta. Si consideramos que el glucógeno se almacena en el músculo en su forma hidratada, conteniendo de 3 a 4 partes de agua por cada molécula, influirá de forma decisiva en los cambios de peso, cuando se llevan a cabo estrategias nutricionales (Pérez Guisado J 2008).

9.4. VALORACIÓN DE LA PÉRDIDA DE GRASA POR RMN

Las nuevas aplicaciones de los diversos métodos de composición corporal, incluyendo modalidades de imagen in vivo, técnicas de espectroscopia de resonancia magnética y medición directa de tejido extraído, han avanzado en la comprensión de

muchas cuestiones relacionadas con la salud incluyendo obesidad, diabetes mellitus tipo 2, debilidad muscular progresiva en el envejecimiento y la lipodistrofia (Damon BM 2016). En particular ha recibido mayor atención la acumulación de lípidos dentro del músculo y el hígado debido a su asociación con la desregulación metabólica o la función muscular deteriorada (Di Sebastiano KM 2012). La posibilidad de utilizar esos métodos en las mediciones realizadas no ha sido factible debido a las limitaciones de la imagen matriz que disponíamos, de cuya extracción a formato DICOM se ofrece una resolución que en el momento actual no ha sido posible evaluar.

La RMN es una medición directa y muy útil cuando interesa valorar la composición de áreas determinadas, por ejemplo, en secciones concretas como las extremidades, el abdomen o el tronco, en el curso de la rehabilitación de lesiones o entrenamientos específicos (Gerard EL 1991, Strojnik V 1995). Las imágenes revelan la disposición de considerables fascículos de grasa entre las fibras musculares, con una importante variabilidad inter sujetos, y así mismo, expresan con rigor las modificaciones de los cambios de grasa a cualquier nivel de corte. En este estudio no se ha podido evaluar por defectos de resolución la composición grasa intra fascículos. Como se ha comentado previamente, no ha sido posible utilizar el software diseñado para ese cometido, por lo que la compañía que lo gestiona ha ofrecido la valoración manual que muestra unos resultados similares a los determinados de forma indirecta. En ambos casos se observa una reducción del panículo adiposo subdérmico con una correlación ajustada a la ofrecida por la densitometría. Lo cierto es que la RMN no es el método más práctico para determinar la pérdida de grasa, pero si es útil de forma puntual, según la metodología realizada, para medir la modificación del área central y periférica, asumiendo la ganancia o pérdida en función del proceso evaluado. La experiencia y los resultados son muy interesantes y abren un camino de investigación para relacionar la RMN con otros métodos y con el peso graso total.

Es interesante observar la gran correlación que existe entre la medición de la grasa subdérmica de la pierna medida como la suma de las tres localizaciones a nivel de la pierna, y los valores de grasa total de la misma, 0,906. Es cierto que la práctica de la RMN con ese fin no es una indicación práctica, pero este dato permite orientar la posibilidad de que esas medidas se puedan realizar de manera ambulatoria, fácil y cómoda mediante ecografía. Un estudio que correlacione la medida de ese panículo adiposo y la grasa total o segmentaria sin duda sería muy útil en el seguimiento de dietas o procesos que la modifiquen y trasladen esas modificaciones al almacén de lípidos en el deportista, tal como se valora en algunos otros procesos (Seabolt LA 2015, Sergi G 2015).

9.5. RENDIMIENTO AERÓBICO Y EFICIENCIA ENERGÉTICA

Los efectos de la RC sobre el rendimiento aeróbico y concretamente sobre la eficiencia energética, es decir, la capacidad de realizar una misma carga de trabajo

con menor gasto energético, observado en la prueba de esfuerzo, refleja que el componente aeróbico para cargas por debajo de umbral se halla beneficiado. Es cierto que buena parte puede deberse a la variación de peso, pero el modelo de eficiencia, en función de ese peso disminuido en cada sujeto, indica que existe algo más que colabora en facilitar este proceso. Quizás las modificaciones funcionales iniciales a nivel de la cadena respiratoria de la mitocondria y su plasticidad a corto plazo (Fontán-Lozano A 2008) pueden tener su implicación (Hancock CR 2011).

La evidencia de que el acumulo de lactato en sangre sea inferior en los niveles del 70% y umbral sobre todo, cuando ya es esperable la implicación de la vía anaeróbica, apoya esta hipótesis. Tanto más, cuando los sujetos no han incorporado en su entrenamiento ningún contenido que justifique una mejora la resistencia aeróbica. El descenso en la producción de lactato tan persistente a lo largo de la prueba de eficiencia se corresponde a una menor participación de la vía glucolítica anaeróbica, bien sea por una mejora del metabolismo lipídico, bien debido a la mejora de la actividad mitocondrial o a la mejora de la eficiencia energética por la disminución del peso corporal. Aunque, en el nivel de trabajo al 50% con unos requerimientos discretos, parece más acertado pensar en una adaptación metabólica más que en una eficiencia energético-mecánica, con mayor dependencia en el cambio de peso.

La VE (l/min) apoya todas estas reflexiones, puesto que considerando los comentarios anteriores, una mayor eficiencia metabólica tendrá una menor exigencia sobre el incremento de la ventilación para compensar las necesidades de oxígeno.

La reducción del peso corporal es una meta para muchos deportistas (Fogelholm M1994). Las pérdidas drásticas o graduales son utilizadas por los deportistas con efectos diferentes sobre su rendimiento pues la capacidad de resistencia aeróbica disminuye después de una rápida reducción de peso. Las restricciones severas cercanas al 67-90% de las necesidades energéticas y la deshidratación durante 48h reducen considerablemente la capacidad de rendimiento en temperaturas elevadas en relación a una ingesta adecuada (James LJ 2015) y, como se ha evaluado, también causan perjuicio sobre una sesión de 30 minutos de carrera en cinta en condiciones ambientales normoambientales (Oliver SJ 2007), pudiendo afectar a la salud, al rendimiento y al metabolismo energético, junto a la percepción de fatiga y al control postural dinámico (Jlid MC 2013). Todos estos supuestos apoyan nuevamente la estrategia ofrecida que nos ocupa.

La información subjetiva que nos aporta la escala de Borg discrimina claramente un mayor confort y menor fatiga en la segunda experiencia.

Se ha demostrado que el consumo máximo de oxígeno aumenta después de una reducción del peso corporal (Fogelholm M 1994); En este sentido, hemos detectado una mejora en los marcadores de rendimiento físico, como la frecuencia cardíaca, los niveles de lactato y la percepción de fatiga (índice de Borg), que no dependen de

forma exclusiva de los cambios en la masa corporal total. Estudios previos con dietas bien equilibradas a nivel de ingesta calórica o incluso después de la suplementación con bebidas funcionales durante un mes no evidencian efectos de estos hábitos nutricionales sobre los parámetros de rendimiento físico como es en los niveles de lactato ante un mismo esfuerzo (Capó X 2016). Además, se observa una disminución de la masa corporal magra como consecuencia de la RC. Sin embargo, esta disminución no implica deterioro en los parámetros de rendimiento físico. Este hecho podría indicar que los deportistas deben tener una masa corporal magra ideal para tener un rendimiento físico óptimo. En consecuencia, y como ya se conoce en el mundo del deporte de alto nivel, una mayor masa muscular no indica necesariamente un mejor rendimiento físico. Además, se detectaron varios cambios en el gasto energético y en la eficiencia energética como consecuencia de la RC, que podría explicarse teniendo en cuenta que la RC podría causar una mayor eficacia de las mitocondrias (López-Lluch G 2006).

Los resultados obtenidos en este estudio podrían tener un impacto en el rendimiento aeróbico ya que el umbral anaeróbico se produce más tarde, lo que retrasa la fatiga y también mejoraría el tiempo de recuperación en actividades intensas y breves.

Además, la RC mejora el uso de la grasa como combustible para obtener energía durante el ejercicio, cuando este se valora de forma indirecta con fórmulas estquiométricas. La razón es que la RC podría aumentar la oxidación intracelular de triacilglicerol durante el ejercicio, incluso en presencia de glucógeno muscular normal, carbohidratos co-ingерidos e insulina elevada, como ocurre después de la suplementación dietética con cuerpos cetónicos (Egan B 2016), que es lo que ocurre durante el ayuno, o después de consumir dietas bajas en carbohidratos (Hulston CJ 2010). Esta mayor eficiencia energética y el uso de grasa como combustible también se evidencia en el periodo a adaptación a dietas bajas en carbohidratos, altas en grasas (Webster CC 2016), dietas bajas en carbohidratos (Morton JP 2009, Van Proeyen K 2011, Impey SG 2016), dietas cetogénicas (Egan B 2016), y como resultado del entrenamiento, debido a que los deportistas entrenados tienen un uso más eficiente de la energía y un aumento de la utilización de las grasas que los no entrenados. La restricción calórica se asocia con una mejor aptitud física en roedores (Minor RK 2008). Los ratones bajo una exposición a RC tienen habilidades físicas superiores requeridas para superar o evitar riesgos para la vida que los ratones alimentados ad libitum (Ishihara H 2005). La RC mejora el rendimiento físico, de manera similar a lo que se observa después de dietas bajas en carbohidratos, dietas ricas en grasas y dietas cetogénicas (Cochran AJ 2015, Marquet LA 2016).

Los beneficios inducidos por la restricción calórica en la eficiencia energética podrían atribuirse a la pérdida de peso de los participantes (5,9%) durante la intervención nutricional; ya que mover un peso corporal más bajo implica una menor necesidad de energía. Sin embargo, el consumo de oxígeno para llevar a cabo 5 minutos de carrera al 50%, 60%, 70% o el umbral de la velocidad máxima disminuye alrededor

del 10% después de la intervención de restricción calórica. Otros factores influirían en los parámetros de la prueba de eficiencia energética, tales como las modificaciones funcionales de la cadena respiratoria mitocondrial (Civitarese AE 2007, Fontán-Lozano A 2008, Hancock CR 2011); la competencia de combustible en la respiración oxidativa en favor del uso de grasa (Egan B 2016), o un sustrato energético más denso que el carbohidrato o la proteína. En roedores, la restricción calórica induce la biogénesis mitocondrial y la eficiencia energética (Lopez-LLuch G 2006, Lambert 2004); disminuye (Lopez-LLuch 2006), o no afecta el consumo de oxígeno mitocondrial (Lambert AJ 2004), reduce el potencial de membrana de las mitocondrias y genera menos radicales libres, mientras que las mitocondrias son capaces de mantener su producción crítica de ATP (Lopez-LLuch G 2006).

Se puede añadir en referencia a los nuevos sistemas de entrenamiento que proponen entrenar en ayunas o con baja disponibilidad de hidratos de carbono (Hulston CJ 2010), para entrenar el metabolismo de las grasas, que la RC podría considerarse un factor adicional para conseguir estos resultados.

9.6. IMPLICACIÓN EN OTROS PROCESOS DE ADAPTACIÓN METABÓLICA: PATRÓN OXIDATIVO E INFLAMATORIO

La reducción del gasto energético se argumenta como adyuvante en el proceso de alargar la vida disminuyendo las moléculas de oxígeno que interactúan con las mitocondrias, y en consecuencia reduciendo la producción de radicales libres (ROS) (Ramsey JJ 2000). Los ROS (especies reactivas de oxígeno) se forman por transferencia de un solo electrón a moléculas generadoras de oxígeno tales como superóxido de anión, peróxido de hidrógeno y radical hidroxilo que pueden reaccionar con lípidos, proteínas y ADN, dando lugar a daño por estrés oxidativo (Nicholls DG 2004). La baja masa mitocondrial contribuye al aumento de la "carga de trabajo" mitocondrial que conduce a un mayor potencial de membrana y a una mayor producción de ROS (Nisoli E 2005, Lambert 2004, Nicholls DG). La RC aumenta la masa mitocondrial y disminuye las pérdidas de protones y el daño por estrés oxidativo (Civitarese AE 2007, Ramsey JJ 2000, Sohal RS 1994).

Nuestros resultados muestran el mantenimiento de marcadores de daño oxidativo de lípidos y proteínas después del ejercicio realizado por los participantes antes y después de la RC y esto no es un efecto de un sistema antioxidante mejorado. Al menos no nos ha sido posible observarlo en un periodo de exposición a RC de tan corta duración, incluso con el apoyo del ejercicio. Un estudio reciente realizado en varones adolescentes obesos, muestra que 4 semanas de entrenamiento y RC conducen a una pérdida de peso con aumento de las actividades enzimáticas (SOD y glutatión peroxidasa) y una disminución de las proteínas-carbonilos (Li C 2017). En nuestro caso, la falta de aumento de los marcadores de daño oxidativo no pudo explicarse por el aumento de la masa mitocondrial porque no hubo diferencias,

aunque hay que tener en cuenta que los marcadores sólo se midieron en plasma, no en el músculo, ni en orina (Córdova A 2015b). Además, la prueba de esfuerzo realizada se puede argumentar que no fue lo suficiente intensa o suficientemente larga para poner a prueba esos mecanismos estresantes y compensadores. En este sentido otro aspecto que puede intervenir, es que los deportistas explorados, dispongan de una respuesta antioxidante activa y bien adaptada, y respondan en la medida que el proceso lo solicita, y un esfuerzo, no excesivo, no pone a prueba el sistema, tal como se ha comentado Podemos interpretarlo también de forma positiva considerando que las variaciones en el estado nutricional y las reservas energéticas no han situado a los sujetos en un nivel de mayor fragilidad a nivel de estrés oxidativo.

La literatura científica otorga un interesante papel a la combinación de ejercicio físico y RC en la reducción de los parámetros inflamatorios. Cambios significativos en IL-6 y leptina se observan después de 4 meses de RC y ejercicio (Reed JL 2010) y tras dos meses en la IGF-1 y IGFBP-3 (Ben O 2010). Es difícil asumir que un periodo de exposición de tan corta duración establezca cambios importantes en la respuesta inflamatoria.

Desde el punto de vista de la respuesta del patrón inflamatorio, se observa un efecto potenciador de la expresión de la Sirt-3 en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) atribuible a la realización del ejercicio máximo que no se aprecia antes de la restricción calórica. La explicación de este hecho no es sencilla, y no puede elaborarse desde este estudio, pero la literatura científica relaciona ciertas modificaciones en la dieta con la expresión de las sirtuinas (Draznin B 2012), así como lo hace con otros factores relacionados con la protección celular, su apoptosis y senescencia (Drobnic 2013, Parrado-Fernandez C 2011). La expresión de Sirt-3 en linfocitos se ha hecho evidente recientemente y se relaciona como parte de la respuesta antioxidante que se induce como consecuencia de un ejercicio intenso (Ferrer MD 2009). En este sentido, tras la restricción calórica la respuesta al ejercicio sería la de inducir una mayor respuesta antioxidante en PBMCs manifestada por un incremento de la expresión de la Sirt-3. Se propone como muy interesante estudiar en el futuro esta respuesta después en un periodo más largo de intervención, y asociada a un ejercicio de mayor intensidad o solicitud, y quizás con otros estresantes como por ejemplo calor o humedad elevada (Jeukendrup A 2003).

Podría dar luz a los interrogantes metabólicos los datos provenientes de las biopsias musculares. Sin embargo, en nuestra discreta muestra de 5 sujetos, no se evidencia que aumente en absoluto la densidad mitocondrial. Otros estudios de RC que así lo verifican en humanos haciendo además ejercicio utilizaron periodos de 6 meses, y superiores si la actividad física no estaba incluida. Periodo de exposición largo y, sin duda, más adecuado a la modificación estructural del patrón mitocondrial. Por tanto este resultado no sorprende, inicialmente. De todas formas, sería muy conveniente plantear de nuevo el experimento a este nivel y determinar los niveles de miosina de

cadena pesadas, por ej. Dado que sabemos que existe una correlación directa entre el tipo de cadenas pesadas de miosina, la densidad mitocondrial, las enzimas aerobias (especialmente COX) y la densidad capilar en los músculos en análisis transversales (Seene T 2011, Pansara O 2002).

9.7. COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS

El período de RC reduce la disponibilidad de ácidos grasos de la dieta pero no altera la composición de los AG del plasma, incluyendo SFA, MUFA y PUFA. Las personas con sobrepeso y obesas altamente sensibles a la restricción calórica tienen una reducción acelerada de la adiposidad debido a una mayor movilización y combustión de lípidos (Piccolo BD 2015). El ejercicio agudo aumenta los AG monoinsaturados en plasma (Martorell M 2014a, Nikolaidis MG 2004) debido a la estimulación de la lipólisis para facilitar la disponibilidad de AG al músculo que se contrae (Frayn KN 2010). Se observa un patrón diferente en los ácidos grasos y triglicéridos, mostrando una limitación en la participación de los triglicéridos en los requerimientos energéticos del ejercicio (Martorell M 2014b). La realización de actividad física ligera o moderada diaria es beneficiosa en términos de reducción de peso total y tejido adiposo logrados por intervenciones de RC (Piccolo BD 2015, Fock KM 2013). En nuestro caso no hemos observado cambios significativos en la composición de AG, pero hay diferentes porcentajes de aporte de energía de glucosa o ácidos grasos, reflejados en el cociente respiratorio en las diferentes intensidades y grupos de ejercicio. La RC produce una mayor capacidad para usar los ácidos grasos como fuente de energía durante el ejercicio, especialmente a una intensidad moderada tal como el 50% de la velocidad máxima. Sin embargo, el aumento del uso de ácidos grasos reflejado en el cociente respiratorio no se observa en los cambios paralelos del perfil de AG en plasma. Aunque ese hecho puede deberse con seguridad a la corta duración de la prueba realizada.

La información disponible sobre la composición de los AG en el músculo esquelético es escasa y hace referencia a una clase específica de lípidos como son los fosfolípidos (Vessby B1980, Zock PL 1997, Martorell M 2014a) o los AG de las membranas musculares (Glatz JF1989). Obtener una muestra de tejido muscular implica un procedimiento invasivo y por ello algunos autores utilizan los AG del eritrocito como una referencia análoga para asesorar la eficacia de algunas estrategias nutricionales para incorporar AG en los tejidos. La bibliografía no es coincidente cuando analiza esta relación en niños, jóvenes o adultos. Los AG del músculo difieren de los del eritrocito, lo que podría explicarse por el distinto origen de los AG o también por su destino metabólico. Los AG en los eritrocitos terminan formando parte de las membranas celulares, mientras que en el músculo a este destino se le añade que forman parte de los depósitos energéticos. Los mecanismos que intervienen en la incorporación de los AG en las membranas celulares o en las reservas, como enunciábamos en la introducción al dar relevancia a nuestro interés

por estos temas, no están claros (Tepsic J 2009), pero parece que las membranas celulares tienen mayor afinidad por los AG insaturados que por los saturados (Martorell M 2015, Egert S 2012). La composición de la fracción lipídica en el músculo esquelético es significativamente más baja en SFA y AG omega-3 y más elevada en MUFA que la composición de todas las fracciones de lípidos en los eritrocitos. De hecho, se han descrito diferencias entre la composición fosfolipídica del músculo y eritrocitos (Di Marino L 2000); el contenido muscular de fosfolípidos tiene mayor proporción de PUFA omega-6 y menor de SFA, MUFA y Omega-3 PUFA que los fosfolípidos de los eritrocitos.

La disponibilidad dietética de diferentes AG y factores de estilo de vida influyen en la incorporación de AG en las membranas musculares y eritrocitarias (Baur LA 1998, Andersson A 2000), pero otros factores, como el ejercicio y la obesidad, también pueden modificar el perfil de AG en diferentes tipos de tejidos (Martorell M 2015, Hodson L 2008, Helge JW 1999, Kamada A 1993, Nikolaidis MG 2004). Varios estudios realizados en ratas mostraron un efecto del ejercicio agudo sobre la composición de los AG de los eritrocitos, que fue influenciada por la condición física, la temperatura corporal y el envejecimiento (Teleglów A 2011, Marini 2011). El ejercicio agudo en hombres en buena condición física podría producir algunos cambios en la composición de los AG de eritrocitos (Martorell M 2015). Edad, género, patrón genético y antecedentes tóxicos como el tabaquismo son factores estudiados en relación con la composición de los AG (Hodson L 2008). Incluso la actividad bacteriana en el intestino puede afectar la composición de los AG (Jones AE 1999).

La tasa de incorporación de AG no es la misma en todas las partes del cuerpo, por ejemplo, fosfatidilcolina plasmática (unos días), músculo esquelético (semanas), células mononucleares (meses) o tejido adiposo (más de 12 meses) (McGlory C 2014, Browning LM 2012).

Un período de RC que reduce la disponibilidad de AG de la dieta podría, muy probablemente, alterar la composición AG tanto de eritrocitos como de músculo. La diferente composición de AG en los eritrocitos y el músculo, con su diferente influencia sobre los factores nutricionales, dificulta el uso de la composición eritrocítica de AG como un buen biomarcador para la composición muscular de AG, como ya se ha señalado (Di Marino L 2000). Sin embargo, la existencia de correlaciones significativas entre MUFA, PUFA y ácidos grasos omega-6 entre eritrocitos y AG musculares después de la restricción calórica y el ejercicio, podría indicar que los cambios en la composición AG de los eritrocitos también reflejan cambios en la composición muscular de AG en estas condiciones. Tanto el ácido palmitoleico (C16: 1) como MUFA, el linoleico (C18: 2), araquidónico (C20: 4n6) o adrenico (C22: 4n6) como PUFA y los AG omega-6 eritrocitarios, están correlacionados de forma positiva con su contenido en el músculo. Los SFA individuales y totales, y el contenido individual de AG omega-3 de los eritrocitos, no se correlaciona con su contenido en el músculo después de la restricción calórica y el

ejercicio. La composición de AG se expresa como % del total, por lo que el valor de cada AG depende del valor de todos los otros AG; Se ha descrito la presencia de correlaciones significativas entre los AG de fosfolípidos musculares y los porcentajes de AG de los eritrocitos para los SFA C16: 0 y para PUFA C18: 2n-6, C 20: 4n-6, C20: 5n-3 y C22: 5n-3 en pacientes masculinos, con edades entre 30 y 55 años, sometidos a cirugía ortopédica de rutina (Felton CV 2004). La falta de correlación entre los SFA y los AG omega-3 entre los eritrocitos y los músculos, muestra el pobre valor predictivo sobre la composición de los AG de las membranas eritrocíticas para reflejar los cambios en la composición de las SFA y la AG omega-3 musculares, en los ensayos con restricción calórica y ejercicio.

En resumen, la composición de SFA y AG omega-3 en los eritrocitos puede no ser un buen biomarcador para la composición muscular, pero el contenido de MUFA, PUFA y AG omega 6 en los eritrocitos, refleja la composición de AG musculares y puede utilizarse como biomarcadores para la composición de AG a este nivel en ensayos con CR y ejercicio. Los eritrocitos y el músculo tienen diferente composición de AG con mayor contenido de C18: 2n6 en el músculo que en los eritrocitos y mayor contenido de C22: 6n3 en los eritrocitos que en el músculo. Los eritrocitos contienen mayores niveles de AG omega-3 y un mayor índice de omega-3 que el músculo, mientras que los AG de eritrocitos son más saturados que en el músculo.

9.8. PROPUESTA Y RECOMENDACIONES

Los cambios en la estructura y el metabolismo muscular, consecuencia de las estrategias nutricionales, son un campo de difícil abordaje y pocas referencias. Su estudio a través de biopsia abre unas posibilidades enormes para confirmar muchos supuestos que referencian parte de la bibliografía consultada, en relación a cómo influye la dieta en la disponibilidad y utilización de los distintos sustratos energéticos.

Por otra parte, los deportistas lesionados se enfrentan al reto de mantener un peso adecuado y evitar perder la masa muscular durante el periodo de rehabilitación. Estudiar las bondades de la RC vs la dieta hipocalórica en esta situación, podría determinar su aplicación en muchos casos.

Algunos deportes exigen biotipos relacionados con un mayor porcentaje de grasa corporal p.ej. lanzadores, waterpolistas que juegan en posición de boya, halterófilos y luchadores de categorías superiores. En estos casos, la RC puede ser una buena opción para descentralizar su tejido adiposo y mantener el peso libre de grasa asociado a parámetros de fuerza muscular.

En cualquier caso, los estudios de investigación sobre estrategias nutricionales que esperen encontrar cambios a nivel mitocondrial, tanto a nivel funcional como estructural, sin duda precisan de un periodo superior al considerado en este estudio, cercano a los seis meses.

Quizás después de todo, la edición de un manual práctico, que ofrezca menús saludables para bajar peso, de acuerdo a la pauta que hemos estudiado, es un objetivo inminente.

10. CONCLUSIONES

1. La Restricción Calórica del 35%, conseguida mediante una pauta de restricción severa de 3 días alternos por semana durante 6 semanas, reduce de forma significativa el peso, la masa corporal grasa y de forma más discreta la masa libre de grasa en el individuo que mantiene una actividad física continuada.
2. La distribución de la pérdida de grasa se expresa con un predominio androide.
3. Los parámetros de rendimiento físico como la concentración de lactato en sangre, el cociente respiratorio y el consumo de grasas, indican una mejora significativa. del gasto energético y de la eficiencia energética.
4. La dieta en restricción calórica disminuye el aporte de grasas en un 34%, el de grasas saturadas en un 37% y el de colesterol en un 33%.
5. La Restricción Calórica reduce los niveles plasmáticos de triglicéridos y colesterol.
6. En el ejercicio de moderada intensidad asociado a Restricción Calórica durante seis semanas, no se modifica la expresión de algunos marcadores de daño oxidativo e inflamatorio.
7. No se ha observado modificación de la densidad mitocondrial, en las fibras musculares, después del periodo de Restricción Calórica asociado a ejercicio.
8. Los eritrocitos y el músculo tienen diferente composición de ácidos grasos. Los eritrocitos contienen mayores concentraciones de ácidos grasos omega-3 y un mayor índice de omega-3 que el músculo, mientras que los AG eritrocitarios son más saturados que los del músculo.
9. La composición de los ácidos grasos saturados y de los omega-3 de los eritrocitos parece no ser un buen biomarcador para la composición de los ácidos grasos a nivel muscular. Sin embargo, la composición de los fosfolípidos, ácidos grasos polinsaturados y los omega-6, sí refleja la composición de ácidos grasos en el músculo y puede referenciar la composición a esos niveles en ensayos con Restricción Calórica y ejercicio.

10. La dieta de Restricción Calórica mantenida a largo plazo precisa un complemento que ofrezca los micronutrientes que garanticen la ingesta diaria recomendada.
11. La Restricción Calórica intermitente y supervisada, es una dieta factible, práctica y útil.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Achten J, Jeukendrup AE. Maximal fat oxidation during exercise in trained men. *Int J Sports Med* 2003; 24(8): 603-8.
2. Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol* 1984; 105: 121-6.
3. Ainsworth BE, Haskell WL, Herrmann SD, Meckes N, Bassett DR Jr, Tudor-Locke C, Greer JL, Vezina J, Whitt-Glover MC, Leon AS. 2011 Compendium of Physical Activities: a second update of codes and MET values. *Med Sci Sports Exerc*. 2011; 43(8): 1575-81.
4. Andersson A, Nälsén C, Tengblad S, Vessby B. Fatty acid composition of skeletal muscle reflects dietary fat composition in humans. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 1222-9.
5. Andersson A, Sjödin A, Hedman A, Olsson R, Vessby B. Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipids in trained and untrained young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279: E744-51.
6. Andersson A, Sjödin A, Hedman A, Olsson R, Vessby B. Fatty acid profile of skeletal muscle phospholipids in trained and untrained young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279: 744-51.
7. Aparicio A, Rodríguez-Rodríguez EE, Aranceta-Bartrina J, Gil Á, González-Gross M, Serra-Majem L, Varela-Moreiras G, Ortega RM. Differences in meal patterns and timing with regard to central obesity in the ANIBES ('Anthropometric data, macronutrients and micronutrients intake, practice of physical activity, socioeconomic data and lifestyles in Spain') Study *Public Health Nutr* 2017; 17: 1-10.
8. Banquells M, Galilea PA, González de Suso JM, Vélez M. Aplicación de medidas antropométricas para la valoración de la hipertrofia muscular. *Apunts de Medicina de L'Esport* 1992; 29: 157-60.
9. Baur LA, O'Connor J, Pan DA, Kriketos AD, Storlien LH. The fatty acid composition of skeletal muscle membrane phospholipid: its relationship with the type of feeding and plasma glucose levels in young children. *Metabolism* 1998; 47: 106-12.
10. Ben Ounis O, Elloumi M, Zouhal H, Makni E, Denguezli M, Amri M, Lac G, Tabka Z. Effect of individualized exercise training combined with diet restriction on inflammatory markers and IGF-1/IGFBP-3 in obese children. *Ann Nutr Meta*. 2010; 56(4): 260-6.
11. Beynen AC, Hermus RJ, Hautvast JG. A mathematical relationship between the fatty acid composition of the diet and that of the adipose tissue in man. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 81-5.
12. Bogl LH, Kaye SM, Rämö JT, Kangas AJ, Soininen P, Hakkarainen A, Lundbom J, Lundbom N, Ortega-Alonso A, Rissanen A, Ala-Korpela M, Kaprio J, Pietiläinen KH. Abdominal obesity and circulating metabolites: A twin study approach *Metabolism* 2016; 65(3): 111-21.
13. Borg G. Psychophysical bases of perceived exertion. *J. Med. Sci. Sports Exercise* 1982; 14 (5): 377-381.
14. Boulier A, Fricker J, Thomasset AL, Apfelbaum M. Fat-free mass estimation by the two-electrode impedance method. *Am J Clin Nutr* 1990; 52(4): 581-5.
15. Boulier A, Thomasset AL, Apfelbaum M. Bioelectrical-impedance measurement of body water. *Am J Clin Nutr* 1992; 55(3): 761-2.
16. Bourke LM, Cox GR. *Combat sports medicine: Nutrition in combat sports*. Kordi-Maffulli-Wroble-Wallace Eds., 2009.
17. Boyum A. Separation of white blood cells. *Nature* 1964; 204: 793-794.
18. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* 1976; 72: 248-54.

19. Browning LM, Walker CG, Mander AP, West AL, Madden J, Gambell JM, et al. Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids into lipid pools when given as supplements providing doses equivalent to typical intakes of oily fish. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: 748-58.
20. Buchfuhrer MJ, Hansen JE, Robinson TE, Sue DY, Wasserman K, Whupp BJ. Optimizing the exercise protocol for cardiopulmonary assessment. *J Appl Physiol* 1983; 55(5): 1558-1564.
21. Cabañas M Esparza F. Compendio de cineantropometría. Editorial CTO, Madrid 2009.
22. Capó X, Martorell M, Busquets-Cortes C, Sureda A, Riera J, Drobnic F, et al. Effects of dietary almond- and olive oil-based docosahexaenoic acid- and vitamin E-enriched beverage supplementation on athletic performance and oxidative stress markers. *Food & function*. 2016; 7: 4920-34.
23. Capó X, Martorell M, Sureda A, Llompарт I, Tur JA, Pons A. Diet supplementation with DHA-enriched food in football players during training season enhances the mitochondrial antioxidant capabilities in blood mononuclear cells. *Eur J Nutr* 2015 Feb; 54(1): 35-49.
24. Capó X, Martorell M, Sureda A, Riera J, Drobnic F, Tur JA, et al. Effects of Almond- and Olive Oil-Based Docosahexaenoic- and Vitamin E-Enriched Beverage Dietary Supplementation on Inflammation Associated to Exercise and Age. *Nutrients*. 2016; 8.
25. Carlson O, Martin B, Stote KS, Golden E, Maudsley S, Najjar SS, Ferrucci L, Ingram DK, Dan Longo L, Rumlpler WV, Baer DJ, Egan J, Mattson MP. Impact of reduced meal frequency without caloric restriction on glucose regulation in healthy, normal-weight middle-aged men and women. *Metabolism* 2007; 56 (12): 1729-34.
26. Cholewa JM, Dardevet D, Lima-Soares F, de Araújo Pessôa K, Oliveira PH, Dos Santos Pinho JR, Nicastro H, Xia Z, Cabido CE, Zanchi NE. Dietary proteins and amino acids in the control of the muscle mass during immobilization and aging: role of the MPS response. *Amino Acids* 2017 May; 49(5): 811-820.
27. Anthony E Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, Hulver MH, Ukropcova B, Deutsch WA, Smith SR, Ravussin E. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *Plos Medicine*. 2007; 4(3): 485-94.
28. Cochran AJ, Myslik F, MacInnis MJ, Percival ME, Bishop D, Tarnopolsky MA, Gibala MJ. Manipulating Carbohydrate Availability Between Twice-Daily Sessions of High-Intensity Interval Training Over 2 Weeks Improves Time-Trial Performance. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism* 2015; 25(5): 463-70.
29. Connor SL, Zhu N, Anderson GJ, Hamill D, Jaffe E, Carlson J, et al. Cheek cell phospholipids in human infants: a marker of docosahexaenoic and arachidonic acids in the diet, plasma, and red blood cells. *Am J Clin Nutr* 2000; 71: 21-7.
30. Consolazio CF, Matoush LO, Johnson HL, Krzywicki H, Isaac GJ, Witt N. Metabolic aspects of calorie restriction: hypohydration effects on body weight and blood parameters. *Am J Clin Nutr* 1968; 21(8): 793-802.
31. Córdova Martínez A. Valoración clínica del deportista por el laboratorio, Ed. Sintesis, 2015.
32. Córdova A, Sureda A, Albina ML, Linares V, Bellés M, Sánchez DJ. Oxidative stress markers after a race in professional cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2015b; 25(2): 171-8.
33. Coyle EF, Jeukendrup AE, Oseto MC, Hodgkinson BJ, Zderic TW. Low-fat diet alters intramuscular substrates and reduces lipolysis and fat oxidation during exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280(3): E391-8.

34. Cuervo M, Abete I, Baladia E, Corbalán M, Manera M, Basulto J, Martínez JA. Federación Española de Sociedades de Nutrición, Alimentación y Dietética (FESNAD). Ingestas dietéticas de referencia para la población española. Ed. EUNSA, 2010.
35. Damon BM, Li K, Bryant ND. Magnetic resonance imaging of skeletal muscle disease. *Handb Clin Neurol* 2016; 136: 827-42.
36. Davis CS, Clarke RE, Coulter SN, Rounsefell KN, Walker RE , Rauch CE, Huggins CE, Ryan L. Intermittent energy restriction and weight loss: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.*2016; 70(3): 292-9.
37. Davis CS, Clarke RE, Coulter SN, Rounsefell KN, Walker RE , Rauch CE, Huggins CE, Ryan L. Intermittent energy restriction and weight loss: a systematic review. *Eur J Clin Nutr.*2016; 70(3): 292-9.
38. Di Marino L, Maffettone A, Cipriano P, Sacco M, Di Palma R, Amato B, et al. Is the erythrocyte membrane fatty acid composition a valid index of skeletal muscle membrane fatty acid composition? *Metabolism-Clinical and Experimental* 2000; 49: 1164-6.
39. Di Sebastiano KM, Mourtzakis M. A critical evaluation of body composition modalities used to assess adipose and skeletal muscle tissue in cancer. *Appl Physiol Nutr Metab* 2012; 37(5): 811-21.
40. Draznin B, Wang C, Adochio R, Leitner JW, Cornier MA. Effect of dietary macronutrient composition on AMPK and SIRT1 expression and activity in human skeletal muscle. *Horm Metab Res* 2012; 44(9): 650-5.
41. Drobnic F, Galobardes A, Til L, Yanguas J, Del Río L, Di Gregorio S, García M, Fernández X. Análisis de la composición corporal mediante DXA en fútbol. Evaluación del sistema y el método. *Proceedings 4º Congreso FEMEDE, Santander 2012. En proceso de publicación.*
42. Drobnic F, Pons V, Pons A. La restricción calórica como modelo de dieta en el deporte de alto nivel competitivo. En *Salud y deporte y cineantropometría*. Sirvent Belando JE y Alvero Cruz JR eds. Universitat d'Alacant. Sant Vicent del Raspeig, 2014: 13-20.
43. Drobnic F. Respiratory chain senescence and its relation to physical activity. *Coll Antropol* 2013; 37 Suppl 2:113-8.
44. Dudgeon WD, Kelley EP, Scheett TP. In a single-blind, matched group design: branched-chain amino acid supplementation and resistance training maintains lean body mass during a caloric restricted diet. *J Int Soc Sports Nutr* 2016; 13: 1.
45. Egan B, D'Agostino DP. Fueling Performance: Ketones Enter the Mix. *Cell metabolism* 2016; 24(3): 373-5.
46. Egert S, Lindenmeier M, Harnack K, Krome K, Erbersdobler HF, Wahrburg U, et al. Margarines fortified with α -linolenic acid, eicosapentaenoic acid, or docosahexaenoic acid alter the fatty acid composition of erythrocytes but do not affect the antioxidant status of healthy adults. *J Nut* 2012; 142: 1638-44.
47. Esco MR, Snarr RL, Leatherwood MD, Chamberlain NA, Redding ML, Flatt AA, Moon JR, Williford HN. Comparison of total and segmental body composition using DXA and multifrequency bioimpedance in collegiate female athletes. *J Strength Cond Res* 2015; 29(4): 918-25.
48. Escobar-Molina R, Rodríguez-Ruiz S, Gutiérrez-García C, Franchini E. Weight loss and psychological-related states in high-level judo athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2015; 25 (2): 110-8.
49. Farrán, A, Zamora, R, Cervera P. Tablas de composición de alimentos CESNID, Edicions de la Universitat de Barcelona, McGraw Hill Interamericana, 2004.

50. Felton CV, Stevenson JC, Godsland IF. Erythrocyte-derived measures of membrane lipid composition in healthy men: associations with arachidonic acid at low to moderate but not high insulin sensitivity. *Metabolism* 2004; 53: 571-7.
51. Fernández Vieitez JA, Aguilera RC. Estimación de la masa muscular por diferentes ecuaciones antropométricas en levantadores de pesas. *Archivos de Medicina del Deporte* 2001; 86: 585-591.
52. Ferrer MD, Tauler P, Sureda A, Tur JA, Pons A. Antioxidant regulatory mechanisms in neutrophils and lymphocytes after intense exercise. *J Sports Sci* 2009 Jan; 1; 27(1): 49-58.
53. Fock KM, Khoo J. Diet and exercise in management of obesity and overweight. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* 2013; 28: 59-63.
54. Folch J, Lees M, Sloane Stanley GH. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of biological chemistry* 1957; 226:497-509.
55. Fogelholm M. (1994). Effects of bodyweight reduction on sports performance. *Sports Med* 1994; 18(4): 249-267.
56. Fontán-Lozano A, López-Lluch G, Delgado-García JM, Navas P, Carrión AM. Molecular bases of caloric restriction regulation of neuronal synaptic plasticity. *Mol Neurobiol* 2008; 38(2): 167-7.
57. Frayn KN. Calculations of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *J Appl Physiol* 1983; 55: 628–634.
58. Frayn KN. Fat as a fuel: emerging understanding of the adipose tissue-skeletal muscle axis. *Acta Physiol (Oxf)* 2010; 199(4): 509-18.
59. Friedlander AL, Braun B, Pollack M, MacDonald JR, Fulco CS, Muza SR, Rock PB, Henderson GC, Horning MA, Brooks GA, Hoffman AR, Cymerman A. Three weeks of caloric restriction alters protein metabolism in normal-weight, young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 289(3): E446-55.
60. Garland M, Sacks FM, Colditz GA, Rimm EB, Sampson LA, Willett WC, et al. The relation between dietary intake and adipose tissue composition of selected fatty acids in US women. *Am J Clin Nutr* 1998, 67: 25-30.
61. Gerard EL, Snow RC, Kennedy DN, Frisch RE, Guimaraes AR, Barbieri RL, Sorensen AG, Egglin TK, Rosen BR. Overall body fat and regional fat distribution in young women: quantification with MR imaging. *Am J Roentgenol* 1991; 157(1): 99-104.
62. Glatz JF, Soffers AE, Katan MB. Fatty acid composition of serum cholesteryl esters and erythrocyte membranes as indicators of linoleic acid intake in man. *Am J Clin Nutr* 1989; 49 (2): 269-76.
63. Guglielmi G, Ponti F, Agostini M, Amadori M, Battista G, Bazzocchi A. The role of DXA in sarcopenia. *Aging Clin Exp Res* 2016; 28(6): 1047-1060.
64. Hancock CR, Han DH, Higashida K, Kim SH, Holloszy JO. Does calorie restriction induce mitochondrial biogenesis? A reevaluation. *FASEB J.* 2011; 25(2): 785-91.
65. Harris WS. The omega-3 index as a risk factor for coronary heart disease. *Am J Clin Nutr* 2008 Jun; 87(6): 1997S-2002S.
66. Harvie M. Could Intermittent Energy Restriction and Intermittent Fasting Reduce Rates of Cancer in Obese, Overweight, and Normal-Weight Subjects? A Summary of Evidence. *Adv. Nutr.* 2016; 7: 690-705.
67. Harvie M. Potential Benefits and Harms of Intermittent Energy Restriction and Intermittent Fasting Amongst Obese, Overweight and Normal Weight Subjects—A Narrative Review of Human and Animal Evidence. *Behav Sci* 2017 Jan; 7(1).

68. Harvie N, Howell T. Potential benefits and harms of intermittent energy restriction and intermittent fasting amongst obese, overweight and normal subjects. A narrative review of human and animal evidence. *Behav. Sci* 2017; 7 (4): 1-22.
69. Helge JW, Wu BJ, Willer M, Daugaard JR, Storlien LH, Kiens B. Training affects muscle phospholipid fatty acid composition in humans. *J Appl Physiol* 2001; 90: 670-7.
70. Hercbergs, Deheeger M Preziosi P. Portions Alimentaires (Manual-photos pour l'estimation des quantités. SU-VI-MAX. Ed Candia, 2004.
71. Hickner RC, Horswill CA, Welker JM, Scott J, Roemmich JN, Costill DL. Test development for the study of physical performance in wrestlers following weight loss. *Int.J.Sports Med.* 1991; 12(6): 557-562.
72. Hickson RC, Rennie MJ, Conlee R, Winder WW, Holloszy JO. Effects of increased plasma fatty acids on glycogen utilization and endurance. *J Appl Physiol* 1977; 43: 829–833.
73. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res* 2008; 47: 348-80.
74. Holloszy JO, Coyle FE. Adaptations of skeletal muscle to endurance exercise and their metabolic consequences. *J Appl.Physio* 1984; 56: 831-838.
75. Horswill CA. Weight loss and weight cycling in amateur wrestlers: implications for performance and resting metabolic rate. *Int J Sports Nut* 1993; 3(3): 245-260.
76. Hulston CJ, Venables MC, Mann CH, Martin C, Philp A, Baar K, Jeukendrup AE. Training with low muscle glycogen enhances fat metabolism in well-trained cyclists. *Medicine and science in sports and exercise* 2010; 42(11): 2046-55.
77. Huygens, W, Claessens AL, Thomis M, Loos R, Van Langendonck L, Peeters M, Philippaerts R, Meynaerts E, Vlietinck R, Beunen G. Body composition estimations by BIA versus anthropometric equations in body builders and other power athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 2002; 42(1): 45-55.
78. Impey SG, Hammond KM, Shepherd SO, Sharples AP, Stewart C, Limb M, Smith K, Philp A, Jeromson S, Hamilton DL, Close GL, Morton JP. Fuel for the work required: a practical approach to amalgamating train-low paradigms for endurance athletes. *Physiological reports* 2016; 4(10).
79. Ishihara H, Wenying F, Kouda K, Nakamura H, Kohno H, Nishio N, Sonoda Y. Effects of dietary restriction on physical performance in mice. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 2005; 24(3): 209-213.
80. James LJ, Mears SA, Shirreffs SM (2015). Electrolyte supplementation during severe energy restriction increases exercise capacity in the heat. *Eur J Appl Physiol* 2015; 115 (12): 2621-2629.
81. Jebb, S A, Siervo M, Murgatroyd PR, Evans S, Fruhbeck G, Prentice AM. Validity of the leg-to-leg bioimpedance to estimate changes in body fat during weight loss and regain in overweight women: a comparison with multi-compartment models. *Int J Obes* 2007; 31(5): 756-62.
82. Jeukendrup AE Regulation of fat metabolism in skeletal muscle. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 967: 217-35.
83. Jeukendrup AE, Saris WHM, Wagenmakers AJM. Fat metabolism during exercise: a review. Part II: regulation of metabolism and the effects of training. *Int. J Sports Med* 1998; 19: 293-302.
84. Jeukendrup AE Modulation of carbohydrate and fat utilization by diet, exercise and environment *Biochem Soc Trans* 2003; 31(6): 1270-3.

85. Jlid, MC, Maffulli N, Elloumi M, Moalla W, Paillard T. Rapid weight loss alters muscular performance and perceived exertion as well as postural control in elite wrestlers. *J Sports Med Phys Fitness* 2013; 53(6): 620-627.
86. Jones AE, Stolinski M, Smith RD, Murphy JL, Wootton SA. Effect of fatty acid chain length and saturation on the gastrointestinal handling and metabolic disposal of dietary fatty acids in women. *Br J Nutr* 1999; 81: 37-43.
87. Kamada T, Tokuda S, Aozaki S, Otsuji S. Higher levels of erythrocyte membrane fluidity in sprinters and long-distance runners. *J Appl Physiol* 1993; 74: 354-8.
88. Kanda A, Nakayama K, Fukasawa T, Koga J, Kanegae M, Kawanaka K, Higuchi M. Post-exercise whey protein hydrolysate supplementation induces a greater increase in muscle protein synthesis than its constituent amino acid content. *2013 28; 110(6): 981-7.*
89. Kiningham RB, Gorenflo DW. Weight loss methods of high school wrestlers. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(5): 810-3.
90. Kreitzman SN, Coxon AY, Szaz KF. Glycogen storage: illusions of easy weight loss, excessive weight regain, and distortions in estimates of body composition. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 292S-3S.
91. La Bounty PM, Campbell BI, Wilson J, Galvan E, Berardi J, Kleiner SM, Kreider RB, Stout JR, Ziegenfuss T, Spano M, Smith A, Antonio J International Society of Sports Nutrition position stand: meal frequency. *J Int Soc Sports Nutr* 2011; 16 (8): 4.
92. Lambert AJ, Wang B, Yardley J, Edwards J, Merry BJ. The effect of aging and caloric restriction on mitochondrial protein density and oxygen consumption. *Experimental Gerontology* 2004; 39(3): 289-95.
93. Lands B, Bibus D, Stark KD. Dynamic interactions of n-3 and n-6 fatty acid nutrients. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2017; pii:S0952-3278 (16):30152-1.
94. Larson-Meyer DE, Redman L, Heilbronn LK, Martin CK, Ravussin E. Caloric restriction with or without exercise: the fitness versus fatness debate. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42 (1): 152-159.
95. Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. *Journal of lipid research* 1986; 27: 114-20.
96. Li C, Feng F, Xiong X, Li R, Chen N. Exercise coupled with dietary restriction reduces oxidative stress in male adolescents with obesity. *J Sports Sci* 2017; 35(7): 663-668.
97. López Chicharro J, Fernández Vaquero A. *Fisiología del ejercicio*. Editorial Médica Panamericana, 2008.
98. Lopez-Lluch G, Hunt, N, Jones B, Zhu M, Jamieson H, Hilmer S, de Cabo R. Calorie restriction induces mitochondrial biogenesis and bioenergetic efficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103(6): 1768-1773.
99. Lopez-Minguez J, Gómez-Abellán P, Garaulet M. Circadian rhythms, food timing and obesity. *Proc Nutr Soc* 2016; 75(4): 501-511.
100. Marini M, Abruzzo PM, Bolotta A, Veicsteinas A, Ferreri C. Aerobic training affects fatty acid composition of erythrocyte membranes. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 188.
101. Marquet LA, Brisswalter J, Louis J, Tiollier E, Burke LM, Hawley JA, Hausswirth C. Enhanced Endurance Performance by Periodization of Carbohydrate Intake: "Sleep Low" Strategy. *Medicine and science in sports and exercise*. 2016; 48(4): 663-72.
102. Marra M, Da Prat B, Montagnese C, Caldara A, Sammarco R, Pasanisi F, Corsetti R. Segmental bioimpedance analysis in professional cyclists during a three week stage race. *Physiol Meas* 2016; 37(7): 1035-40.
103. Martínez Rodríguez A, Drobnic Martínez F. Planificación nutricional y deportiva personalizada (2): Estrategias para el control de peso en el deporte. *Limencop SL*, 2015.

104. Martorell M, Capó X, Bibiloni MM, Sureda A, Mestre-Alfaro A, Batle JM, Llompart I, Tur JA, Pons A. Docosahexaenoic acid supplementation promotes erythrocyte antioxidant defense and reduces protein nitrosative damage in male athletes. *Lipid*. 2015; 50: 131-48.
105. Martorell M, Capó X, Sureda A, Tur JA, Pons A. Effects of docosahexaenoic acid diet supplementation, training, and acute exercise on oxidative balance in neutrophils. *Applied physiology, nutrition, and metabolism*. *Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*. 2014a; 39: 446-57.
106. Martorell M, Capó X, Sureda A, Batle JM, Llompart I, Argelich E, Tur JA, Pons A. Effect of DHA on plasma fatty acid availability and oxidative stress during training season and football exercise. *Food & function* 2014b; 5(8): 1920-31.
107. Mattson MP, Longo VD, Harvie M. Impact of Intermittent Fasting on Health and Disease Processes. *Ageing Research Reviews* <http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2016.10.005>. This is a PDF file of an unedited manuscript.
108. Mattson MP, Wan R. Beneficial effects of intermittent fasting and caloric restriction on the cardiovascular and cerebrovascular systems. *J Nutr Biochem* 2005; 16(3): 129-137.
109. McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969; 244(22): 6049-55.
110. McGlory C, Galloway SD, Hamilton DL, McClintock C, Breen L, Dick JR, et al. Temporal changes in human skeletal muscle and blood lipid composition with fish oil supplementation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2014; 90: 199-206.
111. Mettler S, Mitchell N, Tipton KD. Increased protein intake reduces lean body mass loss during weight loss in athletes. *Med Sci Sports Exerc* 2010; 42(2): 326-337.
112. Middleton MS, Haufe W, Hooker J, Borga M, Dahlqvist Leinhard O, Romu T, Tunón P, Hamilton G, Wolfson T, Gamst A, Loomba R, Sirlin CB. Quantifying Abdominal Adipose Tissue and Thigh Muscle Volume and Hepatic Proton Density Fat Fraction: Repeatability and Accuracy of an MR Imaging-based, Semiautomated Analysis Method. *Radiology* 2017; 283 (2): 438-449.
113. Minor RK, Villarreal J, McGraw M, Percival SS, Ingram DK, de Cabo R. Calorie restriction alters physical performance but not cognition in two models of altered neuroendocrine signaling. *Behavioural brain research* 2008; 189 (1): 202-11.
114. Molfino A, Gioia G, Fanelli FR, Muscaritoli M. The Role for Dietary Omega-3 Fatty Acids Supplementation in Older Adults. *Nutrients* 2014; 6: 4058-72.
115. Montagnani M, Montomoli M, Mulinari M, Guzzo G, Scopetani N, Gennari C. Relevance of hydration state of the fat free mass in estimating fat mass by body impedance analysis. *Appl Radiat Isot* 1998; 49(5-6): 499-500.
116. Morton JP, Croft L, Bartlett JD, et al. Reduced carbohydrate availability does not modulate training-induced heat shock protein adaptations but does upregulate oxidative enzyme activity in human skeletal muscle. *Journal of applied physiology* 2009; 106(5): 1513-21.
117. Nana A, Slater GJ, Hopkins WG, Burke LM. Techniques for Undertaking Dual-Energy X-Ray Absorptiometry Whole-Body Scans to Estimate Body Composition in Tall and/or Broad Subjects. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2012a; 22(5): 313-22.
118. Nana A, Slater GJ, Hopkins WG, Burke LM. Effects of daily activities on dual-energy X-ray absorptiometry measurements of body composition in active people. *Med Sci Sports Exerc* 2012b; 44(1): 180-9.
119. Nicholls DG. Mitochondrial membrane potential and aging. *Aging Cell* 2004; 3(1): 35-40.
120. Nikolaidis MG, Mougios V. Effects of exercise on the fatty-acid composition of blood and tissue lipids. *Sports medicine (Auckland, NZ)* 2004; 34: 1051-76.

121. Nisoli E, Tonello C, Cardile A, Cozzi V, Bracale R, Tedesco L, Falcone S, Valerio A, Cantoni O, Clementi E, Moncada S, Carruba MO. Calorie restriction promotes mitochondrial biogenesis by inducing the expression of eNOS. *Science* 2005; 310(5746): 314-7.
122. Oliver SJ, Laing SJ, Wilson S, Bilzon JL, Walsh N. Endurance running performance after 48 h of restricted fluid and/or energy intake. *Med Sci Sports Exerc* 2007; 39(2): 316-322.
123. Oopik V, Paasuke M, Sikku T, Timpmann S, Medijainen L, Erelaine J, Smirnova T, Gapejeva E. Effect of rapid weight loss on metabolism and isokinetic performance capacity. A case study of two well trained wrestlers. *J Sports Med Phys Fitness* 1996; 36(2): 127-131.
124. Palma I, Farran A, Cantós D. Tablas de composición de alimentos por medidas caseras de consumo habitual en España CESNID, Edicions de la Universitat de Barcelona, McGraw Hill Interamericana, 2004.
125. Pansarasa O, D'Antona G, Gualea MR, Marzani B, Pellegrino MA, Marzatico F. "Oxidative stress": effects of mild endurance training and testosterone treatment on rat gastrocnemius muscle. *Eur J Appl Physiol* 2002; 87(6): 550-5.
126. Parrado-Fernández C, López-Lluch G, Rodríguez-Bies E, Santa-Cruz S, Navas P, Ramsey JJ, Villalba JM. Calorie restriction modifies ubiquinone and COQ transcript levels in mouse tissues. *Free Radic Biol Med* 2011; 50(12): 1728-36.
127. Pérez-Guisado J. Rendimiento deportivo: glucógeno muscular y consumo proteico. *Apunts Med Esport* 2008; 43: 142-51.
128. Phinney SD, Bistrian BR, Evans WJ, et al. The human metabolic response to chronic ketosis without caloric restriction: preservation of submaximal exercise capability with reduced carbohydrate oxidation. *Metabolism: clinical and experimental* 1983; 32(8): 769-76.
129. Piccolo BD, Keim NL, Fiehn O, et al. Habitual Physical Activity and Plasma Metabolomic Patterns Distinguish Individuals with Low vs. High Weight Loss during Controlled Energy Restriction. *Journal of Nutrition* 2015; 145(4): 681-90.
130. Pons V, Riera J, Galilea PA, Drobnic F, Banquells M, Ruiz O. Características antropométricas, composición corporal y somatotipo por deportes. Datos de referencia del CAR de San Cugat, 1989-2013. *Apunts Med Esport*.2015; 50: 65-72.
131. Racette SB, Weiss EP, et al. One year of caloric restriction in humans: feasibility and effects on body composition and abdominal adipose tissue" *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006; 61(9): 943-50.
132. Raciones dietéticas recomendadas. National Research Council. Ediciones Consulta, 1991.
133. Ramsey JJ, Harper ME, Weindruch R. Restriction of energy intake, energy expenditure, and aging. *Free Radical Biology and Medicine* 2000; 29(10): 946-68.
134. Reed JL, De Souza MJ, Williams NI. Effects of exercise combined with caloric restriction on inflammatory cytokines. *Appl Physiol Nutr Metab* 2010; 35(5): 573-82.
135. Resch M. Eating disorders in sports--sport in eating disorders. *Orv. Hetil* 2007; 148(40): 1899-902.
136. Roth GS, Lane MA, Ingram DK. Caloric restriction mimetics: the next phase. *Ann N Y Acad Sc.* 2005; 1057: 365-71.
137. Rothney MP. y cols. Precision of GE Lunar iDXA for the Measurement of Total and Regional Body Composition in Nonobese Adults. *J Clin Densitom* 2012; 15(4): 399-404.

138. Ruiz-Lozano T, Vidal J, de Hollanda A, Scheer FA, Garaulet M, Izquierdo-Pulido M. Timing of food intake is associated with weight loss evolution in severe obese patients after bariatric surgery. *Clin Nutr* 2016; 35(6): 1308-1314.
139. Seene T, Kaasik P, Alev K. Muscle protein turnover in endurance training: a review. *Int J Sports Med* 2011; 32(12): 905-11.
140. Sergi G, Trevisan C, Veronese N, Lucato P, Manzato E. Imaging of sarcopenia. *Eur J Radiol*. 2016; 85(8): 1519-24.
141. Seabolt LA, Welch EB, Silver HJ. Imaging methods for analyzing body composition in human obesity and cardiometabolic disease. *Ann NY Acad Sci* 2015; 1353: 41-59.
142. Smith SA, Humphrey RH, Wohlford JC, Flint DL. Myocardial adaptations and weight fluctuation in college wrestlers. In *J Sports Med* 1994; 15(2): 70-73.
143. Sohal RS, Agarwal S, Candas M, Forster MJ, Lal H. Effect of age and caloric restriction on DNA oxidative damage in different tissues of c57bl/6 mice. *Mechanisms of Ageing and Development* 1994; 76(2-3): 215-24.
144. Straznicky NE, Lambert EA, Grima MT, Eikelis N, Nestel PJ, Dawood T, Lambert, GW. The effects of dietary weight loss with or without exercise training on liver enzymes in obese metabolic syndrome subjects. *Diabetes Obes Metab* 2012; 14(2): 139-148.
145. Strojnik V, Apih T, Demsar F. Cross-section areas of calf muscles in athletes of different Sports. *J Sports Med Phys Fitness* 1995; 35(1): 25-30.
146. Teległów A, Dabrowski Z, Marchewka A, Tabarowski Z, Bilski J, Jaśkiewicz J, et al. Effects of cold water swimming on blood rheological properties and composition of fatty acids in erythrocyte membranes of untrained older rats. *Folia Biol (Krakow)* 2011; 59: 203-9.
147. Tepsic J, Vucic V, Arsic A, Blazencic-Mladenovic V, Mazic S, Glibetic M. Plasma and erythrocyte phospholipid fatty acid profile in professional basketball and football players. *European journal of applied physiology* 2009; 107: 359-65.
148. Toft AD, Thorn M, Ostrowski K, Asp S, Moller K, Iversen S, et al. N-3 polyunsaturated fatty acids do not affect cytokine response to strenuous exercise. *J Appl Physiol* 2000; 89: 2401-6.
149. Trexler ET, Smith-Ryan AE, Norton LE. Metabolic adaptation to weight loss: implications for the athlete. *J Int Soc Sports Nutr* 2014; 11(1):7.
150. Van Loan MD, Mayclin PL. Use of multi-frequency bioelectrical impedance analysis for the estimation of extracellular fluid. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46(2): 117-24.
151. Van Proeyen K, Szlufcik K, Nielens H, Ramaekers M, Hespel P. Beneficial metabolic adaptations due to endurance exercise training in the fasted state. *Journal of applied physiology* 2011; 110(1): 236-45.
152. Varady K.A. Intermittent versus daily calorie restriction: which diet regimen is more for weight loss? *Obese Rev.* 2011 Jul; 12 (7): 593-601.
153. Venable MC, Achten J, Jeukendrup AE. Determinants of fat oxidation during exercise in healthy men and women: a cross-sectional study. *J Appl Physiol* (1985). 2005; 98(1): 160-7.
154. Vessby B, Gustafsson IB, Boberg J, Karlström B, Lithell H, Werner I. Substituting polyunsaturated for saturated fat as a single change in a Swedish diet: effects on serum lipoprotein metabolism and glucose tolerance in patients with hyperlipoproteinaemia. *Eur J Clin Invest* 1980; 10 (3): 193-202.
155. Volek JS, Freidenreich DJ, Saenz C, Kunces LJ, Creighton BC, Bartley JM, Davitt PM, Munoz CX, Anderson JM, Maresh CM, Lee EC, Schuenke MD, Aerni G, Kraemer WJ,

- Phinney SD.. Metabolic characteristics of keto-adapted ultra-endurance runners. *Metabolism: clinical and experimental* 2016; 65(3): 100-10.
156. Wasserman K y cols. *Principles of Exercise Testing and Interpretation: Including Pathophysiology and Clinical Applications*. Williams and Wilkins 2011.
 157. Wasserman K, Beaver WL, Whipp BJ. Gas exchange theory and the lactic acidosis (anaerobic) threshold. *Circulation*, 1990; 81(supl) 1-17. *Eur J Appl Physiol* 2007; 101(1): 51-9.
 158. Webster CC, Noakes TD, Chacko SK, Swart J, Kohn TA, Smith JA. Gluconeogenesis during endurance exercise in cyclists habituated to a long-term low carbohydrate high-fat diet. *J Physiol* 2016; 594(15): 4389-405.
 159. Weiss EP, Racette SB, Villareal DT, Fontana L, Steger-May K, Schechtman KB, Klein S, Holloszy JO; Washington University School of Medicine CALERIE Group. Improvements in glucose tolerance and insulin action induced by increasing energy expenditure or decreasing energy intake: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006; 84(5): 1033-42.
 160. Wenos DL, Amato HK. Weight cycling alters muscular strength and endurance, ratings of perceived exertion, and total body water in college wrestlers. *Perceptual and Motor Skills* 1998; 87: 975-978.
 161. Werner A, Thiel A, Schneider S, Mayer J, Giel KE, Zipfel S. Weight-control behaviour and weight-concerns in young elite athletes - a systematic review. *J Eat Disord* 2013 May 30; 1: 18.
 162. Zanchi NE, Gerlinger-Romero F, Guimarães-Ferreira L, de Siqueira Filho MA, Felitti V, Lira FS, Seelaender M, Lancha AH Jr. HMB supplementation: clinical and athletic performance-related effects and mechanisms of action. *Amino Acids* 2011; 40(4): 1015-25.
 163. Zock PL, Mensink RP, Harryvan J, de Vries JH, Katan MB.. Fatty acids in serum cholesteryl esters as quantitative biomarkers of dietary intake in humans. *Am J Epidemiol* 1997; 145(12): 1114-22.

ANEXO - I -

En esta propuesta de menú para una semana, conseguimos una cobertura bastante superior a la que se logra con una ingesta espontánea sin observar como se combinan los grupos de alimentos.

Análisis nutricional menú RC semanal, días normales y días en RC				
<i>Pauta nutricional</i>	<i>RC</i>	<i>IN</i>	<i>RC</i>	
<i>Ración calórica (Kcal/día)</i>	1.599	2.325	630	<i>IDR</i>
Glúcidos (g)	149	215	59	
Polisacáridos (g)	79	120	22	
Azúcares(g)	62	81	36	
Proteína (g)	108	152	49	
Proteína Animal (g)	76	104	10	
Proteína Vegetal (g)	30	44	39	
Lípidos (g)	64	94	22	
AG monosaturados (g)	30	44	10	
AG Poliinsaturados (g)	12	18	6	
AG Saturados (g)	13	19	5	
Colesterol (mg)	307	426	147	
Micronutrientes				
Fibra (g)	32	49	10	
Calcio (mg)	782	1028	453	800
Hierro (mg)	15,3	23	5,3	10
Magnesio (mg)	418	597	181	350
Sodio (mg)	2.776	4.017	1.121	
Potasio (mg)	3.952	5.406	2.013	3.500
Fósforo (mg)	1.505	2.097	717	700
Zinc (mg)	9,4	14	4	15
Carotenoides (mcg)	6.449	9.148	2.851	
Vit. B ₉ , Ac. Fólico (mcg)	409	587	171	400
Vit. B ₃ , Niacina (mg)	31	45	12	20
Retinoides (mcg)	134	181	70	
Vit. B ₂ , Riboflavina (mg)	1,7	2,3	0,8	1,8
Vit. B ₁ , Tiamina (mg)	1,8	2,7	0,6	1,2
Vit. A, Retinol (mg)	1.208	1.705	546	1.000
Vit. B ₆ , Piridoxina (mg)	2,7	3,7	1,2	1,8
Vit. D, Calciferol (mcg)	6,1	10,2	0,6	5
Vit. E, Tocoferol (mg)	11	15,8	4,3	12
Vit. B ₁₂ , Cobalamina (mcg)	7,2	11	2,1	2
Vit. C, Ac. Ascórbico (mg)	163	226	78	60

AG= ácidos grasos, Vit.= Vitamina.

Menú para seguir Restricción Calórica durante una semana

	LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
DESAYUNO	1 vaso de leche desnatado (195 g) 1 rebanada de pan de molde blanco (33 g) 1 loncha de fiambre de pavo (39 g)	Pan integral de semillas (90 g) Clara de huevo (70 g) Te (190 g) Nueces (10 g) Aceite de oliva (10 g) Plátano (90 g) Leche desnatada (300 g) Cereales desayuno Fitness Nestlé (40 g) Nabiu (20 g) Maduixot (45 g)	Fruita cortada: melón (40 g), uvas (14 g) y plátano (40 g) 3 nueces (9 g) Queso fresco (30 g)	Yogurt (125 g) con cereales integrales All Bran (50 g) Nueces (10 g) Manzana (133 g) Uvas (35 g) Kiwi (90 g) Pan blanco (45 g) Jamón dulce (60 g) Aceite de oliva (9 g)	¼ de aguacate a laminas (20 g) 1 torrada de espelta (30 g)	Zumo de naranja (175 g) Muesli o copos de avena (30 g) con yogurt de soja (125 g) Pan blanco (45 g) con jamón dulce (30 g) y queso en porciones (19 g) Aceite de oliva (9 g) Almendras (6 g)	Tortas de multicereales (60 g) con queso Philadelphia (40g) y jamón York (60 g) Plátano (90 g) Fresas (50 g) Bebida de avena (200 g)
COMIDA	1r PLATO Berenjena (100 g), tomate (100 g), cebolla (50 g), judía verde (150 g)	Arroz con pasas y almendras (70 g)	Lentejas con verduras (375 g) Arroz blanco (78 g)	Tortilla francesa (110 g) Tomate maduro crudo (135 g) Aceite de oliva (9 g) Pan blanco (23 g)	Ensalada variada: Lechuga (40 g), tomate (70 g), zanahoria (20 g), maíz (10 g)	Guisantes salteados (300 g)	Gazpacho (250 g) con tropezones Solomillo de cerdo a la plancha (246 g) Pasta hervida (240 g) Queso gruyere (13 g) Aceite de oliva (9 g) Lechuga (30 g)
	2n PLATO Pollo plancha (75 g)	Atún plancha (200 g)	Bacalao al vapor (80 g)	Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)	Filete de lubina al papillote (210 g) Calabaza (113 g) Jamón salado (35 g) Calabacín (150 g) Arroz blanco (80 g) Cebolla (63 g) Aceite de oliva (9 g)	Yogurt (125 g)
	POSTRE Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)	Yogurt (125 g)
CENA	1r PLATO Crema fría de naranja (125 g) y zanahoria (100 g)	Acelgas con patata (380 g)	Cintas salteadas (60 g) con champiñones (20 g) y albahaca fresca	Brócoli (225 g) con cebolla (63 g)	Crema fría de calabaza (200 g)	Menestra de verduras (315 g) con huevo duro (100 g)	Calabacín (100 g), tomate (135 g) y cebolla (125 g)
	2n PLATO Tortilla francesa (55 g)	Suprema de merluza al horno (329 g)	Pechuga de pavo a la plancha (70 g)	Salmon a la plancha (200 g) Patata hervida (350 g) Aceite de oliva (9 g)	Merluza plancha (80 g) Creixen crudo (30 g)	Lechuga (40 g), atún (100 g), queso gruyere (25 g), aceite de oliva (9 g), maíz (30 g), zanahoria (30 g), alubias blancas (150 g)	Filete de merluza a la plancha (300 g) Quinoa cruda (108 g) Queso gruyere (20 g)
	POSTRES Piña (90 g)	Kiwi (90 g)	Sandía (40 g)	Plátano (90 g)	Pera (135 g)	Albaricoque (42 g)	Manzana (130 g)