

**TESIS DOCTORAL**

---

**EFFECTOS DE LA PRÁCTICA DEL FÚTBOL SOBRE LOS  
ÁCIDOS GRASOS ERITROCITARIOS Y  
PLAQUETARIOS, Y SU RELACIÓN CON LA  
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SUJETOS  
ENTRENADOS Y NO ENTRENADOS**

**PABLO JESÚS IGLESIAS SÁNCHEZ**  
**DOCTORADO EN BIOMARCADORES DE SALUD Y  
ESTADOS PATOLÓGICOS**

**2019**

---



“Yo soy el capitán de mi alma, soy el amo de mi destino”

*Nelson  
Mándela*

“Hay 2 formas de difundir la luz, ser la lámpara que la emite  
o el espejo que la refleja”

*Lin Yutang*





**Asunto:** Rtdo. Impreso de Conformidad  
Defensa Tesis para su Conocimiento y  
Difusión.

**Destinatario:** Sr. Coordinador de la Comisión  
Académica del Programa de Doctorado en  
Ciencias del deporte

Como Directores de la Tesis doctoral titulada: **“Efectos de la práctica del fútbol sobre los ácidos grasos eritrocitarios y plaquetarios, y su relación con la capacidad antioxidante de sujetos entrenados y no entrenados”**.

Realizada por D. **PABLO JESÚS IGLESIAS SÁNCHEZ**, de la cual se adjuntan dos ejemplares encuadernados, un ejemplar en formato digital (junto con el resumen en castellano, si procede) y el documento de actividades, para el cumplimiento de lo establecido en el artículo 45 de la Normativa de los estudios de Doctorado (DOE 6 de marzo de 2014).

INFORMAMOS:

A la **Comisión Académica del Programa de Doctorado** que la elaboración de la Tesis ha concluido y que la misma cumple con los criterios de calidad necesarios para que el doctorando pueda optar al Título de Doctor, por lo que:

SOLICITAMOS:

de la **Comisión Académica del Programa de Doctorado** que autorice la presentación de la Tesis a la Comisión de Doctorado.

Cáceres a 18 de Diciembre de 2018

DR. MARCOS MAYNAR MARIÑO

DR. DIEGO MUÑOZ MARÍN



*A Antonio y Rosa,*

*A mis Padres,*

*A mi Hermana,*





## AGRADECIMIENTOS

La vida para mí es superación continúa, aprendizaje, tristeza, alegrías, en resumen momentos, VIDA... tal y como ha ocurrido con el proceso de esta tesis. Es por ello que quiero agradecer a toda la gente que me ha ayudado en esta etapa, sea directa o indirectamente.

Quiero dedicar esta tesis a mis padres, **Mª Jesús y Pablo**, sé que están orgullosos de mí, pero más orgulloso estoy de ellos, en especial de mi madre, por enseñarme a ser constante, trabajador y a no rendirme nunca. A mi hermana **Marta**, por ser mi amiga, por apoyarme, por ayudarme, por estar incondicionalmente ahí siempre en las buenas y en las no tan buenas.

A **Antonio y Rosa**, mis padres espirituales, mis amigos, mis confidentes, “mis yos”, sois especiales eso ya lo sabía, de lo que no era consciente era de vuestra calidad humana. En los momentos menos fáciles siempre habéis estado ahí sin siquiera preguntar, y los buenos los hemos disfrutado como nosotros sabemos. Por ello no quiero olvidarme de vosotros y quiero que quede constancia para siempre de lo que siento en este momento, de lo agradecido que estoy de teneros a mi lado, gracias por enseñarme una filosofía de vida, por ayudarme a mirar la vida a los ojos y por enseñarme a verla, estoy orgulloso de vosotros. Lealtad por Lealtad.

A mis amigos **Javi, Fernan y Álex**, muchos años de fútbol sala compitiendo y disfrutando de nuestro deporte, vosotros también habéis influido en mí, cada uno con su forma de ser, por ello quería agradecer el estar ahí, y decir que estoy orgulloso de haber formado parte de este cuarteto y de habernos ganado el respeto a base de trabajo y sacrificio.

Quiero dar las gracias a **Marcos Maynar Mariño**, por abrirme las puertas del laboratorio de Fisiología, por enseñarme un mundo diferente, por ayudarme en mi crecimiento profesional y personal, por tantos años de confianza y generosidad para conmigo, GRACIAS. Es para mí un placer concluir esta tesis con mi “padre científico”, después de tantos años de trabajo juntos.

A mi director **Diego Muñoz Marín**, por su tiempo y dedicación, por su disposición para concluir este trabajo, y por estar ahí todas las veces que lo he necesitado.

A mis compañeros y amigos; **Carmen Crespo Coco, Fco. Javier Grijota, Julio Montero, Nacho y Chule**, por todos aquellos momentos compartidos en el Laboratorio, reconocimientos, estudios, congresos, proyectos, trabajos, risas..., años que no olvidaremos.

A **María Concepción Robles Gil**, por animarme a ingresar en el Laboratorio de Fisiología, y enseñarme el funcionamiento del mismo, por su trato, por su tiempo y por su confianza.

Por último quería agradecer a todas esas personas que han estado ahí años atrás, y a las casualidades del presente que surgen cuando menos te lo esperas.



## ***ÍNDICE DE CONTENIDOS***

---



ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	13
ÍNDICE DE TABLAS.....	17
ÍNDICE DE FIGURAS.....	21
ABREVIATURAS.....	25
RESUMEN.....	31
1. INTRODUCCIÓN.....	35
1.1 ÁCIDOS GRASOS ESENCIALES.....	37
1.1.1 ÁCIDOS GRASOS Y EJERCICIO FÍSICO.....	43
1.2 SISTEMAS ANTIOXIDANTES.....	46
1.2.1 VITAMINA E.....	47
1.2.2 VITAMINA A.....	48
1.2.3 VITAMINA C.....	48
1.2.4 SISTEMAS ANTIOXIDANTES Y EJERCICIO FÍSICO...	49
2. OBJETIVOS.....	53
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	57
3.1 MATERIAL.....	59
3.1.1 INSTRUMENTAL UTILIZADOS.....	59
3.1.2 MATERIAL FUNGIBLE.....	60
3.1.3 SUJETOS DE ESTUDIO.....	61
3.2 MÉTODOS.....	63
3.2.1 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS.....	63
3.2.2 ÍNDICE DE ÁCIDOS GRASOS.....	65

3.2.3 DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES	
NO ENZIMÁTICOS.....	66
3.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	68
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	71
4.1 ANTROPOMETRÍA.....	73
4.2 RESULTADOS ERITROCITOS.....	74
4.3 DISCUSIÓN ERITROCITOS.....	80
4.4 RESULTADOS PLAQUETAS.....	88
4.5 DISCUSIÓN PLAQUETAS.....	93
5. CONCLUSIONES.....	105
6. BIBLIOGRAFÍA.....	109
7. ANEXOS.....	129
7.1 MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	131
7.2 ACEPTACION DE LA COMISION DE BIOÉTICA.....	136
7.3 PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS.....	137



## ***ÍNDICE DE TABLAS***

---



<b>TABLA 1.</b> Nomenclatura de AG más importantes en el hombre.....	42
<b>TABLA 2.</b> Características antropométricas y ergoespirométricas del grupo de entrenados y no entrenados.....	73
<b>TABLA 3.</b> Valores en porcentajes de ácidos grasos intraeritrocitarios en sujetos entrenados y no entrenados.....	75
<b>TABLA 4.</b> Valores en porcentajes de SUFAs, MUFAs, PUFAs n6 y n3 eritrocitarios en sujetos entrenados y no entrenados.....	76
<b>TABLA 5.</b> Valores en áreas de los índices deltas e índices n-6/n-3 en eritrocitos de sujetos entrenados y no entrenados.....	76
<b>TABLA 6.</b> Valores de los Índices de peroxidación lipídica (Lpxl) eritrocitarios en sujetos entrenados y no entrenados.....	77
<b>TABLA 7.</b> Valores de las vitaminas C y E intraeritrocitarias en los grupos de estudio.....	77
<b>TABLA 8.</b> Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los ácidos grasos, SUFAs, MUFAs y PUFAs n-3 y n-6 en eritrocitos.....	78
<b>TABLA 9.</b> Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los índices n3/n6, índices deltas, de peroxidación lipídica y las vitaminas E y C en eritrocitos.....	79
<b>TABLA 10.</b> Valores en porcentajes de ácidos grasos intraplaquetarios en sujetos entrenados y no entrenados.....	88
<b>TABLA 11.</b> Valores en porcentajes de SUFAs, MUFAs, PUFAs n6 y n3 plaquetarios en sujetos entrenados y no entrenados.....	89

<b>TABLA 12.</b> Valores en áreas de los índices deltas e índices n-6/n-3 en plaquetas de sujetos entrenados y no entrenados.....	90
<b>TABLA 13.</b> Valores de los Índices de peroxidación lipídica (Lpxl) plaquetarios en sujetos entrenados y no entrenados.....	90
<b>TABLA 14.</b> Valores de las vitaminas C y E intraplaquetarios en los grupos de estudio.....	91
<b>TABLA 15.</b> Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los ácidos grasos, SUFAs, MUFAs y PUFAs n-3 y n-6 en plaquetas.....	91
<b>TABLA 16.</b> Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los índices n3/n6, índices deltas, de peroxidación lipídica y las vitaminas E y C en plaquetas.....	92

## ***ÍNDICE DE FIGURAS***

---



<b>FIGURA 1.</b> Metabolismo de los ácidos grasos n3-n6 desde los alimentos.....	98
<b>FIGURA 2.</b> Metabolización de ácidos grasos poliinsaturados n-6 y n-3. Vías de desaturación y elongación de los ácidos linolenicos y $\alpha$ -linolenico.....	99
<b>FIGURA 3.</b> Metabolizacion de eicosanoides y docosanoides del EPA y DHA contrastados con los metabolitos del ácido araquidonico (AA).....	100
<b>FIGURA 4.</b> Eicosanoides derivados del ácidos araquidonico (AA) y del Eicosapentaenoico (EPA).....	101





## ***ABREVIATURAS***

---



AA: Ácido Araquidónico.

AG: Ácido graso.

ALA: Ácido  $\alpha$ - linolénico.

CAT: Catalasa.

DHA: Ácido docosahexaenoico.

EDTA: Etilenodiamino tetracetato.

EPA: Ácido eicosapentaenoico.

ERO: Especies reactivas de oxígeno.

FAME: Fatty acid metil ester

GPX: Glutación peroxidasa.

HPLC: Cromatografía líquida de alta presión.

LDL: Lipoproteínas de baja densidad.

IPAQ: Cuestionario Internacional de Actividad Física.

lpxl: Índice de peroxidación lipidica.

Lx: Lipoxinas.

MUFAs: Ácidos grasos monoinsaturados.

GNE: Grupo No entrenados.

GE: Grupo Entrenados

PG: Prostaglandinas.

PxL: Peroxidación Lipídica.

PRP: Plasma rico en plaquetas.

PUFAs: Ácidos grasos poliinsaturados.

RL: Radicales libres.

SFA: Ácidos grasos saturados.

SOD: Superóxido dismutasa.

TG: Triglicéridos.

Tx: Tromboxanos.

Vit A: Vitamina A (retinol).

Vit C: Vitamina C (ácido ascórbico).

Vit E: Vitamina E ( $\alpha$ - tocoferol,  $\gamma$ - tocoferol,  $\delta$ - tocoferol).

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad.

VO<sub>2</sub>: Consumo de oxígeno.

$\Delta$ : desaturación.

## ***RESUMEN***

---



## RESUMEN

El entrenamiento deportivo produce cambios en todos los sistemas del cuerpo; los lípidos son parte de esos sistemas y dentro de ellos los AG, que constituyen el grupo de los lípidos más sencillos, con importantes funciones en el organismo.

En cuanto al ejercicio físico, la literatura disponible muestra que, además de modificar las concentraciones de los lípidos en los tejidos, este también cambia el perfil de sus ácidos grasos, por otro lado, la realización del mismo implica la posibilidad de una excesiva producción de radicales libres. El mayor efecto producido por los radicales libres en los lípidos es la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados, que provoca una disfunción en las membranas celulares de las que forman parte.

Para combatir el ataque de los radicales libres, las células disponen de unos mecanismos de defensa denominados sistemas antioxidantes, enzimáticos y no enzimáticos. Cuando estos sistemas son incapaces de neutralizar las acciones oxidativas se producirá en mayor o menor medida un daño celular.

El fútbol es uno de los deportes más practicados en todo el mundo. Son numerosos los trabajos que han descrito el rendimiento físico en el fútbol masculino en los últimos años, y otros tantos lo han relacionado con la salud. Desde el punto de vista fisiológico, el fútbol es un deporte en el que se realiza un alto porcentaje del esfuerzo en zona de transición aeróbica-anaeróbica.

Se han encontrado estudios para valorar el perfil lipídico en la membrana eritrocitaria en deportes como la lucha, boxeo, balonmano, baloncesto, otros tantos han tratado de observar tanto la respuesta aguda como crónica del ejercicio físico sobre estos parámetros de estrés oxidativo y la respuesta antioxidante, pero no se han encontrado evidencias científicas de ningún deporte en plaquetas, ni que permitan correlacionar los mismos con los ácidos grasos y el fútbol en la membrana eritrocitaria y plaquetaria.

Por ello, se realizó un estudio descriptivo cuyo objetivo fue examinar los efectos del entrenamiento físico sobre los porcentajes de AG y los sistemas antioxidantes no enzimáticos en la membrana eritrocitaria y plaquetaria, y analizar las adaptaciones en los jóvenes. En el estudio participaron un total de 44 sujetos divididos en 2 grupos: un grupo de sujetos entrenados (GE), formado por 22 futbolistas de categoría juvenil, con un plan de entrenamiento regular de 10 horas/semana, durante los últimos 5 años, y un grupo de no entrenados (GNE) formado por 22 sujetos que no realizan



entrenamiento físico de forma sistemática. La determinación de los AG se realizó mediante cromatografía de gases, mientras que para los sistemas antioxidantes no enzimáticos se utilizó la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) se obtuvieron niveles más altos en el grupo (E) en los AG 12.0 (  $0,31 \pm 0,35$  vs.  $0,03 \pm 0,04$  %,  $p = 0,001$  ) y en el índice de n-6/n-3 (  $8,74 \pm 5,20$  vs.  $4,29 \pm 1,09$  ,  $p = 0,001$  ) , y los niveles más bajos en el 22.6 (  $3,00 \pm 3,51$  vs.  $5,08 \pm 1,44$  % ,  $p = 0,01$  ) también en el grupo (E). Se concluye que el entrenamiento de fútbol durante 10 horas a la semana causa cambios en los niveles de AG en la membrana de los eritrocitos y plaquetas, en la peroxidación lipídica y en los sistemas antioxidantes Vitamina C y E.



## ***INTRODUCCIÓN***

---



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 ÁCIDOS GRASOS

Los ácidos grasos (AG) constituyen el grupo de los lípidos más sencillos, participan en la síntesis de otros lípidos y son una fuente de energía química. Aunque se encuentran en cantidades muy grandes como componentes fundamentales de los lípidos saponificables, en las células y en los tejidos, en estado libre (no esterificados) aparecen solamente en trazas. Se han aislado unas 100 clases diferentes de AG procedentes de diversos lípidos de animales, vegetales y microorganismos. Todos ellos poseen una cadena hidrocarbonada larga con un grupo carboxilo terminal. La cadena hidrocarbonada puede ser saturada, en cuyo caso los enlaces son simples, como el AG palmítico (16:0) o insaturados con un doble enlace como el oleico (18:1) o poliinsaturados; más dobles enlaces, como ocurre en el AG linoleico (18:2); y existen unos cuantos AG con hasta 6 doble enlaces (22:6). Los AG difieren entre sí, en primer lugar, por la longitud de su cadena, y también por el número y la posición de sus dobles enlaces. Así, el AG palmítico (saturado, de 16 carbonos), se representa por 16:0 y el AG oleico (de 18 carbonos y un doble enlace (cis) entre los carbonos 9 y 10) se representa simbólicamente por 18:1n9. (Nelson et al., 2001).

En el ser humano, los AG más abundantes poseen un número par de átomos de carbono, con cadenas de longitud comprendidas entre los 12, 14, 22, 24 o más átomos de carbono, aunque predominan los de 16 a 18 átomos.

Entre los AG saturados los más comunes son palmítico (16:0) y el esteárico (18:0), y entre los AG insaturados el oleico (18:1) y linoleico (18:2n6).

Los AG forman parte de los fosfolípidos y glucolípidos, moléculas que constituyen la bicapa lipídica de todas las membranas celulares. En los mamíferos, incluido el ser humano, la mayoría de los AG se encuentran en forma de triglicéridos, moléculas donde los extremos carboxílicos (-COOH) de tres AG se encuentran esterificados con cada uno de los grupos hidroxilos (-OH) del glicerol (glicerina) y almacenados en el tejido adiposo (grasa).

Existe diferencia entre los efectos que producen en la salud humana los distintos AG que se pueden encontrar en los alimentos (Gago et al., 2007):

#### AG saturados (SFAs)

Este tipo de AG presentes en la grasa de la leche de rumiantes, aceite de coco o palma, incrementan la concentración total de colesterol total y del LDL en plasma.

#### AG monoinsaturados (MUFAs)

Mayoritariamente se encuentran en grasas animales (monogástricos) y en algunos aceites vegetales como el de oliva o colza. Tienen un efecto positivo sobre la salud, reducen el nivel de LDL colesterol en plasma.

#### AG poliinsaturados (PUFAs)

Este tipo de AG tienen un efecto hipocolesterolémico, se ha demostrado su eficiencia en la prevención de enfermedades cardiovasculares,

en la reducción del crecimiento de distintos tumores, así como efectos antiinflamatorios y en el desarrollo del cerebro y de las funciones mentales.

Dentro de los AG insaturados existen dos familias bien diferenciadas: la familia n-6 y la familia n-3. La familia n-6 deriva del AG linoleico, con dos dobles enlaces, y se caracteriza por tener su primer doble enlace en carbono número 6 de la cadena. La familia n-3 deriva del AG  $\alpha$ -linolénico (ALA), con tres dobles enlaces, cuyos ácidos grasos tienen su primer doble enlace en carbono número 3 de la cadena. Tanto el linoleico como el  $\alpha$ -linolénico son ácidos grasos esenciales, ya que no pueden ser sintetizados por el organismo y, por tanto, deben ser aportados en la dieta. Los diferentes números y posiciones de los dobles enlaces de la cadena confieren a los ácidos grasos diferentes propiedades fisiológicas derivadas de su metabolismo, lo que hace que la relación entre los ácidos grasos n-6 y n-3 de la dieta sea muy importante. El ácido linoleico se metaboliza a ácido araquidónico (20:4) y el  $\alpha$ -linolénico da lugar al ácido eicosapentaenoico (EPA) (20:5) y al ácido docosahexaenoico (DHA) (22:6). Todos ellos emplean las mismas rutas metabólicas y compiten por las mismas enzimas elongasas y desaturasas para formar los AG finales (García, 2013).

Además de ser una fuente de energía, las familias de PUFA, se incorporan a las membranas celulares, donde son precursores de los eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos),

que intervienen en numerosos procesos fisiológicos tales como la coagulación de la sangre o las respuestas inflamatoria e inmunológica. En general, los eicosanoides sintetizados a partir de la familia de n-3 tienen menor actividad antiinflamatoria que los eicosanoides derivados de la familia n-6. Al aumentar los n-3, también puede incrementarse la producción de eicosanoides de estas formas menos activas. La cantidad de ácidos grasos n-6 y n-3 determina los tipos y cantidades de eicosanoides en el organismo, lo cual influye potencialmente en todos los procesos en los que intervienen. La importancia de estos nutrientes para el organismo radica en la pluripotencialidad de su efecto biológico, de modo que realizan su acción cardioprotectora a través de varios mecanismos relacionados con la modulación de la inflamación sistémica, la mejora del perfil lipídico, una acción antiarrítmica y efectos antitrombóticos.

En general, el consumo de ácidos grasos n-3 se ha asociado con una disminución de la inflamación (Mishra et al., 2004; Calper y Grimble., 2002) y una mayor estabilidad de la placa aterosclerótica (Thies et al., 2003). Este efecto podría estar basado en la reducción de la expresión de moléculas de adhesión (Schaefer et al., 2008; De Caterina et al., 2004), disminuyendo la infiltración de monocitos/macrófagos de las células endoteliales activadas o bien a través de la reducción de la producción de moléculas del tipo del leucotrieno B (Lee et al., 1985). También se ha demostrado en diversos estudios, que la ingesta de AG n-3 proporciona una mejor respuesta



vasomotora dependiente del endotelio (Balk et al., 2006; Nishizawa et al., 2006, Tagawa et al., 2002; Tagawa et al., 1999).

Sobre el metabolismo lipídico producen una reducción en los niveles plasmáticos de triglicéridos TG (Calder., 2004), a través de una disminución de la síntesis hepática de VLDL, incremento de su lipólisis periférica, inhibición de la síntesis y la secreción de quilomicrones y una aceleración en el aclaramiento postprandial de los TG. Pero, además su consumo reduce el acúmulo de colesterol libre y esterificado en la pared arterial, disminuyendo la infiltración por macrófagos y la inestabilidad de la placa (Seo et al., 2005).

Debido a estos efectos beneficiosos para la salud se recomienda un consumo mínimo de este tipo de grasas, así como una relación máxima de AG n-6 y n-3 para favorecer la síntesis de productos activos de estos últimos a partir de sus precursores.

Como ya hemos visto anteriormente, existe una correlación demostrada entre los AG y la salud. Así, las altas concentraciones de AG saturados pueden tener potencialmente efectos nocivos en la salud, mientras que los AG insaturados pueden jugar un papel protector (Woodside y Kromhout, 2005). Éstos, actualmente se están utilizando para regular enfermedades humanas, tales como la obesidad, diabetes, cáncer y complicaciones cardiovasculares (Wakil y Abu-Elheiga, 2009).

A continuación, se presenta una tabla con los AG más importantes el hombre y sus respectivos nombres.

**Tabla 1.** Nomenclatura de AG más importantes en el hombre.

<b>AG</b>	<b>Nombre Común</b>
12:0	Laúrico
14:0	Mirístico
16:0	Palmítico
16:1	Palmitoleico
18:0	Estearico
18:1:C	Oleico
18:1:T	Elaidico
18:2.6	Linoleico
18:3.6	$\gamma$ -linolénico
18:3.3	$\alpha$ -linolénico
20:3.6	Eicosadienoico
20:4.6	Araquidónico
20:5.3	Eicosapentaenoico (EPA)
24:0	Lignocérico
24:1	Nervónico
22:5.3	Docosapentaenoico
22:6.3	Docosahexaenoico (DHA)

### 1.1.1 ÁCIDOS GRASOS Y EJERCICIO FÍSICO

El ejercicio físico supone una situación de estrés o pérdida del equilibrio interno para el organismo, que provoca la producción por parte del organismo de los llamados radicales libres (RL). Estas especies reactivas de oxígeno presentan una alta reactividad frente a los AG poliinsaturados (PUFAs), pudiendo dañar las estructuras ricas en ellos, como las membranas celulares y las lipoproteínas (Cheeseman y Slater, 1993; Halliwell y Cross, 1991). Las características de esta oxidación lipídica por parte de los RL, suponen una reacción en cadena en la que el AG al oxidarse, se convierte en radical de AG con capacidad de oxidar a otra molécula vecina. Este proceso es conocido como peroxidación lipídica (PxL) (Catalá, 2013; Yoshida et al., 2013). El proceso de peroxidación lipídica se inicia mediante el radical hidroxilo, el radical hidroperoxilo y quizá el oxígeno singlete. El radical extrae un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metileno de la cadena de ácidos grasos, dejando un electrón no apareado, con lo cual genera un radical lipídico (Halliwell, 1994). Este radical lipídico sufrirá un reordenamiento molecular para producir un dieno conjugado, que reacciona con el oxígeno molecular produciendo un radical hidroperóxido. Este radical puede a su vez extraer un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado para formar un nuevo radical lipídico y un hidroperóxido lipídico. El radical lipídico entonces se combina con otra molécula de oxígeno y dará lugar a una reacción en cadena. De este modo, el ataque por un solo RL da lugar a la formación de un gran número de especies activadas, lo cual desemboca en la oxidación de una gran cantidad de sustancias (Halliwell, 1994; Cheeseman y Slater, 1993; Halliwell y Cross, 1991). Es en los lípidos

de las membranas celulares donde se produce el daño mayor afectando a sus estructuras ricas en AG poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular y se produce edema y muerte celular. Factores no dietéticos, como la absorción, el metabolismo, los determinantes genéticos y el estilo de vida, pueden afectar a las concentraciones de AG en los tejidos humanos (Willet, 1998).

La peroxidación lipídica representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los AG insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal; sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno (Jerlick et al., 2000; Reylli y Burkley, 1990).

El ejercicio físico, además de modificar las concentraciones de los lípidos en los tejidos, también cambia su perfil de AG, así la realización de ejercicio físico agudo provoca un aumento en la cantidad de AG monoinsaturados (MUFAs) en plasma, mientras que la realización de ejercicio físico crónico parece incrementar la proporción de PUFAs y AG saturados, mientras que disminuye la proporción de MUFAs del tejido adiposo, adicionalmente el ejercicio crónico parece disminuir la cantidad de AG insaturados en los lípidos del hígado de los seres humanos (Nikolaidis y Mougios, 2004). En este mismo estudio se concluye que, en general, los efectos del ejercicio son independientes de la nutrición.

También, se ha demostrado que el entrenamiento y el ejercicio físico agudo disminuyen los PUFAs en la membrana eritrocitaria, debido a la peroxidación lipídica (Sumikawa et al., 1993).

Centrándonos en el deporte objeto de estudio de esta tesis, se considera el fútbol como uno de los deportes más practicados en todo el mundo. Son numerosos los trabajos que han descrito el rendimiento físico en el fútbol masculino en los últimos años (Stolen et al., 2005), sin embargo, no se han realizado hasta el momento estudios en los cuales se correlacione los sistemas antioxidantes no enzimáticos y los AG con la práctica del fútbol en jóvenes, es por ello que sería interesante conocer que adaptaciones se producen en la membrana plaquetaria y eritrocitaria en jóvenes que practiquen este deporte.

Actualmente se conocen los efectos que producen los diferentes AG que se pueden encontrar en la dieta, sabemos que los alimentos afectan directamente a la membrana plasmática, pero que no tienen efecto directo sobre la membrana plaquetaria y eritrocitaria, en este sentido, se conoce que la vida media de los AG en el tejido adiposo se estima en 680 días (Dayton et al., 1966), mientras que la de los eritrocitos es de 120 días (Arab, 2003) y la de las plaquetas en 9-10 días (Harker, 1977), por lo tanto, los eritrocitos son células más adecuados para reflejar la ingesta a largo plazo y las plaquetas a

corto plazo en relación al plasma (Hodson et al., 2014; Albert et al., 2002; Smedman et al., 1999).

Recientemente se han realizado algunos estudios observando los efectos de diferentes deportes sobre la membrana eritrocitaria, concretamente en waterpolo y fútbol en mujeres deportistas (Arsic et al., 2012), en nadadores (Ney et al., 2009) y en boxeadores amateurs (Tepsic et al., 2013), concluyendo que el ejercicio modifica el perfil de los diferentes AG, además afecta fundamentalmente a la fluidez y al grado de rigidez de la misma (Aguilar et al., 2012), mientras que en la membrana plaquetaria no se han encontrado evidencias científicas que permitan correlacionar esta matriz con ningún tipo de ejercicio físico.

## **1.2 SISTEMAS ANTIOXIDANTES**

Como ya hemos comentado anteriormente, para contrarrestar el ataque de los RL y el consecuente daño celular, el organismo cuenta con unos mecanismos de defensa, conocidos como “sistemas antioxidantes”, cuyo objetivo es mantener el estado de equilibrio que existe entre oxidantes y antioxidantes (Evans y Halliwell, 2001).

A su vez, los sistemas antioxidantes, según su naturaleza, podemos diferenciarlos en dos sistemas: enzimáticos y no enzimáticos. Entre los sistemas antioxidantes enzimáticos se encuentran las enzimas superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPX). Como

antioxidantes no enzimáticos destacamos las vitaminas E ( $\alpha$ -tocoferol), C (ácido ascórbico), y A (retinol), siendo la ingesta de alimentos fuente importante de ellas (Watson et al., 2005; Laursen, 2001; Powers y Lennon, 1999). Los antioxidantes exógenos no enzimáticos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen (Gutiérrez, 2002).

### **1.2.1. VITAMINA A**

La vitamina A, de naturaleza liposoluble, participa en numerosas funciones primordiales en el ser humano, teniendo un rol muy importante en la agudeza visual, la proliferación y diferenciación celular, en la acción antioxidante y en la actividad inmunológica, su función es la de neutralizar el oxígeno singlete (Gutiérrez, 2002).

El término vitamina A representa terminológicamente al retinol y los carotenoides, que son, respectivamente, el antecedente y los precursores de la vitamina A. El  $\beta$ -caroteno tiene una actividad antioxidante cinco veces mayor que la del retinol (Ribeiro Nogueira et al., 2009).

### **1.2.2 VITAMINA E**

La vitamina E es el antioxidante soluble en lípidos más conocido por su capacidad para inhibir la peroxidación lipídica debido a la eliminación de las

especies reactivas de oxígeno (ERO) y por preservar las membranas celulares (Schurks et al., 2010). Sus funciones son neutralizar el oxígeno singlete, capturar radicales libres hidroxilo, capturar  $O_2$  y neutralizar peróxidos (Gutierrez, 2002). En condiciones normales, el estado reducido de las LDL es mantenido por la vitamina E, que también actúa regulando reacciones inflamatorias y vías metabólicas, incluyendo la agregación plaquetaria (Engin, 2009; Kirmizis y Chatzidimitriou, 2009).

### **1.2.3 VITAMINA C**

La vitamina C o ácido ascórbico, al contrario que las anteriores, es una vitamina soluble en agua e insoluble en lípidos. Es conocida como un agente reductor, ya que tiene la capacidad de trabajar como un antioxidante en los procesos de oxidación de los radicales libres. También tiene la capacidad de reducir la actividad redox de metales como el cobre y el hierro, incluso pudiendo incrementar la actividad química pro-oxidante de estos metales. De este modo, el ascorbato puede participar como un pro-oxidante o un antioxidante. Normalmente, en concentraciones bajas de ascorbato, éste tiende a ser un pro-oxidante, mientras que a altas concentraciones, tenderá a ser un antioxidante (Mandl et al., 2009). Sus funciones son neutralizar el oxígeno singlete, capturar radicales libres de hidroxilo, capturar  $O_2$  y regenerar la forma oxidada de la vitamina E (Gutierrez, 2002).



#### 1.2.4 SISTEMAS ANTIOXIDANTES Y EJERCICIO FÍSICO

Los sistemas antioxidantes se han relacionado con el ejercicio en diferentes estudios, sin embargo en la vitamina A no se han encontrado evidencias en las que se midan las adaptaciones en sujetos entrenados, si bien, sí se han visto estudios que muestran incrementos significativos de los niveles de esta vitamina, a causa del ejercicio físico (Aguilo et al., 2005; Aguilo et al., 2003; Margaritis et al., 2003), aunque por otra parte, también se ha observado un descenso de estos niveles en plasma tras realizar un esfuerzo máximo (Olcina et al., 2006).

En cuanto a los efectos de un esfuerzo físico de intensidad moderada en la vitamina A a nivel eritrocitario, se han observado descensos, sin alcanzar la significación estadística, debido seguramente a su utilización en la neutralización de radicales libres de oxígeno, derivados del incremento de  $VO_2$  durante la prueba de esfuerzo (Ramel et al., 2004).

Por otra parte la respuesta de la vitamina E ha sido observada tras la realización de esfuerzos de diversas intensidades, tal y como se observó en un grupo de sujetos entrenados tras una prueba de esfuerzo máxima, los niveles eritrocitarios de esta vitamina sufrieron un descenso, aunque sin llegar a la significación estadística, encontrando valores más bajos de este parámetro que en plasma, ya que en el interior celular podrían actuar de forma mucho más notoria las enzimas antioxidantes como la SOD, cuya

actividad se incrementa como consecuencia de la producción del anión superóxido, y por lo tanto, la utilización de esta vitamina sería menor (Marzatico et al., 1997). En cualquier caso, el descenso podría ser atribuible a su actuación cuando otros sistemas antioxidantes no son capaces de neutralizar los radicales libre de oxígeno responsables de la peroxidación lipídica (Bowles et al, 1991).

En relación a la respuesta tras la disputa de un partido de fútbol, se produce un descenso de los niveles en neutrófilos de vitamina E, catalasas y de la actividad de la GPX, incrementando la actividad de la Glutación Reductasa (Tauler et al., 2008).

Por el contrario, otro estudio muestra como en linfocitos, tras un entrenamiento de 60 minutos de fútbol, los niveles de vitamina E en plasma aumentan significativamente tras entrenamientos de intensidad media y alta (Sureda et al., 2009). En cuanto a la respuesta eritrocitaria de esta vitamina ante esfuerzos de intensidad máxima, encontramos descensos estadísticamente significativos (Koz et al., 1992). Este descenso podría ser debido a su utilización para combatir la producción de radicales libres, aunque no se han encontrado estudios que hagan referencia a este suceso. Otra explicación, podría ser la salida de vitamina C al plasma, ya que a nivel celular existe un incremento en la actividad enzimática antioxidante (Mena et

al., 1991), que constituye la primera barrera para combatir la producción de ERO.

En lo que respecta a la práctica del fútbol, tras un entrenamiento de 60 minutos con futbolistas profesionales, se ha observado como la vitamina C sufre un descenso significativo en linfocitos después del ejercicio en los grupos de mayor intensidad en comparación con los valores iniciales (Sureda et al., 2009).

En cuanto a las adaptaciones producidas, en un estudio en el que se compara niveles de marcadores antioxidantes de futbolistas profesionales y sujetos sedentarios, se observa que los valores en ácido ascórbico son significativamente superiores ( $p < 0,01$ ) en futbolistas (Cazzola et al., 2003).

Atendiendo a las adaptaciones producidas por el ejercicio en los sistemas antioxidantes, gran cantidad de estudios han observado que la actividad física practicada de manera regular puede llegar a reducir los valores relativos de estrés oxidativo y mejorar la capacidad antioxidante total del organismo (Radak et al., 2001; Mena et al., 1991; Robertson et al., 1991; Alessio y Goldfarb, 1988). Otros autores examinaron los niveles de diferentes marcadores antioxidantes de corredores con un alto grado de entrenamiento, moderadamente entrenados y sujetos sedentarios, llegando a la conclusión que la capacidad antioxidante era mejor en los corredores con un alto grado de entrenamiento (Jakovljevic et al., 2011). Los motivos de esta afirmación es

que los de mayor grado de entrenamiento tenían mayor cantidad de vitamina E eritrocitaria, glutatión y actividad de la catalasa, existiendo una relación significativa positiva entre los metros recorridos semanalmente y la actividad antioxidante de las enzimas eritrocitarias.

En cuanto a la adaptación de futbolistas varones, se ha observado en un estudio en el que se comparan los niveles basales de un grupo de éstos y un grupo de control. Los resultados obtenidos muestran que los índices plasmáticos de estrés oxidativo y los niveles de lípidos hidroperóxidos encontrados de ambos grupos eran similares ( $p > 0.05$ ). Sin embargo, la capacidad antioxidante total promedio del grupo de estudio fue mayor en comparación con el grupo control ( $p < 0,05$ ) (Yamaner, 2009).

Siguiendo con estudios en este deporte, en esta ocasión en eritrocito, se valora la actividad antioxidante a partir de la medición de la enzima SOD, en futbolistas jóvenes, siendo estos valores significativamente superiores ( $p < 0,001$ ), en este grupo respecto al grupo control.

Resulta también significativo un estudio en el que se midió la actividad antioxidante total, a las 24 horas, a las 48 horas y a las 72 horas después de un partido de fútbol, habiendo un incremento significativo a lo largo de la recuperación (13-67%,  $p < 0.05$ ) (Fatouros et al., 2010).

## ***OBJETIVOS***

---



## 2. OBJETIVOS

A raíz de la revisión bibliográfica realizada, los objetivos planteados en la presente tesis doctoral fueron los siguientes:

1. Estudiar los efectos de la práctica continuada de fútbol sobre los niveles de los ácidos grasos eritrocitarios y plaquetarios de los sujetos entrenados y no entrenados.
2. Analizar el efecto del entrenamiento sobre la peroxidación lipídica y los sistemas antioxidantes no enzimáticos (ácido ascórbico y  $\alpha$ tocoferol) de los sujetos entrenados y no entrenados.
3. Relacionar los niveles de ácidos grasos en eritrocitarios y plaquetas con el grado de entrenamiento deportivo.





## ***MATERIAL Y MÉTODO***

---



### **3. MATERIAL Y MÉTODO**

#### **3.1 MATERIAL**

##### **3.1.1 INSTRUMENTAL UTILIZADO:**

- Agitador. P-selecta.
- Baño calentador. Raypa.
- Centrifugadora meditronic. P-Selecta.
- Columna capilar SGE-BPX70 de m.x I.D. mm. X 0,25 m Film.
- Columna HPLC Brownlee OD-MP de 10 cm x 4,6mm.
- Electrocardiógrafo. Cardioline.
- Termobloque. P-Selecta.
- HPLC. Spectra Series P 100.
- Microcentrifugadora. Alresa.
- PC Pentium IV. Software Windows XP.
- Balanza de precisión. ADA 120/L.
- Báscula de pesaje y tallímetro. SECA.
- Columna C18 de 15 cm x 4.7mm.
- Columna Facer TRB-1. Teknokroma.
- Congelador. Lynx.
- Dispensador de agua mL Q.
- Espectrofotógrafo. UNICAM 5625.

- Gradillas Portatubos.
- Microcentrifugadora Biofuge pico. Heraus.
- Paquímetro. Holtain.
- Periféricos informáticos. Hewlett Packard.
- Pipetas Gilson 100  $\mu$ l.
- Pipetas Wiley 1000  $\mu$ l.
- Probetas 100-500-1000 mL.
- Termómetro y medidor de humedad modelo Huger. Hom For.
- Vortex: Heidolph. Reax.
- Ph-metro. Crison.
- Pipetas Gilson 5000  $\mu$ l.
- Plicómetro. Holtain.
- Termobloque. P-Selecta.

### **3.1.2 MATERIAL FUNGIBLE**

- Parafilm.
- Tubos de ensayo plástico 10 mL.
- Tubos de ensayo cristal con tapón de rosca 10 mL.
- Puntas de plástico para pipetas.
- Tubos eppendorf 1 mL.

- Palomillas Vacutainer 23 G.
- Algodón.
- Tubos de ensayo cristal 10 mL.
- Tubos de ensayo plástico 5 mL.
- Guantes de látex.
- Tubos extracción de sangre 10 mL LH Vacutainer.
- Esparadrapo.
- Capilares 25 µL Na-Hp.

### 3.1.3 SUJETOS DE ESTUDIO

Conforman la muestra de este estudio un total de 44 sujetos, divididos en 2 grupos:

- Sujetos Entrenados (GE), formado por 22 futbolistas de categoría juvenil pertenecientes al grupo V de División de Honor Nacional. Se tratan de deportistas semi-profesionales con un plan de entrenamiento regular de 10 horas/semana, que llevan practicando este deporte durante los últimos 5 años.
- Sujetos No Entrenados (GNE) formado por 22 sujetos que no siguen un plan de entrenamiento sistemático durante al menos los últimos 6 meses.

Todos ellos fueron informados y aceptaron su participación voluntaria mediante la firma de un consentimiento informado, al amparo de las directrices éticas de la declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial (actualizadas en la Asamblea Médica Mundial de Seúl 2008), para la investigación con seres humanos.

Para su inclusión en el estudio, tenían que cumplir los siguientes criterios:

- Ser varón
- No seguir ninguna dieta especial ni suplementos vitamínicos.
- No padecer ninguna lesión ni haber estado enfermos durante el desarrollo de la investigación.
- En el caso de los *sujetos entrenados*, realizar un plan de entrenamiento semanal de al menos 10 horas/semana y con una experiencia de al menos 5 años.
- En el caso de los *sujetos no entrenados*, no realizar actividad física más de 3 horas/semana, es decir, obtener una puntuación baja en el cuestionario internacional de actividad física (IPAQ).

Inicialmente se les pasó el cuestionario (IPAQ), versión corta traducida (Booth, 2000), a todos los sujetos del estudio. Esto nos permitió saber las horas de actividad física de todos los sujetos, y así poder definir los grupos del estudio. A cada sujeto se le realizaron una serie de preguntas referentes a la actividad

física que desarrolla y la intensidad de la misma, obteniendo una puntuación, que nos permite clasificar a los sujetos.

## **3.2. MÉTODOS**

### **3.2.1 DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS GRASOS**

Para la determinación de los AG se tomaron muestras de sangre de la vena antecubital en tubos de cristal de 10 mL con EDTA en reposo a los dos grupos, después de un período de ayuno de 12 horas.

Determinación de AG en eritrocitos: una vez extraídas las muestras de sangre 5 mL eran inmediatamente centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos, se retiraba todo el plasma y se procedía al lavado eritrocitario con cloruro sódico al 0,9% tres veces. Los niveles de AG en eritrocitos fueron determinados mediante la técnica descrita por Lepage y Roy (1986).

Determinación de AG en plaquetas: los restantes 5 mL eran inmediatamente centrifugadas a 1800 rpm durante 8 minutos, y posteriormente se procedía a la retirada del plasma rico en plaquetas (PRP) cercano a los eritrocitos y ese PRP era centrifugado a 3000 rpm durante 10 minutos, se les retiró todo el plasma y a las plaquetas se les añadió 0,5 mL de agua miliQ, siendo determinados los AG mediante la

técnica descrita por Lepage y Roy (1986) como en el caso de los eritrocitos.

Para el estudio cromatográfico se empleó un cromatógrafo de gases HP-5890 Series II. La columna utilizada fue una columna capilar BPX70, 50m x 0,22mm ID, espesor de película 0,25  $\mu\text{m}$ , Cromlab (Barcelona. Spain).

La temperatura inicial del horno se mantuvo a 170°C durante 15 minutos y se aumentó gradualmente hasta 190°C durante 15 minutos a una velocidad de 3°C/minuto, hasta 245°C durante 30 minutos. El gas inerte utilizado es Helio (He) a una velocidad de flujo de 1,0 mL/minuto. La cantidad de FAME analizada no debe exceder de 60 ng individual o 150 ng en total para evitar la sobrecarga de la columna. El inyector se utiliza en el modo sin división, su temperatura se fija en 300°C y un flujo de purga de 6 mL/minuto se aplica 0,5 minutos después de la inyección. Un detector de ionización de llama (FID) se utiliza y se fijó en 250°C.

La identificación de los AG se llevó a cabo por comparación de los tiempos de retención de los derivados metilados de los AG estudiados, con los AG patrones, en las mismas condiciones cromatográficas y utilizando el parámetro de retención relativa al patrón interno.

El patrón interno elegido fue el AG heptadecanoico, por ser una sustancia similar a las analizadas y estar bien situado en el cromatograma, no interfiriendo con otros picos de la muestra. El resultado de los AG se expresa en forma de porcentaje respecto al total.



### 3.2.2 ÍNDICES ÁCIDOS GRASOS

Tras la obtención de los valores de los AG se procedió al cálculo de los siguientes índices:

- AG Saturados (SFAs): 12.0+14.0+16.0+18.0+24.0
- AG Monoinsaturados (MUFAs): 16.1+18.1+18.1T+24.1
- AG Poliinsaturados (PUFAs n-6):18.2.6+18.3.6+20.3.6+20.4.6
- AG Poliinsaturados (PUFAs n-3): 18.3.3+20.5.3+22.5.3+22.6.3
- AG Poliinsaturados totales (PUFAs): PUFAs n-6 + PUFAs n-3
- Índice n-6/ n-3= PUFAs n-6/PUFAs n-3
- Índice de desaturación  $\Delta 9$ : 18:1/18:0
- Índice de desaturación  $\Delta 6$  = 18:2/18:1
- Índice de desaturación  $\Delta 5$  = 20:4.6/C20:3.6
- Índice Peroxidación lípidica 1 (Ipxl 1): 20:4.6/12.0
- Índice Peroxidación lípidica 2 (Ipxl 2): 22:6.3/12:0
- Índice Peroxidación lípidica 3 (Ipxl 3): 20:4.6/16.0
- Índice Peroxidación lípidica 4 (Ipxl 4): 22:6.3/16:0

El índice n-6/n-3 nos expresa el coeficiente entre los AG totales n-6 y los n-3, que guarda relación con la estabilidad de la membrana celular (Dise, Goodman y Rassmusen, 1980).

Los índices “(Δ)” hacen referencia a la actuación de las desaturasas, enzimas responsables de la desaturación de AG formando dobles enlaces, por lo tanto, juegan un papel importante en la conversión de AG saturados en insaturados. Por su parte, los lpxl informan acerca de la ruptura de los AG de cadena larga en otros de cadena corta como consecuencia del daño oxidativo. (Halliwell y Gutteridge, 1985).

### **3.2.3 DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES NO ENZIMÁTICOS**

Respecto al estudio de los sistemas antioxidantes, centramos nuestro trabajo en la respuesta de los sistemas antioxidantes no enzimáticos, concretamente de las vitaminas C, y E.

#### **VITAMINA C**

Esta vitamina actúa como antioxidante en medios acuosos al ser vitamina hidrosoluble. Para su determinación se utilizó la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) según la técnica descrita por Manoharan y Schwille (1994).

A 100 µL de eritrocitos se le añaden 100 µL de ácido perclórico al 10% mezclado con ácido metafosfórico al 1% agitándose en vórtex durante 30 segundos y conservando en nevera durante 20 minutos. Posteriormente se

añaden 200  $\mu\text{L}$  de fase móvil y se centrifuga a 12000 r.p.m durante 2 minutos. Se recogen 20  $\mu\text{L}$  de sobrenadante siendo inyectados para la determinación de la vitamina C mediante HPLC. Para el análisis de plaquetas utilizamos 200  $\mu\text{L}$  de la solución de plaquetas y se siguen todos los pasos comentados para los eritrocitos.

La columna utilizada fue una C18 de 11 cm de longitud y 4,7 mm de diámetro interno, usando como fase móvil fosfato amónico 20 mM: 0,015% metafosfórico a un flujo de 1 mL/minuto. La detección se realizó a una longitud de onda de 240 nm.

Teniendo en cuenta el factor de dilución de la muestra y utilizando una recta patrón construida con ácido ascórbico comercial, se puede calcular la concentración eritrocitaria y plaquetaria en  $\mu\text{g/mL}$  de vitamina C en la muestra.

## **VITAMINA E**

Estas vitaminas actúan como antioxidantes en medios lipídicos como es la membrana celular, al ser vitaminas liposolubles. Para su determinación se utilizó la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) según la técnica descrita por Shearer (Shearer, 1986) reseñada a continuación.

A 100  $\mu\text{L}$  de plaquetas se le añaden como patrón interno 100  $\mu\text{L}$  de acetato de  $\alpha$ -tocoferol en etanol (50 mg/L) agitándose en vórtex durante 30 segundos. A continuación, se le añade 200  $\mu\text{L}$  de n-hexano y se agita de nuevo durante otros 30 segundos. Posteriormente se agita mecánicamente durante 10

minutos para proceder a una centrifugación a 12000 rpm durante 5 minutos. Una vez finalizada la centrifugación se extrae la capa superior y se seca en corriente de N<sub>2</sub> a 37° C. Inmediatamente antes de medir por HPLC se reconstituye en 100 µL de etanol, inyectándose 20 µL para la determinación de la vitamina E. Como en el caso anterior para su determinación en plaquetas partimos de 200 µL de solución de plaquetas.

La columna utilizada fue una Brownlee OD-MP de 10 cm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno, usando como fase móvil diclorometano en metanol 7% (v/v) a un flujo de 1 mL/minuto. La detección se realizó a una longitud de onda de 292 nm.

Mediante la comparación de áreas con el patrón interno, se puede calcular la concentración plaquetaria y eritrocitaria en µg/mL de vitaminas A y E en la muestra.

### **3.2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

El tratamiento estadístico de los resultados ha sido realizado mediante el programa estadístico “Statistical Package for de Social Sciences” (SPSS) 19.0 para Windows.

Para comprobar la normalidad de los datos, se realizaron las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilks. Para el análisis de los datos, se ha utilizado la prueba paramétrica T para muestras independientes. Se han

aceptado como significativas aquellas diferencias con una probabilidad de ser debidas al azar menor al 5%( $p < 0,05$ ). Los resultados se expresan como la media  $\pm$  la desviación estándar.



## ***RESULTADOS Y DISCUSIÓN***

---





## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 ANTROPOMETRÍA

En la tabla 2 se muestran las diferencias que existen entre el grupo de entrenados y el grupo control, en cuanto a edad, peso, altura, pliegues cutáneos, perímetros musculares y porcentajes graso, muscular y óseo.

**Tabla 2.** Características antropométricas y ergoespirométricas del grupo de entrenados y no entrenados.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>Edad (años)</b>	17,86 ± 0,36	18,23 ± 0,49	0,09
<b>Peso (Kg)</b>	<b>69,86 ± 4,53</b>	<b>72,10 ± 8,56</b>	<b>0,05*</b>
<b>Altura (m)</b>	1,78 ± 0,54	1,68 ± 0,39	0,22
<b>VO2 (ml/min/Kg)</b>	<b>61,02 ± 4,35</b>	<b>45,61 ± 4,95</b>	<b>0,00**</b>
<b>Abdominal (mm)</b>	<b>12,03 ± 3,03</b>	<b>19,01 ± 8,48</b>	<b>0,00**</b>
<b>Suprailiaco (mm)</b>	<b>8,45 ± 2,07</b>	<b>15,77 ± 6,73</b>	<b>0,00**</b>
<b>Subescapular(mm)</b>	<b>10,09 ± 1,98</b>	<b>14,26 ± 5,87</b>	<b>0,03*</b>
<b>Tricipital (mm)</b>	<b>9,01 ± 2,82</b>	<b>23,84 ± 38,79</b>	<b>0,00**</b>
<b>Muslo (mm)</b>	12,55 ± 3,92	15,90 ± 5,51	0,15
<b>Pierna (mm)</b>	8,43 ± 3,01	9,86 ± 4,06	0,07
<b>Per. Brazo (cm)</b>	27,05 ± 2,00	29,68 ± 2,10	0,10
<b>Per. Pierna (cm)</b>	<b>36,87 ± 1,75</b>	<b>35,97 ± 4,65</b>	<b>0,01**</b>
<b>% Graso</b>	<b>9,43 ± 1,08</b>	<b>14,40 ± 6,23</b>	<b>0,03*</b>
<b>% Muscular</b>	<b>48,05 ± 0,84</b>	<b>44,95 ± 0,85</b>	<b>0,02*</b>
<b>% Óseo</b>	<b>18,42 ± 1,43</b>	<b>16,55 ± 0,57</b>	<b>0,04*</b>
<b>% Residual</b>	24,1±0,00	24,1±0,00	0,33

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

En ella, podemos observar diferencias significativas entre ambos grupos en la variable peso, ( $p<0,05$ ), presentando el grupo de “entrenados (GE)” menor peso con respecto al grupo “no entrenados (GNE)”. En cuanto a

los pliegues cutáneos, se observan diferencias significativas en el pliegue abdominal, suprailiaco, tricipital ( $p < 0,01$ ) y subescapular ( $p < 0,05$ ), obteniendo valores inferiores el grupo “GE” con respecto al grupo de los “GNE”. Por otra parte, encontramos diferencias significativas en el perímetro de la pierna ( $p < 0,01$ ), siendo mayores los valores en el grupo “entrenados”. Cabe destacar las diferencias significativas encontradas en el % graso y el % muscular ( $p < 0,05$ ), observándose en los sujetos entrenados valores más elevados de % muscular y por el contrario valores más bajos de % graso que los sujetos no entrenados. Estos resultados muestran una especificidad hacia la práctica del fútbol, tal y como demuestran otros estudios en los que se han obtenido valores similares en los parámetros anteriormente descritos (Miranda et al., 2013; Väntinen et al., 2011; Tahara et al., 2006)

Para una mejor valoración y seguimiento del estudio separaremos los resultados de eritrocitos y plaquetas, realizando las discusiones también por separado.

### **3.2 RESULTADOS ERITROCITOS**

Las concentraciones encontradas en los porcentajes de los diferentes ácidos grasos estudiados se muestran en la Tabla 3. Los resultados muestran una diferencia ( $p < 0,01$ ) en el ácido laurico, ácido graso de cadena corta (12:0) entre los grupos E y el NE, con concentraciones mucho más altas en el GE. Se encontraron diferencias ( $p < 0,05$ ) en el ácido docosahexanoico (DHA,

22:6.3), con concentraciones más altas en los sujetos no entrenados, tal y como podemos observar en la tabla 3.

**Tabla 3.** Valores en porcentajes de ácidos grasos intraeritrocitarios en sujetos entrenados y no entrenados.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>12:0</b>	<b>0,31 ± 0,35</b>	<b>0,03 ± 0,04</b>	<b>0,00**</b>
<b>14:0</b>	0,16 ± 0,08	0,43 ± 1,02	0,22
<b>16:0</b>	20,76 ± 11,47	18,34 ± 0,85	0,33
<b>18:0</b>	16,19 ± 4,46	16,24 ± 0,92	0,96
<b>24:0</b>	6,35 ± 2,02	7,01 ± 1,67	0,24
<b>16:1</b>	0,17 ± 0,08	0,21 ± 0,09	0,13
<b>18:1.C</b>	12,39 ± 39	11,40 ± 0,80	0,16
<b>18:1.T</b>	0,44 ± 0,23	0,53 ± 0,39	0,33
<b>24:1</b>	6,85 ± 0,73	5,98 ± 3,23	0,22
<b>18:2.6</b>	11,51 ± 2,23	10,62 ± 1,18	0,11
<b>18:3.6</b>	0,08 ± 0,07	0,12 ± 0,23	0,53
<b>20:3.6</b>	1,80 ± 0,62	1,74 ± 0,47	0,71
<b>20:4.6</b>	18,31 ± 3,35	18,81 ± 0,92	0,51
<b>18:3.3</b>	0,45 ± 0,18	0,47 ± 0,04	0,67
<b>20:5.3</b>	0,88 ± 1,21	0,73 ± 0,28	0,60
<b>22:5.3</b>	1,21 ± 1,53	1,39 ± 0,45	0,59
<b>22:6.3</b>	<b>3,00 ± 3,51</b>	<b>5,08 ± 1,44</b>	<b>0,01**</b>

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

En la tabla 4 aparecen los resultados de las concentraciones totales de los ácidos grasos. Los sujetos más entrenados tenían concentraciones más altas de ácidos SFA, sin embargo, tenían concentraciones más bajas en los PUFAs. Los ácidos grasos n-6 mostraron porcentajes más altos en los E que en los NE, pero sin significación estadística.

**Tabla 4.** Valores en porcentajes de SFAs, MUFAs, PUFAs n6 y n3 eritrocitarios en sujetos entrenados y no entrenados.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>SFAs</b>	43,78 ± 8,95	42,06 ± 1,29	0,38
<b>MUFAs</b>	18,97 ± 3,61	18,98 ± 0,87	0,99
<b>PUFAs</b>	37,25 ± 6,38	38,96 ± 1,03	0,22
<b>PUFAs n-6</b>	31,71 ± 5,52	31,29 ± 1,29	0,06
<b>PUFAs n-3</b>	5,54 ± 4,75	7,67 ± 1,65	0,73

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

Los resultados obtenidos en la relación n-6/n-3 y los índices de desaturación ( $\Delta$ ) se reflejan en la Tabla 5. Se pueden detectar diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en el índice n-6/n-3 entre el GE y el GNE, siendo más alto en el GE.

**Tabla 5.** Valores en áreas de los índices deltas e índices n-6/n-3 en eritrocitos de sujetos entrenados y no entrenados.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>Índice n-6/n-3</b>	<b>8,74 ± 5,20</b>	<b>4,29 ± 1,09</b>	<b>0,00**</b>
<b>Índice <math>\Delta</math> 9</b>	1,94 ± 5,81	0,70 ± 0,06	0,32
<b>Índice <math>\Delta</math> 6</b>	0,92 ± 0,63	0,93 ± 0,71	0,71
<b>Índice <math>\Delta</math> 5</b>	10,79 ± 2,79	11,45 ± 2,57	0,42

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

Los resultados obtenidos en los índices de peroxidación lipídica (Lpxl) se muestran en la tabla 6. En ella observamos que ambos índices eran significativamente superiores ( $p < 0,01$ ) en el GE respecto al GNE.

**Tabla 6.** Valores de los Índices de peroxidación lipídica (lpxl) eritrocitarios en sujetos entrenados y no entrenados.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>Lpxl 1 (20:4.6/12.0)</b>	<b>76,54 ± 30,90</b>	<b>241,3 ± 60,38</b>	<b>0,00**</b>
<b>Lpxl 2 (22:6.3/12.0)</b>	<b>11,47 ± 2,52</b>	<b>66,64 ± 2,74</b>	<b>0,00**</b>
<b>Lpxl 3 (20:4.6/16.0)</b>	<b>1,00 ± 0,28</b>	<b>0,03 ± 0,05</b>	<b>0,00**</b>
<b>Lpxl 4 (22.6.3/16:0)</b>	<b>0,20 ± 0,34</b>	<b>0,01 ± 0,02</b>	<b>0,01**</b>

(\*\* $p < 0,01$ ) (\* $p < 0,05$ ) en comparación entrenados vs no entrenados.

Los resultados obtenidos para los antioxidantes no enzimáticos vitamina C y E se muestran en la tabla 7. En ella, vemos como los valores intraeritrocitarios de ambas vitaminas son muy significativamente ( $p < 0,001$ ) más bajos en el GE que en el GNE.

**Tabla 7.** Valores de las vitaminas C y E intraeritrocitarias en los grupos de estudio.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>Vitamina C (mg/L)</b>	<b>360,50 ± 75,86</b>	<b>545,90 ± 174,80</b>	<b>0,00**</b>
<b>Vitamina E (mg/L)</b>	<b>42,18 ± 6,10</b>	<b>52,64 ± 11,34</b>	<b>0,00**</b>

(\*\* $p < 0,01$ ) (\* $p < 0,05$ ) en comparación entrenados vs no entrenados.

Las correlaciones entre el grado de entrenamiento y los diferentes ácidos grasos, los diferentes índices analizados y los antioxidantes no enzimáticos en la membrana eritrocitaria, se presentan en las Tablas 8 y Tabla 9.

**Tabla 8.** Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los ácidos grasos, SUFAs, MUFAs y PUFAs n-3 y n-6 en eritrocitos.

	<b>Correlación de Pearson</b>	<b>Significación</b>
<b>12.0</b>	<b>0,51</b>	<b>0,00**</b>
<b>14.0</b>	-0,19	0,21
<b>16.0</b>	0,15	0,33
<b>18.0</b>	-0,01	0,96
<b>24.0</b>	-0,18	0,24
<b>16.1</b>	-0,23	0,13
<b>18.1.C</b>	0,22	0,16
<b>18.1.T</b>	-0,15	0,33
<b>24.1</b>	-0,19	0,22
<b>18.2.6</b>	0,25	0,11
<b>18.3.6</b>	-0,10	0,53
<b>20.3.6</b>	0,06	0,70
<b>20.4.6</b>	-0,10	0,51
<b>18.3.3</b>	-0,06	0,69
<b>20.5.3</b>	0,09	0,59
<b>22.5.3</b>	-0,08	0,60
<b>22.6.3</b>	<b>-0,37</b>	<b>0,01*</b>
<b>SFAs</b>	0,14	0,38
<b>MUFAs</b>	-0,00	0,99
<b>PUFAs</b>	-0,19	0,22
<b>PUFAs n-6</b>	-0,29	0,06
<b>PUFAs n-3</b>	0,05	0,73

(\*\*p<0,01)(\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

En la tabla 8, observamos una muy alta correlación positiva entre el ácido Laurico (12.0) (p<0,00), y el nivel de entrenamiento en el sentido de que los sujetos entrenados presentan más Laurico que los sujetos con menor

grado de entrenamiento. Además, existe una alta correlación entre el ácido docosahexaenoico (22.6 n-3) ( $p < 0,01$ ), pero en este caso negativa, en el sentido de que cuanto más entrenado están los sujetos menores concentraciones de este ácido existe en la membrana eritrocitaria.

**Tabla 9.** Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los índices n3/n6, índices deltas, de peroxidación lipídica y las vitaminas E y C en eritrocitos.

	Correlación de Pearson	Significación
<b>Índice n6/n3</b>	<b>0,52</b>	<b>0,00</b>
Delta $\Delta$ 9	0,15	0,32
Delta $\Delta$ 5	-0,13	0,42
<b>Lpxl 1 (20.4.6/12.0)</b>	<b>0,66</b>	<b>0,00**</b>
<b>Lpxl 2 (22.6.3/12.0)</b>	<b>0,79</b>	<b>0,00**</b>
<b>Lpxl 3 (20.4.6/16.0)</b>	<b>0,93</b>	<b>0,00**</b>
<b>Lpxl 4 (22.6.3/16.0)</b>	<b>0,37</b>	<b>0,01*</b>
<b>Vitaminas C</b>	<b>-0,58</b>	<b>0,00**</b>
<b>Vitaminas E</b>	<b>-0,51</b>	<b>0,00**</b>

(\*\* $p < 0,01$ )(\* $p < 0,05$ ) en comparación entrenados vs no entrenados.

Como se puede observar en la Tabla 9, se obtuvieron correlaciones positivas significativas en los índices n-6/n-3 ( $p < 0,001$ ) y de lpxl ( $p < 0,001$ ) con el entrenamiento. También, se obtuvo una relación inversa ( $p < 0,001$ ) entre las vitaminas intraeritrocitarias C y E y el grado de entrenamiento.

### 4.3 DISCUSION ERITROCITO

En primer lugar, indicar que el estudio se realizó al inicio de la temporada deportiva después de tres meses de descanso en el caso de los futbolistas, con solo dos semanas de entrenamiento. Además, antes de la toma de muestra los sujetos de ambos grupos descansaron de cualquier actividad durante 3 días. Con ello queremos llamar la atención que no existen influencias sobre los futbolistas del efecto agudo de un partido de futbol o de una sesión de entrenamiento, que podrían alterar los resultados en relación a la influencia del entrenamiento crónico al que se someten los futbolistas.

Uno de los factores que pueden influir en la composición de los ácidos grasos en las células es la dieta (Garaulet et al., 2001; Helge et al., 2001). Los efectos de la ingesta de ácidos grasos en la membrana de eritrocitos están bien documentados (Takkunen et al., 2013). Es por eso que la dieta fue parcialmente controlada en esta investigación. En primer lugar, ninguno de los participantes siguió ningún plan nutricional específico y ninguno de ellos tomó suplementos de minerales/vitaminas/ácidos grasos. En segundo lugar, porque los grupos participantes GE y GNE habían estado viviendo en la misma área geográfica reducida y habían seguido una dieta mediterránea similar durante al menos dos años antes del día de las extracciones de sangre.

En consecuencia, la variabilidad en el tipo de alimentos consumidos y en las rutinas nutricionales fue mínima. Además, el GE habían estado físicamente inactivos durante los últimos tres meses, y habían estado



siguiendo un plan de consumo calórico de mantenimiento, a fin de mantener un nivel de aptitud adecuado para la siguiente pretemporada y evitar aumentos en el peso corporal. En consecuencia, el plan nutricional de ambos grupos fue similar.

En este sentido, los resultados de este estudio muestran que el ejercicio físico aeróbico-anaeróbico sistemático a largo plazo causa cambios antropométricos, como se muestra en la Tabla 2. El GE mostró mayor % muscular ( $p < 0,05$ ) y menor % grasa ( $p < 0,05$ ) que el GNE. Este menor % de grasa y el mayor % muscular en el GE podrían estar relacionados con el aumento del metabolismo de los lípidos como fuente de energía (Heyward, 2008; Willmore y Costill, 2007). Estos resultados son consistentes con los obtenidos en otro estudio entre hombres de edad similar que estaban llevando a cabo un programa de entrenamiento de fútbol durante 10 semanas, y obtuvieron reducciones del % de grasa en un 4,72% (Miranda et al., 2013).

Es bien sabido que el entrenamiento físico regular induce cambios en la composición de ácidos grasos. En este sentido, Helge et al. (2001) observaron diferencias en los ácidos grasos de los fosfolípidos de las membranas musculares después de un período de entrenamiento de 4 semanas. Andersson et al. (1998) informó modificaciones en varios ácidos grasos como consecuencia de un período de entrenamiento de 10 semanas. Estos datos manifiestan una relación real entre el entrenamiento físico y la composición de ácidos grasos en las membranas. Experimentalmente, esta investigación difiere de los estudios mencionadas anteriormente porque esta

población deportiva ha estado practicando entrenamiento específico similar por períodos más largos (más de 24 meses). Las modificaciones informadas en esta investigación podrían implicar adaptaciones bioquímicas crónicas como consecuencia de las demandas específicas aeróbico-anaeróbicas del fútbol mantenidas durante largos períodos de tiempo.

En este sentido, se reconoce al eritrocito como una matriz adecuada para investigar las adaptaciones fisiológicas a largo plazo, en comparación con el plasma (Hodson et al., 2014; Arab, 2003; Albert et al., 2002; Smedman et al., 1999; Dayton et al., 1966). La composición de ácidos grasos de las membranas de eritrocitos desempeña un papel muy importante en la protección de la integridad celular durante el ejercicio físico extenuante. Estas condiciones pueden producir un alto estrés en las células del cuerpo, incluidos los eritrocitos, por medio de especies reactivas de oxígeno o radicales libres (ROS). Los metabolitos producidos durante el ejercicio extenuante obligan a las células a adaptar su composición para controlar estas situaciones y aumentar el rendimiento. Cuando estos estímulos se mantienen durante largos períodos de tiempo, el cuerpo humano desarrolla adaptaciones fisiológicas para evitar daños a su organismo al practicar deporte (fútbol en el caso de estos participantes). Por lo tanto, se puede afirmar que los fosfolípidos y los ácidos grasos juegan un papel importante en las adaptaciones bioquímicas de las membranas celulares contra el daño inducido por el ejercicio.

En nuestro estudio el GE presentó niveles más altos ( $p < 0,01$ ) del AG 12:0 y más bajos del 22:6.3 ( $p = 0,01$ ) que el GNE. No se han encontrado estudios que relacionen la realización de ejercicio con el AG 12:0. Sin embargo, el AG 22:6.3 se considera como uno de los ácidos grasos esenciales, y está directamente relacionado con la presión arterial (Mori et al., 1999).

Para la explicación de estos resultados pueden ayudar informes previos. Así, Arsic et al. (2012) realizó un análisis comparativo de los perfiles de ácidos grasos en las membranas de los eritrocitos en jugadoras femeninas de fútbol y waterpolo, siendo ambas modalidades de ejercicios energéticos similares (aeróbica-anaeróbica); encontraron una proporción significativamente mayor de ácido oleico (18:1C) en el grupo de futbolistas que en el grupo control. En los deportes anaeróbicos, como el boxeo, se registraron valores inferiores predominantes de ácido linoleico (18:2.6) en comparación con el grupo control (Tepsic et al., 2013). Por otro lado, en deportes como el waterpolo, hubo una disminución del AG esteárico (18:0) y un aumento del palmítico (16:0) y palmitoleico (16:1) entre los deportistas en comparación con el grupo control y los grupos de jugadores de fútbol (Arsic et al., 2012).

Estos hallazgos sugieren que la composición de ácidos grasos entre los deportistas varía de acuerdo con el deporte practicado y no se pueden extraer conclusiones claras sobre los perfiles de ácidos grasos y deportes, ya

que parece que cada ácido graso mostró una respuesta diferente a cada tipo de ejercicio.

Este hecho fue especialmente notable entre las jugadoras de fútbol femenino, cambiando en un estudio el ácido oleico (18:1C), mientras que en otro estudio, también entre jugadores de fútbol profesional, fué el palmitoleico (16:1) el modificado (Tepsic et al., 2009).

Los resultados obtenidos en este estudio muestran valores más altos de SFA y PUFAs n-6 y n-3 más bajos en los participantes entrenados que en los no entrenados (Tabla 4). A pesar de que no se obtuvieron diferencias significativas, estos resultados concuerdan con los encontrados en otros estudios donde se practicó ejercicio aeróbico-anaeróbico, uno entre jugadores de baloncesto, con una respuesta similar en SFA y PUFA n-6 (Tepsic et al., 2009), y entre boxeadores con similar tendencia en SFA (Tepsic et al., 2013). Por lo tanto, si se tienen en cuenta los estudios previos, se puede afirmar que existe un cambio claro en los SFA y n-6 en respuesta al ejercicio aeróbico-anaeróbico.

Los PUFAs juegan un papel importante en la protección del organismo (Woodside et al., 2005). Los AG n-3 reducen los triglicéridos plasmáticos, la frecuencia cardíaca en reposo y la presión arterial y, además de mejorar el llenado y la eficacia del miocardio, reducir la inflamación y mejorar la función vascular (Mozaffarian y Wu, 2011). Estos datos revelan un claro beneficio saludable de la práctica de ejercicio aeróbico-anaeróbico.

Además, se obtuvieron diferencias significativas en el índice n-6/n-3 (índice omega-3) y los índices de desaturación ( $\Delta$ ) (Tabla 5) entre el GE y el GNE, siendo los valores más altos ( $p < 0.01$ ) en el GE. Tepsic et al. (2013) encontró una mayor relación n-6/n-3 en los boxeadores en comparación con los del grupo de control; se demostró que la relación n-6/n-3 modula los procesos de inflamación y autoinmunidad. Recientemente se ha demostrado que los bajos niveles séricos en la relación PUFAs n-6/n-3 inducen beneficios para la salud, mientras que las relaciones más altas pueden desarrollar efectos adversos (Yang et al., 2016). En este sentido, los datos obtenidos podrían reflejar posibles condiciones adversas inducidas por el ejercicio en los deportistas. Los índices de desaturación no sufrieron cambios significativos con el entrenamiento.

Sin embargo, se encontraron diferencias significativas en los índices Lpxl asociados a ácidos grasos de cadena corta (12:0) con valores aún más altos en los sujetos entrenados. El daño oxidativo a los lípidos de la membrana es el factor más importante para disminuir la fluidez de la membrana (Shigenaga et al., 1994). El mayor daño causado por los radicales libres es la peroxidación de los PUFAs, que causa mal funcionamiento de las membranas celulares (Cheeseman et al., 1993; Halliwell et al., 1991).

El aumento del AG 12:0 en el GE podría tener dos posibles explicaciones. El primero podría deberse a una peroxidación lipídica de los PUFAs n3, y esto podría ser necesario para aumentar la rigidez de la membrana de los eritrocitos, que se somete a una gran presión capilar

durante la actividad física. La segunda explicación para esto podría ser que el entrenamiento de alta intensidad llevado a cabo por los jugadores de fútbol podría afectar los niveles del sistema antioxidante celular para protegerlos contra la actividad ROS. En este sentido, las menores concentraciones intraeritrocitarias de vitamina C y E en el GE (Tabla 7), estarían en relación con esta última posibilidad comentada. El descenso en ambas vitaminas en los futbolistas podría ser debido al uso que como antioxidantes tendría que realizar los eritrocitos para defenderse el exceso de ROS producidos por los deportistas.

Las correlaciones entre los ácidos grasos, los diversos índices, las vitaminas C y E y el grado de entrenamiento se muestran en la Tabla 8 y en la Tabla 9. Los datos obtenidos en la tabla 8 muestran una correlación positiva entre los niveles del AG 12:0 y el entrenamiento en el sentido de que cuanto más entrenamiento se realiza mayores son estos valores. Por el contrario, se presentaron correlaciones negativas con las concentraciones del AG 22:6.3. El índice omega n-3, presentó una muy significativa correlación positiva con el entrenamiento, indicando una gran dependencia del mismo.

Los índices de Lp<sub>xl</sub>, tanto n-6 como n-3, presentaron una alta correlación con el entrenamiento lo que podría indicar una destrucción de los ácidos grasos de cadena larga 22:6.3 y 20:4.6 como resultado de la peroxidación lipídica en los futbolistas debido al entrenamiento que realizan. Estos datos acompañados de una muy significativa ( $p=0.00$ ) inversa correlación entre las concentraciones intraeritrocitarias de vitaminas C y E,

con el grado de entrenamiento indicarían que se produce con el entrenamiento un alto grado de estrés oxidativo en los eritrocitos que no podrían mantener las enzimas antioxidantes teniendo que utilizar los antioxidantes no enzimáticos vitaminas C y E para esas funciones. Por tanto, el aumento del estrés oxidativo al que está sometido el eritrocito del futbolista al practicar deporte produce un aumento de la peroxidación lipídica (Sumikawa et al., 1993), que destruiría sobre todo los ácidos grasos de cadena larga como el 22:6.3 que en nuestro estudio eran significativamente menores que en el GNE.

#### 4.4 RESULTADOS PLAQUETAS

En la tabla 10, se muestran los porcentajes de los ácidos grasos en las plaquetas. En ella observamos unos valores inferiores ( $p < 0,05$ ) de los PUFAs n-3 en los futbolistas, concretamente en el 18:3.3 ( $p < 0,001$ ), 20:5.3 ( $p < 0,05$ ) y del 22:6.3 ( $p < 0,05$ ), también, se observan concentraciones inferiores del 24:0 ( $p < 0,001$ ). Por otra parte observamos cambios significativos en los valores de los PUFAs n-6 en los futbolistas, siendo superiores el 18:2.6 ( $p < 0,05$ ) e inferiores en el 20:3.6 ( $p < 0,001$ ) con respecto al grupo control, así como valores más elevados en el 16:1 ( $p < 0,05$ ) en los futbolistas.

**Tabla 10.** Valores en porcentajes de ácidos grasos intraplaquetarios en sujetos entrenados y no entrenados.

	GE	GNE	Significación
<b>12:0</b>	4,43±8,04	1,32±2,61	0,09
<b>14:0</b>	0,82±1,04	0,42±0,29	0,09
<b>16:0</b>	14,19±3,26	12,46±3,83	0,11
<b>18:0</b>	11,17±3,35	11,35±3,32	0,86
<b>24:0</b>	<b>1,81±1,41</b>	<b>4,63±3,97</b>	<b>0,00**</b>
<b>16:1</b>	<b>0,40±0,28</b>	<b>0,27±0,10</b>	<b>0,04*</b>
<b>18:1.C</b>	13,38±4,05	13,41±3,93	0,98
<b>18:1.T</b>	1,06±2,48	0,28±0,38	0,15
<b>24:1</b>	4,97±10,02	5,58±3,07	0,79
<b>18:2.6</b>	<b>16,21±6,06</b>	<b>12,71±4,06</b>	<b>0,03*</b>
<b>18:3.6</b>	0,73±1,79	0,30±0,20	0,27
<b>20:3.6</b>	<b>1,32±0,61</b>	<b>1,96±0,72</b>	<b>0,00**</b>
<b>20:4.6</b>	17,83±5,11	18,46±3,07	0,62
<b>18:3.3</b>	<b>0,76±0,44</b>	<b>1,35±0,50</b>	<b>0,00**</b>
<b>20:5.3</b>	<b>0,96±2,62</b>	<b>2,40±2,67</b>	<b>0,04</b>
<b>22:5.3</b>	4,06±9,82	4,84±3,84	0,73
<b>22:6.3</b>	<b>2,94±4,15</b>	<b>4,11±2,35</b>	<b>0,04</b>

(\*\* $p < 0,01$ ) (\* $p < 0,05$ ) en comparación entrenados vs no entrenados.



En la tabla 11 aparecen los resultados de las concentraciones totales de los ácidos grasos. Los sujetos más entrenados tenían concentraciones más altas de ácidos SFA, sin embargo, tenían concentraciones más bajas en los PUFAs. Los ácidos grasos n-6 mostraron porcentajes más altos en los E que en los NE, pero sin significación estadística, sin embargo, los ácidos grasos n-3 presentaron significación estadística obteniendo valores más bajos los sujetos entrenados ( $p < 0,05$ ).

**Tabla 11.** Valores en porcentajes de SUFAs, MUFAs, PUFAs n6 y n3 plaquetarios en sujetos entrenados y no entrenados.

	GE	GNE	Significación
<b>SUFAs</b>	32,43±9,16	30,19±4,07	0,30
<b>MUFAs</b>	19,81±9,44	19,55±2,81	0,90
<b>PUFAs</b>	44,82±9,33	46,15±3,76	0,54
<b>PUFAs n-6</b>	36,10±10,28	33,44±6,13	0,22
<b>PUFAs n-3</b>	<b>8,72±12,65</b>	<b>12,71±8,28</b>	<b>0,04</b>

(\*\* $p < 0,01$ ) (\* $p < 0,05$ ) en comparación entrenados vs no entrenados.

Los resultados obtenidos en la relación entre los ácidos grasos n-6/n-3 y los índices de desaturación ( $\Delta$ ), en las plaquetas, se reflejan en la Tabla 12. Se pueden detectar diferencias significativas ( $p < 0,01$ ) en el índice n-6/n-3 entre el GE y el GNE, siendo más alto en el GE. Los índices  $\Delta 5$  ( $p = 0,03$ ) y  $\Delta 6$  ( $p = 0,04$ ) eran superiores en los sujetos entrenados respecto a los sujetos no entrenados.

**Tabla 12.** Valores en de los índices deltas e índices n-6/n-3 en plaquetas de sujetos entrenados y no entrenados.

	GE	GNE	Significación
Índice n-6/n-3	<b>9,97 ± 9,00</b>	<b>4,56 ± 3,50</b>	<b>0,01**</b>
Índice Δ 9	1,65 ± 2,10	1,19 ± 0,19	0,32
Índice Δ 6	<b>1.21 ± 0.97</b>	<b>0.94 ± 0.96</b>	<b>0.04</b>
Índice Δ 5	<b>18,03 ± 13,37</b>	<b>11,10 ± 5,26</b>	<b>0,03*</b>

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados

Los resultados obtenidos en los índices de lipoperoxidación (Lpxl) se muestran en la tabla 13. En ella observamos que ambos índices eran similares en ambos casos, mostrando diferencias significativas el índice Lpxl 3 (20.4.6/16.0) (p<0,02).

**Tabla 13.** Valores en áreas de los Índices de peroxidación lipídica (Lpxl) plaquetarios en sujetos entrenados y no entrenados.

	GE	GNE	Significación
Lpxl 1 (20.4.6/12.0)	4,76 ± 9,26	1,89 ± 3,28	0,18
Lpxl 2 (22.6.3/12.0)	0,56 ± 1,60	0,65 ± 1,23	0,82
Lpxl 3 (20.4.6/16.0)	<b>1,00 ± 0,28</b>	<b>0,03 ± 0,05</b>	<b>0,02*</b>
Lpxl 4 (22.6.3/16.0)	0,28 ± 0,66	0,44 ± 0,39	0,35

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

Los resultados obtenidos para los antioxidantes no enzimáticos vitamina C y E se muestran en la tabla 14. En ella, vemos como los valores plaquetarios de ambas vitaminas son significativos (p<0,01), siendo más alta en el GE que en el GNE.

**Tabla 14.** Valores de las vitaminas C y E intraplaquetarias en los grupos de estudio.

	<b>GE</b>	<b>GNE</b>	<b>Significación</b>
<b>Vitamina C (mg/L)</b>	<b>120,48 ± 46,80</b>	<b>30,23 ± 13,43</b>	<b>0,00**</b>
<b>Vitamina E (mg/L)</b>	<b>57,06 ± 11,13</b>	<b>31,70 ± 8,76</b>	<b>0,00**</b>

(\*\*p<0,01) (\*p<0,05) en comparación entrenados vs no entrenados.

El estudio de correlaciones entre el grado de entrenamiento y los ácidos grasos, los diferentes índices estudiados y las vitaminas E y C en plaquetas están reflejados en la tabla 15 y 16.

**Tabla 15.** Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los ácidos grasos, SUFAs, MUFAs y PUFAs n3 y n6 en plaquetas.

	<b>Correlacion de Pearson</b>	<b>Significación</b>
<b>12:0</b>	-0,26	0,09
<b>14:0</b>	-0,26	0,09
<b>16:0</b>	-0,24	0,11
<b>18:0</b>	0,03	0,86
<b>24:0</b>	0,44	<b>0,00**</b>
<b>16:1</b>	-0,31	<b>0,04*</b>
<b>18:1.C</b>	0,01	0,98
<b>18:1.T</b>	-0,22	0,15
<b>24:1</b>	0,04	0,79
<b>18:2.6</b>	-0,33	0,03*
<b>18:3.6</b>	-0,17	0,27
<b>20:3.6</b>	0,44	<b>0,00**</b>
<b>20:4.6</b>	0,08	0,62
<b>18:3.3</b>	0,54	<b>0,00**</b>
<b>20:5.3</b>	0,27	0,08
<b>22:5.3</b>	0,05	0,73
<b>22:6.3</b>	0,18	0,25
<b>SUFAs</b>	0,16	0,30
<b>MUFAs</b>	0,02	0,90
<b>PUFAs</b>	-0,10	0,54
<b>PUFAs n-6</b>	0,16	0,30
<b>PUFAs n-3</b>	-0,19	0,22

(\*p<0,05; p<0,01) en comparación entrenados vs no entrenados.

En la tabla 15 observamos una alta correlacion positiva entre el ácido Lignocérico (24:0) ( $p < 0,00$ ), Eicosadienoico (20:3:6) ( $p < 0,00$ ),  $\alpha$ -linolénico (18:3:3) ( $p < 0,00$ ), y el grado de entrenamiento, por el contrario una correlacion inversa con el ácido Palmitoleico (16:1) ( $p < 0,04$ ).

**Tabla 16.** Correlaciones entre el grado de entrenamiento y los índices n3/n6, índices deltas, de peroxidación lipídica y las vitaminas E y C en plaquetas.

	<b>Correlación de Pearson</b>	<b>Significación</b>
<b>Índice n6/n3</b>	<b>0,38</b>	<b>0,02*</b>
<b>Delta <math>\Delta</math> 9</b>	0,15	0,32
<b>Delta <math>\Delta</math> 5</b>	<b>0,33</b>	<b>0,03*</b>
<b>Lpxl 1 (20.4.6/12.0)</b>	0,21	0,18
<b>Lpxl 2 (22.6.3/12.0)</b>	-0,04	0,82
<b>Lpxl 3 (20.4.6/16.0)</b>	<b>-0,35</b>	<b>0,02*</b>
<b>Lpxl 4 (22.6.3/16.0)</b>	-0,14	0,35
<b>Vitaminas C</b>	<b>0,80</b>	<b>0,00**</b>
<b>Vitaminas E</b>	<b>0,79</b>	<b>0,00**</b>

(\*\* $p < 0,01$ )(\* $p < 0,05$ ) en comparación entrenados vs no entrenados.

Como se puede observar en la Tabla 16, se obtuvieron correlaciones positivas significativas en los índices n-6/n-3 ( $p < 0,02$ ),  $\Delta$  5 ( $p < 0,03$ ) y entre las vitaminas intraplaquetarias E y C ( $p < 0,00$ ) con el entrenamiento. También, se obtuvo una relación inversa con el índice Lpxl 3 (20.4.6/16.0) ( $p < 0,02$ ) y el grado de entrenamiento.

## 4.5 DISCUSIÓN PLAQUETAS

Las plaquetas son unas células anucleadas que tienen unas importantes diferencias con los eritrocitos:

- una vida media en sangre de 8-10 días, por 120 de los eritrocitos,
- función importante en la reparación de los tejidos, en la coagulación, y en la salud de las arterias,
- presencia de mitocondrias,
- producción de eicosanoides procedentes de los ácidos grasos de las familias n-6 y n-3.
- Producción de óxido nítrico.

El tener una vida media corta permite poder valorar en ellas mucho antes que en los eritrocitos posibles cambios inducidos como en nuestro caso por el entrenamiento físico.

Se dispone de pocos datos sobre la influencia del entrenamiento con ejercicios regulares en la agregación y función plaquetaria. Los ensayos aleatorizados controlados previos se diseñaron para determinar los efectos del entrenamiento en las plaquetas (Wang et al., 1997; Wang et al., 1995). Los resultados de estos estudios han demostrado que el entrenamiento físico de intensidad moderada en hombres y mujeres jóvenes y sanos reduce la adhesión y agregación de las plaquetas en reposo y en respuesta al ejercicio intenso agudo. La adherencia de las plaquetas y la agregación en los hombres aumentaron con el ejercicio intenso agudo antes del entrenamiento,

pero esta respuesta se atenuó después del entrenamiento. El desentrenamiento se asoció con un efecto inverso sobre el reposo y los efectos posteriores al ejercicio (Wang et al., 1995). Además, la hiperactividad plaquetaria aguda inducida por el ejercicio antes del entrenamiento ya no era aparente después del entrenamiento y estas alteraciones favorables en la adherencia y función de las plaquetas se revirtieron con el desentrenamiento (Wang et al., 1997).

Los estudios más recientes se diseñaron para superar algunos de los problemas metodológicos para medir la agregación plaquetaria e indicaron que el ejercicio extenuante activa las plaquetas en sedentarios, pero no en sujetos activos y sanos entrenados (Kestin et al., 1993). Esta diferencia en la agregación plaquetaria se atribuyó a una mayor respuesta de catecolamina al ejercicio en individuos físicamente inactivos en comparación con aquellos que están entrenados físicamente. Como apoyo, un estudio en hombres de mediana edad con sobrepeso y con hipertensión leve también mostró que el entrenamiento con ejercicios de intensidad baja a moderada se relacionó con una disminución de la agregación plaquetaria (Rauramaa et al., 1986). El entrenamiento físico también es seguido por un aumento de la prostaciclina, un potente inhibidor de la agregación plaquetaria y también un aumento del óxido nítrico, que también se sabe que posee un potente efecto antiplaquetario (Rauramaa et al., 1986). Estos resultados concuerdan con informes anteriores Davis et al. (1990) que demuestran una disminución significativa en la agregación de plaquetas en respuesta a un episodio agudo

de ejercicio después del entrenamiento de resistencia durante 12 semanas. Otro hallazgo interesante es que los efectos adversos desfavorables asociados al envejecimiento en las plaquetas parecen atenuarse con el entrenamiento físico (Gonzales et al., 1996).

El ejercicio regular y el acondicionamiento físico pueden reducir el riesgo de eventos trombóticos vasculares y proteger contra enfermedades cardiovasculares. La evidencia reciente sugiere que 10 semanas de entrenamiento con ejercicios en ratas conducen a un aumento en los niveles de óxido nítrico derivado de plaquetas y plasma. Es probable que estos cambios estén mediados por la mejora de la biodisponibilidad del óxido nítrico en las plaquetas y el potencial de liberación de óxido nítrico derivado de las plaquetas después del entrenamiento físico (Wang et al., 2000).

El ejercicio físico puede invocar efectos beneficiosos sobre las plaquetas a través de diferentes mecanismos. Por ejemplo, se sabe que el ejercicio realizado regularmente aumenta la HDL, lo que puede estimular la producción de prostaciclina y, por lo tanto, disminuir la agregación plaquetaria. Además, el ejercicio aumenta la liberación de óxido nítrico, un potente mediador antiplaquetario que suprime la reactividad de las plaquetas (Gawel et al., 1981; Haber et al., 1980). Sin embargo, las reducciones en la agregación plaquetaria en reposo e inducidas por el ejercicio retroceden al nivel de preentrenamiento después de la eliminación del acondicionamiento

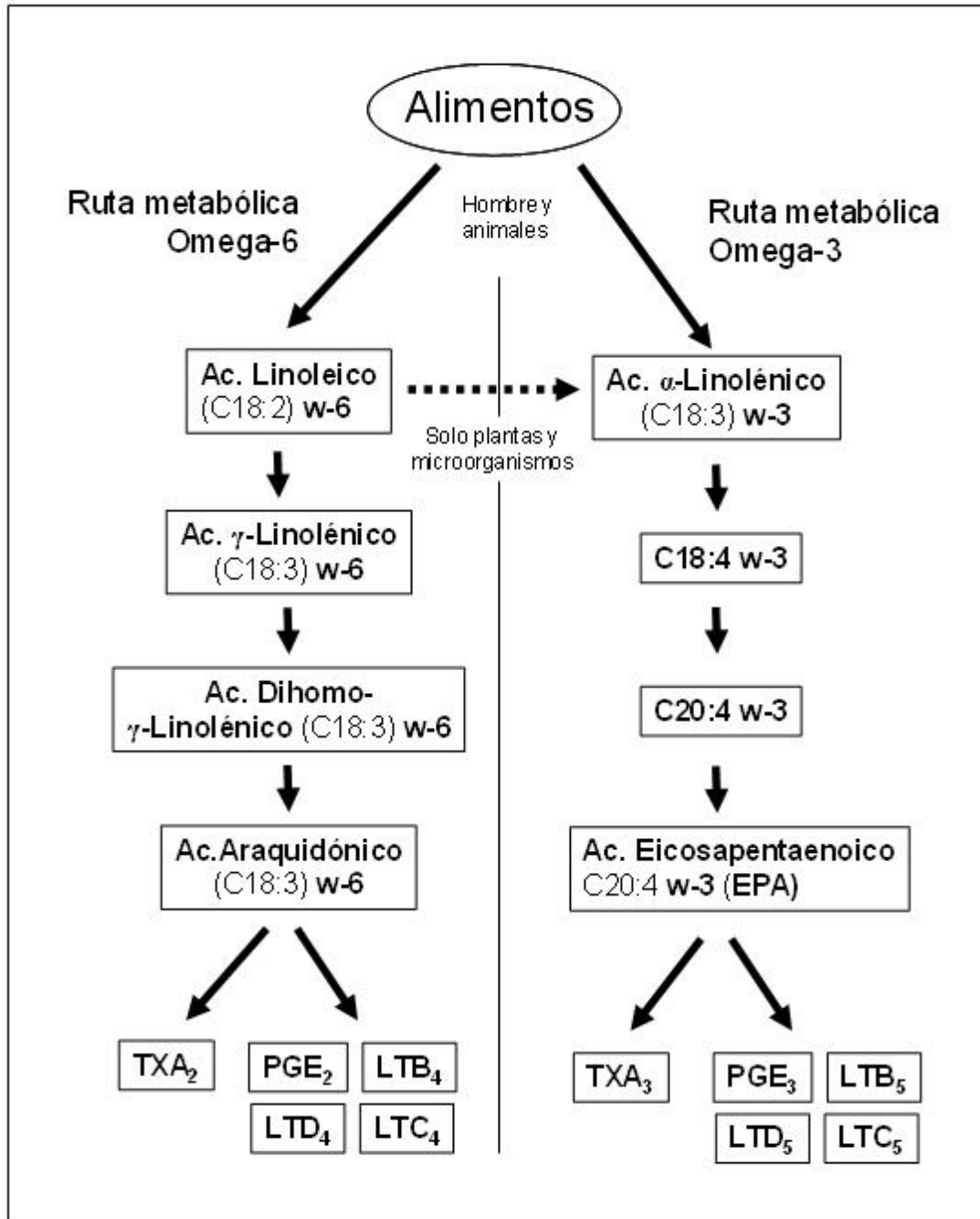
(Gonzales et al., 1996), apoyando así informes anteriores (Wang et al., 1997; Wang et al., 1995).

Los escasos ensayos experimentales realizados en el pasado para determinar los efectos del entrenamiento físico en las plaquetas se realizaron principalmente en individuos sanos (Bartsch et al., 1999; Wang et al., 1997; Gonzales et al., 1996; Wang et al., 1995; Davis et al., 1990; Rauramaa et al., 1986). Los datos generados a partir de estos estudios sugirieron que el entrenamiento físico se asocia con efectos favorables en plaquetas. Aunque el mecanismo preciso por el cual el entrenamiento físico desensibiliza las plaquetas no se comprende completamente, esto podría atribuirse a un aumento de la prostaciclina y / o del óxido nítrico; se sabe que ambos son potentes inhibidores de la agregación plaquetaria. Esto puede haber sido asociado con, y contribuido a, la desensibilización de las plaquetas inducida por el entrenamiento físico en respuesta al ejercicio (Wang et al., 2002; Bartsch et al., 1999; Wang et al., 1997; Gonzales et al., 1996; Wang et al., 1995; Davis et al., 1990; Rauramaa et al., 1986). Estudios previos indicaron que el acondicionamiento físico produce varios cambios en el recuento y función plaquetaria. Por ejemplo, la trombocitosis inducida por el ejercicio es menos pronunciada en sujetos entrenados físicamente en comparación con individuos no entrenados. Además, el recuento de plaquetas en reposo parece ser un poco menor en individuos entrenados en comparación con los no entrenados, posiblemente debido a una expansión del volumen plasmático



(Eichner, 1990). Teóricamente, la expansión del volumen plasmático puede acortar el tiempo de contacto de las plaquetas con la pared del vaso, por lo que es menos probable que se activen por un ligero daño endotelial (Turitto y Weiss, 1980). Se encontró un efecto similar en un estudio transversal anterior que sugiere que las plaquetas de la sangre de individuos entrenados físicamente tienden a ser menos sensibles a la agregación por adrenalina que los sujetos no entrenados. Esto se atribuyó a concentraciones más bajas de receptores adrenérgicos  $\alpha_2$  y que estos receptores tienen menor afinidad con la adrenalina en atletas entrenados (Lehmann et al., 1986). Una serie de estudios en pacientes cardíacos confirmaron estos resultados luego de un programa de entrenamiento de rehabilitación (Williams et al., 1981).

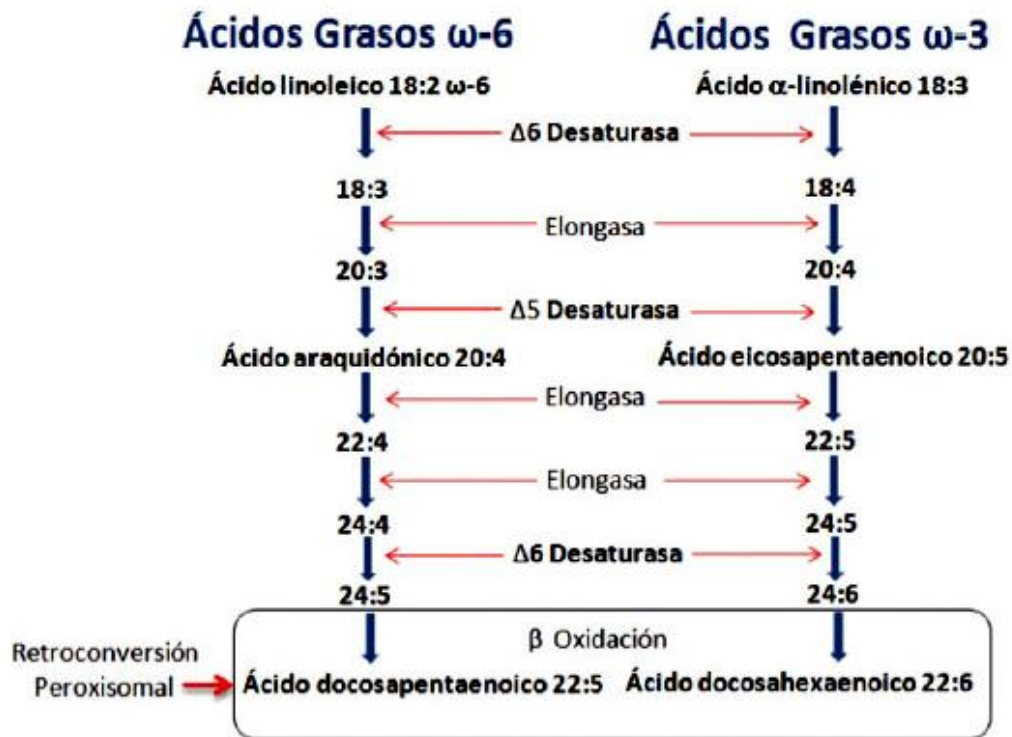
En relación a estas mejoras en las funciones fisiológicas de las plaquetas en los sujetos entrenados pensamos que también la producción de eicosanoides en las plaquetas podría ser uno de los factores que mejorarían estas funciones. Así, la membrana de las plaquetas puede tener mayor o menor contenido de PUFAs n-6 o n-3 dependiendo del tipo de ingesta en la dieta (fig 1), pero también, dependerá de la capacidad de las enzimas desaturasas y elongasas para actuar sobre los ácidos grasos esenciales linoleico (18:2 n-6) y linolénico (18:3 n-3) y transformarlos en sus principales productos finales araquidónico (20:4 n-6) y eicosapentaenoico (20:5 n-3), fig 1.



Tomado de Pamela mason dietary supplements third edition pharmaceutical press

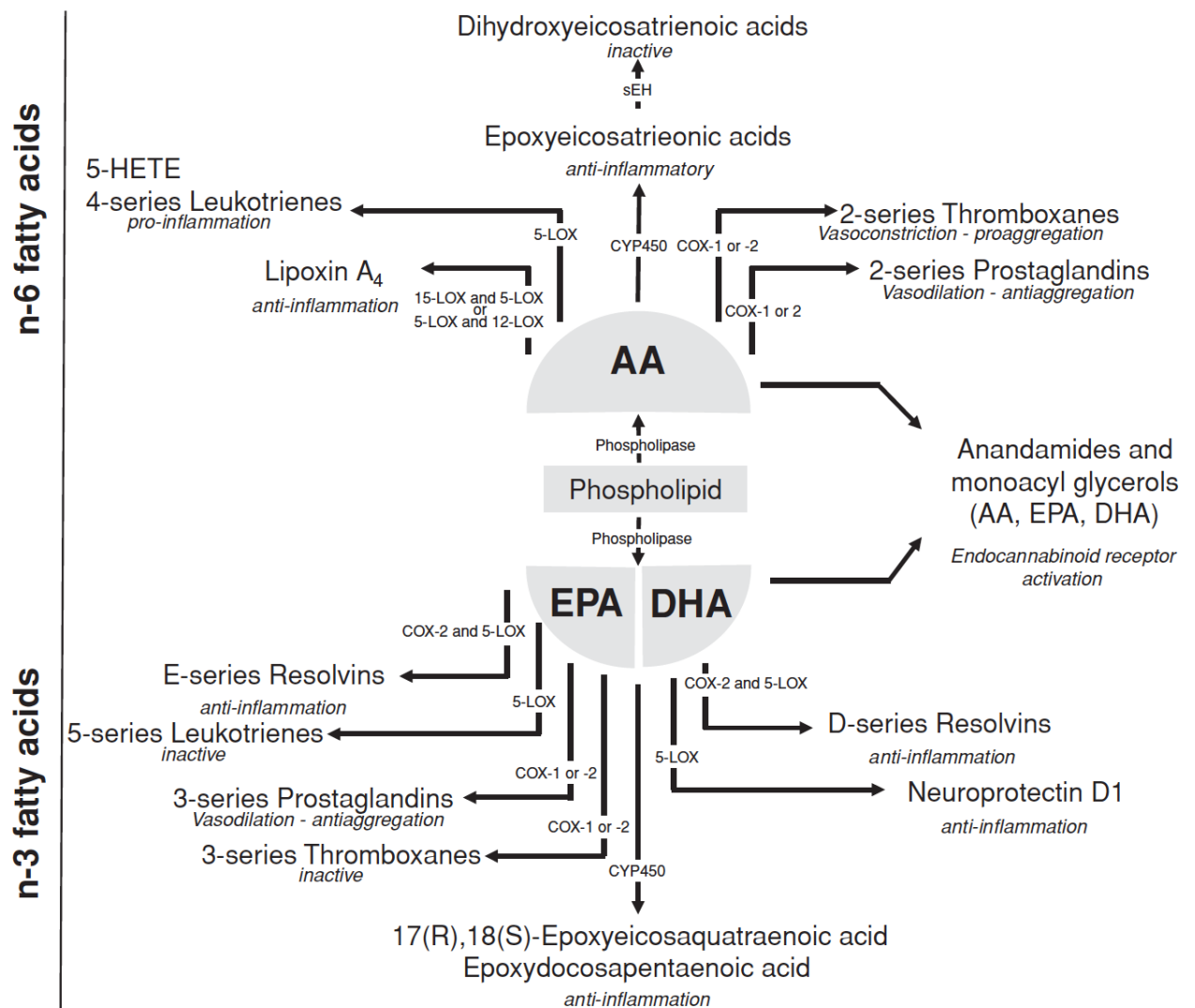
**Figura 1.** Metabolismo de los ácidos grasos n3-n6 desde los alimentos.

Pudiendo ser estos productos terminales depositados en las membranas celulares y desde aquí utilizados por las células endoteliales y las plaquetas para producir los eicosanoides.



**Figura 2.** Metabolización de ácidos grasos poliinsaturados n-6 y n-3. Vías de desaturación y elongación de los ácidos linolenicos y α-linolenico.

A partir de estos precursores incluidos en los distintos fosfolípidos de las membranas de las células endoteliales o plaquetarias y mediante la acción de la enzima fosfolipasa A2 se van a producir dos tipos de eicosanoides diferentes y además con propiedades diferentes (fig 2).



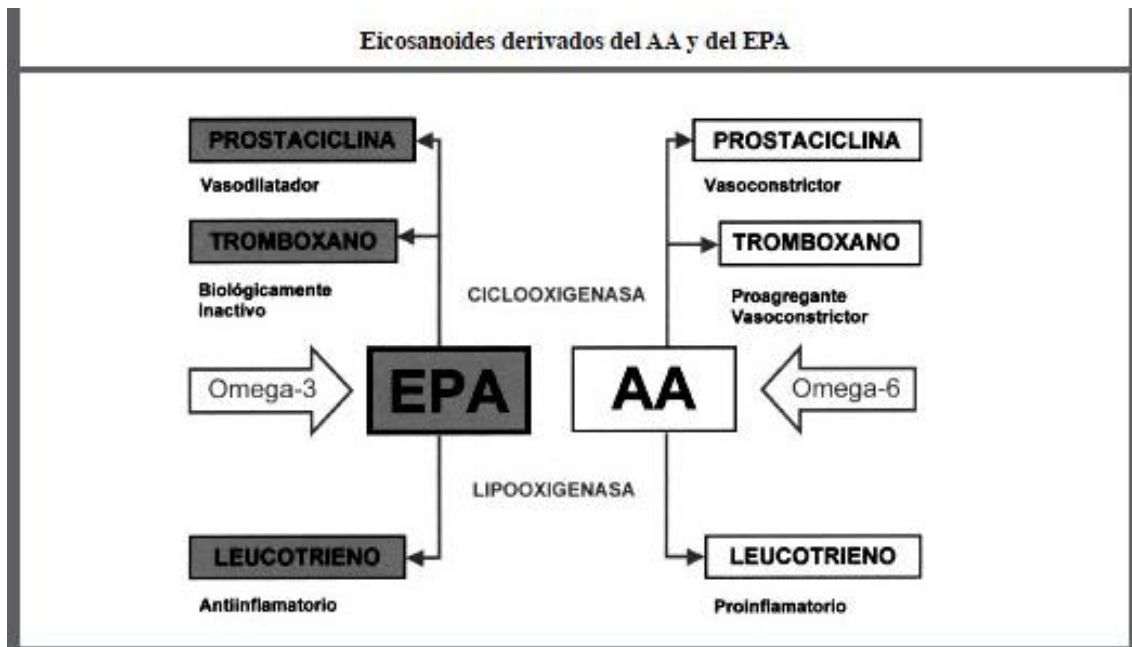
Tomado de wiliam S. Harris, Omega 3 fatty acids from encyclopedia of dietary supplements coates et all., ed 2010.

**Figura 3.** Metabolización de eicosanoides y docosanoides del EPA y DHA contrastados con los metabolitos del ácido araquidónico (AA)

Las plaquetas son muy ricas en la enzima tromboxano sintetasa, por ello, los eicosanoides mayormente producidos en las plaquetas son los tromboxanos (Tx) y también las lipoxinas (Lx).

Los Tx derivados del AA son el Tx A2 y el Tx B2. Estos tienen acciones vasoconstrictoras y proagregantes vasculares. Por su parte, los derivados del EPA son el TX A3 y el TX B3 son inactivos.

De estos precursores también se pueden producir, en las células endoteliales, otros tipos de eicosanoides como son las prostaglandinas y prostaciclina (PG), la PGI2 se produce a partir del AA, tiene propiedades vasodilatadoras y antiagregantes y la PGI3 se produce a partir del EPA y tiene propiedades también vasodilatadoras y como antiagregante plaquetario.



**Figura 4.** Eicosanoides derivados del ácido araquidónico (AA) y del Eicosapentaenoico (EPA).

En condiciones normales de ingesta de AA y EPA, como se ve en la figura 4, como consecuencia de la producción de eicosanoides a partir del AA en plaquetas y endotelio, predomina en las arterias un estado vasoconstrictor,

proagregante y proinflamatorio. Sin embargo, los eicosanoides producidos a partir del EPA son vasodilatadores y antiinflamatorios.

Los resultados encontrados en nuestro estudio apoyarían nuestra idea inicial en relación a una mayor producción y utilización de los eicosanoides derivados de la serie n-3.

Así, encontramos en nuestro estudio en las plaquetas que en el GE, a diferencia del GNE, en sus membranas menor concentración de ácidos grasos de la familia n-3, sobre todo 18:3.3 ( $p=0.00$ ), 20:5.3 y 22:6.3 ( $p=0.04$ ). Esta situación era acompañada por una mayor concentración de los ácidos grasos n-6 a expensas de un gran incremento del 18:2.6 sobre todo. A esto le acompañaría un incremento en las membranas plaquetarias de la relación n-6/n-3 y en los índices de desaturación  $\Delta 5$  y  $\Delta 6$ . Estas menores concentraciones de los ácidos grasos n-3, podría ser debido a una predilección de la fosfolipasa A de las plaquetas por los derivados n-3, inducido por el entrenamiento físico, lo que llevaría a unas plaquetas con menos poder antiagregante y vasoconstrictor, mejorando por tanto las funciones de las mismas.

Cuando analizamos los índices de peroxidación lipídica observamos que, a diferencia de lo que ocurría en los eritrocitos que presentaban unos índices en el sentido de una muy significativa destrucción de los PUFAs n-3 y n-6 a 12:0 y 16:0 en el GE, en las plaquetas se observó unos índices de peroxidación lipídica en el GE en el sentido de menor peroxidación de los PUFAS de la membrana.

Igualmente, la evaluación de las vitaminas antioxidantes C y E, a diferencia de lo que pasaba en los eritrocitos, nos indica la presencia de mayores concentraciones de estos antioxidantes en el GE respecto al GNE.

El estudio de correlaciones muestra correlaciones altas entre el grado de entrenamiento con unas mayores concentraciones de los ácidos grasos 18:3 n-3 y 20:3 n-6. El grado de entrenamiento estaba correlacionado con menos peroxidación lipídica y una mayor concentración de los antioxidantes no enzimáticos ácido ascórbico y  $\alpha$  tocoferol.

Todos estos datos nos hacen pensar que, dado la vida media de las plaquetas de 8-10 días, el entrenamiento deportivo produce cambios muy positivos tanto en la concentración de ácidos grasos de la membrana, como en lo referente a la peroxidación y la capacidad antioxidante a los sujetos que practican un entrenamiento deportivo intenso y regular. Estas mejoras podrían estar ligadas a las mejoras en las propiedades y funciones plaquetarias que hacen que la actividad física tenga un potente efecto antiaterogénico.





## ***CONCLUSIONES***

---



## 5. CONCLUSIONES

Después de todo lo comentado podemos concluir que:

- Que el entrenamiento físico, a largo plazo, de 10 horas por semana modifica los perfiles de ácidos grasos en la membrana de eritrocitos y plaquetas en atletas jóvenes.
- Los cambios en los perfiles de los ácidos grasos de las membranas serían adaptaciones específicas en la membrana celular para apoyar el efecto negativo de las ROS en el cuerpo de los deportistas jóvenes, en el caso de los eritrocitos y para mejorar el funcionamiento de las plaquetas, pudiendo reflejar una consecuencia positiva del entrenamiento aeróbico-anaeróbico.
- Se han demostrado correlaciones significativas entre el grado de entrenamiento y los índices de ácidos grasos de membrana de eritrocitos y plaquetas.
- Los niveles de antioxidantes intraeritrocitarios, ácido ascórbico y  $\alpha$  tocoferol para defenderse de una mayor peroxidación lipídica son menores en los sujetos con mayor grado de entrenamiento.

- Los niveles intraplaquetarios de ácido ascórbico y  $\alpha$  tocoferol serían mas elevados en los sujetos con mayor grado de entrenamiento, lo que significaría una mayor capacidad para defenderse de los ROS.
- Que la evaluación de las plaquetas daría una visión mas actualizada de los efectos que el entrenamiento puede tener sobre las células corporales y sus consecuencias sobre sus funciones que en nuestros estudios serían muy positivas.

## ***BIBLIOGRAFÍA***

---



## 6. BIBLIOGRAFÍA

Aguilar, M.J., González, E., Sánchez, J., Padilla, C.A., Álvarez, A., Ocete, E., Rizo, M., Guisado, R. y García, F. (2012). Obesity and its relation with markers of inflammation and erythrocyte fatty acids in a group of overweight adolescents. *Nutricion Hospitalaria*, 27(1),161-164.

Aguilo, A., Tauler, P., Fuentespina, E., Tur, J. A., Cordova, A., y Pons, A. (2005). Antioxidant response to oxidative stress induced by exhaustive exercise. *Physiology & Behavior*, 84(1), 1-7.

Aguilo, A., Tauler, P., Pilar Guix, M., Villa, G., Cordova, A., Tur, J. A., y Pons, A. (2003). Effect of exercise intensity and training on antioxidants and cholesterol profile in cyclists. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14(6), 319-325.

Albert, C.M. ,Campos, H., Stampfer, M.J., Ridker, P.M., Manson, J.E., Willett, W.C., y

Ma, J. (2002). Blood levels of long-chain n3 fatty acids and the risk of sudden death.

*New England Journal of Medicine*, 346 (15), 1113 -1118.

Alessio, H. M., y Goldfarb, A. H. (1988). Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. *Journal of Applied Physiology*, 64(4), 1333-1336.

Andersson, A., Sjodin, A., Olsson, R., y Vessby, B. (1998). Effects of physical exercise on phospholipid fatty acid composition in skeletal muscle. *American Journal of Physiology*, 274 (3), 432-438.

Arab, L. (2003). Biomarkers of fat and fatty acid intake. *Journal of Nutrition*, 133 (Suppl 3), 925-932.

Arsic, A., Vucic, V., Tepsic, J., Mazic, S., Djelic, M., y Glibeti, M. (2012). Altered plasma and erythrocyte phospholipid fatty acid profile in elite female water polo and football players. *Applied Physiology Nutrition and Metabolism*, 37 (1), 40-47.

Balk, E.M., Lichtenstein, A.H., Chung M, Kupelnick, B., Chew, P., y Lau, J. (2006). Effects of omega-3 fatty acids on coronary restenosis, intima-media thickness and exercise tolerance: a systematic review. *Atherosclerosis*, 189 (1), 19-30.

Bartsch, P. (1999). Platelet activation with exercise and risk of cardiac events. *Lancet*, 354 (9192), 1747-1748.

Booth, M. (2000). Assessment of physical activity: an international perspective. *Research Quarterly for Exercise & Sport*, 71 (Suppl 2), 114-120.



Bowles, D.K., Torgan, C. E., Ebner, S., Kehrer, J.P., Ivy, J.L., y Stames, J. W. (1991). Effects of acute, submaximal exercise on skeletal muscle vitamin E. *Free Radical Research Communications*, 14 (2), 139-143.

Calper, P.C. y Grimble, R. F. (2002). Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity. *European Journal of clinical Nutrition*, 56 (3), 14-19.

Catalá, A. (2013). Five Decades with Polyunsaturated Fatty Acids: Chemical Synthesis, Enzymatic Formation, Lipid Peroxidation and Its Biological Effects. *Journal Lipids*, 1-19. doi: 10.1155/2013/710290.

Calder, P.C. (2004). n-3 Fatty acids and cardiovascular disease: evidence explained and mechanisms explored. *Clinical Science (London)*, 107 (1), 1-11.

Cazzola, R., Russo-Volpe, S., Cervato, G. y Cestaro, B. (2003). Biochemical assessments of oxidative stress, erythrocyte membrane fluidity and antioxidant status in professional soccer players and sedentary controls. *European Journal of Clinical Investigation*, 33(10), 924-930.

Cheeseman, K. H., y Slater T.F. (1993). An introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin*, 49(3), 481-493.

Coates, P. M., Betz, J.M., Blackman, M. R., Cragg, G. M., Levine, M., Moss, J., y White, J. D. (2010). *Encyclopedia of Dietary Supplements* 2<sup>a</sup> ed, London.

Davis, R.B., Boyd, D.G., McKinney, M.E., y Jones, C.C. (1990). Effects of exercise and conditioning on blood platelet function. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 22 (1), 49-53.

Dayton, S., Hashimoto, S., Dixon, W., y Pearce, M.L. (1966). Composition of lipids in human serum and adipose tissue during prolonged feeding of a diet high in unsaturated fat. *Journal of Lipid Research*, 7(1),103-111.

De Caterina, R., Madonna, R., y Massaro, M. (2004). Effects of omega-3 fatty acids on cytokines and adhesion molecules. *Current Atherosclerosis Reports*, 6 (6), 485-491.

Dise, C.A., Goodman, D.B. y Rassmusen, H. (1980). Definition of the pathway for membrane phospholipid fatty acid turnover in human erythrocytes. *Journal of Lipid Research*, 21(3), 292-300.

Eichner, E.R. (1990). Exercise and arthritis. The haematology of inactivity. *Rheumatic Diseases Clinics of North America*, 16 (4), 815-825.

Engin, K.N. (2009). Alpha-tocopherol: looking beyond an antioxidant. *Molecular Vision*, 15, 855-60.

Esparza, F. (1993). Manual de Cineantropometría. Pamplona: (GREC) FEMEDE.

Evans, P. y Halliwell, B. (2001). Micronutrients: oxidant/antioxidant status. *British Journal of Nutrition*, 85 (2), S67-74.

Fatouros, I. G., Chatzinikolaou, A., Douroudos I.I., Nikolaidis, M.G., Kyparos, A., Margonis, K., Michailidis, Y., Vantarakis, A., Taxildaris, K., Katrabasas, I., Mandalidis, D., Kouretas, D., y Jamurtas, A. Z. (2010). Time-course of changes in oxidative stress and antioxidant status responses following a soccer game. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(12), 3278-3286. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181b60444.

Gago, L., García, E., Benito, J. (2007). Informe de vigilancia tecnológica sobre optimización de la presencia de compuestos funcionales en carne de bovino mediante estrategias basadas en la alimentación. Círculo de innovación en biotecnología.

Garaulet, M., Pérez-Llamas, F., Pérez-Ayala, M., Martínez, P., de Medina, FS., Tebar, F. J., y Zamora, S. (2001). Site specific differences in the fatty acid composition of abdominal adipose tissue in an obese population from a Mediterranean area: relation with dietary fatty acids, plasma lipid profile, serum insulin, and central obesity. *American Journal Clinical Nutrition* 74, 585-591.

García, J.M. (2013). *Efecto del tipo de grasa de la dieta sobre los parámetros de estrés oxidativo durante el estado posprandial en pacientes con síndrome metabólico.*(Tesis doctoral). Universidad de Cordoba, Cordoba.

Gawel, M.J., Glover, M., Burkitt, M., Sandler, M., y Rose, F.C. (1981). The specific activity of platelet monoamine oxidase varies with platelet count during severe exercise and noradrenaline infusion. *Psychopharmacology*, 72 (3), 275-277.

Gonzales, F., Manas, M., Seiquer, I., Quiles, J., Mataix, F.J., Huertas, J.R., y Martinez-Victoria, E. (1996). Blood platelet function in healthy individuals of different ages: effects of exercise and exercise deconditioning. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 36 (2), 112-116.

Gutierrez, V., y Justo, R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana Medicina Militar*, 31 (2), 126-133.

Haber, P., Siblingbauer, K., y Sinzinger, H. (1980). Quantitative studies on reversible thrombocyte aggregation during exertion. *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 110 (41), 1488-1491.

Halliwell, B., y Gutteridge, J.M. (1985). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Clarendon Press.

Halliwell, B., y Cross C. E. (1991). Reactive oxygen species, antioxidants, and acquired immunodeficiency syndrome. Sense or speculation?. *Archives of Internal Medicine*, 151(1), 29-31.

Halliwell, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity,

cause, or consequence?. *Lancet* 344, 721-724.

Harker, L.A. (1977). The kinetics of platelet production and destruction in man. *Clinics in haematology*, 6 (3), 671-693.

Helge, J.W., Wu, B.J., Willer, M., Dugaard, J.R., Storlien, L.H., y Kiens, B. (2001). Training affects muscle phospholipid fatty acid composition in humans. *Journal of Applied Physiology*, 90 (2), 670-677.

Heyward, H. (2008). Advance fitness assessment and exercise prescription. Medica Paramericana, Madrid.

Hodson, L., Eyles, H.C., McLachlan, K.J., Bell, M.L., Green, T.J., y Skeaff, C.M. (2014). Plasma and erythrocyte fatty acids reflect intakes of saturated and n6 PUFA within a similar time frame. *Journal of Nutrition*, 144 (1), 33-41.

Jakovljevic, V., Zlatkovic, M., Cubrilo, D., Pantic, I., y Djuric, D. M. (2011). The effects of progressive exercise on cardiovascular function in elite athletes: focus on oxidative stress. *Acta Physiologica Hungarica*, 98(1), 51-58. doi: 10.1556/APhysiol.98.2011.1.7.

Jerlick, A., Pitt, A.R., Schaur, R.J., Spickett, C.M. (2000). Pathway of phospholipid oxidation by HOC1 in human LDL, detected by LC-MS. *Free Radic Biol Med*, 28(5),673-82.

Kestin, A.S., Ellis, P.A., Barnard, M.R., Errichetti, A., Rosner, B.A., y Michelson, A.D. (1993). Effect of strenuous exercise on platelet activation state and reactivity. *Circulation*, 88 (4), 1502-1511.

Kirmizis, D., y Chatzidimitriou, D. (2009). Antiatherogenic effects of vitamin E: the search for the Holy Grail. *Vasc Health Risk Manag*, 5, 767-74.

Koz, M., Erbas, D., Bilgihan, A., y Aricioglu, A. (1992). Effects of acute swimming exercise on muscle and erythrocyte malondialdehyde, serum myoglobin, and plasma ascorbic acid concentrations. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 70 (10), 1392-1395.

Laursen, P.B. (2001). Free Radicals and Antioxidant Vitamins: Optimizing the Health of the Athlete. *Strength & Conditioning Journal*, 23(2), 17-25.

Lehmann, M., Hasler, K., Bergdolt, E., y Keul, J. (1986). Alpha-2-adrenoreceptor density on intact platelets and adrenaline-induced platelet aggregation in endurance and non-endurance trained subjects. *International Journal of Sports Medicine*, 7(3), 172-176.

Lee, T.H., Hoover, R.L., Williams, J.D., Sperling, R.I., Ravalese, J., Spur, B.W., Robinson, D. R., Corey, E. J., Lewis, R.A., y Austen, K.F. (1985). Effect of dietary enrichment with eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on in vitro neutrophil and monocyte leukotriene generation and neutrophil function. *New England Journal of Medicine*, 312(19), 1217-24.

Lepage, G., y Roy, C.C. (1986). Direct transesterification of all lipids in a one-step reaction. *Journal of Lipid Research*, 27(1), 114-120.

Mandl, J., Szarka, A. y Bánhegyi, G. (2009). Vitamin C: update on physiology and pharmacology. *British Journal Pharmacology*, 157(7), 1097-1110. doi: 10.1111/j.1476-5381.2009.00282.x.

Manoharan, M., y Schwille, P. O. (1994). Measurement of ascorbic acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. Results in healthy subjects and patients with idiopathic calcium urolithiasis. *Journal of Chromatography. B, Biomedical Applications*, 654(1), 134-139.

Margaritis, I., Palazzetti, S., Rousseau, A. S., Richard, M. J., y Favier, A. (2003). Antioxidant supplementation and tapering exercise improve exercise-induced antioxidant response. *Journal of the American College Nutrition*, 22(2), 147-156.

Marzatico, F., Pansarasa, O., Bertorelli, L., Somenzini, L. y Della Valle, G. (1997). Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 37(4), 235-239.

Mason, P. (2007). *Dietary supplements 3er ed.* Pharmaceutical press, London.

Mena, P., Maynar, M., Gutierrez, J. M., Maynar, J., Timon, J., y Campillo, J. E. (1991). Erythrocyte free radical scavenger enzymes in bicycle professional racers. Adaptation to training. *International Journal of Sports Medicine*, 12(6), 563-566.

Miranda, R., Antunes, H., Pauli, J.R., Puggina, E.F., y da Silva, A. (2013). Effects of 10-week soccer training program on anthropometric, psychological, technical skills and specific performance parameters in youth soccer players. *Science & Sport*, 28 (2), 81-87.

Mishra, A., Chaudhary, A., Sethi, S. (2004). Oxidized omega-3 fatty acids inhibit NF-kappaB activation via a PPARalpha-dependent pathway. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 24(9), 1621-162

Mori, T.A., Bao, D.Q., Burke, V., Puddey, I.B., y Beilin L.J. (1999). Docosahexaenoic Acid but Not Eicosapentaenoic Acid Lowers Ambulatory Blood Pressure and Heart Rate in Humans. *Hypertension*, 34(2), 253-260.

Mozaffarian, D. y Wu, J.H. (2011). Omega-3 Fatty Acids and Cardiovascular Disease: Effects on Risk Factors, Molecular Pathways, and Clinical Events. *Journal of American College of Cardiology*, 58 (20), 2047-2067.

Nelson, L.D., y Michael, M.C. (2001). *Lehninger principios de Bioquímica*. Barcelona: Editorial Omega.



Ney, J.G., Koury, C., Azeredo, B., Casimiro, G., Trugo, M.F., Torres, G. (2009). Associations of n- 6 and n- 3 polyunsaturated fatty acids and tocopherols with proxies of membrane stability and subcutaneous fat sites in male elite swimmers. *Nutrition Research*, 29 (9), 623-630.

Nikolaidis, M.G., y Mougios, V. (2004). Effects of Exercise on the Fatty-Acid Composition of Blood and Tissue Lipids. *Sports Medicine*, 34 (15), 1051-1076.

Nishizawa, H., Hamazaki, K., Hamazaki, T., Fujioka, S., y Sawazaki, S. (2006). The relationship between tissue RBC n-3 fatty acids and pulse wave velocity. *In vivo*, 20 (2), 307-310.

Olcina, G., Munoz Marin, D., Timon, R., Caballero, M. J., Maynar, J., Cordova, A., y Maynar, M. (2006). Effect of caffeine on oxidative stress during maximum incremental exercise. *Journal of Sports Science & Medicine*, 5, 621-628.

Powers, S. K., y Lennon, S. L. (1999). Analysis of cellular responses to free radicals: focus on exercise and skeletal muscle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 58(4), 1025- 1033.

Radak, Z., Taylor, A. W., Ohno, H., y Goto, S. (2001). Adaptation to exercise induced oxidative stress: from muscle to brain. *Exercise Immunology Review*, 7, 90- 107.

Ramel, A., Wagner, K. H. y Elmadfa, I. (2004). Plasma antioxidants and lipid oxidation after submaximal resistance exercise in men. *European Journal of Nutrition*, 43(1), 2-6.

Rauramaa, R., Salonen, J.T., Seppanen, K., Salonen, R., Venäläinen, J.M., Ihanainen, M., y Rissanen, V. (1986). Inhibition of platelet aggregability by moderate intensity physical exercise: a randomised clinical trial in overweight men. *Circulation*, 74 (5), 939-944.

Reylli, P.M., y Burkley GB. (1990). Tissue injury by free radicals and other toxic oxygen metabolites. *British Journal of Surgery*, 77(12), 1323-1324.

Ribeiro Noqueira, C., Ramalho, A., Lameu, E., Da silva Franca, C.A., David, C., y Accioly, E. (2009). Serum concentrations of vitamin A and oxidative stress in critically ill patients with sepsis. *Nutrition Hospitalaria*, 24 (3), 312-317.

Robertson, J. D., Maughan, R. J., Duthie, G.G. y Morrice, P.C. (1991). Increased blood antioxidant systems of runners in response to training load. *Clinical Science (London England: 1979)*, 80(6): 611-618.

Schaefer, M.B., Wenzel, A., Fischer, T., Braun-Dullaeus, R.C., Renner, F., Dietrich, H., Schaefer, W., y Mayer, K. (2008). Fatty acids differentially influence phosphatidylinositol 3-kinase signal transduction in endothelial cells: impact on adhesion and apoptosis. *Atherosclerosis*, 197(2), 630-637.

Schurks, M., Glynn, R.J., Rist, P.M., Tzourio, C. y Kurth, T. (2010). Effects of vitamin E on stroke subtypes: meta-analysis of randomised controlled trials. *British Medical Journal*, 4 (341), c5702. doi: 10.1136/bmj.c5702.

Seo, T., Blazer, W.S., y Deckelbaum, R.J. (2005). Omega-3 fatty acids: molecular approaches to optimal biological outcomes. *Current Opinion of Lipidology*, 16 (1), 11-18.

Shearer, M. J. (1986). Advances in Chromatography. In C. K. Lim (Ed.), *HPLC of small molecules: a practical approach* (pp. 157). Oxford: IRL Press.

Shigenaga, M.K., Hagen, T.M., y Ames B.N. (1994). Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91 (23), 10771-10778.

Smedman, A.E., Gustafsson, I.B., Berglund, L.G., y Vessby, B.O. (1999). Pentadecanoic acid in serum as a marker for intake of milk fat: relations between intake of milk fat and metabolic risk factors. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69 (1), 22-29.

Stolen, T., Chamari, K., Castagna, C., y Wisloff, U. (2005). Physiology of soccer: an update. *Sports Medicine*, 35(6), 501-536.

Sumikawa, K., Mu, Z., Inoue, T., Okochi, T., Yoshida, T., y Adachi, K. (1993). Changes in erythrocyte membrane phospholipid composition induced by

physical training and physical exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 67(2), 132-137.

Sureda, A., Ferrer, M. D., Tauler, P., Romaguera, D., Drobic, F., Pujol, P., Tur, J.A., y Pons, A. (2009). Effects of exercise intensity on lymphocyte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> production and antioxidant defences in soccer players. *British Journal of Sports Medicine*, 43(3), 186-190.

Tahara, Y., Moji. K., Tsunawake, N., Fukuda, R., Nakayama, M., Nakagaichi, M., Komine, T., Kusano, Y., y Aoyagi K. (2006). Physique, body composition and maximum oxygen consumption of selected soccer players of Kunimi High School, Nagasaki, Japan. *Journal of Physiological Anthropology*, 25(4), 291-297.

Takkunen, M., Agren, J., Kuusisto, J., Laakso, M., Uusitupa, M., y Schwab, U. (2013) Dietary fat in relation to erythrocyte fatty acid composition in men. *Lipids*, 48 (11), 1093-1102. doi: 10.1007/s11745-013-3832-0.

Tagawa, H., Shimokawa, H., Tagawa, T., Kuroiwa-Matsumoto, M., Hirooka, Y., y Takeshita, A. (1999). Long-term treatment with eicosapentaenoic acid augments both nitric oxide-mediated and non-nitric oxide-mediated endothelium-dependent forearm vasodilatation in patients with coronary artery disease. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 33 (4), 633-640.

Tagawa, H., Hirooka, Y., Shimokawa, H., Hironaga, K., Sakai, K., Oyama, J., y Takeshita, A. (2002). Long-term treatment with eicosapentaenoic acid improves

exercise-induced vasodilation in patients with coronary artery disease. *Hypertension Research*, 25(6), 823-829.

Tauler, P., Ferrer, M. D., Sureda, A., Pujol, P., Drobnic, F., Tur, J.A. y cols. (2008). Supplementation with an antioxidant cocktail containing coenzyme Q prevents plasma oxidative damage induced by soccer. *European Journal of Applied Physiology*, 104(5), 777-785.

Tepsic, J., Vucic, V., Arsic, A., Mazic, S., Djelic, M. y Glibetic, M. (2013). Unfavourable plasma and erythrocyte phospholipid fatty acid profile in elite amateur boxers. *European Journal of Sport Science*, 13 (4), 414-421.

Tepsic, J., Vucic, V., Arsic, A., Blazencic-Mladenovic, V., Mazic, S., y Glibetic, M. (2009). Plasma and erythrocyte phospholipid fatty acid profile in professional basketball and football players. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 107(3), 359-365.

Thies, F., Garry, J.M., Yaqoob, P., Rerkasem, K., Williams, J., Shearman, C.P., Gallagher, P.J., Calder, P.C, y Grimble, R.F. (2003). Association of n-3 polyunsaturated fatty acids with stability of atherosclerotic plaques: a randomised controlled trial. *Lancet*, 361 (9356), 477-485.

Turitto, V.T, y Weiss, H.J. (1980). Red blood cells: their dual role in thrombus formation. *Science*, 207 (4430), 541-543.

Vänttinen, T., Blomqvist, M., Nyman, K., y Häkkinen, K. (2011). Changes in Body Composition, Hormonal Status, and Physical Fitness in 11-, 13-, and 15-

Year-Old Finnish Regional Youth Soccer Players During a Two-Year Follow-Up. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 25 (12), 3342-3351. doi: 10.1519/JSC.0b013e318236d0c2.

Wakil, S. J., y Abu-Elheiga, L.A. (2009). Fatty acid metabolism: Target for metabolic syndrome. *Journal of Lipid Research*, 50, 138-143. Doi: 10.1194/jlr.R800079-JLR200.

Wang, J.S., Yang, C.F., Wong, M.K., Chow, S.E., y Chen, J.K. (2000). Effect of strenuous arm exercise on oxidized-LDL-potentiated platelet activation in individuals with spinal cord injury. *Thrombosis and Haemostasis*, 84 (1), 118-123.

Wang, J.S., Yang, C.F., y Wong, M.K. (2002). Effect of strenuous arm crank exercise on platelet function in patient with spinal cord injury. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, 83 (2), 210-216.

Wang, J.S., Jen, C.J., y Chen, H.I. (1997). Effects of chronic exercise and deconditioning on platelet function in women. *Journal of applied physiology*, 83 (6), 2080-2085.

Wang, J.S., Jen, C.J., y Chen, H.I. (1995). Effects of exercise training and deconditioning on platelet function in men. *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, 15 (10), 1668-1674.

Watson, T. A., Callister, R., Taylor, R. D., Sibbritt, D. W., MacDonald-Wicks, L. K., y Garg, M. L. (2005). Antioxidant restriction and oxidative stress in shortduration exhaustive exercise. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 37(1), 63-71.

Willett, W.C. (1998). *Epidemiología nutricional*. 2ª ed. Nueva York, Nueva York: Oxford University Press.

Williams, R.S., Eden, S., y Anderson, J. (1981). Reduced epinephrine-induced platelet aggregation following cardiac rehabilitation. *Journal of Cardiac Rehabilitation*, 1 (2), 127-134.

Wilmore, J.H., y Costill, D.L. (2007). *Fisiología del esfuerzo y del deporte*. (6<sup>th</sup> edn) Barcelona: Paidotribo.

Woodside, J.V., y Kromhout, D. (2005). Fatty acids and CHD. *The Proceedings of the Nutrition Society*, 64 (4), 554-564.

Yamaner, F. (2010). Oxidative predictors and lipoproteins in male soccer players. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 40(1300-0144), 427-434.

Yang, L.G., Song, Z. X., Yin, H., Wan, Y.Y., Shu, G.F., Lu, H.X., Wang, S.K., y Sun, G.J. (2016). Low n-6/n-3 PUFA Ratio Improves Lipid Metabolism, Inflammation, Oxidative Stress and Endothelial Function in Rats Using Plant

Oils as n-3 Fatty Acid Source. *Lipids*, 51 (1), 49-59. doi: 10.1007/s11745-015-4091-z.

Yoshida, Y., Umeno, A., y Shichiri, M. (2013). Lipid peroxidation biomarkers for evaluating oxidative stress and assessing antioxidant capacity in vivo, *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 52 (1), 9-16.



## ***ANEXOS***

---



## **7. ANEXOS**

### **7.1 MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

**Proyecto: Efectos del fútbol sobre los ácidos grasos eritrocitarios y plaquetarios, y su relación con la capacidad antioxidante de sujetos entrenados y no entrenados.**

**Paciente:**

**Paciente ID#:**

**Centro: Facultad de Ciencias del Deporte**

**Centro ID#: \_\_**

**Investigador: Pablo Jesús Iglesias Sánchez**

LEA DETENIDAMENTE LA INFORMACIÓN CONTENIDA EN ESTE DOCUMENTO Y ASEGÚRESE QUE ENTIENDE ESTE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN. POR FAVOR SI ESTA DE ACUERDO EN PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO, FIRME ESTE DOCUMENTO. POR SU FIRMA RECONOCE QUE HA SIDO INFORMADO DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PROYECTO, DE SUS REQUISITOS Y SUS RIESGOS Y QUE ACEPTA LIBREMENTE PARTICIPAR EN ÉL. UNA COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO LE SERÁ ENTREGADA.

#### **OBJETO DEL ESTUDIO.**

Ha sido invitado a participar en un estudio de investigación dirigido a estudiar los efectos del entrenamiento en fútbol sobre los niveles de ácidos grasos y vitaminas antioxidantes, en la membrana plaquetaria y eritrocitaria.

## **PROCEDIMIENTOS Y DURACIÓN DEL ESTUDIO.**

El único procedimiento al que será sometido será una extracción de sangre por parte del Dr. Marcos Maynar Mariño y una evaluación antropométrica. La duración del proyecto será de 4 años aproximadamente, durante los cuales usted nos autoriza a realizar las publicaciones pertinentes con esas muestras. La muestra que cede será utilizada exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

## **RESULTADOS DEL ESTUDIO.**

Al finalizar el estudio se le informará del resultado global del mismo si usted lo desea, pero NO de su resultado personal, que se tratará con total confidencialidad de acuerdo con la Declaración de Helsinki y la Ley 14/2007, de Investigación biomédica.

## **RIESGOS DERIVADOS DE LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.**

Los riesgos asociados a la toma de muestras son mínimos. Se empleará material estéril individual y desechable a fin de eliminar los riesgos de infección y de contagio y las muestras de obtendrán por personal cualificado.

## **BENEFICIOS.**

La participación en el proyecto no será recompensada económicamente. Aparte de lo comentado anteriormente, se estima que el desarrollo del estudio en el que participará comportará beneficios a medio plazo en el diagnóstico precoz de la leucemia mieloide aguda y en el conocimiento de la patogenia de este tipo de cáncer.

## **COSTES.**

El coste de la extracción y procesamiento de la muestra así como los análisis posteriores serán cubiertos por el proyecto. Su participación no le supondrá ningún coste.

El investigador principal, Pablo Jesús Iglesias Sánchez puede ser contactado en cualquier momento en el siguiente teléfono, 690142349, a fin de recabar información acerca del proyecto y en la siguiente dirección:

Departamento de Fisiología

Facultad de Ciencias del Deporte

Av. de la Universidad s/n

10003 Cáceres/06071Badajoz

En ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.

#### **CONFIDENCIALIDAD DE SU MUESTRA.**

De acuerdo con la normativa legal vigente, los resultados de las muestras se tratarán con total confidencialidad. El protocolo de recogida de datos será archivado, y a cada participante se le asignará una clave de tal modo que no pueda relacionarse la muestra e información obtenida con la identidad del sujeto. Las muestras serán anonimizadas, asegurando la imposibilidad de inferir su identidad, para su estudio y potencial análisis ulterior.

El investigador principal del proyecto se compromete a que la confidencialidad de los datos que se puedan obtener en dicho proyecto será escrupulosamente observada, y que los datos personales de los sujetos participantes no serán conocidos por los investigadores del proyecto. En los casos que corresponda, éstos informarán al responsable médico o a los afectados si creen que algún resultado del proyecto podría ser de su interés.

El investigador principal del proyecto se compromete a no utilizar las muestras para otros estudios diferentes a los de este proyecto y a no traspasar las muestras a otros posibles proyectos o equipos de investigación.

Para todo lo no previsto en este documento, se aplicará la legislación vigente sobre protección de datos de carácter personal (Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, BOE 274 de 15 de noviembre de 2002; Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal; BOE 298 de 14 de diciembre de 1999; Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, BOE 17 de 19 de enero de 2008), sobre investigación biomédica (Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; BOE 159 de 4 de julio de 2007) y cualquier otra que resultara aplicable.

Si fuese necesario el almacenamiento de las muestras para análisis ulteriores, tal como recoge la Ley 41/2007, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica (art. 9.3), el consentimiento escrito del paciente será necesario para cada una de las actuaciones que se lleven a cabo. Acción que podrá ser ejercitada por el paciente, por sus representantes, o por sus herederos si éste hubiera fallecido.

Los resultados del estudio pueden ser publicados en revistas científicas o publicaciones de carácter general. No obstante, la información concerniente a su participación será mantenida como confidencial.

Recibirá una copia de esta hoja de información y del consentimiento informado firmado por usted.

#### **DECLARACIÓN DEL DONANTE.**

He sido informado por el personal relacionado con el proyecto mencionado:

- De las ventajas e inconvenientes de este procedimiento.
- Del fin para el que se utilizarán mis muestras.
- He sido informado de que los tejidos que cedo serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.
- Que mis muestras serán proporcionadas de forma anónima a los investigadores del proyecto.
- Que en cualquier momento puedo solicitar información genérica sobre los estudios para los que se han utilizado mis muestras.
- Que he comprendido la información recibida y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas.

**Usted tiene derecho de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento. Como se menciona anteriormente, en ningún caso su decisión de no participar en el proyecto le supondrá una rebaja en la calidad asistencial por parte de su médico.**

SE ME HA PROPORCIONADO COPIA DEL PRESENTE DOCUMENTO. ACEPTO PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO.

Nombre:..... Firma:.....

- **Declaración del profesional de salud médica de que ha informado debidamente al donante.**

Nombre: Marcos Maynar Mariño      Firma:

## 7.2 ACEPTACIÓN DE LA COMISIÓN DE BIOÉTICA



**VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN,  
TRANSFERENCIA E INNOVACIÓN**

Campus Universitario  
Avda de Elvas s/nº  
06071 BADAJOZ

Tel: 924 28 93 05  
Fax: 924 27 29 83

Nº Registro: 762015

**D<sup>a</sup> M<sup>a</sup> ANGELES TORMO GARCIA, SECRETARIA DE LA COMISION DE  
BIOÉTICA Y BIOSEGURIDAD DE LA UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA.**

**INFORMA:** Que una vez analizada, por esta Comisión la solicitud de Proyecto de Tesis Doctoral titulado "Efecto del futbol sobre los ácidos grasos eutrictarios y plaquetarios y su relación con la capacidad antioxidante de sujetos entrenados y no entrenados cuyo Investigador Principal es es D/D<sup>a</sup> Pablo Jesús Iglesias Sánchez, ha decidido por unanimidad valorar positivamente el precitado proyecto por considerar que se ajusta a las normas éticas esenciales cumpliendo con la normativa vigente al efecto.

Y para que conste y surta los efectos oportunos firmo el presente informe en Badajoz a 26 de Mayo de 2015.

Vºyº

Fdo.: Fernando Henao Dávila  
Presidente per Delegación de Comisión  
de Bioética y Bioseguridad



### 7.3 PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS

- Maynar, M., Iglesias, P.J., Grijota, F.J., Montero, J., Muñoz, D. Effects of soccer on the platelets membrane fatty acids. XVIII annual Congress of the EUROPEAN COLLEGE OF SPORT SCIENCE. Barcelona, Junio 2013.
- Iglesias, P. J., Robles, M.C., Crespo, C., Muñoz, D., Maynar, M. Efectos del entrenamiento sobre los ácidos grasos de membrana eritrocitaria. VII Congreso Internacional de la Asociación Española de Ciencias del deporte. Granada, Noviembre 2012.
- Iglesias, P. J., Muñoz, D., Llerena, F., Grijota, F.J., Bartolome, I., y Maynar, M. (2017). Long-Term Adaptations to Aerobic-Anaerobic Physical Training in the Erythrocyte Membrane Fatty Acids Profile. *International Journal of Sports and Exercise Medicine*,3 (3), 1-7. DOI: 10.23937/2469-5718/1510063