



Universidad de León

Departamento de Ciencias Biomédicas

**Efecto de la ingesta oral de beta-hidroxi-beta-metilbutirato
sobre indicadores de daño muscular inducido por una
sesión de entrenamiento excéntrico en adultos jóvenes
físicamente activos**



Memoria que presenta el Licenciado en Química en Alimentos Rafael Manjarrez Montes de Oca para la obtención del Grado de Doctor en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte por la Universidad de León

Directores de la Tesis

Dr. Javier González Gallego

Dr. Ildefonso Alvear Ordenes

León, 2021



UNIVERSIDAD DE LEÓN
COMISIÓN DE DOCTORADO

CONFORMIDAD DEL DEPARTAMENTO

El **Departamento de Ciencias Biomédicas**, en su reunión del día ____ de _____ de 2021, ha acordado dar la conformidad a la admisión a trámite de lectura de la Tesis Doctoral titulada: “Efecto de la ingesta oral de beta-hidroxi-beta metilbutirato sobre indicadores de daño muscular inducido por una sesión de entrenamiento excéntrico en adultos jóvenes físicamente activos”, dirigida por los **Dres. D. Javier González Gallego y D. Ildefonso Alvear Ordenes** y presentada por **D. Rafael Manjarrez Montes de Oca** ante este Departamento.

En León, a ____ de _____ de 2021.

VºBº

El Director del Departamento

El Secretario del Departamento

Dra. Sonia Sánchez Campos

Dra. Raquel Díez Laiz



UNIVERSIDAD DE LEÓN
COMISIÓN DE DOCTORADO

**AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE
TESIS PARA SU PRESENTACIÓN**

Los Dres. D. Javier González Gallego y D. Ildefonso Alvear Ordenes como Directores de la Tesis Doctoral: “Efecto de la ingesta oral de beta-hidroxi-beta-metilbutirato sobre indicadores de daño muscular inducido por una sesión de entrenamiento excéntrico en adultos jóvenes físicamente activos”, realizada en el Departamento de Ciencias Biomédicas por el Doctorando D. Rafael Manjarrez Montes de Oca, autorizan la presentación de la citada Tesis Doctoral, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En León, a ____ de abril de 2021.

Los Directores de la Tesis

Dr. Javier González Gallego

Dr. Ildefonso Alvear Ordenes

DEDICATORIA

**A mi madre por haberme dado las alas y la
libertad para poder volar y cumplir mis
sueños.**

**A mi padre por su infinita paciencia e
inculcarme el amor por el estudio y el deseo
de superarme.**

Mi amor y cariño

Deseo agradecer al Dr. Javier González Gallego y al Dr. Ildfonso Alvear Ordenes por su guía y paciencia durante mis estudios de Doctorado y el desarrollo del presente trabajo.

También deseo agradecer a la Fundación Cuauhtémoc Hank Rhon A. C. y a su presidenta la Profa. Ivonne Hank de Olimón por el apoyo económico recibido para mis estudios de Doctorado sin el cual no hubiera sido posible alcanzar esta meta.

Asimismo, deseo agradecer a la Dra. Patricia Tlatempa Sotelo, a la Dra. Socorro Camarillo Romero, a la Dra. Roxana Valdés Ramos, al Dr. Alexander Kormanovski, y al Biólogo Mateo Torres Vaca por su amistad e invaluable apoyo para la conclusión de este proyecto.

Por último, deseo agradecer a mí familia. A mi hermana Lizbeth por acompañarme en este camino. A mis tíos Mary y Pedro, Aurora, Ángeles, Cristina, Fernando y Alberto por su apoyo, comprensión y cariño.

Mi agradecimiento

RESUMEN

El β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) es un metabolito de la leucina producido a partir del ácido α -ketoisocaproico. El HMB ha sido utilizado como suplemento deportivo desde 1997 con la promesa de disminuir la proteólisis muscular. Debido a lo anterior, se ha propuesto que el HMB puede mejorar la composición corporal y disminuir el daño muscular.

El objetivo de esta investigación fue comparar los cambios de la composición corporal y en los indicadores de daño muscular en dos grupos de jóvenes físicamente activos; uno, bajo la suplementación de 3 g / día de HMB y, otro, bajo la administración de un placebo durante un período de seis semanas y posterior a una sesión de entrenamiento excéntrico.

Antes y después de la suplementación con HMB fueron evaluadas: composición corporal (DEXA), química sanguínea, perfil lipídico y biometría hemática. Además, antes y después de una sesión de entrenamiento excéntrico (0, 24, 48 y 72 hrs), se evaluaron: química sanguínea, perfil lipídico, estrés oxidativo, y dolor muscular.

Después de la suplementación no se observaron cambios en composición corporal, química sanguínea, perfil lipídico y biometría hemática. Después del entrenamiento excéntrico, tampoco se observaron diferencias entre los grupos en dolor muscular, química sanguínea o TBARS. En contraste, se encontraron diferencias significativas en capacidad antioxidante total, ácido úrico, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa. En conclusión, los datos obtenidos sugieren que el incremento en la defensa antioxidante contribuye a los efectos benéficos del HMB sobre el estrés oxidativo.

Palabras clave: suplementación HMB, dolor muscular de aparición tardía, creatina quinasa, composición corporal, enzimas antioxidantes.

ABSTRACT

β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) is a leucine metabolite produced from α -ketoisocaproic acid. HMB supplementation has been used as a dietary supplement in sports since 1997, with the aim of decreasing muscle proteolysis. Because of this it has been proposed that HMB could improve body composition and decrease muscle damage.

The aim of this research was to compare differences between treatments (placebo and HMB) to know differences in body composition and muscle damage variables in recreational sports practitioner having HMB supplementation (3 g / day) or placebo during 6 weeks and after a session of eccentric training.

Were determined before and after HMB supplementation: body composition (DEXA), blood chemistry, lipid profile, and blood count. In addition, before and after an eccentric training session (0, 24, 48 and 72 hours), blood chemistry, lipid profile, oxidative stress, and muscle pain were evaluated.

After HMB supplementation there were no changes in body composition, blood chemistry, lipid profile, and blood count. After eccentric training, no differences were observed between groups in muscle pain, blood chemistry, or TBARS. In contrast, significant differences were found in total antioxidant capacity, uric acid concentration, and glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities. In conclusion, data obtained suggest that increased antioxidant defenses contribute to the beneficial effects of HMB on oxidative stress.

Key words: HMB supplementation, DOMS, creatine kinase, body composition; antioxidant enzymes.

Parte de los resultados expuestos en la presente memoria han sido objeto de los siguientes artículos, comunicaciones, conferencias y cursos:

I. PUBLICACIÓN:

EL B-HIDROXI- B-METILBUTIRATO (HMB) COMO SUPLEMENTO NUTRICIONAL (II): MECANISMOS DE ACCIÓN MOLECULARES Y CELULARES.

En Nutrición Hospitalaria 31(2): 597-605, 2015. **Rafael Manjarrez-Montes de Oca**, Mateo Torres-Vaca, Javier González-Gallego, Ildefonso Alvear-Ordenes.

EL B-HIDROXI- B-METILBUTIRATO (HMB) COMO SUPLEMENTO NUTRICIONAL (I): METABOLISMO Y TOXICIDAD

En Nutrición Hospitalaria 31(2): 583-589, 2015. **Rafael Manjarrez-Montes de Oca**, Mateo Torres-Vaca, Javier González-Gallego, Ildefonso Alvear-Ordenes.

II. RESUMEN A CONGRESO:

EFFECT OF SIX WEEKS OF HMB SUPPLEMENTATION ON BODY COMPOSITION, BLOOD CHEMISTRY, LIPID PROFILE AND BLOOD COUNT IN PHYSICAL ACTIVE YOUNG MEN

En 13th ISEI Symposium Training our Immune System for Health and Performance. (2017) pp. 233-235. **Rafael Manjarrez-Montes-de-Oca**; Patricia Tlatempa-Sotelo; María del Socorro Camarillo-Romero; Julio Cesar Castillo-López; Yaneth Guadalupe Nopaltitla Pérez; Eva Tellez Rojas; Ildefonso Alvear-Ordenes; Javier Gonzalez-Gallego.

III. CONFERENCIA:

CREATINA Y HMB PARA EL CRECIMIENTO Y RECUPERACIÓN MUSCULAR

Diplomado en Nutrición Deportiva del Centro Integral de Alto Desempeño (CIAD).

3 y 4 de septiembre de 2016

San Luis Potosí, México.

USO DE LA SUPLEMENTACIÓN DE HMB EN DEPORTE Y SALUD

IV Congreso Internacional de la Asociación de Medicina del Deporte del Estado de México A. C.

26-28 de mayo de 2016

Toluca, México

SUPLEMENTOS DEPORTIVOS: CUALES SIRVEN EN REALIDAD

IV Congreso Internacional de la Asociación de Medicina del Deporte del Estado de México A. C.

26-28 de mayo de 2016

Toluca, México

SUPLEMENTACIÓN DEPORTIVA

III Congreso Internacional de Ciencias de la Salud, Salud 360° y IX Simposio Internacional de Nutrición y Bienestar Integral.

16-18 de abril de 2015

Monterrey, México

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

>	Mayor que
<	Menor que
%	Porcentaje
% GC	Porcentaje de grasa corporal
°C	Grado (s) centígrado (s)
4E-BP1	Proteína de unión 1 al factor eucarionte de inicio de la traducción 4E
•NO	Óxido nítrico
•OH	Radical hidroxilo
•O₂-	Radical superóxido
ADP	Adenosín difosfato
AGA	Ácido guanidinoacético
AGAT	L-arginina:glicina aminotransferasa
ALT	Alanina aminotransferasa
AST	Aspartato aminotransferasa
ATP	Adenosín trifosfato
Ca⁺²	Ión calcio
CIC	Ácido α -cetoisocaproico
CK	Creatinquinasa
cm	Centímetro (s)
CMO	Contenido mineral óseo
CoA	Coenzima A

Cr	Creatina
Crn	Creatinina
CTnT	Troponina T cardiaca
Ctrl	Grupo control
dL	Decilitro
DOMS	Del inglés delayed onset muscle soreness, dolor muscular de aparición tardía.
Fe	Hierro
Fig.	Figura
Fotog.	Fotografía
g	Gramo (s)
GDP	Guanidín difosfato
GGT	γ -glutamyltranspeptidasa
G-6-P	Glucosa 6 fosfato
G-6-PDH	Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa
GLDH	Glutamato deshidrogenasa
GOT	Transaminasa glutámico-oxalacético
GPT	Transaminasa glutámico pirúvico
H⁺	Hidrogenión
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
HMB	β -hidroxi β -metilbutirato
HMG-CoA	β -hidroxi β -metilglutaril-CoA
hrs	Horas
IGF-1	Factor de crecimiento insulínico 1

IV-CoA	Isovaleril Coenzima A
K⁺	Potasio
Kcal	Kilocaloría (s)
KDa.	Kilodaltons
kg	Kilogramo (s)
L	Litros
LDH	Lactato deshidrogenasa
LDL	Lipoproteína de baja densidad
Leu	Leucina
m	Metro (s)
MC	Masa corporal
MC-CoA	β -metil-crotonil-CoA
MG-CoA	β -metil-gluconil-CoA
MG	Masa grasa
Mg	Magnesio
μm	Micrómetro
μmol	Micromol total (en función al volumen)
mín	Minuto (s)
mL	Mililitro (s)
MLG	Masa libre de grasa
mm	Milímetro (s)
MMLH	Masa magra libre de hueso
Mmol	Milimol
mTOR	Diana de la rapamicina en mamíferos

N₂	Nitrógeno
Na⁺	Sodio
NADP⁺	Nicotín adenín dinucleótido
NADH	Nicotín adenín dinucleótido (forma reducida)
NAD⁺	Nicotín adenín dinucleótido fosfato
NADPH	Nicotín adenín dinucleótido fosfato (forma reducida)
Na-HMB	β-hidroxi β-metilbutirato de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NH₃	Amoníaco
NH₄⁺	Íon amonio
Nm	Nanómetro (s)
O₂	Oxígeno
OHB	β-hidroxibutirato
ONOO-	Peroxinitrito
p.	Página
p	Valor de significancia estadística
PCr	Fosfato de creatina
PIF	Factor inductor de proteólisis
PK	Piruvatoquinasa
RNS	Especies reactivas de nitrógeno
RONs	Especies reactivas de oxígeno y nitrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
S6K1	Quinasa 1 de la proteína ribosomal S6
s	Segundo (s)

STnI	Troponina I muscular
TnC	Troponina C
TnI	Troponina I
TnT	Troponina T
UI	Unidad (es) internacional (es)
UPS	Sistema ubiquitina-proteosoma
W	Wattios

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	I
ABSTRACT	II
ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	III
ÍNDICE DE CONTENIDOS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	XI
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	XIII
1. ANTECEDENTES	1
1.1. DAÑO MUSCULAR	3
1.1.1. <i>Daño Muscular Inducido por Ejercicio</i>	3
1.1.1.1. Protocolos de Inducción de Daño muscular	4
1.1.1.2. Protocolos de inducción de daño muscular en humanos	5
1.1.1.3. Daño muscular provocado por modelos de inducción de daño muscular a través de series cortas de contracciones excéntricas	10
1.1.2. <i>Daño muscular y ejercicio excéntrico</i>	12
1.2. EVALUACIÓN DEL DAÑO MUSCULAR	19
1.2.1. <i>Efecto del daño muscular sobre la fuerza y movilidad muscular</i>	20
1.2.2. <i>Efecto del daño muscular sobre indicadores de dolor muscular e inflamación</i>	21
1.2.3. <i>Efecto del daño muscular sobre marcadores bioquímicos en sangre</i>	25
1.2.3.1. Efecto del daño muscular sobre enzimas y proteínas intramusculares en suero y plasma	26
1.2.3.2. Proteínas y otros marcadores relacionados al estrés oxidativo	35
1.3. AYUDAS ERGOGÉNICAS COMO AUXILIARES PARA PREVENIR O ATENUAR EL DAÑO MUSCULAR INDUCIDO POR EJERCICIO	41
1.3.1. <i>Ayudas ergogénicas fisiológicas</i>	41
1.3.2. <i>Ayudas ergogénicas farmacológicas</i>	44
1.3.3. <i>Ayudas ergogénicas nutricionales</i>	44
1.3.3.1. Hidratos de carbono y proteínas	44
1.3.3.2. Antioxidantes	45
1.3.3.3. Beta-hidroxi-beta-metilbutirato (HMB)	46
1.4. BETA-HIDROXI-BETA-METILBUTIRATO (HMB)	47
1.4.1. <i>Metabolismo del HMB</i>	48
1.4.2. <i>Absorción y excreción del beta-hidroxi-beta-metilbutirato</i>	51
1.4.3. <i>HMB como suplemento alimenticio</i>	52
1.4.4. <i>HMB y Daño muscular</i>	54
2. OBJETIVOS	57
2.1. OBJETIVO GENERAL	59
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	59

2.2.1.	<i>Objetivo específico primero</i>	59
2.2.2.	<i>Objetivo específico segundo</i>	59
3.	METODOLOGÍA	61
3.1.	TIPO DE ESTUDIO Y POBLACIÓN.....	62
3.1.1.	<i>Tipo de estudio</i>	62
3.1.2.	<i>Población de estudio</i>	62
3.1.3.	<i>Criterios de selección de la población estudio</i>	62
3.1.3.1.	Criterios de inclusión	62
3.1.3.2.	Criterios de exclusión.....	62
3.1.3.3.	Criterios de eliminación	62
3.2.	MATERIAL Y MÉTODOS UTILIZADOS	63
3.2.1.	<i>Ejercicio</i>	63
3.2.2.	<i>Desarrollo del experimento</i>	63
3.2.2.1.	Elección del grupo de estudio y homogenización.....	63
3.2.2.2.	Periodo de suplementación	65
3.2.3.	<i>Protocolo de suplementación</i>	67
3.2.4.	<i>Composición Corporal</i>	69
3.2.5.	<i>Entrenamiento Isocinético</i>	70
3.2.5.1.	Sesión de Familiarización	71
3.2.5.2.	Sesión de inducción de daño muscular.....	74
3.2.6.	<i>Marcadores de daño muscular en sangre y perfil lipídico</i>	75
3.2.7.	<i>Evaluación de la percepción de dolor</i>	78
4.	RESULTADOS	81
4.1.	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MUESTRA.....	83
4.2.	CAMBIOS ANTES Y DESPUÉS DE LAS SEIS SEMANAS DE SUPLEMENTACIÓN CON HMB.....	85
4.2.1.	<i>Composición Corporal</i>	85
4.2.2.	<i>Biometría hemática</i>	87
4.2.3.	<i>Química Sanguínea</i>	90
4.3.	CAMBIOS ANTES Y DESPUÉS DEL ENTRENAMIENTO EXCÉNTRICO Y A LAS 24, 48 Y 72 HRS	93
4.3.1.	<i>Química Sanguínea</i>	93
4.3.2.	<i>Estrés Oxidativo</i>	96
4.3.3.	<i>Percepción de dolor</i>	98
5.	DISCUSIÓN	99
5.1.	LA MUESTRA.....	101
5.2.	EVALUACIONES ANTES Y DESPUÉS DE 6 SEMANAS DE SUPLEMENTACIÓN DE HMB.....	104
5.2.1.	<i>Composición Corporal</i>	104
5.2.2.	<i>Biometría Hemática</i>	106
5.2.3.	<i>Química Sanguínea</i>	106
5.2.3.1.	Marcadores relacionados con daño muscular.	106
5.2.3.2.	Marcadores metabólicos y perfil lipídico	108
5.3.	EVALUACIONES ANTES Y DESPUÉS DEL ENTRENAMIENTO EXCÉNTRICO	110
5.3.1.	<i>Química Sanguínea</i>	110
5.3.1.1.	Marcadores relacionados con daño muscular.	110
5.3.1.2.	Marcadores metabólicos y perfil lipídico	111

5.3.2.	<i>Indicadores de estrés oxidativo</i>	112
5.3.3.	<i>Percepción de dolor</i>	115
5.4.	RECOMENDACIONES.....	117
6.	CONCLUSIONES	119
6.1.	CONCLUSIONES	121
6.1.1.	<i>Conclusión primera</i>	121
6.1.2.	<i>Conclusión segunda</i>	121
6.1.3.	<i>Conclusión general</i>	122
7.	BIBLIOGRAFÍA	123
8.	ANEXOS	135

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Inducción de daño muscular por medio de contracción excéntrica de los músculos extensores de la pierna por medio de ejercicio de extensión de pierna.....	8
Figura 2. Inducción de daño muscular por medio de contracción excéntrica de los músculos extensores de la pierna por medio de leg press	9
Figura 3. Daño muscular: Fase de destrucción.	13
Figura 4. Daño muscular: Fase de reparación.....	14
Figura 5. Daño muscular: Fase de remodelación.	15
Figura 6. Distribución de los miofilamentos en la sarcómera funcional y desorganizada	16
Figura 7. Ruta metabólica del HMB. Adaptado de Sabourin y Bieber (1983) y Nissen y Abumrad (1997).	49
Figura 8. Desarrollo del Experimento: Período de Suplementación.	65
Figura 9. Desarrollo del Experimento: Entrenamiento excéntrico y valoración del daño muscular	66
Figura 10. Diagrama de flujo de los participantes durante el estudio	83
Figura 11. Resultados de composición corporal expresados en porcentaje de cambio.....	104
Figura 12. Resultados de marcadores de daño muscular expresados en porcentaje de cambio	107
Figura 13. Resultados de marcadores de perfil lipídico expresados en porcentaje de cambio	109
Figura 14. Resultados de ácido úrico antes y después del entrenamiento excéntrico.....	111
Figura 15. Diferencia entre los tratamientos placebo y HMB para actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y superóxido dismutasa (SOD) antes y después de 0, 24, 48, y 72 hrs de una sesión de entrenamiento excéntrico.	113
Figura 16. Resultados de TAS antes y después del entrenamiento excéntrico.....	114
Figura 17. Resultados de Percepción de dolor antes y después del entrenamiento excéntrico.....	116

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición corporal por DEXA antes y después de seis semanas de suplementación	85
Tabla 2. Resultado de biometría hemática antes y después de seis semanas de suplementación	87
Tabla 3. Resultado de biometría hemática antes y después de seis semanas de suplementación	88
Tabla 4. Resultado de marcadores de daño muscular antes y después de seis semanas de suplementación	90
Tabla 5. Resultado de marcadores metabólicos y perfil lipídico antes y después de seis semanas de suplementación	91
Tabla 6. Resultado de marcadores de daño muscular antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs	93
Tabla 7. Resultado de marcadores metabólicos y perfil lipídico antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs	95
Tabla 8. Resultado de marcadores de estrés oxidativo antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs	96
Tabla 9. Resultado de percepción de dolor muscular antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs	98

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Presentación del Suplemento utilizado en el estudio (HMB y Placebo).....	67
Fotografía 2. Con-Trex Leg Press.....	70
Fotografía 3. Con-Trex Leg Press: Barra de desplazamiento	70
Fotografía 4. Con-Trex Leg Press: Pedales	71
Fotografía 5. Determinación de la longitud de trabajo en la barra de desplazamiento del Con-Trex Leg Press (Flexión, 90°).....	71
Fotografía 6. Determinación de la longitud de trabajo en la barra de desplazamiento del Con-Trex Leg Press (Extensión, ~180°).....	72
Fotografía 7. Programación de la sesión de entrenamiento excéntrico en el Con-Trex Leg Press	73
Fotografía 8. Ayuda visual durante la sesión de entrenamiento excéntrico en el Con-Trex Leg Press	74

1. ANTECEDENTES

1.1. DAÑO MUSCULAR

El daño o lesión muscular se ha definido como la pérdida de la función muscular causada por la ruptura física de las estructuras musculares involucradas en la producción o transmisión de la fuerza (Koh, 2008); así, el daño puede ser provocado por un estímulo físico, químico o biológico (Nosaka, 2008).

En la práctica deportiva las lesiones musculares pueden ser de tres tipos: contusiones, laceraciones y distensiones. De ellas, más del 90% son contusiones o distensiones, mientras que las laceraciones son poco comunes (Järvinen et al., 2008).

Existe un tipo muy leve de distensión muscular asociado a la práctica deportiva en la cual las fibras musculares no están rotas y, por lo tanto, no puede caracterizarse como una lesión muscular, aunque comparte muchas de sus características; a este tipo de micro lesión, se le denomina daño muscular inducido por ejercicio.

1.1.1. Daño Muscular Inducido por Ejercicio

El daño muscular inducido por ejercicio puede ser causado por un ejercicio desacostumbrado, que provoca una disminución en la producción de fuerza, con un aumento en la tensión pasiva, en el dolor e inflamación muscular, así como en las proteínas intramusculares en sangre (Howatson and van Someren, 2008). No obstante, los sujetos suelen percibir dos síntomas principales que son el dolor muscular y la pérdida de su función; en esta última se refleja con una disminución en la producción de fuerza (Nosaka, 2008).

Frecuentemente, el daño muscular inducido por ejercicio está relacionado con el dolor muscular de aparición tardía (DOMS, del inglés delayed onset muscle soreness). El DOMS, es la sensación de malestar muscular resultante de realizar un ejercicio desacostumbrado y se caracteriza por rigidez, dolor y sensibilidad al tacto. El proceso se desarrolla durante el primero y el segundo día después del ejercicio,

presentando también el pico de malestar entre el segundo o tercer día; una sensación que desaparece usualmente sin tratamiento, al quinto o séptimo día (Järvinen et al., 2008). Además, se observa una pérdida de fuerza que se manifiesta inmediatamente de finalizado el ejercicio o dentro de los siguientes dos días, pudiendo también durar más de cinco; usualmente, la rigidez e inflamación aumentan entre los días 3 y 4 después del ejercicio y desaparecen después de 10 días (Connolly et al., 2003).

Aunque el DOMS y sus síntomas son bien conocidos, el mecanismo responsable de ellos aún no se conoce del todo; la hipótesis más aceptada del daño muscular plantea su origen a una respuesta inflamatoria, que sería la responsable de la sensación retardada de dolor y cuyo mecanismo podría estar asociada, entre otros, a la producción endógena de óxido nítrico (Radak et al., 2012)

1.1.1.1. Protocolos de Inducción de Daño muscular

A través de ellos se busca conocer las causas y los mecanismos que producen el daño, de tal forma que se pueda prevenir su aparición; así como conocer el mecanismo por el cual el músculo dañado se recupera. En estos protocolos experimentales podemos distinguir dos tipos principales, los modelos en animales y en humanos; siendo los modelos en animales más diversos que los realizados en humanos, debido a que estos últimos se encuentran limitados por las consideraciones éticas (Warren and Palubinskas, 2008).

Estos modelos de inducción de daño muscular en animales utilizan especies tales como monos, gatos, pollos, conejos, ratones y ratas; aplicándose modelos de daño inducido por contracción o modelos de daño inducidos por trauma y, todo ello, principalmente en ratones y ratas (Warren and Palubinskas, 2008).

Los modelos de daño inducido por contracción incluyen tres categorías: (a) Modelos in vivo en los que el músculo en estudio se deja, sin más intervenciones, en el cuerpo del animal (consiente, utilizando tapiz rodante, o anestesiado, utilizando estímulos eléctricos en la musculatura a ser evaluada y servomotores para provocar el movimiento del segmento) para inducir el daño; (b) Modelos in

situ, en que el tendón distal de músculo en estudio es quirúrgicamente expuesto a una máquina que inducirá daño, tipo servomotor o máquina de evaluación de materiales (han sido ampliamente utilizados, aunque quedan en cuestión una serie de procedimientos metodológicos); y (c) Modelos in vitro, donde el músculo en estudio es retirado quirúrgicamente del animal y colocado dentro de una solución, que se aproxima a la composición del fluido extracelular, para ser dañado (Warren and Palubinskas, 2008).

1.1.1.2. Protocolos de inducción de daño muscular en humanos

Los modelos de inducción de daño muscular en humanos, por sus consideraciones éticas, han utilizado el ejercicio (contracciones o movimientos excéntricos) o por medio de actividades comunes de la vida diaria con elevado componente excéntrico (Warren and Palubinskas, 2008). De acuerdo con Warren y Palubinskas, podemos categorizarlos en: (a) modelos que inducen daño muscular a través de ejercicios de cuerpo entero con un componente de contracción excéntrica o utilizando una pendiente (ejercicios de descenso de escalones, carrera en descenso y carrera de duración prolongada) y (b) modelos que inducen el daño a través de una serie corta de contracciones excéntricas.

1.1.1.2.1 Modelos que inducen daño muscular a través de ejercicios de cuerpo entero

Uno de los modelos más antiguos, simples y de bajo costo corresponde al uso del peldaño o escalón. Los modelos de descenso de escalones consisten en descender de manera controlada y con una sola pierna desde un escalón a una altura equivalente al 110% de la longitud de la parte baja de la rodilla del sujeto; para luego, con la pierna contraria, subir dicho escalón. Este ejercicio se repite a una velocidad de quince ciclos por minuto hasta completar un número específico de repeticiones (que va de 300 a 900 repeticiones) o bien hasta dejar exhaustos los músculos de la pierna con la que se desciende el escalón (Newham et al., 1983, Warren and Palubinskas, 2008). En este modelo la pierna que soporta el peso al

bajar realizan una contracción excéntrica y la pierna contraria, al subir, realiza una contracción concéntrica (Warren and Palubinskas, 2008).

Los Modelos de carrera en descenso comparten con el modelo anterior el componente excéntrico; ya que todo movimiento posee este componente que se ve enfatizado cuando se camina o corre al descender una pendiente (Nikolaidis et al., 2008). Por ejemplo, se han utilizado pendiente entre -5% hasta -25%, durante períodos de 20 hasta los 60 minutos, y donde el control del esfuerzo puede realizarse de tres maneras: (1) controlando el consumo máximo de oxígeno entre un rango del 70-75%, (2) controlando la frecuencia cardiaca al 70% o al 77% de su máximo o a 170 pulsaciones por minuto, y (3) controlando la velocidad del tapis entre 6,4 - 9 - 9,6 o 10,5 km / h; o utilizando una velocidad máxima de carrera del sujeto del 70% (Warren and Palubinskas, 2008). No obstante, con base en la revisión realizada por Warren y Palubinskas el protocolo más efectivo para inducir daño muscular en este modelo utilizó un grado de inclinación de -25%, a una velocidad de 9 km / h y con una duración de 25 minutos.

El último de los modelos de esta categoría es el de carrera prolongada, en las que se ha utilizado el maratón (~42,2 km) o el ultramaratón (con más de 42,2 km). En estos casos se observa daño muscular (marcado por la elevación de los niveles séricos de creatina quinasa (CK), aunque el daño observado en los sujetos entrenados para estas carreras es marcadamente menor (Warren and Palubinskas, 2008).

Un problema de este modelo es que la respuesta al daño no se relaciona adecuadamente con la distancia utilizada; por ejemplo, los investigadores observan variaciones importantes entre la distancia recorrida y la CK, incluso en sujetos que han recorrido la misma distancia: 41,3 km (860 UI / L), 42,2 km (3880 UI / L otros 2250 UI / L), 56 km (960 UI / L), 67 km (430 UI / L), 88 km (640 UI / L), por lo que no se observa en este modelo una relación clara entre el esfuerzo realizado y este marcador de daño (Warren and Palubinskas, 2008).

1.1.1.2.2 Modelos que inducen daño muscular a través de series de contracción excéntricas

Esta es la segunda categoría más común de inducción de daño muscular utilizada en humanos; en ella, se realizan diversas series cortas de contracciones excéntricas con el fin de inducir daño a grupos musculares localizados cerca de una articulación. Una característica importante de dicha articulación es que tenga un movimiento uniaxial (en un solo eje), ya que de esta forma su movimiento es más fácil de controlar o evaluar debido a que la articulación puede ser fácilmente aislada. Además, los movimientos de compensación pueden ser también controlados y por tanto la libertad de movimiento de la articulación puede ser limitada en su función biomecánica (Warren and Palubinskas, 2008).

Esta categoría puede ser dividida en dos tipos de modelos: (1) isocinéticos y (2) isotónicos. Los modelos isocinéticos mantienen constante la velocidad angular a la que se realizan las contracciones excéntricas y, por ello, en estos modelos se utilizan dinamómetros isocinéticos comerciales (por ejemp.: Contrex, Cybex, etc.). En los modelos isotónicos, utilizando principalmente los músculos flexores del codo y los músculos extensores de la rodilla, se mantiene una carga externa constante durante las contracciones excéntricas a través del uso de barras o mancuernas (Warren and Palubinskas, 2008)

En las evaluaciones por contracciones excéntricas de los músculos flexores del codo, que son los más utilizados, las características de la carga, el número de repeticiones, el desplazamiento y la velocidad angular, varían mucho entre los estudios (Warren and Palubinskas, 2008). En los modelos de inducción de daño muscular a través de contracciones excéntricas en los músculos extensores de la rodilla, que son el segundo grupo más utilizado, se utilizan varias series de contracciones excéntricas aplicadas por un dinamómetro isocinético o bien un aparato de ejercicio isotónico (Warren and Palubinskas, 2008).

Estas evaluaciones son metodológicamente más estables, ya que tanto los dinamómetros isocinéticos como los aparatos de ejercicio isotónico presentan similares características; el sujeto permanece en una posición sentado o un poco

reclinado con el muslo apoyado y utiliza el plano sagital de la articulación de la rodilla para empujar un brazo mecánico, estando la pierna sujeta por medio de cinturones al asiento (Fig. 1 a) para empujar y recoger la pierna (Fig. 1 b). Durante la prueba en máquina, en modo excéntrico, el sujeto debe resistir al máximo el movimiento provocado por la carga externa, mientras que con las máquinas en modo isotónico el sujeto debe bajar el peso de una manera controlada hasta llegar a la posición final (Fig. 1 c) (Warren and Palubinskas, 2008).

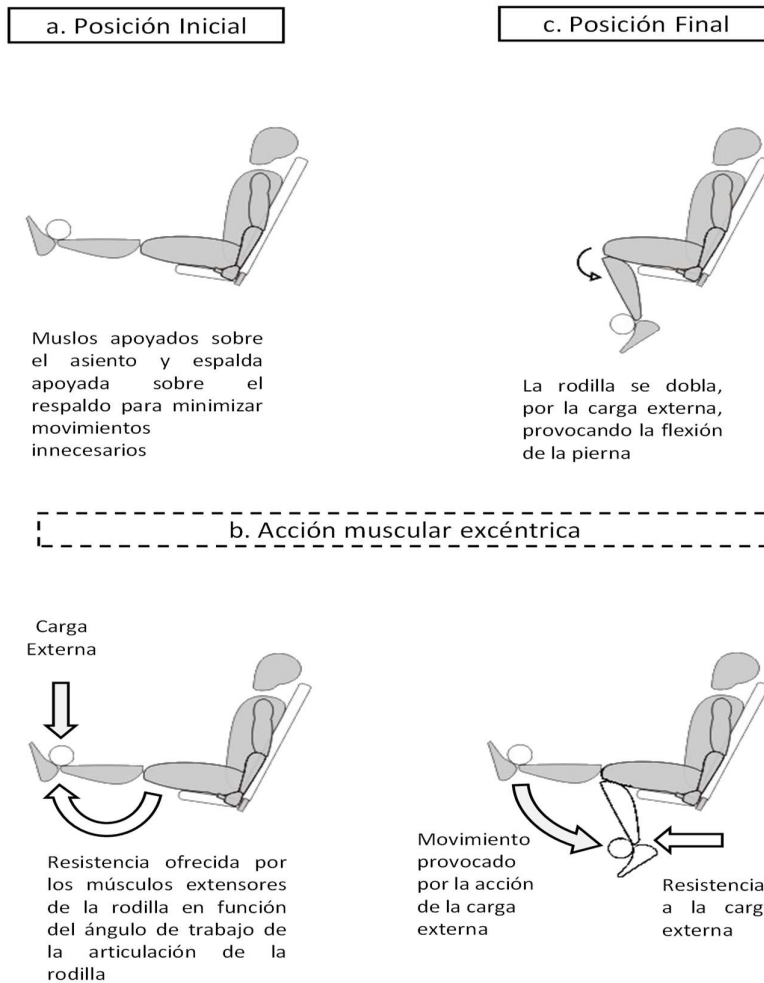


Figura 1. Inducción de daño muscular por medio de contracción excéntrica de los músculos extensores de la pierna por medio de ejercicio de extensión de pierna

Otra manera de inducir daño muscular en los músculos extensores de la rodilla es el uso de máquinas modificadas de leg press (Fig. 2). Sin embargo, a diferencia de la extensión de pierna, en esta manera de inducción, el daño no se encuentra restringido sólo a los músculos extensores de la rodilla, debido a que en la acción muscular excéntrica también participan los músculos extensores de la cadera (principalmente) y del tobillo (Warren and Palubinskas, 2008, Jubeau et al., 2008) (Fig. 2 b).

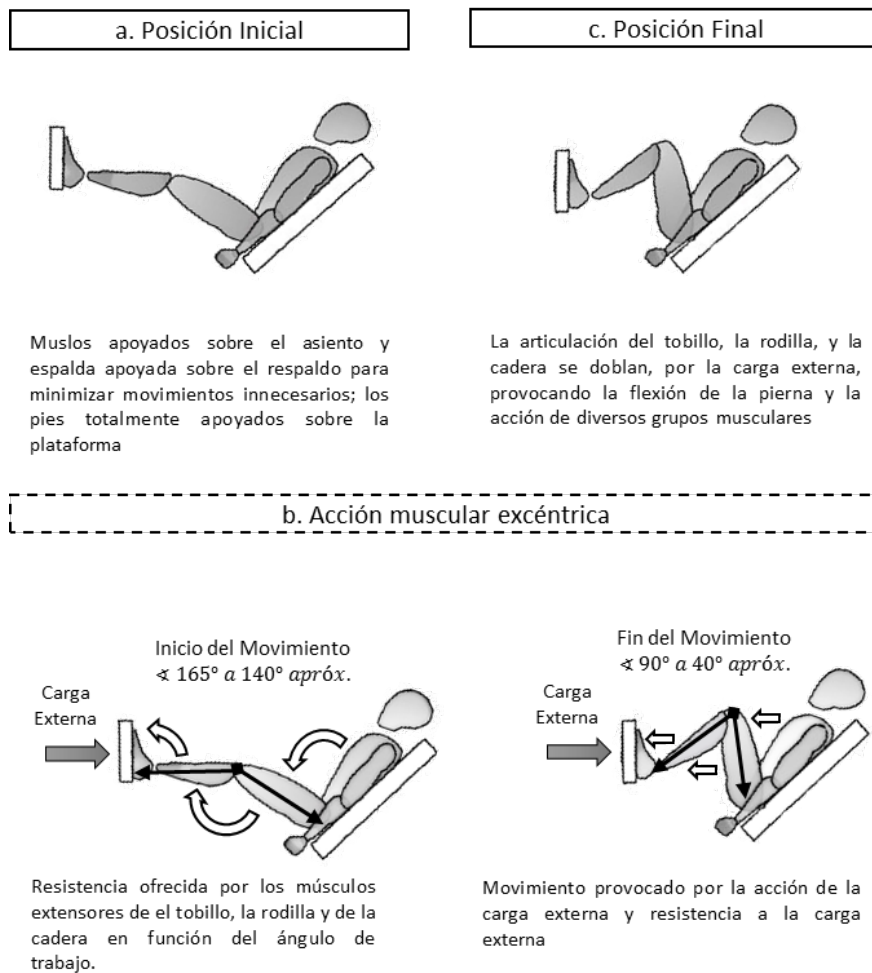


Figura 2. Inducción de daño muscular por medio de contracción excéntrica de los músculos extensores de la pierna por medio de leg press

Para realizar el ejercicio excéntrico en la máquina de leg press, de manera general, se le solicita a los sujetos colocarse de forma horizontal en una posición supina en la máquina (ya sea dinamómetro o aparato isotónico), los sujetos colocan su pierna en un ángulo aproximado de 90° con respecto al eje de la rodilla; luego, los sujetos estiran la pierna para llevar el ángulo de la rodilla a unos 165° aproximadamente para llevarlo a la posición inicial (Fig. 2 a); a partir de esta posición, se suelta la carga y se le instruye a los sujetos que bajen el peso lentamente resistiendo al máximo la carga a través de un arco de trabajo de aproximadamente 75° con respecto al eje de la rodilla (Fig. 2 b); finalmente, los sujetos llegan a la posición final (Fig. 2 c) de $\sim 90^\circ$ nuevamente (Stupka et al., 2001, Barnes et al., 2010).

En la revisión hecha por Warren y Palubinskas, sobre las principales características encontradas en los modelos de inducción del año muscular por medio de contracciones excéntricas realizadas con los músculos extensores de la rodilla, no se toma en cuenta el tipo de ejercicio realizado (extensión de pierna o leg press) y, en cambio, se divide a los estudios por el tipo de contracción (isocinética o isotónica). Dentro de los estudios que han utilizado contracciones isocinéticas la carga utilizada ha sido máxima con un número de repeticiones que va de 40 a 300; un ángulo de trabajo inicial de 35° o 40° y final de 100° o 140° ; y velocidades que varían de 5° , 30° , 60° , y 90° por segundo (Warren and Palubinskas, 2008). Por otra parte, en los estudios que utilizaron contracciones isotónicas las cargas podían ser de: (1) 70% de la masa corporal, (2) el 75% al 150% de la fuerza máxima en una contracción voluntaria isométrica, y (3) del 75%, 80%, 110%; finalmente, el número de repeticiones va de 50 a 300 repeticiones (Warren and Palubinskas, 2008).

1.1.1.3. Daño muscular provocado por modelos de inducción de daño muscular a través de series cortas de contracciones excéntricas

Aunque existen diversos indicadores del daño muscular en humanos, que se

discutirán más adelante, uno de los más utilizados para realizar comparaciones entre modelos es la concentración en sangre de la enzima creatina quinasa (CK) debido a que muchos de los estudios la han utilizado como indicador (Clarkson and Hubal, 2002, Warren and Palubinskas, 2008).

Con base en lo anterior, se ha observado que en promedio los estudios que utilizan carreras en descenso tienen una concentración de 550 ± 200 UI / L (media \pm desviación estándar), mientras que los que utilizan a los músculos extensores de la pierna muestran 1080 ± 370 UI / L, y los que utilizan flexores del codo reportan 5540 ± 850 UI / L (Warren and Palubinskas, 2008). De acuerdo a la revisión de Warren y Palubinskas, la concentración de CK reportada por los estudios que utilizan los músculos flexores el codo es de 5 a 10 veces mayor que lo reportado por los modelos que utilizan carreras en descenso o los músculos flexores de la rodilla, y que esta diferencia es estadísticamente significativa. En la revisión realizada por Clarkson y Hubal, también se muestra que los modelos que utilizan los músculos flexores del codo tienen una concentración de CK en plasma de 2000 a 10000 UI mientras que en los modelos de carrera en descenso presentan una concentración de 100 a 600 UI. Sin embargo, ellos también reportan que el pico máximo de CK en las carreras en descenso se da entre las 12 a 24 hrs posteriores al ejercicio y que en los modelos de los músculos flexores del codo el incremento en la concentración de CK comienza a las 48 hrs y el pico de concentración se observa entre los 4 a 6 días después el ejercicio.

Por tanto, los músculos flexores del codo son más susceptibles al daño muscular excéntrico que los músculos flexores de la rodilla produciendo una mayor concentración de CK en la sangre; esto no parece concordar con el hecho que los músculos extensores de la rodilla tienen cerca de 10 veces más masa que los músculos flexores del codo y, por tanto, deberían producir una mayor concentración de CK, lo que ha llevado a formular varias hipótesis para explicar este hecho (Warren and Palubinskas, 2008).

Una de las primeras hipótesis fue el uso de un mayor número de contracciones realizadas con los músculos flexores del codo; sin embargo, Warren

y Palubinskas, muestran que los estudios que utilizan los músculos extensores de la rodilla realizan en promedio un mayor número de repeticiones (100 ± 13) que los estudios que utilizan los músculos flexores del codo (41 ± 3). También se ha postulado que los músculos flexores del codo son más susceptibles al daño excéntrico que los músculos extensores de la rodilla, esto debido a que los músculos extensores de la rodilla están adaptados a la realización de actividades que implican contracciones excéntricas, tales como descender de las escaleras, sentarse y levantarse de una silla, etc. y, por tanto, el ejercicio excéntrico es menos nuevo para ellos que para los músculos flexores del codo (Warren and Palubinskas, 2008). Finalmente, otra hipótesis es que los músculos flexores del codo tienen proporcionalmente más fibras de contracción rápida que los músculos extensores de la rodilla, aunque varios estudios muestran que no existen diferencias sustanciales en el tipo de fibra de ambos grupos musculares, y que ambos grupos muestran en promedio una composición del 50% al 60% de fibras musculares de contracción rápida (Warren and Palubinskas, 2008). En conclusión, la explicación a este hecho aún no ha sido encontrada.

1.1.2. Daño muscular y ejercicio excéntrico

Aunque se ha hecho énfasis en el aumento de la enzima CK en plasma como manifestación del daño muscular causado por el ejercicio excéntrico en los modelos de inducción de daño muscular; el daño muscular, se entiende como diversas manifestaciones de un hecho biológico particular que ha sido tratado desde diversos enfoques como se mostrará más adelante.

Para Järvinen et al. (2008 y 2013), el daño muscular puede ser entendido como una distensión muscular leve; por tanto, el daño es producido porque las miofibrillas han sido expuestas a una fuerza de tensión intrínseca excesiva que ha provocado que se rompan y ocurra el daño. Esta ruptura esta comúnmente localizada cerca de la unión miotendinosa, a nivel de los últimos túbulos T, lo que ha sido descrito como el sitio más débil y, hay que destacar, que también se rompe

la lámina basal, las membranas intramusculares y los vasos sanguíneos que corren entre el endomisio y el perimisio.

Una vez que se ha producido el daño, el músculo responde con un proceso regenerativo muy similar al que ocurre con las contusiones y / o laceraciones. Dentro de dicho proceso se han identificado tres fases: (1) fase de destrucción, (2) fase de reparación, y (3) fase de remodelación (Järvinen et al., 2008, Jarvinen et al., 2013); las cuales se describen a continuación.

La fase de destrucción comienza cuando las miofibras rotas comienzan a necrosarse a partir de una corta distancia del sitio de la ruptura (Fig. 3 a). La propagación de la necrosis es detenida (aproximadamente en un lapso de dos horas) a través de una barrera de protección cerrada por nuevo sarcolema (Fig. 3 b). Así, las miofibrillas rotas se contraen dejando un espacio libre entre los dos extremos rotos, el cual es llenado por un hematoma; una lesión que induce, finalmente, a una rápida reacción inflamatoria (Jarvinen et al., 2013, Järvinen et al., 2008).

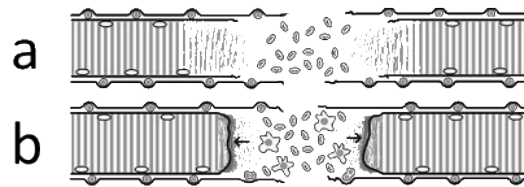


Figura 3. Daño muscular: Fase de destrucción.

músculos extensores de la pierna por medio de ejercicio de extensión de pierna

La fase de reparación comienza con la fagocitosis del tejido necrosado por parte de los monocitos; luego, las células satélite comienzan la reparación de la miofibrilla rota (Jarvinen et al., 2013, Järvinen et al., 2008). Dentro de las primeras seis horas después del daño, las células enviadas comienzan a diferenciarse en mioblastos y fibroblastos produciendo colágeno y comenzando a formar tejido conectivo de cicatrización (Fig. 4 a). En las siguientes 24 hrs, células madre satélite no diferenciadas comienzan a proliferar contribuyendo a la formación de los mioblastos y, en las siguientes 48 hrs, los mioblastos formados a partir de las células madre y satélite comienzan a combinarse para formar miotubos (Fig. 4 b).

Finalmente y dentro de cinco a seis días, la sección necrosada de la miofibrilla rota (dentro de la vieja lámina basal) es reemplazada por la miofibrilla regenerada, que comienza penetrar dentro del tejido conectivo cicatrizado los dos extremos de las miofibrillas rotas (Fig. 4 c) y, que junto con ello, el sitio de la lesión es revascularizado por nuevos capilares (Jarvinen et al., 2013, Järvinen et al., 2008).

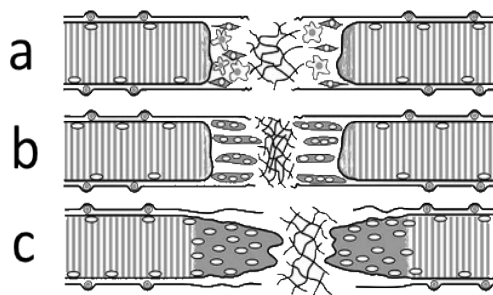


Figura 4. Daño muscular: Fase de reparación.

(Extraído y adaptado de Järvinen et al., 2008 y Jarvinen et al., 2013)

Finalmente, la fase de remodelación es el periodo de maduración de las miofibrillas regeneradas, que incluye la formación de un aparato contráctil maduro y la unión de los extremos de la miofibrilla regenerada al tejido conectivo cicatrizado por la formación de nuevas uniones miotendinosas (Jarvinen et al., 2013, Järvinen et al., 2008).

La formación del tejido conectivo cicatrizado provoca la retracción de los extremos de la miofibrilla rota y los coloca más cerca. Sin embargo, éstos parecen estar separados por una fina capa de tejido conectivo que mantiene ambos extremos pegados a las nuevas uniones miotendinosas (Fig. 5 a). Otro punto a destacar es la restauración de la innervación motora (Fig. 5 b) de las partes de la miofibrilla rota, que fueron separadas de su unión neuromuscular original por el tejido cicatrizado, un elemento que es importante para recobrar la capacidad funcional del músculo (Jarvinen et al., 2013, Järvinen et al., 2008).

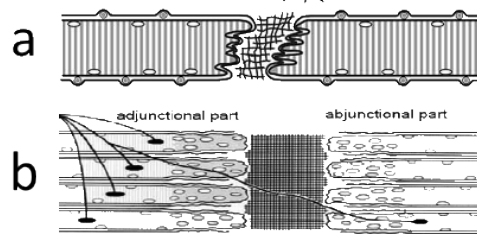


Figura 5. Daño muscular: Fase de remodelación.
(Extraído y adaptado de Järvinen et al., 2008 y Jarvinen et al., 2013)

Además de Järvinen et al., otros autores han estudiado algunos de los indicadores de daño muscular inducido por ejercicio excéntrico, así como los posibles mecanismos que lo causan. Proske et al., en tres revisiones (Proske and Allen, 2005, Proske and Morgan, 2001, Morgan and Proske, 2004), mencionan que existen dos signos importantes y bien conocidos de daño muscular que son: (1) la presencia de sarcómeras desorganizadas en la miofibrilla y (2) el daño al sistema de acoplamiento de excitación-contracción.

De acuerdo con Proske y Morgan (2001), la presencia de sarcómeras desorganizadas en la miofibrilla se debe a que cuando el músculo se estira de manera activa no todas las sarcómeras resisten de igual manera el estiramiento debido a que existen sarcómeras menos y más resistentes. Por ejemplo, durante una repetición excéntrica, las fibras musculares son sometidas a un proceso de estiramiento que incrementa la tensión en ellas (Fig. 6 a) provocando que las sarcómeras más débiles lleguen a su punto máximo de tensión. Esta situación provoca que se alarguen, rápida e incontroladamente, a un punto que los miofilamentos (actina y miosina) ya no se superponen (Fig. 6 b), y este proceso se repite una y otra vez de manera aleatoria (a lo largo de la fibra muscular) al estirar exageradamente la siguiente sarcómera más débil. Al final de la contracción, cuando el músculo se relaja, varios de los miofilamentos que han sido estirados exageradamente ya no interdigitan correctamente (Fig. 6 c) y, por tanto, la sarcómera se desorganiza y pierden su función normal.

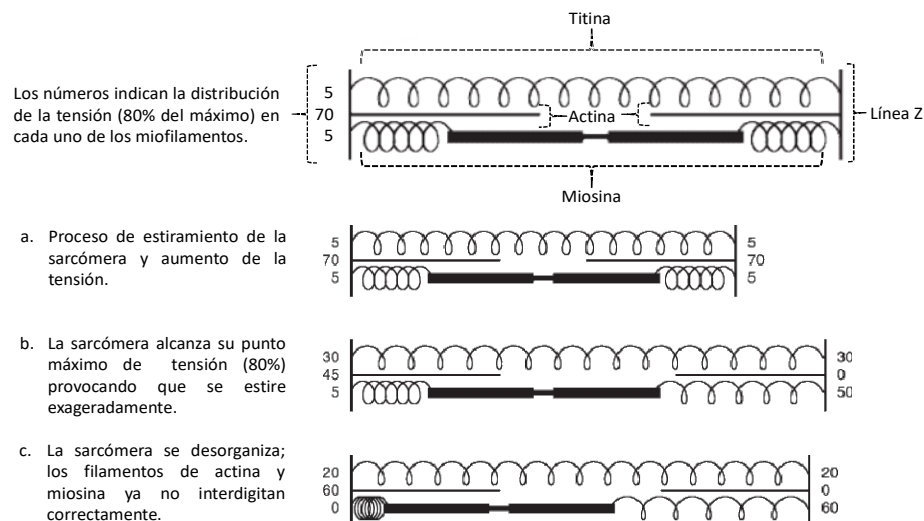


Figura 6. Distribución de los miofilamentos en la sarcómera funcional y desorganizada

Extraído y adaptado de Proske y Morgan, 2001)

Al aumentar el número de contracciones excéntricas las sarcómeras desorganizadas se incrementan, permitiendo que el daño se esparza de manera longitudinal a las sarcómeras adyacentes dentro de la misma miofibrilla y transversalmente a otras miofibrillas. Esto provoca una distorsión estructural que da como resultado daños a nivel membranoso que incluyen a la membrana del retículo sarcoplasmático, a los túbulos T, y al sarcolema (Proske and Allen, 2005, Proske and Morgan, 2001, Morgan and Proske, 2004). El daño de los túbulos T es importante ya que provoca que el ión calcio (Ca^{2+}) sea liberado dentro del sarcoplasma aumentando su concentración. Este aumento en el calcio detona procesos de proteólisis asociados con la ruptura y reparación de la fibra muscular, que junto a lo anterior resulta en el daño al sistema de acoplamiento de excitación-contracción (Proske and Allen, 2005, Proske and Morgan, 2001). Finalmente, el daño provocado por el ejercicio excéntrico al sistema de acoplamiento de excitación-contracción produce cambios estructurares en la miofibrilla que se pueden manifestar como: (1) disminución de la tensión activa, (2) cambio en la longitud óptima para la tensión activa, (3) aumento de la tensión pasiva

(contractura local del músculo); lo que da como resultado una disminución en la fuerza producida por el músculo (Proske and Morgan, 2001, Morgan and Proske, 2004, Proske and Allen, 2005).

Como se indicó en el anterior párrafo, el daño estructural provocado a la sarcómera aumenta la concentración de Ca^{2+} , lo que inicia procesos de proteólisis asociados con la ruptura y reparación de la fibra muscular; dichos procesos son mediados a través del sistema inmunológico a través de la respuesta inflamatoria posterior al ejercicio excéntrico (Peake et al., 2005). Se ha propuesto que la respuesta inflamatoria es activada por el trauma mecánico inicial y se caracteriza por la infiltración (dentro del tejido dañado) de fluido y proteínas del plasma, conjuntamente con el incremento en la población de células inflamatorias; también, se sugiere que la proliferación de células inflamatorias exagera el daño muscular inicial al incrementar la liberación de especies reactivas de oxígeno y la activación de enzimas como fosfolipasas y proteasas dentro del tejido dañado. Sin embargo, el principal objetivo de dicha respuesta es la limpieza de los restos del tejido dañado para preparar esa área para los procesos de regeneración (McKune et al., 2012, Clarkson and Hubal, 2002).

Aunque la respuesta inflamatoria es variable y depende de diversos factores como el grupo muscular utilizado, el tipo de ejercicio, la intensidad y la duración entre otros, varios autores (Clarkson and Hubal, 2002, Peake et al., 2005, McKune et al., 2012) han propuesto una serie de sucesos que la caracterizan. De acuerdo con Peake et al., después de realizar ejercicio excéntrico inductor del daño estructural, el sistema inmunológico responde rápidamente movilizándolo dentro de la circulación a los leucocitos, que son atraídos hacia el tejido dañado. Las primeras células que se acumulan en el sitio de la lesión son los neutrófilos (entre 45 minutos y 2 horas posteriores al ejercicio), fagocitando el tejido necrótico y trabajando de manera conjunta con los macrófagos residentes en el tejido muscular (Clarkson and Hubal, 2002, Peake et al., 2005). Además, la acumulación de neutrófilos en el tejido muscular provoca la liberación de enzimas proteolíticas y de radicales libres de oxígeno que degradan e incrementan la permeabilidad de su

membrana. Esto último provoca que se incremente la liberación en sangre de proteínas musculares como la CK, la LDH, la AST y la mioglobina entre otras (Clarkson and Hubal, 2002, Peake and Suzuki, 2004, Nagatomi, 2006, McKune et al., 2012). Finalmente, la acumulación de neutrófilos libera agentes quimioattractantes (citocinas pro-inflamatorias) que dan la señal a otras células inflamatorias, linfocitos y monocitos, que ayudaran al proceso de digestión del tejido necrótico adyacente (Clarkson and Hubal, 2002, Peake et al., 2005).

Al final, y después de la respuesta rápida de leucocitos y neutrófilos, se incrementan los niveles de monocitos dentro del músculo, así como la producción de citocinas por parte de los monocitos y los linfocitos dentro del sitio del daño muscular que actúan como mediadores facilitando o retardando la llegada de células inflamatorias al tejido dañado. De esta manera, el proceso inflamatorio depende de un balance relativo entre las citocinas pro-inflamatorias y las citocinas anti-inflamatorias para producir una reparación adecuada del tejido dañado sin crear una respuesta excesiva (Clarkson and Hubal, 2002, Peake et al., 2005)

1.2. Evaluación del daño muscular

Como se mencionó en el tema anterior, el daño muscular producido por entrenamiento excéntrico ha sido estudiado a través de diversos enfoques y, por tanto, la evaluación de dicho daño se puede realizar de diversas maneras. Se puede realizar la evaluación directa del daño muscular a través de imagen de resonancia magnética (Clarkson and Hubal, 2002, McKune et al., 2012, Sayers and Hubal, 2008) o a través de biopsias musculares (Clarkson and Hubal, 2002, Brentano and Martins Kruehl, 2011, McKune et al., 2012); aunque en ambos casos se presentan algunas dificultades.

La técnica de imagen utilizando resonancia magnética mide el daño muscular a partir del edema producido en el músculo completo, y tiene como principales ventajas no ser una técnica invasiva pero sí ser mucho más sensible para detectar el daño muscular que otros métodos convencionales; aunque aún no es tan claro lo que indican los cambios en las imágenes (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012). Si bien, la imagen de la resonancia magnética es útil para evaluar qué músculos han sido dañados después del ejercicio excéntrico, el incrementar la intensidad de la señal que refleja los incrementos en agua (edema) dentro del músculo. Sin embargo, estos cambios en la acumulación de agua pueden deberse a una lesión del tejido conectivo, a un incremento en la permeabilidad de los capilares, a una degradación de las proteínas musculares o a una combinación de estos factores y, por tanto, el incremento en la intensidad de la señal no reflejaría específicamente el origen del edema (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012).

Por otra parte, el uso de la técnica de biopsia muscular junto con el uso del microscopio (en principio de luz y posteriormente electrónico) permitió apreciar los cambios estructurales producidos por el ejercicio excéntrico dentro de la miofibrilla, como son: (a) los cambios en la integridad ultra-estructural, (b) pérdida del filamento delgado o pérdida del arreglo de los filamentos, (c) el daño en la matriz extracelular, y (d) el daño en los capilares. Aunque, se ha argumentado que el mismo procedimiento al tomar la biopsia puede causar el daño muscular y,

además, si el tamaño de la muestra es muy pequeño con respecto al tamaño total del músculo, se ha argumentado que los resultados de la muestra pueden sobrestimar o subestimar el daño causado, asumiendo además el carácter invasivo de la de la biopsia muscular que es una de sus mayores desventajas (Clarkson and Hubal, 2002).

Debido a las desventajas de los métodos directos de evaluación del daño muscular producido por ejercicio excéntrico, se han propuesto varios métodos de evaluación indirecta (Clarkson and Hubal, 2002, Brentano and Martins Krueel, 2011), que se pueden agrupar en: (1) fuerza y movilidad muscular, (2) dolor muscular e inflamación, y (3) marcadores bioquímicos en sangre y orina.

1.2.1. Efecto del daño muscular sobre la fuerza y movilidad muscular

Se ha observado que después de realizar varias series de contracciones excéntricas, en un músculo determinado, se presenta una disminución en la producción de fuerza de dicho músculo; esta pérdida de fuerza (frecuentemente medida de manera isométrica) es considerada uno de los más válidos y fiables métodos para medir el daño muscular inducido por ejercicio excéntrico en humanos (Clarkson and Hubal, 2002, Proske and Allen, 2005, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012). Aunque la disminución observada en la fuerza muscular puede deberse a dos principales factores, como son la fatiga metabólica y el daño muscular inducido por ejercicio, la pérdida de fuerza provocada por la fatiga metabólica no produce daño (como sucede en las contracciones concéntricas) y puede revertirse en aproximadamente dos horas después de haber realizado el ejercicio. Mientras que la provocada por el daño se mantiene en promedio hasta 24 horas, por lo que se considera que la disminución de fuerza relacionada al daño muscular es aquella que dura un mínimo de dos horas o más. Además, se ha asociado que una pérdida del 10 al 30% en la fuerza (medida inmediatamente después de finalizar el ejercicio) con ejercicio excéntrico de

intensidad baja, una pérdida del 30 al 50% con intensidad moderada, y una pérdida del 50 al 70% con intensidad alta (Clarkson and Hubal, 2002, McKune et al., 2012).

Junto con la disminución de fuerza muscular, también se ha observado una disminución en la movilidad muscular (Sayers and Hubal, 2008, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012). Dicha movilidad, frecuentemente, se ha analizado por medio del rango de movimiento articular, que es la diferencia entre el mayor ángulo de flexión y extensión de una articulación determinada, tomando en cuenta la distancia y dirección a través de la cual se mueve la articulación de forma natural. Esta variable suele ser analizada junto con la fuerza muscular y el dolor muscular localizado de aparición tardía (Sayers and Hubal, 2008, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012). Se ha demostrado que después de una sesión de ejercicio excéntrico el rango de movimiento articular voluntario disminuye entre aproximadamente 20 a 45°, una disminución atribuida parcialmente a la inflamación causada en el músculo dañado. Además, suele ser medido inmediatamente después de realizar ejercicio y en los siete días posteriores a su realización, ya que este mismo tiempo es el que tarda el músculo en recuperar su movilidad (Sayers and Hubal, 2008, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012). La disminución en el rango de movimiento articular es uno de los más válidos y confiables indicadores de daño muscular inducido por ejercicio (McKune et al., 2012, Sayers and Hubal, 2008).

1.2.2. Efecto del daño muscular sobre indicadores de dolor muscular e inflamación

Después de un día de haber realizado una sesión de ejercicio excéntrico, las personas experimentan una sensación de dolor acompañada de dificultad para realizar movimiento con el músculo ejercitado (Proske and Morgan, 2001, Proske and Allen, 2005). Esta sensación aparece varias horas después de haber realizado el ejercicio, presentando su mayor intensidad entre las 24 y 72

horas, y finalmente desaparece entre los cinco a siete días (Clarkson and Hubal, 2002, McKune et al., 2012).

Como se mencionó anteriormente al principio de este mismo capítulo a esta sensación se le conoce como dolor muscular de aparición tardía (DOMS, por sus siglas en inglés). El DOMS está fuertemente vinculado al daño muscular y puede ser causado por la combinación de varios factores como la inflamación, el incremento de productos químicos nocivos, y sustancias relacionadas con la inflamación (Clarkson and Hubal, 2002); de hecho, como se señaló en el tema anterior, el daño muscular desencadena una respuesta inflamatoria local que es acompañada por edema junto a una producción de sustancias químicas (histamina, serotonina, prostaglandinas, sustancia P, productos de la inflamación, etc.) provenientes del tejido dañado que estimulan a los receptores sensoriales de los estímulos dolorosos (nociceptores) derivados de las neuronas aferentes tipo III y IV que se encuentran en el músculo (Proske and Morgan, 2001, Proske and Allen, 2005, McKune et al., 2012).

La forma más usual de evaluar el dolor muscular de aparición tardía (DOMS) es mediante el uso de cuestionarios que miden la percepción de dolor; frecuentemente estos cuestionarios hacen uso de una escala numérica o una escala visual análoga donde el valor más bajo representar el menor grado de dolor y el valor más alto un mayor grado de dolor. Esta escala normalmente suele utilizar valores que van de 1 a 10 y son en ellas donde el sujeto debe marcar o escoger el nivel de dolor percibido en el músculo, de acuerdo a las instrucciones previamente entregadas por el investigador (Sayers and Hubal, 2008, Brentano and Martins Krueel, 2011).

De manera general, el mayor grado de dolor registrado por los sujetos en esta escala es dependiente del tipo de protocolo usado para inducir el daño muscular; así, cuando se ha utilizado carrera en pendiente descendiente o extensión isocinética excéntrica de músculo de la rodilla se han señalado niveles de dolor más bajos (4 a 5), mientras que cuando se utilizan contracciones excéntricas máximas de los músculos flexores del codo los valores son más altos, entre 7 y 8 (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008).

La dificultad para realizar movimiento con la presencia de dolor en el músculo ejercitado, puede explicarse por la inflamación provocada a partir del daño causado por el entrenamiento excéntrico (Proske and Morgan, 2001). Como se mencionó anteriormente, el daño muscular causado por ejercicio excéntrico desencadena una respuesta inflamatoria que es acompañada de edema y, por tanto, asociada al dolor posiblemente activado por el aumento en la presión intramuscular sobre las terminaciones nerviosas libres del músculo (Clarkson and Hubal, 2002, Proske and Allen, 2005).

Los métodos más comunes que se han utilizado para evaluar dicho edema son: (1) medir la circunferencia del grupo muscular dañado por medio de métodos antropométricos, (2) ecografía (también llamada ultrasonografía o ecosonografía), y (3) imagen de resonancia magnética (este método directo, ya ha sido discutido previamente en este texto) (Sayers and Hubal, 2008, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012).

El aumento en el perímetro de un músculo ejercitado, principalmente de las extremidades, ocurre cuando se realiza un ejercicio desacostumbrado, pero es aún mayor cuando el tipo de ejercicios es excéntrico (Brentano and Martins Krue, 2011). La mayor parte de los estudios que han medido este parámetro se han enfocado en los músculos flexores del brazo, observándose un aumento de su circunferencia entre una y cuatro horas después de haber realizado el ejercicio y hasta los cinco días (Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012). Utilizando ecografía, también se han demostrado tiempos similares en la presencia de edema con el aumento del perímetro del músculo y utilizando imagen de resonancia magnética, la mayor presencia de edema se suele encontrar entre los 3 a 10 días, por tanto, es probable que la mayor presencia de edema no coincida en tiempo con el dolor (Clarkson and Hubal, 2002).

1.2.3. Efecto del daño muscular sobre marcadores bioquímicos en sangre

El aumento en las concentraciones de proteínas y enzimas, en sangre y orina, que provienen del músculo esquelético son marcadores confiables del estado funcional del tejido muscular. Además, dicho aumento puede ser usado como índice de necrosis celular o de daño al tejido como consecuencia de daño muscular agudo o crónico (Plebani, 2010, Brancaccio et al., 2010).

En el ámbito médico, estos marcadores han sido utilizados para el diagnóstico de la rabdomiólisis, una entidad clínica causada por un daño masivo al músculo esquelético que provoca su necrosis, que provoca que las proteínas intracelulares del músculo sean liberadas en el fluido extracelular y en la circulación como resultado de la ruptura de la membrana celular de las fibras musculares (Plebani, 2010, Brancaccio et al., 2010, McKune et al., 2012). La rabdomiólisis puede tener muchas causas como: intoxicación por toxinas y drogas, uso de medicamentos (en especial los usados para reducir el colesterol), trastornos enzimáticos hereditarios, endocrinopatías, hipertermia maligna, síndrome neuroléptico maligno, golpe de calor, hipotermia, alteraciones electrolíticas, cetoacidosis diabética, el coma hiperosmolar no cetónico, hipo o hipertiroidismo grave, infecciones bacterianas o virales, y el ejercicio físico extenuante (Brancaccio et al., 2010, Plebani, 2010).

Al igual que en la rabdomiólisis, en el daño muscular inducido por ejercicio (principalmente de tipo excéntrico) el aumento de proteínas intramusculares en el torrente sanguíneo y en la orina han sido utilizadas como un marcadores de daño muscular (Clarkson and Hubal, 2002, Brancaccio et al., 2010, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012) y que podemos dividirlos en: (1) enzimas y proteínas en suero y plasma, (2) proteínas y otros marcadores relacionados al estrés oxidativo, (3) proteínas relacionadas al sistema inmunológico y a la inflamación, (4) proteínas y otros marcadores en orina; a continuación se discuten los temas (1) y (2).

1.2.3.1. Efecto del daño muscular sobre enzimas y proteínas intramusculares en suero y plasma

Desde varios años atrás se ha utilizado la concentración en suero y plasma de enzimas y proteínas intramusculares como marcadores bioquímicos de daño muscular (Evans and Cannon, 1991). Además, Warren et al. (citados por Clarkson and Hubal, 2002) mencionan que es el segundo método más utilizado (52% de los estudios) dentro de investigaciones que evalúan daño muscular inducido por ejercicio excéntrico en humanos, después de la determinación de dolor muscular (63%) y antes de la evaluación de fuerza máxima voluntaria de contracción (50%).

Dentro de las principales enzimas utilizadas como marcadores de daño muscular en sangre podemos encontrar a la creatina-quinasa (CK, por sus siglas en inglés), a la lactato deshidrogenasa (LDH) y a la aspartato aminotransferasa (AST por sus siglas en inglés) (Sayers and Hubal, 2008, Brancaccio et al., 2010, McKune et al., 2012). Sin embargo, la CK es considerada el mejor indicador de daño a la estructura de la célula muscular debido a que ésta se localiza casi exclusivamente en los músculos del tejido esquelético y cardíaco (Brentano and Martins Krueel, 2011), además los incrementos en magnitud provocados por el daño muscular suelen ser mayores que en otras enzimas, y también el costo de la determinación suele ser menor (Clarkson and Hubal, 2002).

1.2.3.1.1 Creatina-quinasa (CK)

La CK, es una proteína globular dimérica compuesta por dos subunidades (la unidad M, muscular; y la unidad B, cerebral) de aproximadamente 43-45 kDa cada una; a partir de dichas subunidades se forman tres tipos de isoenzimas: (1) CK-MM, la cual se encuentra en el músculo esquelético y es la más abundante en el cuerpo humano; (2) CK-MB, que se encuentra principalmente en el corazón (40% del total de CK en el corazón); y la CK-BB, la cual predomina en el cerebro (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011). La isoenzima CK-MM se encuentra en varios sitios del citosol de la miofibrilla donde el consumo del ATP es

alto; pero, se encuentra específicamente ligada a la estructura de la línea M de la sarcómera (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011).

La CK se encarga de regular la concentración celular de ATP y de ADP a través de catalizar el intercambio reversible de enlaces de fosfato de alta energía entre la fosfocreatina y el ADP producido durante las contracciones musculares; luego, cuando la intensidad del ejercicio es tal que causa daño a las células musculares, la CK es liberada al espacio intersticial de donde es tomada por el sistema linfático y es llevada, lentamente, a la circulación sanguínea por medio del conducto torácico (Sayers and Hubal, 2008, Brancaccio et al., 2010). La presencia de la CK en la sangre depende de diversos factores como el tipo de entrenamiento, su intensidad y duración; así, se ha reportado un pico en la concentración de CK en plasma de 300-600 UI después de 12-24 hrs de haber realizado carrera en descenso, mientras que después de realizar ejercicio excéntrico intenso se ha reportado un pico ≥ 2500 UI que se presenta hasta cuatro o cinco días después y el incremento en CK no aparece sino hasta después de 24 o 48 hrs de haber realizado el ejercicio (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008, Brancaccio et al., 2010, McKune et al., 2012); por último, cabe de destacar que en el apartado de métodos de inducción de daño muscular de este mismo documento, se hace mención de los niveles de CK obtenidos con distintos protocolos de ejercicio excéntrico.

Por otra parte, aunque la CK es el principal marcador bioquímico de daño muscular en sangre, su uso presenta como principal inconveniente la alta variabilidad inter-sujetos que se observa en la determinación de la concentración de CK en suero o plasma en grupos de individuos que han realizado el mismo protocolo de ejercicio (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012); esta alta variabilidad se ha asociado diversas causas como la edad, el género, la raza, la masa muscular, nivel de actividad física, y diferencias genéticas aunque sin resultados concluyentes (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012). Una probable causa de lo anterior, es el hecho que la concentración en sangre de la CK (al igual que el de otras proteínas musculares) está en función de lo que es liberado por el músculo y lo que es

limpiado de la sangre (en el caso de la CK por el sistema retículo-endotelial) causando así distintas respuestas (Clarkson and Hubal, 2002, Sayers and Hubal, 2008); finalmente, es importante mencionar que se ha encontrado que aquellos individuos que presentan la mayor concentración en sangre de CK también presentan el mayor daño muscular (medido a través de imagen de resonancia magnética) aunque dicha correlación no es perfecta (Clarkson and Hubal, 2002).

1.2.3.1.2 Lactato deshidrogenasa (LDH)

La enzima lactato deshidrogenasa (LDH) es una proteína que se encarga de convertir el piruvato a lactato con una concomitante conversión de NADH a NAD; la LDH es un tetrámero que se forma a partir de la combinación de dos subunidades: el polipéptido-M y el polipéptido-H. Dentro de la enzima, las cadenas de polipéptido-M catalizan la conversión de piruvato a lactato (vía metabólica anaerobia) mientras que las cadenas de polipéptido-H se encargan de incrementar la oxidación aeróbica de piruvato; así, a mayor número de cadenas de polipéptido-M la LDH resultante favorece más la actividad de la vía metabólica anaeróbica, y en consecuencia a mayor número de cadenas de polipéptido-H esta vía metabólica disminuye (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011). La combinación de las subunidades M y H dentro del tetrámero da como resultado cinco isoenzimas de la LDH: (1) LDH1, está compuesta por cuatro subunidades H y se encuentra principalmente en el corazón [45%] y en los eritrocitos, además del cerebro; (2) LDH2, compuesta por una subunidad M y tres subunidades H, y se concentra principalmente en el sistema retículo-endotelial (leucocitos); (3) LDH3, compuesta por dos unidades M y dos unidades H, y se encuentra principalmente elevada en los pulmones [40%]; (4) LDH4, compuesta por tres unidades M y una unidad H, y es más alta en los riñones, la placenta y el páncreas; y finalmente (5) LDH5, la cual está formada por cuatro subunidades en M, y se encuentra en mayor concentración en el hígado [70%] y en el músculo esquelético [60%] (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011).

La actividad en suero de la LDH es un marcador de daño muscular (Clarkson and Hubal, 2002, Brancaccio et al., 2010, Brentano and Martins Krueel, 2011, McKune et al., 2012, Kanda et al., 2014). Se conoce que el ejercicio, de manera general, induce un incremento ligero en la concentración total de LDH, y que la magnitud de este incremento depende de la intensidad y de la duración del ejercicio, cuando el ejercicio es extenuante el incremento es del 25% con respecto a los valores de referencia (Sanford and McPherson, 2011); además, se ha reportado que el ejercicio excéntrico induce un mayor incremento en la actividad en suero de la LDH que el ejercicio concéntrico y que dicho incremento se presentó entre tercer y quinto día después de haber realizado el ejercicio, e incluso en algunos casos hasta el séptimo día (Brancaccio et al., 2010, Kanda et al., 2014). También, se ha observado que después de ejercicio de resistencia prolongado como el maratón la actividad de la LDH en sangre se duplica y se mantiene así durante aproximadamente dos semanas (Brancaccio et al., 2010).

Sin embargo, una de las desventajas de la LDH como marcador de daño muscular es su baja especificidad, ya que no se le asocia directamente con algún órgano (Sanford and McPherson, 2011). Para poder ser utilizado como marcador de daño muscular, el aumento en la concentración de LDH debe estar acompañado de un incremento en la concentración de CK, y de un incremento de la aspartato aminotransferasa (AST; el cuál debe ser mayor que el de la alanino aminotransferasa, ALT); finalmente, otra desventaja, es su alta variabilidad inter sujetos (21.3%) (Sanford and McPherson, 2011).

1.2.3.1.3 Aspartato amino transferasa (ASAT)

La aspartato aminotrasferasa (AST), también llamada transaminasa glutámica oxaloacética (GOT, por sus siglas en inglés) es una enzima que cataliza la reacción: aspartato + α -cetoglutarato \rightarrow oxaloacetato + glutamato; se encuentra localizada principalmente en el músculo esquelético y cardiaco además del hígado y los eritrocitos, esta enzima tiene un peso molecular de 90 kD y se encuentra en la

mitocondria y el citosol donde ayuda, a través de la reacción que cataliza, a proveer energía a las células (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011).

La AST es principalmente un marcador de daño hepático (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011); sin embargo, es frecuentemente utilizada como marcador de daño muscular junto con la CK y la LDH (Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012, Kanda et al., 2014). Se conoce que el ejercicio puede incrementar los niveles de AST, y de otras enzimas, debido a que durante el ejercicio se incrementa la actividad metabólica para proveer energía, y que retorna a niveles basales tan pronto el ejercicio termina o en las primeras 24 hrs (Brancaccio et al., 2010, Sanford and McPherson, 2011). No obstante, a largo plazo ejercicio eleva los niveles de AST, y se conoce que el ejercicio aeróbico crónico está asociado con un leve incremento en la concentración en plasma de AST (Sanford and McPherson, 2011).

El daño muscular crónico también está asociado con un incremento en la AST, normalmente conjunto con un incremento en la ALT; pero, el incremento en AST suele no presentarse en sujetos no enfermos y que presentan una actividad de CK normal; por tanto, en los deportista el uso de la AST como indicador de daño muscular debe ser considerado en conjuntos con la CK y la gamma-glutamilttransferasa (GGT) (Brancaccio et al., 2008, Brancaccio et al., 2010).

Finalmente, se demostró que una sesión de entrenamiento de resistencia muscular con pesas, con una duración de una hora, puede incrementar los valores de AST y ALT fuera del rango normal de referencia y por tanto vincularlo con un diagnóstico erróneo de daño hepático, y dicho incremento se mantiene fuera del rango normal aún después de siete días de haber realizado el entrenamiento (Pettersson et al., 2008). Además, se conoce que frecuentemente se sobreestima el daño hepático asociado al uso de esteroides anabólicos si basa únicamente en el aumento en la actividad de las transaminasas hepáticas que incluyen a la AST, ALT y GGT (Brancaccio et al., 2010); por lo cual es necesario tomar esto en cuenta cuando se utiliza a la AST como marcador de daño muscular.

1.2.3.1.4 Otras enzimas utilizadas como marcadores de daño muscular

Como se mencionó anteriormente, existen otros marcadores enzimáticos de daño muscular; sin embargo, aún son poco reportadas en la literatura o bien son poco específicas y su uso es menos común.

Dentro de las enzimas que están ganando importancia como marcadores de daño muscular, podemos destacar a la Aldolasa (Sayers and Hubal, 2008, Brancaccio et al., 2010, Kanda et al., 2014). La Aldolasa es una enzima glucolítica la cual transforma la fructuosa 1-6-bisfosfato a gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato, ambas forman parte de la vía metabólica glucolítica de Embden-Meyerhof; esta enzima, se localiza en el citoplasma y en el núcleo de las células (dentro de la heterocromatina) (Brancaccio et al., 2010). La Aldolasa tiene un peso molecular de 160 kDa y se encuentra particularmente concentrada en el músculo hígado y el cerebro aunque probablemente está presente en todas las células, esta enzima regula la contracción celular ligándose reversiblemente a los filamentos (Brancaccio et al., 2010).

Se ha encontrado que, en patologías como la distrofia muscular, la polimiositis y la enfermedad muscular miotónica existe un incremento en los niveles en suero de la Aldolasa; además, la degradación de la Aldolasa durante condiciones de estrés está relacionada con el daño muscular, por tanto, la actividad del Aldolasa en suero es útil para monitorear y diagnosticar dichas enfermedades (Brancaccio et al., 2010). Finalmente, cabe destacar que la velocidad al caminar está directamente relacionada con la actividad de la Aldolasa; y por lo cual, la actividad metabólica de esta enzima es un predictor independiente de la función física de las extremidades inferiores en adultos mayores (Brancaccio et al., 2010).

Otra probable enzima que puede ser utilizada como marcador de daño muscular es la anhidrasa carbónica III (CA III, por sus siglas en inglés), la cual tiene la particularidad de estar presente en el músculo esquelético, pero no en el músculo cardíaco; además, probablemente refleja anomalías en las fibras tipo I con una sensibilidad mayor que la CK y Aldolasa (Brancaccio et al., 2010). La CA III es liberada a la circulación después del daño, y su concentración en la sangre

disminuye y aumenta más rápidamente que la Aldolasa, la CK, la LDH y la AST (Brancaccio et al., 2010); debido a ello, presenta expectativas importantes como marcador de daño muscular.

Finalmente, sólo resta mencionar que otras enzimas como la ALT o la fosfatasa alcalina han sido usadas como marcadores de daño muscular (Kanda et al., 2014, Pettersson et al., 2008), pero debido a su baja especificidad no son buenos indicadores a menos que este acompañada de otras enzimas como la CK, LDH o la AST.

1.2.3.1.5 Mioglobina y otras proteínas utilizadas como marcadores de daño muscular en sangre

Junto con la CK, la mioglobina es un marcador importante de daño muscular inducido por entrenamiento excéntrico (Nosaka, 2008, Sayers and Hubal, 2008, McKune et al., 2012, Peake et al., 2005). La mioglobina es una proteína, relativamente pequeña, compuesta por 153 aminoácidos con un peso molecular de 18 kDa; la cual, puede ligar oxígeno tanto en el músculo esquelético como en el cardiaco debido a que contiene un grupo hemo (Brancaccio et al., 2010, Bock, 2011).

La determinación de mioglobina y CK en plasma sirve para el diagnóstico de rabdomiólisis; debido a que en la rabdomiólisis existe una ruptura y necrosis del músculo esquelético por lo cual los componentes intracelulares son liberados el torrente sanguíneo, lo cual causa un incremento de la mioglobina tanto en sangre como en orina, esto último asociado a un alto riesgo de desarrollar fallo renal (Brancaccio et al., 2010, Bock, 2011).

Después de realizar ejercicio extenuante, una vez que ocurrido el daño muscular, la mioglobina es liberada la sangre como resultado de la degradación de las proteínas estructurales dentro del músculo lo que causa que la concentración en plasma de mioglobina se incremente después de 30 minutos de haber realizado el esfuerzo y este incremento se mantiene durante cinco días (Brancaccio et al., 2010); aunque, en condiciones normales (donde no interviene de ejercicio), la

mioglobina típicamente llega su pico máximo seis horas después de haberse presentado el daño muscular y regresa niveles basales a las 24 hrs (Bock, 2011); además, Pettersson et al., reportaron que después de un entrenamiento de una hora con pesas, los niveles de mioglobina se incrementaron significativamente, llegando a las 48 hrs a estar sobre límite de referencia en todos los sujetos, y manteniendo un aumento relativo hasta los siete días posteriores al entrenamiento, para finalmente regresar a los valores iniciales después de diez días (Pettersson et al., 2008). Finalmente, cabe destacar que además de lo anterior, el aumento de mioglobina en plasma puede ser detectable antes que el de la CK (Brancaccio et al., 2010, Bock, 2011); por lo que podemos destacar a la mioglobina como un importante marcador de daño muscular.

Otras proteínas detectables en sangre que se han propuesto como marcadores de daño muscular son: la troponinas y las proteínas ligantes de ácidos grasos (FABP, por sus siglas en inglés), principalmente, además de la α -actina y la cadena pesada de miosina (Sayers and Hubal, 2008, Brancaccio et al., 2010, McKune et al., 2012).

Las troponinas son proteínas encargadas de regular la contracción muscular que actúan de manera sensible a los niveles de calcio intramuscular regulando así la interacción de actina y la miosina; estas proteínas, forman un complejo que contiene tres proteínas de distinto peso molecular: (1) troponina C (TnC) de 18 kDa, (2) troponina I (TnI) de 21 kDa, y (3) troponina T (TnT) de 37 kDa; las cuales se combinan para crear varias isoformas de la proteína que son expresadas por el músculo cardíaco y esquelético (Brancaccio et al., 2010). La TnI producida por el músculo esquelético (STnI) se incrementa de manera semejante a la CK durante el daño muscular inducido por ejercicio, y ambas se mantienen elevadas por uno a dos días después de haber realizado el ejercicio (McKune et al., 2012); por otra parte, se ha reportado que después del ejercicio se libera TnT cardíaca (cTnT); además, se sugiere que el ejercicio intenso produce un mayor incremento en la cTnT comparado con el ejercicio prolongando de intensidad moderada (Brancaccio et al., 2010).

Por otra parte, las proteínas ligantes de ácidos grasos (FABP) son una familia de nueve proteínas citoplasmáticas de un peso molecular de 15 kDa; de estas nueve proteínas el músculo cardíaco y esquelético comparten un mismo tipo que se denomina FABP cardíaca (H-FABP, por sus siglas en inglés), debido a que su concentración es siete veces mayor músculo cardíaco con respecto a la concentración del músculo esquelético (Brancaccio et al., 2010). Se ha sugerido que la H-FABP y la mioglobina incrementan y disminuyen más rápidamente que la CK por lo cual podrían ser usados como marcadores tempranos y de monitorización del daño muscular inducido por ejercicio (Brancaccio et al., 2010, McKune et al., 2012); además, en la revisión realizada por Brancaccio et al., se hace notar que existe un ensayo comercial para la determinación de la misma, lo que facilita su uso en el control bioquímico deportivo.

También, la α -actina se ha propuesto como un marcador daño muscular; esto se debe a que esta proteína representa más del 20% del total de las proteínas del miocito y muestra una sensibilidad del 63-100%, lo cual la hace un indicador altamente sensible; además, una vez que ha sido provocado el daño muscular, el incremento en la concentración de α -actina puede ser detectado desde una hora hasta 72 hrs, lo cual indica una gran estabilidad (McKune et al., 2012); por consiguiente, esta proteína es un buen candidato como indicador de daño muscular.

Finalmente, es importante comentar que algunos marcadores química sanguínea, principalmente asociados a función renal, como urea, ácido úrico, nitrógeno ureico, albumina, proteínas y creatinina se usan como marcadores proteólisis asociados a daño muscular (Virus and Virus, 2001, Clarkson et al., 2006, Sampson et al., 2014); sin embargo, debido a su alta variabilidad y baja especificidad han sido poco usados con el tiempo.

1.2.3.2. Proteínas y otros marcadores relacionados al estrés oxidativo

El término estrés oxidativo o estrés oxidante se refiere al desequilibrio entre la producción de especies químicas reactivas denominadas radicales libres (derivadas principalmente del oxígeno y del nitrógeno) y la capacidad del organismo para degradar sus intermediarios químicos o bien para reparar el daño ocasionado por su reactividad (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008).

Los radicales libres son átomos o moléculas que presenta uno o más electrones no apareados, lo cual da como resultado que tengan una alta reactividad química; estos radicales libres pueden dividirse según el elemento químico que las origina en especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) y especies reactivas de nitrógeno (RNS, por sus siglas en inglés), aunque en conjunto pueden ser denominadas como especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno (RONS, por sus siglas en inglés) (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008, Seene et al., 2008). Las ROS incluyen a los radicales superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) e hidroxilo ($\bullet\text{OH}$), y a los no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y al ácido hipocloroso (HOCl); por otra parte, las RNS incluyen al óxido nítrico ($\bullet\text{NO}$) y al peroxinitrito (ONOO^-) (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008, Seene et al., 2008).

El ejercicio induce un incremento en la formación RONS, lo cual puede resultar en estrés oxidativo; así, las RONS, debido a su alta reactividad, pueden causar lesiones a las células debido a que causan peroxidación de lípidos, inactivación de enzimas, cambios en el equilibrio de óxido-reducción, y daño al DNA celular que incluso la puede llevar a la apoptosis (Phaneuf and Leeuwenburgh, 2001, Niess, 2005, Seene et al., 2008); debido a lo anterior, las células poseen un sistema de defensa que reduce el riesgo de daño por oxidación denominado defensa antioxidante que incluye a las enzimas superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, las cuales reaccionan con los radicales superóxido y peróxido neutralizándolos (Niess, 2005, Seene et al., 2008).

Las RONS se generan durante y después del ejercicio por diferentes mecanismos, y estos mecanismos están asociados al tipo de ejercicio (Bloomer and

Goldfarb, 2004, Sachdev and Davies, 2008). De manera general, en el ejercicio agudo de tipo anaeróbico, durante su ejecución el aumento en el consumo de oxígeno provoca un aumento en la producción de RONS debido al aumento del transporte mitocondrial de electrones mediado principalmente por la NADH oxidasa; luego, debido al aumento en la isquemia y / o reperfusión la producción de RONS incrementa debido a una mayor actividad de la xantina oxidasa (Bloomer and Goldfarb, 2004). Posteriormente, una vez terminado el ejercicio, la producción de RONS se asocia diversos factores como: (1) el trauma excesivo que causa la ruptura de proteínas que contienen hierro (por ejemplo la mioglobina), (2) los procesos inflamatorios que involucran a las células del sistema inmunológico (debido principalmente a la fagocitosis), (3) el daño mecánico producido a las fibras musculares que causa alteraciones a la homeostasis del calcio muscular, y (4) a la proteólisis (Bloomer and Goldfarb, 2004, Niess, 2005, Goldfarb, 2008, Brancaccio et al., 2010).

Así, la producción de RONS posterior al ejercicio agudo de tipo anaeróbico está fuertemente ligada a la componente excéntrica del ejercicio y al daño muscular que esta induce (Bloomer and Goldfarb, 2004, Niess, 2005, Goldfarb, 2008, Brancaccio et al., 2010); por consiguiente, la evaluación en sangre de las RONS nos dará un importante marcador de daño muscular inducido por ejercicio excéntrico.

La sangre es importante para mantener el balance de oxido-reducción de los tejidos frente condiciones de oxidación debido a que se encarga de transportar y distribuir los antioxidantes a todo el cuerpo; debido al anterior, dentro de la sangre podemos encontrar diversas sustancias que son consideradas marcadores de daño por oxidación, y por tanto, los cambios en la concentración de estos marcadores reflejarían los cambios que se producen en los tejidos como el músculo esquelético (Nikolaidis et al., 2008). Dentro los marcadores de estrés oxidativo en sangre ligados al daño muscular encontramos: el estado total de los antioxidantes (total antioxidant status, TAS), sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS, por sus siglas en inglés), malondialdehído (MDA), grupos sulfidriilo, glutatión

reducido, glutatión oxidado, superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), conteo de leucocitos en sangre, formación de grupos carbonilo a partir de proteínas y 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina; entre otros (Nikolaidis et al., 2008, Brancaccio et al., 2010). De acuerdo con Nikolaidis et al., podemos clasificar estos marcadores en cuatro grupos de acuerdo al tipo de daño por oxidación que detectan en: (1) Capacidad del tejido para neutralizar RONS, (2) Peroxidación de lípidos, (3) Daño a las proteínas y DNA, y (4) Antioxidantes enzimáticos; a continuación se describen brevemente.

1.2.3.2.1 Capacidad del tejido para neutralizar RONS

El estado de los antioxidantes totales (TAS) o la capacidad total antioxidante representa la habilidad del suero o plasma para neutralizar los derivados de los RONS (Nikolaidis et al., 2008). Los métodos comunes se basan en mediciones del potencial de reducción que es la capacidad de los fluidos corporales para reducir RONS, principalmente en el compartimiento acuoso del plasma, la mayoría de las RONS se generan *ex vivo* ya sea por cobre o por otros generadores de RONS (Nikolaidis et al., 2008).

Los principales ensayos en este grupo son parámetros de captura de radicales totales, la capacidad de absorción de radicales de oxígeno, la capacidad antioxidante equivalente Trolox y poder antioxidante del hierro reducido; por lo anterior, los antioxidantes solubles en agua (la vitamina C, ácido úrico, tioles de proteínas, etc.) influyen principalmente estos ensayos mientras que los antioxidantes solubles en grasa (vitamina E, carotenoides, etc.) los influyen en un grado menor; asimismo, muchos de estos ensayos están muy influenciadas por la concentración de ácido úrico (hasta en un 60%), lo cual es importante de recalcar, ya que su concentración aumenta en gran medida después del ejercicio (Nikolaidis et al., 2008). Así, la medición de TAS describe sólo una parte de la verdadera capacidad antioxidante total de la sangre, lo que hace recomendable usar otros marcadores de manera conjunta (Nikolaidis et al., 2008, Brancaccio et al., 2010).

1.2.3.2.2 Peroxidación de lípidos

La peroxidación de lípidos es el resultado final de una cadena de reacciones que comienzan con la extracción de un hidrógeno proveniente de un ácido graso insaturado, la cual neutraliza el radical original pero forman un radical con el lípido; luego, este radical se une al oxígeno para formar un radical lípido-peroxil, el cual es sumamente inestable y reacciona con otros ácidos grasos propagando la cadena de peroxidación de lípidos; finalmente, al propagarse la peroxidación, se produce un daño a la integridad de las membranas celulares (incluyendo a las membranas de la mitocondria, del retículo endoplasmático, y del núcleo) (Sachdev and Davies, 2008).

Los marcadores más utilizados para peroxidación de lípidos son los aldehídos lípidos como el malondialdehído (MDA), los alcanos como etano y pentano que pueden ser detectados en el aire exhalado, dienos conjugados e isoprostados; aunque el más utilizado es el MDA (Niess, 2005, Sachdev and Davies, 2008, Nikolaidis et al., 2008). Sin embargo, el MDA es metabolizado in vivo y no es un producto final estable de la peroxidación lipídica, por tanto, puede ser sometido a otras reacciones químicas; debido a lo anterior, el MDA es detectado a partir de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), ya que presenta mayores ventajas (Sachdev and Davies, 2008). Una de las desventajas del uso de TBARS es que ha sido criticado por su falta de especificidad y rápida desaparición del plasma (Sachdev and Davies, 2008), pese a esto sigue siendo de los métodos más utilizados.

1.2.3.2.3 Daño a las proteínas y DNA

Las RONS pueden oxidar y modificar a los algunos aminoácidos (arginina, metionina, cisteína, triptófano y lisina) y sus residuos; esto comienza cuando un radical hidroxilo toma un hidrogeno de un residuo de un aminoácido y forma un radical libre de carbón; luego, en los siguientes pasos de la reacción, se forman otros radicales (alquilo, peroxilo, y aliloxi) los cuales vuelven al primer paso de la cadena tomando un hidrogeno de otro aminoácido propagando el daño por

oxidación (Niess, 2005). Si una proteína sufre modificaciones por oxidación esto puede dañar sus funciones fisiológicas y acelerar su degradación a través de la proteólisis, lo cual ocurre de manera natural con el envejecimiento; sin embargo, existe una correlación entre el número y severidad de enfermedades que aumenta dichas modificaciones probando que el daño por oxidación perjudica a las proteínas (Niess, 2005). Debido a lo anterior es importante medir la oxidación de proteínas, y el método más frecuente son derivados de carbonilo reactivos (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008).

Por otra parte, el daño oxidativo al DNA es considerado un potencial factor fisiopatológico en la varias enfermedades, aunque principalmente en el cáncer; este daño ocurre cuando las RONS oxidan una base del DNA modificándola, causando una lesión en alguno de los azúcares, la ruptura de las bandas, y modificaciones a las proteínas del DNA (Niess, 2005). Una de las más abundantes modificaciones al DNA es la oxidación de la guanosina, la cual da como resultado la formación de la 8-hidroxi-2'-deoxiguanosina (8-OHdG); la detección de la 8-OHdG es el marcador usado de manera más frecuente para evaluar daño oxidativo al DNA, y debido a que está directamente involucrado en el proceso de la carcinogénesis, muchos laboratorios lo utilizan (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008).

1.2.3.2.4 Antioxidantes enzimáticos

Como se mencionó anteriormente, las células poseen un sistema de defensa antioxidante que incluye a las enzimas glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, y catalasa, las cuales reaccionan con los radicales superóxido y peróxido neutralizándolos (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008). A continuación, se mencionaran las principales características de cada una de ellas.

El glutatión (L- γ -glutamil-cisteinil-glicina) es uno de los más importantes antioxidantes del cuerpo; el glutatión se encuentra dentro de las células como glutatión reducido y puede ser oxidado por radicales libres y especies oxidantes como el H₂O₂ formando disulfuro de glutatión (la forma oxidada del glutatión) esta reacción es catalizada por la enzima glutatión peroxidasa (GPX) (Niess, 2005,

Sachdev and Davies, 2008). La GPX es una selenio-proteína que se localiza en el citosol y en la matriz mitocondrial (principales sitios de producción de RONS), por lo cual es utilizada como un marcador de la oxidación del glutatión que puede ser determinado en sangre (Niess, 2005, Nikolaidis et al., 2008, Sachdev and Davies, 2008).

Por otra parte, la superóxido dismutasa (SOD) es una metalo-proteína que cataliza la reacción del radical superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$) a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y finalmente a oxígeno molecular (O_2), con lo cual puede reducir aproximadamente el 80% de los radicales peróxido producidos en la mitocondria; existe tres isoenzimas, dos ellas de cobre y zinc que se encuentran en el citosol, y una más de manganeso que se encuentra en la mitocondria (Niess, 2005, Jackson, 2008). También, la catalasa (CAT) cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno para formar agua y oxígeno, se encuentra principalmente en la mitocondria además de otros sitios como el retículo endoplasmático (Niess, 2005).

Finalmente, cabe destacar que los estudios realizados sobre daño muscular han mostrado que los marcadores vinculados a estrés oxidativo suelen mostrar un pico a las 24 y otro a las 72 hrs vinculados respectivamente al daño mecánico y a la respuesta inflamatoria; además que una vez presente los cambios estos se mantiene por varios días después de la sesión de ejercicio (Brancaccio et al., 2010). Por otra parte, se ha sugerido que el estrés oxidativo es dependiente del nivel de entrenamiento, mostrando que el daño causado es menos evidente en atletas entrenados (Brancaccio et al., 2010).

1.3. Ayudas Ergogénicas como auxiliares para prevenir o atenuar el daño muscular inducido por ejercicio

El daño muscular inducido por ejercicio (principalmente de tipo excéntrico) puede afectar la práctica deportiva ya que favorece, en sesiones posteriores, la aparición de dolor muscular y la restricción de movimiento, lo que provoca que se disminuya la capacidad para ejercitarse a intensidades óptimas; debido a esto, cualquier intervención que alivie o disminuya las molestias derivadas del daño muscular puede ser benéfico tanto para atletas como para personas físicamente activas (jóvenes y mayores), así como para algunos tipos de patologías asociadas al músculo esquelético mejorando tanto el apego al programa de ejercicio como sus adaptaciones (Howatson and van Someren, 2008).

En ciencias del deporte, las ayudas ergogénicas son definidas como: cualquier técnica de entrenamiento, dispositivo mecánico, práctica nutricional, método farmacológico, o técnica fisiológica que puede mejorar la capacidad de rendimiento deportivo y aumentar las adaptaciones al entrenamiento; de tal manera que, este tipo de ayudas puede hacer posible que se tolere mejor el entrenamiento intenso por medio de una recuperación más rápida manteniendo a las personas libres de lesiones y conservando su salud (Kreider et al., 2010).

Howatson y van Someren (2008) proponen diversos tipos de intervenciones que pueden ser utilizadas para prevenir o tratar el daño muscular inducido por ejercicio, las cuales pueden ser clasificadas dentro de tres tipos de ayudas ergogénicas: (1) fisiológicas, (2) farmacológicas, y finalmente (3) nutricionales.

1.3.1. Ayudas ergogénicas fisiológicas

Dentro de esta clasificación podemos encontrar las siguientes técnicas: (a) estiramiento, (b) masaje, (c) electroterapia, (d) crioterapia, y (e) ejercicio moderado posterior al entrenamiento; todas ellas comparten el hecho de aprovechar una característica fisiología del músculo que ayuda a su rápida mejora.

- a) *Estiramiento*. Se ha propuesto que el estiramiento muscular reduce la rigidez muscular (activa y pasiva), lo cual provoca que las contracciones excéntricas se realicen con mayor facilidad y produciendo menor daño mecánico y por tanto producir menor daño muscular o atenuarlo; aunque con resultados no concluyentes o mixtos (Howatson and van Someren, 2008).
- b) *Masaje*. Aunque muchos atletas están convencidos del potencial del masaje para aliviar el dolor muscular posterior al ejercicio, y por tanto se utiliza ampliamente; no existe un consenso, a nivel científico, del potencial de esta terapia para disminuir el daño muscular (aparición de micro lesiones y el dolor muscular); esto se debe al hecho que podemos encontrar muchas variables dentro de las investigaciones como: nivel y tipo de entrenamiento del terapeuta, técnica de masaje utilizada, duración del tratamiento, etc.; lo cual hace necesario mayor investigación para demostrar su efectividad en el desempeño y función muscular (Howatson and van Someren, 2008, Lovering, 2008, Zainuddin et al., 2005).
- c) *Electroterapia*. Es una técnica ampliamente utilizada para el tratamiento de lesiones musculares, además de la rehabilitación de diversos problemas músculo-esqueléticos; sin embargo, presenta el inconveniente de que para su uso se requiere de personal con un entrenamiento específico, además del uso de equipamiento que suele ser caro (Howatson and van Someren, 2008). No obstante lo anterior, se ha sugerido que la electroterapia muestra ser un auxiliar importante en el daño muscular, la cantidad actual de investigaciones hechas al respecto no permite hacer conclusiones sobre su uso (Lovering, 2008, Howatson and van Someren, 2008).
- d) *Crioterapia*. Este tipo de terapia consiste en la aplicación de frío en el tejido blando que da como resultado un efecto analgésico en el tejido dañado, un hipometabolismo del tejido, y una respuesta vascular que retarda el flujo de sangre retardando así la formación del hematoma; además, se ha propuesto que reduce la respuesta inflamatoria, la hinchazón, el edema y el dolor (Howatson and van Someren, 2008, Lovering, 2008).

- e) *Ejercicio*. Se ha sugerido que el ejercicio es la estrategia más efectiva para aliviar el dolor muscular localizado de aparición tardía (DOMS); además, se ha propuesto la hipótesis que el ejercicio incrementa el flujo sanguíneo el cual remueve los productos nocivos asociados al daño muscular, e incrementa la liberación de endorfinas causando así un efecto analgésico; por consiguiente, en presencia de DOMS los terapistas físicos suelen prescribir ejercicio ligero aunque hoy en día no se conoce la intensidad y duración apropiada para tal fin (Howatson and van Someren, 2008).

Existe un fenómeno en el cual se ha encontrado una disminución de marcadores de daño muscular conocida como “doble bout”. El “doble bout” o efecto de la serie de ejercicio repetida se da cuando se realiza una serie de entrenamiento excéntrico que causa DOMS; luego cuando se repite la misma serie de ejercicio varios días después, el DOMS disminuye drásticamente junto con otros marcadores de daño muscular como la concentración de CK, la pérdida de movimiento y de fuerza muscular, entre otros (Howatson and van Someren, 2008, Lovering, 2008). Este fenómeno se ha mostrado de manera consistente en varias investigaciones, parece mostrar sus beneficios a partir de 2 o 4 días después de haber realizado la primera serie de ejercicio o hasta varios meses después, además de presentar una marcada diferencia entre las extremidades superiores o inferiores; por tanto, parece ser la única ayuda fisiológica que tiene un efecto real de atenuación de daño muscular inducido por ejercicio (Howatson and van Someren, 2008). Finalmente, estimulamos a lector a revisar las excelente revisiones de la clasificación de las ayudas ergogénicas realizadas por Howatson and van Someren (2008) y Lovering (2008).

1.3.2. Ayudas ergogénicas farmacológicas

Dentro de esta categoría de ayudas ergogénicas podemos encontrar a los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NAIDs, por sus siglas en inglés). Dentro de esta clasificación tenemos al ibuprofeno, el ácido acetilsalicílico, el naproxeno, diclofenaco, flurbiprofeno y ketoprofeno; todos estos fármacos tienen un uso terapéutico sobre el daño muscular y en el DOMS disminuyendo la aparición de dolor y edema durante la inflamación aguda, por medio de la inhibición de la síntesis de prostaglandina lo que a su vez inhibe el metabolismo del ácido araquidónico por vía de la ciclo-oxigenasa (COX) (Howatson and van Someren, 2008, Lovering, 2008).

Si bien su utilización terapéutica es bien conocida, el uso de dosis mayores a las indicadas para estos fármacos (por ejemplo, 1200 mg / día para el ibuprofeno y 4000 mg / día para el paracetamol) puede suprimir la síntesis de proteína que acompaña al entrenamiento excéntrico de alta intensidad debido a que inhibe el ciclo de daño-reparación-adaptación del músculo esquelético al ejercicio excéntrico; por tanto su uso debe realizarse con precaución (Howatson and van Someren, 2008).

1.3.3. Ayudas ergogénicas nutricionales

Dentro de esta categoría de ayudas ergogénicas podemos encontrar: (a) el uso de hidratos de carbono y proteínas, (b) el uso de antioxidantes, y (c) el beta-hidroxi-beta-metilbutirato (HMB), como ayudas nutrimentales. A continuación se describe brevemente su uso.

1.3.3.1. Hidratos de carbono y proteínas

Después de realizar entrenamiento excéntrico de alta intensidad, la resíntesis de glucógeno muscular se ve disminuida; probablemente, esto se deba a que las células asociadas al sistema inmunológico, presentes en la inflamación aguda posterior al entrenamiento excéntrico, compiten con las células musculares por la

glucosa sanguínea; debido a lo anterior, se ha propuesto la hipótesis que al utilizar suplementación o una dieta alta en hidratos de carbono puede incrementar los depósitos de glucógeno intramuscular y disminuir así el daño muscular; por otra parte, se ha propuesto que la suplementación de aminoácidos ramificados puede prevenir o aliviar los síntomas del daño muscular inducido por ejercicio (Howatson and van Someren, 2008, Sousa et al., 2014).

1.3.3.2. Antioxidantes

El daño muscular inducido por ejercicio provoca un aumento del estrés oxidativo debido que dentro de la respuesta inflamatoria aguda posterior al ejercicio, la degradación del tejido dañado por parte de los fagocitos y neutrófilos resulta en un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) que finalmente conduciría a estrés oxidativo. Por lo anterior, se ha sugerido que las ROS pueden estar implicadas en una respuesta que causa una segunda aparición de daño (posterior al previamente causado por la acción mecánica primaria) que puede estar mediado por el sistema inmunológico (Proske and Morgan, 2001, Peake et al., 2005, Howatson and van Someren, 2008). En consecuencia, se ha propuesto el uso de ayudas ergogénicas nutricionales que contienen antioxidantes como una alternativa para reducir el estrés oxidativo causado por las ROS y por tanto también reducir los síntomas asociados al daño muscular inducido por ejercicio (Williams, 2004, Howatson and van Someren, 2008, Sousa et al., 2014).

Dentro de las posibles ayudas nutricionales ergogénicas que pueden ser usadas como antioxidantes encontramos las siguientes: vitaminas C y E, carotenoides (provitamina A), polifenoles, ácido α -lipoico, ácidos grasos poliinsaturados (EPA, DHA) y co-enzima Q10, entre otros; sin embargo, las más estudiadas con respecto al daño muscular son las vitaminas C y E, además de los carotenoides (Williams, 2004, Goldfarb, 2008, Howatson and van Someren, 2008, Sousa et al., 2014).

1.3.3.3. Beta-hidroxi-beta-metilbutirato (HMB)

En los últimos años, el HMB ha cobrado importancia como suplemento nutricional debido a que se le atribuyen efectos sobre la disminución del daño muscular y el incremento del tamaño del músculo (Howatson and van Someren, 2008, Bishop, 2010) lo cual hace a este suplemento alimenticio relevante para su estudio en el ámbito de la nutrición clínica y deportiva (como ayuda nutricional ergogénica).

En 1996, Nissen et al., publicaron el primer artículo sobre suplementación de HMB en humanos. En este artículo muestra que en sujetos sometidos, durante tres semanas, a entrenamiento de resistencia y una dosis de suplementación de 3 g de HMB al día, incrementaban la fuerza y la masa muscular (medida como masa libre de grasa); además, estos sujetos después de tres semanas de suplementación presentaron una disminución en: (a) la proteólisis muscular (evaluada como concentración en orina de 3-metilhistidina); (b) la concentración en suero de enzimas relacionadas con daño muscular, principalmente CK y una marcada tendencia en LDH; y (c) la concentración en plasma de aminoácidos esenciales (Nissen et al., 1996a).

A partir de estos hallazgos, Nissen et al. postulan la hipótesis que el HMB podría haber participado en un proceso desconocido que inhibe la proteólisis muscular. A partir de lo anterior, se han postulado varias teorías sobre el mecanismo de acción del HMB provenientes de estudios realizados tanto en humanos, animales, y cultivos celulares que podrían asociarlo directamente con la disminución de daño muscular inducido por ejercicio (Wilson et al., 2008, Zanchi et al., 2011, Fitschen et al., 2013, Wilson et al., 2013a); debido a esta razón en la siguiente sección de este capítulo se hará una revisión extensa sobre el HMB.

1.4. Beta-hidroxi-beta-metilbutirato (HMB)

El beta-hidroxi-beta-metilbutirato (HMB; también conocido como beta-hidroxi-isovalerato) es un metabolito del aminoácido ramificado leucina (LEU), que se produce a partir del primer metabolito de la leucina llamado ácido alfa-cetoisocaproico (CIC) (Nissen et al., 1996a). En estudios in vitro se observó que, tanto la LEU como el CIC, ayudan a disminuir la pérdida de nitrógeno y de proteína por inhibición directa de la degradación de las proteínas. Sin embargo, en estudios realizados en animales y en humanos, en condiciones normales, estos compuestos no mostraron claramente tener un efecto anabólico, aunque en presencia de estrés o trauma severo (durante periodos de excesiva proteólisis) sí mostraban un efecto anticatabólico. Esto último sugirió que tanto la LEU como el CIC eran solamente activos durante periodos de excesivo catabolismo o que un metabolito de los mismos era probablemente producido en una etapa más avanzada, dependiendo del entorno metabólico (Nissen et al., 1996a). Con base en lo anterior, estudios realizados con tejido de hígado de ratones (Sabourin and Bieber, 1982b) y de humanos (Sabourin and Bieber, 1983) demostraron que la oxidación del CIC por medio de la enzima ácido alfa-cetoisocaproato oxigenasa producía la formación de HMB.

Posteriormente, Van Koevering y Nissen observaron en una serie de ensayos in vivo, llevados a cabo en cerdos y corderos jóvenes, que el HMB derivaba del CIC. Además, por medio de moléculas marcadas con isotopos radiactivos comprobaron que, en los cerdos, el 100% del HMB provenía exclusivamente del CIC (Van Koevering and Nissen, 1992). Posteriormente, Nissen et al. mostraron que 1,5 o 3 g de HMB al día pueden prevenir parcialmente la proteólisis muscular (disminución del 20% de la 3-metilhistidina excretada en orina) y/o daño muscular (disminución de un 20-60% de la lactato deshidrogenasa y creatina quinasa en plasma) inducidos por medio de entrenamiento de resistencia, generando así mayores ganancias musculares. Esto justificó el interés sobre el estudio de HMB

como un suplemento nutricional y con un amplio potencial de utilización (Nissen et al., 1996a).

1.4.1. Metabolismo del HMB

En 1997, Nissen y Abumrad presentan la probable ruta metabólica del HMB. El aminoácido LEU que puede ser obtenido de la dieta (fuente exógena) o bien de la proteólisis muscular (fuente endógena) (Nissen and Abumrad, 1997).

La LEU es transaminada a CIC en el citosol y en la mitocondria de las células musculares (Fig. 7 a) pero la mayor parte del metabolismo del CIC se realiza en el hígado. Aproximadamente, el 90% del CIC es oxidado, de forma irreversible a isovaleril coenzima A (IV-CoA) en la mitocondria de las células hepáticas, por medio del complejo de la deshidrogenasa de α -cetoácido de cadena ramificada (Fig. 7 b). Posteriormente, el IV-CoA es deshidrogenado enzimáticamente a β -metil-crotonil-CoA (MC-CoA) (Fig. 7 c), el cual, en presencia de biotina, es carboxilado enzimáticamente y transformado a β -metilgluconil-CoA (MG-CoA) (Fig. 7 d). El MG-CoA es hidratado enzimáticamente para formar β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) (Fig. 7 e) y, finalmente, el HMG-CoA es degradado enzimáticamente a Acetoacetato y Acetil-CoA (Fig. 7 f) (Nissen, 2007, Nissen and Abumrad, 1997).

Aproximadamente el 10% restante del CIC es oxidado a HMB, en presencia de oxígeno molecular y hierro (Sabourin and Bieber, 1982a), por medio de la enzima CIC dioxigenasa, en el citosol de las células hepáticas (Sabourin and Bieber, 1983, Nissen, 2007, Nissen and Abumrad, 1997) (Fig. 7 g). En este punto, el HMB puede tener dos posibles destinos: a) su excreción a través de la orina o, b) su conversión a HMG-CoA.

En 1983, Sauborin y Bieber (Sabourin and Bieber, 1983), proponen que la transformación del CIC a HMB, por medio de la enzima CIC dioxigenasa, podría servir para prevenir la excesiva acumulación de CIC (el cual puede llegar a ser tóxico) y dado que el HMB es un metabolito más polar, este puede ser excretado en la orina (Fig. 7 h).

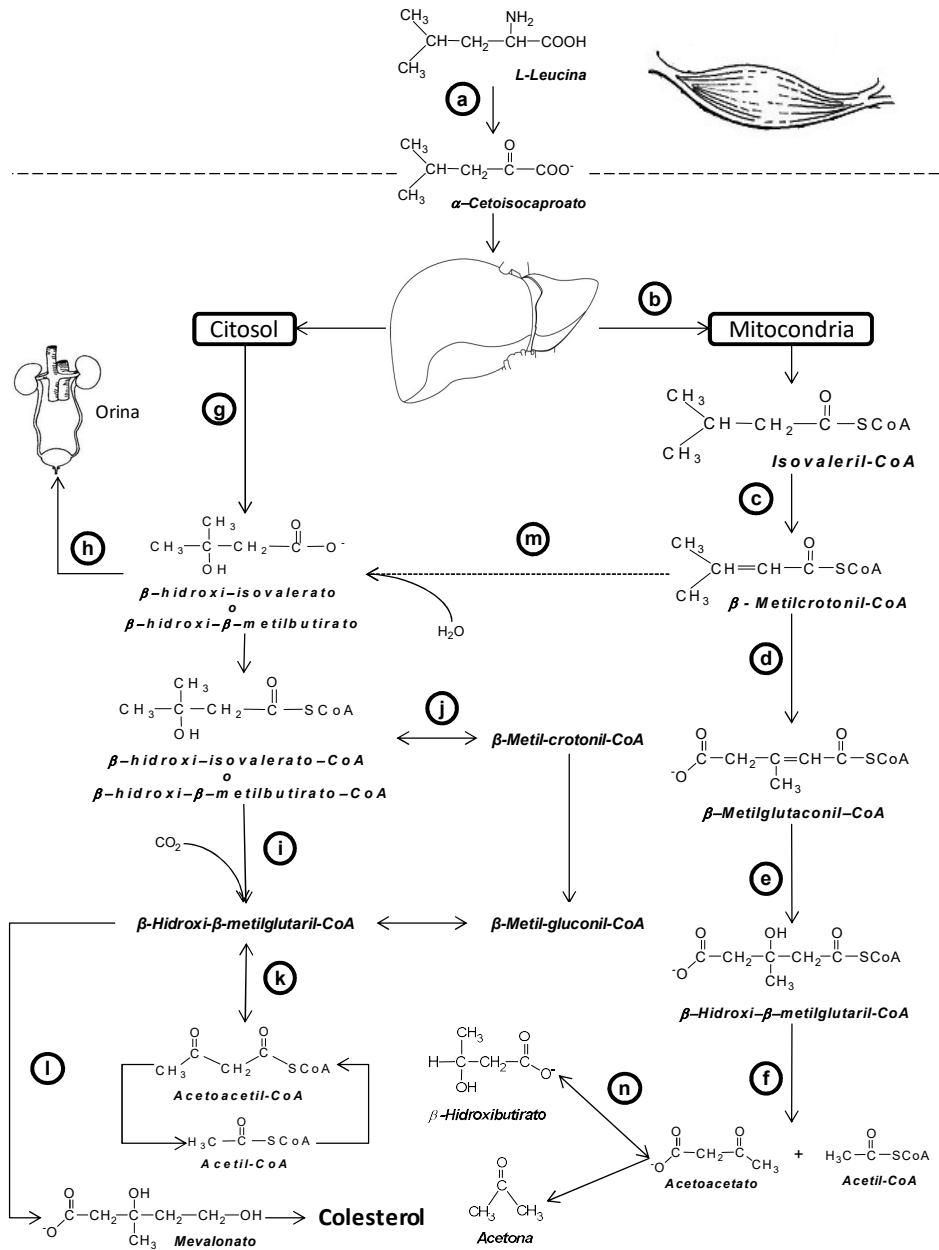


Figura 7. Ruta metabólica del HMB. Adaptado de Sabourin y Bieber (1983) y Nissen y Abumrad (1997).

Por otra parte, la conversión del HMB a HMG-CoA se produce por medio del complejo HMB-CoA, que puede ser carboxilado y formar directamente HMG-CoA (Fig. 7 i); o bien, puede ser deshidratado y formar MC-CoA, que a su vez puede ser transformado a MG-CoA y, finalmente, a HMG-CoA (Nissen and Abumrad, 1997, Nissen, 2007) (Fig. 7 j).

Este HMG-CoA, a su vez, puede degradarse de forma reversible a Acetoacetyl-CoA y, finalmente, formar Acetyl-CoA (Fig. 7 k). Nissen y Abumrad, en 1997 (Nissen and Abumrad, 1997), proponen que el HMG-CoA puede ser transformado enzimáticamente a Mevalonato por medio de la HMG-CoA reductasa y así actuar como precursor en la síntesis de colesterol (Fig. 7 l). Aunque esto esta vía es importante, no ha sido comprobado y solo tiene base en el argumento que, en estudios *in vivo*, se ha demostrado que el carbono proveniente de la LEU es encontrado en el colesterol; aunque, se desconoce qué porcentaje de carbono proviene directamente del HMB (Nissen and Abumrad, 1997).

Finalmente, y como ya fue mencionado, el paso del MC-CoA a MG-CoA está limitado a la presencia de biotina, por lo que cuando existe deficiencia de biotina se ha observado un incremento en los niveles de HMB asociados al incremento en la concentración de ácido metilcrotonoico resultante de la baja actividad de la enzima MC-CoA carboxilasa. Por ello, se ha sugerido que el ácido metilcrotonoico pudiera ser hidratado por medio de enol-CoA hidrasa y formar así HMB (Fig. 7 m), ya que esta enzima se encuentra incluida dentro del metabolismo de la isoleucina. Sin embargo, también se ha propuesto que el incremento en HMB asociado al incremento en el ácido metilcrotonoico puede deberse simplemente a la inhibición resultante de la modulación de varias enzimas durante la vía metabólica de retorno al CIC.

1.4.2. Absorción y excreción del beta-hidroxi-beta-metilbutirato

Aunque no se conoce la producción endógena del HMB en humanos; se ha estimado, a partir de estudios realizados en cerdos, que un hombre de 70 kg puede producir de 0,2 a 0,4 g de HMB al día, dependiendo de la ingesta diaria de LEU (Nissen, 2007). Por otra parte, en un estudio realizado para conocer la cinética química del HMB, Vukovich et al. registraron niveles basales de HMB en plasma de ~ 2 nmol / L y que tras la suplementación de 1 g de HMB alcanzaron un pico máximo de concentración de 115 nmol / L a las dos horas de haber sido ingerido; regresando al nivel basal después de nueve horas. Los autores también muestran que el 14% de dicha dosis es excretada en la orina (Vukovich et al., 2001).

También, dentro del mismo estudio pero en un distinto ensayo, se muestra que con una dosis de 3 g de HMB, el pico máximo de concentración en plasma es de ~ 480 nmol / L y este se alcanza después de una hora de haber sido ingerida, también reportan resultados utilizando la mezcla de 3 g de HMB + 75 g de glucosa, pero en este caso el pico máximo de concentración fue ~ 350 nmol / L y se alcanza aproximadamente a las dos horas de haberse ingerido; además, tanto para la dosis de 3 g de HMB como para esta que incluye la glucosa, se mostró que la concentración en plasma de HMB regresa al valor basal después de 9 hrs. Estos resultados sugieren que el alto consumo de glucosa retarda la absorción del HMB, debido muy probablemente a su efecto sobre la velocidad en el vaciamiento gástrico (Vukovich et al., 2001).

1.4.3. HMB como suplemento alimenticio

El HMB es la base conjugada del ácido beta-hidroxi-beta-metilbutírico, también llamado ácido beta-hidroxi-isovalérico (Nissen, 1991), que en nomenclatura UIPAC se denomina ácido 3-hidroxi-3-metilbutírico. El HMB no tiene isómeros, por lo que no existe en las formas Levo (L) y Dextro (D) (Nissen, 1991).

El ácido beta-hidroxi-beta-metilbutírico puede ser sintetizado a partir del 4-hidroxi-4-metil-2-pentanona (Nissen, 1991), por oxidación alcalina de diacetona-alcohol con hipoclorito de sodio; dicha reacción, es realizada siguiendo el procedimiento previamente descrito por Coffman, Cramer y Mochel (Coffman et al., 1958). Una vez obtenido el ácido, este puede ser neutralizado con hidróxido de sodio (NaOH) o hidróxido de Calcio (NaOH) para formar una sal soluble en agua (Nissen et al., 1994), aunque pueden también obtenerse otras sales no tóxicas de metales alcalinos y de metales alcalino-terráneos (Nissen, 1991).

Tanto la sal de sodio del HMB (beta-hidroxi-beta-metilbutirato de sodio, Na-HMB) como la sal de calcio (beta-hidroxi-beta-metilbutirato de calcio, Ca-HMB) comienzan a ser solubles en agua en el estómago o intestino (Nissen, 1991). Sin embargo, es normalmente más utilizado el Ca-HMB, ya que el Na-HMB es más higroscópica que el Ca-HMB, por lo que el Ca-HMB puede mantenerse más tiempo seco, con una consistencia no gomosa y finamente dividido.

Por otra parte, la seguridad del consumo del HMB ha sido probada en ratas (Baxter et al., 2005), donde se evaluó la toxicidad de Ca-HMB siguiendo los protocolos estandarizados para evaluar la toxicidad de productos nutricionales. En dicho estudio, Baxter et al. sometieron a un grupo de 160 animales a un seguimiento durante 90 días; en el experimento, los animales fueron divididos en cuatro grupos (cada uno de 40 ratas con igual número de machos y hembras) dependiendo de su dieta: (a) control, (b) consumo bajo, (c) consumo medio y (d) consumo alto, lo que corresponde a 0, 1, 2 y 5% del total del alimento consumido como Ca-HMB, respectivamente (Baxter et al., 2005).

Los autores no observaron efectos clínicos adversos para ninguna de las concentraciones de la dieta analizadas, como tampoco en el peso corporal, el consumo de alimento, en el análisis químico clínico, ni en el perfil hematológico de las ratas; tampoco se observaron cambios en el peso absoluto o relativo de los órganos de los animales estudiados o en las observaciones micro y macroscópicas de los mismos. Además, se determinó que la dosis asociada a un consumo alto (5% del total de la dieta) sería equivalente a 3.493 mg/kg/día para los machos y de 4.163 mg /kg /día para las hembras. Asimismo, y en una revisión previa, Wilson et al. (Wilson et al., 2008) señalaron que utilizando animales no se han observado efectos adversos con la ingesta de HMB en un amplio rango de volumen suplementado (8 a 5.000 mg/kg/día) y, aún, variando considerablemente los períodos de suplementación (1 a 16 semanas). Además, al extrapolar estos datos a humanos, los mismos autores (Wilson et al., 2008) sugieren que a la dosis máxima (5.000 mg/kg/día) equivaldría a un consumo diario de 450 g de HMB para un hombre de 90 kg de peso corporal. Lo que evidentemente sugiere que la suplementación con HMB no implica ningún riesgo para la salud.

Finalmente, en estudios realizados en humanos (Nissen et al., 1996a, Kreider et al., 1999, Gallagher et al., 2000b, Nissen et al., 2000, Rathmacher et al., 2004) no se observan efectos adversos con posterioridad a la ingesta de HMB en los marcadores asociados a la función renal y hepática, ni en los índices hematológicos. Nissen et al., (Nissen et al., 1996a) señalan que dosis de 1,5 y 3 g día de HMB durante 3 semanas no afectan la concentración en plasma de creatinina, electrolitos (Na, K, Cl, P), enzimas (GGT, ALT o AST), ni al recuento de células blancas y rojas. Asimismo, Kreider et al. (Kreider et al., 1999) no encontraron cambios en LDH, ALT y AST, con dosis de 3 y 6 g de HMB al día, durante 4 semanas. Gallagher et al., (Gallagher et al., 2000b) que compararon los efectos de la suplementación de ~3 y ~6 g de HMB al día, durante 8 semanas, no observaron modificaciones en la concentración de enzimas en sangre (LDH, fosfatasa alcalina, ALT y AST), biometría hemática, glucosa, hemoglobina, urea y perfil lipídico (triglicéridos, HD, LDL, VLDL y colesterol total), como tampoco

detectaron cambios de concentración en la orina (glucosa, proteínas y cetona). Por último, Nissen et al., analizaron los datos relacionados con la seguridad de la suplementación de HMB de nueve investigaciones en las que se utilizó una dosis de 3 g/día, durante 3 a 8 semanas, en distintas poblaciones (jóvenes y adultos, hombres y mujeres, entrenados y no entrenados), y en la que tampoco se observaron cambios significativos en la concentración sanguínea de bilirrubinas, enzimas (fosfatasa alcalina, LDH, ALT, AST, GGT), hierro, glucosa, ácido úrico, urea, creatinina, electrolitos (Na, K, Cl, P), proteína, albúmina y globulina; así como cambios significativos en la biometría hemática de los sujetos. En consecuencia, los datos presentados sugieren que el HMB, a las dosis previamente publicadas (entre 3 y 6 g/día, hasta 8 semanas), no es peligroso para su consumo como suplemento nutricional (Nissen et al., 2000).

1.4.4. HMB y Daño muscular

Después del primer artículo (Nissen et al., 1996a) sobre suplementación de HMB en humanos, Nissen y Abumrad, en 1997, publicaron una revisión sobre el papel del HMB en la nutrición. En dicha revisión, los autores analizan los resultados de estudios tanto en humanos como en animales y proponen la posible ruta bioquímica del metabolismo del HMB en mamíferos. Como resultado, estos autores proponen que el HMB puede ser un precursor del colesterol debido a que en el citosol el HMB es convertido a HMG-CoA y éste, a su vez, puede ser usado finalmente para la síntesis de colesterol (Fig. 15, i y l) (Nissen and Abumrad, 1997).

El argumento que sostiene esta teoría es que el colesterol es necesario para mantener apropiadamente la función y el crecimiento celular debido a que está fuertemente involucrado en la síntesis de nuevas membranas celulares y en la reparación de membranas celulares dañadas (Nissen, 2007, Nissen and Abumrad, 1997). Además, en el caso específico del músculo durante periodos de incremento en el estrés celular (como puede ser durante el ejercicio intenso) la demanda de colesterol es mucho mayor que la producción endógena (Nissen, 2007); y, por esta

vía, al elevar los niveles de HMB por medio de la suplementación incrementamos también la concentración intracelular de HMG-CoA disponible para la síntesis de colesterol (Nissen and Abumrad, 1997, Nissen, 2007). Esto es particularmente importante en el músculo, debido a que la síntesis endógena parece ser la mayor (o quizá exclusiva) fuente de colesterol (Nissen and Abumrad, 1997). Otro argumento que apoya esta hipótesis es que la suplementación de HMB, en estudios realizados en animales, ha mejorado la función del sistema inmunológico y la producción de grasa en la leche durante la lactación; es interesante que en ambos casos, se requiere de nueva síntesis de colesterol en la célula (Nissen and Abumrad, 1997, Nissen, 2007). Finalmente, en la revisión de Wilson, Wilson y Manninen se hace énfasis en que la inhibición de la síntesis de colesterol puede resultar en una disminución de la función muscular, un mayor daño muscular e incluso la muerte de la célula muscular (Wilson et al., 2008); por lo tanto, la suplementación con HMB resultaría finalmente en una mayor síntesis de colesterol que podría disminuir el daño muscular.

Por otro lado, Nissen et al., en un estudio multicéntrico y en contra de esta hipótesis, muestra que después de 6-8 semanas de una suplementación de 3 g / día de HMB se observó un incremento del 5,8% ($p < 0,03$) en colesterol total y del 7,3% ($p < 0,01$) en el colesterol de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) con respecto al basal en los sujetos. También, en un estudio realizado en personas mayores (50-72 años) con hiperlipidemia ($> 4,5$ de correlación de colesterol y HDL-c) que fueron suplementados con 3g / día de HMB y un programa de entrenamiento (3 días a la semana ejercicio aeróbico y 2 días entrenamiento de resistencia) durante cuatro semanas redujeron su LDL de $172 \pm 11,7$ a $123 \pm 9,1$ mg / dL ($p = 0,01$) mientras que los que solo ingirieron un placebo no muestran diferencias significativas. En ambos estudios los autores no ofrecen una explicación a dichos hallazgos. Por último, Wilson, Wilson y Manninen mencionan que la reducción en el LDL causada por el HMB puede estar relacionada a que este suplemento se comercializa como una sal de calcio (Ca), que contiene de 100-200 mg de Ca por gramo de HMB y, por tanto, se entiende que al suplementar

1 g de Ca disminuyen los niveles de colesterol en suero por el aumento de la síntesis de ácidos biliares (Wilson et al., 2008).

Si bien el papel del HMB sobre la formación de colesterol y su posterior depósito en la membrana celular no es claro; existen diversos estudios que vinculan el consumo de HMB a mejoras positivas sobre diversos indicadores de daño muscular, como: disminución de la concentración en sangre de CK (Nissen et al., 1996, Gallagher et al., 2000a, Panton et al., 2000, Knitter et al., 2000, Jowko et al., 2001, van Someren et al., 2005), LDH (Wilson et al., 2009, Knitter et al., 2000) y marcadores de proteólisis (urea y 3-metil-histidina) (Nissen et al., 1996, Jowko et al., 2001); además, de disminuir el DOMS (Nissen et al., 1996, van Someren et al., 2005). Por tanto, parece presentar un efecto benéfico para la disminución del daño muscular.

Finalmente, es destacable que en los estudios revisados no se utilizan de manera directa marcadores de daño muscular asociados al estrés oxidativo y, con base en la teoría de síntesis de colesterol en la membrana muscular, cabe esperar que disminuya este estrés: por ello, la propuesta de este estudio es evaluar el efecto de la suplementación de HMB sobre los indicadores de daño muscular (bioquímicos, de estrés oxidativo y de dolor muscular) inducido por una sesión de entrenamiento excéntrico.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Comparar los cambios de la composición corporal y de los indicadores de daño muscular en dos grupos de jóvenes físicamente activos; uno, bajo la suplementación de 3 g / día de HMB y, otro, bajo la administración de un placebo durante un período de seis semanas y posterior a una sesión de entrenamiento excéntrico.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Objetivo específico primero

Evaluar antes y después de las seis semanas de suplementación: (a) Composición corporal por DEXA para conocer los cambios en masa magra y masa grasa, (b) Química Sanguínea para evaluar los cambios en marcadores metabólicos y relacionados con daño muscular, (c) Perfil lipídico, y (d) Biometría hemática; para comparar los resultados por medio de un análisis estadístico entre el grupo que ingirió el HMB y el grupo que consumió placebo y determinar el efecto de la suplementación con HMB.

2.2.2. Objetivo específico segundo

Evaluar antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs: (a) Química sanguínea para evaluar los cambios en marcadores metabólicos y relacionados con daño muscular, (b) Perfil lipídico, (c) Indicadores de estrés oxidativo, y (d) Percepción de dolor; para comparar los resultados por medio de un análisis estadístico entre el grupo que ingirió el HMB y el grupo que consumió placebo y determinar el efecto de la suplementación con HMB.

3. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de estudio y población

3.1.1. Tipo de estudio

Se realizó un estudio experimental de asociación, longitudinal, prospectivo, cuantitativo, por medio de un ensayo aleatorio a doble ciego con grupo control con placebo.

3.1.2. Población de estudio

Se eligió como universo de estudio a deportistas seleccionados universitarios y como población de estudio a los miembros de las selecciones varoniles de Voleibol y Baloncesto.

3.1.3. Criterios de selección de la población estudio

3.1.3.1. Criterios de inclusión

Mayores de 18 años de edad, con un año mínimo de experiencia entrenando con sus respectivos equipos, físicamente activos y clínicamente sanos. Debían firmar la carta de consentimiento informado (Anexo 1)

3.1.3.2. Criterios de exclusión

Mostrar riesgos en la función hepática y o renal; haber ingerido algún suplemento alimenticio, en los últimos 6 meses; encontrarse bajo tratamiento médico o con alguna enfermedad (padecimientos en vías respiratorias, infecciones gastrointestinales, etc.) o presentar alguna lesión que pudiera interferir con el desarrollo del estudio.

3.1.3.3. Criterios de eliminación

No cumplir con alguna de las determinaciones metodológicas o con el programa de entrenamiento; haber enfermado o lesionarse durante el desarrollo del estudio; no haber cumplido cabalmente el protocolo de uso del suplemento; y/o haber asumido la decisión de retirarse del estudio.

3.2. Material y métodos utilizados

3.2.1. Ejercicio

Los sujetos se incorporaron en el estudio al inicio del macro-ciclo de entrenamiento, donde ambos equipos se encontraban en su mesociclo de fuerza y acondicionamiento. Se acordó con los entrenadores que se mantendría el entrenamiento durante el desarrollo del estudio, de tal forma que no afectará las actividades normales de los equipos. Se determinó un mínimo de asistencia a los entrenamientos del 80% de las sesiones para poder seguir formando parte del estudio.

3.2.2. Desarrollo del experimento

El estudio fue dividido en tres partes: (a) elección del grupo de estudio y homogenización; (b) período de suplementación; y, (c) entrenamiento excéntrico y valoración del daño muscular.

3.2.2.1. Elección del grupo de estudio y homogenización

Previo reunión con los entrenadores de los equipos de baloncesto y voleibol, sus integrantes fueron invitados a una sesión de información sobre las características y el desarrollo del estudio. En dicha sesión, se informó de los objetivos, de la metodología y de las pruebas a realizar en el estudio, así como también se les entregaron las cartas de consentimiento informado para que los sujetos pudieran leerlas y hacer todas las preguntas que considerarán necesarias para aclarar las dudas que surgieran de su posible participación.

Los sujetos que decidieron formar parte del estudio, previa firma del consentimiento informado, fueron evaluados por un médico del deporte para asegurar que cumplieran con los criterios de inclusión. Posteriormente, se le asignó a cada sujeto un número aleatorio de cuatro dígitos que fue utilizado como clave de participación en el estudio.

3.2.2.2. Periodo de suplementación

Para la distribución del suplemento, los sujetos fueron divididos aleatoriamente en dos grupos; experimental (HMB) y control (placebo). Para asegurar que la selección fuera aleatoria, todas las claves de los sujetos fueron impresas y colocadas dentro de una bolsa, desde donde fueron extraídas una a una para integrarlos de forma alternada a cada uno de los grupos (Fotog.1)

El diseño del estudio se distribuyó en una fase de suplementación y, finalizada ésta, se realizó la sesión de entrenamiento excéntrico con la recogida de muestras a las 24, 48 y 72 hrs (Fig. 8 y 9).

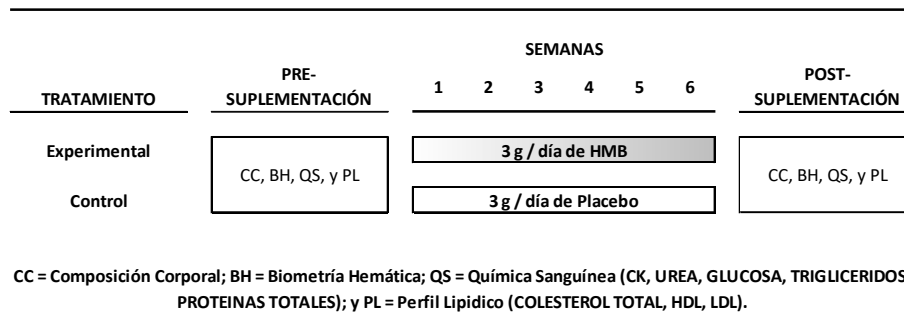


Figura 8. Desarrollo del Experimento: Período de Suplementación.

Previo al uso del suplemento, se aplicó a todos los sujetos las siguientes pruebas: (a) composición corporal; (b) química sanguínea; (c) perfil lipídico; y (d) biometría hemática (Fig. 16). Posteriormente, los sujetos recibieron el tratamiento asignado a su grupo (experimental o control) durante seis semanas, en las que mantuvieron su carga de trabajo asignada por los entrenadores (Fig. 8). Durante este período, la entrega del suplemento se hizo de forma semanal, y los sujetos tenían que entregar el envase vacío de la semana anterior para recibir una nueva dosis.

Finalmente, pasadas las seis semanas de suplementación, los sujetos fueron nuevamente evaluados para: (a) composición corporal; (b) química sanguínea; (c)

perfil lipídico; y (d) biometría hemática (Fig. 8). Fue, a partir de este momento, cuando se realizó el entrenamiento excéntrico y la valoración del daño muscular.

Como se ha señalado, al finalizar el período de suplementación, los sujetos que cumplieron con el protocolo de uso del suplemento continuaron con una sesión de entrenamiento excéntrico.

Se acordó con los entrenadores, de ambos equipos, que los sujetos que continuaron con el estudio no participarían en los entrenamientos durante la semana en que eran evaluados; a fin de que los posibles cambios por el daño muscular inducido por los entrenamientos no influyeran en los resultados del estudio.

Previo al ejercicio excéntrico, los sujetos fueron citados para una sesión de familiarización con el equipo, donde se explicó su funcionamiento y se realizó una serie de entrenamiento. Con posterior a esta familiarización, los sujetos fueron citados la siguiente semana para la sesión de entrenamiento excéntrico.

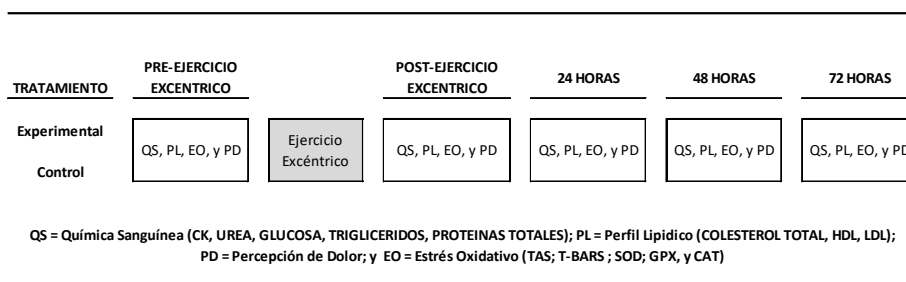


Figura 9. Desarrollo del Experimento: Entrenamiento excéntrico y valoración del daño muscular

En la sesión de entrenamiento excéntrico e inmediatamente antes de realizarlo se recogieron muestras de sangre y se evaluó la percepción de dolor (Fig. 9). Asimismo e inmediatamente después de finalizado el entrenamiento excéntrico, se recogió otra muestra de sangre y se evaluó, nuevamente la percepción de dolor. Finalmente, los sujetos fueron nuevamente citados para regresar los siguientes tres días para tomar las muestras correspondientes a la 24, 48 y 72 hrs posteriores al entrenamiento; en cada uno de los días se recogió una muestra de sangre y se evaluó nuevamente la percepción de dolor (Fig. 9).

3.2.3. Protocolo de suplementación

Los sujetos en el tratamiento experimental consumieron durante seis semanas una dosis de 3 gramos de HMB (Future Foods, Dover, NJ, USA; número de lote 031102(m) con 83,98% de pureza reportada por el proveedor; Anexo 2) al día, en porciones de un gramo cada ocho horas e ingeridas antes de cada alimento; esta dosis de HMB fue elegida debido a que estudios previos (sección 1.3.2 y 1.3.3 de este trabajo) han demostrado su efectividad y seguridad (Vukovich et al., 2001; Gallagher et al., 2000b; Nissen et al., 2000; Kreider et al., 1999; Nissen et al., 1996a). El tratamiento control recibió, en dosis iguales, un placebo (3 g de maltrodextrina).

Cada dosis fue suministrada por medio de seis capsulas de gelatina dura (tamaño 1) conteniendo 500 mg de HMB o placebo cada una. Todas las cápsulas eran similares en color y apariencia y fueron envasadas en bolsas plásticas selladas por calor a fin de protegerlas de la oxidación, la humedad y facilitar su transporte (Fotog. 1).



Fotografía 1. Presentación del Suplemento utilizado en el estudio (HMB y Placebo)

Cada bolsa contenía en la parte superior el código personal de cada sujeto y debajo él el día (1 al 42) de suplementación, para asegurar su correcto consumo y la ingesta de todas las dosis. Cada bolsa fue dividida en tres secciones que contenían 2 cápsulas cada una, correspondientes a la porción ingerida antes de cada alimento, de tal forma que el resto de las cápsulas no tuviera contacto con el medioambiente antes de ser ingeridas (Fotog. 1).

3.2.4. Composición Corporal

La composición corporal (Norcross and Van-Loan, 2004), fue evaluada usando un absorciómetro de rayos X de emisión abierta de energía dual (Modelo Prodigy; GE/Lunar Corp., Madison, Wisconsin, EEUU).

Fueron determinadas, en cuerpo total, la masa corporal (MC), la masa magra libre de hueso (MMLH), la masa grasa (MG), el contenido mineral óseo (CMO) y el porcentaje de grasa corporal (GC%). La hoja de resultados se muestra en el Anexo 3. Los sujetos fueron evaluados los viernes (10:00 y 12:00 hrs) y sábados (18:00 y 20:00 hrs), antes y después de finalizar la suplementación, y cada sujeto fue siempre evaluado a la misma hora del día.

Antes de la prueba de absorciometría los participantes fueron informados de la necesidad de quitarse todos los objetos que contenían metal (ropa con botones o cierres metálicos, joyas, relojes, etc.). La prueba fue realizada con los sujetos recostados en posición supina a lo largo de la camilla del aparato y alineados al eje longitudinal central. Fueron instruidos a mantener sus manos en posición prona y sus piernas y manos inmóviles durante la determinación de rayos X.

3.2.5. Entrenamiento Isocinético

La inducción del daño muscular se realizó en el módulo lineal de prensa para piernas (Leg Press) de un dinamómetro isocinético (CON-TREX AG, Dubendorf, Switzerland) denominado CON-TREX LP. El aparato consta de un asiento cuyo respaldo puede ser ajustado a distintas posiciones y que posee dos cinturones que permiten mantener al sujeto atado, tanto al asiento como al respaldo (Fotog. 2).



Fotografía 2. Con-Trex Leg Press

Abajo y al frente del asiento se encuentra una barra o eje graduada, por el que se desplazan los pedales, pudiendo ser ajustados los límites del rango de movimiento deseado (Fotog. 3).



Fotografía 3. Con-Trex Leg Press: Barra de desplazamiento

Los pedales cuentan con un tipo de puntillas que ajustan firmemente el pie desde cuatro puntos (Fotog. 4).



Fotografía 4. Con-Trex Leg Press: Pedales

3.2.5.1. Sesión de Familiarización

Como se comentó anteriormente, previo a la sesión de trabajo, se realizó una sesión de familiarización de los sujetos con el aparato isocinético. En dicha sesión, se instruyó a los sujetos sobre la ejecución del ejercicio y se les pidió que se sentaran sobre el asiento del aparato con la espalda y cadera en contacto con el respaldo del asiento. Posteriormente, se colocó el cinturón de la cadera para fijar el tronco de los sujetos al aparato, luego se les pidió que colocaron los pies sobre los pedales y se procedió a calcular la longitud de trabajo sobre la barra de desplazamiento (Fotog. 5).



Fotografía 5. Determinación de la longitud de trabajo en la barra de desplazamiento del Con-Trex Leg Press (Flexión, 90°)

Para este cálculo de amplitud de trabajo articular de la rodilla se utilizó un ángulo de arranque de 90° y uno de 180° de máxima extensión, que se calculó con un goniómetro en el eje articular de la rodilla; evitando el bloqueo de la articulación en su extensión máxima (Fotog. 6). Este cálculo fue individualizado para todos los sujetos y en ambas posiciones; valores imprescindibles para establecer los bloqueos o seguros de desplazamiento del eje longitudinal del Con-Trex LP durante el entrenamiento.

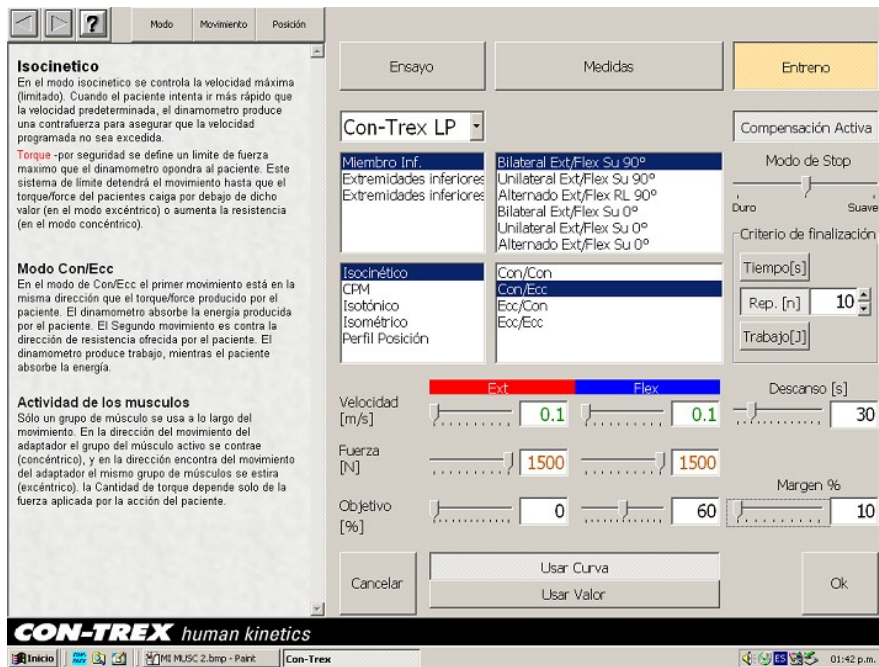


Fotografía 6. Determinación de la longitud de trabajo en la barra de desplazamiento del Con-Trex Leg Press (Extensión, $\sim 180^\circ$)

Finalizada esta fase de ajuste, se procedió a colocar el resto de los cinturones de sujeción para el tronco, verificando que el ángulo de trabajo de los tobillos fuera cómodo para los sujetos, antes de proceder a iniciar la evaluación.

Para la evaluación se procedió con un entrenamiento bilateral isocinético en extensión y flexión a 90° , a una velocidad de $0,1 \text{ m/s}$ y al 60% de 1RM para la fase excéntrica de la extensión pero sin carga para la fase concéntrica de la misma; procedimiento que fue programado en el Con-Trex LP (Fotog. 6).

Para el diseño del entrenamiento y de la carga de trabajo se utilizaron dos estudios previos realizados por el Instituto de Biomedicina de la Universidad de León (García-Lopez et al., 2007, Jiménez-Jiménez et al., 2008).



Fotografía 7. Programación de la sesión de entrenamiento excéntrico en el Con-Trex Leg Press

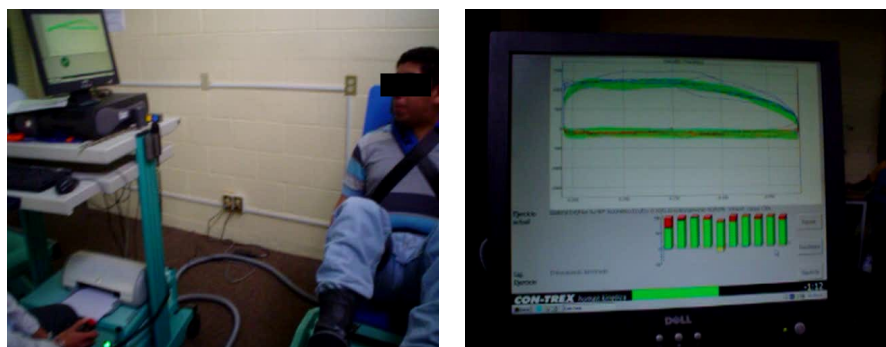
La velocidad de trabajo se determinó a partir de ensayos anteriores para permitir la correcta ejecución con el aparato en su fase de movimiento excéntrico, con un margen del 10% para la aplicación de la fuerza.

Los sujetos fueron instruidos de manera verbal para la ejecución del ejercicio, que consistió en aplicar resistencia con las piernas a la carga impuesta por el aparato en la fase excéntrica del movimiento y en la que el eje se mueve del plano distal al proximal de la cadera, ejerciendo así el movimiento en su fase excéntrica. Luego, al llegar al tope de la barra de desplazamiento, los sujetos debían jalar con los pies los pedales del aparato a fin que este de manera automática regresará a la posición inicial del movimiento dando por concluida una repetición del ejercicio.

Al inicio de cada sesión, el Con-Trex LP determina de manera automática la fuerza máxima, al hacer 3 repeticiones de flexión y donde el aparato va

gradualmente haciendo presión hasta lograr que el sujeto llegue al punto de quiebre de la curva de fuerza, determinando así la carga de trabajo.

Desde la sesión de familiarización, los sujetos fueron instruidos para seguir visualmente el desarrollo de la sesión de trabajo en un monitor adjunto al Con-Trex LP, que muestra en una gráfica de forma elíptica la forma en que el sujeto cumple con la carga de trabajo (Fotog. 8) y que sirve de retroalimentación inmediata en la ejecución del ejercicio. Finalmente, los sujetos realizaron una serie de 10 repeticiones a fin de no favorecer la adaptación del músculo a la carga de trabajo.



Fotografía 8. Ayuda visual durante la sesión de entrenamiento excéntrico en el Con-Trex Leg Press

3.2.5.2. Sesión de inducción de daño muscular

Una vez terminado el período de seis semanas de suplementación se realizó la sesión de inducción de daño muscular; para ello, los sujetos fueron citados los días viernes y sábado, a partir de las 8 hrs, en ayuno para la primer toma de muestra de sangre, inmediatamente después se les dio a los sujetos un alimento líquido (Glucerna SR®, Abbot Laboratories, México) a fin de romper el ayuno y, realizado esto, pasaron uno a uno a realizar el ejercicio excéntrico.

Debido a que en la sesión previa de familiarización se habían tomado los principales datos de ajuste del Con-Trex LP, los sujetos fueron directamente evaluados con los datos que previamente se habían registrado. Una vez que el sujeto se encontraba colocado y asegurado en el Con-Trex LP, el aparato de

manera automática, al inicio de la sesión de ejercicio, determinaba la fuerza máxima; y una vez que terminaba comenzaba la sesión de inducción de daño muscular.

Para la sesión de inducción de daño muscular, los sujetos realizaron 10 series de 10 repeticiones de ejercicio bilateral isocinético, en extensión y flexión a 90°, al 60 % de 1RM, para la fase excéntrica de la extensión y sin carga para la fase concéntrica. La velocidad utilizada fue de 0,1 m / s, con 30 segundos de descanso entre cada serie; al igual que con la sesión de familiarización, durante toda la sesión los sujetos tuvieron una ayuda visual para la realización del ejercicio. Al término de la sesión, a los sujetos nuevamente se les tomo una muestra de sangre.

3.2.6. Marcadores de daño muscular en sangre y perfil lipídico

En la recogida de sangre, la muestra fue dividida para su análisis en biometría hemática, química sanguínea, perfil lipídico y marcadores de estrés oxidativo. Todas las muestras fueron obtenidas en ayuno postprandial de ~8 hrs, por medio de punción de la vena antecubital del brazo, con aguja de seguridad (aguja BD Vacutainer® Eclipse™) y guía desechable (Holder BD, Vacutainer®), procurando causar la mínima estasis y utilizando tubos cerrados de recogida al vacío para la recolección múltiple de muestras sanguínea (Vacutainer®, Becton Dickinson, USA).

El análisis de biometría hemática se realizó antes y después del periodo de suplementación (Fig. 16), para lo cual se obtuvo una muestra de aproximadamente 5 mL en un tubo con K2 EDTA pulverizado, como anticoagulante (Vacutainer®, Becton Dickinson, USA). Inmediatamente después de haber obtenido la muestra dentro del tubo, se realizaron aproximadamente 8 inversiones para asegurarse que la muestra se mezclara con el anticoagulante; luego, las muestras fueron refrigeradas hasta su análisis, en el mismo día. Primero se determinaron, por medio de un analizador hematológico (AcT Diff Haematology Analyser, Beckman Coulter, Inc. USA), los siguientes parámetros: leucocitos (10³ / uL), linfocitos (%),

monocitos (%), granulocitos (%), linfocitos (103 / uL), monocitos (103 / uL), granulocitos (103 / uL), eritrocitos (106 / uL), hemoglobina (g / dL), hematocrito (%), volumen corpuscular medio (fL), hemoglobina corpuscular media (pg), concentración de hemoglobina corpuscular media (g / dL), anchura de distribución de eritrocito (%), plaquetas (103 / uL), volumen plaquetario medio (fL), plaquetocrito (%) y anchura de distribución plaquetaria.

La química sanguínea y el perfil lipídico fueron determinados en seis ocasiones (Fig. 8 y 9). La primera antes del periodo de suplementación, la segunda después del periodo de suplementación (la cual se tomó antes de realizar la inducción del daño muscular), la tercera inmediatamente después de la inducción del daño muscular y, finalmente, a las 24, 48 y 72 hrs; en cada una de las ocasiones se obtuvo una muestra de aproximadamente 5 mL en un tubo que contenía un activador de la coagulación y un gel separador de suero (Vacutainer®, Becton Dickinson, USA); una vez terminada la toma de muestra, los tubos fueron mantenidos en refrigeración y luego centrifugados a 2500 rpm durante 10 minutos, para separar el suero; posteriormente fue dividido en alícuotas y congelado (-70°C) hasta su análisis. Dentro de la Química Sanguínea se determinaron como marcadores de daño muscular CK (U / L), urea (mmol / L), ácido úrico y proteínas totales (g / dL); y como marcadores metabólicos, glucosa (mg / dL) y triglicéridos (mg / dL); dentro del perfil lipídico fueron determinados colesterol total (mg / dL), HDL (mg / dL) y LDL (mg / dL). Todos los análisis fueron realizados con reactivos comerciales (Randox Laboratories Ltd., United Kingdom) en un analizador automático para laboratorio clínico (Vitalab Selectra-2, Merck, México).

Los marcadores de estrés oxidativo fueron determinados en cinco ocasiones, antes y después de la inducción de daño muscular por ejercicio excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs posteriores (Fig. 9); fueron evaluados la capacidad del tejido para neutralizar las RONS a través del estado de los antioxidantes totales (TAS), la peroxidación de lípidos a través de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico

(TBARS) y los antioxidantes enzimáticos glutatión peroxidasa (GPX), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT).

El TAS fue determinado a partir de una de las alícuotas de suero, utilizando un método comercial (Cat. No. NX 2332, Randox Laboratories Ltd., United Kingdom) que utiliza como principio la reacción del 2,2'-Azino-di-[3-etilbenzotiazolín sulfonato] (ABTS®), el cual se incubaba con la peroxidasa metamioglobina y H₂O₂ para generar el radical catión ABTS®⁺, el cual presenta una coloración verdeazulada que puede ser medida por espectrofotometría (600 nm y cubeta de 1 cm de espesor). Los antioxidantes presentes en la muestra producen una desaparición de esta coloración, siendo esta decoloración, proporcional a la concentración de antioxidantes presentes en la muestra (20µL), midiendo así el TAS en mmol / L.

La determinación de TBARS fue realizada en una muestra de suero (100µL) utilizando el TBARS Assay Kit (Cat. No. 10009055, Cayman Chemical Company, USA) el cual utiliza la reacción del malondialdehído (MDA) con el ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) para formar aductos cromógenos de MDA-TBA que son estables y pueden cuantificarse por espectrofotometría (530-540 nm); finalmente, se calcula la concentración de MDA en µM.

Para la determinación de antioxidantes enzimáticos GPX, SOD y CAT fueron utilizadas muestras de sangre completa con anticoagulante para determinar la concentración de hemoglobina (Hb). La determinación de GPX fue realizada a través de la prueba RANSEL (Cat. No. RS 504, Randox Laboratories Ltd., United Kingdom). La determinación de glutatión (GSH) y de glutatión oxidado (GSSG) se realizaron también por espectrofotometría: se utilizó la glutatión peroxidasa que cataliza la oxidación de GSH por el hidroperóxido de cumeno y, para la GSSG, se utilizó la glutatión reductasa para que reaccionara con el GSSG y NADPH que convierten inmediatamente la GSSG a su forma reducida (GSH), con una oxidación concomitante de NADPH en NADP⁺; reacción que se mide como una disminución de la absorbancia a 340 nm y expresando los resultados en U / g Hb.

Para la determinación de SOD fue utilizada la prueba RANSOD (Cat. No. SD 125, Randox Laboratories Ltd., United Kingdom). Este método emplea Xantina y Xantin oxidasa (XOD) para formar radicales superóxido, los cuales reaccionan con cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio (I.N.T) formando un colorante (formazán rojo). La actividad de la superóxido dismutasa se mide por el grado de inhibición de esta reacción y se mide en U / g Hb. En esta prueba fueron utilizados 0,5 mL de sangre total, que fue hemolizada de acuerdo a la metodología recomendada en la prueba.

Para la determinación de CAT fue utilizado el Catalasa Assay Kit (Cat. No. 707002, Cayman Chemical Company, USA), que utiliza como base la reacción de la CAT con metanol en presencia de una concentración óptima de peróxido que da como resultado un formaldehído, que puede ser medido colorimétricamente con 4-amino-3-hidrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazol (Purpald) que forma un complejo de color púrpura con el aldehído y puede ser evaluado por espectrofotometría (530 nm). Para esta prueba, se utilizó eritrocitos lisados (20 µL)

3.2.7. Evaluación de la percepción de dolor

Para la evaluación de la percepción de dolor, se utilizó una escala visual análoga representada por una línea de 10 cm donde cada extremo representa: el extremo izquierdo corresponde al valor más bajo de dolor y el extremo derecho el mayor grado de dolor (Mattacola et al., 1997).

La percepción de dolor fue evaluada en cinco ocasiones, antes y después de la inducción de daño muscular por ejercicio excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs posteriores (Fig. 9), para lo cual se utilizó la ficha que se presenta en el Anexo 4. A los sujetos se les instruyó para realizar una marca transversal sobre la línea de 10 cm de acuerdo al nivel de dolor percibido en los músculos de la sección posterior y anterior del muslo; se instruyó a los sujetos para que antes de la inducción de daño muscular marcaran su ausencia de dolor y luego se les solicitó que en las líneas posteriores marcaran nuevamente su percepción de dolor.

Al término de las determinaciones fue medido con una regla la longitud de las marcas y registrado en la base de datos para su análisis.

Tratamiento estadístico

Todos los datos se verificaron para el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk y se utilizaron pruebas no paramétricas cuando la potencia estadística era $< 0,800$ para las pruebas paramétricas. Los datos incumplieron normalidad y se presentan como mediana (rango intercuartilar; percentiles 25 a 75). Los datos fueron divididos en dos secciones para su análisis de acuerdo con los objetivos específicos previamente planteados.

En la primera sección se comparan los resultados de composición corporal, biometría hemática, química sanguínea y perfil lipídico, antes y después de la suplementación de HMB. Para el análisis estadístico se procedió a transformar los resultados de composición corporal (MT, MMLH, CMO y MG), de química sanguínea, de perfil lipídico y biometría hemática en porcentaje de cambio ($\Delta\%$) de acuerdo con la siguiente formula: $\Delta\% = [(x_n - x_i) / x_i] * 100$; Dónde: x_i = valor inicial y x_n = valor posterior.

Este cálculo se realizó a fin de normalizar los valores de las variables debido a la alta variabilidad de los datos y el número bajo de sujetos en cada grupo; para el porcentaje de grasa corporal y los valores de biometría hemática, reportados como porcentajes, sólo fueron calculados las diferencias entre final e inicial (Δ). Una vez determinado el porcentaje de diferencia, entre los tratamientos placebo y HMB se compararon las muestras utilizando la prueba U de Mann-Whitney

En la segunda sección, se comparan los resultados de química sanguínea, perfil lipídico, estrés oxidativo y percepción de dolor, antes y después de la sesión de entrenamiento excéntrico y a las 24, 48, y 72 hrs.

Para determinar la diferencia entre los tiempos antes y después de la sesión de entrenamiento excéntrico y a las 24, 48, y 72 hrs, se utilizó la prueba de Friedman para cada tratamiento (placebo y HMB); si $p < 0.05$ se realizó comparación por pares con ajuste de Student-Newman-Keuls (SNK). Para determinar si existen diferencia entre los tratamientos placebo y HMB se realizó la

prueba U de Mann-Whitney en cada uno de los tiempos Pre-Contrex y Post-Contrex (0, 24, 48, y 72 horas)

El análisis estadístico fue realizado usando el software estadístico Sigma Plot para Windows® (Versión 12.3, Systat Software, Inc., Germany).

4. RESULTADOS

4.1. Características generales de la muestra

El objetivo del presente trabajo es comparar los cambios de la composición corporal y de los indicadores de daño muscular en dos grupos de jóvenes físicamente activos; uno, bajo la suplementación de 3 g / día de HMB y, otro, bajo la administración de un placebo durante un período de seis semanas y posterior a una sesión de entrenamiento excéntrico.

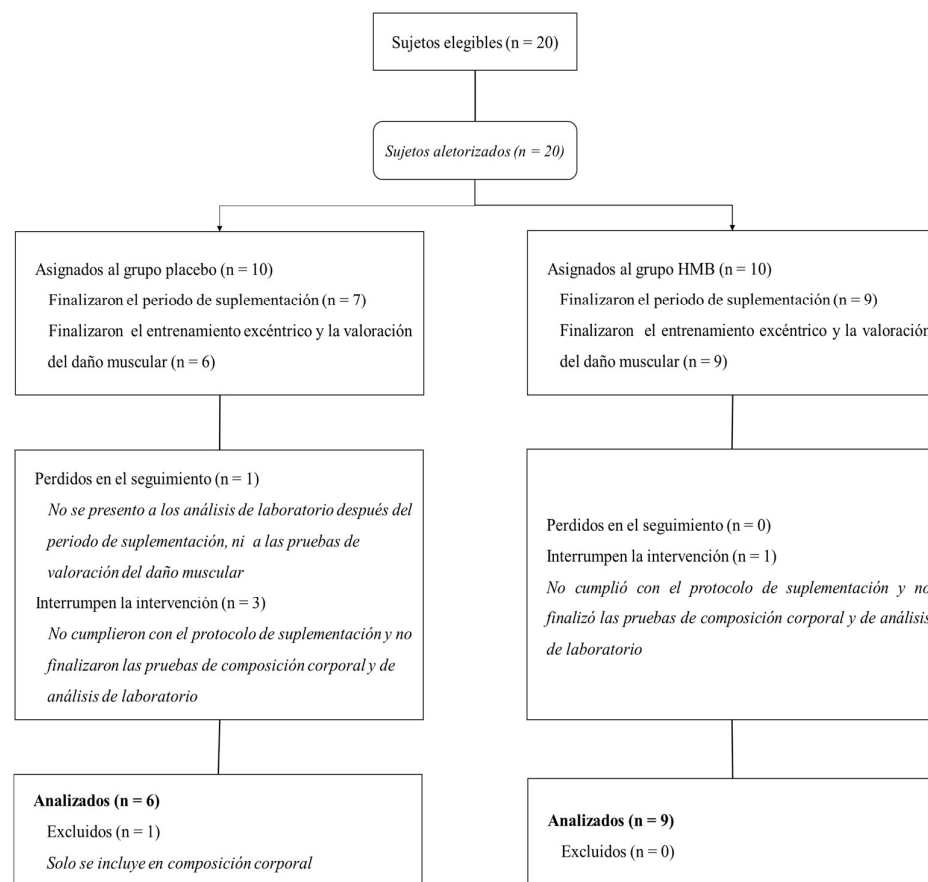


Figura 10. Diagrama de flujo de los participantes durante el estudio

Para lo anterior se seleccionó a 20 miembros de las selecciones varoniles de Voleibol y Baloncesto de la Universidad Autónoma del Estado de México de acuerdo los criterios de selección de la población descritos previamente en el capítulo 3 (Metodología) de este mismo trabajo; una vez satisfechos a los criterios de inclusión y exclusión se procedió a dividir aleatoriamente a los sujetos en dos grupos (placebo y HMB) (Fig. 10)

El estudio comenzó con 20 sujetos y ambos grupos (placebo y HMB) tenían una $n = 10$; sin embargo, durante el desarrollo del estudio se eliminaron 5 sujetos (4 del grupo placebo y 1 del grupo de HMB). De estos sujetos, 4 fueron eliminados por no cumplir con el protocolo de suplementación, por tanto, no terminaron con la evaluación posterior al periodo de suplementación; un sujeto más termino la suplementación y se presentó a la segunda evaluación de la composición corporal, pero no realizó el resto de las evaluaciones por motivos personales (Fig. 10). Finalmente, completaron el estudio un total de 15 sujetos, de los cuales 6 pertenecen al grupo placebo (22 ± 3 años; $1,75 \pm 0,05$ m; $65,3 \pm 9,6$ Kg) y 9 al grupo de HMB (23 ± 3 años; $1,76 \pm 0,06$ m; $70,6 \pm 7,8$ Kg) (Fig. 10).

Al final del periodo de suplementación se interrogó los sujetos sobre el grupo al que pertenecían, todos los sujetos reportaron pertenecer al grupo de HMB. No fueron reportados problemas gastrointestinales, calambres musculares o cualquier otro efecto secundario al final del periodo de suplementación; además ninguno de los sujetos presentó valores anormales en la química sanguínea y / o en la biometría hemática al inicio y al final del periodo de suplementación.

4.2. Cambios antes y después de las seis semanas de suplementación con HMB

4.2.1. Composición Corporal

Los resultados de composición corporal se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición corporal por DEXA antes y después de seis semanas de suplementación

PARÁMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 7)	HMB (n = 9)
Masa corporal (kg)	Inicial	65,20 (56,30 a 74,90)	69,00 (65,64 a 77,50)
	Final	64,80 (56,00 a 76,30)	68,40 (64,98 a 77,40)
	Δ%	-0,53 (-0,76 a 0,77)	-0,40 (-1,85 a -0,01)
Masa magra libre de hueso (kg)	Inicial	50,08 (46,71 a 53,12)	53,56 (50,23 a 56,34)
	Final	49,65 (46,61 a 53,27)	51,94 (50,24 a 55,87)
	Δ%	0,28 (-0,86 a 1,00)	-1,54 (-2,71 a 0,29)
Contenido mineral óseo (kg)	Inicial	2,99 (2,67 a 3,79)	3,02 (2,97 a 3,54)
	Final	2,88 (2,66 a 3,80)	3,02 (2,97 a 3,54)
	Δ%	-1,02 (-1,22 a 0,34)	-0,19 (-0,88 a 0,76)
Masa grasa (kg)	Inicial	12,14 (6,94 a 16,98)	12,80 (7,46 a 17,32)
	Final	12,18 (6,80 a 14,76)	12,78 (7,84 a 18,25)
	Δ%	-1,71 (-3,24 a 1,70)	2,74 (-5,49 a 5,56)
Grasa corporal (%)	Inicial	19,40 (13,80 a 22,60)	19,30 (12,85 a 24,20)
	Final	19,30 (13,50 a 19,80)	19,80 (13,60 a 25,10)
	Δ%	-0,10 (-0,30 a 0,20)	0,40 (-1,05 a 1,20)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]; kg = Kilogramos; % = Porcentaje; Δ = Final - Inicial; Δ% = [(Final - Inicial)/Inicial]*100

Los datos muestran cambios menores al 2% en la composición corporal antes y después del periodo de suplementación. No se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de cambio ($\Delta\%$) entre los grupos placebo y HMB en: masa corporal (U = 25,0; p = 0,525); masa magra libre de hueso (U = 19,0; p = 0,204); contenido mineral óseo (U = 22,0; p = 0,341); masa grasa (U = 24,0; p = 0,459) (Fig. 11). También, no se encontró diferencias significativas (U = 22,0; p = 0,351) en el cambio de porcentaje de grasa corporal (Tabla 1).

4.2.2. Biometría hemática

Los resultados para antes y después del periodo de suplementación para la biometría hemática los presenta la Tablas 2 y 3.

Tabla 2. Resultado de biometría hemática antes y después de seis semanas de suplementación

PARÁMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Leucocitos (10 ³ / uL)	Inicial	5,80 (4,88 a 6,58)	5,20 (4,35 a 6,20)
	Final	4,55 (3,90 a 5,73)	5,20 (4,45 a 5,75)
	Δ%	-15,06 (-33,99 a 4,81)	-5,63 (-15,99 a 12,82)
Linfocitos (%)	Inicial	42,40 (39,45 a 48,38)	32,60 (31,25 a 40,90)
	Final	45,00 (36,18 a 46,08)	35,90 (33,25 a 40,95)
	Δ	-2,20 (-5,30 a 3,78)	0,40 (-5,40 to 3,90)
Monocitos (%)	Inicial	6,65 (4,60 a 8,40)	4,70 (3,85 a 7,65)
	Final	6,20 (5,05 a 7,35)	5,70 (3,15 s 7,45)
	Δ	-0,20 (-1,93 to 1,95)	0,60 (-3,10 a 3,50)
Granulocitos (%)	Inicial	50,60 (45,90 a 53,40)	59,10 (54,00 a 63,15)
	Final	48,85 (48,75 a 56,63)	58,40 (52,90 a 61,50)
	Δ	1,10 (-1,20 a 5,15)	-0,70 (-3,85 a 4,90)
Linfocitos (10 ³ / uL)	Inicial	2,55 (2,13 a 2,88)	1,80 (1,65 a 2,20)
	Final	1,85 (1,58 a 2,63)	1,80 (1,60 a 2,15)
	Δ%	-21,43 (-39,14 a 4,03)	-8,70 (-15,96 a 9,61)
Monocitos (10 ³ / uL)	Inicial	0,40 (0,20 a 0,50)	0,30 (0,20 a 0,45)
	Final	0,30 (0,28 a 0,40)	0,30 (0,15 a 0,40)
	Δ%	-10,00 (-33,75 a 50,00)	0,00 (-55,00 a 75,00)
Granulocitos (10 ³ / uL)	Inicial	2,90 (2,53 a 3,30)	3,30 (22,35 a 3,75)
	Final	2,40 (1,95 a 3,08)	3,00 (2,55 a 3,45)
	Δ%	-10,37 (-27,42 a 0,93)	0,00 (-11,86 a 12,86)
Eritrocitos (10 ⁶ / uL)	Inicial	5,54 (5,20 a 6,14)	5,19 (5,09 a 5,52)
	Final	5,70 (5,60 a 5,90)	5,69 (5,39 a 5,93)
	Δ%	1,58 (-6,13 a 8,95)	7,02 (4,77 a 10,21)
Hemoglobina (g / dL)	Inicial	17,70 (16,90 a 19,15)	16,70 (16,05 a 17,40)
	Final	17,80 (17,43 a 18,10)	17,70 (16,85 a 18,10)
	Δ%	0,50 (-7,23 a 4,60)	3,51 (2,97 a 6,69)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]); uL = unidades litro; g / dL = gramos / decilitro; % = Porcentaje; Δ = Final - Inicial; Δ% = [(Final-Inicial) / Inicial]*100

Tabla 3. Resultado de biometría hemática antes y después de seis semanas de suplementación

PARAMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Hematocrito (%)	Inicial	49,50 (48,33 a 54,40)	47,50 (44,85 a 48,65)
	Final	51,70 (49,73 a 54,00)	50,00 (49,55 a 51,95)
	Δ	0,20 (-2,63 a 4,68)	3,30 (2,10 a 5,35)
Volumen corpuscular medio (fL)	Inicial	89,55 (88,05 a 93,33)	87,70 (86,15 a 91,45)
	Final	90,75 (89,43 a 92,38)	89,90 (87,20 a 92,05)
	Δ%	1,02 (-1,45 a 2,48)	0,88 (-0,32 a 1,87)
Hemoglobina corpuscular media (pg)	Inicial	31,40 (30,58 a 33,30)	31,40 (31,05 a 32,55)
	Final	31,15 (30,38 a 31,68)	31,10 (29,30 a 32,25)
	Δ%	-1,44 (-5,93 a 0,58)	-2,51 (-4,64 a -0,94)
Concentración de hemoglobina corpuscular media (g / dL)	Inicial	34,95 (34,60 a 35,85)	35,60 (35,05 a 36,45)
	Final	34,35 (33,55 a 34,90)	34,80 (33,90 a 35,25)
	Δ%	1,44 (-5,93 a 0,58)	-2,51 (-4,61 a -0,94)
Anchura de distribución de eritrocito (%)	Inicial	12,40 (11,88 a 12,85)	12,30 (11,85 a 12,85)
	Final	12,30 (12,10 a 12,40)	12,40 (11,90 a 12,60)
	Δ	-0,30 (-0,55 a 0,53)	-0,10 (-0,35 a 0,25)
Plaquetas (10 ³ / uL)	Inicial	202,00 (169,25 a 247,75)	256,00 (213,00 a 283,50)
	Final	192,50 (175,00 a 246,00)	264,00 (204,00 a 295,00)
	Δ%	1,40 (-6,61 a 7,86)	-0,38 (-13,75 a 8,21)
Volumen Plaquetario Medio (fL)	Inicial	8,40 (7,98 a 8,80)	8,00 (7,65 a 8,20)
	Final	8,45 (7,85 a 8,90)	7,60 (7,40 a 8,20)
	Δ%	-2,38 (-5,77 a 6,47)	-1,35 (-5,10 a 1,84)
Plaquetocrito (%)	Inicial	0,18 (0,15 a 0,20)	0,20 (0,17 a 0,23)
	Final	0,17 (0,15 a 0,20)	0,21 (0,16 a 0,23)
	Δ	0,01 (-0,02 a 0,02)	-0,01 (-0,03 a 0,02)
Anchura de distribución plaquetaria (%)	Inicial	15,70 (15,38 a 15,93)	15,80 (15,60 a 16,50)
	Final	16,25 (15,95 a 16,83)	15,80 (15,45 a 16,35)
	Δ	0,50 (0,45 a 0,80)	-0,30 (-0,60 a 0,55)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]; Δ = Final - Inicial; fL = femtolitro; pg = picogramos; uL = unidades litro; % = Porcentaje; g / dL = gramos / decilitro

No se encontraron diferencias significativas entre los grupos placebo y HMB para las diferencias entre final e inicial (Δ) en: leucocitos (103 / uL; U = 18,5; p = 0,316) linfocitos (%; U = 21,5; p = 0,516), monocitos (%; U = 25,0; p = 0,814), granulocitos (%; U = 25,0; p = 0,814), linfocitos (103 / uL; U = 14,5; p = 0,139), monocitos (103 / uL; U = 24,5; p = 0,764), granulocitos (103 / uL; U = 18,0; p = 0,286), eritrocitos (106 / uL; U = 16,5; p = 0,215), hemoglobina (g / dL; U = 16,0; p = 0,190), hematocrito (%; U = 15,0; p = 0,157), volumen corpuscular medio (fL; U = 26,0; p = 0,906), hemoglobina corpuscular media (pg; U = 20,0; p = 0,408), concentración de hemoglobina corpuscular media (g / dL; U = 23,5; p = 0,679), anchura de distribución de eritrocito (%; U = 23,5; p = 0,678), plaquetas (103 / uL; U = 27,0; p = 1,000), volumen plaquetario medio (fL; U = 27,0; p = 1,000), plaquetocrito (%; U = 24,0; p = 0,723), y anchura de distribución plaquetaria (U = 11,0; p = 0,058).

4.2.3. Química Sanguínea

Los resultados de química sanguínea para los marcadores de daño muscular antes y después del periodo de suplementación se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Resultado de marcadores de daño muscular antes y después de seis semanas de suplementación

PARÁMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Creatina kinasa (U / L)	Inicial	57,0 (34,6 a 67,3)	48,0 (20,0 a 71,5)
	Final	31,0 (25,3 a 38,5)	31,0 (28,0 a 54,0)
	Δ%	-36,0 (-60,3 a 2,3)	-7,8 (-43,1 a 16,6)
Urea (mmol / L)	Inicial	5,2 (4,3 a 7,8)	6,3 (4,9 a 7,5)
	Final	5,2 (4,5 a 6,1)	4,4 (3,6 a 6,4)
	Δ%	-12,5 (-25,5 a 14,2)	-15,8 (-42,9 a 10,8)
Ácido úrico (mg / dL)	Inicial	6,1 (4,8 a 6,9)	5,1 (4,0 a 6,5)
	Final	5,2 (4,2 a 5,5)	6,8 (5,0 a 7,6)
	Δ%	-17,0 (-38,9 a -2,3)	32,4 (-15,4 a 60,6)
Proteínas totales (g / dL)	Inicial	5,9 (4,7 a 8,3)	5,9 (5,3 a 6,8)
	Final	5,6 (4,4 a 8,9)	6,7 (5,5 to 7,3)
	Δ%	9,0 (-26,4 a 17,8)	4,6 (-2,8 a 20,8)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]; Δ% = [(Final Inicial) / Inicial]*100; U / L = unidades / litro; mmol / L = milimoles / litro; mg / dL = miligramos / decilitro; g / dL = gramos / decilitro.

No se encontraron diferencias significativas en CK (U = 18,0; p = 0,289), urea (U = 21,0; p = 0,517), ácido úrico (U = 10,0; p = 0,052) y proteínas totales (U = 25,0; p = 0,860). La figura 12 muestra los resultados de los marcadores de daño muscular; cabe resaltar que el ácido úrico presentó un aumento en el porcentaje de cambio (Δ%) de cerca del 30% para el grupo que tomó HMB, mientras que el grupo que tomó el placebo disminuyó cerca de un 19%.

Los resultados de química sanguínea para los marcadores metabólicos y perfil lipídico antes y después del periodo de suplementación se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Resultado de marcadores metabólicos y perfil lipídico antes y después de seis semanas de suplementación

PARAMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Glucosa (mg / dL)	Inicial	81,8 (78,8 a 90,0)	85,1 (77,6 a 106,4)
	Final	95,8 (82,7 a 110,7)	95,4 (84,6 a 99,3)
	$\Delta\%$	19,2 (-7,5 a 40,6)	9,1 (-5,2 a 11,8)
Triglicéridos (mg / dL)	Inicial	73,5 (45,6 a 111,6)	83,5 (51,1 a 168,1)
	Final	107,0 (84,1 a 236,4)	103,5 (97,4 a 191,1)
	$\Delta\%$	98,0 (41;8 a 147,4)	35,9 (-15,2 a 125,5)
Colesterol total (mg / dL)	Inicial	187,5 (145,0 a 215,3)	192,0 (166,0 a 223,5)
	Final	216,5 (172,3 a 229,3)	233,0 (198,0 a 258,5)
	$\Delta\%$	7,8 (-4,5 a 31,8)	14,2 (0,5 a 44,0)
HDL (mg / dL)	Inicial	47,7 (34,5 a 57,0)	50,3 (34,4 a 55,1)
	Final	42,0 (35,3 a 53,3)	59,8 (48,3 a 63,6)
	$\Delta\%$	-1,3 (-24,7 a 16,1)	16,7 (3,9 a 35,3)
LDL (mg / dL)	Inicial	76,6 (62,1 a 150,4)	109,6 (67,8 a 124,4)
	Final	95,7 (63,5 a 156,3)	101,6 (86,0 a 134,6)
	$\Delta\%$	9,2 (-7,9 a 30,1)	6,8 (-9,7 a 26,8)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]); $\Delta\%$ = [(Final Inicial)/Inicial]*100; U / L = unidades / litro; mmol / L = milimoles / litro; mg / dL = miligramos / decilitro; g / dL = gramos / decilitro.

No se encontraron diferencias significativas para los marcadores metabólicos, glucosa ($U = 17,0$; $p = 0,263$) y triglicéridos ($U = 17,0$; $p = 0,263$); la figura 12 muestra los resultados en porcentaje de cambio.

Tampoco fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas para el perfil lipídico en: colesterol total ($U = 22,0$; $p = 0,596$), HDL ($U = 13,0$; $p = 0,112$), y LDL ($U = 17,0$; $p = 0,263$).

4.3. Cambios antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs

4.3.1. Química Sanguínea

Los resultados para los marcadores de daño muscular antes y después de la inducción de daño muscular son mostrados en la Tabla 6.

Tabla 6. Resultado de marcadores de daño muscular antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs

PARÁMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Creatina quinasa (U/L)	Pre-Contrex	31,0 (25,3 a 38,5)	31,0 (28,0 a 54,0)
	Post-Contrex	41,0 (33,0 a 67,4)	51,0 (27,0 a 59,0)
	Post-Contrex 24 hrs	35,5 (23,3 a 48,8)	43,0 (24,5 a 84,5)
	Post-Contrex 48 hrs	38,0 (29,8 a 73,0)	35,0 (28,0 a 52,5)
	Post-Contrex 72 hrs	43,5 (26,4 a 66,5)	40,0 (28,5 a 45,0)
Urea (mmol/L)	Pre-Contrex	5,2 (4,5 a 6,1)	4,4 (3,6 a 6,4)
	Post-Contrex	4,1 (2,9 a 6,2)	4,7 (3,0 a 5,9)
	Post-Contrex 24 hrs	4,2 (3,4 a 4,9)	4,7 (3,3 a 5,8)
	Post-Contrex 48 hrs	3,3 (2,1 a 4,5)	3,9 (3,6 a 5,3)
	Post-Contrex 72 hrs	4,0 (3,2 a 5,6)	3,8 (3,3 a 4,8)
Ácido úrico (mg/dL)	Pre-Contrex	5,2 (4,2 a 5,5)	6,8 (5,0 a 7,6)
	Post-Contrex	4,9 (4,0 a 5,8)	7,2 (6,6 a 8,7) *
	Post-Contrex 24 hrs	5,4 (4,5 a 6,2)	7,3 (6,6 a 8,6) *
	Post-Contrex 48 hrs	6,0 (5,0 a 6,7)	7,3 (6,1 a 8,8)
	Post-Contrex 72 hrs	5,6 (5,0 a 6,3)	5,9 (4,7 a 7,3)
Proteína total (g/dL)	Pre-Contrex	5,6 (4,4 a 8,9)	6,7 (5,5 a 7,3)
	Post-Contrex	6,5 (5,1 a 9,2)	7,0 (6,1 a 7,4)
	Post-Contrex 24 hrs	5,7 (5,0 a 7,6)	5,7 (4,7 a 7,7)
	Post-Contrex 48 hrs	5,3 (4,9 a 6,2)	5,7 (4,9 a 6,9)
	Post-Contrex 72 hrs	4,9 (3,8 a 5,8)	5,1 (4,8 a 7,3)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]). *Diferencias significativas ($p < 0.05$) versus placebo. U/L = unidades/litro, mmol/L = milimoles/litro, mg/dL= miligramos/decilitro, g/dL = gramos/decilitro.

No se encontraron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los tiempos antes y después del entrenamiento excéntrico en cada uno de los tratamientos placebo y HMB para: CK, urea, y proteínas totales. No obstante, se encontraron diferencias significativas en la concentración de ácido úrico entre los tratamientos placebo y HMB inmediatamente después del entrenamiento excéntrico ($U = 3,0$; $p = 0,006$) y a las 24h ($U = 5,0$; $p = 0,011$); tanto en tiempo Post-Contrex y Post-Contrex 24 hrs se mostró un incremento en ácido úrico comparado con el placebo (Tabla 6).

No se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los distintos tiempos antes y después del entrenamiento excéntrico en cada uno de los tratamientos placebo y HMB.

Los resultados de los marcadores metabólicos y perfil lipídico antes y después de ejercicio excéntrico los muestra la Tabla 7. No se encontraron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos para cada uno de los tiempos en glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL, y LDL. Tampoco fueron detectados cambios significativos ($p > 0,05$) en los distintos tiempos antes y después del entrenamiento excéntrico en ambos tratamientos.

Tabla 7. Resultado de marcadores metabólicos y perfil lipídico antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs

PARÁMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Glucosa (mg/dL)	Pre-Contrex	95,8 (82,7 a 110,7)	95,4 (84,6 a 99,3)
	Post-Contrex	101,1 (81,3 a 106,3)	109,5 (91,4 a 110,2)
	Post-Contrex 24 hrs	86,8 (80,4 a 100,8)	93,8 (84,5 a 106,2)
	Post-Contrex 48 hrs	82,4 (79,2 a 96,7)	86,6 (80,6 a 101,7)
	Post-Contrex 72 hrs	103,7 (90,8 a 109,0)	92,4 (73,4 a 104,2)
Triglicéridos (mg/dL)	Pre-Contrex	107,0 (84,1 a 236,4)	103,5 (97,4 a 191,1)
	Post-Contrex	126,4 (105,2 a 229,5)	136,6 (97,0 a 192,9)
	Post-Contrex 24 hrs	77,1 (42,9 a 223,8)	124,7 (83,6 a 157,0)
	Post-Contrex 48 hrs	64,1 (55,3 a 160,3)	114,1 (62,6 a 139,7)
	Post-Contrex 72 hrs	139,4 (67,0 a 193,7)	95,0 (76,7 a 114,8)
Colesterol total (mg/dL)	Pre-Contrex	216,5 (172,3 a 229,3)	233,0 (198,0 a 258,5)
	Post-Contrex	181,0 (160,5 a 212,0)	187,0 (178,0 a 247,5)
	Post-Contrex 24 hrs	182,5 (172,5 a 206,3)	211,0 (178,5 a 241,5)
	Post-Contrex 48 hrs	205,0 (191,5 a 210,8)	238,0 (193,5 a 279,0)
	Post-Contrex 72 hrs	201,5 (123,3 a 215,5)	216,0 (202,5 a 234,0)
HDL (mg/dL)	Pre-Contrex	42,0 (35,3 a 53,3)	59,8 (48,3 a 63,6)
	Post-Contrex	48,9 (45,8 a 67,7)	53,0 (38,8 a 58,0)
	Post-Contrex 24 hrs	51,7 (46,2 a 57,8)	54,4 (46,5 a 57,9)
	Post-Contrex 48 hrs	44,2 (39,0 a 64,3)	50,3 (44,5 a 57,9)
	Post-Contrex 72 hrs	46,6 (34,9 a 56,8)	51,7 (44,3 a 60,8)
LDL (mg/dL)	Pre-Contrex	95,7 (63,5 a 156,3)	101,6 (86,0 a 134,6)
	Post-Contrex	83,9 (68,1 a 115,6)	91,4 (66,9 a 127,2)
	Post-Contrex 24 hrs	79,8 (65,1 a 157,2)	142,0 (84,6 a 174,9)
	Post-Contrex 48 hrs	88,6 (61,2 a 165,4)	148,8 (88,6 a 222,4)
	Post-Contrex 72 hrs	80,9 (70,2 a 138,4)	118,1 (87,8 a 147,1)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]); HDL = Lipoproteína de alta densidad, LDL = Lipoproteína de baja densidad, U/L = unidades / litro, mmol/L = milimoles/litro, mg/dL = miligramos/decilitro, g/dL = gramos/decilitro

4.3.2. Estrés Oxidativo

Los resultados de estrés oxidativo antes y después de la sesión de inducción de daño muscular los muestra la Tabla 8.

Tabla 8. Resultado de marcadores de estrés oxidativo antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs

PARAMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
TBARS (μ M/L de MDA)	Pre-Contrex	11,4 (7,0 a 13,9)	12,1 (8,1 a 17,5)
	Post-Contrex	12,3 (9,6 a 15,5)	19,8 (11,2 a 25,8)
	Post-Contrex 24 hrs	9,8 (8,0 a 11,6)	11,9 (9,6 a 15,7)
	Post-Contrex 48 hrs	9,9 (8,6 a 11,3)	11,8 (9,5 a 15,5)
	Post-Contrex 72 hrs	9,7 (6,3 a 13,6)	10,0 (10,0 a 14,7)
TAS (mmol/L)	Pre-Contrex	1,6 (1,1 a 2,2)	2,0 (1,7 a 2,1)
	Post-Contrex	1,6 (1,5 a 1,8)	2,0 (1,9 a 2,2) *
	Post-Contrex 24 hrs	1,7 (1,1 a 2,0)	1,9 (1,7 a 2,2)
	Post-Contrex 48 hrs	1,6 (1,2 a 2,1)	2,1 (1,9 a 2,3)
	Post-Contrex 72 hrs	1,6 (1,5 a 2,4)	1,9 (1,9 a 2,3)
GPX (U/g Hb)	Pre-Contrex	37,0 (25,2 a 55,9)	43,1 (20,8 a 63,7)
	Post-Contrex	37,3 (26,5 a 52,5)	65,0 (27,9 a 78,4) †
	Post-Contrex 24 hrs	21,5 (7,6 a 59,9)	69,0 (34,5 a 98,7) †
	Post-Contrex 48 hrs	45,4 (17,2 a 97,2)	90,1 (59,3 a 109,4) †
	Post-Contrex 72 hrs	49,8 (12,8 a 82,0)	77,8 (50,5 a 98,4) †
SOD (U / g Hb)	Pre-Contrex	2254,5 (622,5 a 2822,8)	1012,0 (840,5 a 2682,5) ‡
	Post-Contrex	1841,5 (825,0 a 3203,5)	1334,0 (1151,5 a 2656,5)
	Post-Contrex 24 hrs	959,5 (722,8 a 2062,3)	1057,0 (881,0 a 2543,0) ‡
	Post-Contrex 48 hrs	1065,5 (827,3 a 3380,5)	1337,0 (916,5 a 1930,5) ‡
	Post-Contrex 72 hrs	1136,5 (827,0 a 2412,5)	1026,0 (794,0 a 1665,0) ‡
CAT (U / g Hb)	Pre-Contrex	266,4 (177,5 a 285,5)	243,7 (214,1 a 378,1)
	Post-Contrex	265,8 (213,8 a 365,3)	279,3 (251,5 a 332,2)
	Post-Contrex 24 hrs	267,0 (192,3 a 435,9)	214,0 (186,2 a 338,2)
	Post-Contrex 48 hrs	288,8 (186,0 a 406,7)	213,3 (180,2 a 391,4)
	Post-Contrex 72 hrs	285,2 (216,9 a 434,6)	212,1 (177,1 a 321,8)

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartílico [percentiles 25 a 75]); *Diferencias significativas ($p < 0.05$) versus placebo; †Diferencias significativas ($p < 0.05$) versus antes; ‡ Diferencias significativas ($p < 0.05$) versus después; TAS = antioxidantes totales; TBARS = Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; GPX = Glutación peroxidasa; SOD = Superóxido dismutasa; CAT = Catalasa. mmol/L = milimol/litro, μ M/L de MDA = micromoles/litro de Malondialdehído, U/g Hb = Unidades por gramo de hemoglobina

Se observaron diferencias significativas en el tratamiento HMB entre los tiempos anterior al entrenamiento excéntrico y el resto de los tiempos para GPX ($\chi^2 = 13.422$; $p = 0.009$) y SOD ($\chi^2 = 11.111$; $p = 0.025$) (Fig. 15); sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en el grupo placebo.

Como se muestra en la Tabla 8, en el tratamiento HMB se observó para la enzima GPX un incremento en los tiempos Post-Contrex (0, 24, 48, y 72 hrs) comparado con el tiempo Pre-Contrex. Además, para la concentración de GPX se observaron diferencias significativas entre el tiempo Post-Contrex y los tiempos Pre-Contrex y Post-Contrex (24, 48, y 72 hrs) No se observaron cambios significativos ($p < 0.05$) entre antes y los diferentes tiempos posteriores al entrenamiento excéntrico para ambos tratamientos placebo y HMB en TBARS, TAS y CAT (Tabla 8).

Se observaron diferencias significativas ($U = 7,5$; $p = 0,021$) entre los tratamientos placebo y HMB después del entrenamiento excéntrico en TAS para el tiempo post-Contrex (Tabla 8); se observó una mayor concentración de la enzima TAS en tratamiento HMB comparado con el placebo (Tabla 8). No se observaron diferencias entre los tratamientos en los demás tiempos (Tabla 8).

4.3.3. Percepción de dolor

Los resultados de percepción de dolor los muestra la Tabla 9.

Tabla 9. Resultado de percepción de dolor muscular antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs

PARAMETRO	TIEMPO	TRATAMIENTO	
		Placebo (n = 6)	HMB (n = 9)
Percepción de dolor muscular (cm)	Pre-Contrex	0.1 (0.0 a 0.2) ‡	0.1 (0.0 a 0.5) ‡
	Post-Contrex	1.1 (0.6 a 1.7) †‡	1.2 (0.6 a 1.5) †‡
	Post-Contrex 24 hrs	3.1 (0.5 a 5.0) †‡	1.4 (0.8 a 3.3) †‡
	Post-Contrex 48 hrs	1.9 (0.4 a 2.6) †‡	1.0 (0.2 a 2.9) †‡
	Post-Contrex 72 hrs	0.7 (0.2 a 0.9) †	0.3 (0.0 a 1.2) †

Los datos se muestran como mediana (rango intercuartilico [percentiles 25 a 75]). †Diferencias significativas ($p < 0.05$) versus Pre-Contrex; ‡Diferencias significativas ($p < 0.05$) versus tiempo Post-Contrex 72 hrs cm = centímetros.

Se observaron diferencias significativas entre antes y los diferentes tiempos (0, 24, 48, y 72 hrs) después del entrenamiento excéntrico para ambos tratamientos placebo ($\chi^2 = 18.655$; $p = 0.001$) y HMB ($\chi^2 = 17.975$; $p = 0.001$) (Tabla 9).

Para ambos tratamientos, se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el tiempo Pre-Contrex y los tiempos Post-Contrex (0, 24, 48, y 72 hrs); también, se observaron diferencias para el tiempo Post-Contrex 72 hrs y los tiempos Post-Contrex y Post-Contrex (24, 48, y 72 hrs) como se muestra en la Fig. 17.

No se detectaron diferencias entre los tratamientos placebo y HMB en ninguno de los tiempos antes o después del ejercicio excéntrico.

5. DISCUSIÓN

5.1. La muestra

El presente trabajo tuvo como objetivo principal comparar los cambios de la composición corporal y de los indicadores de daño muscular en dos grupos de jóvenes físicamente activos; uno, bajo la suplementación de 3 g / día de HMB y, otro, bajo la administración de un placebo durante un período de seis semanas y posterior a una sesión de entrenamiento excéntrico.

Al principio del estudio (ver Fig. 10) se tenía una muestra de 20 sujetos ($n = 10$ para cada grupo, placebo o HMB), la cual satisface el criterio sugerido (entre 10 y 300 sujetos por grupo) para ensayos controlados utilizados en deporte (Batterham and Hopkins, 2005). Sin embargo, como se mencionó es el apartado 4.1 del capítulo de resultados, al final del estudio se perdieron cinco sujetos (cuatro del grupo placebo y uno del grupo de HMB) durante el desarrollo del estudio. Así, la muestra final, de cada grupo, fue de seis sujetos en el grupo placebo y nueve sujetos para el grupo de HMB. Esta muestra final, con menos de 10 sujetos en cada grupo, puede ser considerada baja. No obstante, en estudios con deportistas sobre suplementación de HMB y daño muscular el tamaño de muestra es similar. Por ejemplo, un estudio (Knitter et al., 2000) realizado con corredores de fondo que incluyó tanto hombres como mujeres utilizó cinco sujetos para el grupo placebo (tres hombres y dos mujeres) y ocho sujetos para el grupo HMB (tres hombres y cinco mujeres). También, en otro estudio (Wilson et al., 2009) donde participaron hombres jóvenes, sin experiencia previa en el entrenamiento de resistencia muscular, la muestra consistió de 16 sujetos (ocho sujetos para los grupos placebo y HMB, respectivamente). De igual forma, en el estudio realizado por Nunan et al. (2010) fueron utilizados siete sujetos en el grupo placebo y otros siete sujetos en el grupo experimental (HMB + CIC), todos ellos hombres jóvenes físicamente activos. Así, los estudios mencionados (Knitter et al., 2000, Wilson et al., 2009, Nunan et al., 2010) y otros (van Someren et al., 2005, Jowko et al., 2001, Slater et al., 2001, Hoffman et al., 2004, Nunan et al., 2010, Wilson et al., 2013b, Wilson et al., 2014) sugieren que la mayoría de los estudios realizados sobre suplementación de HMB y daño muscular han utilizado muestras con 10 o menos sujetos por grupo.

En este estudio, una de las principales razones por las que tuvimos un número limitado de sujetos fue la falta de voluntarios debido a la toma de muestras de sangre. Como se mencionó antes, los estudios sobre suplementación de HMB y daño muscular presentan pocos sujetos y todos estos estudios toman muestras de sangre, lo cual podría indicar una relación entre el número de sujetos incluidos en los estudios y la toma de muestras de sangre. Si se analizan detenidamente los resultados reportados por tres recientes artículos de revisión (Molfino et al., 2013, Albert et al., 2015, Holecek, 2017) sobre el tema, puede notarse que la mayoría de los estudios que incluyen determinación de metabolitos relacionados a daño muscular en sangre presentan un número menor de sujetos en comparación con aquellos que no lo hacen. Por ejemplo, si se examinan los estudios reportados en las Tablas 1, 2, y 3 de la revisión realizada por Albert et ál. (2015), podemos ver que los estudios que no reportan parámetros bioquímicos en sangre presentan mayor cantidad de sujetos (aproximadamente 20 o más sujetos); este mismo comportamiento lo podemos observar en los estudios de la Tabla 1 de la revisión Molfino et ál. (2013). En el presente trabajo, la principal razón de rechazo a participar fue que incluyo varias tomas de muestra de sangre; lo anterior, quedo manifestado cuando uno de los sujetos asignados al grupo placebo, no se presentó a la segunda parte de la investigación, la cual presento el mayor número de tomas de muestra (Fig. 10); y el rechazo a participar en el estudio de los probables voluntarios cuando se les informaba que este incluía varias tomas de muestra de sangre.

Otra razón del número limitado de participantes en este estudio fueron los costos derivados de las pruebas de valoración de daño muscular y composición corporal; estas pruebas abarcaron cerca del 70% de presupuesto total de la investigación. Si tomamos como ejemplo la determinación de composición corporal; encontramos 22 artículos publicados que examinan la composición corporal por seis diferentes métodos: (1) Análisis de impedancia bioeléctrica [BIA] (Jowko et al., 2001, Thomson et al., 2009, Hung et al., 2010, Kruszewski, 2011, Durkalec-Michalski and Jeszka, 2015, Durkalec-Michalski and Jeszka, 2016, Durkalec-Michalski et al., 2017); (2) absorción de rayos X de emisión abierta de

energía dual [DEXA] (Kreider et al., 1999, Slater et al., 2001, Lambolley et al., 2007, Kraemer et al., 2009, Wilson et al., 2013b, Robinson et al., 2014, Wilson et al., 2014, Lowery et al., 2016); (3) pesaje hidrostático o pesaje bajo el agua (Panton et al., 2000); (4) medición de pliegues cutáneos (Gallagher et al., 2000a, Panton et al., 2000, Ransone et al., 2003, O'Connor and Crowe, 2007, Thomson et al., 2009, Wilson et al., 2009, Portal et al., 2011, Robinson et al., 2014); (5) Conductividad eléctrica de cuerpo total [TOBEC] (Nissen et al., 1996); y (6) Pletismografía (Portal et al., 2011). De estos seis métodos los más caros son DEXA, pesaje hidrostático, pletismografía y TOBEC, de los cuales el más usado es DEXA en ocho artículos, y el resto solo en un artículo cada uno; mientras que los métodos más baratos, BIA y pliegues cutáneos, son más usados y son reportados en 7 y 8 artículos, respectivamente. Así, comparando el número máximo de participantes reportados en estudios que utilizaron DEXA es de 40 sujetos (Kreider et al., 1999), mientras que los estudios utilizando BIA reportan 69 sujetos (Kruszewski, 2011) y pliegues cutáneos 75 sujetos (Panton et al., 2000); lo que sugiere que el costo de la prueba afecta el número de participantes en los estudios.

Finalmente, a manera de disminuir el impacto del tamaño de muestra como una debilidad de nuestro estudio, se procedió a utilizar estadística no paramétrica; la cual es menos afectada por valores extremos y es la más adecuada para comparar grupos muestrales menores a 10 sujetos (Hopkins et al., 2009). Por otra parte, al final del periodo de suplementación, no fueron reportados problemas gastrointestinales, calambres musculares o cualquier otro efecto secundario por los participantes del estudio; además, ninguno de los sujetos presentó valores anormales en la química sanguínea o en la biometría hemática; lo anterior concuerda la inocuidad del suplemento previamente reportado por diversas investigaciones (Nissen et al., 1996, Kreider et al., 1999, Gallagher et al., 2000b, Nissen et al., 2000, Vukovich et al., 2001).

5.2. Evaluaciones antes y después de 6 semanas de suplementación de HMB

5.2.1. Composición Corporal

La Figura 11 muestra los resultados de composición en porcentaje de cambio como medianas y rango intercuartil; en ella podemos apreciar que para ambos tratamientos (placebo y HMB) los cambios no superaron el rango de $\pm 3\%$ para la masa corporal, la masa magra libre de grasa y la cantidad mineral ósea; en cambio, para la masa grasa en rango fue mayor (entre el 8 y -13%). No obstante, ninguno de los cambios fue significativo como se mencionó anteriormente.

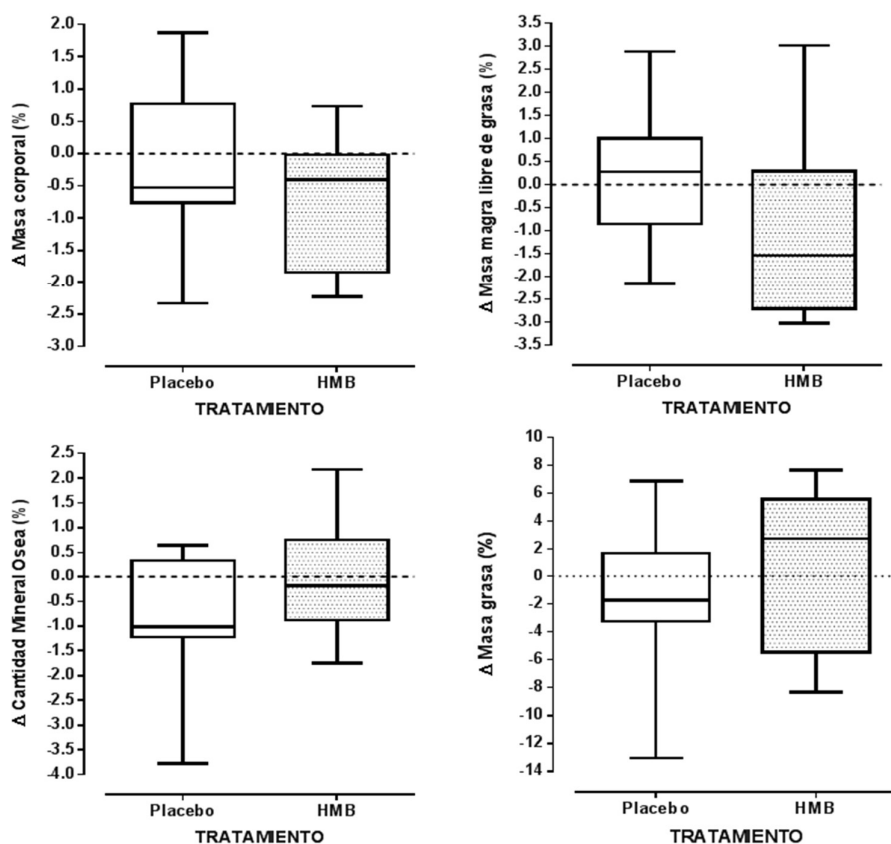


Figura 11. Resultados de composición corporal expresados en porcentaje de cambio

En este estudio, después un periodo de 6 semanas de suplementación de 3 g / día de HMB, no se reportaron cambios en la composición corporal (Tabla 1, Capítulo 4: Resultados); lo anterior concuerda con estudios previos que han utilizado una suplementación 3 o 6 g de HMB durante 4 a 6 semanas en: (1) jugadores de futbol americano (Kreider et al., 1999, Slater et al., 2001, Ransone et al., 2003, Hoffman et al., 2004); (2) jugadores de wáter polo y practicantes de remo (Slater et al., 2001); (3) jugadores de rugby (O'Connor and Crowe, 2007); (4) estudiantes universitarios (Nissen, 2007, Wilson et al., 2009); (5) personas físicamente activas con experiencia en entrenamiento de resistencia (Thomson et al., 2009, Wilson et al., 2013b), o (6) entrenamiento de alta intensidad con intervalos (HIIT) (Robinson et al., 2014). En contraste, otros estudios si han reportado cambios en composición corporal como: (1) incremento en la masa magra en personas no entrenadas bajo entrenamiento de resistencia (Nissen et al., 1996, Gallagher et al., 2000a, Panton et al., 2000, Jowko et al., 2001), o personas entrenadas bajo entrenamiento de resistencia (Kruszewski, 2011, Wilson et al., 2014, Durkalec-Michalski and Jeszka, 2016, Lowery et al., 2016); y (2) disminución de la masa grasa o el porcentaje de grasa corporal (Hung et al., 2010, Portal et al., 2011, Wilson et al., 2014, Durkalec-Michalski and Jeszka, 2015, Durkalec-Michalski and Jeszka, 2016, Lowery et al., 2016). Esta aparente diferencia en los resultados pueden deberse principalmente a dos razones, el método utilizado para evaluar la composición corporal y el tipo de entrenamiento utilizado.

Un punto a resaltar, es que en los estudios que reportan cambios en la masa magra o en disminución del porcentaje de grasa, predomina el uso de la suplementación de HMB junto a entrenamiento de fuerza; en nuestro caso, los sujetos pertenecían a los equipos de vóleibol y baloncesto de la universidad, lo cual explicaría en parte la ausencia de cambios, este último argumento se apoya en el hecho que en los estudios (Ransone et al., 2003, Hoffman et al., 2004) realizados en jugadores de futbol americano que no estaban realizando entrenamiento específico de fuerza o resistencia muscular no se observaron modificaciones en la composición corporal; por tanto, los cambios en la composición corporal inducidos

por la suplementación de HMB (3 g / día) pueden estar relacionados con el tipo de deporte que se practica durante la misma.

5.2.2. Biometría Hemática

El papel de los neutrófilos, linfocitos y monocitos es ayudar al proceso de digestión del tejido necrótico resultante del daño muscular en la respuesta inflamatoria aguda (Clarkson and Hubal, 2002, Peake et al., 2005); por tanto, un aumento en estas células inflamatorias es un indicativo de daño muscular.

Para esta investigación, uno de los objetivos de la biometría hemática fueron asegurarnos de que los participantes cumplieran con los criterios de selección de la población en especial aquellos ligados a enfermedades infecciosas (importantes en los criterios de exclusión y eliminación), la ausencia de diferencias en la biometría hemática entre los grupos de tratamiento (placebo y HMB) y los tiempos (antes y después de periodo de suplementación) es un indicativo que esto se cumplió.

Independiente a lo anterior, no se encontró un efecto de la suplementación de 6 g de HMB al día durante 6 semanas sobre los parámetros de la biometría hemática como se ha reportado previamente para el HMB (Crowe et al., 2003, Gallagher et al., 2000b) y otros suplementos (Robinson et al., 2000), lo cual es un indicativo de la seguridad de su uso como suplemento alimenticio y deportivo,

Finalmente, la determinación de la biometría hemática durante las pruebas posteriores a la inducción de daño muscular puede ser interesante para valorar el daño muscular en posteriores investigaciones.

5.2.3. Química Sanguínea

5.2.3.1. Marcadores relacionados con daño muscular.

No se encontraron diferencias significativas en CK, urea, ácido y proteínas después de 6 semanas de suplementación de 6 g de HMB al día (Fig. 12).

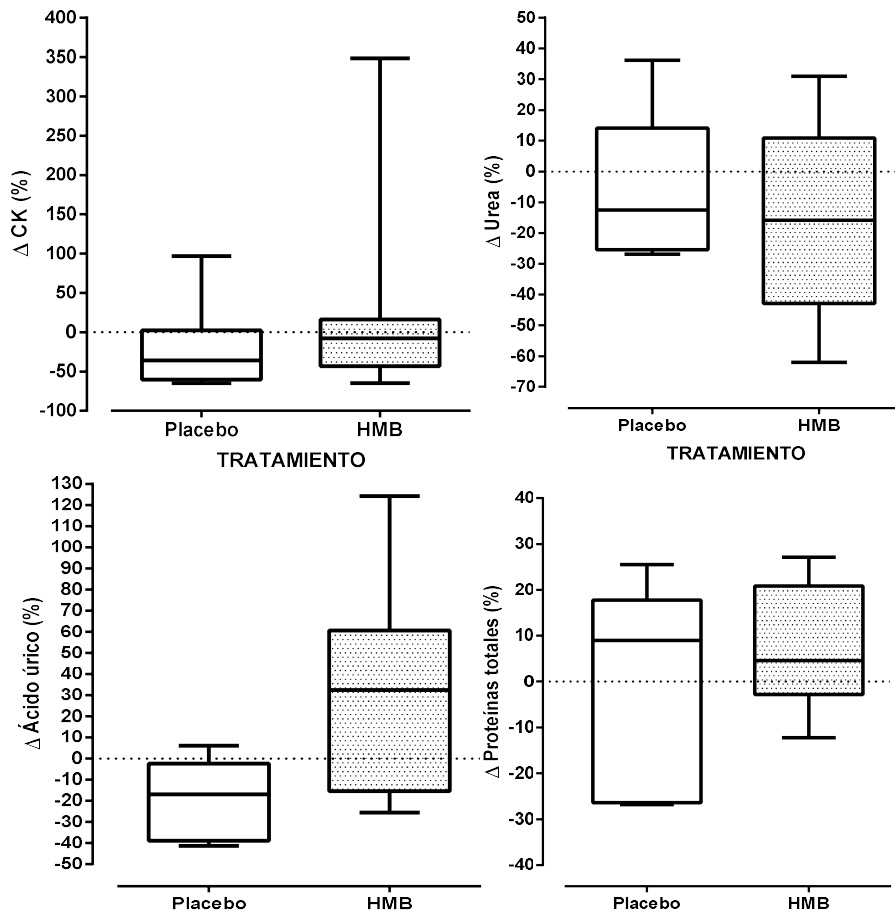


Figura 12. Resultados de marcadores de daño muscular expresados en porcentaje de cambio

Como se mencionó anteriormente enzima creatina quinasa (CK) es el principal indicador de daño muscular (Clarkson and Hubal, 2002, Warren and Palubinskas, 2008) después de inducción de daño muscular; sin embargo, durante el periodo de suplementación de HMB los sujetos entrenaron normalmente y por ende no hubo un estímulo que generara el aumento en los niveles de CK. Lo anterior concuerda con estudios que no han utilizado entrenamiento de fuerza (Hoffman et al., 2004, Nissen et al., 2000).

En nuestro conocimiento, el ácido úrico y las proteínas solo han sido reportados como marcadores de química sanguínea asociados a la suplementación con HMB en un solo estudio (Nissen et al., 2000); en dicho estudio, Nissen et al., no reportan cambios en estos dos marcadores después de la suplementación con HMB. Por otra parte, la urea ha sido evaluada en varias investigaciones que utilizan suplementación de HMB, en tres de ellas (Nissen et al., 2000, Gallagher et al., 2000b, Crowe et al., 2003) no se reportan cambios después de la suplementación con HMB y únicamente una si reporta cambios (Jowko et al., 2001). Por tanto, el papel de la suplementación de HMB sobre estos marcadores es aún poco conocido.

5.2.3.2. Marcadores metabólicos y perfil lipídico

La Figura 13 muestra los resultados de perfil lipídico (% Δ). No se encontraron diferencias en glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL, y LDL, lo cual concuerda con un estudio (Gallagher et al., 2000b) que compararon los efectos de la suplementación de ~3 y ~6 g de HMB al día, durante 8 semanas, no encontraron cambios en: glucosa, urea y perfil lipídico (triglicéridos, lípidos de alta densidad (HDL), lípidos de baja densidad (LDL), lípidos de muy baja densidad (VLDL) y colesterol total).

Además, en otro estudio (Nissen et al., 2000) donde se analizó la seguridad de la suplementación de HMB de las nueve investigaciones en las que se utilizó una dosis de 3 g / día, durante 3 a 8 semanas, en distintas poblaciones (jóvenes y adultos, hombres y mujeres, entrenados y no entrenados), y en la que tampoco se observaron cambios significativos en la concentración sanguínea de glucosa, ácido úrico, urea de los sujetos. Por tanto, la suplementación de 3 g de HMB / día por seis semanas no genera cambios en marcadores metabólicos o perfil lipídico.

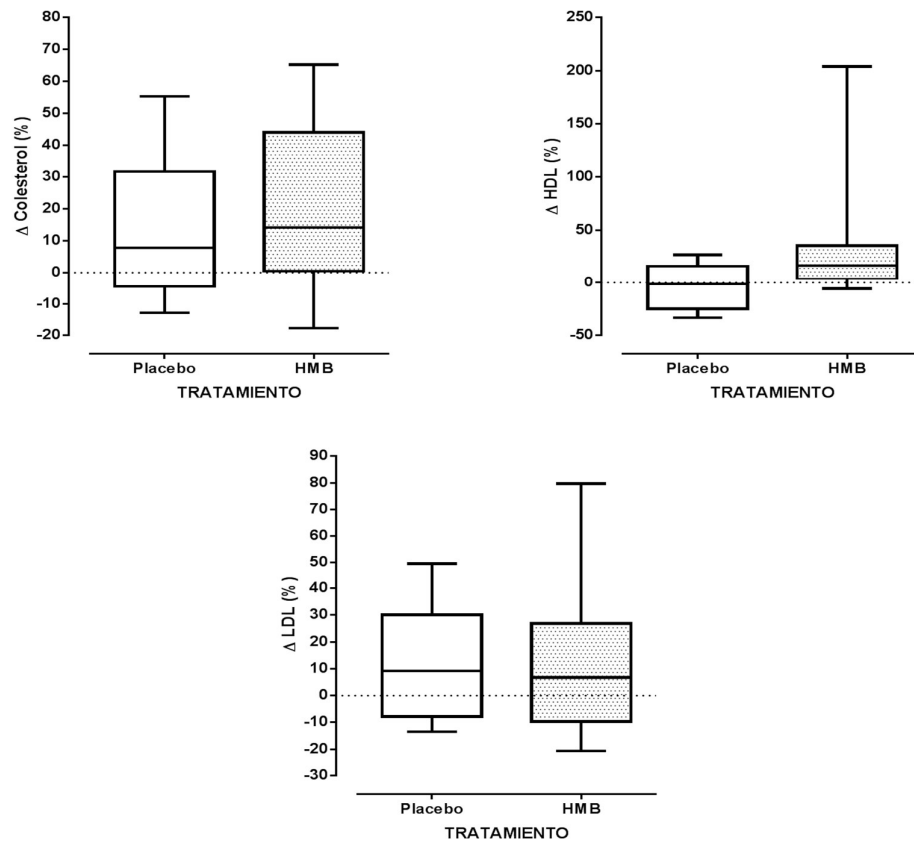


Figura 13. Resultados de marcadores de perfil lipídico expresados en porcentaje de cambio

5.3. Evaluaciones antes y después del entrenamiento excéntrico

5.3.1. Química Sanguínea

5.3.1.1. Marcadores relacionados con daño muscular.

En el presente trabajo no se encontraron cambios en CK después del entrenamiento excéntrico (Tabla 6). Varios estudios que han utilizado suplementación de HMB reportan una disminución en la concentración CK después de entrenamiento de distintos tipos de entrenamiento en distintas modalidades de deporte como son carreras de resistencia (Knitter et al., 2000); entrenamiento con pesas (Nissen et al., 1996, Jowko et al., 2001, van Someren et al., 2005); sin embargo, en estudios que utilizan ejercicio excéntrico para la inducción de daño muscular (Wilson et al., 2009, Nunan et al., 2010) no han mostrado disminución de la CK. Nunan et al. (2010), reportan resultados similares en el aumento CK a las 24 hrs posteriores a ejercicio excéntrico sin diferencia entre el grupo placebo y HMB; además, Wilson et al. (2009) reportan un pico de CK a las 48 hrs, sin diferencias entre los tratamientos. Estos resultados muestran que existen diferencias entre los reportados por los autores para los efectos del HMB sobre la CK. Sin embargo, de acuerdo con nuestros resultados la suplementación 3 g/día de HMB al día durante 6 semanas genera cambios en la concentración de CK después de una sesión de ejercicio excéntrico.

De igual forma, después del entrenamiento excéntrico no se observaron diferencias en proteína total y en la urea en los tratamientos placebo o HMB. Nissen et al. (2002) no reportan cambios en proteína total o urea después de la suplementación con HMB; también, otros estudios (Nissen et al., 2000, Gallagher et al., 2000b, Kreider et al., 1999, Crowe et al., 2003) no reportan cambios en urea.

Finalmente, nuestros resultados mostraron un incremento en la concentración de ácido úrico inmediatamente después y a las 24 hrs de haber realizado el entrenamiento excéntrico (Fig. 14).

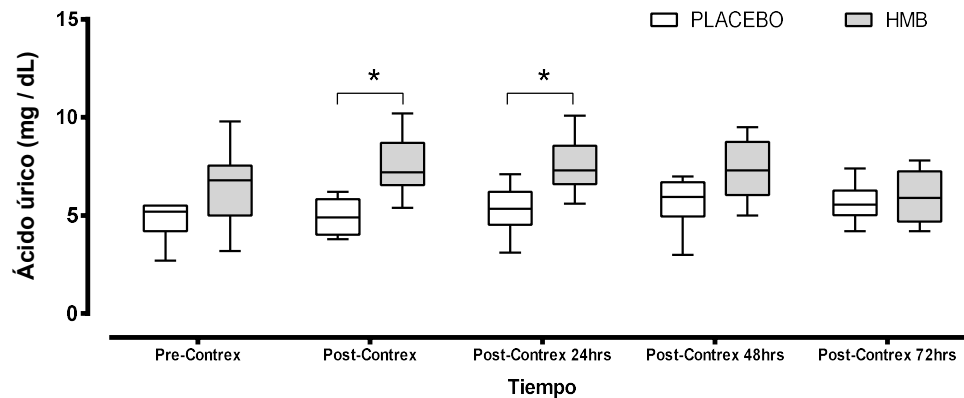


Figura 14. Resultados de ácido úrico antes y después del entrenamiento excéntrico.

El ácido úrico ha sido reportado como un importante antioxidante en salud (Glantzounis et al., 2005, Kang and Ha, 2014) y en ejercicio (Waring et al., 2003); sin embargo, dos estudios (Kreider et al., 1999, Nissen et al., 2000) no reportan cambios en el ácido úrico después de la suplementación con HMB; ambos estudios no utilizaron ejercicio excéntrico. Por otra parte, en un estudio (Maxwell et al., 1993) que investiga los efectos de la suplementación con vitaminas antioxidantes (C y E) sobre los antioxidantes en plasma durante entrenamiento excéntrico, los autores reportaron un incremento en ácido úrico y TAS después de una hora de ejercicio excéntrico (box-stepping) en ambos grupos que consumieron la suplementación con vitamina C o E. Además, se ha sugerido que la concentración de ácido úrico en plasma puede influir en el TAS (Nikolaidis et al., 2008, Waring et al., 2003). Por tanto, el aumento en la concentración de ácido úrico en el grupo HMB podría sugerir un incremento en la capacidad antioxidante después del ejercicio excéntrico.

5.3.1.2. Marcadores metabólicos y perfil lipídico

En el presente estudio no se encontraron cambios en glucosa, triglicéridos, colesterol total, HDL, y LDL después la suplementación con HMB; la ausencia de cambios en estos parámetros sanguíneos después de suplementación con HMB es

similar a los reportados previamente por otros estudios (Nissen et al., 2000, Gallagher et al., 2000b, Kreider et al., 1999, Crowe et al., 2003)

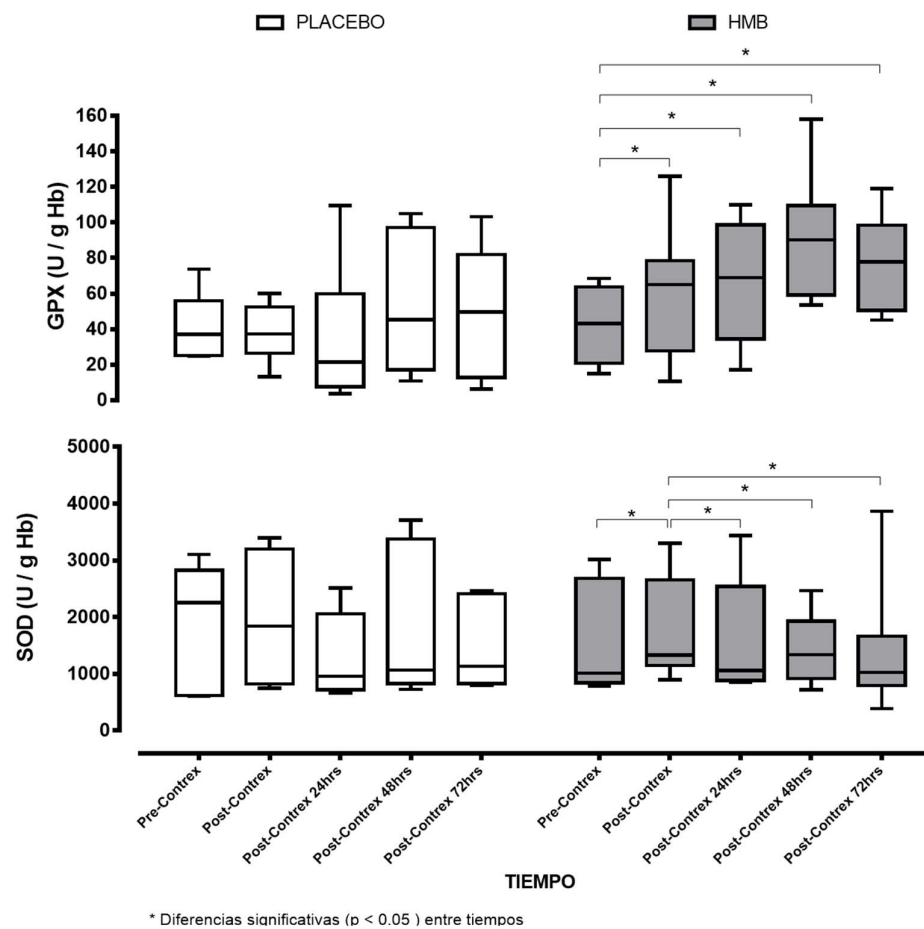
Nissen et al. (1996), en estudio multicéntrico, muestra que después de 6-8 semanas de una suplementación de 3 g / día de HMB se observó un incremento del 5,8% ($p < 0,03$) en colesterol total y del 7,3% ($p < 0,01$) en el colesterol de baja densidad (LDL, por sus siglas en inglés) con respecto al basal en los sujetos. También, en un estudio realizado en personas mayores (50-72 años) con hiperlipidemia ($> 4,5$ de correlación de colesterol y HDL-c) que fueron suplementados con 3g / día de HMB y un programa de entrenamiento (3 días a la semana ejercicio aeróbico y 2 días entrenamiento de resistencia) durante cuatro semanas redujeron su LDL de $172 \pm 11,7$ a $123 \pm 9,1$ mg / dL ($p = 0,01$) mientras que los que solo ingirieron un placebo no muestran diferencias significativas. En ambos estudios los autores no ofrecen una explicación a dichos hallazgos.

Por otra parte, en otro estudio (Wilson et al., 2008) mencionan que la reducción en el LDL causada por el HMB puede estar relacionada a que este suplemento se comercializa como una sal de calcio (Ca) que contiene de 100-200 mg de Ca por gramo de HMB; y por tanto, se entiende que al suplementar 1 g de Ca disminuyen los niveles de colesterol en suero a través del aumento de la síntesis de ácidos biliares. Finalmente, no está claro el papel del HMB sobre perfil lipídico.

5.3.2. Indicadores de estrés oxidativo

El principal hallazgo de este estudio es la presencia de diferencias significativas en TAS, ácido úrico, GPX, y SOD en el tratamiento HMB después de la sesión de ejercicio excéntrico (Fig. 14,15 y 16). En una reciente revisión Arazi et al. (2018) sugieren que la suplementación con HMB podría disminuir el estrés oxidativo causado por el ejercicio (Arazi et al., 2018b); además, otros estudios tanto en animales como en in vitro han mostrado propiedades antioxidantes para el HMB (Eley et al., 2008, Hao et al., 2011, Russell and Tisdale, 2009). Sin embargo, en nuestro conocimiento, existen solo dos estudios que investigan los efectos de la

suplementación con HMB sobre marcadores de estrés oxidativo de sujetos bajo entrenamiento de resistencia con pesas (Arazi et al., 2018a) y ejercicio pliométrico (Arazi et al., 2019). En el primer estudio, los autores no encontraron cambios en los marcadores en suero de estrés oxidativo (8-hidroxi-2-deoxiguanosina, malondialdehído, y proteínas carboniladas) después de seis semanas de suplementación con HMB (3 g/día) usando un protocolo de entrenamiento de resistencia. Estos resultados son similares a nuestros datos en TBARS y CAT, las cuales no incrementaron después del entrenamiento excéntrico.



* Diferencias significativas ($p < 0.05$) entre tiempos
 Figura 15. Diferencia entre los tratamientos placebo y HMB para actividad de las enzimas glutatión peroxidasa (GPX) y superóxido dismutasa (SOD) antes y después de 0, 24, 48, y 72 hrs de una sesión de entrenamiento excéntrico.

Los antioxidantes totales (TAS) representan la habilidad del suero o plasma para neutralizar las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (RONS, por sus siglas en inglés) y esto es influenciado por la concentración de ácido úrico (Nikolaidis et al., 2008, Waring et al., 2003); de este último, se ha sugerido que es un importante antioxidante sanguíneo tanto en salud (Glantzounis et al., 2005, Powers et al., 2011, Kang and Ha, 2014) como en ejercicio (Waring et al., 2003) como previamente se ha mencionado. Nuestros resultados indican un incremento en TAS para el tratamiento de HMB inmediatamente después de la sesión de entrenamiento excéntrico; y también, un incremento en el ácido úrico inmediatamente posterior y a las 24hrs después del ejercicio excéntrico. Además, se observó, en el grupo que ingirió de HMB, un incremento en la GPX posterior al entrenamiento excéntrico y 24, 48, y 72 hrs después junto con incremento en la SOD inmediatamente posterior al entrenamiento excéntrico. Lo cual sugiere un incremento de la capacidad antioxidante resultado de la suplementación con HMB.

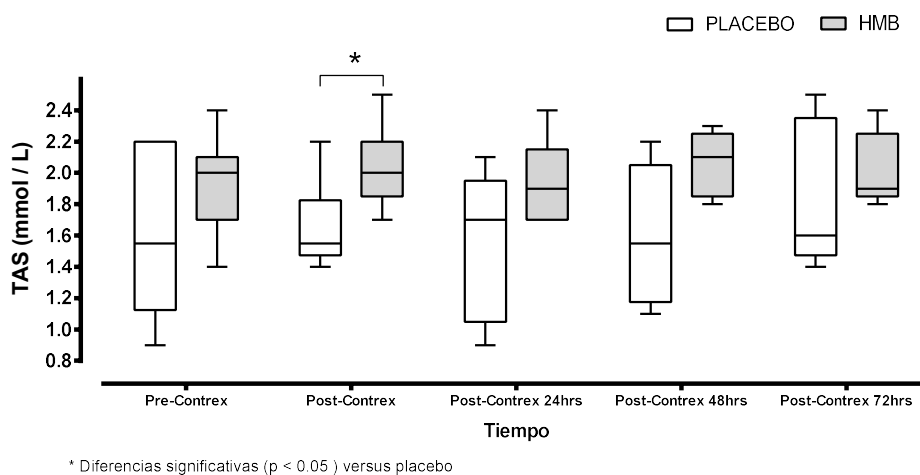


Figura 16. Resultados de TAS antes y después del entrenamiento excéntrico.

La ausencia de cambios en la CAT posterior al entrenamiento excéntrico tanto en el HMB como en placebo puede ser explicada por el hecho que la GPX y SOD están localizadas dentro de la mitocondria, la cual es el principal sitio de formación de RONS durante el ejercicio (Powers et al., 2011, He et al., 2016, Niess, 2005) lo cual hace su incremento más probable después de la sesión del entrenamiento excéntrico provocando así una menor respuesta oxidativa, lo cual a su vez disminuye el incremento en la producción de la catalasa, como se observó en el tratamiento con HMB (Fig. 15).

En nuestro conocimiento, este es el primer estudio que muestra un incremento de los antioxidantes (TAS, ácido úrico, GPX, y SOD) posterior a una sesión de ejercicio excéntrico en sujetos bajo la Suplementación de HMB. Nuestros resultados son similares a estudios previos que investigaron los efectos de la suplementación con vitamina antioxidantes (C y E) sobre el estado antioxidante plasma durante el ejercicio excéntrico (Maxwell et al., 1993); los autores reportaron un incremento en TAS y ácido úrico una hora posterior al ejercicio excéntrico (box-stepping) en dos grupos uno que tomaba vitamina C y otro que tomaba vitamina E. Además, Arazi et al. (2019) han reportado recientemente que la suplementación con HMB (1 g de gel de HMB libre de ácido ingerido 30 minutos antes del ejercicio) atenuó el estrés oxidativo provocado por ejercicio pliométrico (Arazi et al., 2019). Por tanto, tomando en cuenta lo anterior, nuestros resultados sugieren que 6 semanas de suplementación con HMB mejoran las defensas antioxidantes después de una sesión de entrenamiento excéntrico y creemos que es necesaria mayor investigación sobre el efecto de la suplementación de HMB sobre el estrés oxidativo.

5.3.3. Percepción de dolor

En el presente estudio no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos placebo y HMB, aunque en ambos tratamientos el dolor muscular incremento significativamente después de 24 y 48 hrs del entrenamiento excéntrico (Fig. 17). Nuestros datos son similares a lo reportado por Nunan et al. (2010),

quienes reportan un incremento en DOMS a las 72 hrs después de haber realizado ejercicio excéntrico sin diferencias entre los grupos placebo y HMB (Nunan et al., 2010). No obstante, dos estudios (Nissen et al., 1996, van Someren et al., 2005) han reportado una disminución en el dolor localizado de aparición tardía (DOMS) después de la suplementación con HMB.

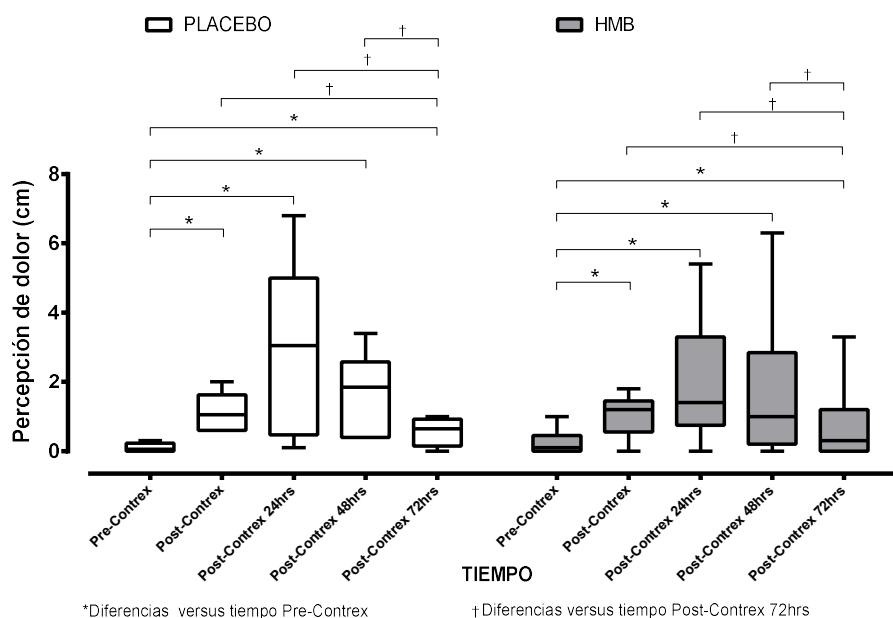


Figura 17. Resultados de Percepción de dolor antes y después del entrenamiento excéntrico.

El DOMS está fuertemente vinculado al daño muscular y puede ser causado por la combinación de varios factores como la inflamación, el incremento de productos químicos nocivos (RONS, LDH, CK, entre otros), y sustancias relacionadas con la inflamación (citoquinas, mioglobina, TNF) (Clarkson and Hubal, 2002). Sin embargo, el grado de dolor reportado por los sujetos es dependiente del tipo de protocolo usado para inducir daño muscular (Clarkson and Hubal, 2002, Sayer and Hubal, 2008). Nunan et al. (2010) utilizan carreras cuesta abajo para inducir el daño muscular, mientras que Nissen et al. (1996) y van Someren et al.

(2005) utilizan ejercicios de gimnasio para zonas musculares localizadas (press de banca, sentadilla, y hang clean).

Tomando en cuenta lo anterior, no es claro aún el efecto del HMB sobre la percepción de dolor muscular. No obstante, los resultados encontrados en los tratamientos HMB y placebo sugieren que el entrenamiento excéntrico resulto en un incremento en el daño muscular debido a que la percepción de dolor muscular es uno de los indicadores del mismo (Sayers and Hubal, 2008)

5.4. Recomendaciones

Finalmente, dentro de las recomendaciones que podemos sugerir son ampliar la muestra a fin de fortalecer una de las principales limitantes de este estudio que fue el bajo número de participantes; y así favorece el uso de estadística paramétrica.

Los resultados de este sugieren una interesante línea de investigación sobre el efecto del HMB en el balance oxidante/antioxidante el cual requiere de mayores estudios.

6. CONCLUSIONES

6.1. Conclusiones

El presente trabajo tuvo como objetivo principal comparar los cambios de la composición corporal y los indicadores de daño muscular en dos grupos de jóvenes físicamente activos; uno, bajo la suplementación de 3 g / día de HMB y otro bajo la administración de un placebo durante un período de seis semanas y posterior a una sesión de entrenamiento excéntrico.

6.1.1. Conclusión primera

El primer objetivo específico era evaluar antes y después de seis semanas de suplementación (3 g / día de HMB o placebo) (a) Composición corporal para conocer los cambios en masa magra y masa grasa, (b) Química sanguínea para evaluar los cambios en marcadores metabólicos y relacionados con daño muscular (c) perfil lipídico y (d) biometría hemática. Al concluir, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que la suplementación de HMB (3 g / día) durante seis semanas no indujo cambios en ninguno de dichos parámetros.

6.1.2. Conclusión segunda

El segundo objetivo específico fue evaluar antes y después del entrenamiento excéntrico y a las 24, 48 y 72 hrs: (a) Química sanguínea, (b) Perfil lipídico, (c) Indicadores de estrés oxidativo, y (d) Percepción de dolor. Tomando en cuenta la limitación que supone el bajo número de sujetos, podemos concluir que la suplementación de HMB (3 g / día) después del entrenamiento excéntrico incrementó en la Química sanguínea la concentración del ácido úrico, y en indicadores de estrés oxidativo el TAS, la GPX, y la SOD. Y no se observaron cambios en marcadores de Química sanguínea (CK, urea, proteínas totales, y glucosa), perfil lipídico, marcadores de estrés oxidativo (TBARS, CAT) y percepción de daño muscular.

6.1.3. Conclusión general

Nuestros resultados sugieren que 6 semanas de suplementación con HMB mejoran los indicadores de daño muscular ácido úrico, TAS, la GPX, y la SOD vinculados a la defensa antioxidante después de una sesión de entrenamiento excéntrico. Sin embargo, no provocan cambios en la composición corporal u otros indicadores utilizados en este estudio.

Estos resultados sugieren que el HMB puede producir un incremento en la defensa antioxidante después de una sesión de entrenamiento excéntrico; sin embargo, son necesarios mayores estudios para identificar el efecto del HMB en el balance oxidante/antioxidante en el contexto deportivo.

7. BIBLIOGRAFÍA

- ALBERT, F. J., MORENTE-SANCHEZ, J., ORTEGA, F. B., CASTILLO, M. J. & GUTIERREZ, A. 2015. Usefulness of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation in different sports: an update and practical implications. *Nutr Hosp*, 32, 20-33.
- ARAZI, H., ASADI, A. & SUZUKI, K. 2018a. The Effects of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate-Free Acid Supplementation and Resistance Training on Oxidative Stress Markers: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *Antioxidants (Basel)*, 7, 76.
- ARAZI, H., HOSSEINI, Z., ASADI, A., RAMIREZ-CAMPILLO, R. & SUZUKI, K. 2019. beta-Hydroxy-beta-Methylbutyrate Free Acid Attenuates Oxidative Stress Induced by a Single Bout of Plyometric Exercise. *Front Physiol*, 10, 776.
- ARAZI, H., TAATI, B. & SUZUKI, K. 2018b. A Review of the Effects of Leucine Metabolite (beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate) Supplementation and Resistance Training on Inflammatory Markers: A New Approach to Oxidative Stress and Cardiovascular Risk Factors. *Antioxidants (Basel)*, 7, 148.
- BARNES, J. N., TROMBOLD, J. R., DHINDSA, M., LIN, H. F. & TANAKA, H. 2010. Arterial stiffening following eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol (1985)*, 109, 1102-8.
- BATTERHAM, A. & HOPKINS, W. 2005. A decision tree for controlled trials. *Sportscience*, 9, 33-39.
- BAXTER, J. H., CARLOS, J. L., THURMOND, J., REHANI, R. N., BULTMAN, J. & FROST, D. 2005. Dietary toxicity of calcium beta-hydroxy-beta-methyl butyrate (CaHMB). *Food Chem Toxicol*, 43, 1731-41.
- BISHOP, D. 2010. Dietary supplements and team-sport performance. *Sports Med*, 40, 995-1017.
- BLOOMER, R. J. & GOLDFARB, A. H. 2004. Anaerobic exercise and oxidative stress: a review. *Can J Appl Physiol*, 29, 245-63.
- BOCK, J. L. 2011. Cardiac Injury, Atherosclerosis, and Thrombotic Disease. In: MCPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. & HENRY, J. B. (eds.) *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 22nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.
- BRANCACCIO, P., LIPPI, G. & MAFFULLI, N. 2010. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med*, 48, 757-67.
- BRANCACCIO, P., MAFFULLI, N., BUONAURO, R. & LIMONGELLI, F. M. 2008. Serum enzyme monitoring in sports medicine. *Clin Sports Med*, 27, 1-18, vii.
- BRENTANO, M. A. & MARTINS KRUEL, L. F. 2011. A review on strength exercise-induced muscle damage: applications, adaptation mechanisms and limitations. *J Sports Med Phys Fitness*, 51, 1-10.

CLARKSON, P. M. & HUBAL, M. J. 2002. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil*, 81, S52-69.

CLARKSON, P. M., KEARNS, A. K., ROUZIER, P., RUBIN, R. & THOMPSON, P. D. 2006. Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. *Med Sci Sports Exerc*, 38, 623-7.

COFFMAN, D. D., CRAMER, R. & MOCHEL, W. E. 1958. Syntheses by Free-radical Reactions. V. A New Synthesis of Carboxylic Acids. *J. Am. Chem. Soc.*, 80, 2882-2887.

CONNOLLY, D. A., SAYERS, S. P. & MCHUGH, M. P. 2003. Treatment and prevention of delayed onset muscle soreness. *J Strength Cond Res*, 17, 197-208.

CROWE, M. J., O'CONNOR, D. M. & LUKINS, J. E. 2003. The effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 13, 184-97.

DURKALEC-MICHALSKI, K. & JESZKA, J. 2015. The efficacy of a beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on physical capacity, body composition and biochemical markers in elite rowers: a randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *J Int Soc Sports Nutr*, 12, 31.

DURKALEC-MICHALSKI, K. & JESZKA, J. 2016. The Effect of beta-Hydroxy-beta-Methylbutyrate on Aerobic Capacity and Body Composition in Trained Athletes. *J Strength Cond Res*, 30, 2617-26.

DURKALEC-MICHALSKI, K., JESZKA, J. & PODGORSKI, T. 2017. The Effect of a 12-Week Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) Supplementation on Highly-Trained Combat Sports Athletes: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Crossover Study. *Nutrients*, 9, 753.

ELEY, H. L., RUSSELL, S. T. & TISDALE, M. J. 2008. Mechanism of attenuation of muscle protein degradation induced by tumor necrosis factor-alpha and angiotensin II by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 295, E1417-26.

EVANS, W. J. & CANNON, J. G. 1991. The metabolic effects of exercise-induced muscle damage. *Exerc Sport Sci Rev*, 19, 99-125.

FITSCHEN, P. J., WILSON, G. J., WILSON, J. M. & WILUND, K. R. 2013. Efficacy of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in elderly and clinical populations. *Nutrition*, 29, 29-36.

GALLAGHER, P. M., CARRITHERS, J. A., GODARD, M. P., SCHULZE, K. E. & TRAPPE, S. W. 2000a. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate ingestion, Part I: effects on strength and fat free mass. *Med Sci Sports Exerc*, 32, 2109-15.

GALLAGHER, P. M., CARRITHERS, J. A., GODARD, M. P., SCHULZE, K. E. & TRAPPE, S. W. 2000b. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate ingestion, part II: effects on hematology, hepatic and renal function. *Med Sci Sports Exerc*, 32, 2116-9.

- GARCIA-LOPEZ, D., CUEVAS, M. J., ALMAR, M., LIMA, E., DE PAZ, J. A. & GONZALEZ-GALLEGO, J. 2007. Effects of eccentric exercise on NF-kappaB activation in blood mononuclear cells. *Med Sci Sports Exerc*, 39, 653-64.
- GLANTZOUNIS, G. K., TSIMOYIANNIS, E. C., KAPPAS, A. M. & GALARIS, D. A. 2005. Uric acid and oxidative stress. *Curr Pharm Des*, 11, 4145-51.
- GOLDFARB, A. H. 2008. Antioxidant Supplementation. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.
- HAO, Y., JACKSON, J. R., WANG, Y., EDENS, N., PEREIRA, S. L. & ALWAY, S. E. 2011. beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate reduces myonuclear apoptosis during recovery from hind limb suspension-induced muscle fiber atrophy in aged rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 301, R701-15.
- HE, F., LI, J., LIU, Z., CHUANG, C. C., YANG, W. & ZUO, L. 2016. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. *Front Physiol*, 7, 486.
- HOFFMAN, J. R., COOPER, J., WENDELL, M., IM, J. & KANG, J. 2004. Effects of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on power performance and indices of muscle damage and stress during high-intensity training. *J Strength Cond Res*, 18, 747-52.
- HOLECEK, M. 2017. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 8, 529-41.
- HOPKINS, W. G., MARSHALL, S. W., BATTERHAM, A. M. & HANIN, J. 2009. Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Med Sci Sports Exerc*, 41, 3-13.
- HOWATSON, G. & VAN SOMEREN, K. A. 2008. The prevention and treatment of exercise-induced muscle damage. *Sports Med*, 38, 483-503.
- HUNG, W., LIU, T.-H., CHEN, C.-Y. & CHANG, C.-K. 2010. Effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation during energy restriction in female judo athletes. *J Exerc Sci & Fitness*, 8, 50-53.
- JACKSON, M. J. 2008. Free radicals generated by contracting muscle: by-products of metabolism or key regulators of muscle function? *Free Radic Biol Med*, 44, 132-41.
- JARVINEN, T. A., JARVINEN, M. & KALIMO, H. 2013. Regeneration of injured skeletal muscle after the injury. *Muscles Ligaments Tendons J*, 3, 337-45.
- JÄRVINEN, T. A. H., KÄÄRIÄINEN, M., ÄÄRIMAA, V., JÄRVINEN, M. & KALIMO, H. 2008. Skeletal Muscle Repair after Exercise-Induced Injury. In: SCHIAFFINO, S. & PARTRIDGE, T. (eds.) *Skeletal muscle repair and regeneration*. Dordrecht: Springer.
- JIMENEZ-JIMENEZ, R., CUEVAS, M. J., ALMAR, M., LIMA, E., GARCIA-LOPEZ, D., DE PAZ, J. A. & GONZALEZ-GALLEGO, J. 2008. Eccentric training impairs NF-kappaB

activation and over-expression of inflammation-related genes induced by acute eccentric exercise in the elderly. *Mech Ageing Dev*, 129, 313-21.

JOWKO, E., OSTASZEWSKI, P., JANK, M., SACHARUK, J., ZIENIEWICZ, A., WILCZAK, J. & NISSEN, S. 2001. Creatine and beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition*, 17, 558-66.

JUBEAU, M., SARTORIO, A., MARINONE, P. G., AGOSTI, F., VAN HOECKE, J., NOSAKA, K. & MAFFIULETTI, N. A. 2008. Comparison between voluntary and stimulated contractions of the quadriceps femoris for growth hormone response and muscle damage. *J Appl Physiol (1985)*, 104, 75-81.

KANDA, K., SUGAMA, K., SAKUMA, J., KAWAKAMI, Y. & SUZUKI, K. 2014. Evaluation of serum leaking enzymes and investigation into new biomarkers for exercise-induced muscle damage. *Exerc Immunol Rev*, 20, 39-54.

KANG, D. H. & HA, S. K. 2014. Uric Acid Puzzle: Dual Role as Anti-oxidant and Pro-oxidant. *Electrolyte Blood Press*, 12, 1-6.

KNITTER, A. E., PANTON, L., RATHMACHER, J. A., PETERSEN, A. & SHARP, R. 2000. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J Appl Physiol*, 89, 1340-4.

KOH, T. J. 2008. Physiology and Mechanisms of Skeletal Muscle Damage. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.

KRAEMER, W. J., HATFIELD, D. L., VOLEK, J. S., FRAGALA, M. S., VINGREN, J. L., ANDERSON, J. M., SPIERING, B. A., THOMAS, G. A., HO, J. Y., QUANN, E. E., IZQUIERDO, M., HAKKINEN, K. & MARESH, C. M. 2009. Effects of amino acids supplement on physiological adaptations to resistance training. *Med Sci Sports Exerc*, 41, 1111-21.

KREIDER, R. B., FERREIRA, M., WILSON, M. & ALMADA, A. L. 1999. Effects of calcium beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation during resistance-training on markers of catabolism, body composition and strength. *Int J Sports Med*, 20, 503-9.

KREIDER, R. B., WILBORN, C. D., TAYLOR, L., CAMPBELL, B., ALMADA, A. L., COLLINS, R., COOKE, M., EARNEST, C. P., GREENWOOD, M., KALMAN, D. S., KERKSICK, C. M., KLEINER, S. M., LEUTHOLTZ, B., LOPEZ, H., LOWERY, L. M., MENDEL, R., SMITH, A., SPANO, M., WILDMAN, R., WILLOUGHBY, D. S., ZIEGENFUSS, T. N. & ANTONIO, J. 2010. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *J Int Soc Sports Nutr*, 7, 7.

KRUSZEWSKI, M. 2011. Changes in maximal strength and body composition after different methods of developing muscle strength and supplementation with creatine, L-carnitine and HMB. *Biol Sport*, 28, 145-50.

- LAMBOLEY, C. R., ROYER, D. & DIONNE, I. J. 2007. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on aerobic-performance components and body composition in college students. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 17, 56-69.
- LOVERING, R. M. 2008. Physical Therapy and Related Interventions. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.
- LOWERY, R. P., JOY, J. M., RATHMACHER, J. A., BAIER, S. M., FULLER, J. C., JR., SHELLEY, M. C., 2ND, JAGER, R., PURPURA, M., WILSON, S. M. & WILSON, J. M. 2016. Interaction of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate Free Acid and Adenosine Triphosphate on Muscle Mass, Strength, and Power in Resistance Trained Individuals. *J Strength Cond Res*, 30, 1843-54.
- MATTACOLA, C. G., PERRIN, D. H., GANSNEDER, B. M., ALLEN, J. D. & MICKEY, C. A. 1997. A comparison of visual analog and graphic rating scales for assessing pain following delayed onset muscle soreness. *J Sport Rehabil*, 6, 38-46.
- MAXWELL, S. R., JAKEMAN, P., THOMASON, H., LEGUEN, C. & THORPE, G. H. 1993. Changes in plasma antioxidant status during eccentric exercise and the effect of vitamin supplementation. *Free Radic Res Commun*, 19, 191-202.
- MCKUNE, A. J., SEMPLE, S. J. & PETERS-FUTRE, E. 2012. Acute exercise-induced muscle injury. *Biol Sport*, 29, 3.
- MOLFINO, A., GIOIA, G., ROSSI FANELLI, F. & MUSCARITOLI, M. 2013. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in health and disease: a systematic review of randomized trials. *Amino Acids*, 45, 1273-92.
- MORGAN, D. L. & PROSKE, U. 2004. Popping sarcomere hypothesis explains stretch-induced muscle damage. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 31, 541-5.
- NAGATOMI, R. 2006. The implication of alterations in leukocyte subset counts on immune function. *Exerc Immunol Rev*, 12, 54-71.
- NEWHAM, D. J., MCPHAIL, G., MILLS, K. R. & EDWARDS, R. H. 1983. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *J Neurol Sci*, 61, 109-22.
- NISS, A. M. 2005. Generation and Disposal of Reactive Oxygen and Nitrogen Species. In: MOOREN, F. C. & VÖLKER, K. (eds.) *Molecular and cellular exercise physiology*. Champaign, IL: Human Kinetics.
- NIKOLAIDIS, M. G., JAMURTAS, A. Z., PASCHALIS, V., FATOUROS, I. G., KOUTEDAKIS, Y. & KOURETAS, D. 2008. The effect of muscle-damaging exercise on blood and skeletal muscle oxidative stress: magnitude and time-course considerations. *Sports Med*, 38, 579-606.
- NISSEN, S., SHARP, R., RAY, M., RATHMACHER, J. A., RICE, D., FULLER, J. C., CONNELLY, A. S. & ABUMRAD, N. 1996a. Effect of leucine metabolite beta-hydroxy-

beta-methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *J Appl Physiol*, 81, 2095-2104.

NISSEN, S., SHARP, R. L., PANTON, L., VUKOVICH, M., TRAPPE, S. & FULLER, J. C., JR. 2000. beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J Nutr*, 130, 1937-45.

NISSEN, S. L. 1991. *Method of enhancing immune response of mammals*. United States patent application 4992470.

NISSEN, S. L. 2007. Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate. In: DRISKELL, A. J. (ed.) *SPORTS NUTRITION Fats and Proteins*. Boca Raton: CRC Press.

NISSEN, S. L. & ABUMRAD, N. N. 1997. Nutritional role of the leucine metabolite beta-hydroxy beta-methylbutyrate (HMB). *J Nutr Biochem*, 8, 300-11.

NISSEN, S. L., FLAKOLL, P. J. & ABUMRAD, N. N. 1994. *Method of promoting nitrogen retention in humans*. United States patent application 5348979.

NORCROSS, J. & VAN-LOAN, M. D. 2004. Validation of fan beam dual energy x ray absorptiometry for body composition assessment in adults aged 18-45. *Br J Sports Med*, 38, 472-6.

NOSAKA, K. 2008. Muscle Soreness and Damage and the Repeated-Bout Effect. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.

NUNAN, D., HOWATSON, G. & VAN SOMEREN, K. A. 2010. Exercise-induced muscle damage is not attenuated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate and alpha-ketoglutaric acid supplementation. *J Strength Cond Res*, 24, 531-7.

O'CONNOR, D. M. & CROWE, M. J. 2007. Effects of six weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes. *J Strength Cond Res*, 21, 419-23.

PANTON, L. B., RATHMACHER, J. A., BAIER, S. & NISSEN, S. 2000. Nutritional supplementation of the leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (hmb) during resistance training. *Nutrition*, 16, 734-9.

PEAKE, J., NOSAKA, K. & SUZUKI, K. 2005. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc Immunol Rev*, 11, 64-85.

PEAKE, J. & SUZUKI, K. 2004. Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exerc Immunol Rev*, 10, 129-41.

PETTERSSON, J., HINDORF, U., PERSSON, P., BENGTTSSON, T., MALMQVIST, U., WERKSTROM, V. & EKELUND, M. 2008. Muscular exercise can cause highly pathological liver function tests in healthy men. *Br J Clin Pharmacol*, 65, 253-9.

- PHANEUF, S. & LEEUWENBURGH, C. 2001. Apoptosis and exercise. *Med Sci Sports Exerc*, 33, 393-6.
- PLEBANI, M. 2010. Skeletal muscle biomarkers: not new but still interesting diagnostic tools. *Clin Chem Lab Med*, 48, 745-6.
- PORTAL, S., ZADIK, Z., RABINOWITZ, J., PILZ-BURSTEIN, R., ADLER-PORTAL, D., MECKEL, Y., COOPER, D. M., ELIAKIM, A. & NEMET, D. 2011. The effect of HMB supplementation on body composition, fitness, hormonal and inflammatory mediators in elite adolescent volleyball players: a prospective randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Appl Physiol*, 111, 2261-9.
- POWERS, S. K., JI, L. L., KAVAZIS, A. N. & JACKSON, M. J. 2011. Reactive oxygen species: impact on skeletal muscle. *Compr Physiol*, 1, 941-69.
- PROSKE, U. & ALLEN, T. J. 2005. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exerc Sport Sci Rev*, 33, 98-104.
- PROSKE, U. & MORGAN, D. L. 2001. Muscle damage from eccentric exercise: mechanism, mechanical signs, adaptation and clinical applications. *J Physiol*, 537, 333-45.
- RADAK, Z., NAITO, H., TAYLOR, A. W. & GOTO, S. 2012. Nitric oxide: is it the cause of muscle soreness? *Nitric Oxide*, 26, 89-94.
- RANSONE, J., NEIGHBORS, K., LEFAVI, R. & CHROMIAK, J. 2003. The effect of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on muscular strength and body composition in collegiate football players. *J Strength Cond Res*, 17, 34-9.
- RATHMACHER, J. A., NISSEN, S., PANTON, L., CLARK, R. H., EUBANKS MAY, P., BARBER, A. E., D'OLIMPIO, J. & ABUMRAD, N. N. 2004. Supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB), arginine, and glutamine is safe and could improve hematological parameters. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*, 28, 65-75.
- ROBINSON, E. H. T., STOUT, J. R., MIRAMONTI, A. A., FUKUDA, D. H., WANG, R., TOWNSEND, J. R., MANGINE, G. T., FRAGALA, M. S. & HOFFMAN, J. R. 2014. High-intensity interval training and beta-hydroxy-beta-methylbutyric free acid improves aerobic power and metabolic thresholds. *J Int Soc Sports Nutr*, 11, 16.
- ROBINSON, T. M., SEWELL, D. A., CASEY, A., STEENGE, G. & GREENHAFF, P. L. 2000. Dietary creatine supplementation does not affect some haematological indices, or indices of muscle damage and hepatic and renal function. *Br J Sports Med*, 34, 284-8.
- RUSSELL, S. T. & TISDALE, M. J. 2009. Mechanism of attenuation by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate of muscle protein degradation induced by lipopolysaccharide. *Mol Cell Biochem*, 330, 171-9.
- SABOURIN, P. J. & BIEBER, L. L. 1982a. The mechanism of alpha-ketoisocaproate oxygenase. Formation of beta-hydroxyisovalerate from alpha-ketoisocaproate. *J Biol Chem*, 257, 7468-71.

SABOURIN, P. J. & BIEBER, L. L. 1982b. Purification and characterization of an alpha-ketoisocaproate oxygenase of rat liver. *J Biol Chem*, 257, 7460-7.

SABOURIN, P. J. & BIEBER, L. L. 1983. Formation of beta-hydroxyisovalerate by an alpha-ketoisocaproate oxygenase in human liver. *Metabolism*, 32, 160-4.

SACHDEV, S. & DAVIES, K. J. 2008. Production, detection, and adaptive responses to free radicals in exercise. *Free Radic Biol Med*, 44, 215-23.

SAMPSON, D. L., BROADBENT, J. A., PARKER, A. W., UPTON, Z. & PARKER, T. J. 2014. Urinary biomarkers of physical activity: candidates and clinical utility. *Expert Rev Proteomics*, 11, 91-106.

SANFORD, K. W. & MCPHERSON, R. A. 2011. Preanalysis. In: MCPHERSON, R. A., PINCUS, M. R. & HENRY, J. B. (eds.) *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 22nd ed. Philadelphia: Saunders Elsevier.

SAYERS, S. P. & HUBAL, M. J. 2008. Histological, Chemical, and Functional Manifestations of Muscle Damage. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.

SEENE, T., UMNOVA, M., KAASIK, P., ALEV, K. & PEHME, A. 2008. Overtraining Injuries in Athletic Populations. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.

SLATER, G., JENKINS, D., LOGAN, P., LEE, H., VUKOVICH, M., RATHMACHER, J. A. & HAHN, A. G. 2001. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation does not affect changes in strength or body composition during resistance training in trained men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 11, 384-96.

SOUSA, M., TEIXEIRA, V. H. & SOARES, J. 2014. Dietary strategies to recover from exercise-induced muscle damage. *Int J Food Sci Nutr*, 65, 151-63.

STUPKA, N., TARNOPOLSKY, M. A., YARDLEY, N. J. & PHILLIPS, S. M. 2001. Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol* (1985), 91, 1669-78.

THOMSON, J. S., WATSON, P. E. & ROWLANDS, D. S. 2009. Effects of nine weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on strength and body composition in resistance trained men. *J Strength Cond Res*, 23, 827-35.

VAN KOEVERING, M. & NISSEN, S. 1992. Oxidation of leucine and alpha-ketoisocaproate to beta-hydroxy-beta-methylbutyrate in vivo. *Am J Physiol*, 262, E27-31.

VAN SOMEREN, K. A., EDWARDS, A. J. & HOWATSON, G. 2005. Supplementation with beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and alpha-ketoisocaproic acid (KIC) reduces signs and symptoms of exercise-induced muscle damage in man. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 15, 413-24.

- VIRU, A. A. & VIRU, M. 2001. *Biochemical monitoring of sport training*, Champaign, IL, Human Kinetics.
- VUKOVICH, M. D., SLATER, G., MACCHI, M. B., TURNER, M. J., FALLON, K., BOSTON, T. & RATHMACHER, J. 2001. beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) kinetics and the influence of glucose ingestion in humans. *J Nutr Biochem*, 12, 631-9.
- WARING, W. S., CONVERY, A., MISHRA, V., SHENKIN, A., WEBB, D. J. & MAXWELL, S. R. 2003. Uric acid reduces exercise-induced oxidative stress in healthy adults. *Clin Sci (Lond)*, 105, 425-30.
- WARREN, G. L. & PALUBINSKAS, L. E. 2008. Human and Animal Experimental Muscle Injury Models. In: TIIDUS, P. M. (ed.) *Skeletal muscle damage and repair*. Champaign, IL: Human Kinetics.
- WILLIAMS, M. H. 2004. Dietary supplements and sports performance: introduction and vitamins. *J Int Soc Sports Nutr*, 1, 1-6.
- WILSON, G. J., WILSON, J. M. & MANNINEN, A. H. 2008. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review. *Nutr Metab (Lond)*, 5, 1.
- WILSON, J. M., FITSCHEN, P. J., CAMPBELL, B., WILSON, G. J., ZANCHI, N., TAYLOR, L., WILBORN, C., KALMAN, D. S., STOUT, J. R., HOFFMAN, J. R., ZIEGENFUSS, T. N., LOPEZ, H. L., KREIDER, R. B., SMITH-RYAN, A. E. & ANTONIO, J. 2013a. International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *J Int Soc Sports Nutr*, 10, 6.
- WILSON, J. M., KIM, J. S., LEE, S. R., RATHMACHER, J. A., DALMAU, B., KINGSLEY, J. D., KOCH, H., MANNINEN, A. H., SAADAT, R. & PANTON, L. B. 2009. Acute and timing effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on indirect markers of skeletal muscle damage. *Nutr Metab (Lond)*, 6, 6.
- WILSON, J. M., LOWERY, R. P., JOY, J. M., ANDERSEN, J. C., WILSON, S. M., STOUT, J. R., DUNCAN, N., FULLER, J. C., BAIER, S. M., NAIMO, M. A. & RATHMACHER, J. 2014. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur J Appl Physiol*, 114, 1217-27.
- WILSON, J. M., LOWERY, R. P., JOY, J. M., WALTERS, J. A., BAIER, S. M., FULLER, J. C., JR., STOUT, J. R., NORTON, L. E., SIKORSKI, E. M., WILSON, S. M., DUNCAN, N. M., ZANCHI, N. E. & RATHMACHER, J. 2013b. beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men. *Br J Nutr*, 110, 538-44.
- ZAINUDDIN, Z., NEWTON, M., SACCO, P. & NOSAKA, K. 2005. Effects of massage on delayed-onset muscle soreness, swelling, and recovery of muscle function. *J Athl Train*, 40, 174-80.

ZANCHI, N. E., GERLINGER-ROMERO, F., GUIMARAES-FERREIRA, L., DE SIQUEIRA FILHO, M. A., FELITTI, V., LIRA, F. S., SEELAENDER, M. & LANCHI, A. H., JR. 2011. HMB supplementation: clinical and athletic performance-related effects and mechanisms of action. *Amino Acids*, 40, 1015-25.

8. ANEXOS

ANEXO 1

Consentimiento Bajo Información

TESIS DOCTORAL

"EFECTO DE LA INGESTA ORAL DE BETA- HIDROXI-BETA-METILBURITATO SOBRE INDICADORES DE DAÑO MUSCULAR INDUCIDO POR UNA SESIÓN DE ENTRENAMIENTO EXCÉNTRICO EN ADULTOS JÓVENES FÍSICAMENTE ACTIVOS

Carta de consentimiento bajo información

Investigadores Responsables: M. en C. de la S. Rafael Manjarrez-Montes de Oca, M. en A. F. S. Patricia Tlatempa Sotelo, M. en S. H. O. María del Socorro Camarillo-Romero.

Investigadores Colaboradores: Ph. D. Javier González-Gallego, Ph. D. Ildefonso Alvear-Ordenes, Ph. D. Alexander Kormanoski Kovsova.

Esta hoja de consentimiento puede contener palabras que usted no entienda. Por favor pregunte al investigador encargado o a cualquier personal del estudio para que le explique cualquier palabra o información que usted no entienda claramente. Usted puede llevarse a su casa una copia de este consentimiento para pensar sobre este estudio o para discutir con su familia o amigos antes de tomar su decisión.

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación. Antes de que usted decida participar en el estudio por favor lea este consentimiento cuidadosamente. Haga todas las preguntas que usted tenga, para asegurarse de que entienda los procedimientos del estudio, incluyendo los riesgos y los beneficios.

El propósito de la investigación es conocer el efecto de la administración del suplemento alimenticio beta-hidroxi-beta-metilburitato (HMB) sobre los indicadores de daño muscular inducido por una sesión de ejercicio excéntrico.

Podrán formar parte de este estudio jóvenes mayores de 18 años, físicamente activos y clínicamente sanos, que hayan participado en el proyecto "Efecto del beta-hidroxi-beta-metilburitato sobre la potencia muscular, composición corporal e indicadores de daño y fatiga muscular de deportistas de la UAEMéx ciclo 2007-2008" (2453/2007U)

Posterior a la participación en el proyecto antes mencionado, se procederá a realizar una sesión de entrenamiento excéntrico en un dinamómetro isocinético (CON-TREX LP), que consistirá en una determinación del pico torque máximo y un protocolo de ejercicio (10 series de 10 repeticiones de ejercicio bilateral isocinético en extensión a 180° y flexión a 90°, con velocidad de 0.1 m/s y 60% del pico torque máximo, con 30 segundos de descanso entre series)

Además, se tomará una muestra de 10 mililitros de sangre (antes y después del entrenamiento excéntrico, y a las 24, 48 y 72 horas) para determinar: Concentración sanguínea de las enzimas CK y LDH; estrés oxidativo (TBARS, superóxido-dismutasa, glutatión-peroxidasa, catalasa, capacidad antioxidante total, carbonilos proteicos), Citoquinas (IL-8, IL-1 beta, IL-6, IL-10, TNF, IL-12).

Si decide participar tendrá que presentarse el día de la evaluación vestido con ropa deportiva, y debido a la toma de muestra de sangre, deberá presentarse los días indicados en ayunas. En los mismos tiempos de toma de muestra de sangre, se realizará un cuestionario de percepción de dolor. Su participación dentro de este estudio será de cuatro días.

Un posible riesgo para la sesión de entrenamiento excéntrico es tirón o desgarro muscular, aunque debido a las cargas utilizadas este riesgo es mínimo; y una incomodidad es el dolor muscular de aparición, siendo este similar a cualquier entrenamiento exhaustivo de pierna normalmente realizado en práctica deportiva. Los posibles riesgos e incomodidades que puede causar la extracción de sangre de su son: dolor, moretones, mareos, y en raras ocasiones infección. Hasta el momento no hay riesgos reportados por el uso de beta-hidroxi-beta-metilbutirato a estas dosis. Todos estos procedimientos serán realizados por personal capacitado. El estudio es totalmente gratuito.

Todos los datos obtenidos, serán manejados con absoluta confidencialidad y en ningún momento se usarán los datos personales para otros fines que no sean los del proyecto. Se le comunicará de forma personal y por escrito los resultados obtenidos. Los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en las reuniones científicas, pero su identidad no será divulgada.

Su participación en este estudio es voluntaria. Usted puede decidir no participar o retirarse del estudio en cualquier momento. Su decisión no resultará en ninguna penalidad o pérdida de beneficios para los cuales tenga derecho. De ser necesario, su participación en este estudio puede ser detenida en cualquier momento por el investigador del estudio sin su consentimiento.

CONSENTIMIENTO

Declaro, libre y voluntariamente, que acepto participar en este estudio. He leído la información de esta hoja de consentimiento, o se me ha leído de manera adecuada. Todas mis preguntas sobre el estudio y mi participación han sido atendidas.

[Redacted Signature Area]

Nombre del Participante	Firma del participante
<u>Prueba # 239-3A col. La Joya</u>	<u>07-04-10</u>
Domicilio	Fecha

[Redacted Signature Area]

Nombre del Testigo	Firma del testigo
<u>Juárez # 401 Sn. Pedro, Tlaltizapán</u>	<u>07/04/10</u>
Domicilio	Fecha

Para cualquier pregunta o aclaración comunicarse con:

M. en C. de la S. Rafael Manjarrez-Montes de Oca;

Cel. 045-713-100-1598 etcrmm02@estudiantes.unileon.es; rmanjarrezm@uaemex.mx

M. en A. F. S. Patricia Tlatempa-Sotelo;

Cel. 044-722-393-9178 ptlatempas@uaemex.mx; tlatempas@yahoo.com.mx

ANEXO 2

Certificado de análisis del HMB



Future Foods, S.A. de C.V. México
 Pino No. 20 PB Col. Valle de los Rios
 Tlalnepanitla Edo. de México
 C.P. 54040
 Tel: 5398-1376

Future Foods USA, LLC
 126 Monroe Avenue
 Dover NJ 07801
 Estados Unidos

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Hydroxy Methyl Butarate Calcium Salt
 Calcium HMB

Identification: Passes all Criteria Tests

Batch: 031102(m)

Sample size: 1000kgs

ITEMS	SPECIFICATIONS	RESULTS
Appearance	White crystalline	Conform
Calcium:	13 – 16%	14.38%
Loss on drying	3.0 Max	1.66%
Heavy metals	10ppm	Conform
Arsenic	2ppm	Conform
HMB	80.0% Min	83.98%

Manufacturing Date: November 2, 2007

Expiration Date: November 1, 2010

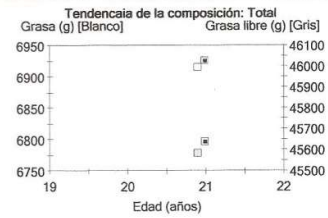
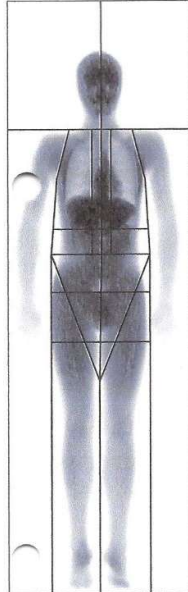
ANEXO 3

Hoja de Resultado de Composición Corporal

CICMED CENTRO DE INVESTIGACION EN CIENCIAS MEDICAS JESUS CARRANZA # 205

Paciente: ██████████	ID instalación: ██████████
Fecha de nacimiento: 24/08/1988 20.9 años	Médico: DTO
Estatura / Peso: 167.0 cm 54.0 kg	Medido: 20/08/2009 05:36:04 p.m. (8.10)
Sexo / Origen étnico: Hombre Hispano	Analizado: 18/02/2010 12:32:03 p.m. (8.10)

Cuantificación del tejido Cuerpo total



Tendencia: Total										
Fecha medida	Edad (años)	Tejido (%grasa)	Centil ^{2,3}	Masa tot. (kg)	Región (%Grasa)	Tejido (g)	Grasa (g)	Magro (g)	CMO (g)	Grasa libre (g)
20/08/2009	20.9	13.5	-	52.8	12.9	50,320	6,797	43,523	2,505	46,027
16/07/2009	20.8	13.8	-	52.5	13.2	50,007	6,915	43,093	2,489	45,582

Tendencia: Distribución de la grasa					
Fecha medida	Edad (años)	Androide (%Grasa)	Ginoide (%Grasa)	A/G Cociente	Corporal total (%Grasa)
20/08/2009	20.9	18.2	20.8	0.87	13.5
16/07/2009	20.8	19.3	21.0	0.92	13.8

COMENTARIOS:

Clasificación del IMC de la Organización Mundial de la Salud
Índice de masa corporal (IMC) = 19.4



Esta imagen no es para diagnóstico

Impreso: 18/02/2010 12:32:28 p.m. (8.10) 76:0.10:153.85:31.2 0.00:-1.00
4.80x9.60 11.7:%Grasa=13.5%
0.00:0.00 0.00:0.00
Nombre del archivo: bk4pok114j.ntb
Modo de exploración: Estándar 0.02 mrem

2 -Población de referencia NHANES/USA, Cuerpo total

3 -Ajustado para edad, peso (hombres 25-100 kg), origen étnico

GE Medical Systems
LUNAR

DPX
NT+74035

ANEXO 4

Hoja de registro de percepción de dolor

"EFECTO DE LA INGESTA ORAL DE BETA-HIDROXI-BETA-METILBUTIRATO SOBRE INDICADORES DE DAÑO MUSCULAR INDUCIDO POR UNA SESIÓN DE ENTRENAMIENTO EXCÉNTRICO EN ADULTOS JÓVENES FÍSICAMENTE ACTIVOS"

ESCALA SUBJETIVA DE DOLOR INDUCIDO POR EL EJERCICIO

INSTRUCCIONES: A continuación encontrará una línea donde usted deberá reflejar el dolor que siente en sus piernas. Marque con una pequeña línea vertical el punto que, según usted, refleja su estado de dolor y malestar muscular en cada uno de los

Nombre XXXXXXXXXX

Fecha de la primera evaluación 013/VIII/09 Clave 2881

a) Antes de Entrenamiento Excéntrico

Ningún dolor |----- Dolor máximo *0.0 cm*

b) Después del Entrenamiento Excéntrico

Ningún dolor |----- Dolor máximo *1.2 cm*

c) Un día después del Entrenamiento

Ningún dolor |----- Dolor máximo *1.5 cm*

d) Dos días después del Entrenamiento

Ningún dolor |----- Dolor máximo *0.8 cm*

e) Tres días después del Entrenamiento

Ningún dolor |----- Dolor máximo *0.2 cm*

