

UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE
Departamento de Fisiología



**EFFECTOS DE LA INGESTIÓN DE CAFEÍNA SOBRE
DIVERSOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y LA
ACTIVIDAD FÍSICA**

Memoria que presenta Guillermo J. Olcina Camacho para
optar al grado de *Doctor en Ciencias del Deporte*.

CÁCERES, DICIEMBRE 2005

***Edita: Universidad de Extremadura
Servicio de Publicaciones***

Caldereros 2. Planta 3^a
Cáceres 10071
Correo e.: publicac@unex.es
<http://www.unex.es/publicaciones>



Universidad de Extremadura

Departamento de Fisiología

Departamento de Química Analítica y Electroquímica

FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE. Cáceres.

Los Doctores MARCOS MAYNAR MARIÑO, JUAN IGNACIO MAYNAR MARIÑO Y MARIA JESÚS CABALLERO LOSCOS de los Departamentos de Fisiología Química Analítica y Electroquímica, y Farmacología y Psiquiatría, respectivamente, de la Universidad de Extremadura.

CERTIFICAN:

Que **D. Guillermo Jorge Olcina Camacho**, *Licenciado en Ciencias del Deporte por la Universidad de Extremadura*, ha realizado la Tesis Doctoral **“EFECTOS DE LA INGESTIÓN DE CAFEÍNA SOBRE DIVERSOS PARÁMETROS FISIOLÓGICOS Y LA ACTIVIDAD FÍSICA”** bajo nuestra dirección y que, a nuestro juicio, reúne las condiciones exigidas para poder optar al grado de Doctor.

Y para que así conste, expedimos el presente certificado en Cáceres, a 24 de octubre de dos mil cinco.

Dr. D. Marcos Maynar Mariño

Dr. D Juan I. Maynar Mariño

Dra. Dña. M^a Jesús Caballero Loscos

Este trabajo ha sido realizado con el apoyo económico de la Junta de Extremadura mediante el II PRI I+D enmarcado en el proyecto nº 2PR01B015.

A mis padres.

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a aquellas personas que de una forma u otra han contribuido a la elaboración de esta tesis.

- Al **Prof. Dr. Marcos Maynar**, bajo cuya dirección se ha realizado esta tesis doctoral, por ser mi "padre científico" y por todo el apoyo prestado y formación recibida durante tantos años trabajando gustosamente a su lado.

- Al **Prof. Dr. Juan Ignacio Maynar** y a la **Prof. Dra. María Jesús Caballero** por su tiempo y dedicación como codirectores de esta tesis.

- A **Diego, Pablo, Pedro y Rafa** por ser grandes amigos y disfrutar de su compañía en las duras jornadas laborales y fuera de ellas, haciendo increíblemente agradables estos años de trabajo.

- Al resto de **compañeros del grupo de trabajo, GIFED**, por la colaboración prestada.

- A la **Facultad de Ciencias del Deporte** y al **Departamento de Fisiología** por el uso de su infraestructura y recursos humanos.

- A la **Junta de Extremadura** por la financiación aportada.

- A los **deportistas y demás voluntarios** que prestaron su colaboración como sujetos experimentales de esta tesis.

- A **Guillermo y Sacri** por su incondicional apoyo y confianza en su hijo.

-A **Marga** por estar a mi lado y comprender mis excentricidades.

- A **Guedi** por su compañía durante años y apoyo en momentos difíciles.

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS

I Artículos en revistas científicas

1)

"Efectos de la ingestión de cafeína sobre el rendimiento, la peroxidación lipídica y las vitaminas A, E y C, de sujetos sometidos a una prueba de esfuerzo máxima"

Olcina Camacho GJ, Muñoz Marín D, Timón Andrada R, Caballero MJ, Maynar JI, Maynar M.

Archivos de Medicina del Deporte (2002). Volumen XIX (91), 371-375.

2)

"Efectos de la ingestión de cafeína sobre el estado de ánimo de sujetos sometidos a una prueba de esfuerzo máxima"

Olcina Camacho GJ, Muñoz Marín D, Timón Andrada R, Maynar M.

Apunts Medicina de L'Esport (2002). Volumen 37 (138), 25-28.

3)

"Efectos de la cafeína en parámetros máximos aeróbicos y anaeróbicos"

Maynar Mariño M, Olcina Camacho GJ, Muñoz Marín D, Ávila Fernández PA, Timón Andrada R.

Apunts Medicina de L'Esport (2003). Volumen 38 (141), 5-8.

4)

"Intensidad de ejercicio como factor generador de estrés oxidativo"

Olcina Camacho GJ, Muñoz Marín D, Ávila Fernández PA, Timón Andrada R, Maynar Mariño JI, Maynar Mariño M.

Selección (2003). Volumen 12 (3), 145-149.

II Ponencias y comunicaciones presentadas a congresos:

1)

"Ergogenic effects of caffeine ingestion on some physiological parameters in sedentary subjects"

6th Annual Congress. European College of Sport Science.

Köln (Alemania), 2001.

2)

"Efectos de la ingestión de cafeína sobre el rendimiento, la peroxidación lipídica y las vitaminas A, E, y C, de sujetos sometidos a una prueba de esfuerzo máxima"

II Congress of the European Federation of Sports.

Oviedo (España), 2001.

PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN PRESENTADA POR UN ESTUDIANTE

3)

"Efectos de la ingestión de cafeína sobre el estado de ánimo de individuos sometidos a una prueba de esfuerzo incremental máxima"

II Congreso de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte.

Valencia (España), 2001.

4)

"Efectos de la ingestión de cafeína sobre los ácidos grasos plasmáticos totales"

I Congreso Internacional Sport Medicine Academy "ISMA".

Cartagena (España), 2002.

5)

"Estrés oxidativo de una prueba de 30 minutos a un 75% del VO₂ máx en cicloergómetro"

VII Reunión del Grupo Español de Radicales Libres y III Reunión Iberoamericana.

Cáceres (España), 2002.

6)

"Efectos de la ingestión de cafeína sobre la potencia anaeróbica"

II Congreso Mundial de Ciencias de la actividad física y el deporte.

Granada (España), 2003.

ÍNDICE

ÍNDICE

1	INTRODUCCIÓN	2
1.1	GENERALIDADES	2
1.2	ACTIVIDAD FÍSICA Y ORGANISMOS BIOLÓGICOS	4
1.2.1	Ejercicio anaeróbico.....	4
1.2.2	Ejercicio aeróbico	5
1.2.3	Ácidos grasos y ejercicio físico.....	7
1.2.4	Radicales libres y actividad física	11
1.2.5	Sistemas antioxidantes.....	20
1.3	CAFEÍNA	31
1.3.1	Estructura química.....	31
1.3.2	Metabolismo y eliminación.....	33
1.3.3	Hábitos de consumo.....	35
1.3.4	Mecanismos de acción.....	40
1.3.5	Efectos en el organismo.....	45
1.3.6	Efectos en el rendimiento deportivo.....	52
1.4	FLUIDOS BIOLÓGICOS. INTERÉS CIENTÍFICO	55
1.4.1	Sangre total.....	55
1.4.2	Plasma	56
1.4.3	Orina	56
1.4.4	Sudor.....	57
2	OBJETIVOS	59
3	MATERIAL Y MÉTODO	61
3.1	REACTIVOS	61
3.2	MATERIAL UTILIZADO	63
3.3	SUJETOS DE ESTUDIO	68
3.4	DISEÑO EXPERIMENTAL	72
3.5	VALORACIÓN DEL RENDIMIENTO FÍSICO	74
3.5.1	Capacidad y Potencia anaeróbica.....	75
3.5.2	Potencia Aeróbica Máxima (P.A.M)	77
3.5.3	Capacidad aeróbica.....	79

3.6	VALORACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO.....	81
3.6.1	Ácidos grasos plasmáticos.....	81
3.6.2	Índices de desaturación	83
3.7	VALORACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO.....	84
3.7.1	Índices de peroxidación lipídica	84
3.7.2	Marcadores de peroxidación lipídica	85
3.7.3	Sistemas antioxidantes no enzimáticos.....	86
3.8	VÍAS DE ELIMINACIÓN	88
3.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	90
4	RESULTADOS.....	92
4.1	CONSIDERACIONES	92
4.2	VALORACIÓN DEL HEMATOCRITO	93
4.3	VALORACIÓN DEL RENDIMIENTO FÍSICO.....	95
4.3.1	Capacidad y potencia anaeróbica	95
4.3.2	Test ergométrico incremental máximo.....	96
4.3.3	Test ergométrico de estado estable 80% VO ₂ máx	100
4.4	ESTRÉS OXIDATIVO Y SISTEMAS ANTIOXIDANTES	113
4.4.1	Peroxidación lipídica	113
4.4.1.1	<i>Malondialdehído</i>	113
4.4.1.2	<i>Índices de peroxidación lipídica</i>	117
4.4.2	Sistemas antioxidantes no enzimáticos.....	121
4.4.2.1	<i>Vitamina A</i>	121
4.4.2.2	<i>Vitamina E</i>	124
4.4.2.3	<i>Vitamina C</i>	127
4.5	METABOLISMO LIPÍDICO	130
4.5.1	Ácidos Grasos	132
4.5.2	Ácidos Grasos saturados.....	135
4.5.3	Ácidos Grasos monoinsaturados	137
4.5.4	Ácidos Grasos poliinsaturados	139
4.5.5	Índices de desaturación lipídica	142
4.6	VÍAS DE ELIMINACIÓN	144

5	DISCUSIÓN	148
5.1	CAMBIOS DEL HEMATOCRITO	148
5.2	VALORACIÓN DEL RENDIMIENTO FÍSICO.....	150
5.2.1	Capacidad y potencia anaeróbica	150
5.2.2	Test ergométrico incremental máximo.....	151
5.2.3	Test ergométrico de estado estable 80% VO ₂ máx	155
5.3	VALORACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO Y SISTEMAS ANTIOXIDANTES.....	158
5.3.1	Peroxidación lipídica	158
5.3.2	Respuesta antioxidante.....	161
5.4	VALORACIÓN DE LOS CAMBIOS METABÓLICOS	164
5.5	VÍAS DE ELIMINACIÓN	168
6	CONCLUSIONES	171
7	BIBLIOGRAFÍA	175

INTRODUCCIÓN



1 INTRODUCCIÓN

1.1 GENERALIDADES

La cafeína es una sustancia de “uso social” con una buena aceptación dentro de nuestra población. Son muchos los productos de fácil disponibilidad donde se puede encontrar esta sustancia que van desde componentes habituales de nuestra dieta como el café, chocolate, té o refrescos de cola hasta medicamentos genéricos utilizados para aliviar los síntomas del resfriado, dolores diversos, etc.

Estos hechos junto con indicios de un efecto ergogénico sobre distintas actividades deportivas así como su reciente eliminación de las listas de productos y sustancias prohibidas por el COI, hacen de ella un producto estrella para su uso en el deporte proliferando cada vez mas los preparados y suplementos deportivos que contienen cafeína como bebidas o barras energéticas.

No obstante, el uso continuado de la cafeína conlleva a una habituación en el organismo, dependiente cada vez mas de esta sustancia y con necesidades superiores para mantener efectos de similar magnitud. Este uso podría conllevar a posibles efectos secundarios adversos, así como modificaciones en los efectos de la actividad física en seres humanos.

Las distintas respuestas ante dosis similares de cafeína hacen pensar una individualidad en cuanto al efecto de la cafeína en distintos sujetos y actividades, por ello y los motivos expuestos anteriormente, se ha elaborado esta tesis con la intención de identificar la forma mas correcta de utilización de la sustancia y cuáles son sus efectos en seres humanos, sujetos no entrenados y deportistas de élite, sobre distintos parámetros que evaluarán el rendimiento deportivo en distintas actividades y la salud bajo diferentes parámetros fisiológicos.

Tampoco podríamos olvidar el estudio de las vías de eliminación de la sustancia que conjuntamente al análisis del poder ergogénico y el potencial riesgo para la salud será un buen apoyo para determinar si es acertado o no esa eliminación de la cafeína como sustancia dopante o por el contrario si debería mantener ciertas restricciones de uso.

1.2 ACTIVIDAD FÍSICA Y ORGANISMOS BIOLÓGICOS

1.2.1 Ejercicio anaeróbico

Por actividad anaeróbica entendemos aquella donde la principal fuente de producción de energía es mediante metabolismos carentes de oxígeno entre los que se encuentran el metabolismo glucolítico láctico y el metabolismo de los fosfatos de alta energía.

El metabolismo de los fosfatos de alta energía se fundamenta en la ruptura del enlace fosfato de una molécula de fosfato de creatina, liberando una gran cantidad de energía de forma rápida pudiendo ser aprovechada para el movimiento, con el inconveniente de su rápido agotamiento, cercano a los 6-8 segundos (Wilmore & Costill, 1998).

El metabolismo glucolítico anaeróbico permite la utilización de la glucosa como fuente de energía con una mayor velocidad en la obtención de energía frente al metabolismo aeróbico pero por el contrario un menor aporte energético total y una acumulación de ácido láctico como consecuencia de la no participación en la vía aeróbica del ácido pirúvico (Lozano, 2000a), este hecho generará una acidosis metabólica si la intensidad de ejercicio es mantenida lo cual obligará a una interrupción del ejercicio o disminución en la intensidad de ejecución.

Una manera de cuantificar el ejercicio anaeróbico es mediante el cálculo de la deuda de oxígeno post esfuerzo, sin embargo esta deuda no sólo refleja la activación del metabolismo anaeróbico durante el esfuerzo sino también la recuperación de otros aspectos relacionados con la actividad física como son termorregulación, eliminación de CO₂, etc, por lo que resultaría de mayor interés el cálculo del déficit de oxígeno al comienzo del esfuerzo (Wilmore & Costill, 1998) como método de cuantificación de la contribución anaeróbica al ejercicio.

No obstante como principal indicador de la activación del metabolismo anaeróbico se puede utilizar el análisis del lactato sanguíneo que con una metodología correcta aporta una gran sensibilidad, sencillez y fiabilidad (Bishop & Martino, 1993).

1.2.2 Ejercicio aeróbico

La palabra aeróbico significa en presencia de oxígeno por tanto se entiende como ejercicio aeróbico aquella actividad donde la energía consumida proviene predominantemente de la combustión de sustratos metabólicos gracias al oxígeno, entre ellos encontramos las grasas, proteínas y los hidratos de carbono.

Los hidratos de carbono sufren un proceso glucolítico que da lugar a la transformación de glucosa en piruvato para que éste pueda introducirse en el ciclo de Krebs y posteriormente aprovechar la cadena de transporte de electrones produciendo la energía necesaria para la actividad física con un ratio de resíntesis de 39 moléculas de ATP por cada mol de glucógeno (Lozano, 2000a), lo cual le permitirá ser el combustible principal para actividades aeróbicas de alta intensidad.

Las grasas siguen la misma ruta metabólica que los hidratos de carbono a partir del ciclo de Krebs, no obstante es necesario previamente la beta-oxidación de los ácidos grasos, siendo capaces de producir energía necesaria para resintetizar 129 moléculas de ATP por 1 molécula de ácido palmítico, un ácido graso cuya cadena está compuesta por 16 átomos de carbono, obteniendo mayor cantidad de energía a razón de mayor longitud en la cadena carbonada (Galindo, 2000) del ácido graso, así pues la utilización de las grasas como fuente de energía queda reservado para actividades aeróbicas de larga duración y menor intensidad.

Las proteínas, aunque su función no es primordialmente energética, sí pueden participar bajo ciertas circunstancias como combustible metabólico dando lugar a ciertas transformaciones en algunos aminoácidos que permiten su conversión en glucógeno, proceso conocido como neoglucogénesis (Lozano, 2000b).

Así pues una actividad física aeróbica de mayor intensidad requerirá un mayor gasto energético y por tanto un mayor consumo de oxígeno que será el reflejo de la capacidad de transporte y utilización del mismo por parte del organismo.

La manera utilizada para cuantificar un ejercicio aeróbico es mediante la valoración del consumo de oxígeno, considerándolo de carácter máximo cuando se alcanza la mayor utilización de éste y submáximo al trabajar a una intensidad relativa referida al máximo alcanzado (Wilmore & Costill, 1998).

1.2.3 Ácidos grasos y ejercicio físico

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal cuyo número de átomos de carbono se sitúa entre 4 y 24, siendo los más abundantes aquellos con cadenas comprendidas entre 14 y 20 carbonos (Galindo, 2000).

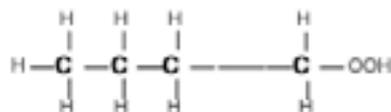


Figura 1. Estructura básica de los ácidos grasos

Así pues los ácidos grasos se pueden catalogar según la longitud de su cadena carbonada como:

- *Ácidos grasos de cadena corta:* hasta 12 átomos de carbono.
- *Ácidos grasos de cadena media:* entre 12 y 18 átomos de carbono.
- *Ácidos grasos de cadena larga:* a partir 18 átomos de carbono.

Cuando todos los enlaces que se presentan en la cadena son simples, se habla de un ácido graso saturado. Si aparece un doble o triple enlace entre los átomos de carbono rompiendo pues la unión con el hidrógeno, serán ácidos grasos monoinsaturados. Al repetirse varias veces estas insaturaciones tendremos un ácido graso poliinsaturado.

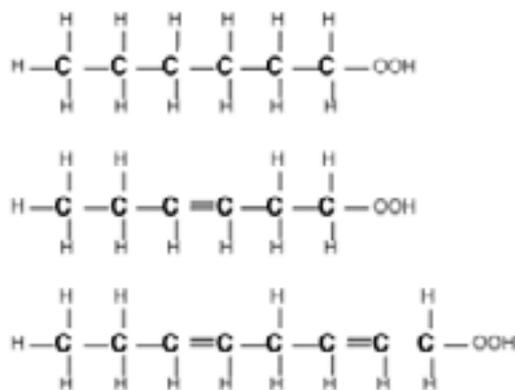


Figura 2. Ácidos grasos saturados, monoinsaturados y poliinsaturados

La forma escrita de representar a un ácido graso se realiza mediante la nomenclatura **C m:n** , donde *m* representa el número de átomos de carbono y *n* el número de insaturaciones. Es común incluir el prefijo $\Delta^{i,j,\dots}$ indicando (*i, j, ...*) la posición de las distintas insaturaciones.

A modo de ejemplo tenemos el *ácido linoleico* que sería el $\Delta^{9,12}$ C_{18:2}.

Los ácidos grasos poliinsaturados se agrupan bajo una nomenclatura diferente en función de la posición del doble enlace a partir del grupo metilo terminal reflejada por un sufijo, 3 ó 6, bajo la letra ω .

NOMBRE	NOMENCLATURA
Mirístico	C ₁₄
Palmitico	C ₁₆
Esteárico	C ₁₈
Araquidónico	C ₂₀
Palmitoleico	C _{16:1}
Oleico	C _{18:1}
Linoleico	C _{18:2}
Linolénico	C _{18:3}
Araquidónico	C _{20:4}
Lignocérico	C _{24:0}

Tabla 1. Principales ácidos grasos

Los ácidos grasos tienen un papel importante durante la actividad física, pues sirven como combustible metabólico a intensidades bajas y moderadas equivalentes a un cociente respiratorio de 0.7 (Davies & Thompson, 1979).

Los ácidos grasos son movilizados del tejido adiposo y oxidados en la mitocondria, su velocidad de oxidación vendrá determinada, en parte, por los aumentos de su concentración sanguínea y su regulación adrenérgica (Hangenfeldt, 1979; Arner *et al.*, 1990).

La concentración de ácidos grasos plasmáticos aumenta con el ejercicio mantenido y depende de los contenidos de albúmina, la cual sirve de transportador de los ácidos grasos. No obstante su concentración es un reflejo del grado de movilización de los mismos y de su tasa de oxidación, por lo que su valor estacionario en un momento determinado dirá poco sobre sus velocidades de utilización.

La ruta metabólica mediante la cual los ácidos grasos son utilizados durante la actividad física, es la de la beta oxidación, descrita en el apartado anterior.

1.2.4 Radicales libres y actividad física

Un radical libre es una molécula o un único átomo que posee un electrón desapareado y se expresa mediante por un punto oscuro "•". Al tratar de emparejarse los electrones para conseguir un nivel de energía estable aumentarán la reactividad de las moléculas a las que pertenezcan.

En los sistemas biológicos los radicales libres suelen ser moléculas de oxígeno o formadas en gran medida por éste, así pues son denominadas especies reactivas del oxígeno (ROS).

Los radicales libres de oxígeno son unas sustancias químicas muy inestables, con una fuerte reactividad y una gran actividad como aceptores de electrones oxidantes motivo que les implica en la producción de daño a diferentes moléculas del organismo (Halliwell, 1994).

La formación de radicales libres es un proceso normal e inevitable tanto en situaciones de reposo, como en otras asociadas a la actividad física (Jenkins, 1993).

Son muchos los distintos tipos de radicales libres existentes, donde los mas importantes son:

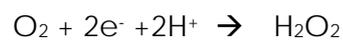
Anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$)

Poco reactivo pero potencialmente tóxico al poder generar otros radicales libre de oxígeno iniciando reacciones.

Peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

A pesar de no ser un radical libre, difunde a través de las membranas celulares y puede generar ROS de dos maneras:

a) tras la reducción directa del oxígeno por dos electrones



b) mediante la dismutación del ión superóxido



Radical hidroxilo (•OH)

Es la especie más reactiva (Liochev & Fridovich, 1994). Su formación viene derivada de la reacción de Fenton:



O a partir del agua oxigenada y del radical superóxido mediante la reacción de Haber-Weiss:

**Radical peroxilo (ROO•).**

Son los radicales más abundantes en los sistemas biológicos. Se originan a partir de la adición del oxígeno a prácticamente cualquier radical hidrocarbonado.



Oxígeno singlete ($1 O_2$)

Es una forma excitada del oxígeno molecular. Puede interaccionar con otras moléculas transfiriéndoles su energía de excitación o combinándose químicamente con ellas.

Óxido nítrico ($\bullet NO$)

Es un gas lipofílico e hidrosoluble. Se forma enzimáticamente a partir de la arginina (Moncada & Higgs, 1991) cuando las concentraciones de $\bullet NO$ aumentan, provocando efectos indirectos a través de sus metabolitos pudiendo reaccionar con el oxígeno o el radical superóxido.

Las fuentes de producción de radicales libres son diversas pudiendo tener origen exógeno o endógeno. Las fuentes exógenas pueden ser factores ambientales contaminantes, solventes, anestésicos o hidrocarburos aromáticos que se convierten en radicales mediante el metabolismo celular y los procesos de desintoxicación u otros agentes que ya poseen radicales libres como puede ser el humo del tabaco (Mason, 1982).

Las fuentes de producción endógenas son:

- *Auto oxidación de pequeñas moléculas.*

- *Enzimas solubles y proteínas* como xantina oxidoreductasa, aldehído oxidasa o triptófano dioxigenasa, que generan radicales libres durante su ciclo.

- *Cadena de transporte electrónico mitocondrial.* Estos orgánulos son responsables de más del 90% del consumo de oxígeno.

- *Peroxisomas.* Fuentes celulares de producción de peróxido de hidrógeno debido a su alta concentración en oxidasas.

- *Membrana plasmática* mediante la peroxidación lipídica de sus ácidos grasos insaturados.

Las células, para combatir el ataque de los radicales libres, disponen de unos mecanismos de defensa denominados sistemas antioxidantes. Cuando estos sistemas son incapaces de neutralizar las acciones oxidativas se producirá en mayor o menor medida un daño celular (Jenkins, 1993).

A esta incapacidad de actuación de los mecanismos antioxidantes frente a los radicales libres se le denomina **estrés oxidativo**.

El estrés oxidativo marca sus efectos en distintos tejidos, donde resaltamos los daños sobre los lípidos.

El mayor efecto producido por los radicales libres en los lípidos es la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados provocando una disfunción en las membranas celulares de las que forman parte (Cross *et al.*, 1987).

El proceso se inicia mediante el radical hidroxilo, el radical hidroperoxilo y quizá el oxígeno singlete. El radical libre extrae un átomo de hidrógeno de uno de los carbonos metileno de la cadena del ácido graso, dejando un electrón no apareado, con lo cual se genera un radical lipídico. Este radical lipídico sufrirá un reordenamiento molecular para producir un dieno conjugado, que reacciona con el oxígeno molecular produciendo un radical hidroperoxilo. Este radical puede a su vez extraer un átomo de hidrógeno de un carbono metileno de otro ácido graso poliinsaturado para formar un nuevo radical lipídico y un hidroperóxido lipídico. El radical lipídico entonces se combina con otra molécula de oxígeno y se dará lugar a una reacción en cadena.

Los productos finales de la peroxidación lipídica son aldehídos, gases hidrocarbonados y varios residuos químicos, donde resaltamos el malondialdehído (MDA).

Estos desechos metabólicos pueden difundir lejos de su origen y ocasionar edema celular, además de influir sobre la permeabilidad vascular, inflamación y quimiotaxis.

Para diagnosticar el daño producido por las especies oxidativas, resulta complicado medir sus niveles en fluidos biológicos ya que su vida media es de fracciones de segundo, por este motivo se recurre a la cuantificación de distintos marcadores indirectos entre los que destacan: Malondialdehído (MDA) (Noberasco *et al.*, 1991) como marcador de peroxidación lipídica, incrementos de las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) (Halliwell & Grootveld, 1987), dienos conjugados (Vasankari *et al.*, 1995) o modificaciones en orina del nucleosido 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina como marcador de daño oxidativo en el ADN) (Shigenaga *et al.*, 1989).

RADICALES LIBRES Y EJERCICIO FÍSICO

La intensidad del ejercicio es un factor importante relacionado con la producción de radicales libres, por tanto durante los últimos años se han estudiado los efectos y diferencias existentes entre ejercicios de máxima intensidad, hasta el agotamiento, y ejercicios de intensidad submáxima, sobre los marcadores de estrés oxidativo y la respuesta antioxidante del organismo.

El ejercicio físico agotador se ha visto que aumenta la producción de radicales libres (Sjodin *et al.*, 1990) generando fatiga muscular y ciertos cambios indicativos de estrés oxidativo en el músculo esquelético y en otros órganos como el hígado (Sen *et al.*, 1994).

Así pues parece ser que la intensidad de esfuerzo es el factor que predomina sobre la duración en cuanto a la generación de daños celulares ocasionados por el estrés oxidativo, como puede ser la peroxidación lipídica (McBride *et al.*, 1998; Thompson *et al.*, 2001).

No obstante en otras actividades donde la intensidad de los esfuerzos se situaba alrededor del 65% del VO₂ máximo con duraciones que variaban de 30 minutos hasta las 2 horas también se observaban incrementos en los

niveles de MDA (Kanter *et al.*, 1993; Clarkson & Thompson, 2000; Mastaloudis *et al.*, 2001).

Las principales causas de la producción de radicales libres por los distintos tipos de ejercicio físico son:

Un aumento en el metabolismo oxidativo para satisfacer las demandas energéticas, lo cual provocará una mayor *utilización del oxígeno en la cadena de transporte electrónico*, actuando éste como aceptor de electrones en el proceso de respiración mitocondrial (Shigenaga *et al.*, 1994).

La liberación de *catecolaminas* aumentada durante el ejercicio con lleva a una mayor auto oxidación de éstas dando lugar a la formación de radicales libres (Jewett *et al.*, 1989).

Aumentos de la producción de radicales libres por la acción de la xantinaoxidoreductasa (Heunks *et al.*, 1999) con motivo de un incremento en las concentraciones de la enzima.

La xantinaoxidoreductasa se puede alterar ante distintas situaciones de esfuerzo que desencadenen la activación del ciclo de las purinas ante déficits en el proceso de síntesis de ATP muscular (Bangsbo, 1994) o que induzcan a cambios metabólicos de la hipoxantina (Hellsten-Westing *et al.*, 1991). Normalmente estas actividades suelen ser de alta intensidad o pueden incluir procesos de isquemia - reperfusión.

Producción de radicales libres secundariamente a la ruptura de proteínas que contienen hierro, como son la mioglobina o hemoglobina, mediante la capacidad del hierro para catalizar reacciones de producción de radicales libres (Halliwell & Gutteridge, 1985) o mediante la interacción con peróxidos son responsables significativamente del estrés oxidativo producido durante el ejercicio físico (Cooper *et al.*, 2002).

1.2.5 Sistemas antioxidantes

Para hacer frente al ataque de los radicales libres y el consecuente daño celular, el organismo cuenta con una serie de respuestas de defensa denominados sistemas antioxidantes. El mecanismo de actuación reside en la capacidad de competir con otros sustratos oxidables y por tanto retrasar o inhibir la oxidación de dichos sustratos (Halliwell & Gutteridge, 1985).

Los sistemas antioxidantes se enmarcan bajo dos tipos:

1. Sistemas antioxidantes *enzimáticos*
2. Sistemas antioxidantes *no enzimáticos*

Antioxidantes enzimáticos

Son diversas enzimas celulares específicas para la neutralización de las especies reactivas.

Superóxido dismutasa (SOD)

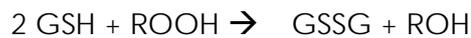
Es la primera defensa contra el radical superóxido, la cual lo transforma en agua oxigenada.



En el ser humano existen tres isoenzimas: la CuZn-SOD localizada en el citosol, la Mn-SOD ubicada en la matriz mitocondrial, y la ecSOD que es extracelular.

Glutación peroxidasa (GPX)

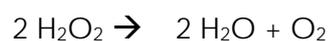
Esta enzima reduce el agua oxigenada o el hidroperóxido orgánico a agua y alcohol respectivamente utilizando el glutatión reducido (GSH) como donante de electrones:



Se ubica en el citosol, en la mitocondria y en la membrana celular, lo que la hace ser un mecanismo de protección celular importante contra el daño oxidativo producido a lípidos de membrana, proteínas y ácidos nucleicos.

Catalasa

Su función es la descomposición del agua oxigenada de la siguiente manera:



Realiza la misma función que la GPX pero con menor afinidad por el H_2O_2 . Por ello a bajas concentraciones la GPX juega un papel más importante que la catalasa.

Esta enzima se distribuye en toda la célula, aunque se encuentra en grandes concentraciones en los peroxisomas y en las mitocondrias.

Tioredoxina

La tioredoxina es una oxidoreductasa que cataliza la reducción de puentes disulfuro, con lo que juega un papel importante en la regulación del estado redox de los tioles de las proteínas (Sen, 1998).

Es un sistema antioxidante compuesto por tres proteínas: tioredoxina, tioredoxina reductasa y la tioredoxina peroxidasa.

Glutaredoxina

Es una oxidoreductasa relacionada con la protección y reparación de los tioles proteicos y no proteicos al igual que la tioredoxina.

La glutaredoxina forma un ciclo con el glutatión y la glutatión reductasa, con la posibilidad de que el glutatión oxidado sea reducido también por la glutaredoxina (Starke *et al.*, 1997).

Antioxidantes no enzimáticos

Glutation (GSH)

El GSH interactúa con una amplia gama de radicales libres cediendo un protón (Yu, 1994).

Una de las funciones antioxidantes más importantes del GSH es la eliminación de H₂O₂ y peróxidos orgánicos en la reacción catalizada por la GPX descrita con anterioridad.

El GSH también está implicado en la reducción de varios antioxidantes celulares, como son el radical de la vitamina E y de la vitamina C (Niki *et al.*, 1995).

Vitamina E

La vitamina E es el antioxidante más abundante en la naturaleza agrupando en ocho isómeros estructurales de tocoferoles y tocotrienoles. Entre ellos destaca el alfa-tocoferol por poseer la mayor actividad antioxidante (Burton & Traber, 1990).

Debido a su alta liposolubilidad, la vitamina E se asocia a membranas ricas en lípidos, como la membrana mitocondrial, retículos plasmáticos o la membrana plasmática (Bowles *et al.*, 1991).

La acción antioxidante de la vitamina E se basa en su capacidad para neutralizar los radicales superóxido, hidroxilo y lipoperoxilo a formas menos reactivas, además de ser capaz de romper la reacción en cadena de lipoperoxidación que ataca a las membranas celulares (Burton & Traber, 1990).

Al neutralizar la vitamina E a un radical se produce la formación del radical vitamina E, disminuyendo así contenido celular de ésta. El radical vitamina E se recicla a vitamina E mediante antioxidantes como el glutatión o el ascorbato (Burton & Traber, 1990).

Vitamina A

Es un antioxidante para medios lipídicos gracias a su corta cadena de polieno que le permite moverse con facilidad en la membrana plasmática combatiendo la peroxidación lipídica rompiendo el ciclo de ésta interactuando con los radicales peroxilo (Palace *et al.*, 1999).

Sus formas activas son el retinol, el retinal y el ácido retionico, sustancias que se acumulan en el organismo y en altas dosis pueden ser potencialmente tóxicas (Rothman *et al.*, 1995).

Es transportada en sangre mediante proteínas transportadoras, así como es imposible su síntesis en el organismo, siendo necesaria su ingesta mediante la dieta (Palace *et al.*, 1999).

Carotenoides

Son antioxidantes liposolubles situados en las membranas celulares. Sus propiedades antioxidantes residen en la estructura de largas cadenas con dobles enlaces conjugados. Por ello pueden neutralizar diversos ROS como el radical superóxido o radicales peroxilo (Sundquist *et al.*, 1994).

Los carotenoides son capaces de reducir la peroxidación lipídica inducida por radicales libres (Krinsky & Deneke, 1982) y en gran medida son precursores de la vitamina A (Handelman, 2001).

Vitamina C

También denominada ácido ascórbico, es hidrofílica y actúa en medios acuosos. A pH fisiológico se encuentra como anión ascorbato. Está presente en la mayoría de tejidos y es especialmente abundante en el tejido adrenal (Yu, 1994).

La vitamina C juega un doble papel. Por un lado funciona como agente antioxidante capaz de neutralizar los radicales superóxido, hidroxilo y lipohidroperóxido. Por otro lado actúa como agente fundamental en la regeneración de la vitamina E (Packer *et al.*, 1979).

Aumentos en los niveles celulares de vitamina C incrementan la protección frente a los radicales libres, no obstante a altas concentraciones puede tener un efecto pro-oxidante en presencia de metales de transición como el hierro o el cobre.

Este mecanismo pro-oxidante se fundamenta en la capacidad para reducir el hierro férrico a ferroso, el cual es un potente inductor de radicales. Por este motivo han sido cuestionada por algunos autores la megadosis de vitamina C (Yu, 1994).

Ácido α -lipoico

Es un compuesto natural que actúa como cofactor de complejos α -dehidrogenasa y participa en reacciones de transferencia de grupos que contienen azufre. Se encuentra a bajas concentraciones en tejidos animales y está unido habitualmente a complejos enzimáticos, por lo que resulta difícil su disponibilidad como antioxidante (Packer, 1994).

El ácido α -lipoico exógeno y libre puede tener un papel importante como antioxidante participando en el reciclaje del ascorbato (Kagan *et al.*, 1992).

Ácido Úrico

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas hasta su degradación en urea.

Participa en acciones neutralizadoras de radicales hidroxilo, oxígeno singlete, oxidantes oxohemoglobínicos, radicales hidroperóxilos y del ácido hipocloroso (Becker, 1993).

SISTEMAS ANTIOXIDANTES Y EJERCICIO FÍSICO

En aquellas actividades de intensidad máxima o hasta la extenuación, se encuentran cambios en los niveles plasmáticos de antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Dekkers *et al.*, 1996; Ashton *et al.*, 1999).

Con respecto a la respuesta de los sistemas antioxidantes no enzimáticos (vitamina E, C, y A), los estudios encontrados no revelan datos esclarecedores, puesto que la mayoría de ellos estudian los efectos de la suplementación de estas vitaminas sobre parámetros de estrés.

Data la existencia de algunos trabajos en los cuales se observan incrementos en los niveles de vitamina C (Thompson *et al.*, 2001) y descensos en los niveles de vitamina E (Surmen-Gur *et al.*, 1999), así como estudios en animales con descensos en los niveles de vitamina C (Koz *et al.*, 1992).

Por otro lado, referente a la respuesta del organismo ante esfuerzos de intensidad submáxima, tampoco se obtienen resultados concluyentes, sobre todo porque las diferencias en los protocolos utilizados varían de unos a otros.

Es bastante común encontrar incrementos de vitamina C al finalizar el ejercicio (Gleeson *et al.*, 1987; Rokitzki *et al.*, 1994; Kaikkonen *et al.*, 1998) y respuesta dispar en el comportamiento de la vitamina E, con descensos (Mastaloudis *et al.*, 2001) y mantenimiento de niveles (Viguie *et al.*, 1993).

En actividades submáximas pero de mayor intensidad, comprendida entre el 75 y el 80% del VO₂ máximo, se encuentran resultados diversos, no hallándose modificaciones en los niveles de vitamina C, E y ácido úrico tras el ejercicio, habiendo realizado la corrección de los datos con la modificación del hematocrito (Meydani *et al.*, 1993).

1.3 CAFEÍNA

1.3.1 Estructura química

La cafeína es un alcaloide catalogado dentro del grupo de las metilxantinas. Estas sustancias tienen por núcleo común una xantina, proveniente de la unión de dos átomos de oxígeno a una purina, a la cual se enlazan en diversas posiciones de su anillo diversos grupos (Litter, 1973).

La cafeína es considerada una trimetilxantina puesto que posee en su estructura tres metilaciones a nivel de los átomos de nitrógeno heterocíclico, ubicadas en las posiciones 1, 3 y 7. Existen sustancias similares denominadas dimetilxantinas que tan sólo unen a su núcleo principal dos grupos metilo, ejemplos de ellas son la teofilina que abunda en el té, la teobromina que abunda en el cacao, y la paraxantina, que ubican sus metilaciones en las posiciones 1-3, 3-7 y 1-7 respectivamente.

Las estructuras químicas de la purina, xantina y las distintas metilxantinas vienen reflejadas en las figuras 3-8.

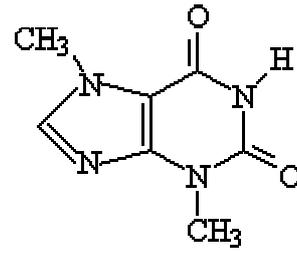
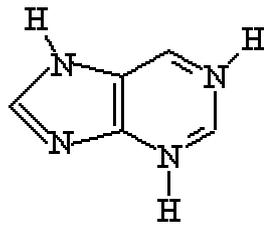


Figura 3. Estructura química de la Purina. Figura 6. Estructura química de la Teobromina.

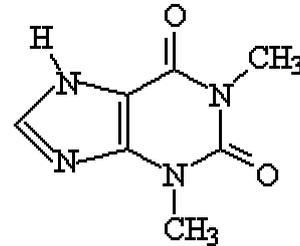
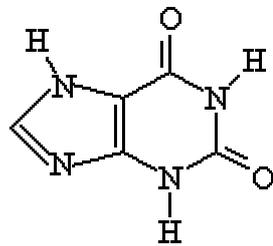


Figura 4. Estructura química de la Xantina. Figura 7. Estructura química de la Teofilina.

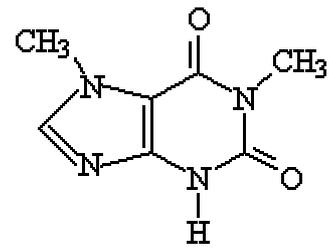
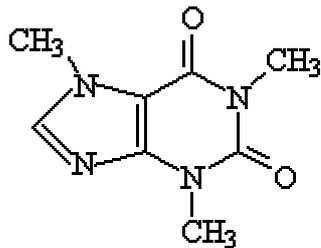


Figura 5. Estructura química de la Cafeína. Figura 8. Estructura química de la Paraxantina.

1.3.2 Metabolismo y eliminación

Tras la ingesta de cafeína, sus mayores valores plasmáticos se alcanzan en torno a la hora de haber sido ingerida, sin embargo esta sustancia posee una vida media que puede llegar hasta las 9 horas (Somani & Gupta, 1988) y donde el efecto ergogénico puede variar según el periodo transcurrido desde su ingesta (Bell & McLellan, 2002).

Una vez dentro del organismo, la cafeína se metaboliza lentamente en el hígado mediante la acción del complejo citocromo P450 dando lugar a un proceso de demetilación cuyo resultado es la transformación en dimetilxantinas: teofilina, teobromina y sobre todo paraxantina en mas de un 70%. Estos compuestos actuarán sobre diversos tejidos ocasionando los distintos efectos atribuidos a la cafeína (Graham *et al.*, 1994).

Los procesos de metabolización hepática de la cafeína activan enzimas como la N-acetiltransferasa o la xantina oxidasa que pueden ser responsables de una activación del potencial tóxico de la formación de radicales libres de oxígeno (Vistisen *et al.*, 1992).

La excreción de la cafeína se realiza a través de la orina y el sudor. Al haber sido una sustancia de uso restringido en materia de dopaje, regido por el COI, la tasa establecida hasta el año 2004 era de 12 μg de cafeína por ml de orina, siendo en la actualidad una sustancia permitida.

La metabolización de la cafeína da lugar a más de 25 metabolitos distintos, donde sólo el 5% es excretado en orina como cafeína (Somani & Gupta, 1988). Los diversos estudios muestran un término medio de excreción de 1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por cada 100 mg de cafeína ingerida y por tanto solamente se excedería el viejo límite de los 12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ con altas dosis de cafeína (Pasman *et al.*, 1995). No obstante la eliminación de la cafeína por la orina parece verse afectada por multitud de factores como el tiempo de ejercicio, el tipo de prueba, el sexo del deportista, el peso o simplemente el tiempo de retraso hasta la realización del control (Duthel *et al.*, 1991).

Otros aspectos como la excesiva sudoración parecen no afectar la eliminación urinaria de la cafeína (van der Merwe *et al.*, 1992) mientras que la adición de la cafeína en bebidas electrolíticas con carbohidratos (Kovacs *et al.*, 1998) o la repartición en diversas tomas de la dosis de cafeína (Conway *et al.*, 2003) pueden contribuir a una menor tasa urinaria.

1.3.3 Hábitos de consumo

La cafeína es consumida por más de un 80% de la población americana en torno a los 200 mg diarios (Graham, 1978), mientras que en Europa es consumida a razón de una media diaria de 125 mg / día (Griffiths & Woodson, 1988).

Su aceptación social, la fácil disponibilidad, el bajo precio y la reciente exclusión de las listas de sustancias prohibidas, hacen de la cafeína una sustancia de bastante interés y uso para los deportistas (Sinclair & Geiger, 2000). Desde finales del siglo XIX se viene utilizando la cafeína como ayuda ergogénica, sobre todo en deportistas de fondo, pero el verdadero "boom" surgió a finales de los años 70 cuando diversos estudios científicos demostraron un gran poder ergogénico en pruebas de resistencia (Costill *et al.*, 1978).

Son muchos los productos donde se puede encontrar cafeína, desde medicamentos, refrescos o alimentos que forman parte de nuestra dieta hasta suplementos dietéticos para la pérdida de peso. Cada uno de ellos lleva una cantidad de cafeína distinta por término medio que se aprecia por unidad de consumo en las tablas 2 y 3.

PRODUCTO	CAFEÍNA (mg)
Café de "máquina"	80
Café soluble	71
Café descafeinado	4
Té	40
Cacao	5
Chocolate	35
Coca - Cola	46
Pepsi	38
Red - Bull	80

Tabla 2. Diversos productos y sus contenidos de cafeína (Mandel, 2002)

MEDICAMENTO	CAFEÍNA (mg)
Durvitan	300
Cafergot	100
Desenfriol	32
Hemicraneal	100
Ilvico	30
Saldeva	50

Tabla 3. Diversos medicamentos y sus contenidos de cafeína (Vademecum)

No obstante a pesar de disponer de cafeína en muchos productos, algunos de ellos como el café contienen ciertos componentes que pueden atenuar el efecto de la misma, siendo ésta mas efectiva cuando se consume de forma anhidra (Graham *et al.*, 1998).

Al trabajar con dosis de cafeína siempre se debe ir referenciado al peso corporal y por tanto hablar de dosis relativas expresadas en mg/kg de peso y mas concretamente referidas al peso magro pues la cafeína no es soluble en lípidos. En las investigaciones existentes son diversas las cantidades empleadas que van desde 2 hasta 13 mg/kg, planteándose la duda de cuál es la cantidad mas efectiva. El estudio mas representivo nos indica que a partir de los 5 mg/kg no parece incrementarse el efecto ergogénico mientras que si su tasa urinaria (Pasman *et al.*, 1995); en otros estudios se aprecia el modo en el cual según se incrementaba la dosis, el efecto ergogénico era mayor (Kovacs *et al.*, 1998). Por tanto parece que las dosis óptimas rondarían los 3-6 mg/kg, pues incrementando estas dosis comenzarían a aparecer diversos efectos secundarios, y de este modo se evitarían los perjuicios que puede acarrear el uso de grandes dosis de cafeína como úlceras o problemas cardiovasculares (Lamarine, 1994).

Referente a la posibilidad de repartir la dosis de cafeína en varias tomas, encontramos como éste método no proporcionará un beneficio ergogénico pero si puede reducir la tasa urinaria de eliminación tras el esfuerzo (Conway *et al.*, 2003).

No se pueden tomar a la ligera estas consideraciones, pues hasta el año 2004 la cafeína era una sustancia de uso restringido y su contenido máximo urinario permitido era de 12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ en cuanto a un control de dopaje se refiere, el equivalente a un consumo de 800 mg aproximadamente y según circunstancias. En la actualidad está permitido el uso de cafeína aunque vigilado, con la posibilidad de volver a ser introducida en la lista de sustancias prohibidas en caso que se denote un excesivo consumo por parte de los deportistas.

Al hablar de la cafeína como un producto común en la dieta se puede pensar que su consumo diario podría conducir a adaptaciones metabólicas y por tanto provocar diferentes efectos en sujetos consumidores habituales de cafeína y generar diferencias respecto a los no habituales, así como pudiendo ser necesario un ayuno previo de cafeína ante una intención de uso ergogénico.

Las investigaciones al respecto muestran dos tendencias, por un lado aquellas que apoyan una indiferencia respecto a la habituación hacia la cafeína y su poder ergogénico. No se aprecian diferencias de aumento de FFA en sangre entre consumidores habituales y no habituales (Van Soeren & Graham, 1998), así como tampoco existen diferencias en el potencial metabólico o neuromuscular (Tarnopolsky *et al.*, 1989). En consumidores habituales tampoco se encuentran adaptaciones enzimáticas a la cafeína que puedan aumentar el rendimiento (Bangsbo *et al.*, 1992).

Por otra parte existen estudios que favorecen a aquellos que no consumen cafeína (Hetzler *et al.*, 1994) o hacen ayuno de ésta (Fisher *et al.*, 1986) sobre todo aumentando la lipólisis. Estudios recientes encuentran una posibilidad de ventaja en los no consumidores incluso hasta 6h después de la ingesta de cafeína (Bell & McLellan, 2002).

Otras diferencias existentes hacen referencia hacia una mayor producción de teofilina por consumidores habituales y por parte de los no habituales una mayor producción de paraxantina, lo que teóricamente aumenta los FFA en sangre (Van Soeren *et al.*, 1993), o bien una mayor potenciación y distribución de la cafeína en consumidores habituales (Collomp *et al.*, 1991b).

Un aspecto de interés y digno de reseñar referente a los hábitos de consumo de la cafeína son los posibles efectos o modificaciones que se pueden dar junto con la combinación y uso de otros productos.

Así pues encontramos un efecto analgésico provocado por la cafeína gracias a la atenuación de la percepción del esfuerzo, que se verá aumentado por la combinación con antiinflamatorios no esteroideos al potenciar la acción de éstos (Sawynok & Yaksh, 1993). Otros efectos sumatorios pueden ser la combinación con efedrina, lo cual provocará un mayor efecto ergogénico de ambas sustancias sobre todo gracias al

incremento del metabolismo (Dulloo & Miller, 1989) y la estimulación del sistema nervioso a nivel central que permitirá aumentar el tiempo de extenuación (Bell *et al.*, 1998) aunque en ciertas situaciones no mejore la marca deportiva (Bell *et al.*, 2002).

No obstante, existe la posibilidad de generar un efecto negativo en combinación con otros productos, y este es el caso de creatina, donde su ingesta combinada parece dificultar las cargas musculares buscadas con el consumo de la misma (Vandenberghe *et al.*, 1996).

1.3.4 Mecanismos de acción

La cafeína ha sido identificada como una sustancia que favorece la movilización de grasas y por tanto retrasa el uso y posterior depleción de glucógeno muscular en ciertas actividades aeróbicas, residiendo aquí su principal mecanismo de actuación y beneficio ergogénico (Graham, 2001).

Esta teoría ha sido adoptada por el mundo científico durante 2 décadas debido a la orientación de las diferentes investigaciones, sin embargo las últimas tendencias abogan por diferentes mecanismos de actuación de la cafeína, la cual parece afectar a la mayoría de tejidos del organismo, siendo la teoría de la movilización de ácidos grasos bastante

pobre para explicar los múltiples efectos que conlleva la ingestión de cafeína.

Así pues existen tres modelos que aúnan los diversos modos de acción de la cafeína en el organismo:

1. Modelo de actuación a nivel metabólico
2. Modelo de actuación a nivel muscular
3. Modelo de actuación a nivel central

1. Mecanismo de actuación metabólico

Los estudios que avalan el mecanismo metabólico se fundamentan en un aumento de la producción de adrenalina originado por la ingestión de cafeína. De esta manera la acción de la adrenalina sobre el tejido graso conllevará a una mayor movilización de ácidos grasos para obtener energía que permitirá ahorrar glucógeno muscular (Costill *et al.*, 1978; Essig *et al.*, 1980), que a la postre podrá permitir un aumento del rendimiento físico, sobre todo en actividades aeróbicas.

Esta teoría, además de ser incapaz de explicar lo acontecido en cuanto a otro tipo de situaciones se refiere, por ejemplo un posible beneficio ante actividades anaeróbicas, tiene algunas lagunas referenciadas en otros estudios (Graham & Spriet, 1995; Van Soeren *et al.*, 1996) que indican movilizaciones de ácidos grasos en sujetos incapaces de producir adrenalina o donde no se encuentra relación entre la adrenalina producida, efecto ergogénico y movilización de grasas en relación a diversas dosis de cafeína ingeridas.

2. Mecanismo de actuación muscular

Ante la incapacidad de explicación de los mecanismos metabólicos, surgen otras teorías como son aquellas que relacionan la cafeína con su actuación a nivel de la célula muscular, dando lugar a diversos mecanismos.

El primero de ellos es la acción de la metilxantina sobre el retículo sarcoplásmico, que permitiría una mayor liberación de calcio por parte de éste y optimizará la contracción muscular (Dodd *et al.*, 1993; Tarnopolsky, 1994). Sin embargo estos efectos encontrados *in vitro* necesitarían de una concentración plasmática de cafeína en torno a los 200 $\mu\text{mol/L}$ (Nehlig & Debry, 1994) bastante difícil de conseguir pues los 70 $\mu\text{mol/L}$ se alcanzan con ingestiones bastante altas de cafeína (9 mg/kg) (Van Soeren *et al.*,

1996), quedando este mecanismo bastante sujeto a la experimentación "in vitro".

Otro mecanismo alternativo es la acción inhibitoria sobre la fosfodiesterasa AMPc de la fibra muscular que regula la conversión de AMP cíclico hacia 5-AMP, produciendo de este modo un aumento del AMP cíclico (Cardinali, 1980) y exagerando de este modo las respuestas hormonales, pero al igual que sucedía con el modelo anterior, todo parece indicar que sólo es posible esta explicación ante un modelo "in vitro" (Nehlig & Debry, 1994) y bastante difícil de reproducir "in vivo" (Lohmann *et al.*, 1977).

Una explicación mas factible surge considerando una estimulación de la bomba fisiológica Na - K de tejidos no activos permitiendo así una mejor recuperación de potasio (Lindinger *et al.*, 1993) reflejado en una disminución plasmática del mismo (Graham & Spriet, 1995) la cual disminuirá su concentración en los túbulos T manteniendo el potencial de membrana celular.

3. Mecanismo de actuación central

Este tercer bloque trata de explicar el efecto de la cafeína en el organismo mediante su acción sobre el sistema nervioso central, basándose principalmente en una modificación de la percepción del esfuerzo y en una potenciación de la activación neural que permita mejorar la contracción muscular (Spriet, 1995).

En la justificación de estos fenómenos aparece quizá el mecanismo más importante o que mejor explica la actuación de la cafeína, no sólo a nivel central sino también a nivel metabólico o muscular: *el bloqueo de los receptores de adenosina.*

La adenosina, mensajero extracelular, posee una estructura química similar a la cafeína (figuras 5 y 9), por tanto la cafeína podría acoplarse a sus receptores A1 y A2 ubicados por gran parte del organismo e inhibir los efectos de esta molécula (Eikvar & Kirkeboen, 1998). De esta manera se podría analizar la acción de la cafeína a distintos niveles bajo esta teoría (Graham *et al.*, 1994), pues el efecto metabólico vendría gracias al bloqueo de los receptores A1 situados en el tejido adiposo, o bien el bloqueo sobre los receptores A2 encargados de inhibir la enzima adenilato-ciclasa, que conllevaría a diversas actuaciones como la optimización de la bomba Na-K anteriormente citada o la estimulación del sistema nervioso central.

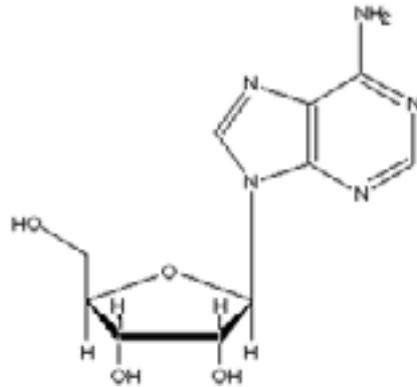


Figura 9. Estructura química de la adenosina.

Esta explicación cobra aún mayor relevancia cuando se encuentra que la dosis de cafeína necesaria para conseguir los efectos mencionados puede ser con una baja dosis fisiológica, capaz de ser ingerida (Graham, 2001).

1.3.5 Efectos en el organismo

La cafeína al actuar sobre distintos tejidos genera una gran variedad de respuestas las cuales se detallan a continuación.

Aumento en la producción de catecolaminas

Las catecolaminas son hormonas adrenérgicas y son conocidas como adrenalina y noradrenalina o bien como epinefrina y norepinefrina. Tienen diversos efectos dependiendo sobre el tejido y receptores que actúen y está claramente demostrado que la ingestión de cafeína aumenta sus concentraciones circulantes, principalmente de adrenalina (Van Soeren *et al.*, 1993; Graham *et al.*, 2000; Greer *et al.*, 2000).

Movilización de ácidos grasos libres

Es la respuesta mas conocida de la cafeína, al aumento en la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo (Essig *et al.*, 1980; Spriet *et al.*, 1992; Chesley *et al.*, 1998) sin embargo son algunos los estudios que no encuentran dicho aumento o parámetros indicadores de su consumo como disminuciones del cociente respiratorio (RER) (Raguso *et al.*, 1996; Graham *et al.*, 2000), siendo por tanto bastante cuestionada en los últimos tiempos esta respuesta fisiológica como acción ergogénica de la cafeína, sobre todo cuando se atribuye a un incremento de la adrenalina (Van Soeren *et al.*, 1996).

Modificaciones en los depósitos de glucógeno muscular

De acorde con las primeras teorías acerca del beneficio de la cafeína en deportes aeróbicos, se produciría un retardo en la depleción de los depósitos de glucógeno muscular gracias al mayor uso de las grasas (Ivy *et al.*, 1979) y sobre todo durante los primeros 15 minutos de ejercicio (Erickson *et al.*, 1987).

No obstante, al igual que el beneficio de la cafeína asociado a la movilización de ácidos grasos libres en los tiempos actuales no es un argumento sólido, algo similar ocurre con el retardo en la depleción de los depósitos de glucógeno muscular, donde diversos trabajos señalan que no ocurre ningún efecto de ahorro de glucógeno propiciado por la cafeína a distintas intensidades de trabajo (Jackman *et al.*, 1996; Graham *et al.*, 2000; Laurent *et al.*, 2000), incluso la xantina podría aumentar la actividad de la glucógeno-fosforilasa y por tanto depleccionar más rápidamente el glucógeno muscular (Chesley *et al.*, 1998), así como incrementar la tasa de oxidación hidratos de carbono ingeridos durante el esfuerzo (Yeo *et al.*, 2005).

De todos modos, la ingestión de cafeína no afectara negativamente a la recuperación de los depósitos de glucógeno tras su depleción (Battram *et al.*, 2004).

Cambios en la cinética del lactato

En actividades anaeróbicas bajo la influencia de la cafeína existen evidencias científicas de un aumento en la producción de lactato (Collomp *et al.*, 1991a), así como en otro tipo de actividades (Anderson & Hickey, 1994), argumentos que chocan de nuevo con el efecto ahorrador de glucógeno atribuido a la cafeína.

No obstante en actividades de menor intensidad consideradas como "estados estables" no existen modificaciones en cuanto a la producción de lactato se refiere (Chesley *et al.*, 1998; Graham *et al.*, 2000).

Termorregulación y diuresis

El aumento de adrenalina que conlleva la ingesta de cafeína podría aumentar el metabolismo basal, sin embargo no impide que los mecanismos termorreguladores del organismo funcionen correctamente durante el ejercicio y por tanto mantengan la temperatura corporal (Falk *et al.*, 1990).

También se genera un efecto diurético principalmente en condiciones de reposo que no es apreciado durante el ejercicio físico, sin afectar por tanto a la regulación hídrica durante la actividad física (Wemple *et al.*, 1997).

No obstante para la recuperación de líquidos tras el esfuerzo será recomendable el uso de bebidas que no contengan cafeína, pues ésta puede retardar el proceso de hidratación (Fiala *et al.*, 2004).

Balance electrolítico

Un cambio en el balance electrolítico debido a una deshidratación o fallo en los sistemas termorreguladores no será propiciado por la cafeína, pero ésta si puede actuar sobre todo, sobre el ión potasio descendiendo sus niveles plasmáticos ayudando en su recaptación (Lindinger *et al.*, 1993) tras la pérdida sufrida en los procesos de despolarización (Lindinger & Sjogaard, 1991), mejorando la contracción muscular y atenuando la fatiga muscular (Kalmar & Cafarelli, 1999).

Estimulación del Sistema Nervioso

La cafeína actúa como un estimulante del sistema nervioso, tanto a nivel periférico (Tarnopolsky & Cupido, 2000), autónomo (Nishijima *et al.*, 2002) o central (Fredholm, 1995).

Ello permitirá percibir el esfuerzo de una forma mas liviana (Muñoz *et al.*, 2002; Doherty *et al.*, 2004) o atenuar el dolor muscular provocado por el ejercicio físico (O'Connor *et al.*, 2004) permitiendo un mayor rendimiento.

El efecto de estimulación central permitirá retardar la fatiga mediante el bloqueo los receptores de adenosina a nivel cerebral (Davis *et al.*, 2003) y por tanto aumentar el tiempo de trabajo.

Consecuencias de la estimulación autónoma pueden ser la elevación de la frecuencia cardiaca o la tensión arterial tanto en máximos (Kaminsky *et al.*, 1998), como en ejercicios submáximos y reposo (Sung *et al.*, 1990).

Efectos secundarios adversos

La ingesta aguda de cafeína en dosis moderadas puede acarrear respuestas no deseables para el organismo como problemas gastrointestinales (Graham & Spriet, 1991) , ansiedad o elevación excesiva de la tensión arterial, sobre todo a altas intensidades de esfuerzo o en sujetos hipertensos (Sung *et al.*, 1990).

Con dosis similares de cafeína se puede inducir el insomnio (Tarnopolsky, 1994), el cual puede acortar o dificultar los periodos de recuperación y por tanto ser un mecanismo de generación de fatiga.

Todos estos problemas suelen afectar mas a sujetos no habituados a la xantina.

Para encontrar efectos letales de la cafeína o efectos secundarios severos, es bastante difícil y se han de ingerir dosis increíblemente elevadas, superando los 5 gramos. En estas situaciones se puede llegar incluso a la muerte encontrándose concentraciones sanguíneas de 192mg/L y 567 mg/L en dos casos descritos (Kerrigan & Lindsey, 2005).

La ingesta crónica de cafeína conlleva a una dependencia de la misma con síndrome de abstinencia y una habituación al producto, debido a la adaptación de los receptores de adenosina, la cual conlleva un periodo de deshabituación y dependencia a la cafeína suele durar un tiempo de entre 3 y 7 días (Graham, 2001).

Sujetos que no ingieran mas de cinco tazas de café diarias no corren riesgos de padecer enfermedades cardiovasculares (Tarnopolsky, 1994) aunque si puede existir un riesgo a largo plazo, sobre todo en mujeres, de pérdida de calcio óseo aumentando el riesgo de sufrir patologías derivadas de esta pérdida mineral (Bruce & Spiller, 1998).

1.3.6 Efectos en el rendimiento deportivo

La cafeína a través de diversos mecanismos genera multitud de respuestas fisiológicas ya descritas. Cuando un deportista ingiere cafeína, esos efectos pueden afectar positivamente o negativamente a su rendimiento dependiendo entre otros aspectos, de la modalidad deportiva.

Así pues para analizar las distintas actividades físicas serán catalogadas en dos grupos: principalmente aeróbicas y principalmente anaeróbicas, donde se analizará el efecto ergogénico estudiando si existe una mejora de la marca deportiva (potencia desarrollada, tiempo invertido, velocidad conseguida, etc.) o bien del tiempo de trabajo realizado a una intensidad determinada.

Actividades principalmente aeróbicas

En ejercicios aeróbicos de duración comprendida entre *30 y 60 minutos y cuya intensidad ronda el 60%-85% del VO₂ máximo* si existe un claro efecto ergogénico por parte de la cafeína en la mayoría de los estudios y con dosis de cafeína similares (3-6 mg/kg) (Costill *et al.*, 1978; Pasman *et al.*, 1995; Trice & Haymes, 1995) bien motivado por movilizaciones de ácidos grasos, ahorro en los depósitos de glucógeno muscular o cambios en la percepción del esfuerzo.

La marca deportiva se ha mejorado tras la ingesta de cafeína en esfuerzos similares como es la simulación de un contrarreloj de una hora de duración aproximada (Kovacs *et al.*, 1998) o de una carrera de cross (Birnbaum & Herbst, 2004) en sujetos entrenados. Sin embargo, en otras situaciones reales como en una media maratón en condiciones calurosas no se encontró mejora de la marca (Cohen *et al.*, 1996) o en actividades de mayor duración a la comentada, 100km de contrarreloj, tampoco hubo beneficio alguno (Hunter *et al.*, 2002).

En actividades de duración comprendida entre los *5-15 minutos* y *cuya intensidad ronda el 85%-100% del VO₂ máximo* los hallazgos son contradictorios. Por un lado existen trabajos que no muestran una mejora del rendimiento en esfuerzos incrementales (Dodd *et al.*, 1991) o lineales (Collomp *et al.*, 1990), mientras que otras investigaciones demuestran lo contrario en situaciones similares (Flinn *et al.*, 1990; Jackman *et al.*, 1996) quizá por diferencias en la cantidad de cafeína ingerida, donde era bastante mayor en los sujetos que obtuvieron un beneficio.

La marca deportiva se ha mejorado tras la ingesta de cafeína en esfuerzos de estas características como puede ser remar durante 2000 m (Bruce *et al.*, 2000) o una carrera sobre 1500 m (Wiles *et al.*, 1992).

Actividades principalmente anaeróbicas

En este tipo de actividades los estudios son menos numerosos y muestran gran discrepancia.

Existe un efecto ergogénico en estas actividades anaeróbicas de duración relativamente alta (60") (Doherty, 1998; Doherty *et al.*, 2004) y corta (6") (Anselme *et al.*, 1992), aunque ese mismo estudio indique que no existe beneficio con duraciones intermedias de 30".

En situaciones de ejercicios repetidos a gran intensidad la cafeína puede servir de poca ayuda (Greer *et al.*, 1998). La marca deportiva se ha mejorado en pruebas con los 100 m en natación (Collomp *et al.*, 1992).

1.4 FLUIDOS BIOLÓGICOS. INTERÉS CIENTÍFICO

1.4.1 Sangre total

La valoración hematológica se realiza a partir de sangre venosa extraída normalmente de la vena antecubital.

Para la determinación de los diferentes parámetros existen distintas posibilidades de análisis en varios medios, en función del procesamiento previo que haya tenido la muestra. Estas opciones son:

- *Sangre total*

- *Plasma*

- *Suero*

A parte de estas fases, existirá otra restante donde queden recogidas las células sanguíneas y cuyo porcentaje respecto al total del volumen sanguíneo se le denominará hematocrito.

Éste puede sufrir variaciones a largo plazo mediante un aumento de la masa eritrocitaria.

1.4.2 Plasma

Es el fluido superior resultante de la centrifugación de la sangre total. En él se concentran todas las sustancias transportadas por la sangre y resulta de gran interés para el estudio científico.

Es necesario la adición de anticoagulante (heparina) a los tubos de recogida de la muestra sanguínea, para así obtener el plasma en lugar de suero.

Los cambios de volumen plasmático generarán grandes cambios en el hematocrito.

1.4.3 Orina

La orina como fluido biológico sujeto a estudio es utilizado por su facilidad de obtención mediante una técnica no invasiva y que permite recoger cantidades adecuadas para su manejo, además de su fácil manipulación y rapidez en la determinación de sus componentes.

En cuanto a la apariencia de la orina de una muestra cabe destacar, entre otros aspectos, su color, olor y turbidez.

La orina debe recogerse en un recipiente limpio y seco, a ser posible esterilizado, con tapa hermética para evitar pérdidas por derramamiento, evaporación y contaminación.

1.4.4 Sudor

El líquido sudoral se excreta a través de las glándulas sudoríparas convirtiéndose en uno de los principales mecanismos envueltos en la termorregulación del organismo durante la actividad física.

Su composición principal es agua y sales minerales, aunque puede incluir ciertas vitaminas u otros productos ingeridos como es el caso de la cafeína.

Para su análisis se debe recoger mediante gasas estériles ubicadas en diferentes regiones del cuerpo y ser guardado en recipientes que garanticen la no contaminación de la muestra.

Todos los recipientes usados en la recogida de fluidos biológicos deberán rotularse en el momento de la recogida de la muestra, de acuerdo al código establecido en la investigación.

OBJETIVOS



2 OBJETIVOS

A raíz de la revisión de la situación científica actual relacionada con la cafeína, surgen ciertos interrogantes sobre esta sustancia: *¿sirve para mejorar el rendimiento en diferentes tipos de esfuerzo?, ¿es justificada su exclusión de la lista de sustancias prohibidas?, ¿qué cambios metabólicos produce ante diversas situaciones de esfuerzo?, ¿son perjudiciales estos cambios para el organismo?, ¿afecta por igual a sujetos no entrenados y a deportistas?*.

Para solventar estas inquietudes planteamos para esta tesis los siguientes objetivos:

- Evaluar los **cambios en el rendimiento físico** tras la ingesta de cafeína en sujetos no entrenados y deportistas.
- Estudiar los **efectos metabólicos** derivados del ejercicio físico y la ingesta de cafeína en sujetos no entrenados y deportistas.
- Cuantificar el **estrés oxidativo y la respuesta antioxidante** bajo los efectos de la cafeína en sujetos no entrenados y deportistas.
- Analizar las distintas **vías de eliminación** de la cafeína en sujetos no entrenados y deportistas.

MATERIAL Y MÉTODO



3 MATERIAL Y MÉTODO

3.1 REACTIVOS

Los reactivos utilizados se detallan a continuación conjuntamente a su proveedor.

- Ácido Ascórbico. Sigma.
- Ácido Clorhídrico. Panreac.
- Ácido Heptadecanoico. Sigma.
- Ácido Metafosfórico. Sigma.
- Ácido Perclórico. Sigma.
- Ácido Sulfúrico. Panreac.
- Ácido Tiobarbitúrico. Sigma.
- Ácido Tricloroacético. Panreac.
- Acetato de alfa-tocoferol. Sigma.
- Acetil clorhídrico. Sigma.
- Acetonitrilo. Tecknocroma.
- Agua destilada Mili Q.

- Benceno. Panreac.
- BHT (2,6-di-terr-butil, 4-metil fenol). Sigma
- Bicarbonato potásico. Sigma.
- Cafeína anhidra. Sigma.
- Carbonato potásico. Sigma.
- Cloroformo. Panreac.
- Diclorometano. Panreac.
- Etanol. Panreac.
- Lactato (kit de sigma)
- Malondialdehido (bisdimetil acetal). Sigma.
- Metanol. Panreac.
- N – Hexano. Tecknocroma.
- Nitrógeno gas. Air liquide.

3.2 MATERIAL UTILIZADO

El material utilizado detallado a continuación es perteneciente al Laboratorio de Fisiología de la Facultad de Ciencias del Deporte de la Universidad de Extremadura.

INSTRUMENTAL

- Analizador de gases nº 762014-102. MGC.
- Autoclave. P-Selecta.
- Balanza de precisión. ADA 120/L.
- Baño calentador. Raypa.
- Báscula de pesaje y tallímetro. SECA.
- Centrifugadora meditronic. P-Selecta.
- Cicloergómetro 834. Monark.
- Cicloergómetro Ergo-metrics 900. Ergoline.
- Columna C18 de 15 cm x4.7 mm.
- Columna capilar SGE-BPX70 de m. x I.D. mm. X 0.25 m Film.
- Columna HPLC Brownlee OD-MP de 10 cm x 4.6 mm.
- Compresor de goma.

-
- Congelador. Lynx.
 - Cromatógrafo de gases HP 5890 SERIES II sistema GC / MS. Hewlett Packard.
 - Dispensador de agua ml Q.
 - Electrocardiógrafo. Cardioline.
 - Esfingomanómetro. Holtain
 - Espectrofotómetro. UNICAM 5625.
 - Fonendoscopio. Holtain
 - Gradillas portatubos.
 - HPLC. Spectra Series P 100.
 - Interface para pulsómetro. POLAR.
 - Microcentrifugadora Biofuge *pico*. Heraus.
 - Microcentrifugadora. Alresa.
 - Paquímetro. Holtain.
 - PC Pentium IV. Software Windows XP.
 - Periféricos informáticos. Hewlett Packard.
 - Ph – metro. Crison.
 - Pipetas Gibson 100 µl.

- Pipetas Gibson 5000 μ l.
- Pipetas Wiley 1000 μ l.
- Plicómetro. Holtain.
- Probetas 100-500-1000 ml.
- Pulsómetros Vantage NV y S 720 i. POLAR.
- Software POLAR Precision Performance para pulsómetros.
- Termobloque. P-Selecta.
- Termómetro y medidor de humedad modelo Huger. HomFor.
- Vórtex. Heidolph. Reax.

El material fungible utilizado, y detallado a continuación, fue suministrado por Scharlaub y VIMA suministros médicos.

MATERIAL FUNGIBLE

- Parafilm.
- Algodón.
- Cubetas para espectrofotómetro.
- Tubos de ensayo cristal 10 ml.
- Tubos de ensayo plástico 10 ml.
- Tubos de ensayo plástico 5 ml.
- Tubos de ensayo cristal con tapón de rosca 10 ml.
- Guantes de látex.
- Puntas de plástico para pipetas.
- Colector de orina 100 ml.
- Tubos extracción de sangre 10 ml LH Vacutainer.
- Sistema extractor de sangre Vacutainer.
- Gasas esterilizadas.
- Esparadrapo.

- Tubos eppendorf 1 ml.
- Capilares 25 μ l Na -Hp.
- Palomillas Vacutainer 23 G.
- Pipetas tipo Pasteur.
- Chupete extractor para pipetas Pasteur.

3.3 SUJETOS DE ESTUDIO

La muestra participante en el estudio se compone de un total de 35 sujetos experimentales ($n = 35$). Todos eran varones, no fumadores, no consumidores habituales de cafeína y sin presentar ningún problema de salud.

El grupo total fue dividido en dos subgrupos bajo el criterio de actividad física realizada y nivel de condición física.

a) Grupo de sujetos *no entrenados* ($n = 20$): formado por aquellos sujetos que realizaban práctica deportiva de forma habitual sin un entrenamiento riguroso, considerándose sujetos activos. En la tabla 4 se describen las características del grupo.

b) Grupo de sujetos *entrenados* ($n = 15$): compuesto por deportistas entrenados en resistencia que seguían un plan de entrenamiento. En la tabla 5 se describen las características del grupo.

Todos los sujetos participantes en el estudio fueron informados del mismo y aceptaron su participación voluntaria mediante la firma de un informe consentido.

Edad (años)	Altura (cm)	Peso (kg)	% Muscular	% Graso	% Oseo	% Residual
20,91	175,27	71,00	53,52	10,11	12,26	24,1
$\pm 1,31$	$\pm 6,10$	$\pm 5,52$	$\pm 1,51$	$\pm 1,09$	$\pm 0,96$	$\pm 0,00$

Tabla 4. Características del grupo *no entrenados*. Datos expresados como media \pm desviación estándar ($X \pm SD$)

Edad (años)	Altura (cm)	Peso (kg)	% Muscular	% Graso	% Oseo	% Residual
23,83	176,00	66,94	50,96	8,57	16,37	24,1
$\pm 2,32$	$\pm 3,65$	$\pm 3,59$	$\pm 0,96$	$\pm 1,22$	$\pm 2,93$	$\pm 0,00$

Tabla 5. Características del grupo *entrenados*. Datos expresados como media \pm desviación estándar ($X \pm SD$).

La composición corporal fue calculada según las indicaciones del grupo español de cineantropometría (Porta *et al.*, 1993).

El **porcentaje del peso graso** fue calculado mediante la ecuación de Yuhasz (Porta *et al.*, 1993).

$$\% \text{ Graso} = 3,64 + (\text{suma 6 pliegues cutaneos} \times 0,097)$$

Los pliegues cutáneos se determinaron con el uso del plicómetro en el hemisferio dominante de los sujetos del siguiente modo:

- Abdominal: a la derecha de la cicatriz umbilical, en sentido vertical.

- Suprailíaco: ubicado en el punto de corte formado por la línea del borde superior del íleon y una línea que uniría la espina iliaca antero – superior con el borde axilar anterior. El pliegue se tomó medialmente hacia abajo formando un ángulo de 45 ° con la horizontal.

- Tricipital: ubicado en la parte posterior del brazo, en el punto medio acromio – radial. La dirección del pliegue es vertical.

- Subescapular: situado justo debajo del pico inferior de la escápula en dirección oblicua hacia abajo y afuera, con una angulación de 45° respecto la horizontal.

- Muslo: tomado en la parte anterior del muslo, a la mitad del segmento en dirección vertical, con el sujeto sentado con una flexión de rodilla de 90° y los pies apoyados en el suelo.

- Pierna: tomado en la parte medial de la pierna donde ésta alcance su máxima circunferencia. El pliegue tendrá una dirección vertical.

El **porcentaje del peso óseo** se calculó a través del peso óseo utilizando la ecuación de Von Döbeln y Rocha (Porta *et al.*, 1993).

$$\text{Peso Óseo} = 3,02 \times (\text{Talla}^2 \times \text{D. Biestiloideo} \times \text{D. Bicondiloideo} \times \text{F} \times 400) \times 0,712$$

Los diámetros se determinaron en el hemisferio dominante de los sujetos del siguiente modo:

- Bicondíleo de fémur: distancia entre el cóndilo medial y lateral del fémur. Las ramas del paquímetro ubicadas hacia abajo y en la bisectriz del ángulo formado por la rodilla, en este caso 90°.
- Biestiloideo: distancia entre las apófisis estiloides del radio y cúbito. Las ramas del paquímetro ubicadas hacia abajo y en la bisectriz del ángulo formado por la muñeca, en este caso 90°.

El **peso residual** fue calculado con la ecuación de Wurch (Porta *et al.*, 1993) que considera un 24,1 % para hombres, lo que hace que todos tengan el mismo y la desviación estándar sea 0.

El **porcentaje del peso muscular** fue determinado mediante la diferencia entre el peso total y el resto de pesos: óseo, residual y graso (Porta *et al.*, 1993).

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

La situación experimental está basada en un estudio randomizado a doble ciego donde los sujetos debían realizar una serie de pruebas de valoración ergométrica en cicloergómetro bajo dos condiciones diferentes: ingesta de placebo ó cafeína previo al esfuerzo.

La dosis de cafeína empleada fue de 5 mg por kg de peso y suministrada, al igual que el placebo, en cápsulas una hora antes de las pruebas.

Las pruebas se llevaron a cabo con un intervalo temporal de tres días, con el objetivo de favorecer la recuperación de los sujetos y eliminar posibles adaptaciones al esfuerzo.

Se extrajeron distintas tomas de sangre de la vena antecubital mediante el sistema Vacutainer en tubos de cristal de 10 ml con heparina de litio.

- a) Antes de la ingesta de las cápsulas que sirvió como blanco, denominada **INICIAL**.
- b) Al término de las pruebas denominada **FINAL**.

Tan solo en una ocasión se recogió una muestra adicional de sangre denominada **(ANTES)**, en los sujetos no entrenados y justo antes de realizar la prueba máxima, con el objetivo de estudiar el efecto de la cafeína en situaciones de reposo.

Tras la extracción sanguínea, las muestras eran inmediatamente centrifugadas a 3000 r.p.m durante 10 minutos en una centrifugadora meditronic. La sangre total quedaba separada en plasma y eritrocitos guardando el plasma en tubos eppendorf de 1ml y congelándolos a -30°C hasta su posterior análisis.

A todas las muestras sanguíneas se les determinó el hematocrito mediante la centrifugación de 25 μl de sangre total contenida en capilares heparinizados durante 10 minutos en una microcentrifugadora Alresa (figura 10). Con estos resultados se corregirán los valores de la sustancias analizadas en sangre.



Figura 10. Determinación de hematocrito en muestras sanguíneas.

Durante los test de esfuerzo se recogió el sudor de la región frontal del cráneo, del tórax y abdomen mediante unas gasas estériles de las que posteriormente se pudo extraer el líquido sudoral.

Las muestras de orina recogidas eran dos por prueba, antes de los test ergométricos **(INICIAL)** y la primera tras el esfuerzo simulando lo que podría ser un control antidopaje **(FINAL)**.

3.5 VALORACIÓN DEL RENDIMIENTO FÍSICO

Las pruebas ergométricas realizadas pretendían valorar el rendimiento físico de los sujetos en tres esfuerzos bien diferenciados que se asemejan a distintos metabolismos:

1. *Metabolismo Anaeróbico: capacidad y potencia.*
2. *Metabolismo Aeróbico: potencia aeróbica máxima.*
3. *Metabolismo Aeróbico: capacidad aeróbica.*

De este modo se podrá identificar un posible efecto ergogénico de la cafeína ante diferentes tipologías de esfuerzos, comparando los resultados bajo condiciones placebo y cafeína.

3.5.1 Capacidad y Potencia anaeróbica

La prueba anaeróbica realizada fue el test de Wingate sobre un cicloergómetro Monark 834 E.

El test consiste un esfuerzo supramáximo "all out" pedaleando durante 30" con una carga proporcional al peso del sujeto posterior un calentamiento de cinco minutos con un tercio de la carga a emplear durante el test.

$$\text{Carga} = 0,075 \times \text{peso del sujeto (kg)}$$

El cicloergómetro indica las r.p.m alcanzadas por el sujeto en tiempo real, que junto a la carga empleada permiten calcular la potencia desarrollada.

Se identifican los parámetros siguientes:

- **Potencia Máxima Absoluta (PMA):** máxima potencia alcanzada durante la prueba expresada en vatios (W), comúnmente a los 5 segundos de esfuerzo. Se identifica como la potencia anaeróbica aláctica asociada al sistema metabólico del ATP – PC.

$$PMA (w) = carga (kg) \times \text{máximo de revoluciones} \times 11,765$$

- **Potencia Máxima Relativa (PMR):** resultado de dividir la potencia máxima absoluta entre el peso del sujeto. Se expresa en vatios por kilogramo de peso (W/kg).
- **Potencia Media Absoluta (PMEA):** potencia media desarrollada durante la prueba expresada en vatios (W). Se identifica como la potencia anaeróbica láctica asociada al sistema metabólico del ácido láctico.

$$PMEA (w) = carga (kg) \times \text{promedio de revoluciones} \times 11,765$$

- **Potencia Media Relativa (PMER):** resultado de dividir la potencia media absoluta entre el peso del sujeto. Se expresa en vatios por kilogramo de peso (W/kg).

- **Índice de Fatiga:** refleja la capacidad del músculo para resistir la fatiga. El índice de fatiga es igual a la diferencia entre la mayor producción de potencia durante 5 segundos dividida por la menor producción de potencia durante 5 segundos. Una puntuación elevada ($\geq 45\%$) indica una resistencia muscular relativamente baja, mientras que una puntuación baja ($\leq 30\%$) indica la capacidad para resistir la fatiga muscular.

$$IF = (Pico\ más\ alto - pico\ más\ bajo\ de\ potencia) / pico\ más\ alto$$

Este test ergométrico se realizaba el primer día de las pruebas.

3.5.2 Potencia Aeróbica Máxima (P.A.M)

La P A M o potencia aeróbica máxima es considerada como la mayor cantidad de energía obtenida por unidad de tiempo mediante un metabolismo aeróbico, alcanzando el consumo máximo de oxígeno, expresado como VO_2 máximo (Wilmore & Costill, 1998).

Para evaluar la PAM se realizó un test en un cicloergómetro de freno electromagnético de la marca Ergoline, con un protocolo en escalón incremental máximo.

Tras un calentamiento de 10' a una intensidad de 100 W, los sujetos comenzaban el test con un escalón inicial de 100 w de carga e incrementando ésta cada dos minutos en 50 w hasta los 300 w donde la carga se incrementaba de 25 en 25 w hasta la máxima extenuación voluntaria.

La respuesta fisiológica ergoespirométrica fue controlada con un analizador de gases MGC, modelo nº 762014-102 y un pulsómetro Polar modelo Vantage NV. Los datos fueron analizados con el software Polar Precision Performance de Polar tras la transmisión de datos con el interface propio de la marca finlandesa.

En plasma se determinó la concentración final de lactato mediante espectrofotometría (Unicam 5625 UV/VIS) con el kit comercial de Sigma.

Esta prueba, en condiciones placebo y cafeína, se realizó en los mismos días que el test de Wingate 20' después para garantizar la recuperación de los sujetos.

3.5.3 Capacidad aeróbica

El objetivo de evaluación es la capacidad de mantener durante un cierto periodo prolongado de tiempo el aporte de energía al músculo mediante una vía aeróbica, glucolítica o lipolítica en función del sustrato metabólico mayormente utilizado.

En nuestro caso se reprodujo mediante un test de estado estable al 80% del VO_2 máximo, calculado según los valores máximos alcanzados en la prueba incremental máxima, en el mismo cicloergómetro con una duración de 30 minutos.

El calentamiento se realizaba mediante el pedaleo progresivo durante 15 minutos.

El metabolismo principal empleado en este test es el de la oxidación de hidratos de carbono, a una intensidad relativa cercana al umbral anaeróbico pero sin sobrepasarlo y por tanto sin disparar las concentraciones de lactato.

La respuesta fisiológica ergoespirométrica fue controlada con un analizador de gases MGC, modelo nº 762014-102 y un pulsómetro Polar modelo Vantage NV. Los datos fueron analizados con el software Polar Precision Performance de Polar tras la transmisión de datos con el interface propio de la marca finlandesa.

Los valores se registraban cada 5 minutos de esfuerzo y en los minutos 1 y 3 de la recuperación.

En plasma se determinó la concentración final de lactato mediante espectrofotometría (Unicam 5625 UV/VIS) con el kit comercial de Sigma.

Esta prueba se realizó tres días después de los test máximo para garantizar la completa recuperación de los sujetos y evitar adaptaciones al esfuerzo.

La estructuración temporal de las distintas pruebas realizadas se puede apreciar en la tabla 6.

Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo
	Wingate1 + Máximo 1			Wingate2 + Máximo 2		
Estable 1			Estable 2			

Tabla 6. Temporización de los distintos test ergométricos

3.6 VALORACIÓN DEL METABOLISMO LIPÍDICO

3.6.1 Ácidos grasos plasmáticos

A 500 μ l de plasma se le añaden 2 ml de metanol / benceno (4:1) donde se han disuelto 200 μ g de patrón interno (C:17). Con un agitador magnético se agita y se le añaden 200 μ l de cloruro de acetilo, lentamente, para evitar proyecciones.

Se cierran los tubos herméticamente para evitar pérdidas por evaporación y se calientan a 100°C durante 1 hora. Posteriormente se enfrían con agua y se les añaden 5 ml de K₂CO₃ al 6% lentamente con el fin de parar la reacción y neutralizar la mezcla. Se centrifugan durante 5 minutos a 6000 r.p.m.

Del extracto bencénico obtenido se cogen 2 μ l para ser inyectados en el cromatógrafo.

Para el estudio de las muestras se empleó un cromatógrafo de gases HP-5890 Series II al que está acoplado un detector de MS.

La columna utilizada fue una:

Columna capilar SGE-BPX70 de m. x I.D. mm. X 0.25 m Film.

Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

- *Temperatura del Horno*: inicial 185°C durante 15 minutos, 3°C / minuto hasta 190° durante 15 minutos, 3°C hasta 245° C durante 30 minutos.
- *Temperatura del inyector*: 300° C.
- *Temperatura del detector*: 250 ° C.
- *Flujo gas portador (Helio)*: 1 ml/min.
- *Presión en inyector*: On 9.0 psi a 185° C.
- *Flujo Split*: 6 ml/min. Split ratio 27:1.
- *Solvent Delay*: 7,50 min.
- *Masa de iones*: 470-400. Threshold: 500.
- *Sampling*: 2 A/D Samples: 4

La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo por comparación de los tiempos de retención de los derivados metilados de los ácidos grasos problemas, con los ácidos grasos patrones, en las mismas condiciones cromatográficas y utilizando el parámetro de retención relativa al patrón interno y comparados con los espectros de las galerías contenidas en las espectrootecas.

El patrón interno elegido fue el ácido heptadecanoico, por ser una sustancia similar a las analizadas y estar bien situado en el cromatograma, no interfiriendo con otros picos de la muestra.

El resultado de los ácidos grasos se expresan en forma de porcentaje.

3.6.2 Índices de desaturación

Tras la obtención de los valores de ácidos grasos plasmáticos totales se procede al cálculo de una serie de índices de desaturación lipídica.

Éstos índices nos hacen referencia a la actuación de las desaturasas, enzimas responsable de la desaturación de ácidos grasos formando dobles enlaces.

Los índices son:

- **Delta 9,1:** relación entre C16:1 y C16:0.
- **Delta 9,2:** relación entre C18:1 y C18:0.
- **Delta 5:** relación entre C20:4 y C20:3. (familia ω 6).

3.7 VALORACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO

3.7.1 Índices de peroxidación lipídica

Tras la obtención de los valores de ácidos grasos plasmáticos totales, se procede al cálculo los índices de peroxidación lipídica, reflejando la transformación de ácidos grasos poliinsaturados $\omega 6$ y $\omega 3$ en ácidos grasos saturados de cadena corta.

Estos índices de peroxidación se obtienen mediante el cálculo de las relaciones existentes entre distintos ácidos grasos implicados.

Los índices son:

- **20:4/12:** relación entre los ácidos grasos C 20:4 y C12.
- **20:4/14:** relación entre los ácidos grasos C 20:4 y C14.
- **20:4/16:** relación entre los ácidos grasos C 20:4 y C16.
- **20:5/12:** relación entre los ácidos grasos C 20:5 y C12.
- **20:5/14:** relación entre los ácidos grasos C 20:5 y C14.
- **205/16:** relación entre los ácidos grasos C 20:5 y C16.

3.7.2 Marcadores de peroxidación lipídica

El marcador como producto final de la peroxidación lipídica utilizado fue el malondialdehído (MDA), determinado en plasma mediante cromatografía líquida de alta presión (HPLC) según la técnica descrita por Esterbauer (Esterbauer *et al.*, 1984) reseñada a continuación.

A 100 μl de plasma se le añaden 100 μl de acetonitrilo agitándolo en vórtex durante 1 minuto. A continuación se centrifuga a 12000 rpm durante 5 minutos y se recoge el sobrenadante, 20 μl de los cuales son inyectados para su análisis mediante HPLC.

La columna utilizada fue una Brownlee AS-WP. De 10 cm de longitud y 4,6 mm de diámetro interno, usando como fase móvil acetonitrilo: 0.03 M Tris pH 7,4 (1:9) a un flujo de 1 ml/min. La detección se realizó a una longitud de onda de 270 nm.

Teniendo en cuenta el factor de dilución de la muestra y utilizando una recta patrón construida con MDA comercial, se puede calcular la concentración plasmática en μM de MDA en la muestra.

3.7.3 Sistemas antioxidantes no enzimáticos

Los sistemas antioxidantes estudiados fueron las vitaminas C, A y E.

Vitamina C

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

A 100 µl de plasma se le añaden 100 µl de ácido perclórico al 10% mezclado con ácido metafosfórico al 1% agitándose en vortex durante 20 segundos y conservando en nevera durante 20 minutos. Posteriormente se añaden 200 µl de fase móvil y se centrifuga a 12000 r.p.m durante 2 minutos. Se recogen 20 µl de sobrenadante siendo inyectados para la determinación de la vitamina C mediante HPLC.

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

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

Vitaminas A y E

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

A 100 μl de plasma se le añaden como patrón interno 100 μl de acetato de alfa - tocoferol en etanol (50 mg/l) agitándose en vortex durante 20 segundos. A continuación se le añade 200 μl de N - Hexano y se agita de nuevo durante otros 30 segundos. Posteriormente se agita mecánicamente durante 10 minutos para proceder a una centrifugación a 2000 r.p.m durante 5 minutos. Una vez finalizada la centrifugación se extrae la capa superior y se seca en corriente de N_2 a 40°C. Inmediatamente antes de medir por HPLC se reconstituye en 100 μl de etanol, inyectándose 20 μl para la determinación de la vitamina E.

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

Mediante la comparación de áreas con el patrón interno, se puede calcular la concentración plasmática en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de vitaminas A y E en la muestra.

3.8 VÍAS DE ELIMINACIÓN

La cafeína tras ser ingerida pasa al plasma sanguíneo para ser utilizada y posteriormente eliminada mediante la orina y el sudor.

El análisis de las concentraciones de cafeína en estos fluidos biológicos sirve para identificar los efectos de la cafeína según una dosis activa y estudiar las vías de eliminación de la misma.

Para la determinación de cafeína se utilizó la cromatografía líquida de alta presión (HPLC) según la técnica descrita por Dobrocky (Dobrocky *et al.*, 1994).

A 500 μl de muestra (plasma, sudor u orina) se le añaden 100 μl de CIH 1M y 3 ml de cloroformo agitándose en vortex durante 2 minutos. Posteriormente se centrifuga a 3500 rpm durante 5 minutos y se aspira la fase acuosa. La fase orgánica restante se seca en corriente de N_2 a 40°C . El residuo se disuelve en 100 μl de metanol, inyectándose en HPLC 20 μl para la determinación de la cafeína.

La columna utilizada fue una C18 de 15 cm de longitud y 4,7 mm de diámetro interno, usando como fase móvil metanol 0,1 M con $\text{Na H}_2\text{PO}_4$ 30:70 a un flujo de 0,8 ml/min. La detección se realizó a una longitud de onda de 274 nm.

Teniendo en cuenta el factor de dilución de la muestra y utilizando una recta patrón construida con cafeína comercial, se puede calcular la concentración plasmática en $\mu\text{g} / \text{ml}$ de cafeína en la muestra.

3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El tratamiento estadístico de los resultados fue realizado mediante el programa SPSS 11.0 para Windows.

La prueba realizada fue el test ANOVA para muestras repetidas, donde el factor intrasujetos correspondía al test ergométrico y el factor intersujetos al efecto de la cafeína.

En aquellos casos donde las variables analizadas no cumplían las condiciones de normalidad de la curva, curtosis y asimetría entre ± 2 con el número de sujetos empleado, se utilizó una alternativa no paramétrica, el test de Wilcoxon para muestras autopareadas.

Se aceptaron como significativas aquellas diferencias con una probabilidad de ser debidas al azar menor al 5 % ($p < 0,05$).

Los resultados se expresan como la media \pm la desviación estándar.

RESULTADOS



4 RESULTADOS

4.1 CONSIDERACIONES

Los resultados de esta tesis se estructuran siguiendo los cuatro grandes objetivos marcados en el estudio:

1. Valoración del rendimiento de los sujetos con y sin cafeína.
2. Valoración del estrés oxidativo y sistemas antioxidantes.
3. Valoración del metabolismo.
4. Valoración de las vías de eliminación de la cafeína.

Previamente se detallarán las modificaciones del hematocrito que pueden repercutir en el estudio posterior de los datos.

El modo de agrupar los resultados será según dos situaciones experimentales planteadas: esfuerzo máximo y esfuerzo en estado estable, tanto en sujetos no entrenados como en deportistas.

4.2 VALORACIÓN DEL HEMATOCRITO

La figura 11 muestra los cambios del valor del hematocrito sufridos por los sujetos experimentales, entrenados y no entrenados, tras las pruebas incrementales máximas bajo condiciones placebo y cafeína.

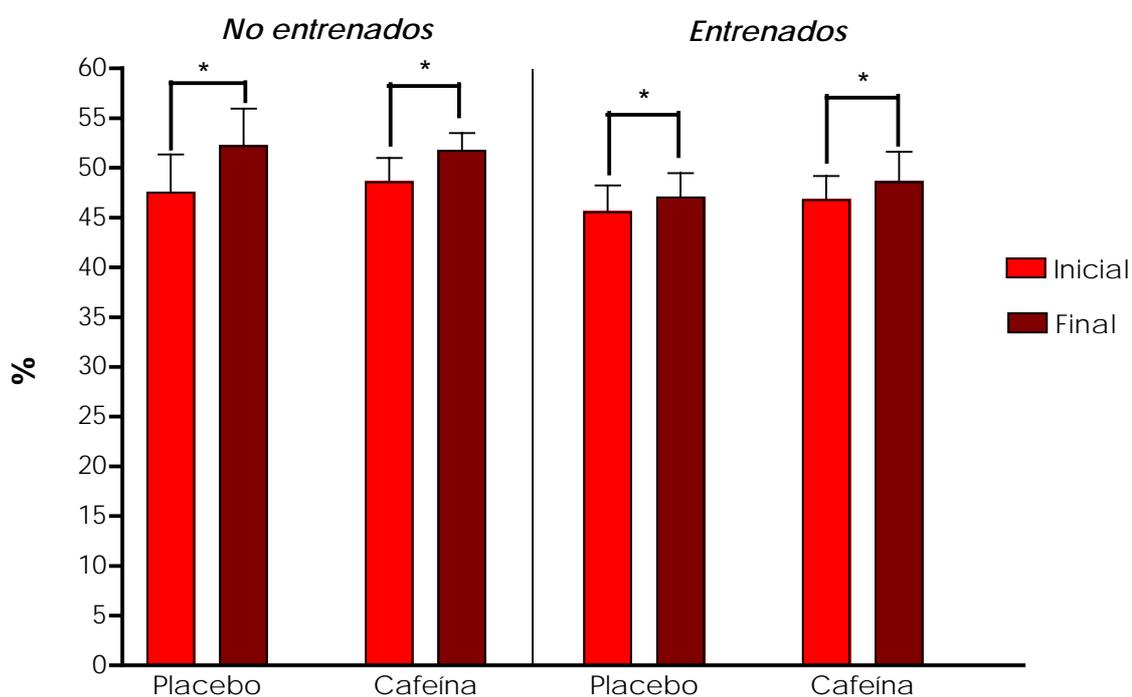


Figura 11. Modificaciones del hematocrito tras las pruebas máximas. (* $p < 0,01$)

Se aprecia como tras el esfuerzo realizado se incrementan la tasa de hematocrito en todos los sujetos bajo las condiciones placebo y cafeína alcanzando la significación estadística ($p < 0,01$), sin que el efecto de la xantina produjese diferencias estadísticamente significativas entre ambas circunstancias.

La figura 12 muestra los cambios del valor del hematocrito sufridos por los sujetos experimentales, entrenados y no entrenados, tras las pruebas de estado estable y bajo las condiciones de placebo y cafeína.

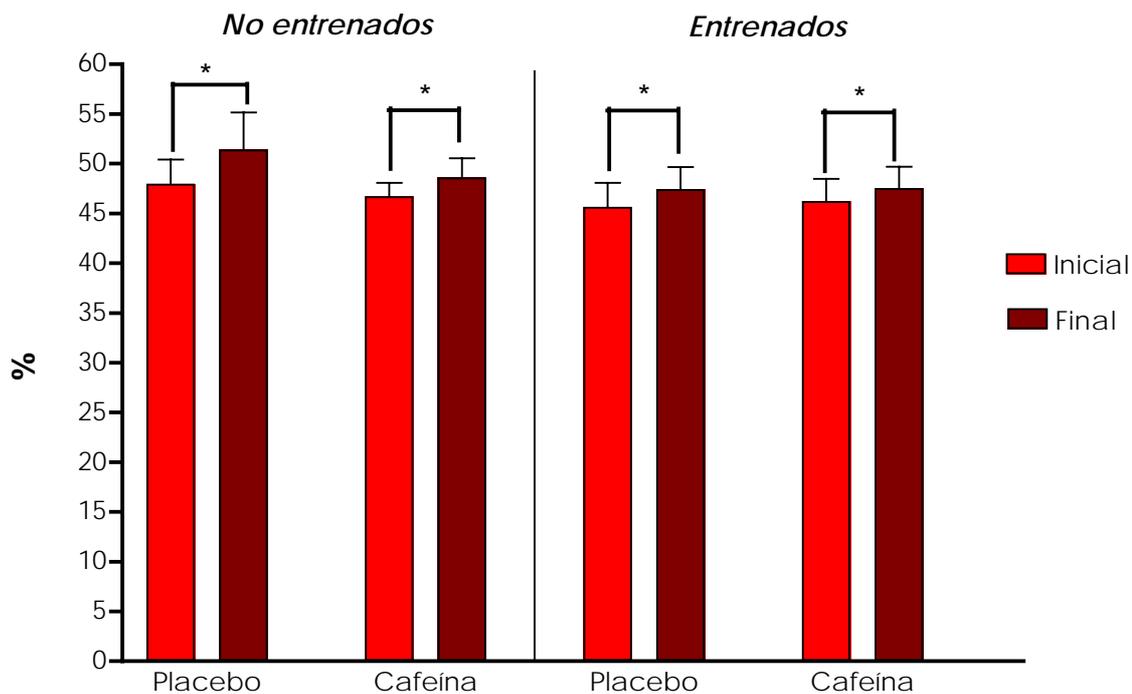


Figura 12. Modificaciones del hematocrito tras las pruebas de estado estable.

(* $p < 0,01$)

Los cambios producidos son similares a la prueba máxima, con aumentos de la tasa de hematocrito en ambas situaciones y en todos los sujetos ($p < 0,01$), pero sin diferencias significativas generadas por la acción de la cafeína.

Observando los valores de las figuras 11 y 12, cabe destacar como los valores de hematocrito y los cambios ocasionados por el esfuerzo son menores en los sujetos entrenados que en los no entrenados.

El identificar cambios estadísticamente significativos en la concentración sanguínea en las situaciones experimentales planteadas, nos hace aplicar a todos los parámetros analizados extraídos de la sangre la correspondiente corrección de la tasa de hematocrito.

4.3 VALORACIÓN DEL RENDIMIENTO FÍSICO

4.3.1 Capacidad y potencia anaeróbica

En la tabla 7, se muestran los resultados obtenidos en la prueba anaeróbica realizada, el test de Wingate, los cuales son expresados bajo los conceptos de: potencia máxima absoluta (PMA), potencia máxima relativa (PMR), potencia media absoluta (PMEA), potencia media relativa (PMER) e índice de fatiga (IF), midiéndose todos en vatios a excepción del índice.

	PMA (w)	PMR (w)	PMEA (w)	PMER (w)	IF
Placebo	668 ± 92	9,46 ± 0,94	532 ± 59	7,55 ± 0,70	39,88 ± 7,02
Cafeína	673 ± 97	9,54 ± 1,12	535 ± 73	7,58 ± 0,73	40,66 ± 9,43

Tabla 7. Resultados obtenidos del test de Wingate en sujetos *no entrenados*.

Los resultados que se derivan de la prueba anaeróbica indican que la ingesta de cafeína no produce aumentos estadísticamente significativos en ninguno de los parámetros analizados.

4.3.2 Test ergométrico incremental máximo

En la tabla 8 (sujetos no entrenados) y en la tabla 9 (sujetos entrenados), se muestran los resultados ergoespirométricos máximos obtenidos durante las pruebas incrementales máximas. Los parámetros estudiados fueron: consumo de oxígeno máximo relativo (VO_2) medido en ml/kg/min, volumen de dióxido de carbono absoluto (VCO_2) medido en ml/min, volumen espirado (VE) l/min, frecuencia respiratoria máxima (RR) medida en respiraciones por minuto, cociente respiratorio máximo (RER) y frecuencia cardíaca máxima (FC) medida en pulsaciones por minuto.

	Tiempo	Carga (W)	FC (ppm)	VO ₂ (ml kg/min)	VCO ₂ (ml/min)	VE (L/min)	RR (rpm)	RER
Placebo	11'35'' ±1' 45''	328 ± 24	184 ± 5	38,47 ± 4,99	4050 ± 598	123,14 ± 22,30	47,65 ± 8,40	1,46 ± 0,14
Cafeína	12'08''*** ±1' 59''	336* ± 24	190** ± 6	41,56* ± 6,50	4136 ± 1183	136,15* ± 22,66	51,65 ± 7,43	1,40* ± 0,13

Tabla 8. Valores máximos del test incremental en el grupo *no entrenados*. (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ en comparación condiciones placebo y cafeína).

En sujetos no entrenados se puede observar como se produjo un incremento estadísticamente significativo en el tiempo de extenuación ($p < 0,01$). También fueron mayores los valores máximos de frecuencia cardiaca ($p < 0,01$), consumo de oxígeno ($p < 0,05$) y volumen espirado ($p < 0,05$) y carga de trabajo ($p < 0,05$); mientras que las diferencias en la producción de CO₂ o frecuencia respiratoria no fueron significativas.

A su vez también se encontró un descenso en el cociente respiratorio máximo ($p < 0,05$).

En la figura 13 se aprecian los valores de lactato correspondientes a la pruebas de esfuerzo máxima en los sujetos no entrenados.

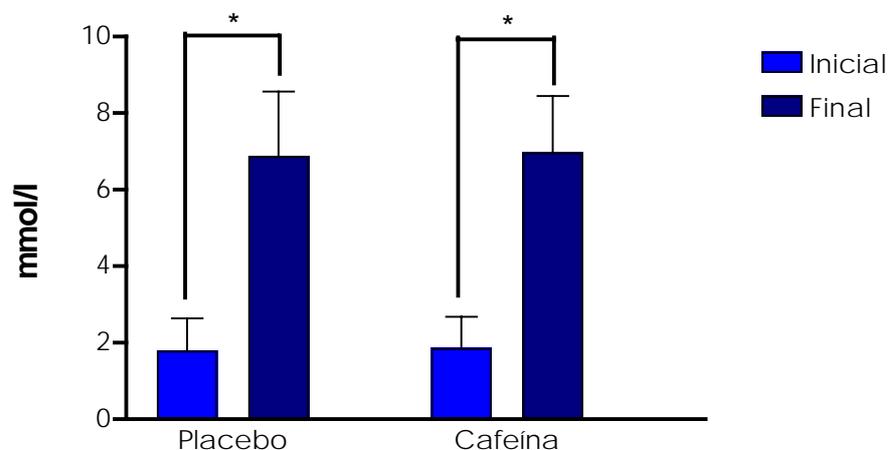


Figura 13. Modificaciones de lactato tras la prueba máxima en sujetos no entrenados. (* $p < 0,001$).

El comportamiento del lactato fue similar con y sin cafeína, apreciándose una gran elevación al término de las pruebas respecto a los valores de reposo ($p < 0,001$).

En el grupo de deportistas apenas hubo diferencias tras las ingesta de cafeína en relación con los parámetros ergoespirométricos (tabla 9), tan sólo un incremento de la frecuencia cardiaca máxima ($p < 0,05$) y un leve aumento en el volumen espirado que no llegó a alcanzar la significación estadística.

	Tiempo	Carga	FC	VO ₂	VCO ₂	VE	RR	RER
		(W)	(ppm)	(ml kg/min)	(ml/min)	(L/min)	(rpm)	
Placebo	15'56''	364	182	65,53	5074	141,08	50,44	1,13
	± 4'15''	± 53,30	± 6	± 9,35	± 701	± 27,55	± 6,99	± 0,05
Cafeína	15'59''	364	190*	66,51	5041	146,51	51,95	1,14
	± 3'45''	± 51,70	± 5	± 5,07	± 416	± 20,26	± 8,16	± 0,06

Tabla 9. Valores máximos del test incremental en el grupo *entrenados*. (* $p < 0,05$, en comparación condiciones placebo y cafeína).

El consumo máximo de oxígeno, el tiempo de trabajo, el trabajo desarrollado o el cociente respiratorio no se vieron modificados.

Por otra parte, los valores finales de lactato (figura 14) también fueron muy superiores respecto a los valores iniciales ($p < 0,001$), viéndose como tras la prueba de cafeína se consiguieron valores mayores que tras la prueba placebo, pero sin alcanzar la significación estadística respecto a esta diferencia.

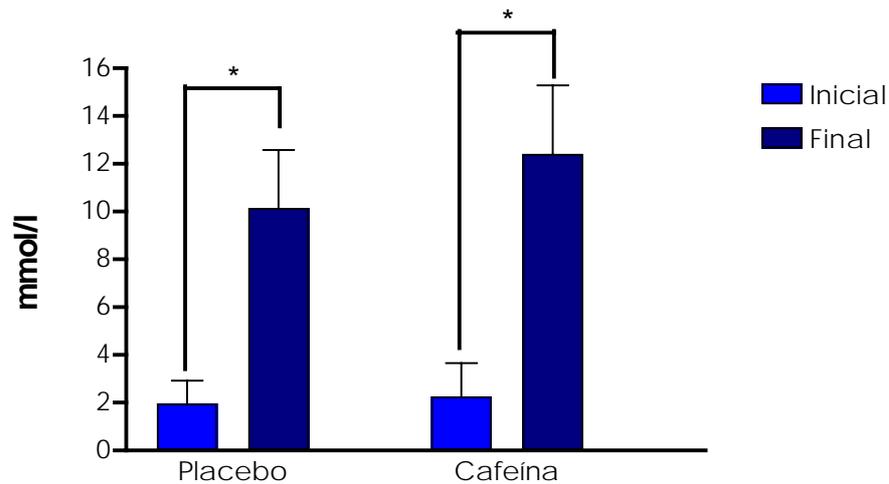


Figura 14. Modificaciones de lactato tras la prueba máxima en sujetos entrenados.
(* $p < 0,001$).

Cabe destacar la diferencia en la producción de lactato entre sujetos no entrenados y entrenados, donde los segundos son capaces de alcanzar cotas mas altas ante el mismo esfuerzo.

4.3.3 Test ergométrico de estado estable 80% VO_2 máx

Los registros ergoespirométricos del test submáximo de estado estable al 80 % del VO_2 máximo se muestran en las figuras 15-25.

Los parámetros estudiados fueron: consumo de oxígeno máximo relativo (VO_2) medido en ml/kg/min, volumen de dióxido de carbono absoluto (VCO_2) medido en ml/min, volumen espirado (VE) l/min, frecuencia respiratoria máxima (RR) medida en respiraciones por minuto, cociente respiratorio máximo (RER) y frecuencia cardiaca máxima (FC) medida en pulsaciones por minuto.

Los valores son mostrados cada 5 minutos y en los minutos 1 y 3 de la recuperación.

Respecto a la frecuencia cardiaca (figuras 15-16), esta alcanzó cotas ligeramente inferiores durante las pruebas con cafeína pero sin llegar a la significación estadística.

Los sujetos entrenados mantuvieron de forma mas lineal la frecuencia cardiaca así como obtuvieron una mejor recuperación de la misma respecto a los no entrenados.

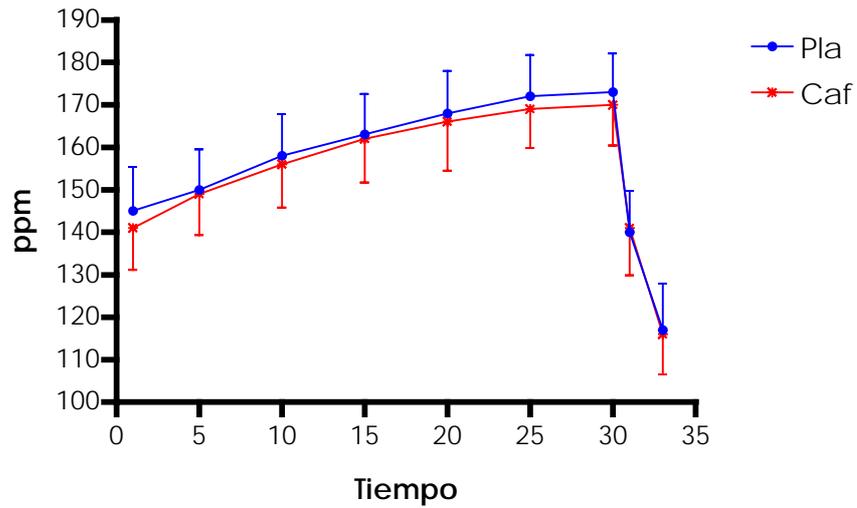


Figura 15. Modificaciones de la frecuencia cardiaca en la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

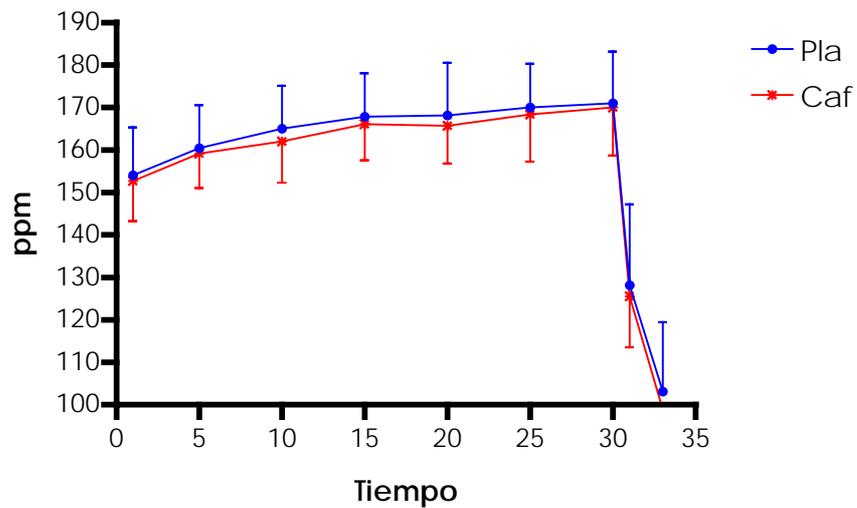


Figura 16. Modificaciones de la frecuencia cardiaca en la prueba estable en sujetos *entrenados*.

Los sujetos no entrenados presentaron el mismo consumo de oxígeno (figura 17) en ambos test, con y sin cafeína, además de mantener una clara linealidad a lo largo de la prueba.

Los valores de VO_2 registrados durante los test estables, siempre fueron superiores en los sujetos entrenados durante el esfuerzo y hasta el primer minuto de la recuperación, en comparación con los no entrenados.

Los sujetos entrenados, consumieron menos oxígeno (figura 18) en la prueba estable tras la ingesta de cafeína, sobre todo disminuyendo a partir del minuto 10 de esfuerzo, aunque sin llegar a la significación estadística.

En las figuras 19 y 20 se refleja el curso de la producción de CO_2 durante las pruebas de estado estable en los sujetos no entrenados y entrenados respectivamente.

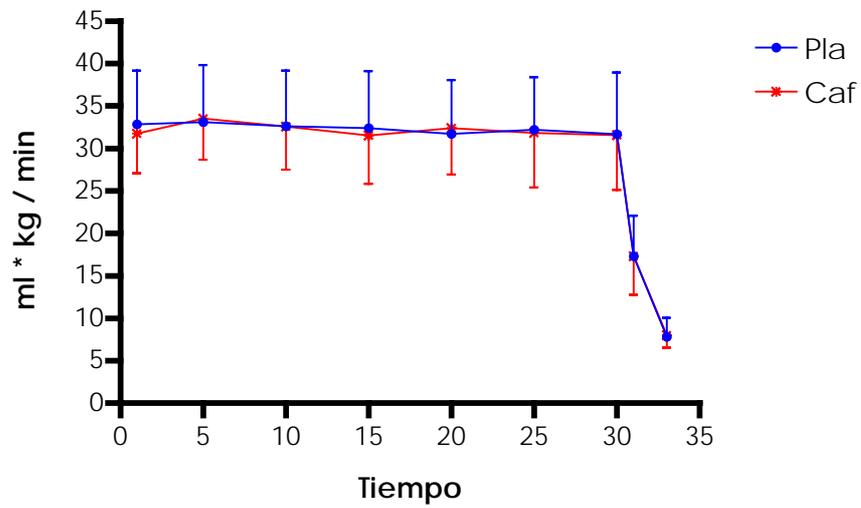


Figura 17. Modificaciones del VO_2 relativo en la prueba estable en sujetos *no* entrenados.

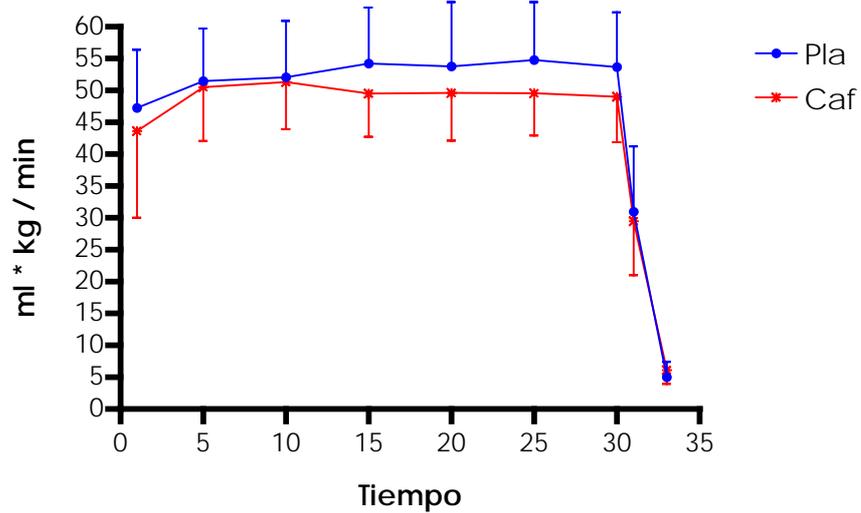


Figura 18. Modificaciones del VO_2 relativo en la prueba estable en sujetos *entrenados*.

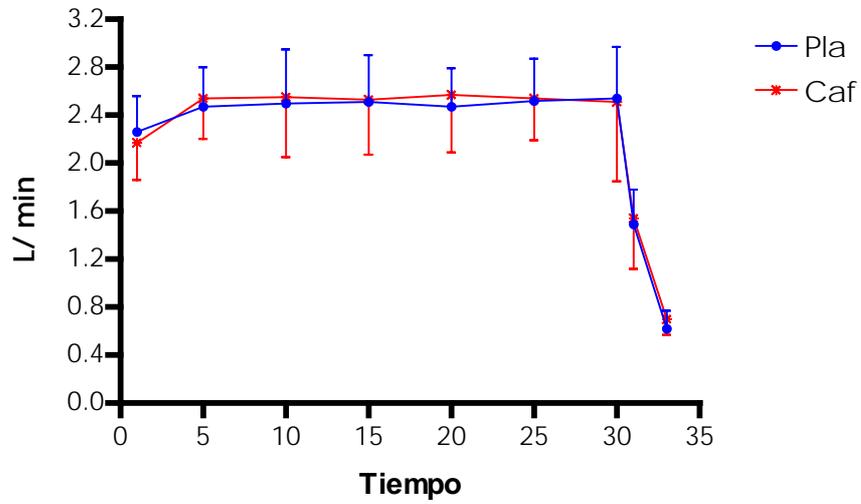


Figura 19. Modificaciones del VCO₂ en la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

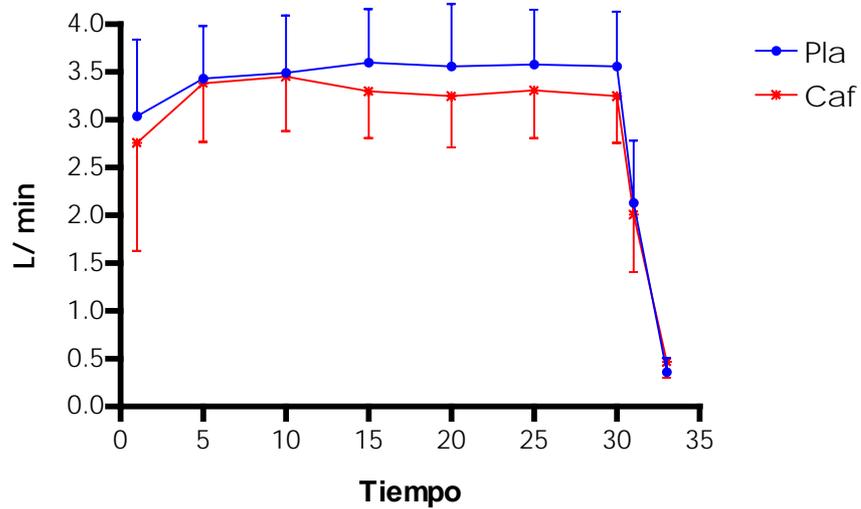


Figura 20. Modificaciones del VCO₂ en la prueba estable en sujetos *entrenados*.

Al igual que sucedía con el consumo de oxígeno, en los sujetos no entrenados el comportamiento del VCO_2 fue similar tanto en las pruebas placebo como en las pruebas con cafeína.

En los sujetos entrenados, además de registrarse mayores valores absolutos en ambas condiciones, en la prueba posterior al consumo de cafeína se vieron menores valores de VCO_2 que en la misma prueba placebo, siendo el efecto más marcado a partir del minuto 10 de esfuerzo pero sin alcanzar la significación estadística.

El cociente respiratorio de intercambio metabólico (RER), indicador de la relación existente entre el consumo de oxígeno y la producción de CO_2 , así como del sustrato energético utilizado durante las pruebas submáximas, se detalla en la gráfica 21 para los sujetos no entrenados y 22 para los sujetos entrenados.

En los sujetos entrenados el RER es más estable y alcanzó valores inferiores en las partes finales del esfuerzo sin sobrepasar el valor de 1 durante la prueba, lo que indica un menor uso de los hidratos de carbono como sustrato energético.

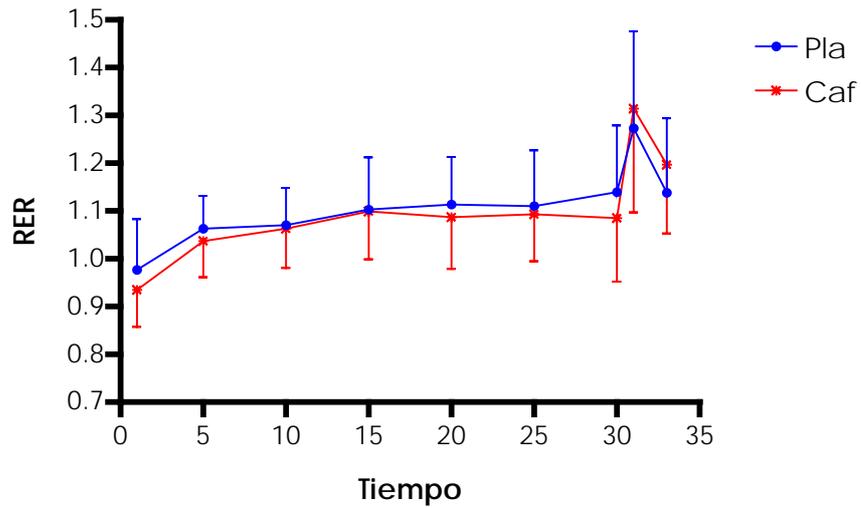


Figura 21. Modificaciones de l cociente respiratorio en la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

Los sujetos no entrenados mostraron un ligero descenso del RER en las partes iniciales y finales del ejercicio así como durante la recuperación en la prueba cafeína, sin llegar a la significación estadística. Superaron el valor de 1 tras el minuto 5 de prueba en ambas condiciones.

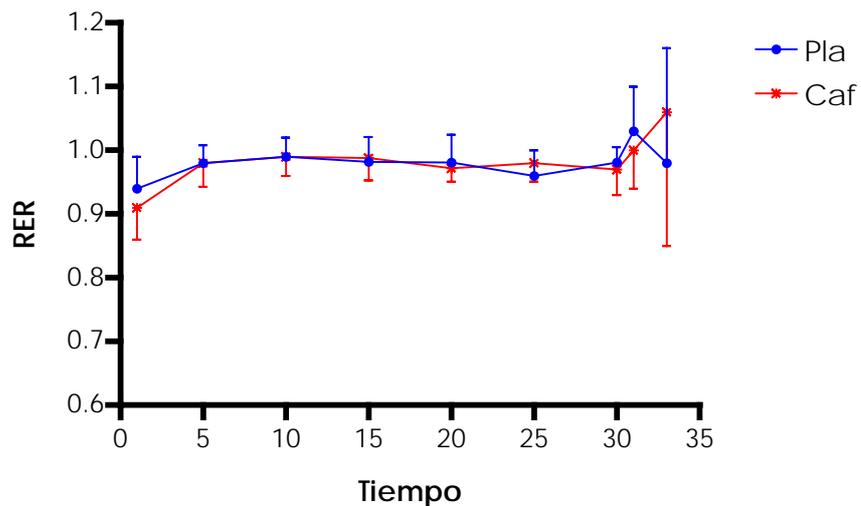


Figura 22. Modificaciones del cociente respiratorio en la prueba estable en sujetos *entrenados*.

Los sujetos entrenados presentaron valores similares durante toda la prueba, con un ligero ascenso en el minuto 3 de la recuperación, sin llegar a la significación estadística.

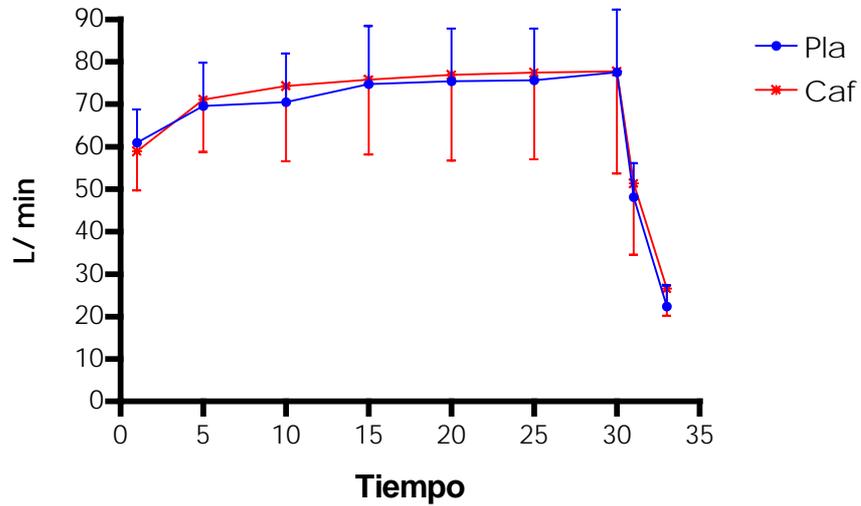


Figura 23. Modificaciones del VE en la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

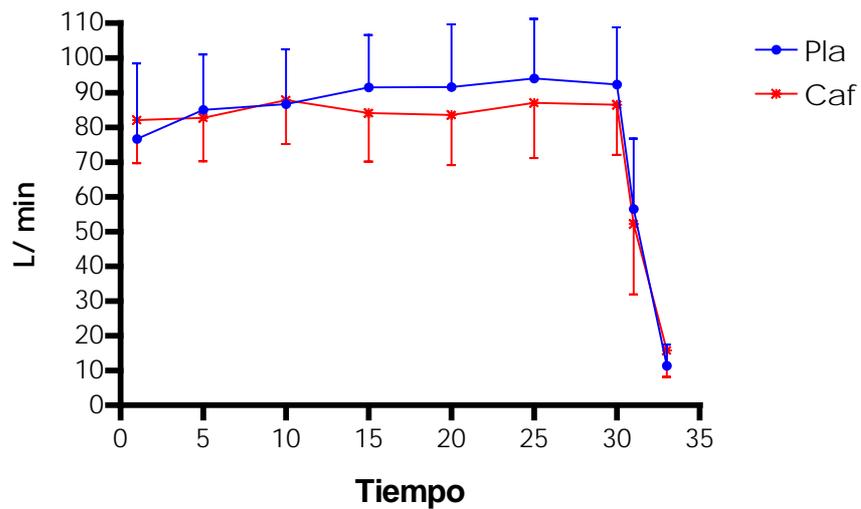


Figura 24. Modificaciones del VE en la prueba estable en sujetos *entrenados*.

El volumen espirado durante las pruebas de estado estable se representa en las figuras 23 para los sujetos no entrenados y 24 para los entrenados.

El grupo de no entrenados obtuvo valores prácticamente similares en ambos esfuerzo, placebo y cafeína.

Por otra parte en los sujetos entrenados, en la prueba con cafeína, el volumen espirado sufrió un descenso a partir del minuto 10 de prueba pero sin una significación estadística, así como también denotó una mayor linealidad.

Las diferencias encontradas entre los sujetos no entrenados y entrenados, marcan como en los no entrenados los valores son inferiores durante el esfuerzo y caen más lentamente durante el periodo de recuperación.

La frecuencia respiratoria desarrollada por los sujetos en los test submáximos estables, se refleja en las figuras 25 y 26 para sujetos no entrenados y entrenados respectivamente.

Tanto en entrenados como no entrenados, ésta fue en aumento a lo largo del esfuerzo hasta la recuperación, siendo mas marcado el incremento en los no entrenados.

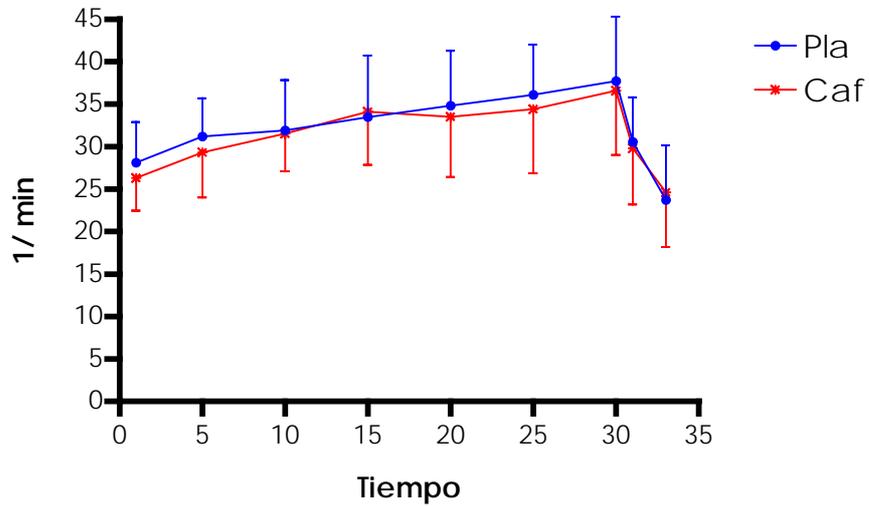


Figura 25. Modificaciones de la frecuencia respiratoria en la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

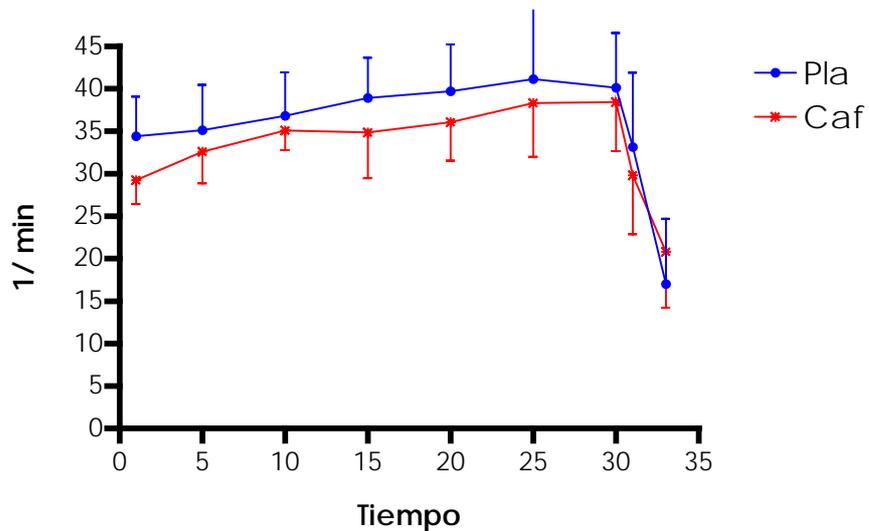


Figura 26. Modificaciones de la frecuencia respiratoria en la prueba estable en sujetos *entrenados*.

Los sujetos no entrenados alcanzaron valores similares en ambas pruebas, mientras los entrenados registraron valores inferiores tras la ingesta de cafeína, pero sin llegar a la significación estadística.

Los niveles de lactato antes y después de las pruebas de estado estable se muestran en las figuras 27 para los no entrenados y 28 para el grupo de deportistas.

En ambas pruebas hubo incrementos respecto a los valores de reposo estadísticamente significativos ($p < 0,001$), a pesar que en los sujetos entrenados se partía con niveles de reposo inferiores.

No se encontraron diferencias significativas debidas a la acción de la cafeína en ninguno de los grupos, aunque en los sujetos entrenados los valores finales fueron mayores respecto a la prueba placebo.

Los valores finales de lactato rondaron los 4 mmol/L en todos los sujetos.

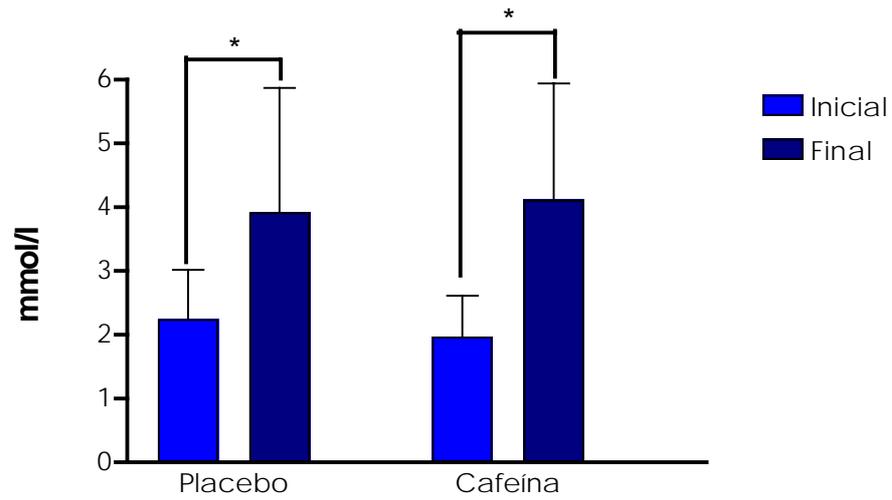


Figura 27. Modificaciones de lactato tras la prueba estable en sujetos no entrenados. (* $p < 0,001$)

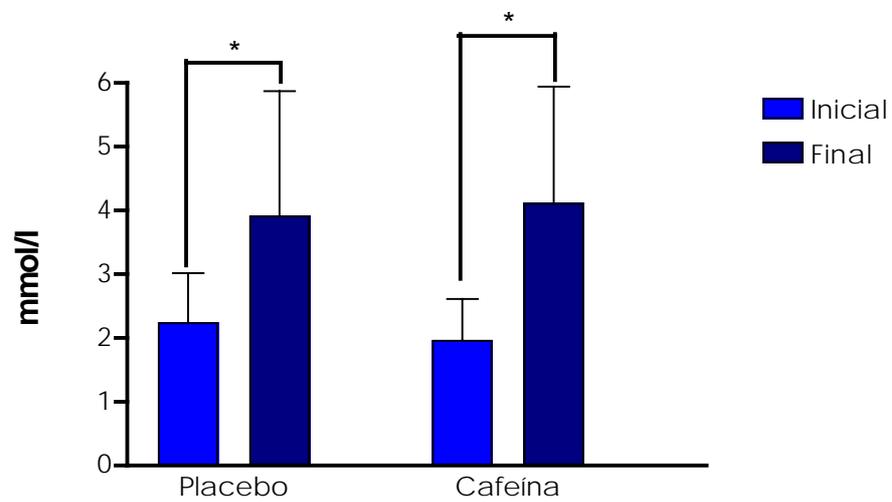


Figura 28. Modificaciones del lactato tras la prueba estable en sujetos entrenados. (* $p < 0,001$)

4.4 ESTRÉS OXIDATIVO Y SISTEMAS ANTIOXIDANTES

4.4.1 Peroxidación lipídica

4.4.1.1 Malondialdehido

En las figuras 29 y 30 se representan los valores plasmáticos de MDA correspondientes a las pruebas incrementales máximas.

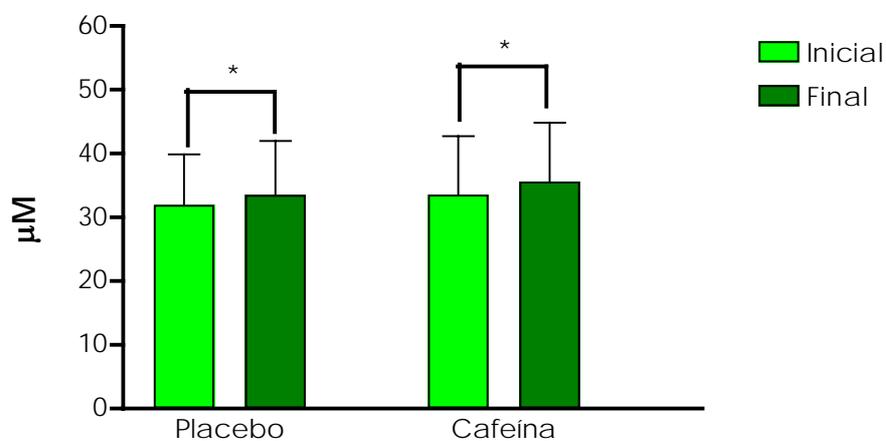


Figura 29. Modificaciones del MDA tras la prueba máxima en sujetos *no entrenados*.
(* $p < 0,05$)

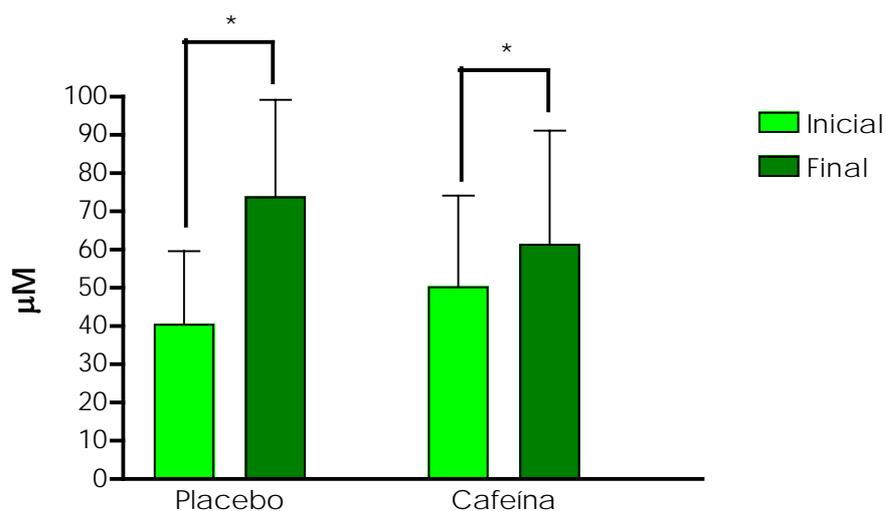


Figura 30. Modificaciones del MDA tras la prueba máxima en sujetos *entrenados*.
(* $p < 0,05$)

Al final de estas pruebas se aprecian incrementos en las concentraciones plasmáticas de MDA.

Los sujetos no entrenados presentaron incrementos de MDA, alcanzando la significación estadística ($p < 0,05$) en las pruebas placebo y cafeína. La magnitud del aumento fue similar en los dos casos y no se encontró diferencias significativas debidas al efecto de la cafeína.

Por otra parte, los sujetos entrenados, ya partían con valores basales de MDA superiores a los no entrenados, y tras el ejercicio sufrieron un aumento mas marcado que éstos de MDA ($p < 0,05$).

En la prueba cafeína los valores finales de MDA fueron inferiores que en la prueba placebo, incluso la diferencia entre los valores inicial y final también fue menor, pero no se encontraron la significación estadística que indicase que la diferencia entre ambas pruebas fuera debida a la ingestión de cafeína.

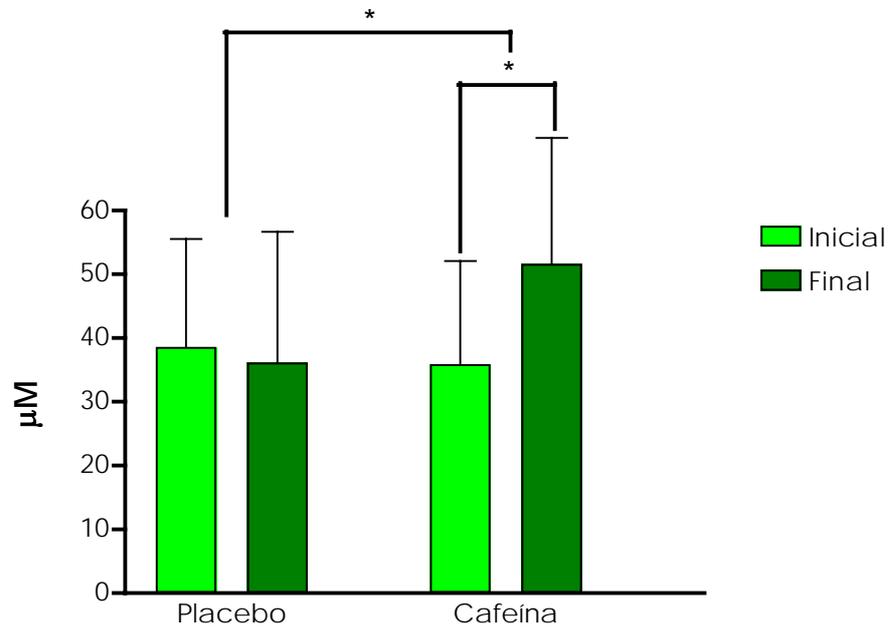


Figura 31. Modificaciones del MDA tras la prueba estable en sujetos no *entrenados*. (* $p < 0,05$)

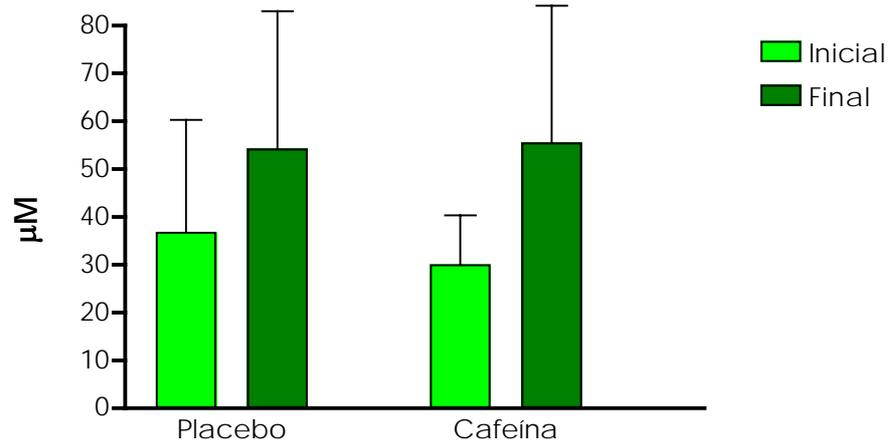


Figura 32. Modificaciones del MDA tras la prueba estable en sujetos *entrenados*.

Los cambios sufridos por el MDA en las pruebas de estado estable se indican en las figuras 31 para los sujetos no entrenados y 32 para los entrenados.

En los no entrenados, durante la prueba placebo los valores de MDA fueron similares antes y después del ejercicio, sin embargo en la prueba cafeína se encontró un gran aumento al final del ejercicio ($p < 0,05$) originado por la ingesta de la xantina, alcanzando la significación estadística ($p < 0,05$).

En los sujetos entrenados el comportamiento del MDA fue distinto. En ambas condiciones hubo aumentos tras el ejercicio, siendo de mayor cuantía bajo el efecto de la cafeína, a pesar de no llegar a la significación estadística.

Los valores iniciales de MDA en las pruebas estables eran inferiores en los sujetos entrenados respecto a los no entrenados. En las circunstancias que hubo aumentos del MDA, los valores finales fueron similares en todos ellas.

4.4.1.2 Índices de peroxidación lipídica

Los índices de peroxidación hacen referencia al grado de conversión, en ácidos grasos de cadena corta, de los ácidos grasos de cadena larga poliinsaturados como motivo de la peroxidación lipídica y ruptura de los mismos.

Cuanto menor sea un índice nos indicará un mayor grado de peroxidación, pues han disminuido los ácidos grasos de cadena larga y aumentado los de cadena corta. Se compararon diferencias entre los índices en momentos distintos, expresando en azul un aumento de los mismos y en rojo un descenso.

En la tabla 10 aparecen los datos correspondientes a la prueba máxima de los no entrenados, donde además de las muestras sanguíneas correspondientes a la toma basal (inicio) y a la toma final del ejercicio, se incluye una muestra adicional a la hora de la ingesta del placebo (P) o cafeína (C) denominada "antes".

Cabe destacar cómo en el efecto en reposo de la cafeína (Antes – Inicial), provoca un descenso en todos los índices de peroxidación, aunque sin llegar a la significación estadística.

Tras el ejercicio físico (Final - Inicial), el índice que mayores variaciones sufrió fue el 20:4/12, aumentando en la prueba placebo y disminuyendo en la prueba cafeína, de este modo se dio la circunstancia de ser este mismo índice aquel que mayor diferencia tuvo comparando las pruebas placebo y cafeína, a pesar que en ninguno de estos casos se llegase a la significación estadística.

En la tabla 11 se representan los índices de peroxidación correspondientes a la prueba de estado estable en los sujetos no entrenados. En este caso tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

También se apreció que el índice que mayores diferencias sufrió comparando las pruebas placebo y cafeína volvió a ser el 204/12, aunque en menor magnitud que en las pruebas máximas.

	INICIAL (P)	ANTES (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	ANTES (C)	FINAL (C)	A-I (P)	F-I (P)	A-I (C)	F-I (C)	CAF-PLA
20:4/12	10,42 ± 3,38	9,99 ± 3,59	12,14 ± 1,92	6,65 ± 2,79	9,59 ± 2,90	4,98 ± 1,39	-0,44	1,71	2,94	-1,67	-3,39
20:4/14	7,46 ± 3,42	6,08 ± 2,04	8,38 ± 2,31	4,96 ± 1,69	7,63 ± 2,91	4,76 ± 1,11	-1,38	0,92	2,67	-0,21	-1,13
20:4/16	0,38 ± 0,76	0,36 ± 0,64	0,36 ± 0,46	0,34 ± 0,54	0,38 ± 0,52	0,33 ± 0,23	-0,02	-0,02	0,04	-0,01	0,01
20:5/12	1,18 ± 0,78	2,89 ± 1,41	1,69 ± 0,62	0,97 ± 0,16	1,82 ± 1,01	0,67 ± 0,26	1,71	0,51	0,85	-0,30	-0,82
20:5/14	0,84 ± 0,79	1,76 ± 0,93	1,17 ± 0,74	0,72 ± 0,25	1,45 ± 1,53	0,64 ± 0,21	0,91	0,32	0,73	-0,09	-0,41
20:5/16	0,04 ± 0,17	0,10 ± 0,61	0,05 ± 0,15	0,05 ± 0,08	0,07 ± 0,27	0,04 ± 0,04	0,06	0,01	0,02	-0,01	-0,01

Tabla 10. Índices de peroxidación de los ácidos grasos en la prueba máxima en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína. Comparaciones inicial – antes, inicial – final.

	INICIAL (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	FINAL (C)	F-I (P)	F-I (C)	CAF-PLA
20:4/12	9,26 ± 2,38	10,37 ± 2,48	7,11 ± 3,18	7,22 ± 3,38	1,11	0,11	-0,99
20:4/14	8,35 ± 284	6,55 ± 1,95	8,99 ± 3,62	7,91 ± 2,01	-1,80	-1,07	0,72
20:4/16	0,37 ± 0,56	0,29 ± 0,42	0,41 ± 0,45	0,38 ± 0,23	-0,08	-0,03	0,05
20:5/12	1,44 ± 0,44	2,17 ± 0,88	1,00 ± 0,27	1,04 ± 0,30	0,73	0,04	-0,69
20:5/14	1,30 ± 0,90	1,37 ± 0,69	1,26 ± 0,56	1,14 ± 0,36	0,07	-0,13	-0,20
20:5/16	0,06 ± 0,10	0,06 ± 0,15	0,06 ± 0,12	0,05 ± 0,09	0,00	-0,01	-0,01

Tabla 11. Índices de peroxidación de los ácidos grasos en la prueba de estado estable en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína.

4.4.2 Sistemas antioxidantes no enzimáticos

Las concentraciones de las vitaminas fueron expresadas en $\mu\text{g}/\text{ml}$.

4.4.2.1 Vitamina A

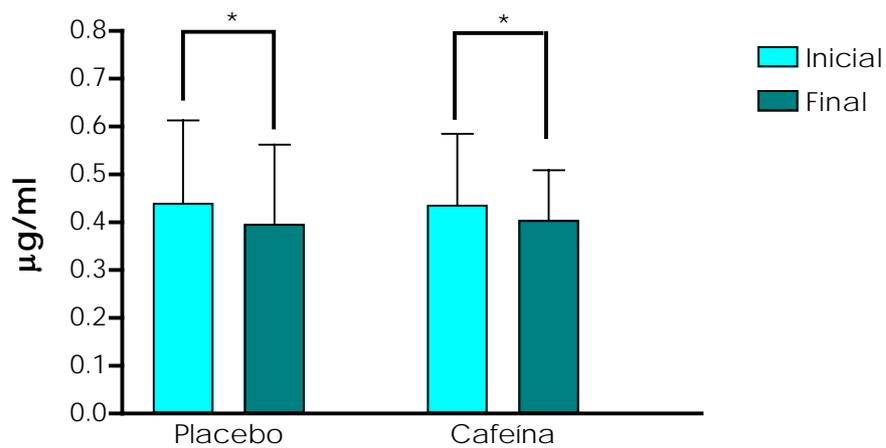


Figura 33. Modificaciones de la vitamina A tras la prueba máxima en sujetos *no* entrenados. ($p < 0,05$)

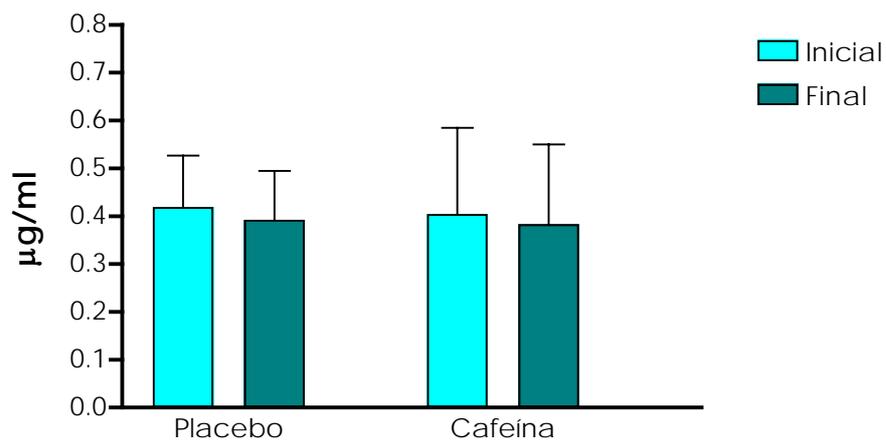


Figura 34. Modificaciones de la vitamina A tras la prueba máxima en sujetos *entrenados*.

La figura 33 muestra los cambios plasmáticos de vitamina A tras el ejercicio máximo y en las condiciones placebo y cafeína en sujetos no entrenados. Se puede apreciar como ésta vitamina sufrió un leve descenso tras el esfuerzo estadísticamente significativo ($p < 0,05$) similar en ambas pruebas indiferente a la acción de la cafeína.

La figura 34 refleja las modificaciones de la vitamina A para los sujetos entrenados en las mismas condiciones. En este caso las variaciones fueron similares a los no entrenados pero sin alcanzar la significación estadística.

La figuras 35 y 36 muestran los valores de vitamina A en condiciones placebo y cafeína en la prueba de estado estable para sujetos no entrenados y entrenados respectivamente.

En todos los sujetos se observó un pequeño descenso de la vitamina A con el ejercicio, bastante similar al sufrido en las pruebas máximas, independiente a la ingesta de cafeína y en ningún caso alcanzando la significación estadística.

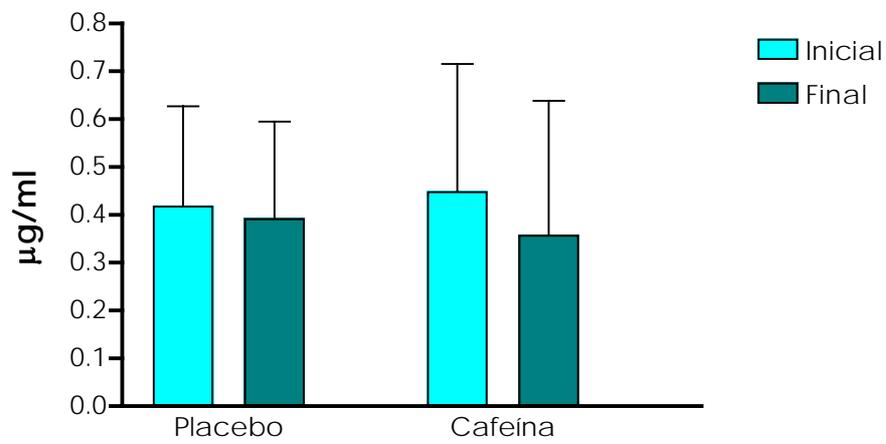


Figura 35. Modificaciones de la vitamina A tras la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

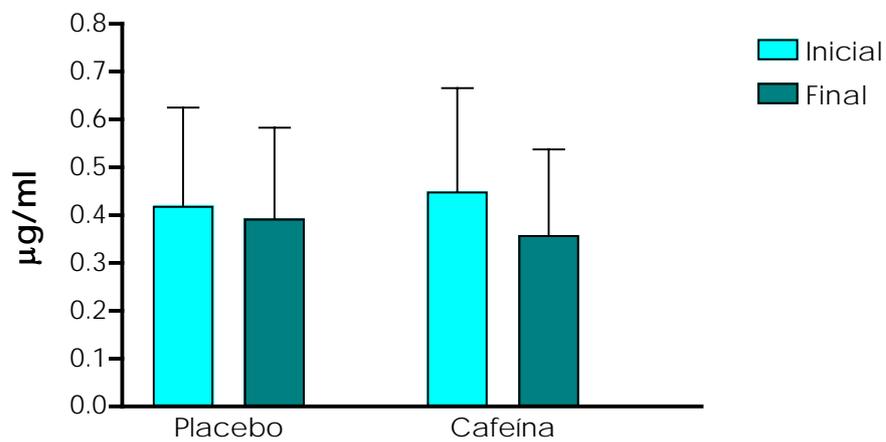


Figura 36. Modificaciones de la vitamina A tras la prueba estable en sujetos *entrenados*.

4.4.2.2 Vitamina E

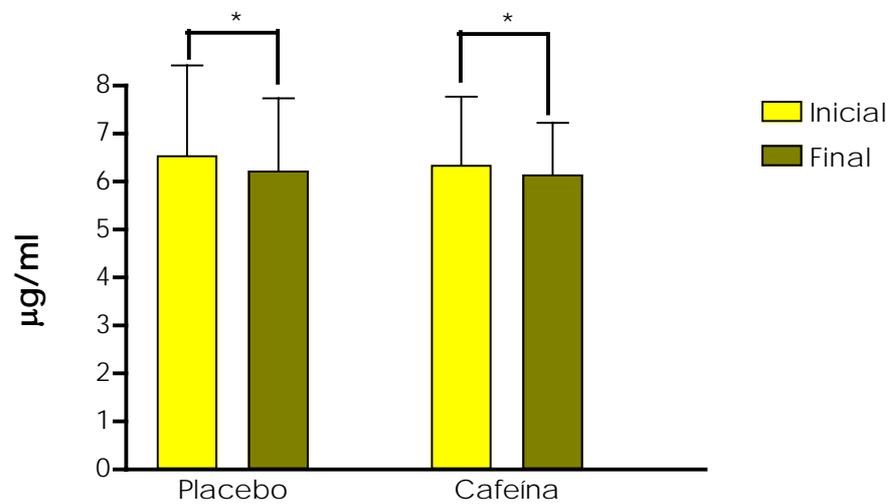


Figura 37. Modificaciones de la vitamina E tras la prueba máxima en sujetos *no* entrenados. (* $p < 0,05$).

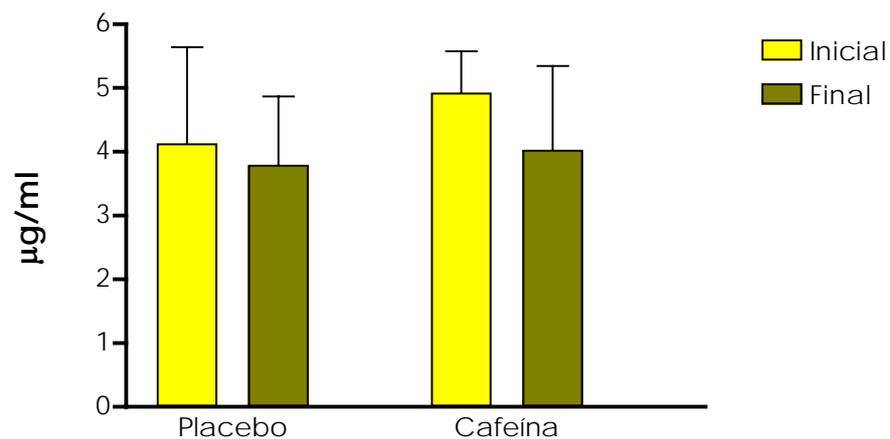


Figura 38. Modificaciones de la vitamina E tras la prueba máxima en sujetos *entrenados*.

En las figuras 37 y 38 se observan los valores de vitamina E durante las pruebas máximas en las condiciones placebo y cafeína para sujetos no entrenados y entrenados.

En los sujetos no entrenados se produjo tras el ejercicio un leve descenso en ambas condiciones ($p < 0,05$), mientras que en los sujetos entrenados el descenso de la vitamina E fue más marcado en la prueba cafeína, aunque sin alcanzar la significación estadística.

Por otra parte, en las pruebas estables, los sujetos no entrenados sufrirían también descensos más marcados de la vitamina E tras el ejercicio bajo la ingesta de cafeína, sin llegar a la significación estadística (figura 39).

En los sujetos entrenados y durante las pruebas estables, los descensos de la vitamina E tras el ejercicio fueron de la misma cuantía en ambas situaciones, placebo y cafeína, sin ser estadísticamente significativos (figura 40).

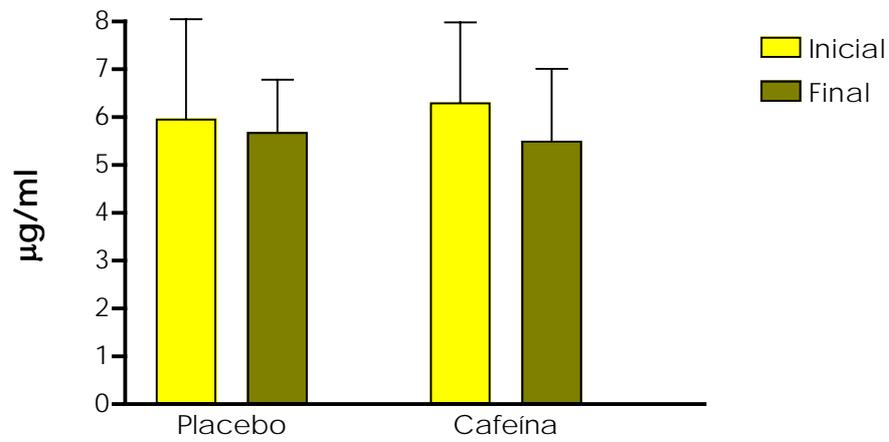


Figura 39. Modificaciones de la vitamina E tras la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

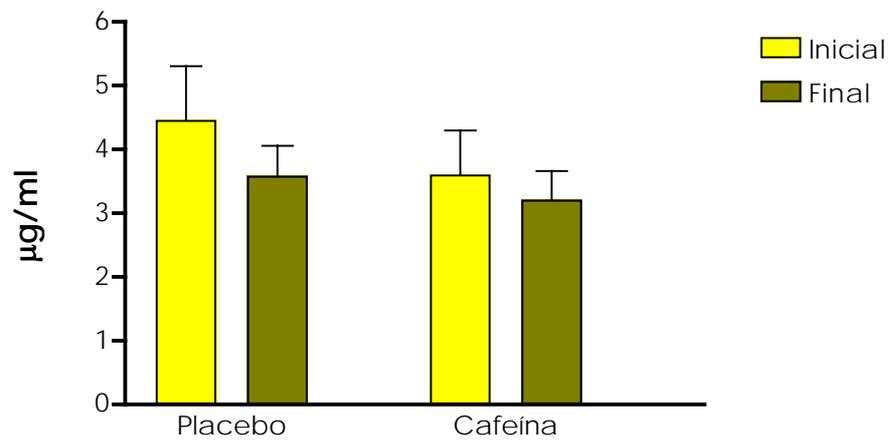


Figura 40. Modificaciones de la vitamina E tras la prueba estable en sujetos *entrenados*.

4.4.2.3 Vitamina C

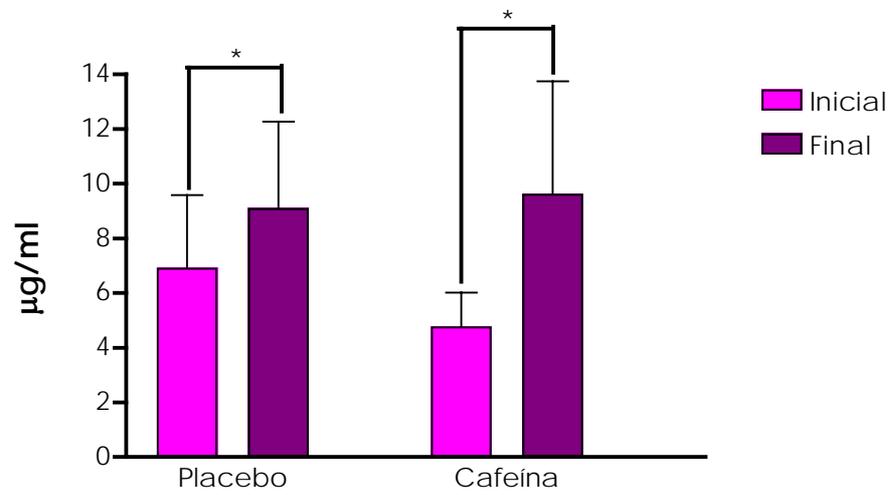


Figura 41. Modificaciones de la vitamina C tras la prueba máxima en sujetos *no entrenados*. ($p < 0,01$)

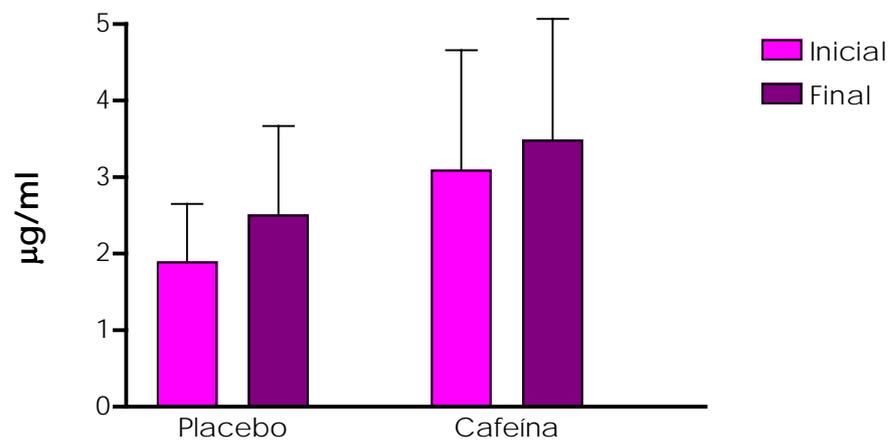


Figura 42. Modificaciones de la vitamina C tras la prueba máxima en sujetos *entrenados*.

Las figuras 41 y 42 muestran los cambios sufridos por la vitamina C en los sujetos no entrenados y entrenados respectivamente, en las pruebas máximas con y sin cafeína.

En ellas se aprecia como la vitamina C, antioxidante en medios acuosos, sufre un comportamiento dispar en estas pruebas, diferente a las otras vitaminas analizadas como antioxidantes en medios lipídicos, Ay E.

En todas las circunstancias, la vitamina C sufre aumentos tras el ejercicio físico. Para los sujetos no entrenados es estadísticamente significativo ($p < 0,05$), más marcado en las pruebas donde se ingirió cafeína, pero sin significación estadística entre pruebas placebo y cafeína.

En los sujetos entrenados los incrementos de vitamina C con el esfuerzo fueron similares en condiciones placebo y cafeína, sin llegar a ser estadísticamente significativas las diferencias encontradas.

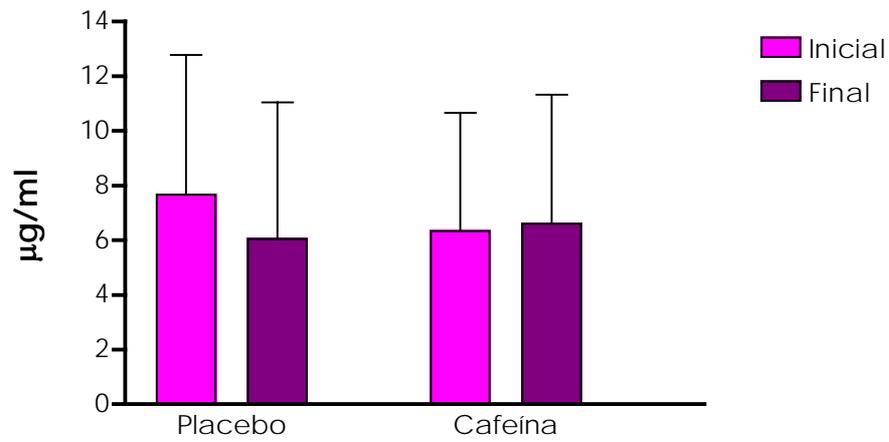


Figura 43. Modificaciones de la vitamina C tras la prueba estable en sujetos *no entrenados*.

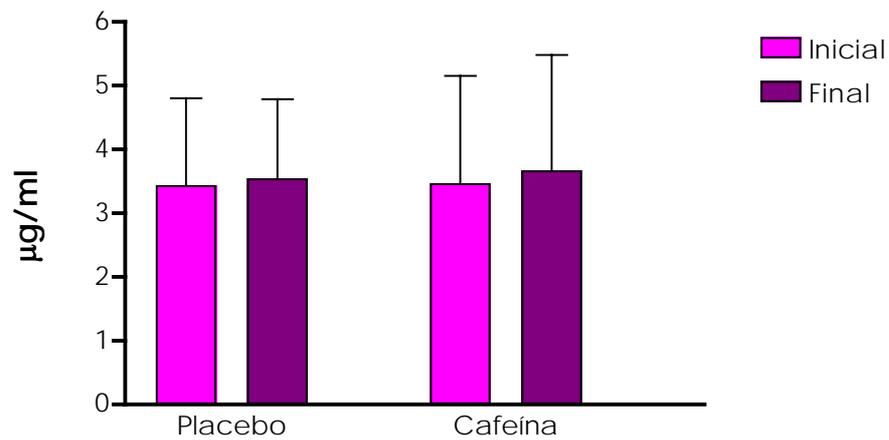


Figura 44. Modificaciones de la vitamina C tras la prueba estable en sujetos *entrenados*.

Los cambios de la vitamina C en las pruebas estables se muestran en las figuras 43 para los no entrenados y 44 para los entrenados.

Durantes estas pruebas no se produjo ningún cambio significativo en los sujetos no entrenados.

En los sujetos entrenados la vitamina C se mantuvo inalterable ni por el esfuerzo ni por la acción de la cafeína.

Cabe destacar los menores niveles de vitamina C encontrados en los sujetos entrenados respecto a los no entrenados.

4.5 METABOLISMO LIPÍDICO

Para el estudio del metabolismo lipídico utilizaremos como resultados los porcentajes de los ácidos grasos de los sujetos no entrenados agrupados como a continuación se describe.

- Comparativa de las familias de los ácidos grasos: saturados, monoinsaturados, poliinsaturados y familias $\omega 3$ - $\omega 6$.
- Descripción individualizada de los ácidos grasos saturados.
- Descripción individualizada de los ácidos grasos monoinsaturados
- Descripción individualizada de los ácidos grasos poliinsaturados.
- Índices de desaturación lipídica.

En la prueba incremental máxima se compararon diferencias entre las muestras sanguíneas correspondientes a la toma basal (inicio) y a la toma final del ejercicio, así como una muestra adicional a la hora de la ingesta del placebo (P) o cafeína (C) denominada "antes".

En las pruebas de estado estable las comparaciones fueron con las tomas basal (inicio) y final del ejercicio bajo las condiciones placebo (P) o cafeína (C).

Las modificaciones sufridas por los ácidos grasos en las distintas comparaciones se expresan en azul para los aumentos y en rojo para los descensos.

4.5.1 Ácidos Grasos

En la tabla 12 se muestran las modificaciones de porcentajes de los distintos ácidos grasos en la prueba incremental máxima. En cuanto a la comparación entre valores basales y antes de la práctica del ejercicio, no se encontraron diferencias significativas, sin embargo tras la realización de la actividad física se observó un aumento de los ácidos grasos saturados en la prueba con cafeína estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

En el resto de ácidos grasos no se encontraron diferencias que llegasen a la significación estadística con la realización del esfuerzo. Cabe destacar como valorando las diferencias entre la ingestión de cafeína y placebo, los ácidos grasos mas afectados son los saturados que aumentan, a la vez que se produce una disminución en los monoinsaturados.

En la tabla 13 se encuentran las modificaciones de los distintos ácidos grasos ante el esfuerzo estable. En éste caso se produjo un aumento de los ácidos grasos saturados tras el ejercicio físico, mas marcado y alcanzando la significación estadística ($p < 0,05$) en las pruebas placebo.

También se aprecian descensos en los ácidos grasos poliinsaturados y $\omega 6$ en ambas condiciones, placebo y cafeína, a pesar de no llegar a la significación estadística.

Comparando las diferencias entre las pruebas placebo y cafeína, cabe destacar como la cafeína eleva en menor medida los ácidos grasos saturados así como incrementa los monoinsaturados, aunque estas diferencias no fuesen estadísticamente significativas.

	INICIAL (P)	ANTES (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	ANTES (C)	FINAL (C)	A-I (P)	F-I (P)	A-I (C)	F-I (C)	CAF-PLA
Saturados	30,23 ± 4,55	28,66 ± 5,59	30,02 ± 3,14	31,11 ± 5,39	29,35 ± 5,79	33,83* ± 8,27	-1,57	-0,21	-1,76	2,72	2,93
Monoinsaturados	23,32 ± 6,31	22,94 ± 6,32	23,8 ± 2,20	25,64 ± 8,77	25,62 ± 5,70	23,69 ± 4,69	-0,38	0,48	-0,04	-1,95	-2,43
Polinsaturados	46,43 ± 5,77	48,4 ± 2,55	46,19 ± 3,44	43,23 ± 12,23	45,01 ± 8,60	42,46 ± 7,13	1,97	-0,24	1,78	-0,77	-0,53
ω 6	42,46 ± 5,45	42,37 ± 2,81	41,32 ± 3,38	39,29 ± 11,61	40,8 ± 8,38	38,99 ± 6,31	-0,09	-1,14	1,51	-0,3	0,84
ω 3	3,97 ± 1,36	6,03 ± 3,74	4,87 ± 1,84	3,94 ± 1,19	4,21 ± 1,71	3,47 ± 1,23	2,06	0,9	0,27	-0,47	-1,37

Tabla 12. Modificación de % de ácidos grasos en la prueba máxima en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína.

Comparaciones inicial – antes, inicial - final. (* P < 0,05).

	INICIAL (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	FINAL (C)	PLA	CAF	CAF-PLA
Saturados	28,3 ± 5,9	31,09* ± 4,59	28,88 ± 4,12	29,60 ± 4,56	2,79	0,72	-2,07
Monoinsaturados	25,09 ± 10,03	24,24 ± 3,61	22,74 ± 2,65	23,95 ± 4,48	-0,85	1,21	2,06
Polinsaturados	46,60 ± 7,23	44,66 ± 6,02	48,37 ± 5,46	46,44 ± 6,54	-1,94	-1,93	-0,01
ω 6	41,61 ± 6,61	39,39 ± 6,84	43,47 ± 6,64	41,85 ± 6,77	-2,22	-1,62	-0,6
ω 3	4,99 ± 2,75	5,27 ± 3,36	4,90 ± 2,57	4,59 ± 2,44	0,28	-0,31	-0,59

Tabla 13. Modificación de % de ácidos grasos en la prueba de estado estable en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína. (* P < 0,05)

4.5.2 Ácidos Grasos saturados

En la tabla 14 se muestra uno por uno los cambios sufridos por los distintos ácidos grasos saturados en la prueba máxima. Ni tras el ejercicio físico en condiciones placebo ni tras la ingesta de cafeína se hallaron diferencias estadísticamente significativas, tan sólo se encontró un leve descenso del ácido graso C 20, que llegó a la significación estadística ($p < 0,05$), tras el ejercicio y en la prueba con cafeína.

Remarcar el aumento del ácido graso C 18:0 en ambas condiciones, sobre todo en las pruebas con cafeína, que le hace ser el más afectado comparando el efecto de la xantina, a pesar de no llegar a la significación estadística.

Por parte de la prueba estable (tabla 15), solamente se aprecia un aumento del C16 tras el ejercicio físico más marcado en la prueba placebo aunque sin ser estadísticamente significativo.

	INICIAL (P)	ANTES (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	ANTES (C)	FINAL (C)	A-I (P)	F-I (P)	A-I (C)	F-I (C)	CAF-PLA
C12:0	0,73 ± 0,77	0,70 ± 0,64	0,58 ± 0,65	1,03 ± 0,07	0,74 ± 0,73	1,29 ± 1,08	-0,03	-0,15	-0,29	0,26	0,41
C14:0	1,02 ± 0,76	1,15 ± 1,13	0,84 ± 0,54	1,38 ± 1,27	0,93 ± 0,58	1,35 ± 1,35	0,13	-0,18	-0,45	-0,03	0,15
C16:0	20,11 ± 3,44	19,37 ± 3,59	19,69 ± 2,73	19,99 ± 3,97	18,74 ± 5,50	19,32 ± 6,42	-0,74	-0,42	-1,25	-0,67	-0,25
C18:0	8,08 ± 1,30	7,20 ± 2,25	8,46 ± 1,97	8,17 ± 1,32	8,45 ± 1,08	11,61 ± 12,87	-0,88	0,38	0,28	3,44	3,06
C20:0	0,27 ± 0,28	0,24 ± 0,21	0,40 ± 0,31	0,52 ± 0,33	0,46 ± 0,40	0,24 * ± 0,15	-0,03	0,13	-0,06	-0,28	-0,41

Tabla 14. Modificaciones de % de ácidos grasos saturados en la prueba máxima en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína. Comparaciones inicial - antes, inicial - final. (* P < 0,05).

	INICIAL (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	FINAL (C)	F-I (P)	F-I (C)	CAF-PLA
C12:0	0,73 ± 1,24	0,60 ± 0,77	1,10 ± 1,27	1,03 ± 0,82	-0,13	-0,07	0,06
C14:0	0,81 ± 0,61	0,95 ± 0,98	0,87 ± 0,61	0,94 ± 0,69	0,14	0,07	-0,07
C16:0	18,0 ± 85,3	21,35 ± 4,54	19,10 ± 2,79	19,61 ± 2,78	3,27	0,51	-2,76
C18:0	8,37 ± 2,28	7,8 ± 0,94	7,44 ± 0,94	7,70 ± 1,34	-0,57	0,26	0,83
C20:0	0,28 ± 0,27	0,37 ± 0,38	0,35 ± 0,28	0,30 ± 0,21	0,09	-0,05	-0,14

Tabla 15. Modificaciones de % de ácidos grasos saturados en la prueba de estado estable en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína.

4.5.3 Ácidos Grasos monoinsaturados

En la tabla 16 aparecen de forma individualizada los cambios sufridos por los ácidos grasos monoinsaturados en la prueba máxima. En reposo con y sin cafeína, y tras el ejercicio en condiciones placebo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas a pesar de hallar un descenso en los valores del ácido graso C18:1 cis.

Tras el ejercicio bajo la ingesta de cafeína se vieron descensos del ácido graso C 18:1 trans, que en este caso si llegaron a la significación estadística ($p < 0,05$), haciendo de éste ácido graso el que mayores cambios producía tras el ejercicio físico comparando pruebas placebo y cafeína.

En relación a las modificaciones de los ácidos grasos monoinsaturados en prueba de estado estable, (tabla 17), se observó un leve aumento del C18:1 trans que alcanzó la significación estadística tras el ejercicio en las pruebas cafeína. Se apreció un descenso del C16:1 en las pruebas placebo mientras que en las pruebas cafeína se mantenía constante habiendo entre ellas una notable diferencia, no obstante en este caso no se alcanzó la significación estadística.

	INICIAL (P)	ANTES (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	ANTES (C)	FINAL (C)	A-I (P)	F-I (P)	A-I (C)	F-I (C)	CAF-PLA
C16:1	1,61 ± 0,85	1,92 ± 1,32	1,70 ± 1,19	1,59 ± 0,54	1,60 ± 0,49	1,54 ± 0,41	0,31	0,09	0,01	-0,05	-0,14
C18:1c	19,23 ± 5,95	16,79 ± 5,68	17,78 ± 5,47	20,01 ± 3,43	20,21 ± 7,49	19,68 ± 4,21	-2,44	-1,45	0,2	-0,33	1,12
C18:1t	1,52 ± 0,66	3,44 ± 5,42	2,84 ± 4,47	3,22 ± 6,19	2,99 ± 4,32	1,73* ± 0,43	1,92	1,32	-0,23	-1,49	-2,81
C24:1	0,95 ± 0,33	0,78 ± 0,25	1,47 ± 1,53	0,82 ± 0,37	0,81 ± 0,35	0,73 ± 0,35	-0,17	0,51	-0,01	-0,09	-0,60

Tabla 16. Modificaciones de % de ácidos grasos monoinsaturados en la prueba máxima en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína. Comparaciones inicial – antes, inicial - final. (*p<0,05)

	INICIAL (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	FINAL (C)	F-I (P)	F-I (C)	CAF-PLA
C16:1	3,90 ± 6,30	1,98 ± 1,6	1,35 ± 0,31	1,45 ± 0,34	-1,92	0,1	2,02
C18:1c	17,77 ± 5,26	18,1 ± 6,58	18,73 ± 2,22	19,39 ± 2,93	0,33	0,66	0,33
C18:1t	2,22 ± 2,81	2,61 ± 3,86	1,53 ± 0,19	1,7 * ± 0,49	0,39	0,17	-0,22
C24:1	1,19 ± 0,81	1,52 ± 1,87	1,12 ± 0,56	1,39 ± 1,95	0,33	0,27	-0,06

Tabla 17. Modificaciones de % de ácidos grasos monoinsaturados en la prueba de estado estable en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína. (* P < 0,05)

4.5.4 Ácidos Grasos poliinsaturados

En las tabla 18 y 19, se detallan los valores de ácidos grasos poliinsaturados en las pruebas máximas y de estado estable respectivamente.

En ninguno de los se encontraron modificaciones de los mismos ni diferencias estadísticamente significativas.

	INICIAL (P)	ANTES (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	ANTES (C)	FINAL (C)	A-I (P)	F-I (P)	A-I (C)	F-I (C)	CAF-PLA
C18:2,6	32,61 ± 3,76	33,07 ± 3,68	32,24 ± 2,92	30,4 ± 3,95	31,55 ± 6,23	30,70 ± 5,08	0,46	-0,37	1,15	0,3	0,67
C18:3,6	0,29 ± 0,21	0,35 ± 0,18	0,36 ± 0,20	0,30 ± 0,14	0,36 ± 0,18	0,26 ± 0,14	0,06	0,07	0,06	-0,04	-0,11
C18:3,3	0,20 ± 0,18	0,47 ± 0,52	0,27 ± 0,11	0,28 ± 0,23	0,28 ± 0,20	0,22 ± 0,19	0,27	0,07	0	-0,06	-0,13
C20,3	1,94 ± 0,94	1,96 ± 1,48	1,68 ± 0,53	1,72 ± 0,62	1,78 ± 0,82	1,59 ± 0,34	0,02	-0,26	0,06	-0,13	0,13
C20:4	7,61 ± 2,6	6,99 ± 2,3	7,04 ± 1,25	6,85 ± 2,14	7,10 ± 2,85	6,42 ± 1,50	-0,62	-0,57	0,25	-0,43	0,14
C20:5,3	0,86 ± 0,6	2,00 ± 1,18	0,98 ± 0,4	1,00 ± 0,70	1,35 ± 1,47	0,86 ± 0,28	1,16	0,12	0,35	-0,14	-0,26
C22:5,3	1,01 ± 0,45	1,61 ± 2,84	1,33 ± 0,85	0,92 ± 0,37	0,96 ± 0,28	0,85 ± 0,33	0,6	0,32	0,04	-0,07	-0,39
C22:6	1,89 ± 1,09	1,92 ± 0,79	2,29 ± 1,08	1,72 ± 0,59	1,61 ± 0,74	1,52 ± 0,63	0,03	0,4	-0,11	-0,2	-0,6

Tabla 18. Modificaciones de % de ácidos grasos poliinsaturados en la prueba máxima en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína. Comparaciones inicial – antes, inicial - final.

	INICIAL (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	FINAL (C)	F-I (P)	F-I (C)	CAF-PLA
C18:2,6	32,58 ± 4,56	31,31 ± 5,47	32,18 ± 5,44	31,81 ± 4,38	-1,27	-0,37	0,9
C18:3,6	0,32 ± 0,25	0,31 ± 0,15	0,39 ± 0,20	0,35 ± 0,11	-0,01	-0,04	-0,03
C18:3,3	0,26 ± 0,30	0,43 ± 0,76	0,33 ± 0,42	0,28 ± 0,33	0,17	-0,05	-0,22
C20,3	1,94 ± 1,09	1,48 ± 0,41	3,07 ± 5,09	2,23 ± 1,67	-0,46	-0,84	-0,38
C20:4	6,76 ± 2,95	6,22 ± 1,91	7,82 ± 4,04	7,44 ± 2,77	-0,54	-0,38	0,16
C20:5,3	1,05 ± 0,55	1,30 ± 0,68	1,10 ± 0,34	1,07 ± 0,25	0,25	-0,03	-0,28
C22:5,3	1,25 ± 1,02	1,30 ± 1,48	1,17 ± 0,67	1,11 ± 0,69	0,05	-0,06	-0,11
C22:6	2,41 ± 1,79	2,23 ± 1,45	2,28 ± 1,63	2,12 ± 1,87	-0,17	-0,16	0,01

Tabla 19. Modificaciones de % de ácidos grasos poliinsaturados en la prueba de estado estable en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína.

4.5.5 Índices de desaturación lipídica

En la tabla 20 figuran los índices de desaturación en la prueba máxima, de ellos el mas afectado fue el delta 9,2 que sufrió un descenso significativo ($p < 0,05$) en las pruebas cafeína. Durante el reposo o las pruebas placebo no hubo modificaciones significativas.

Por otra parte, en la prueba estable, los índices de desaturación (tabla 21), no mostraron diferencias estadísticamente significativas, aunque cabe destacar la menor elevación en el índice delta 9,2 en las pruebas cafeína.

	INICIAL (P)	ANTES (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	ANTES (C)	FINAL (C)	A-I (P)	F-I (P)	A-I (C)	F-I (C)	CAF-PLA
Delta 9,1	0,08 ± 0,25	0,10 ± 0,37	0,09 ± 0,44	0,08 ± 0,14	0,09 ± 0,09	0,08 ± 0,06	0,02	0,01	0,01	0,00	-0,01
Delta 9,2	2,57 ± 1,08	2,81 ± 1,93	2,44 ± 1,05	2,84 ± 1,29	2,75 ± 0,94	1,84* ± 0,36	0,24	-0,13	-0,10	-1,00	-0,87
Delta 5	3,92 ± 1,77	3,57 ± 1,55	4,19 ± 1,36	3,98 ± 1,45	3,99 ± 1,48	4,04 ± 1,41	-0,36	0,27	0,01	0,06	-0,21

Tabla 20. Índices de desaturación de ácidos grasos en la prueba máxima en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína.
Comparaciones inicial – antes, inicial - final. (* P < 0,05).

	INICIAL (P)	FINAL (P)	INICIAL (C)	FINAL (C)	F-I (P)	F-I (C)	CAF-PLA
Delta 9,1	0,22 ± 0,19	0,09 ± 0,35	0,07 ± 0,11	0,07 ± 0,12	-0,12	0,00	0,13
Delta 9,2	2,39 ± 1,54	2,66 ± 1,11	2,72 ± 1,56	2,74 ± 1,55	0,27	0,02	-0,25
Delta 5	3,48 ± 1,71	4,20 ± 2,66	2,55 ± 0,79	3,34 ± 1,66	0,72	0,79	0,07

Tabla 21. Índices de desaturación de ácidos grasos en la prueba de estado estable en sujetos no entrenados en condiciones placebo y cafeína.

4.6 VÍAS DE ELIMINACIÓN

En la figura 45 se recogen las concentraciones de cafeína expresadas en $\mu\text{g/ml}$ en diversos fluidos biológicos, así como el antiguo límite impuesto por el COI cuando la cafeína era una sustancia de uso restringido, en las pruebas máxima (M) y de estado estable (E) para sujetos entrenados y no entrenados.

Se aprecia como la principal vía de eliminación de la cafeína es el sudor, siendo mayores los valores plasmáticos que los excretados en orina.

A tenor de las dosis de cafeína empleadas, ninguno de los sujetos hubiese pasado el límite de $12 \mu\text{g/ml}$ en caso de haber efectuado un control antidopaje en orina. No obstante, observando la desviación estándar de los valores de cafeína en sudor y plasma, alguno de los sujetos si sobrepasó el mencionado límite en estas medidas.

Por otra parte se recoge cómo tras el esfuerzo máximo las concentraciones de cafeína son mayores en sudor y plasma, mientras que tras el esfuerzo estable, las concentraciones urinarias son de mayor cuantía.

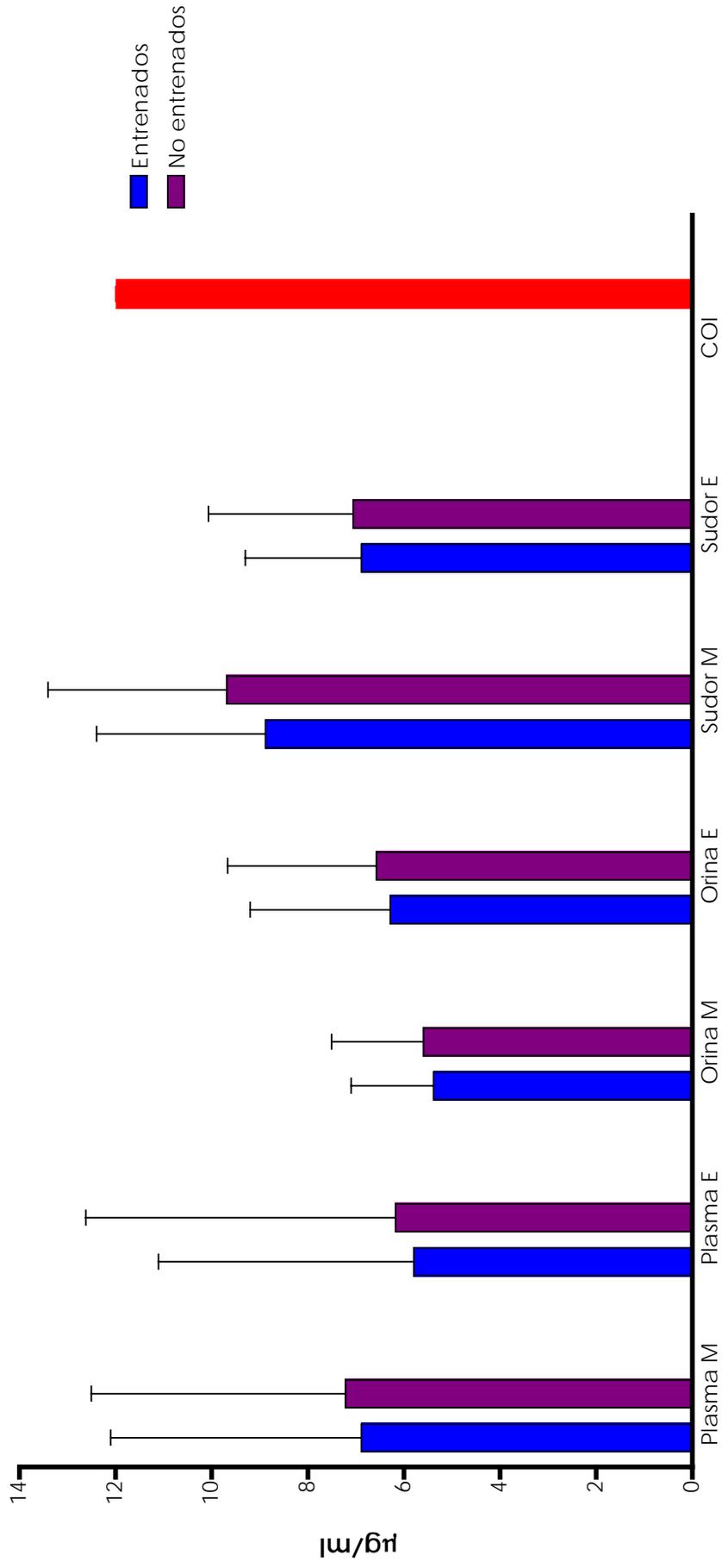


Figura 45. Concentraciones de cafeína en diversos medios.

También se puede observar como los sujetos entrenados expresan menores concentraciones de cafeína en todos los fluidos respecto a los no entrenados.

DISCUSIÓN



5 DISCUSIÓN

5.1 CAMBIOS DEL HEMATOCRITO

Nuestros resultados muestran elevaciones agudas, estadísticamente significativas ($p < 0,001$), del hematocrito tras la práctica de ejercicio físico, tanto de intensidad máxima como de intensidad moderada pero de mayor duración.

Estas modificaciones son debidas a la pérdida de líquidos durante la actividad que provocan una pérdida de volumen plasmático y la consecuente elevación del hematocrito (Córdova & Navas, 2000).

Estos cambios resultan de gran interés para la investigación en cuanto al ejercicio físico y valoraciones hematológicas se refiere, pues la hemoconcentración producida puede inducir a errores dando valores de parámetros hematológicos al alza, si no les son aplicadas las correspondientes correcciones del hematocrito. Por ello en nuestro trabajo a todos los parámetros sanguíneos se les aplicó la correspondiente corrección.

En lo referente a la posible acción de la cafeína sobre el hematocrito, ésta no supuso ningún efecto añadido en cuanto a la deshidratación en los esfuerzos realizados, pues las elevaciones del hematocrito en las pruebas placebo y cafeína fueron similares, además de no encontrarse ningún tipo de significación estadística. De este modo se refuerza la teoría que la cafeína no afecta a los niveles hídricos durante la actividad física (Wemple *et al.*, 1997).

Los valores de hematocrito menores que presentaron los sujetos entrenados, fueron debidos a una hemodilución sanguínea, pues son deportistas entrenados en resistencia y por ello presentan como adaptación al ejercicio en aumentos del volumen plasmático, que en ciertas ocasiones se confunde con anemias, denominadas pseudoanemias del deportista (Córdova & Navas, 2000).

5.2 VALORACIÓN DEL RENDIMIENTO FÍSICO

5.2.1 Capacidad y potencia anaeróbica

Con los resultados obtenidos en nuestro estudio nos posicionamos en el lado que apoya una negativa en cuanto a la mejora del rendimiento anaeróbico con la ingesta de cafeína (Greer *et al.*, 1998).

No se apreciaron modificaciones en cuanto a la potencia desarrollada por los sujetos en las pruebas anaeróbicas y por tanto no pueden destacar el poder ergogénico de la cafeína en este tipo de pruebas, obteniendo resultados bastante similares a otras investigaciones (Collomp *et al.*, 1991a).

No obstante los sujetos que realizaron el test de Wingate eran personas no entrenadas, quedando abierta la posibilidad que en sujetos entrenados y con metabolismos anaeróbicos mejor desarrollados la cafeína si pueda ejercer un aumento del rendimiento como ya sucedió en otras ocasiones con anterioridad (Collomp *et al.*, 1992).

5.2.2 Test ergométrico incremental máximo

Primeramente es necesario indicar la diferencia existente entre ambos grupos experimentales, donde los sujetos entrenados fueron capaces de desarrollar mayor potencia y tiempo de trabajo así como alcanzar mayores valores de consumo máximo de oxígeno. Además de las diferencias en cuanto a composición corporal, donde los sujetos entrenados presentaban menores porcentajes de grasa corporal.

En sujetos no entrenados, la dosis de cafeína ingerida una hora antes del esfuerzo aumentó el tiempo de ejercicio máximo hasta la extenuación así como la potencia desarrollada, resultados que ya se obtuvieron en otros estudios pero con el doble de la dosis empleada (Flinn *et al.*, 1990).

Una explicación para el fenómeno encontrado puede ser aquella que apunta al efecto de la cafeína que permite obtener pequeños aumentos en el consumo máximo de oxígeno (Doherty, 1998), debido a un posible retardo en la utilización de glucógeno muscular como consecuencia de una mayor movilización de ácidos grasos en las fases iniciales del ejercicio.

Esta hipótesis parece estar con la línea de lo observado en nuestro estudio en lo referente a la disminución del cociente respiratorio y el aumento del consumo máximo de oxígeno obtenidos en las pruebas, datos en concordancia con los comunicados de otros autores (Chesley *et al.*, 1998; Kaminsky *et al.*, 1998), así como con el mayor aumento de la movilización de ácidos grasos saturados en la prueba donde se ingirió cafeína respecto a la prueba placebo.

Una alternativa en cuanto a los mejores resultados obtenidos tras la ingesta de cafeína también podría ser explicados por el aumento de la actividad de catecolaminas, en concreto de la adrenalina, inducida por la toma de cafeína que estimularía el sistema nervioso central (Jackman *et al.*, 1996), reflejándose en un aumento de la frecuencia cardiaca y volumen espirado, al igual que ocurrió en nuestro estudio; no obstante, no lo podemos afirmar con seguridad al no medir dichos parámetros.

El aumento de los valores máximos reflejados en la prueba, podría ser motivado también por una modificación en la percepción del esfuerzo, siendo éste percibido livianamente por el individuo (Cole *et al.*, 1996; Muñoz *et al.*, 2002) y permitiendo desarrollar una mayor intensidad de trabajo que comportaría la mayor activación de la musculatura y un aumento de la respuesta cardiovascular.

Por el contrario, en los sujetos entrenados los resultados fueron bastante distintos, donde no se encontró modificación alguna en el rendimiento con la administración de cafeína, pues los tiempos máximos de ejercicio, carga de trabajo máxima desarrollada y consumo de oxígeno fueron iguales, estos resultados ya eran recogidos por otros autores (Dodd *et al.*, 1991).

Respecto al consumo de oxígeno, es cierto que los sujetos entrenados tienen menos margen de incremento de su VO_2 máximo debido a que pueden haber alcanzado su tope genético mediante el entrenamiento (Wilmore & Costill, 1998), así como pueden estar más acostumbrados a realizar esfuerzos agónicos y por tanto no verse modificada su percepción del esfuerzo con la ingesta de cafeína, permitiéndoles mejorar su rendimiento.

La frecuencia cardíaca máxima alcanzada si fue superior en las pruebas de cafeína, por tanto podríamos suponer un aumento en la producción de adrenalina, sin embargo no fue suficiente para conseguir incrementar la capacidad de trabajo.

A pesar de no tener datos sobre la movilización de los ácidos grasos, el no encontrar descensos en el cociente respiratorio, nos hace pensar que no existe una ventaja metabólica por parte de la utilización de grasas como sustrato energético.

Así pues, por estos motivos, parece ser que la ingesta de cafeína no beneficiará a aquellos deportistas entrenados en resistencia cuando se trate de pruebas que requieran alcanzar el consumo máximo de oxígeno.

En lo referente a la producción de lactato, hubo aumentos estadísticamente significativos tras el ejercicio como era de esperar, siendo mayores en los sujetos entrenados pues también fueron capaces de desarrollar mas potencia.

En cuanto al efecto de la cafeína sobre la producción de lactato, en los sujetos no entrenados no hubo diferencias entre ambas pruebas y en los sujetos entrenados hubo un ligero aumento en la prueba con cafeína pero sin llegar a la significación estadística. Esto parece ser debido a que la cafeína no modifica el metabolismo de lactato muscular, aunque si puede elevar los niveles circulantes (Graham *et al.*, 2000).

5.2.3 Test ergométrico de estado estable 80% VO₂ máx

El test submáximo escogido para valorar la capacidad aeróbica fue adecuado, pues todos los sujetos fueron capaces de terminar los 30 minutos de ejercicio programado y sus registros espirométricos fueron lineales como indica un buen estado estable. Tan solo hubo incrementos de la frecuencia cardiaca en los sujetos no entrenados debido probablemente a la menor adaptación a la pérdida de líquidos que en los entrenados. Los valores finales de lactato en torno a los 4 mmol /L indican que no se sobrepasó el umbral anaeróbico (Lopez Chicharro & Legido Arce, 1991).

A tenor de los resultados obtenidos hemos podido comprobar como bajo las condiciones de nuestro estudio, en sujetos no entrenados, la cafeína no aporta ninguna ventaja respecto a la capacidad aeróbica.

Los valores ergoespirométricos y niveles de lactato plasmático no se vieron afectados por la ingesta de cafeína. El metabolismo graso tampoco se vio modificado, pues tan sólo se encontró una leve disminución del cociente respiratorio en la parte final de la prueba cafeína sin llegar a la significación estadística. Este aspecto se ve reforzado por el hecho de no haberse hallado tampoco ninguna diferencia estadísticamente significativa en cuanto a la movilización de ácidos grasos bajo el análisis de la acción de la cafeína.

Estos resultados tienen su apoyo científico (Graham *et al.*, 2000), sin embargo lo acontecido con los sujetos entrenados es diferente. A pesar de no encontrar diferencias estadísticamente significativas, los valores de consumo de oxígeno y VCO_2 descienden en las pruebas cafeína notablemente a partir del minuto 10 de prueba así como el volumen espirado y la frecuencia respiratoria que es menor durante toda la prueba. Esto nos hace suponer que existe una ventaja metabólica como ya demostraron en su tiempo otros autores también con sujetos entrenados (Costill *et al.*, 1978).

El problema acontecido en nuestro estudio fue el limitar el tiempo de trabajo a 30 minutos. Así pues, para mejorar la capacidad aeróbica mediante la ingesta de cafeína en sujetos entrenados es necesario aumentar la duración del ejercicio (Pasma *et al.*, 1995), o bien marcar como término de la actividad, la extenuación voluntaria a una intensidad marcada.

De este modo se hallaban efectos ergogénicos de la cafeína a intensidades cercanas al 80% del VO_2 máximo, en parte, por un aumento de las concentraciones musculares de cAMP a partir de los 10-15' de ejercicio (Greer *et al.*, 2000), justo cuando en nuestro trabajo se aprecian las primeras diferencias entre ambas pruebas.

Así pues la intensidad de esfuerzo es primordial en cuanto a un uso beneficioso de la cafeína con sujetos entrenados, pues en trabajos cuyas intensidades rondaban el 65% del VO_2 máximo (Roy *et al.*, 2001) no se apreciaban mejoras metabólicas, mientras que cuando la intensidad era mas alta, incluso superiores a la de nuestro trabajo, si se encontraban mejoras en el rendimiento marcadas por aumentos en el tiempo de extenuación (Trice & Haymes, 1995).

Lo que parece ser, es que en caso de existir una mejora de la capacidad aeróbica mediante la utilización de cafeína, el mecanismo responsable no será una mayor utilización de las grasas, pues en nuestro estudio no se vio modificado el RER en ninguno de los grupos y los datos de ácidos grasos en sujetos no entrenados tampoco denotan modificaciones atribuibles a la cafeína. Otros estudios apoyan esta teoría (Denadai & Denadai, 1998; Roy *et al.*, 2001) y responsabilizan del efecto ergogénico al metabolismo del AMPc muscular (Greer *et al.*, 2000) o a la modificación de la percepción del esfuerzo en esfuerzos estables de alta intensidad (Denadai & Denadai, 1998).

Reseñar también que en la prueba estable queda de manifiesto la diferencia del grado de entrenamiento entre ambos grupos experimentales, donde los sujetos entrenados fueron capaces de realizar la prueba estable con un consumo de oxígeno similar al VO_2 máximo de los sujetos no entrenados.

5.3 VALORACIÓN DEL ESTRÉS OXIDATIVO Y SISTEMAS ANTIOXIDANTES

Los principales condicionantes que influyen en la producción de radicales libres durante la actividad física son la duración del ejercicio (Mastaloudis *et al.*, 2001) y sobre todo la intensidad del mismo (Lovlin *et al.*, 1987; McBride *et al.*, 1998). Por ello a la hora de valorar el estrés oxidativo y la respuesta antioxidante lo haremos separando las pruebas máximas donde prima la intensidad, frente a pruebas estables donde prima la duración.

5.3.1 Peroxidación lipídica

Hemos podido observar como una prueba de esfuerzo de entre 12-15 minutos de duración produce un aumento en los marcadores de peroxidación lipídica reflejado principalmente por los aumentos estadísticamente significativos del MDA, sobre todo en los sujetos entrenados.

Estos datos son coincidentes con los cambios descritos anteriormente en situaciones similares de esfuerzo (Ortenblad *et al.*, 1997) así como la posibilidad de existencia de daño oxidativo (Jammes *et al.*, 2004). Probablemente la mayor concentración de MDA alcanzada por los sujetos entrenados sea debida a una mayor utilización del metabolismo oxidativo

(Shigenaga *et al.*, 1994), pues en la prueba de esfuerzo fueron capaces de dar cotas bastante mas elevadas de consumo máximo de oxígeno.

La menor elevación de MDA en los sujetos entrenados tras el ejercicio con el uso de cafeína nos hizo pensar en un posible efecto antioxidante de la cafeína (Kamat *et al.*, 2000), pero no hubo significación estadística en cuanto a este hecho.

Así pues, la cafeína no parece afectar en esfuerzos máximos a la producción de MDA, pues no se encontraron diferencias significativas debidas a su actuación. No obstante al analizar los índices de peroxidación lipídica existen indicios de un efecto pro-oxidante de la cafeína motivando descensos del índice 204/12, pero no podemos concluirlo pues no se llegó a alcanzar la significación estadística. De todos estos índices, ninguno indicó cambios significativos en cuanto a la peroxidación lipídica en las pruebas máximas se refiere.

Referente a las pruebas estables, podemos indicar como un esfuerzo aeróbico de 30' en torno al 80% del VO₂ máximo no conlleva a aumentos de la peroxidación lipídica, sobre todo en sujetos no entrenados, pues los valores de MDA tras el ejercicio no sufrían modificaciones así como los índices de peroxidación en la prueba placebo.

En los sujetos entrenados existen indicios de peroxidación lipídica pues el MDA si se incrementa tras el esfuerzo aeróbico, pero el no encontrar una diferencia estadísticamente significativa ni tener valores sobre los cambios en los índices de peroxidación, no nos permiten concluir la existencia de daño celular peroxidativo en estas pruebas donde el oxígeno consumido era mayor que por parte de los sujetos no entrenados.

El uso de cafeína en estas pruebas puede actuar como sustancia pro-oxidante, pues su ingesta favorecería la peroxidación lipídica en los sujetos no entrenados, como indicaría el incremento del MDA experimentado después del ejercicio ($P < 0,05$) y en los sujetos entrenados, aunque en esta situación no se alcanzase la significación estadística.

No podemos dar una explicación concreta de este fenómeno. Una de las posibles causas que han provocado el daño oxidativo bajo la ingesta de cafeína aumento del consumo de oxígeno, no se ha producido, pues no ha habido un aumento del metabolismo aeróbico (Karlsson, 1997), por tanto se podría atribuir el daño oxidativo a la inactivación metabólica de catecolaminas (Halliwell & Gutteridge, 1985; Jewett *et al.*, 1989; Rathore *et al.*, 1998), que según estudios anteriores podrían sufrir un aumento tras la ingesta de cafeína (Jackman *et al.*, 1996; Graham *et al.*, 2000).

Otra posibilidad sería la inducción de peroxidación lipídica como consecuencia de la ingesta de cafeína y su relación con la producción de xantina oxidasa (Vistisen *et al.*, 1992), implicada en la producción de radicales libres, pero de ser así este efecto se habría observado en todas las pruebas.

5.3.2 Respuesta antioxidante

Todos los sujetos experimentales presentaban valores plasmáticos de vitaminas comprendidos entre los rangos de referencia normales (Turley & Brewster, 1990) por tanto en ninguna situación existía un déficit vitamínico ocasionado por una mala nutrición, actividad física o cualquier otro motivo. Así pues la respuesta antioxidante se podría producir en condiciones de normalidad.

La respuesta del organismo ante la peroxidación lipídica sufrida en las pruebas máximas se centran en leves disminuciones de las vitaminas liposolubles A y E, antioxidantes no enzimáticos en medios lipídicos, siendo estadísticamente significativos en los sujetos no entrenados ($p < 0,05$), coincidiendo así con otros estudios (Ortenblad *et al.*, 1997; Sackeck & Blumberg, 2001).

El descenso de las vitaminas A y E puede ser atribuible a su actuación cuando otros sistemas antioxidantes enzimáticos no son capaces de neutralizar los radicales libres de oxígeno responsables de la peroxidación lipídica (Bowles *et al.*, 1991) como en nuestro caso quedó demostrado.

Por el contrario la vitamina C sufre un comportamiento distinto, con aumentos estadísticamente significativos ($p < 0,05$) en los sujetos no entrenados tras el esfuerzo. Este hecho puede ser debido a que la glándula adrenal es una de las mayores fuentes de producción de vitamina C en circulación durante el ejercicio, pues se han correlacionado positivamente aumentos de dicha vitamina con incrementos en plasma de cortisol en ratas y humanos y una estimulación de la glándula dispararía los niveles plasmáticos de la vitamina tras el ejercicio (Umegaki *et al.*, 2000).

También choca la inestabilidad en cuanto a los valores basales de la vitamina C en las distintas pruebas lo cual puede ser debido al complejo metabolismo de esta sustancia tras el ejercicio y entrenamiento (Peake, 2003), que puede disminuirla y por tanto presentarnos valores dispares ante la aleatoriedad de las pruebas efectuadas a los sujetos.

En cuanto a la acción de la cafeína sobre los sistemas antioxidantes no enzimáticos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, al igual que ocurría con los marcadores de peroxidación

lipídica cuando comparamos los resultados obtenidos en la prueba con placebo con la prueba cafeína. Estos hechos nos hacen pensar que la xantina no tiene ninguna influencia sobre el estrés oxidativo en esfuerzos incrementales máximos.

Referente a la respuesta antioxidante en la prueba estable, no hubo modificaciones estadísticamente significativas de ninguna de las vitaminas estudiadas tras el ejercicio o tras la ingesta de cafeína, con ligeros descensos de las vitaminas liposolubles y un mantenimiento de los valores de vitamina C en todas las situaciones. De esta manera no existe el disparo adrenal que ocurría en las pruebas máximas (Umegaki *et al.*, 2000) y los sistemas antioxidantes no responden ante una posibilidad de situación de estrés oxidativo (Vina *et al.*, 2000).

Ésta incapacidad de respuesta no sería de interés en las pruebas placebo, donde no existían indicios de peroxidación lipídica, pero sí en las pruebas donde se ingirió cafeína previa el ejercicio, pues hubo un aumento de la peroxidación lipídica, sobre todo en los sujetos no entrenados, donde al no acompañarse de cambios estadísticamente significativos en la respuesta antioxidante no enzimática, indicaría claramente una situación de estrés oxidativo inducida por la cafeína.

5.4 VALORACIÓN DE LOS CAMBIOS METABÓLICOS

El estudio metabólico se centra principalmente en los cambios acontecidos en el metabolismo lipídico, sobre todo por la importancia recibida en su relación con la ingesta de cafeína desde las primeras investigaciones serias a finales de los años 70, así como por la discrepancia existente entre los distintos resultados obtenidos.

Por otra parte, el resto de estudios metabólicos como vitaminas o estrés oxidativo ya ha sido tratado en diversos apartados.

Así pues, la primera situación a destacar es la inexistencia de un efecto movilizador de ácidos grasos por parte de la cafeína en situaciones de reposo, pues no encontramos ningún cambio significativo durante la inactividad de los sujetos tras haber ingerido la cafeína, y los estudios que defienden una movilización de ácidos grasos potenciada por la xantina, han sido en situaciones de ejercicio aeróbico (Essig *et al.*, 1980; Spriet *et al.*, 1992; Chesley *et al.*, 1998).

En cuanto a la movilización de ácidos grasos durante la actividad física los resultados son diferentes. Primeramente existe un aumento en la concentración de ácidos grasos saturados tras las dos situaciones de ejercicio aeróbico planteadas, pues estos son los tipos de ácidos grasos utilizados como combustible metabólico, con una significación estadística ($p < 0,05$) en la prueba estable en condiciones placebo, como era de esperar al ser un ejercicio de larga duración y en la prueba incremental máxima pero solamente bajo la ingesta de cafeína.

Curiosamente, este hecho se acompañó de una disminución estadísticamente significativa ($p < 0,05$) del cociente respiratorio en la prueba máxima, por lo que el efecto favorecedor de movilización de grasas parece ser evidente en sujetos no entrenados en este tipo de pruebas y no en las pruebas de estado estable donde era de esperar, a la vez que tampoco se vieran disminuciones del cociente respiratorio que indicase, un mayor consumo de grasa. No obstante estudios previos ya marcaban la nulidad del efecto potenciador de movilización de grasas por parte de la xantina en esfuerzos aeróbicos de cierta duración (Raguso *et al.*, 1996; Graham *et al.*, 2000).

Contrariamente a lo acontecido con el aumento de los ácidos grasos saturados tras el ejercicio, se obtuvo una disminución de los ácidos grasos monoinsaturados posiblemente motivado por la cafeína en las pruebas máximas, y un descenso de los ácidos grasos poliinsaturados y la familia $\omega 6$ en ambas pruebas estables, acompañadas de un aumento de los ácidos grasos monoinsaturados mediado por el efecto de la cafeína. A pesar de no ser estadísticamente significativos estos cambios, podrían indicarnos un aumento de la peroxidación lipídica con la ruptura de los dobles enlaces de los ácidos grasos de membrana y el consecuente aumento de ácidos grasos saturados (Halliwell & Gutteridge, 1985).

Éste hecho viene reforzado con el descenso del índice de peroxidación lipídica C 20:4/12 estadísticamente significativo en las pruebas máximas con cafeína, las mismas pruebas donde existía un incremento de los ácidos grasos saturados, un aumento del estrés oxidativo y una mejora de la potencia aeróbica máxima, luego bajo ciertas circunstancias puede ser ventajoso para el rendimiento deportivo alcanzar ciertos grados de peroxidación lipídica.

En la pruebas estable ocurría algo similar pero ni se aumentó el rendimiento ni las modificaciones del índice de peroxidación C 20:4/12 fueron significativas.

Respecto a los ácidos grasos saturados mas afectados, en la prueba máxima fueron el C:20 que sufrió un leve descenso alcanzado la significación estadística ($p < 0,05$), probablemente debido a su consumo en el músculo y un aumento, aunque sin significación estadística del oleico (C18:1), en condiciones cafeína.

No hubo ningún ácido graso poliinsaturado que se viese mas afectado que otro, sin embargo, en los monoinsaturados si hubo cambios dignos de remarcar como el descenso significativo ($p < 0,05$) del C18:1 trans tras el ejercicio y en condiciones cafeína y un comportamiento contrario del mismo ácido graso en la misma prueba pero de carácter estable.

Estas modificaciones nos pueden explicar los cambios relativos a los índices de desaturación de ácidos grasos, donde hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en el índice delta 9,2 durante las pruebas máximas y bajo la influencia de la cafeína y en menor medida y sin significación estadística en la prueba estable, indicando que la cafeína produciría un bloqueo de la actividad enzimática de la desaturasa delta 9,2 para evitar la disminución del ácido esteárico (C 18:0), el cual es utilizado como combustible energético durante el ejercicio.

5.5 VÍAS DE ELIMINACIÓN

Respecto a las concentraciones urinarias de cafeína, no se encontró ningún sujeto que superase la barrera de los 12 µg/ml impuesta en el pasado por el COI, esto nos hace ver que la dosis de 5 mg/kg de masa corporal de cafeína parece ser segura, apoyando la decisión de exclusión de la cafeína de la lista de sustancias dopantes, demostrando que a dosis que pueden mejorar el rendimiento, no se sobrepasan los teóricos límites impuestos.

Atendiendo a las concentraciones plasmáticas y en sudor de cafeína cabría la posibilidad de que algún sujeto resultase positivo en el control antidopaje si se realizase en plasma, mientras que las elevadas concentraciones en sudor hacen suponer que una parte muy importante de la cafeína ingerida se elimina a través del mismo. Por ello estos fluidos biológicos también podrían ser utilizados para evaluar la ingestión de cafeína.

En relación con la distribución de la cafeína por los distintos fluidos biológicos, se confirma la idea que una mayor excreción de cafeína por sudor conlleva a una menor concentración urinaria (van der Merwe *et al.*, 1992) como ocurría en las pruebas máximas.

No obstante, apreciando la gran variabilidad en cuanto a la concentración de cafeína en plasma, sudor y orina, reflejado por una alta desviación estándar, nos hace pensar que existen grandes diferencias de metabolización influenciadas por varios factores (Duthel *et al.*, 1991).

Las menores concentraciones de cafeína encontradas en los sujetos entrenados respecto a los no entrenados, a pesar de no ser estadísticamente significativas, podrían atribuirse a una mayor actividad del citocromo P450 1A2 inducida por el ejercicio físico, que a su vez permitirá metabolizar más cafeína y por tanto disminuir sus valores en fluidos biológicos (Vistisen *et al.*, 1991).

CONCLUSIONES



6 CONCLUSIONES

A tenor de los objetivos planteados para esta tesis y en conjunto con los resultados acontecidos, proponemos las siguientes conclusiones.

- La ingestión de cafeína con dosis de 5 mg / kg de masa corporal una hora antes de la realización de un esfuerzo anaeróbico no tiene efecto alguna sobre la potencia o capacidad anaeróbica láctica en sujetos no entrenados.

- En sujetos no entrenados en actividades incrementales máximos bajo las mismas pautas de utilización de cafeína, ésta aumenta la capacidad de trabajo mediante aumentos en el tiempo de esfuerzo, la intensidad máxima alcanzada, la ventilación pulmonar máxima de esfuerzo, la frecuencia cardiaca máxima y el VO₂ máximo, junto a disminuciones el cociente respiratorio pulmonar.

- En sujetos entrenados en resistencia aeróbica la cafeína incrementa la frecuencia cardiaca pero sin efecto alguno sobre la capacidad de trabajo o consumo máximo de oxígeno ante esfuerzos incrementales máximos.

- En relación con actividades aeróbicas de estado estable al 80% del VO₂ máximo, la cafeína no conduce a ninguna mejora ergoespirométrica en sujetos no entrenados, mientras que en sujetos entrenados puede ayudarles mejorando su economía de esfuerzo haciendo mas liviana la práctica deportiva.

- Los cambios metabólicos ocasionados por la cafeína que permiten mejorar el rendimiento deportivo son debidos a un aumento de la movilización de ácidos grasos saturados en sujetos no entrenados en pruebas aeróbicas máximas, en parte debido a un bloqueo de la actividad enzimática de la desaturasa delta 9,2 (C18:1 / C18:0) que evita la desaturación del ácido esteárico para permitir su uso como combustible energético.

- La cafeína no modifica el comportamiento del hematocrito ni del lactato en pruebas de potencia aeróbica máxima ni de estado estable, independientemente del grado de entrenamiento de los sujetos.

- La ingesta de cafeína con las dosis utilizadas en nuestro estudio no conlleva a un mayor estrés oxidativo en esfuerzos aeróbicos máximos hasta el agotamiento en sujetos no entrenados a pesar de incrementar el consumo máximo de oxígeno. La peroxidación lipídica inducida por el ejercicio físico, independientemente a la ingesta de cafeína, es bien combatida por los sistemas antioxidantes. En sujetos entrenados la respuesta fue similar.

- En esfuerzos de estado estable en sujetos no entrenados, la cafeína induce a un daño celular mediante el aumento de la peroxidación lipídica marcado por la elevación del MDA plasmático así como por un descenso en los ácidos grasos poliinsaturados, sin que los sistemas antioxidantes no enzimáticos sean capaces de contrarrestarlo necesitando más estudios para dar una explicación con garantías a este fenómeno.

- La dosis de cafeína empleada parece ser segura en nuestros sujetos en lo referido a un control de dopaje con la antigua limitación de 12 µg/ml de cafeína en orina, demostrando también la importancia del sudor como principal vía de eliminación.

BIBLIOGRAFÍA



7 BIBLIOGRAFÍA

1. ANDERSON, D. E. & HICKEY, M. S. (1994). Effects of caffeine on the metabolic and catecholamine responses to exercise in 5 and 28 degrees C. *Med Sci Sports Exerc* **26**, 453-458.
2. ANSELME, F., COLLOMP, K., MERCIER, B., AHMAIDI, S. & PREFAUT, C. (1992). Caffeine increases maximal anaerobic power and blood lactate concentration. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **65**, 188-191.
3. ARNER, P., KRIEGHOLM, E., ENGFELDT, P. & BOLINDER, J. (1990). Adrenergic regulation of lipolysis in situ at rest and during exercise. *J Clin Invest* **85**, 893-898.
4. ASHTON, T., YOUNG, I. S., PETERS, J. R., JONES, E., JACKSON, S. K., DAVIES, B. & ROWLANDS, C. C. (1999). Electron spin resonance spectroscopy, exercise, and oxidative stress: an ascorbic acid intervention study. *J Appl Physiol* **87**, 2032-2036.
5. BANGSBO, J. (1994). Energy demands in competitive soccer. *J Sports Sci* **12 Spec No**, S5-12.
6. BANGSBO, J., JACOBSEN, K., NORDBERG, N., CHRISTENSEN, N. J. & GRAHAM, T. (1992). Acute and habitual caffeine ingestion and metabolic responses to steady-state exercise. *J Appl Physiol* **72**, 1297-1303.
7. BATRAM, D. S., SHEARER, J., ROBINSON, D. & GRAHAM, T. E. (2004). Caffeine ingestion does not impede the resynthesis of proglycogen and macroglycogen after prolonged exercise and carbohydrate supplementation in humans. *J Appl Physiol* **96**, 943-950.
8. BECKER, B. F. (1993). Towards the physiological function of uric acid. *Free Radic Biol Med* **14**, 615-631.
9. BELL, D. G., JACOBS, I. & ZAMECNIK, J. (1998). Effects of caffeine, ephedrine and their combination on time to exhaustion during high-intensity exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **77**, 427-433.
10. BELL, D. G. & MCLELLAN, T. M. (2002). Exercise endurance 1, 3, and 6 h after caffeine ingestion in caffeine users and nonusers. *J Appl Physiol* **93**, 1227-1234.
11. BELL, D. G., MCLELLAN, T. M. & SABISTON, C. M. (2002). Effect of ingesting caffeine and ephedrine on 10-km run performance. *Med Sci Sports Exerc* **34**, 344-349.

12. BIRNBAUM, L. J. & HERBST, J. D. (2004). Physiologic effects of caffeine on cross-country runners. *J Strength Cond Res* **18**, 463-465.
13. BISHOP, P. & MARTINO, M. (1993). Blood lactate measurement in recovery as an adjunct to training. Practical considerations. *Sports Med* **16**, 5-13.
14. BOWLES, D. K., TORGAN, C. E., EBNER, S., KEHRER, J. P., IVY, J. L. & STARNES, J. W. (1991). Effects of acute, submaximal exercise on skeletal muscle vitamin E. *Free Radic Res Commun* **14**, 139-143.
15. BRUCE, B. & SPILLER, G. A. (1998). Caffeine, calcium and bone health. In *Caffeine*. ed. SPILLER, G. A., pp. 129-134p. Boca Ratón CRC Press.
16. BRUCE, C. R., ANDERSON, M. E., FRASER, S. F., STEPTO, N. K., KLEIN, R., HOPKINS, W. G. & HAWLEY, J. A. (2000). Enhancement of 2000-m rowing performance after caffeine ingestion. *Med Sci Sports Exerc* **32**, 1958-1963.
17. BURTON, G. W. & TRABER, M. G. (1990). Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. *Annu Rev Nutr* **10**, 357-382.
18. CARDINALI, D. P. (1980). Methylxanines: possible mechanism of action in brain. *Tr Pharmacol Sci*, 405-407.
19. CHESLEY, A., HOWLETT, R. A., HEIGENHAUSER, G. J., HULTMAN, E. & SPIRIET, L. L. (1998). Regulation of muscle glycogenolytic flux during intense aerobic exercise after caffeine ingestion. *Am J Physiol* **275**, R596-603.
20. CLARKSON, P. M. & THOMPSON, H. S. (2000). Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr* **72**, 637S-646S.
21. COHEN, B. S., NELSON, A. G., PREVOST, M. C., THOMPSON, G. D., MARX, B. D. & MORRIS, G. S. (1996). Effects of caffeine ingestion on endurance racing in heat and humidity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **73**, 358-363.
22. COLE, K. J., COSTILL, D. L., STARLING, R. D., GOODPASTER, B. H., TRAPPE, S. W. & FINK, W. J. (1996). Effect of caffeine ingestion on perception of effort and subsequent work production. *Int J Sport Nutr* **6**, 14-23.
23. COLLOMP, K., AHMAIDI, S., AUDRAN, M., CHANAL, J. L. & PREFAUT, C. (1991a). Effects of caffeine ingestion on performance and anaerobic metabolism during the Wingate Test. *Int J Sports Med* **12**, 439-443.
24. COLLOMP, K., AHMAIDI, S., CHATARD, J. C., AUDRAN, M. & PREFAUT, C. (1992). Benefits of caffeine ingestion on sprint performance in trained and untrained swimmers. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **64**, 377-380.

25. COLLOMP, K., ANSELME, F., AUDRAN, M., GAY, J. P., CHANAL, J. L. & PREFAUT, C. (1991b). Effects of moderate exercise on the pharmacokinetics of caffeine. *Eur J Clin Pharmacol* **40**, 279-282.
26. COLLOMP, K., CAILLAUD, C., AUDRAN, M., CHANAL, J. L. & PREFAUT, C. (1990). [Effect of acute or chronic administration of caffeine on performance and on catecholamines during maximal cycle ergometer exercise]. *C R Seances Soc Biol Fil* **184**, 87-92.
27. CONWAY, K. J., ORR, R. & STANNARD, S. R. (2003). Effect of a divided caffeine dose on endurance cycling performance, postexercise urinary caffeine concentration, and plasma paraxanthine. *J Appl Physiol* **94**, 1557-1562.
28. COOPER, C. E., VOLLAARD, N. B., CHOUERI, T. & WILSON, M. T. (2002). Exercise, free radicals and oxidative stress. *Biochem Soc Trans* **30**, 280-285.
29. CÓRDOVA, A. & NAVAS, F. (2000). *Fisiología Deportiva*. Gymnos, Madrid.
30. COSTILL, D. L., DALSKY, G. P. & FINK, W. J. (1978). Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. *Med Sci Sports* **10**, 155-158.
31. CROSS, C. E., HALLIWELL, B., BORISH, E. T., PRYOR, W. A., AMES, B. N., SAUL, R. L., MCCORD, J. M. & HARMAN, D. (1987). Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* **107**, 526-545.
32. DAVIES, C. T. & THOMPSON, M. W. (1979). Aerobic performance of female marathon and male ultramarathon athletes. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **41**, 233-245.
33. DAVIS, J. M., ZHAO, Z., STOCK, H. S., MEHL, K. A., BUGGY, J. & HAND, G. A. (2003). Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **284**, R399-404.
34. DEKKERS, J. C., VAN DOORNEN, L. J. & KEMPER, H. C. (1996). The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. *Sports Med* **21**, 213-238.
35. DENADAI, B. S. & DENADAI, M. L. (1998). Effects of caffeine on time to exhaustion in exercise performed below and above the anaerobic threshold. *Braz J Med Biol Res* **31**, 581-585.
36. DOBROCKY, P., BENNETT, P. N. & NOTARIANNI, L. J. (1994). Rapid method for the routine determination of caffeine and its metabolites by high-performance liquid chromatography. *J Chromatogr* **652**, 104-108.

37. DODD, S. L., BROOKS, E., POWERS, S. K. & TULLEY, R. (1991). The effects of caffeine on graded exercise performance in caffeine naive versus habituated subjects. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **62**, 424-429.
38. DODD, S. L., HERB, R. A. & POWERS, S. K. (1993). Caffeine and exercise performance. An update. *Sports Med* **15**, 14-23.
39. DOHERTY, M. (1998). The effects of caffeine on the maximal accumulated oxygen deficit and short-term running performance. *Int J Sport Nutr* **8**, 95-104.
40. DOHERTY, M., SMITH, P., HUGHES, M. & DAVISON, R. (2004). Caffeine lowers perceptual response and increases power output during high-intensity cycling. *J Sports Sci* **22**, 637-643.
41. DULLOO, A. G. & MILLER, D. S. (1989). Ephedrine, caffeine and aspirin: "over-the-counter" drugs that interact to stimulate thermogenesis in the obese. *Nutrition* **5**, 7-9.
42. DUTHEL, J. M., VALLON, J. J., MARTIN, G., FERRET, J. M., MATHIEU, R. & VIDEMAN, R. (1991). Caffeine and sport: role of physical exercise upon elimination. *Med Sci Sports Exerc* **23**, 980-985.
43. EIKVAR, L. & KIRKEBOEN, K. A. (1998). [Receptor mediated effects of adenosine and caffeine]. *Tidsskr Nor Laegeforen* **118**, 1390-1395.
44. ERICKSON, M. A., SCHWARZKOPF, R. J. & MCKENZIE, R. D. (1987). Effects of caffeine, fructose, and glucose ingestion on muscle glycogen utilization during exercise. *Med Sci Sports Exerc* **19**, 579-583.
45. ESSIG, D., COSTILL, D. L. & VAN HANDEL, D. J. (1980). Effects of caffeine ingestion on utilization of muscle glycogen and lipid during leg ergometer cycling. *Int J Sports Med* **1**, 86-90.
46. ESTERBAUER, H., LANG, J., ZADRAVEC, S. & SLATER, T. F. (1984). Detection of malonaldehyde by high-performance liquid chromatography. *Methods Enzymol* **105**, 319-328.
47. FALK, B., BURSTEIN, R., ROSENBLUM, J., SHAPIRO, Y., ZYLBER-KATZ, E. & BASHAN, N. (1990). Effects of caffeine ingestion on body fluid balance and thermoregulation during exercise. *Can J Physiol Pharmacol* **68**, 889-892.
48. FIALA, K. A., CASA, D. J. & ROTI, M. W. (2004). Rehydration with a caffeinated beverage during the nonexercise periods of 3 consecutive days of 2-a-day practices. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **14**, 419-429.

49. FISHER, S. M., MCMURRAY, R. G., BERRY, M., MAR, M. H. & FORSYTHE, W. A. (1986). Influence of caffeine on exercise performance in habitual caffeine users. *Int J Sports Med* **7**, 276-280.
50. FLINN, S., GREGORY, J., MCNAUGHTON, L. R., TRISTRAM, S. & DAVIES, P. (1990). Caffeine ingestion prior to incremental cycling to exhaustion in recreational cyclists. *Int J Sports Med* **11**, 188-193.
51. FREDHOLM, B. B. (1995). Astra Award Lecture. Adenosine, adenosine receptors and the actions of caffeine. *Pharmacol Toxicol* **76**, 93-101.
52. GALINDO, J. D. (2000). Metabolismo de lípidos. Lipoproteínas. In *Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud*, pp. 167-188. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
53. GLEESON, M., ROBERTSON, J. D. & MAUGHAN, R. J. (1987). Influence of exercise on ascorbic acid status in man. *Clin Sci (Lond)* **73**, 501-505.
54. GRAHAM, D. M. (1978). Caffeine--its identity, dietary sources, intake and biological effects. *Nutr Rev* **36**, 97-102.
55. GRAHAM, T. E. (2001). Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. *Sports Med* **31**, 785-807.
56. GRAHAM, T. E., HELGE, J. W., MACLEAN, D. A., KIENS, B. & RICHTER, E. A. (2000). Caffeine ingestion does not alter carbohydrate or fat metabolism in human skeletal muscle during exercise. *J Physiol* **529 Pt 3**, 837-847.
57. GRAHAM, T. E., HIBBERT, E. & SATHASIVAM, P. (1998). Metabolic and exercise endurance effects of coffee and caffeine ingestion. *J Appl Physiol* **85**, 883-889.
58. GRAHAM, T. E., RUSH, J. W. & VAN SOEREN, M. H. (1994). Caffeine and exercise: metabolism and performance. *Can J Appl Physiol* **19**, 111-138.
59. GRAHAM, T. E. & SPRIET, L. L. (1991). Performance and metabolic responses to a high caffeine dose during prolonged exercise. *J Appl Physiol* **71**, 2292-2298.
60. GRAHAM, T. E. & SPRIET, L. L. (1995). Metabolic, catecholamine, and exercise performance responses to various doses of caffeine. *J Appl Physiol* **78**, 867-874.
61. GREER, F., FRIARS, D. & GRAHAM, T. E. (2000). Comparison of caffeine and theophylline ingestion: exercise metabolism and endurance. *J Appl Physiol* **89**, 1837-1844.

62. GREER, F., MCLEAN, C. & GRAHAM, T. E. (1998). Caffeine, performance, and metabolism during repeated Wingate exercise tests. *J Appl Physiol* **85**, 1502-1508.
63. GRIFFITHS, R. R. & WOODSON, P. P. (1988). Reinforcing properties of caffeine: studies in humans and laboratory animals. *Pharmacol Biochem Behav* **29**, 419-427.
64. HALLIWELL, B. (1994). Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* **344**, 721-724.
65. HALLIWELL, B. & GROOTVELD, M. (1987). The measurement of free radical reactions in humans. Some thoughts for future experimentation. *FEBS Lett* **213**, 9-14.
66. HALLIWELL, B. & GUTTERIDGE, J. M. C. (1985). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford.
67. HANDELMAN, G. J. (2001). The evolving role of carotenoids in human biochemistry. *Nutrition* **17**, 818-822.
68. HANGENFELDT, L. (1979). Metabolism of free fatty acids and ketone bodies during exercise in normal and diabetic man. *Diabetes* **28**, 66-70.
69. HELLSTEN-WESTING, Y., SOLLEVI, A. & SJODIN, B. (1991). Plasma accumulation of hypoxanthine, uric acid and creatine kinase following exhausting runs of differing durations in man. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **62**, 380-384.
70. HETZLER, R. K., WARHAFTIG-GLYNN, N., THOMPSON, D. L., DOWLING, E. & WELTMAN, A. (1994). Effects of acute caffeine withdrawal on habituated male runners. *J Appl Physiol* **76**, 1043-1048.
71. HEUNKS, L. M., VINA, J., VAN HERWAARDEN, C. L., FOLGERING, H. T., GIMENO, A. & DEKHUIJZEN, P. N. (1999). Xanthine oxidase is involved in exercise-induced oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Physiol* **277**, R1697-1704.
72. HUNTER, A. M., ST CLAIR GIBSON, A., COLLINS, M., LAMBERT, M. & NOAKES, T. D. (2002). Caffeine ingestion does not alter performance during a 100-km cycling time-trial performance. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **12**, 438-452.
73. IVY, J. L., COSTILL, D. L., FINK, W. J. & LOWER, R. W. (1979). Influence of caffeine and carbohydrate feedings on endurance performance. *Med Sci Sports* **11**, 6-11.
74. JACKMAN, M., WENDLING, P., FRIARS, D. & GRAHAM, T. E. (1996). Metabolic catecholamine, and endurance responses to caffeine during intense exercise. *J Appl Physiol* **81**, 1658-1663.

75. JAMMES, Y., STEINBERG, J. G., BREGEON, F. & DELLIAUX, S. (2004). The oxidative stress in response to routine incremental cycling exercise in healthy sedentary subjects. *Respir Physiol Neurobiol* **144**, 81-90.
76. JENKINS, R. R. (1993). Exercise, oxidative stress, and antioxidants: a review. *Int J Sport Nutr* **3**, 356-375.
77. JEWETT, S. L., EDDY, L. J. & HOCHSTEIN, P. (1989). Is the autoxidation of catecholamines involved in ischemia-reperfusion injury? *Free Radic Biol Med* **6**, 185-188.
78. KAGAN, V. E., SHVEDOVA, A., SERBINOVA, E., KHAN, S., SWANSON, C., POWELL, R. & PACKER, L. (1992). Dihydrolipoic acid--a universal antioxidant both in the membrane and in the aqueous phase. Reduction of peroxy, ascorbyl and chromanoxyl radicals. *Biochem Pharmacol* **44**, 1637-1649.
79. KAIKKONEN, J., KOSONEN, L., NYSSONEN, K., PORKKALA-SARATAHO, E., SALONEN, R., KORPELA, H. & SALONEN, J. T. (1998). Effect of combined coenzyme Q10 and d-alpha-tocopheryl acetate supplementation on exercise-induced lipid peroxidation and muscular damage: a placebo-controlled double-blind study in marathon runners. *Free Radic Res* **29**, 85-92.
80. KALMAR, J. M. & CAFARELLI, E. (1999). Effects of caffeine on neuromuscular function. *J Appl Physiol* **87**, 801-808.
81. KAMAT, J. P., BOLOOR, K. K., DEVASAGAYAM, T. P., JAYASHREE, B. & KESAVAN, P. C. (2000). Differential modification by caffeine of oxygen-dependent and independent effects of gamma-irradiation on rat liver mitochondria. *Int J Radiat Biol* **76**, 1281-1288.
82. KAMINSKY, L. A., MARTIN, C. A. & WHALEY, M. H. (1998). Caffeine consumption habits do not influence the exercise blood pressure response following caffeine ingestion. *J Sports Med Phys Fitness* **38**, 53-58.
83. KANTER, M. M., NOLTE, L. A. & HOLLOSZY, J. O. (1993). Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J Appl Physiol* **74**, 965-969.
84. KARLSSON, J. (1997). *Antioxidants and exercise*. Human Kinetics, Champaign, IL.
85. KERRIGAN, S. & LINDSEY, T. (2005). Fatal caffeine overdose: two case reports. *Forensic Sci Int* **153**, 67-69.

86. KOVACS, E. M., STEGEN, J. & BROUNS, F. (1998). Effect of caffeinated drinks on substrate metabolism, caffeine excretion, and performance. *J Appl Physiol* **85**, 709-715.
87. KOZ, M., ERBAS, D., BILGIHAN, A. & ARICIOGLU, A. (1992). Effects of acute swimming exercise on muscle and erythrocyte malondialdehyde, serum myoglobin, and plasma ascorbic acid concentrations. *Can J Physiol Pharmacol* **70**, 1392-1395.
88. KRINSKY, N. I. & DENEKE, S. M. (1982). Interaction of oxygen and oxy-radicals with carotenoids. *J Natl Cancer Inst* **69**, 205-210.
89. LAMARINE, R. J. (1994). Selected health and behavioral effects related to the use of caffeine. *J Community Health* **19**, 449-466.
90. LAURENT, D., SCHNEIDER, K. E., PRUSACZYK, W. K., FRANKLIN, C., VOGEL, S. M., KRSSAK, M., PETERSEN, K. F., GOFORTH, H. W. & SHULMAN, G. I. (2000). Effects of caffeine on muscle glycogen utilization and the neuroendocrine axis during exercise. *J Clin Endocrinol Metab* **85**, 2170-2175.
91. LINDINGER, M. I., GRAHAM, T. E. & SPRIET, L. L. (1993). Caffeine attenuates the exercise-induced increase in plasma [K⁺] in humans. *J Appl Physiol* **74**, 1149-1155.
92. LINDINGER, M. I. & SJOGAARD, G. (1991). Potassium regulation during exercise and recovery. *Sports Med* **11**, 382-401.
93. LIOCHEV, S. I. & FRIDOVICH, I. (1994). The role of O₂⁻ in the production of HO₂[·]: in vitro and in vivo. *Free Radic Biol Med* **16**, 29-33.
94. LITTER, M. (1973). *Compendio de Farmacología*. El Ateneo, Buenos Aires.
95. LOHMANN, S. M., MIECH, R. P. & BUTCHER, F. R. (1977). Effects of isoproterenol, theophylline and carbachol on cyclic nucleotide levels and relaxation of bovine tracheal smooth muscle. *Biochim Biophys Acta* **499**, 238-250.
96. LOPEZ CHICHARRO, J. & LEGIDO ARCE, J. C. (1991). *El umbral anaerobio*. Interamericana. McGraw-Hill, Madrid.
97. LOVLIN, R., COTTLE, W., PYKE, I., KAVANAGH, M. & BELCASTRO, A. N. (1987). Are indices of free radical damage related to exercise intensity. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **56**, 313-316.
98. LOZANO, J. A. (2000a). Metabolismo de hidratos de carbono. In *Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud*, pp. 143-166. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.

99. LOZANO, J. A. (2000b). Metabolismo nitrogenado. Compuestos estructurales. In *Bioquímica y biología molecular para ciencias de la salud*, pp. 189-217. McGraw-Hill Interamericana, Madrid.
100. MANDEL, H. G. (2002). Update on caffeine consumption, disposition and action. *Food Chem Toxicol* **40**, 1231-1234.
101. MANOHARAN, M. & SCHWILLE, P. O. (1994). Measurement of ascorbic acid in human plasma and urine by high-performance liquid chromatography. Results in healthy subjects and patients with idiopathic calcium urolithiasis. *J Chromatogr B Biomed Appl* **654**, 134-139.
102. MASON, R. P. (1982). Free radical intermediates in the metabolism of toxicological significance. In *Free radicals Biology*. ed. PRYOR, W. A., pp. 262-265. Academic Press, New York.
103. MASTALOUDIS, A., LEONARD, S. W. & TRABER, M. G. (2001). Oxidative stress in athletes during extreme endurance exercise. *Free Radic Biol Med* **31**, 911-922.
104. MCBRIDE, J. M., KRAEMER, W. J., TRIPLETT-MCBRIDE, T. & SEBASTIANELLI, W. (1998). Effect of resistance exercise on free radical production. *Med Sci Sports Exerc* **30**, 67-72.
105. MEYDANI, M., EVANS, W. J., HANDELMAN, G., BIDDLE, L., FIELDING, R. A., MEYDANI, S. N., BURRILL, J., FIATARONE, M. A., BLUMBERG, J. B. & CANNON, J. G. (1993). Protective effect of vitamin E on exercise-induced oxidative damage in young and older adults. *Am J Physiol* **264**, R992-998.
106. MONCADA, S. & HIGGS, E. A. (1991). Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest* **21**, 361-374.
107. MUÑOZ, M., OLCINA, G., TIMÓN, R. & MAYNAR, M. (2002). Efectos de la ingestión de cafeína sobre el estado de ánimo de sujetos sometidos a una prueba de esfuerzo máxima. *Apunts. Medicina de L'Esport* **138**, 25-28.
108. NEHLIG, A. & DEBRY, G. (1994). Caffeine and sports activity: a review. *Int J Sports Med* **15**, 215-223.
109. NIKI, E., NOGUCHI, N., TSUCHIHASHI, H. & GOTOH, N. (1995). Interaction among vitamin C, vitamin E, and beta-carotene. *Am J Clin Nutr* **62**, 1322S-1326S.
110. NISHIJIMA, Y., IKEDA, T., TAKAMATSU, M., KISO, Y., SHIBATA, H., FUSHIKI, T. & MORITANI, T. (2002). Influence of caffeine ingestion on autonomic nervous activity during endurance exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* **87**, 475-480.

111. NOBERASCO, G., ODETTI, P., BOERI, D., MAIELLO, M. & ADEZATI, L. (1991). Malondialdehyde (MDA) level in diabetic subjects. Relationship with blood glucose and glycosylated hemoglobin. *Biomed Pharmacother* **45**, 193-196.
112. O'CONNOR, P. J., MOTL, R. W., BROGLIO, S. P. & ELY, M. R. (2004). Dose-dependent effect of caffeine on reducing leg muscle pain during cycling exercise is unrelated to systolic blood pressure. *Pain* **109**, 291-298.
113. ORTENBLAD, N., MADSEN, K. & DJURHUUS, M. S. (1997). Antioxidant status and lipid peroxidation after short-term maximal exercise in trained and untrained humans. *Am J Physiol* **272**, R1258-1263.
114. PACKER, J. E., SLATER, T. F. & WILLSON, R. L. (1979). Direct observation of a free radical interaction between vitamin E and vitamin C. *Nature* **278**, 737-738.
115. PACKER, L. (1994). Antioxidant properties of lipoic acid and its therapeutic effects in prevention of diabetes complications and cataracts. *Ann N Y Acad Sci* **738**, 257-264.
116. PALACE, V. P., KHAPER, N., QIN, Q. & SINGAL, P. K. (1999). Antioxidant potentials of vitamin A and carotenoids and their relevance to heart disease. *Free Radic Biol Med* **26**, 746-761.
117. PASMÁN, W. J., VAN BAAK, M. A., JEUKENDRUP, A. E. & DE HAAN, A. (1995). The effect of different dosages of caffeine on endurance performance time. *Int J Sports Med* **16**, 225-230.
118. PEAKE, J. M. (2003). Vitamin C: effects of exercise and requirements with training. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* **13**, 125-151.
119. PORTA, J., GALIANO, D., TEJEDO, A. & GONZÁLEZ J, M. (1993). Valoración de la composición corporal. Utopías y realidades. In *Manual de Cineantropometría*, pp. 113-170. Monografías FEMEDE, Pamplona.
120. RAGUSO, C. A., COGGAN, A. R., SIDOSSIS, L. S., GASTALDELLI, A. & WOLFE, R. R. (1996). Effect of theophylline on substrate metabolism during exercise. *Metabolism* **45**, 1153-1160.
121. RATHORE, N., JOHN, S., KALE, M. & BHATNAGAR, D. (1998). Lipid peroxidation and antioxidant enzymes in isoproterenol induced oxidative stress in rat tissues. *Pharmacol Res* **38**, 297-303.
122. ROKITZKI, L., LOGEMANN, E., SAGREDOS, A. N., MURPHY, M., WETZEL-ROTH, W. & KEUL, J. (1994). Lipid peroxidation and antioxidative vitamins under extreme endurance stress. *Acta Physiol Scand* **151**, 149-158.

123. ROTHMAN, K. J., MOORE, L. L., SINGER, M. R., NGUYEN, U. S., MANNINO, S. & MILUNSKY, A. (1995). Teratogenicity of high vitamin A intake. *N Engl J Med* **333**, 1369-1373.
124. ROY, B. D., BOSMAN, M. J. & TARNOPOLSKY, M. A. (2001). An acute oral dose of caffeine does not alter glucose kinetics during prolonged dynamic exercise in trained endurance athletes. *Eur J Appl Physiol* **85**, 280-286.
125. SACHECK, J. M. & BLUMBERG, J. B. (2001). Role of vitamin E and oxidative stress in exercise. *Nutrition* **17**, 809-814.
126. SAWYNOK, J. & YAKSH, T. L. (1993). Caffeine as an analgesic adjuvant: a review of pharmacology and mechanisms of action. *Pharmacol Rev* **45**, 43-85.
127. SEN, C. K. (1998). Redox signaling and the emerging therapeutic potential of thiol antioxidants. *Biochem Pharmacol* **55**, 1747-1758.
128. SEN, C. K., RANKINEN, T., VAISANEN, S. & RAURAMAA, R. (1994). Oxidative stress after human exercise: effect of N-acetylcysteine supplementation. *J Appl Physiol* **76**, 2570-2577.
129. SHEARER, M. J. (1986). *Vitamins. HPLC of small molecules, a practical approach*. IRL Press, Oxford.
130. SHIGENAGA, M. K., GIMENO, C. J. & AMES, B. N. (1989). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* **86**, 9697-9701.
131. SHIGENAGA, M. K., HAGEN, T. M. & AMES, B. N. (1994). Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci U S A* **91**, 10771-10778.
132. SINCLAIR, C. J. & GEIGER, J. D. (2000). Caffeine use in sports. A pharmacological review. *J Sports Med Phys Fitness* **40**, 71-79.
133. SJODIN, B., HELLSTEN WESTING, Y. & APPLE, F. S. (1990). Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med* **10**, 236-254.
134. SOMANI, S. M. & GUPTA, P. (1988). Caffeine: a new look at an age-old drug. *Int J Clin Pharmacol Ther Toxicol* **26**, 521-533.
135. SPRIET, L. L. (1995). Caffeine and performance. *Int J Sport Nutr* **5 Suppl**, S84-99.
136. SPRIET, L. L., MACLEAN, D. A., DYCK, D. J., HULTMAN, E., CEDERBLAD, G. & GRAHAM, T. E. (1992). Caffeine ingestion and muscle metabolism during prolonged exercise in humans. *Am J Physiol* **262**, E891-898.

137. STARKE, D. W., CHEN, Y., BAPNA, C. P., LESNEFSKY, E. J. & MIEYAL, J. J. (1997). Sensitivity of protein sulfhydryl repair enzymes to oxidative stress. *Free Radic Biol Med* **23**, 373-384.
138. SUNDQUIST, A. R., BRIVIBA, K. & SIES, H. (1994). Singlet oxygen quenching by carotenoids. *Methods Enzymol* **234**, 384-388.
139. SUNG, B. H., LOVALLO, W. R., PINCOMB, G. A. & WILSON, M. F. (1990). Effects of caffeine on blood pressure response during exercise in normotensive healthy young men. *Am J Cardiol* **65**, 909-913.
140. SURMEN-GUR, E., OZTURK, E., GUR, H., PUNDUK, Z. & TUNCEL, P. (1999). Effect of vitamin E supplementation on post-exercise plasma lipid peroxidation and blood antioxidant status in smokers: with special reference to haemoconcentration effect. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* **79**, 472-478.
141. TARNOPOLSKY, M. & CUPIDO, C. (2000). Caffeine potentiates low frequency skeletal muscle force in habitual and nonhabitual caffeine consumers. *J Appl Physiol* **89**, 1719-1724.
142. TARNOPOLSKY, M. A. (1994). Caffeine and endurance performance. *Sports Med* **18**, 109-125.
143. TARNOPOLSKY, M. A., ATKINSON, S. A., MACDOUGALL, J. D., SALE, D. G. & SUTTON, J. R. (1989). Physiological responses to caffeine during endurance running in habitual caffeine users. *Med Sci Sports Exerc* **21**, 418-424.
144. THOMPSON, D., WILLIAMS, C., KINGSLEY, M., NICHOLAS, C. W., LAKOMY, H. K., MCARDLE, F. & JACKSON, M. J. (2001). Muscle soreness and damage parameters after prolonged intermittent shuttle-running following acute vitamin C supplementation. *Int J Sports Med* **22**, 68-75.
145. TRICE, I. & HAYMES, E. M. (1995). Effects of caffeine ingestion on exercise-induced changes during high-intensity, intermittent exercise. *Int J Sport Nutr* **5**, 37-44.
146. TURLEY, C. P. & BREWSTER, M. A. (1990). Determinaciones nutricionales. Vitamina A, E y C. In *Química Clínica. Métodos*, pp. 562-603. Médica Paramericana, Buenos Aires.
147. UMEGAKI, K., DAOHUA, P., SUGISAWA, A., KIMURA, M. & HIGUCHI, M. (2000). Influence of one bout of vigorous exercise on ascorbic acid in plasma and oxidative damage to DNA in blood cells and muscle in untrained rats. *J Nutr Biochem* **11**, 401-407.

148. VAN DER MERWE, P. J., LUUS, H. G. & BARNARD, J. G. (1992). Caffeine in sport. Influence of endurance exercise on the urinary caffeine concentration. *Int J Sports Med* **13**, 74-76.
149. VAN SOEREN, M. H. & GRAHAM, T. E. (1998). Effect of caffeine on metabolism, exercise endurance, and catecholamine responses after withdrawal. *J Appl Physiol* **85**, 1493-1501.
150. VAN SOEREN, M. H., MOHR, T., KJAER, M. & GRAHAM, T. E. (1996). Acute effects of caffeine ingestion at rest in humans with impaired epinephrine responses. *J Appl Physiol* **80**, 805-812.
151. VAN SOEREN, M. H., SATHASIVAM, P., SPRIET, L. L. & GRAHAM, T. E. (1993). Caffeine metabolism and epinephrine responses during exercise in users and nonusers. *J Appl Physiol* **75**, 805-812.
152. VANDENBERGHE, K., GILLIS, N., VAN LEEMPUTTE, M., VAN HECKE, P., VANSTAPEL, F. & HESPEL, P. (1996). Caffeine counteracts the ergogenic action of muscle creatine loading. *J Appl Physiol* **80**, 452-457.
153. VASANKARI, T., KUJALA, U., HEINONEN, O., KAPANEN, J. & AHOTUPA, M. (1995). Measurement of serum lipid peroxidation during exercise using three different methods: diene conjugation, thiobarbituric acid reactive material and fluorescent chromolipids. *Clin Chim Acta* **234**, 63-69.
154. VIGUIE, C. A., FREI, B., SHIGENAGA, M. K., AMES, B. N., PACKER, L. & BROOKS, G. A. (1993). Antioxidant status and indexes of oxidative stress during consecutive days of exercise. *J Appl Physiol* **75**, 566-572.
155. VINA, J., GOMEZ-CABRERA, M. C., LLORET, A., MARQUEZ, R., MINANA, J. B., PALLARDO, F. V. & SASTRE, J. (2000). Free radicals in exhaustive physical exercise: mechanism of production, and protection by antioxidants. *IUBMB Life* **50**, 271-277.
156. VISTISEN, K., LOFT, S. & POULSEN, H. E. (1991). Cytochrome P450 IA2 activity in man measured by caffeine metabolism: effect of smoking, broccoli and exercise. *Adv Exp Med Biol* **283**, 407-411.
157. VISTISEN, K., POULSEN, H. E. & LOFT, S. (1992). Foreign compound metabolism capacity in man measured from metabolites of dietary caffeine. *Carcinogenesis* **13**, 1561-1568.
158. WEMPLE, R. D., LAMB, D. R. & MCKEEVER, K. H. (1997). Caffeine vs caffeine-free sports drinks: effects on urine production at rest and during prolonged exercise. *Int J Sports Med* **18**, 40-46.
159. WILES, J. D., BIRD, S. R., HOPKINS, J. & RILEY, M. (1992). Effect of caffeinated coffee on running speed, respiratory factors, blood lactate and perceived exertion during 1500-m treadmill running. *Br J Sports Med* **26**, 116-120.

160. WILMORE, J. H. & COSTILL, D. L. (1998). *Fisiología del esfuerzo y del deporte*. Paidotribo, Barcelona.
161. YEO, S. E., JENTJENS, R. L., WALIS, G. A. & JEUKENDRUP, A. E. (2005). Caffeine increases exogenous carbohydrate oxidation during exercise. *J Appl Physiol* **99**, 844-850.
162. Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* **74**, 139-162.