



Tesis doctoral

Regulación del volumen plasmático en el ejercicio: papel de la intensidad y la adaptación al entrenamiento.

Presentada por:

Pablo Verdejo Carratalá

Dirigida por:

Prof. Dr. Marco Romagnoli

Dr. Fabian Sanchis Gomar

D. Rafael Alis Pozo

Departamento de Educación Física y Deportes

Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte

Dedicatoria

Agradecimientos

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Contenidos

| | |
|---|----|
| INTRODUCCIÓN..... | 21 |
| El ejercicio físico..... | 24 |
| Estructura y funcionamiento del sistema circulatorio en reposo y durante el ejercicio..... | 28 |
| Presión arterial en reposo y durante el ejercicio | 31 |
| Distribución del flujo sanguíneo en reposo y durante el ejercicio..... | 33 |
| Contenido y distribución de agua en los compartimentos corporales..... | 37 |
| Filtración de fluidos a través de la membrana capilar..... | 40 |
| Modelo clásico de filtración-absorción | 41 |
| Modelo glicocalix-poro | 45 |
| Filtración de fluidos a través de la membrana capilar en tejido muscular..... | 49 |
| Tejido muscular en reposo..... | 49 |
| Tejido muscular en contracción | 50 |
| Viscosidad plasmática | 51 |
| Efectos del ejercicio sobre la viscosidad plasmática..... | 53 |
| Regulación del volumen plasmático durante el ejercicio físico | 55 |
| Adaptación cardíaca a los cambios del volumen plasmático inducido por el ejercicio físico | 70 |
| Efectos crónicos del ejercicio relevantes para la regulación del volumen plasmático..... | 72 |
| Equilibrio entre el sistema nervioso simpático y parasimpático | 77 |
| Frecuencia cardíaca y presión arterial | 80 |
| OBJETIVOS | 83 |

| | |
|-------------------------------------|-----|
| Objetivo principal: | 85 |
| MATERIALES Y METODOS | 87 |
| Diseño experimental..... | 89 |
| Fase Experimental 1..... | 91 |
| Sujetos | 91 |
| Criterios de inclusión | 91 |
| Criterios de exclusión: | 92 |
| Protocolos de ejercicio | 92 |
| Test incremental máximo | 93 |
| Test de baja intensidad (AER)..... | 94 |
| Test de alta intensidad (HIT) | 95 |
| Obtención de muestras | 96 |
| Métodos de laboratorio | 97 |
| Reducción de datos | 99 |
| Análisis estadístico..... | 100 |
| Fase Experimental 2..... | 101 |
| Sujetos | 101 |
| Criterios de inclusión | 102 |
| Criterios de exclusión: | 102 |
| Protocolo de ejercicio..... | 103 |
| Obtención de muestras | 104 |
| Métodos de laboratorio | 105 |
| Reducción de datos | 106 |
| Análisis estadístico..... | 107 |
| Fase Experimental 3..... | 109 |
| Sujetos | 109 |
| Criterios de inclusión | 111 |

| | |
|---|-----|
| Criterios de exclusión: | 111 |
| Muerte experimental..... | 112 |
| Protocolo de entrenamiento | 112 |
| Protocolos de ejercicio | 114 |
| Test incremental máximo | 114 |
| Test continuo por encima del UAn | 116 |
| Obtención de muestras | 117 |
| Métodos de laboratorio | 117 |
| Reducción de datos | 118 |
| Análisis estadístico..... | 118 |
| RESULTADOS | 121 |
| Resultados obtenidos en la fase experimental 1 | 123 |
| Objetivo 1 | 124 |
| Objetivo 2..... | 127 |
| Objetivo 3..... | 135 |
| Resultados obtenidos en la fase experimental 2 | 138 |
| Resultados obtenidos en la fase experimental 3 | 152 |
| DISCUSION..... | 163 |
| Discusión de resultados relativos al objetivo 1. | 165 |
| Discusión de resultados relativos al objetivo 2. | 169 |
| Discusión de resultados relativos al objetivo 3. | 171 |
| Discusión de resultados relativos al objetivo 4. | 172 |
| Discusión de resultados relativos al objetivo 5. | 177 |
| CONCLUSIONES..... | 183 |
| REFERENCIAS | 187 |
| ANEXOS..... | 211 |

Índice de Tablas

| | |
|----------------|-----|
| Tabla 1: | 26 |
| Tabla 2 | 27 |
| Tabla 3. | 34 |
| Tabla 4. | 42 |
| Tabla 5 | 58 |
| Tabla 6. | 92 |
| Tabla 7. | 92 |
| Tabla 8. | 102 |
| Tabla 9. | 102 |
| Tabla 10..... | 111 |
| Tabla 11..... | 111 |
| Tabla 12..... | 113 |
| Tabla 13..... | 138 |
| Tabla 14..... | 139 |
| Tabla 15..... | 140 |
| Tabla 16..... | 153 |
| Tabla 17..... | 155 |
| Tabla 18..... | 156 |
| Tabla 19..... | 157 |

Índice de Figuras

| | |
|-----------------|-----|
| Figura 1. | 29 |
| Figura 2. | 31 |
| Figura 3. | 33 |
| Figura 4. | 35 |
| Figura 5. | 36 |
| Figura 6. | 38 |
| Figura 7. | 43 |
| Figura 8. | 44 |
| Figura 9. | 48 |
| Figura 10. | 49 |
| Figura 11. | 51 |
| Figura 12. | 53 |
| Figura 13. | 54 |
| Figura 14. | 63 |
| Figura 15. | 66 |
| Figura 16. | 68 |
| Figura 17. | 70 |
| Figura 18. | 90 |
| Figura 19. | 96 |
| Figura 20. | 104 |
| Figura 21. | 110 |
| Figura 22. | 123 |
| Figura 23. | 125 |
| Figura 24. | 126 |
| Figura 25. | 127 |

| | |
|-----------------|-----|
| Figura 26 | 129 |
| Figura 27. | 130 |
| Figura 28. | 131 |
| Figura 29. | 133 |
| Figura 30 | 134 |
| Figura 31 | 136 |
| Figura 32. | 137 |
| Figura 33. | 141 |
| Figura 34. | 142 |
| Figura 35. | 143 |
| Figura 36. | 144 |
| Figura 37. | 146 |
| Figura 38. | 147 |
| Figura 39. | 148 |
| Figura 40. | 149 |
| Figura 41. | 150 |
| Figura 42. | 151 |
| Figura 43. | 154 |
| Figura 44. | 158 |
| Figura 45. | 160 |
| Figura 46 | 161 |
| Figura 47. | 162 |

Abreviaturas

1-RM: una repetición máxima

Δ VP: cambio en el volumen plasmático

π : presión osmótica

Π : presión osmótica ejercida por macromoléculas

σ : coeficiente de refracción

ANOVA: análisis de la varianza

Ang: angiopoyetinas

ATP: adenina tri-fosfato

CFC: coeficiente de filtración capilar

CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media

CR: coeficiente respiratorio

CRmax: coeficiente respiratorio máximo

CT: colesterol total

CK: creatina quinasa

ERO: especies reactivas del oxígeno

Fbr: fibrinógeno

FC: frecuencia cardíaca

FCmax: frecuencia cardíaca máxima

FGF: factor de crecimiento de fibroblastos

GAG: glicosaminoglicanos

GC: gasto cardíaco

Glu: glucosa

Hb: hemoglobina

HCM: hemoglobina corpuscular media

HIF: factores de transcripción inducibles por hipoxia

HIT: entrenamiento interválico de alta intensidad

Hto: hematocrito

IMC: índice de masa corporal

J_v : flujo neto a través de la membrana endotelial

La^- : lactato

LDH: lactato deshidrogenasa

MEC: matriz extracelular

MMP: metaloproteinasas de matriz

NO: óxido nítrico

P: presión coloidal

PA: presión arterial

PAD: presión arterial diastólica

PAM presión arterial media

PAS: presión arterial sistólica

PCO₂: presión parcial de dióxido de carbono

PCr: fosofocreatina

PDGF: factores de crecimiento derivado de plaquetas

PO₂: Presión parcial de oxígeno

PT: proteínas totales

RBC: recuento de glóbulos rojos

TAD: tensión arterial diastólica

TAS: tensión arterial sistólica

Tg: triglicéridos

TGF: factores de crecimiento transformante

TGF- β : factor de crecimiento transformante- β

TNF- α : factor de necrosis tumoral- α

UAn: umbral anaeróbico

VCM: volumen corpuscular medio

VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular

VO₂max: consumo máximo de oxígeno

VP: volumen plasmático

VPlasm: viscosidad plasmática

VS: volumen sistólico

vUAn: velocidad umbral anaeróbico

INTRODUCCIÓN

La función del sistema circulatorio es la de mantener el entorno celular apropiado para el correcto desarrollo y supervivencia de los tejidos, aportando nutrientes, O₂, y hormonas, al mismo tiempo que se retiran productos de desecho y CO₂ (Guyton and Hall 2006). Por tanto, el sistema circulatorio juega un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis (Cannon 1929).

Para cumplir esta misión, es fundamental mantener el flujo sanguíneo en todos los tejidos del organismo en función de las necesidades. El sistema circulatorio regula el flujo sanguíneo en todo el cuerpo mediante diversos mecanismos de *feedback* que modulan el gasto cardíaco (GC), la presión sanguínea y la distribución local del flujo sanguíneo (Guyton and Hall 2006).

En última instancia, el intercambio de sustancias se realiza en los niveles más bajos del árbol vascular, a través del endotelio, donde se producen fenómenos de intercambio entre los espacios vascular e intersticial. En esta tesis nos centraremos en los fenómenos de intercambio de agua entre dichos espacios durante el ejercicio, por tanto revisaremos la estructura, y el funcionamiento de los mecanismos fisiológicos implicados en la migración de agua del espacio vascular al intersticial durante el ejercicio.

El ejercicio físico

El ejercicio físico supone un fuerte estrés de los sistemas fisiológicos. Una persona con una temperatura corporal cercana al límite letal incrementa su metabolismo un 100% sobre lo normal. Durante una maratón el metabolismo corporal incrementa hasta 20 veces sobre el nivel basal (Guyton and Hall 2006), mientras que en un sprint a máxima intensidad lo hace hasta 50 veces (Katch et al. 2011).

La contracción muscular se produce por repetidos ciclos de unión, acercamiento y separación de las cabezas de miosina con los filamentos de actina (Mougiou 2006) en la fibra muscular. La formación de estos puentes y el mecanismo de contracción consumen energía en forma de moléculas de adenina tri-fosfato (ATP). Las células musculares obtienen la energía necesaria para la contracción por diferentes vías, como son el sistema fosfocreatina-creatina, el sistema glucógeno-ácido láctico y el sistema aeróbico (Guyton and Hall 2006). Durante el ejercicio los tres sistemas participan en la obtención de ATP para la contracción muscular, aunque su participación es diferente dependiendo de la intensidad y duración de la actividad.

Los esfuerzos de muy alta intensidad, como un sprint de 100m o un test Wingate (8-10 segundos), requieren un alto aporte de energía. Los depósitos de ATP y fosfocreatina (PCr) en la

musculatura proveen la energía para estos esfuerzos casi de forma exclusiva (Katch et al. 2011). La cantidad de fosfógenos (ATP y PCr) que contiene el tejido muscular solo es suficiente para mantener un esfuerzo de muy alta intensidad durante un corto periodo de tiempo.

Cuando se dan esfuerzos de una intensidad tal que las demandas energéticas no puedan ser satisfechas por el las vías metabólicas oxidativas, es la vía anaeróbica o del glucógeno-ácido láctico la que proporciona la energía de forma mayoritaria. Esta situación se da cuando el aporte de O_2 a la fibra muscular no es suficiente para que la vía aeróbica produzca toda la energía que requiere la célula. Esta vía produce energía a partir de los hidratos de carbono, en menor cantidad que la vía aeróbica pero con un ritmo de producción mucho más alto (Mougios 2006). Esta vía tiene como producto de desecho el ácido láctico. Esta molécula tiene un papel diferente en cada tejido aunque su acumulación dentro y fuera de la fibra muscular está relacionada con la aparición de fatiga (Gladden 2004; Robergs et al. 2004). La acumulación de lactato empieza a partir de un 55% de la capacidad aeróbica máxima de una persona sana no entrenada (Katch et al. 2011).

Las vías oxidativas proporcionan la mayor parte de la energía para todas las actividades que superen los 2-3 minutos de duración (Katch et al. 2011). En estas condiciones, la energía se obtiene a partir de 3 sustratos: los hidratos de carbono, las

grasas y las proteínas. Estas últimas solo son representativas como sustrato energético en esfuerzos muy prolongados (Katch et al. 2011). Mediante estas vías metabólicas se produce una gran cantidad de energía por unidad de sustrato tras una gran cantidad de reacciones, incluyendo la cadena de respiración en la mitocondria donde el O_2 juega un papel fundamental (Mougios 2006).

La **Tabla 1** representa las fuentes energéticas durante el ejercicio, la cantidad que se almacena en el cuerpo (en promedio), el rendimiento en ATP y la capacidad de resíntesis de cada sustrato.

Tabla 1: Fuentes energéticas en el cuerpo humano durante el ejercicio.

| Fuente | Cantidad (mmol) | Rendimiento en ATP (mmol) | | Ratio de resíntesis de ATP (mmol·Kg ⁻¹ ·s ⁻¹) | |
|-----------------------|-----------------|---------------------------|----------|--|----------|
| | | Anaeróbico | Aeróbico | Anaeróbico | Aeróbico |
| ATP muscular | 168 | 168 | | | |
| PCr Muscular | 560 | 560 | | 2.6 | |
| Glucogeno muscular | 2160 | 6480 | 66960 | 1.5 | 0.5 |
| Glucógeno hígado | 556 | 1112 | 16680 | 0.2 | 0.1 |
| Grasas musculares | 163 | | 58680 | | 0.3 |
| Grasas tejido adiposo | 11628 | | 4186080 | | 0.2 |

Adaptado de Mougios (2006)

El balance en los procesos de transferencia energética durante el ejercicio pueden considerarse como un continuo entre la energía procedente de la vía aeróbica y de las vías fosfocreatina-creatina y glucólisis-ácido láctico, que son anaeróbicas (Katch et al. 2011). La **Tabla 2** representa el porcentaje aproximado de la contribución de las vías metabólicas aeróbica y anaeróbica durante el ejercicio, según la duración de este.

Tabla 2: Contribución relativa de vías aeróbicas y anaeróbicas en la producción energética en relación a la duración del ejercicio.

| | Segundos | | | Minutos | | | | | |
|-----------------------|----------|----|----|---------|----|----|----|----|-----|
| | 10 | 30 | 60 | 2 | 4 | 10 | 30 | 60 | 120 |
| Porcentaje Anaeróbico | 90 | 80 | 70 | 50 | 35 | 15 | 5 | 2 | 1 |
| Porcentaje Aeróbico | 10 | 20 | 30 | 50 | 65 | 85 | 95 | 98 | 99 |

Adaptado de Katch et al. (2011).

Atendiendo a la vía mayoritaria de producción energética podemos clasificar los esfuerzos en aeróbicos y anaeróbicos (Katch et al. 2011). Esfuerzos de baja intensidad serán anaeróbicos hasta que la vía aeróbica este suficientemente activada (1-2 minutos) (Mougios 2006). En esfuerzos de alta intensidad, cuando la producción de energía no pueda continuar de forma anaeróbica, necesariamente el sujeto bajará la intensidad de la actividad y aumentará la implicación de la vía aeróbica (Mougios 2006).

En concordancia con estas necesidades energéticas a nivel celular, los diversos sistemas fisiológicos durante el ejercicio modifican su actividad para suministrar los sustratos necesarios, así como retirar los productos de desecho, para poder mantener la contracción muscular. En particular, el sistema circulatorio y su capacidad para irrigar los tejidos juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la homeostasis celular durante el ejercicio.

Estructura y funcionamiento del sistema circulatorio en reposo y durante el ejercicio

A través de todo el organismo, la sangre se distribuye en las circulaciones sistémica y pulmonar, mientras que la linfa lo hace a través de los vasos linfáticos.

La circulación sanguínea discurre a través de arterias y venas (**Figura 1**).

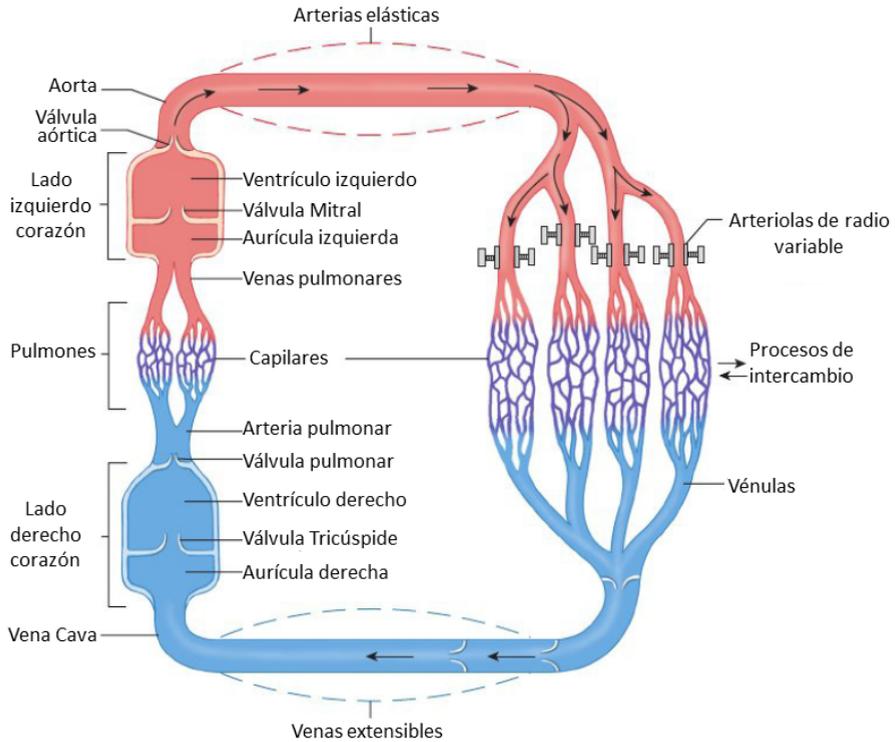


Figura 1. Esquema de la circulación sanguínea. Adaptado de Silverthorn (2010).

Los vasos por los que discurre la sangre presentan grandes diferencias en su estructura y en su funcionamiento, en función de su posición en el árbol vascular. Las arterias transportan sangre con una alta presión y, por esta razón, poseen gruesas paredes rodeadas de tejido muscular cuya contracción ayuda a la regulación de la presión arterial (PA). A medida que la distancia al corazón aumenta, la sangre discurre por arteriolas que desembocarán en los capilares. Es en los capilares donde, a través del endotelio, se produce el intercambio de sustancias entre la sangre y el líquido intersticial. Los productos de

desecho, así como el exceso de agua, son retirados de los tejidos mediante dos mecanismos: la circulación venosa y la circulación linfática. Las vénulas son los vasos que recogen la sangre tras los capilares y desembocan en vasos de cada vez mayor tamaño, hasta acabar en la aurícula derecha del corazón a través de las venas cavas. La circulación venosa es de baja presión por lo que las paredes de los vasos son finos y presentan estructuras en forma de válvula para facilitar el retorno venoso.

En condiciones de reposo, un 64 % de la volemia se encuentra en la circulación venosa, un 20 % en arterias, arteriolas y capilares, y un 7 % en el corazón (Guyton and Hall 2006). Por lo tanto, la circulación venosa actúa como el principal reservorio sanguíneo.

Los fluidos infundidos en los tejidos a nivel capilar y las grandes macromoléculas, que difícilmente pueden atravesar el endotelio, retornan a la circulación sanguínea a través del sistema linfático, concretamente gracias a unos canales intersticiales denominados vasos prelinfáticos. Estos vasos acaban en el ducto torácico, el cual desemboca en la circulación venosa, específicamente en la conjunción de la venas yugular y subclavia izquierda.

Presión arterial en reposo y durante el ejercicio

La acción del corazón proporciona la presión necesaria para que la sangre se desplace a través de arterias y venas (**Figura 2**). Sin embargo, la circulación linfática es promovida por las diferencias de presiones entre tejidos y vasos linfáticos.

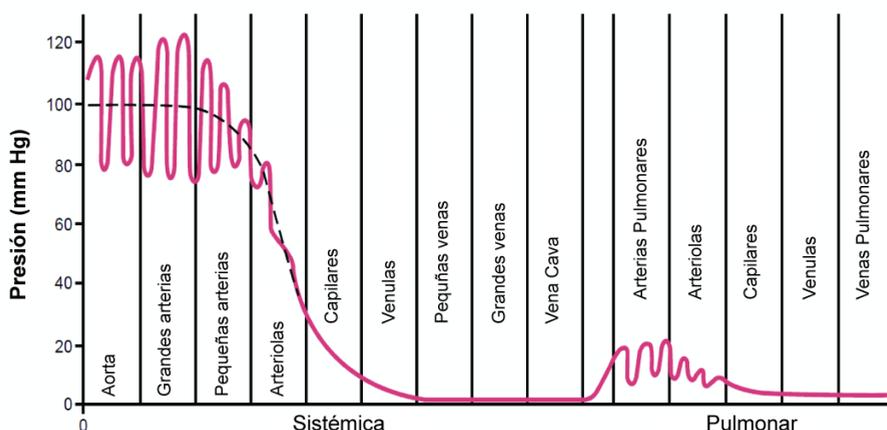


Figura 2. Representación de la presión sanguínea en cada sección de las circulaciones sistémica y pulmonar. Adaptado de Guyton and Hall (2006).

En reposo, debido al bombeo constante del corazón, la presión en la Aorta es muy elevada, fluctuando entre los 120 mmHg durante la sístole y los 80 mmHg durante la diástole (**Figura 2**). A medida que la sangre fluye a través de la circulación sistémica la presión disminuye progresivamente hasta prácticamente 0 mmHg en la vena Cava, desembocando finalmente en la aurícula derecha (Guyton and Hall 2006).

La presión en los capilares sistémicos, en reposo, va desde los 35 mmHg en el extremo arterial a los 10 mmHg en el extremo

venoso. La presión en los capilares, como discutiremos más adelante, es uno de los factores que regulan el intercambio de agua y sustancias del espacio vascular al intersticio, y se considera que es de unos 17 mmHg en las porciones medias de los capilares (Guyton and Hall 2006).

La PA debe regularse para el correcto funcionamiento de la circulación ya que la sangre circula por todo el organismo gracias al gradiente de presiones que existe en el árbol vascular (Silverthorn 2010). La PA se regula en tiempo real mediante baroreceptores de presión situados tanto en la Aorta como en otros grandes vasos. Estos receptores proporcionan señales nerviosas que, a su vez, regulan diversos mecanismos para mantener la PA dentro de los márgenes necesarios. De esta forma, si detectan un descenso de la PA, emiten una serie de señales que incrementarán la fuerza de contracción del miocardio, causarán una vasoconstricción de las grandes venas y una contracción generalizada de las arteriolas de todo el organismo. Todo ello resultará en una acumulación de sangre en arterias, una mayor resistencia a la sangre bombeada por el corazón y, finalmente, en un aumento de la PA. La función renal también interviene en la regulación de la PA a largo plazo mediante la excreción de agua y solutos.

Durante el ejercicio, a pesar del aumento de la frecuencia cardíaca (FC), y por tanto del GC, la PA se mantiene dentro de márgenes normales en personas no hipertensas (**Figura 3**).

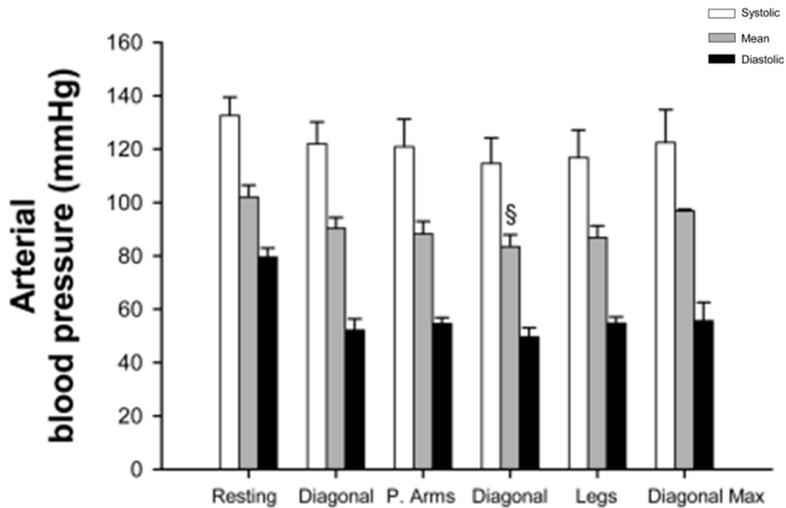


Figura 3. Efecto de diferentes técnicas de esquí de fondo sobre la presión arterial sistólica (barras vacías), la presión arterial media (barras grises) y la presión arterial diastólica (barras negras). Reproducido de Calbet et al. (2004).

Distribución del flujo sanguíneo en reposo y durante el ejercicio

La sangre que fluye a través de los tejidos retorna al corazón a través de las venas y éste la bombea inmediatamente de vuelta a la circulación. Por tanto, el GC varía en función de los flujos sanguíneos locales que contienen todos los tejidos (Guyton and Hall 2006).

El flujo sanguíneo en cada tejido es estrictamente regulado, siendo siempre el menor necesario para cumplir la necesidades tisulares (Guyton and Hall 2006). En reposo, la mayor parte del flujo sanguíneo se destina a los riñones, hígado, cerebro y tejido muscular (**Tabla 3**).

Tabla 3. Distribución del flujo sanguíneo en condiciones basales. Adaptado de Guyton and Hall (2006).

| Tejido | Porcentaje | mL/min | mL/min/ 100 g |
|----------------------|------------|--------|---------------|
| Cerebro | 14 | 700 | 50 |
| Corazón | 4 | 200 | 70 |
| Bronquios | 2 | 100 | 25 |
| Riñones | 22 | 1100 | 360 |
| Hígado | 27 | 1350 | 95 |
| Músculos | 15 | 750 | 4 |
| Huesos | 5 | 250 | 3 |
| Piel | 6 | 300 | 3 |
| Glándula Tiroidea | 1 | 50 | 160 |
| Glándula Suprarrenal | 0.5 | 25 | 300 |
| Otros tejidos | 3.5 | 175 | 1.3 |

El flujo sanguíneo es regulado en tiempo real a través de cambios rápidos en la vasodilatación o vasoconstricción de arteriolas, metaarteriolas y esfínteres precapilares (pericitos). De esta forma, el flujo sanguíneo se puede adaptar en segundos a los requerimientos metabólicos de los tejidos en cada momento. Sin embargo, la disminución o el incremento del número de capilares (angiogénesis) en los tejidos permiten ajustar el flujo sanguíneo tisular a largo plazo (Guyton and Hall 2006).

Se ha demostrado que tanto un aumento de la tasa metabólica del tejido irrigado como un descenso de la presión parcial de oxígeno (PO_2) en el intersticio provocan un aumento del flujo sanguíneo en dicho tejido (hiperemia) (Guyton and Hall 2006).

El flujo sanguíneo a través del tejido muscular puede variar ampliamente. Durante un ejercicio máximo, con tal de suplir las demandas del tejido muscular, el flujo sanguíneo que irriga la musculatura en contracción puede aumentar hasta 20 veces si lo comparamos con los valores en reposo (**Figura 4**). Este aumento del flujo sanguíneo durante el ejercicio está especialmente asociado a la demanda de O₂ del tejido muscular (Sarelius and Pohl 2010).

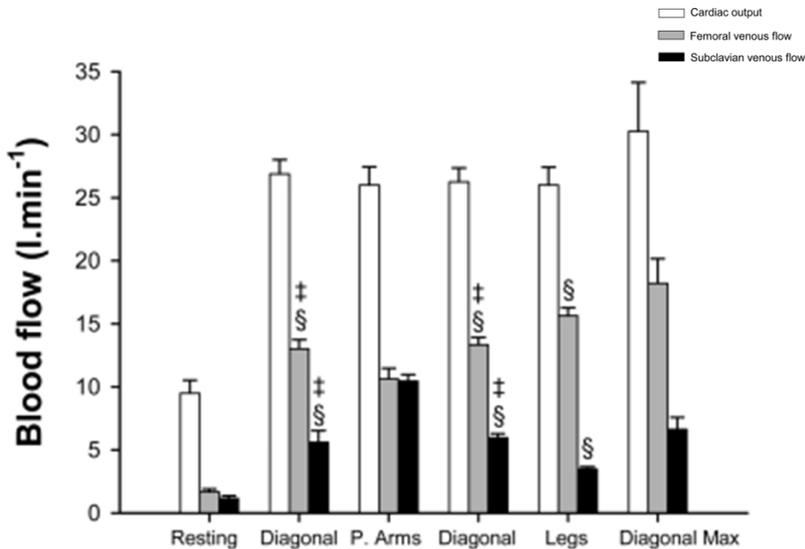


Figura 4. Efecto de diferentes técnicas de esquí de fondo sobre el gasto cardíaco (barras vacías), el flujo sanguíneo en la vena femoral (barras grises) y sobre el flujo sanguíneo en la vena subclavia (barras negras). Reproducido de Calbet et al. (2004).

Se ha demostrado que diversos factores y metabolitos tienen un importante potencial vasodilatador (óxido nítrico (NO), ATP, ADP, adenosina, lactato (La⁻), H⁺, K⁺, citoquinas,...) y podrían intervenir en la hiperemia inducida por el ejercicio. Sin

embargo, la dificultad para realizar intervenciones experimentales en humanos con el objetivo de aislar la aportación de cada uno de estos factores supone importantes retos (Joyner and Wilkins 2007). Posiblemente, más que un efecto particular de un factor concreto, la mayor parte de ellos actúen de forma sinérgica, provocando la hiperemia inducida por el ejercicio en el tejido muscular.

El mantenimiento dentro de márgenes normales de la PA durante el ejercicio se explica por el aumento de la conductancia vascular en el tejido muscular como resultado de la vasodilatación local, lo que tiene un efecto a nivel sistémico (Figura 5).

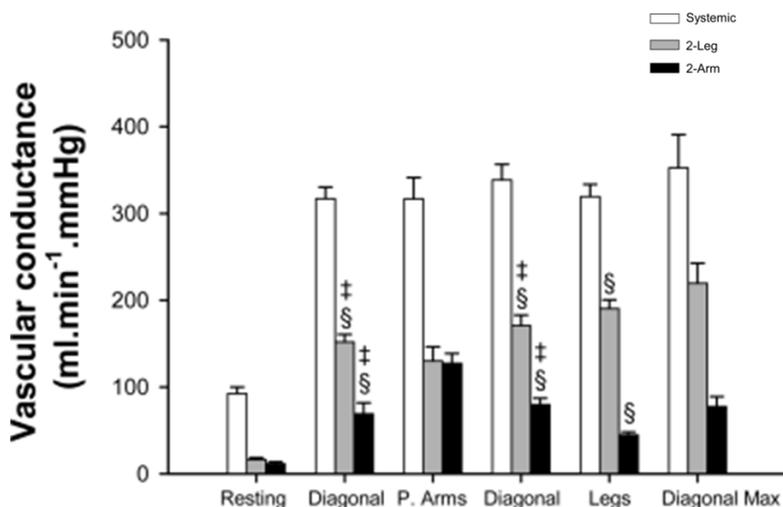


Figura 5. Efecto de diferentes técnicas de esquí de fondo sobre la conductancia vascular sistémica (barras vacías), de los miembros superiores (barras grises) y de los miembros inferiores (barras negras). Reproducido de Calbet et al. (2004).

Contenido y distribución de agua en los compartimentos corporales.

El agua contenida en el cuerpo humano se encuentra principalmente en tres compartimentos: el espacio intravascular (en forma del plasma transportado por los vasos sanguíneos); el líquido intersticial (en forma de líquido rodeando a las células en los tejidos); y el líquido intracelular (en forma del líquido constituyente del citoplasma celular) (**Figura 6**). El líquido intracelular representa aproximadamente 2 tercios del total del agua corporal mientras que el tercio restante se distribuye entre el plasma (20%) y el líquido intersticial (80%) (Guyton and Hall 2006). Existe también una pequeña parte de líquido contenido en otros compartimentos, como por ejemplo el líquido sinovial, el peritoneal o el pericárdico que se denomina líquido transcelular (constituye alrededor de 1.5 L). Además, los procesos metabólicos producen, de forma neta, una muy pequeña cantidad de agua.

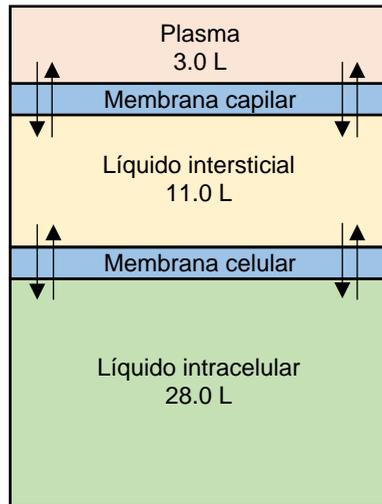


Figura 6. Distribución del agua corporal en los diferentes compartimentos. Volúmenes promedio para una persona de 78 kg. Adaptado de (Guyton and Hall 2006).

Una persona que pese 78 kg, contendrá, en promedio, un total de 42 L de agua (**Figura 6**). Parte de esta agua se pierde diariamente a través de la sudoración, la respiración, y de heces y orina. Estas pérdidas deberán ser compensadas mediante la ingesta de agua.

Los espacios vascular, intersticial e intracelular se encuentran separados por las membranas capilar y celular. Ambas membranas son muy permeables al agua, por lo que ésta pasa libremente según las presiones osmóticas a ambos lados de la membrana. Sin embargo, las membranas celular y capilar regulan de forma diferente el paso de iones a través de ellas. Ante todo, es necesario mantener la integridad de las células controlando su volumen. Uno de los mecanismos claves para

este propósito es la fuerte regulación de los flujos entrantes y salientes de iones en la célula, lo que mantiene la isotonicidad del citoplasma, y por tanto, el paso de agua a través de la membrana celular. Por esta razón, aunque el paso de agua y ciertos solutos es prácticamente libre a través de la membrana celular, el volumen de agua contenido en las células está fuertemente conservado y no varía en condiciones fisiológicas. El paso de iones y de agua a través de la membrana capilar es libre, circulando de un espacio al otro de una forma mucho más dinámica que a través de la membrana celular.

En condiciones normales, al pasar la sangre por los capilares, se establece un flujo constante de agua y solutos desde el espacio intravascular al intersticial. De esta forma, los nutrientes transportados en la sangre pueden ser absorbidos por las células que conforman los tejidos. A su vez, los productos de desecho celulares son liberados al espacio intersticial, y transportados de vuelta al torrente sanguíneo a través de los vasos linfáticos o reabsorbidos a través de la membrana capilar. Este proceso resulta en una pérdida neta de agua al pasar por los capilares, produciéndose por tanto, una hemoconcentración debida a una disminución del volumen plasmático (VP).

El plasma, el fluido intersticial y la linfa están conectados en serie, en condiciones estacionarias, de un compartimento a otro. Los vasos linfáticos desembocan en la conjunción de la

venas yugular y subclavia izquierda. Se estima que el flujo de linfa al día es de aproximadamente unos 8 L, lo que indica que todo el plasma abandona la circulación alrededor de una vez cada 9 horas (Levick and Michel 2010).

Filtración de fluidos a través de la membrana capilar

La reducción del VP es un proceso continuo que juega un importante papel en el mantenimiento de la homeostasis tisular. La magnitud de la hemoconcentración sanguínea al irrigar un tejido es función de las condiciones locales del flujo sanguíneo y de las características del intersticio del tejido en cuestión.

En 1896, el fisiólogo inglés Ernest Henry Starling estableció el principio fundamental que explica el paso de fluidos a través de la membrana endotelial (Starling 1896). Starling mostró que una solución salina inyectada en el intersticio del muslo de un perro resulta en una hemodilución de la sangre venosa. Sin embargo, cuando se inyectaba suero (que contiene proteínas), el fluido no era reabsorbido en la circulación y no se observaba hemodilución en la sangre venosa. Starling propuso que las paredes de los capilares y de las vénulas postcapilares eran semipermeables y, en consecuencia, el movimiento de fluidos a través de la membrana capilar dependería del desequilibrio entre la presión osmótica de absorción debida a las proteínas plasmáticas (presión osmótica coloidal) y de la presión

hidrostática (P) ejercida por el latido del corazón sobre las paredes del capilar (P_c). Además, ya que el intersticio tiene una importante concentración de las proteínas totales (PT) contenidas en el plasma, la semipermeabilidad de la membrana en la microvascularización es imperfecta, y por tanto deja pasar proteínas, aunque de una forma muy lenta (Starling 1896).

El grado de filtración de un soluto en concreto se refleja mediante el coeficiente de refracción osmótica de Staverman (σ), que es inverso a la permeabilidad y varía de 0 a 1, siendo 1 una refracción total del soluto (es decir, no permite el paso de dicho soluto a través de la membrana) (Staverman 1951).

Modelo clásico de filtración-absorción

Según los principios de la termodinámica, la ecuación que relaciona el flujo de un líquido a través de una membrana semipermeable que separa dos soluciones de un soluto con diferentes concentraciones va en función de las diferencias de presión hidrostática (ΔP) y de las diferencias de presión osmótica ($\Delta \pi$) entre ambas soluciones. Además, el flujo filtrado (J_v) dependerá de la superficie disponible para la filtración (A) y de la conductividad hidráulica por unidad de área (L_p):

$$J_v = L_p \times A \times (\Delta P - \sigma \Delta \pi)$$

En un entorno fisiológico, tanto en el plasma como en el líquido intersticial hay más de un soluto en disolución, con lo que el J_v

total dependerá de la suma de las diferencias de π de cada uno de los solutos. Por tanto, la ecuación anterior quedaría como sigue:

$$J_v = L_p \times A \times \left(\Delta P - \sum_j \sigma_j \Delta \pi_j \right)$$

En esta ecuación, $\sum \sigma \Delta \pi$ representa la suma de diferencias en la presión osmótica ejercida a través de las paredes del vaso por todos los solutos en el plasma y en el líquido intersticial mientras que ΔP refleja la diferencia de presión hidrostática entre el intersticio (P_i) y el capilar (P_c).

En la mayoría de los vasos, únicamente algunas macromoléculas se encuentran a diferentes concentraciones, mientras que para la mayoría de los solutos σ tiene un valor de 0,1, o incluso menos, presentando por tanto una alta permeabilidad (**Tabla 4**).

Tabla 4. Permeabilidad relativa de los poros endoteliales en el tejido muscular en relación con el peso molecular de las sustancias.

| Sustancia | Peso molecular (kDa) | Permeabilidad |
|-----------|----------------------|---------------|
| Agua | 18 | 1,00 |
| NaCl | 58,5 | 0,96 |
| Urea | 60 | 0,80 |
| Glucosa | 180 | 0,60 |
| Sacarosa | 342 | 0,40 |
| Inulina | 5000 | 0,20 |

| | | |
|-------------|-------|-------|
| Mioglobina | 17600 | 0,03 |
| Hemoglobina | 68000 | 0,01 |
| Albúmina | 69000 | 0,001 |

Adaptado de (Guyton and Hall 2006).

Así pues, en condiciones fisiológicas, J_v prácticamente depende de la presión osmótica ejercida por macromoléculas (Π) plasmáticas (Π_p) e intersticiales (Π_i), quedando la ecuación de Starling como sigue:

$$J_v = L_p \times A \times \{ (P_c - P_i) - \sigma(\Pi_p - \Pi_i) \}$$

En esta ecuación, la P_c es la fuerza que favorece la filtración, mientras que la diferencia $\Pi_p - \Pi_i$ y la P_i son fuerzas que se oponen a la filtración.

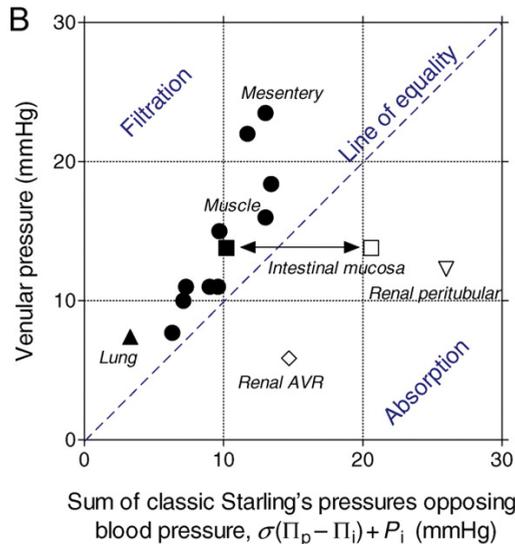


Figura 7. Suma de las tres fuerzas clásicas de Starling oponiéndose a la presión sanguínea en la microvascularización $\sigma(\Pi_p - \Pi_i) + P_i$ representada contra la menor presión capilar en diferentes tejidos. Reproducido de Levick and Michel (2010).

Experimentalmente, se ha podido establecer en modelo animal el balance entre fuerzas a favor y en contra de la filtración a través del endotelio capilar en diferentes tejidos (**Figura 7**).

Cuando la presión en el capilar es mayor que la suma de las fuerzas opuestas, se da una filtración neta de fluido, siendo esta la situación que se da en la mayoría de los tejidos (**Figura 7**). Sin embargo, en tejidos como la mucosa intestinal, en los vasos rectos ascendentes medulares o en los peritubulos del cortex renal se da un transporte neto de fluidos del espacio intersticial al espacio vascular (**Figura 7**).

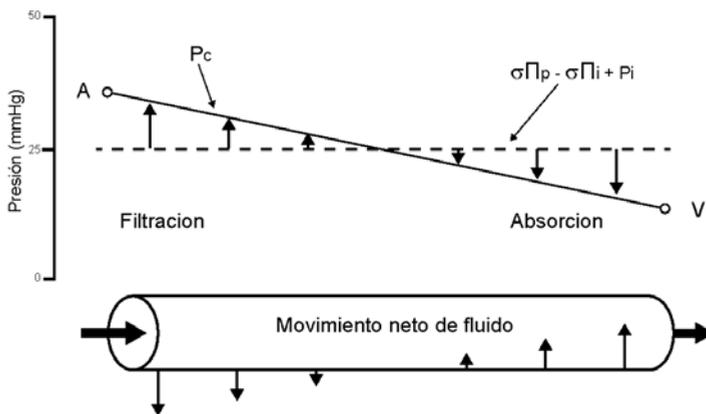


Figura 8. Modelo clásico de filtración-reabsorción. Las características del intersticio se consideran estables. En el extremo arterial del capilar se da una filtración neta mientras que en el extremo venoso una absorción neta. Adaptado de Levick and Michel (2010).

Según la visión clásica del modelo de Starling, el intersticio juega un papel menor y sus condiciones se mantienen constantes, mientras que la P_c disminuye a medida que la sangre avanza por el capilar del extremo arterial al venoso. Por

lo tanto, en la primera sección del capilar, cuando la P_c es mayor que la suma de fuerzas opuestas, según el modelo clásico, hay filtración. Sin embargo, cerca del extremo venoso, cuando la P_c cae por debajo de las fuerzas opuestas hay absorción de líquido desde el intersticio al espacio vascular (**Figura 8**).

Modelo glicocalix-poro

Durante los últimos años, diversos estudios han demostrado que el modelo de Starling no describe de forma precisa el transporte de fluidos a través de la membrana capilar en todos los tejidos y en todas las condiciones. Por ejemplo, (i) en los nódulos linfáticos el líquido intersticial es constantemente remplazado por una solución de baja concentración proteica, lo que permite una absorción constante (Reed and Rubin 2010); (ii) tanto P_i como Π_i cambian cuando cambia J_v ; (iii) el fluido en el intersticio cercano a la membrana capilar semipermeable tiene una composición y características diferentes a las del total del espacio intersticial (Levick and Michel 2010).

Bates y colaboradores investigaron los procesos de filtración de fluidos a través de la membrana capilar en la epidermis humana en regiones situadas a la altura del corazón (Bates et al. 1994). Midiendo de forma directa las fuerzas opuestas a la filtración, así como la P_c , pudieron demostrar que debido a la naturaleza subatmosférica de la P_i (-2 mmHg) y la apreciable

magnitud de la Π_i (15.7 mmHg) en ese tejido no se daba la reabsorción en los extremos venosos de los capilares (Bates et al. 1994). Posteriormente se ha comprobado que esta misma situación se da para una gran cantidad de tejidos, incluyendo el tejido muscular (Levick and Michel 2010). Por tanto, la composición y estructura del intersticio es un factor que influye de manera importante en los procesos de filtrado.

Clásicamente se considera el espacio intersticial como un espacio vacío, ocupado únicamente por un fluido homogéneo en su composición en cualquier punto anatómico. Bajo este paradigma, el intersticio actuaría como un espacio de almacenamiento del líquido filtrado por el capilar. Sin embargo, esta visión es incompleta. La estructura del intersticio es tal que permite en ciertos tejidos modificar dinámicamente la P_i y, de esta forma, influir en la filtración intersticial (Reed and Rubin 2010).

Por otra parte, el concepto de espacio intersticial es poco preciso, y por ello lo sustituiremos por matriz extracelular (MEC). Los vasos que irrigan un órgano están integrados en una estructura de tejido conectivo laxo, cuya abundancia y composición difiere de un órgano a otro. En condiciones patológicas como inflamación crónica o cáncer se puede alterar la composición de la MEC, lo que conduce a la acumulación de líquido en el órgano en cuestión, produciéndose lo que se conoce como edema.

La MEC está formada principalmente por 4 componentes o estructuras. En primer lugar, existe una red de colágeno fibroso que crea un andamiaje tridimensional donde están anclados los vasos sanguíneos así como las células parenquimales. En segundo lugar, existe un sistema fibroso de microfibrillas de elastina. En tercer lugar, posee una sustancia compuesta de proteoglicanos, que son glicosaminoglicanos (GAG) unidos covalentemente a proteínas, y GAG hialurónicos libres. Los GAGs interactúan con los componentes fibrosos de la MEC, pero pueden encontrarse también libres en el fluido intersticial. Finalmente, la MEC contiene fluido intersticial compuesto por proteínas (50-60% con respecto al plasma sanguíneo) y electrolitos (similar a la del plasma sanguíneo) (Reed and Rubin 2010).

Las estructuras que forman la MEC producen un gradiente de concentración de macromoléculas desde las regiones proximales de los vasos a las distales. Por otro lado, la membrana capilar se compone de una sola capa de células endoteliales recubiertas en la parte exterior por una membrana basal, teniendo toda la estructura un grosor de alrededor de 0.5 μm (Guyton and Hall 2006). El agua y las sustancias disueltas en ella atraviesan la membrana capilar por los espacios existentes entre los bordes de las células endoteliales próximas, denominados poros endoteliales. La superficie de las células endoteliales está recubierta de un glicocalix

semipermeable que cubre los poros intercelulares por donde se produce la filtración (Levick and Michel 2010). Este glicocalix establece el primer gradiente de Π a lo largo del espacio intersticial. El modelo glicocalix-poro establece que la Π que hay justo por debajo del glicocalix (Π_g) es la que condiciona el transporte de fluidos a través de la membrana capilar (Levick and Michel 2010). Según este modelo, en todos los puntos del capilar se produciría un proceso de filtración (**Figura 9**).

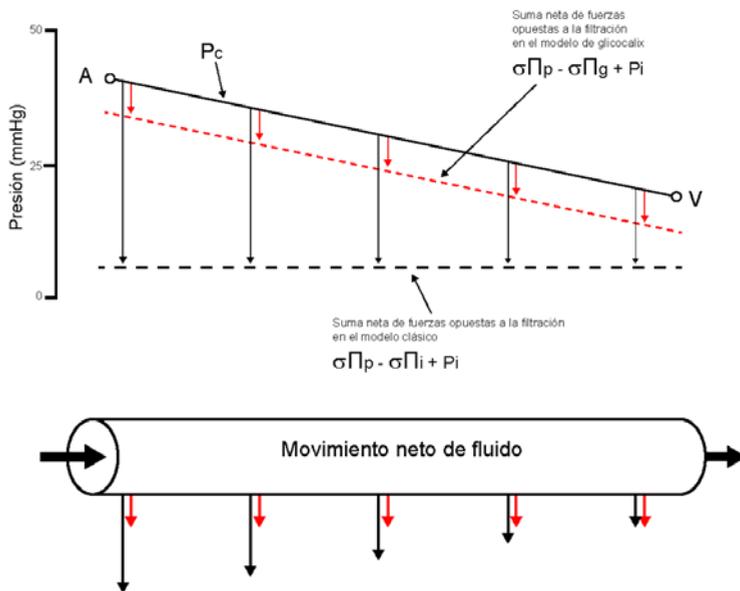


Figura 9. Proceso de filtración en el modelo glicocalix-hendidura. La filtración depende de Π_g (rojo). Adaptado de Levick and Michel (2010).

Filtración de fluidos a través de la membrana capilar en tejido muscular.

Tejido muscular en reposo

En el tejido muscular en reposo, la presión hidrostática en el extremo arterial de los capilares es superior a la presión en el intersticio, mientras que la presión osmótica en el intersticio es ligeramente superior (**Figura 10**).

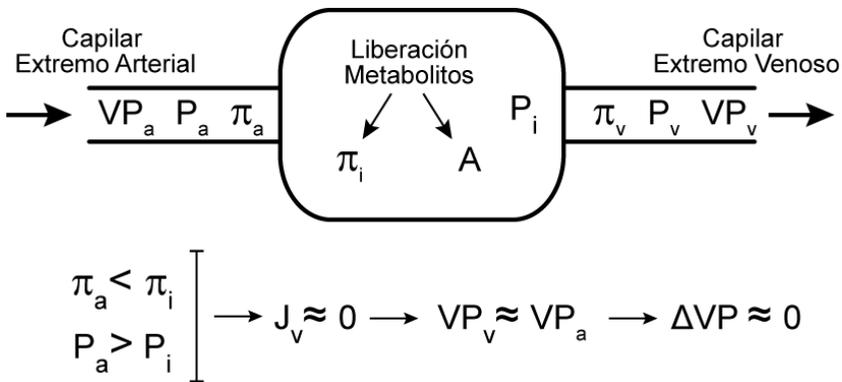


Figura 10. Factores que determinan el flujo a través de la membrana capilar en el tejido muscular en reposo. ΔVP , incremento de volumen plasmático desde el extremo arterial al venoso del capilar; A , superficie de intercambio; J_v , flujo neto a través de la membrana capilar; P_a , presión en el extremo capilar arterial; P_v , presión en el extremo capilar venoso; VP_a , volumen plasmático en el extremo capilar arterial; VP_v , volumen plasmático en el extremo capilar venoso; π_a , presión osmótica en el extremo capilar arterial; π_v , presión osmótica en el extremo capilar venoso.

Por tanto, se dará un flujo neto de líquido desde el espacio vascular hacia el intersticio, aunque probablemente éste sea de baja magnitud. Por ejemplo, la pérdida de VP de la arteria a la vena femoral en reposo es de aproximadamente un 2 %

(McKenna et al. 1997), mientras que determinada desde la arteria a la vena antecubital es de aproximadamente un 1.2 % (McKelvie et al. 1992).

Tejido muscular en contracción

Durante el ejercicio, el efecto de hemoconcentración al atravesar el tejido es mucho más elevado. Por ejemplo, la pérdida de VP de la arteria a la vena femoral durante un esfuerzo máximo en cicloergómetro es de aproximadamente un 14.2 % (McKenna et al. 1997).

Cuando el tejido muscular está en contracción se induce un aumento de la producción de metabolitos en las fibras musculares, aumentando por tanto la osmolaridad del fluido intersticial que las rodea (Sjogaard 1983). Se ha propuesto que este incremento osmolar aumenta la migración neta de agua desde el espacio intravascular al intersticial (Sjogaard and Saltin 1982). Al mismo tiempo, se produce un aumento del flujo sanguíneo a la musculatura para suplir las demandas metabólicas del tejido muscular en contracción (Joyner and Wilkins 2007). De hecho, la liberación de metabolitos en el tejido muscular en contracción puede causar una vasodilatación local de hasta 20 veces los valores observados en reposo (Sarelius and Pohl 2010). Esto tiene un impacto directo, aumentando el producto $L_p \cdot A$, ya que se incrementa el número de capilares perfundidos, y por tanto, incrementará el

área disponible para el intercambio, lo que se añade a la reducción del VP (**Figura 11**). Otro efecto sistémico que contribuye a incrementar la reducción del VP en el tejido muscular durante el ejercicio es el aumento del GC, y por tanto, de la presión hidrostática en el extremo capilar arterial. Es por ello por lo que aumentará la filtración de agua al espacio intersticial, reduciendo por ende el VP (**Figura 11**).

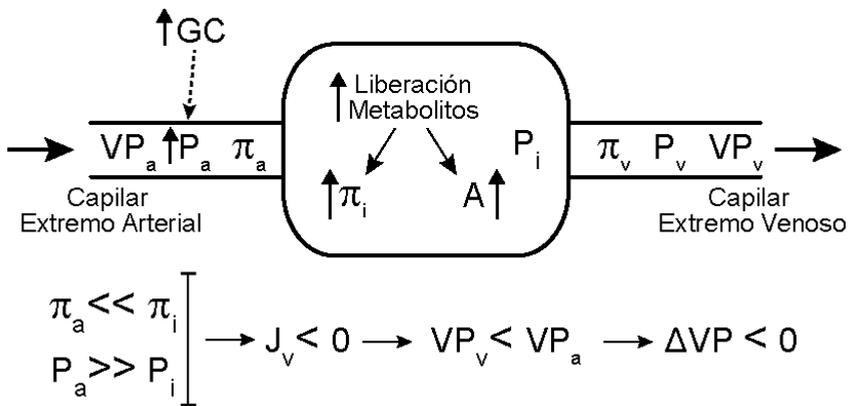


Figura 11. Factores que determinan el flujo a través de la membrana capilar en el tejido muscular en contracción. ΔVP , incremento de volumen plasmático desde el extremo arterial al venoso del capilar; A , superficie de intercambio; J_v , flujo neto a través de la membrana capilar; P_a , presión en el extremo capilar arterial; P_v , presión en el extremo capilar venoso; VP_a , volumen plasmático en el extremo capilar arterial; VP_v , volumen plasmático en el extremo capilar venoso; π_a , presión osmótica en el extremo capilar arterial; π_v , presión osmótica en el extremo capilar venoso.

Viscosidad plasmática

El plasma es la fase líquida donde se suspende los elementos celulares de la sangre. Un cambio en la viscosidad del plasma afecta la viscosidad sanguínea independientemente de las propiedades reológicas celulares y el hematocrito (Baskurt and

Meiselman 2003). El plasma es un fluido newtoniano, su comportamiento es independiente de las características del flujo. Los valores normales de viscosidad plasmática (VPlasm) a 37°C se sitúa entre los 1.10 y 1.30 mPa·s (en viscosímetros capilares) independientemente de la edad y el género (Késmárky et al. 2008).

El plasma es una solución altamente concentrada en proteínas que interaccionan débilmente. La concentración de estas proteínas está directamente relacionada con la VPlasm (Késmárky et al. 2008). Los procesos inflamatorios o los daños en tejidos incrementan el contenido de proteínas en el plasma y por tanto su viscosidad. El efecto que tienen las proteínas sobre la viscosidad depende de su peso molecular, forma, concentración e interacción con el solvente (Reinhart 2001). Las moléculas asimétricas, las de mayor peso molecular y capacidad de agregación tienen un importante efecto en la VPlasm (Késmárky et al. 2008). El fibrinógeno e inmunoglobulinas son las proteínas que tienen una mayor influencia en la fluidez del plasma por su tamaño, irregularidad y capacidad hidrófila (Reinhart 2001). Las albuminas, aunque son proteínas esféricas y de pequeño tamaño, tienen importancia debido a la gran concentración en plasma de ellas (Reinhart 2001). Durante la fase aguda de procesos inflamatorios la concentración de fibrinógeno aumenta, influyendo en la VPlasm y por tanto en la sanguínea total

(Kwaan 2010). Las lipoproteínas de baja densidad afectan la VPlasm positivamente mientras que las lipoproteínas de alta densidad los hacen negativamente (Gregory and Donald 1998).

Efectos del ejercicio sobre la viscosidad plasmática

La VPlasm aumenta durante el ejercicio (Brun et al. 2010). Se han propuesto dos mecanismos para explicar el aumento de la VPlasm con el ejercicio: 1) una disminución del volumen del plasma que conlleva una concentración de las proteínas en éste y 2) un aumento en los niveles de proteínas en el plasma; que pueden actuar de manera conjunta (Brun et al. 2010).

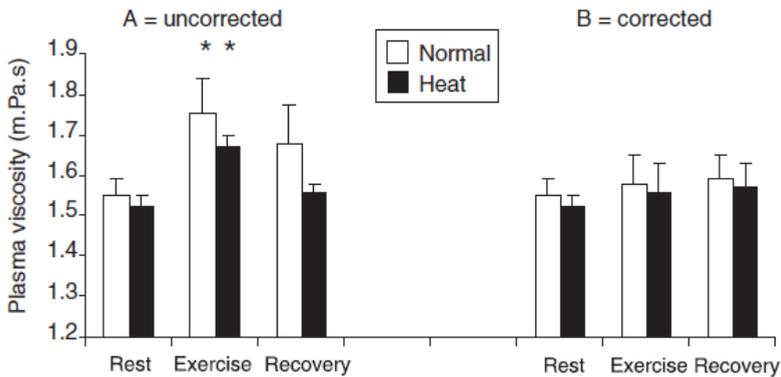


Figura 12. Efecto del ejercicio en diferentes condiciones de temperatura en la viscosidad plasmática, sin corregir (A) y corregida (B) por la pérdida de volumen plasmático.* $p < 0.05$ vs pre-ejercicio. Reproducido de El-Sayed et al. (2010)

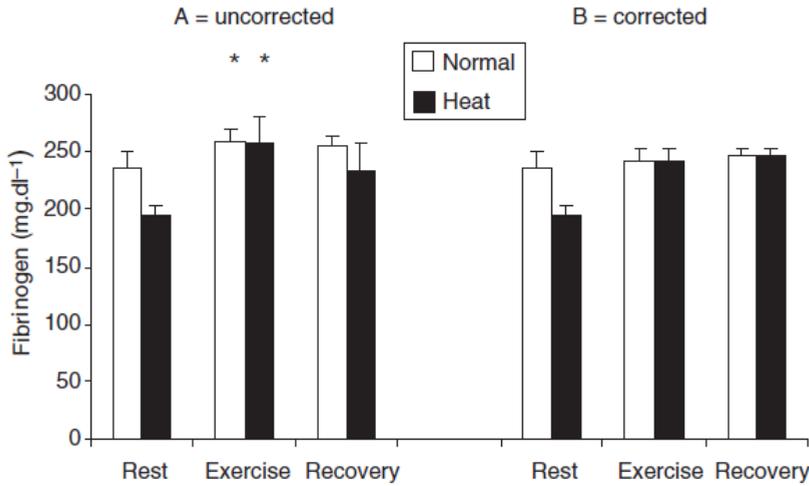


Figura 13. Efecto del ejercicio en diferentes condiciones de temperatura en los niveles de fibrinógeno, sin corregir (A) y corregidos (B) por la pérdida de volumen plasmático. * $p < 0.05$ vs pre-ejercicio. Reproducido de El-Sayed et al. (2010)

Un estudio comparó la respuesta hemorreológica en la mañana y en la tarde de 10 sujetos jóvenes a 45 minutos de carrera en tapiz rodante al 65% de consumo máximo de oxígeno ($VO_2\text{max}$) (Ahmadizad and Bassami 2010). En ambos casos se encontró un aumento de la $V\text{Plasm}$ así como de los niveles de fibrinógeno y de proteínas totales. En un estudio que comparaba el efecto de la temperatura ambiente en la reología sanguínea como respuesta a 45 minutos de carrera en tapiz rodante al 65 % de $VO_2\text{max}$ (El-Sayed et al. 2010), se encontró un aumento de los niveles de $V\text{Plasm}$ y de fibrinógeno. Pero cuando estos datos fueron corregidos por el volumen de plasma perdido, no se encontraron cambios significativos tanto en fibrinógeno como en $V\text{Plasm}$ (**Figura 12** y **Figura 13**).

Estos resultados indican que al efecto de la concentración del plasma por la pérdida de volumen como la causa del aumento de la VPlasm durante el ejercicio.

Regulación del volumen plasmático durante el ejercicio físico

Un importante número de estudios han demostrado que la exposición a diferentes condiciones ambientales y fisiológicas producen un efecto considerable sobre el intercambio transvascular de fluido a lo largo de los capilares y, por lo tanto, en la regulación del VP (ΔVP). El ejercicio se ha asociado con trastornos iónicos sanguíneos y musculares que se deben, en parte, a una redistribución de agua e iones entre los compartimentos de fluidos corporales (Kargotich et al. 1998).

El VP es importante para ayudar a regular los sistemas cardiovascular y de termorregulación durante el ejercicio y en particular con el estrés asociado a la exposición al calor (Sawka and Coyle 1999). Los déficits de agua corporal (hipohidratación) disminuirán el volumen extracelular (Costill and Fink 1974; Durkot et al. 1986) y su subcompartimento, el VP, proporcionalmente (Cheuvront et al. 2010; Sawka and Coyle 1999). Durante el ejercicio de tipo aeróbico, el VP cambiará en mayor o menor medida (aumentará o disminuirá) dependiendo del tipo de ejercicio y de la intensidad (Miles et al. 1983), de la postura (Hagan et al. 1978), de una temperatura

ambiente elevada (Edwards et al. 1983), y posiblemente, de cambios en estado de hidratación (Sawka et al. 1984; Zappe et al. 1993).

Las fuerzas de Starling responsables de los cambios en el VP durante el ejercicio son las presiones hidrostática y oncótica (Sawka 1988). Las fuerzas hidrostáticas incluyen el efecto de los cambios en la PA como en las resistencias precapilar y postcapilar (Sawka 1988). La dilatación de los vasos de resistencia cutáneos se ha postulado como la causa de reducción de la resistencia precapilar a la postcapilar, lo cual facilita una filtración neta (Sawka 1988); por lo tanto el flujo sanguíneo cutáneo elevado puede facilitar la pérdida de proteínas plasmáticas (Edwards et al. 1983). La presión oncótica está directamente relacionada a la concentración circulante de PT (Scatchard 1946), que puede ser alterada tanto por intercambio proteico entre los espacios vascular e intersticial como por una incremento en la síntesis o en la proteólisis.

Los cambios producidos en el VP son un factor importante que contribuye a la variabilidad de muchos parámetros sanguíneos, teniendo una especial relevancia en deportistas, que pueden sufrir una deshidratación intensa, especialmente cuando realizan ejercicio físico extenuante bajo condiciones ambientales extremas (Sawka et al. 2000; Lippi et al. 2004; Lippi et al. 2002; Lippi et al. 2005a; Lippi et al. 2005b; Lippi et

al. 2006; Sanchis-Gomar and Lippi 2012). De hecho, se han descrito aumentos o disminuciones en el VP en función del tipo de entrenamiento/ejercicio que se realiza (Sanchis-Gomar and Lippi 2014):

- (a) Hemoconcentración o disminución del VP: una deshidratación o hipohidratación transitoria inducida por el ejercicio puede producir una reducción en el VP con la consiguiente hemoconcentración. Se asocia comúnmente con ejercicio agudo y en función a condiciones ambientales, humedad, reducción en la ingesta de fluidos, intensidad del ejercicio, etc... (Sawka and Montain 2000).
- (b) Hemodilución o incremento del VP: la volemia es mayor en sujetos entrenados que en sedentarios. Esta mayor volemia es consecuencia del entrenamiento y se debe principalmente a un incremento del VP (expansión plasmática) y del volumen eritrocitario (McArdle et al. 2000; Sawka et al. 2000).

La bipedestación conduce a una rápida acumulación de sangre en las extremidades inferiores y desplaza el plasma de los tejidos circundantes, disminuyendo la PAM, resultando en una disminución del VP ($\Delta PV < 0$). En este sentido, pasar de la sedestación a la bipedestación resulta en una hemoconcentración apreciable ($\Delta PV -13\%$ tras 14 minutos) así

como en una disminución de la PAS a pesar de la elevación que se produce en la FC y en los niveles de catecolaminas circulantes (Jacob et al. 1998). La aplicación de presión negativa en el tren inferior del cuerpo induce efectos similares (Lundvall et al. 1993).

En el músculo esquelético en reposo hay un flujo neto de agua desde los capilares al espacio intersticial debido a un leve aumento de la osmolaridad tisular y del gradiente de presión negativa. Esto resulta en una disminución del VP, con la consiguiente hemoconcentración. Sin embargo, esta pérdida local de VP es compensada por otros mecanismos, estabilizando de este modo el VP sistémico en condiciones de reposo.

Como hemos introducido anteriormente, un importante número de estudios han investigado los efectos sistémicos del ejercicio sobre el VP (**Tabla 5**). La gran mayoría de estos estudios han demostrado una disminución del VP tras el ejercicio, independientemente del tipo de ejercicio, intensidad o duración.

Tabla 5. Estudios que evalúan los efectos del ejercicio sobre el VP.

| Ref | N | Tipo de ejercicio | Intensidad | Duración | Δ VP (%) |
|-------------------------|---|-----------------------------|-------------|-------------------|-----------------|
| van Beaumont (1973) | | | | | |
| | 6 | Ciclismo | Incremental | Hasta extenuación | -13 a -15 |
| Costill and Fink (1974) | | | | | |
| | 6 | Deshidratación- Ciclismo | | 120' | -16 a -18 |
| Greenleaf et al. (1977) | | | | | |

| | | | | |
|--------------------------|--------------------|-----------------|-------------------|-------|
| 6 | Ciclismo | 23% VO_{2max} | 60' | -3.4 |
| 6 | Ciclismo | 43% VO_{2max} | 60' | -4.5 |
| 6 | Ciclismo | 62% VO_{2max} | 60' | -14.4 |
| Greenleaf et al. (1979) | | | | |
| 4 | Ciclismo (sentado) | Incremental | Hasta extenuación | -16.1 |
| 4 | Ciclismo (supino) | Incremental | Hasta extenuación | -17.6 |
| Convertino et al. (1981) | | | | |
| 15 | Ciclismo | 100 W | | -3.7 |
| 15 | Ciclismo | 175 W | | -8.8 |
| 15 | Ciclismo | 225 W | | -12.4 |
| Collins et al. (1989) | | | | |
| 15 | Fuerza | 40% 1-RM | 3x[4x10 30" rest] | -7.7 |
| 15 | Fuerza | 50% 1-RM | 3x[4x10 30" rest] | -10.7 |
| 15 | Fuerza | 60% 1-RM | 3x[4x10 30" rest] | -12.1 |
| 15 | Fuerza | 70% 1-RM | 3x[4x10 30" rest] | -13.9 |
| Mannix et al. (1990) | | | | |
| 10 | Ciclismo | Incremental | Hasta extenuación | -12.9 |
| Gore et al. (1992) | | | | |
| 10 | Carrera a pie | 65% VO_{2max} | 60' | -6.5 |
| 10 | Ciclismo | 65% VO_{2max} | 60' | -6.5 |
| Ploutz et al. (1993) | | | | |
| 8 | Fuerza | Hasta el fallo | | -20.0 |
| Brun (1994) | | | | |
| 12 | Ciclismo | 55% HR_{max} | 60' | -4.0 |
| Hebestreit et al. (1996) | | | | |
| 5 | Ciclismo | 'All out' | 30" | -16.9 |
| Berthoin et al. (2003) | | | | |
| 8 | Ciclismo | Incremental | Hasta extenuación | -18.7 |
| 8 | Ciclismo | 120% MAP | Hasta extenuación | -16.9 |
| Bocqueraz et al. (2004) | | | | |
| 13 | Ciclismo normoxia | 55% MAP | 60' | -4.0 |

| | | | | |
|------------------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|-------|
| 13 | Ciclismo normoxia | 75% MAP | 60' | -6.1 |
| 13 | Ciclismo hipoxia | 55% MAP | 60' | -2.5 |
| 13 | Ciclismo hipoxia | 75% MAP | 60' | -6.8 |
| Galy et al. (2005) | | | | |
| 10 | Carrera a pie | 75% VO _{2max} | 20' | -3.7 |
| 10 | Ciclismo | 75% VO _{2max} | 20' | -8.5 |
| Ahmadizad et al. (2006) | | | | |
| 11 | Fuerza | 80% 1RM | 3x[5exer x 6 rep] | -10.4 |
| 11 | Fuerza | 80% 1RM | 3x[5exer x 6 rep] | -7.5 |
| Retallick et al. (2007) | | | | |
| 18 | Ciclismo | 953W PPO | 30'' | -12.0 |
| Hew-Butler et al. (2008a) | | | | |
| 78 | Carrera a pie | | 256' (56 km) | -8.5 |
| Hew-Butler et al. (2008b) | | | | |
| 7 | Carrera a pie | Incremental | Hasta extenuación | -11.0 |
| 7 | Carrera a pie | 60% VO _{2max} | 60' | -9.0 |
| 7 | Carrera a pie | | 359' (56 km) | -8.0 |
| Hew-Butler et al. (2010) | | | | |
| 34 | Ciclismo | | 295'(109 km) | -5.0 |
| El-Sayed et al. (2010) | | | | |
| | Ciclismo a 20°C | 60% VO _{2max} | 45' | -12.0 |
| | Ciclismo a 36°C | 60% VO _{2max} | 45' | -12.0 |
| Ahmadizad and Bassami (2010) | | | | |
| 10 | Carrera a pie (mañana) | 65% VO _{2pico} | 45' | -5.6 |
| 10 | Carrera a pie (tarde) | 65% VO _{2pico} | 45' | -5.2 |
| El-Sayed et al. (2011) | | | | |
| 13 | Carrera a pie | 70% VO _{2max} | 30' | -12.9 |
| 13 | Ciclismo | 70% VO _{2max} | 30' | -10.0 |
| Bloomer and Farney (2013) | | | | |
| 12 | Ciclismo | 70% HR _{res} | 60' | -11.0 |
| 12 | Ciclismo | 100% W _{max} | 5 x 1' | -19.0 |

| | | | | |
|-------------------------------|--------------------------------|-----------------|-------------------|-------|
| 12 | Ciclismo | 200% W_{max} | 10 x 15'' | -19.0 |
| Ben Abderrahman et al. (2013) | | | | |
| 15 | Carrera a pie | Incremental | Hasta extenuación | -7 |
| Romagnoli et al. (2014) | | | | |
| 10 | Ciclismo | 70% HR_{max} | 60' | -5.6 |
| Mora-Rodriguez et al. (2014) | | | | |
| 9 | Ciclismo deshidratación | 55% VO_{2max} | 150' | -18.4 |
| Alis et al. (2014b) | | | | |
| 25 | Carrera a pie | Incremental | Hasta extenuación | -12.4 |
| Alis et al. (2014c) | | | | |
| 14 | Carrera a pie | 110% AT | 15' | -10.0 |
| Atanasovska et al. (2014) | | | | |
| | Remo | 326 W | 7.3' (2000 m) | -9.7 |
| Kenefick et al. (2014) | | | | |
| 32 | Ciclismo a 10°C normohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -0.5 |
| 32 | Ciclismo a 20°C normohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -4.3 |
| 32 | Ciclismo a 30°C normohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -5.2 |
| 32 | Ciclismo a 40°C normohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -8.3 |
| 32 | Ciclismo a 10°C hipohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -3.0 |
| 32 | Ciclismo a 20°C hipohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -4.0 |
| 32 | Ciclismo a 30°C hipohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -8.0 |
| 32 | Ciclismo a 40°C hipohidratado | 50% VO_{2max} | 30' | -8.2 |
| Tsampoukos et al. (2014) | | | | |
| 8 | Carrera a pie | Sprint | 30'' | -17.7 |

VO_{2max} : consumo máximo de O_2 . MAP: potencia máxima aeróbica. PPO: potencia pico. HRres: frecuencia cardíaca reserva. W_{max} : potencia máxima. AT: umbral anaeróbico. 1RM: una repetición máxima.

Así pues, la magnitud de la disminución del VP parece ser mayor cuando el ejercicio es más intenso (Bloomer and Farney

2013; Convertino et al. 1981; Greenleaf et al. 1977; Collins et al. 1989). En referencia al tipo de ejercicio, se ha observado una mayor contracción del VP en la carrera a pie frente a ciclismo a intensidades de ejercicio relativas similares (Galy et al. 2005; El-Sayed et al. 2011). Sin embargo, el efecto de cambios posturales antes del ejercicio tiene que ser cuidadosamente considerado ya que se ha mostrado que pueden tener efectos importantes en la estimación de los cambios en el VP inducidos por el ejercicio (Tsampoukos et al. 2014; Gore et al. 1992; El-Sayed et al. 2011). Contrario a ello, Greenleaf y colaboradores probaron que el efecto neto del ejercicio es independiente de la postura corporal (Greenleaf et al. 1979). El ejercicio de larga duración parece provocar reducciones en el VP medio, aunque existe una elevada variabilidad interindividual (Hew-Butler et al. 2010; Hew-Butler et al. 2007), probablemente debida a la ingesta de fluidos durante el evento. De hecho, se ha demostrado que la hidratación durante la práctica de ejercicio previene las reducciones en el VP (Ahmadizad et al. 2006; Kenefick et al. 2014).

Todos los estudios incluidos en la tabla anterior (**Tabla 5**) han investigado los efectos del ejercicio sobre el VP. Normalmente, antes y después de la intervención experimental (ejercicio) se extrae una muestra sanguínea de la vena antecubital y la variación del VP se calcula de manera estimada mediante una

ecuación en la que se incluyen las variaciones en el hematocrito (Hto) y en la hemoglobina (Hb) (Dill and Costill 1974), o por otros métodos como tiñendo la dilución, por los niveles de albúmina o de PT, o cambios en el Hto o en el calcio total (Alis et al. 2014c).

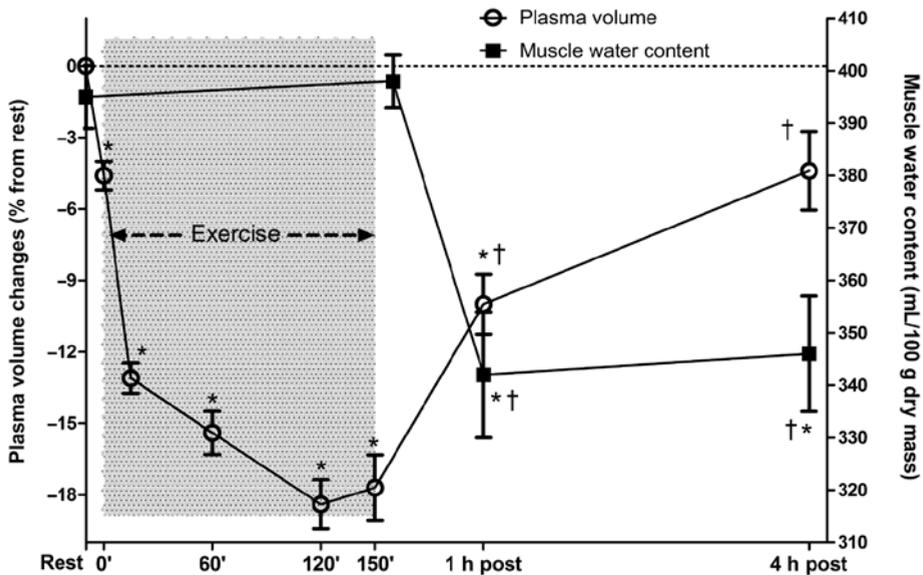


Figura 14. VP y contenido de agua en el músculo vasto lateral durante y después de 150 minutos de ciclismo al 65% del VO_2 max. Reproducido de Mora-Rodriguez et al. (2014).

El proceso de filtración en el tejido muscular durante el ejercicio es poco conocido. Durante la contracción intensa, el contenido de agua en el tejido músculo-esquelético aumenta (Sjogaard and Saltin 1982). Mora-Rodriguez y colaboradores han mostrado recientemente que durante la práctica de ciclismo durante 150 minutos a un 65 % del VO_2 max en un ambiente caluroso (4.7 % de pérdida de masa corporal) el agua total en

el músculo vasto lateral se mantiene constante, mientras que observaron una disminución en el VP de un -18.4 % en muestras venosas obtenidas de la vena antecubital (Mora-Rodriguez et al. 2014) (**Figura 14**). Estos datos muestran que el contenido de agua en el tejido muscular en contracción se mantiene durante el ejercicio, mientras que la pérdida de líquidos, principalmente a través de la sudoración, explica las reducciones en el VP.

Estos mismos autores también mostraron que, tras 1 hora de recuperación, el contenido de agua muscular disminuye mientras que el VP aumenta, aumentando la osmolaridad muscular (Mora-Rodriguez et al. 2014). Estos datos implican que, durante la recuperación tras una deshidratación inducida por el ejercicio, el contenido de agua en el tejido muscular migra al espacio intravascular para recuperar el volumen sanguíneo, probablemente debido al GC y a una disminución asociada de la P_c . Dado que la osmolaridad muscular (y por lo tanto π_{if}) todavía se encuentra elevada en el periodo de recuperación, la P_c y/o la A parecen ser los principales determinantes del flujo neto de agua durante el ejercicio en el tejido muscular en contracción.

En modelos de ejercicio de menor duración y mayor intensidad, en los que las pérdidas netas de flujos corporales son más reducidas, también se observan mayores reducciones del VP (Alis et al. 2014b; van Beaumont 1973; Bloomer and Farney

2013; Retallick et al. 2007). Por ejemplo, McKenna y colaboradores observaron una importante filtración neta de agua en el tejido muscular tras 30 segundos de ejercicio isocinético máximo (ΔVP -14.2 % [entre arteria y vena femoral]) (McKenna et al. 1997). En este mismo estudio, los autores observaron que el impacto del ejercicio sobre ΔVP analizado en las muestras venosas obtenidas en la femoral fue muy similar (ΔVP -14.8 %). Sin embargo, es improbable que dicha reducción del VP en otros músculos con menos implicación en este tipo de ejercicio fuese de la misma magnitud. De hecho, tras varias series de extensión de piernas, el ΔVP de sangre arterial a venosa obtenida del brazo fue de alrededor del -2 % (McKelvie et al. 1992). En este sentido, Costill y colaboradores no encontraron cambios en el contenido de agua y electrolitos en el músculo deltoides durante la práctica de ciclismo (Costill et al. 1981).

Nuestro grupo ha llevado a cabo un estudio piloto en un solo sujeto al cual se le extrajeron muestras sanguíneas de la arteria radial y de la vena cubital antes y después de un ejercicio de carrera a pie (prueba incremental máxima hasta la extenuación realizada en tapiz) (**Figura 15**). Las muestras sanguíneas fueron mantenidas en hielo hasta que el Hto y la Hb fueron determinadas en un analizador hematológico automático. El ΔVP fue calculado por la ecuación de Dill & Costill, donde los cambios de Hto y Hb entre las muestras

arterial y venosa obtenidas previa ($\Delta PV(\text{art-ven})_{\text{pre}}$) y posteriormente al ejercicio ($\Delta PV(\text{art-ven})_{\text{post}}$), y entre las muestras arteriales ($\Delta PV(\text{pre-post})_{\text{art}}$) y venosas de antes y después ($\Delta PV(\text{pre-post})_{\text{ven}}$) (**Figura 15**).

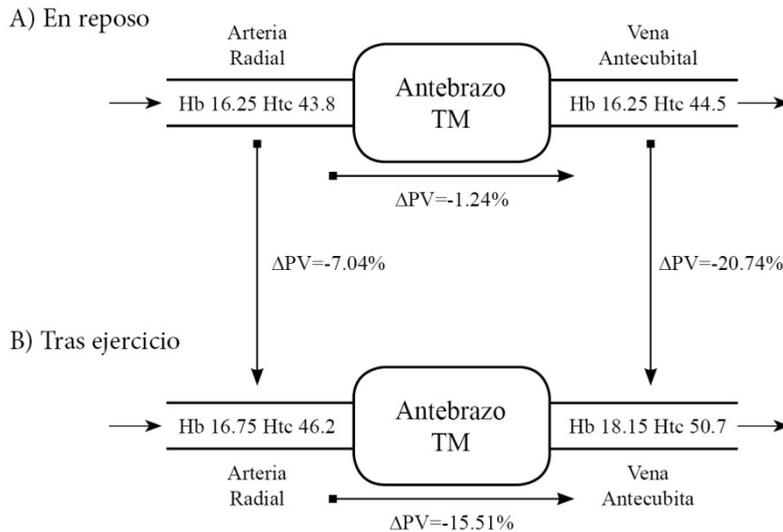


Figura 15. Valores de hemoglobina (Hb) y hematocrito (Htc) en sangre arterial (radial) y venosa (antecubital) antes (A) y después (B) de una prueba incremental máxima hasta la extenuación realizada en tapiz (n=1). Cambios en el volumen plasmático (ΔPV) entre sangre arterial y venosa y entre antes y después de la prueba.

Estos resultados preliminares muestran una importante filtración neta de agua cuando la sangre pasa a través del tejido musculoesquelético del antebrazo ($\Delta PV(\text{art-ven})_{\text{post}} - 15.51\%$), que es activado durante el ejercicio, aunque la contracción muscular no sea intensa. El efecto del ejercicio en la evolución del VP determinado en sangre venosa fue mayor ($\Delta PV(\text{pre-post})_{\text{ven}} -20.47\%$). Sin embargo, el impacto del

ejercicio en la reducción del VP en la circulación arterial es mucho más reducido ($\Delta PV(\text{pre-post})_{\text{art}} -7.04 \%$), en acuerdo con los resultados obtenidos por McKenna y colaboradores (McKenna et al. 1997). El VP total antes del ejercicio para el sujeto en cuestión estimado por la masa corporal total (Sawka et al. 1992) fue de 3475 mL. Por lo tanto, la pérdida de VP después del ejercicio en la circulación arterial fue de 244 mL, que está muy cerca de la pérdida corporal media obtenida en una prueba incremental en tapiz (300 g) (Alis et al. 2014a). Esto significa que, durante la circulación sistémica, una parte de las pérdidas de cuando la sangre pasa a través del músculo en contracción es reemplazada, probablemente por agua facilitada por la circulación linfática. Así pues, la estimación de los efectos del ejercicio físico intenso sobre el VP determinado en muestras de sangre venosa está sesgada por el grado de filtración de agua en los tejidos en los que se recoge la muestra de sangre venosa. De hecho, estos resultados muestran que una prueba incremental hasta la extenuación produce una mayor pérdida de VP (378 mL) que la actual pérdida de masa corporal (300 g; $z=-2.73$, $p=0.006$) (Alis et al. 2014a). El ΔVP determinado en muestras arteriales puede ser más fiable ya que explicaría el reemplazamiento de VP en la circulación sistémica, probablemente por un mayor flujo linfático desde los músculos hasta el hígado durante el ejercicio (**Figura 16**).

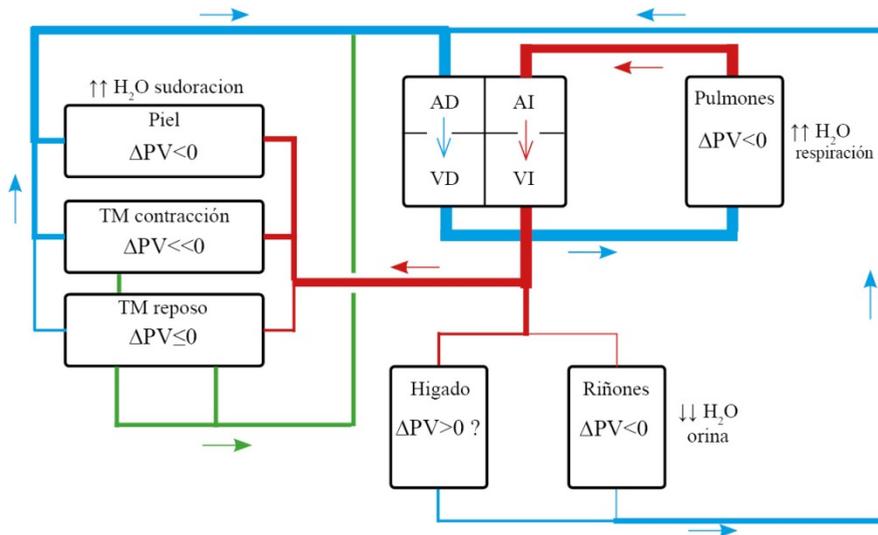


Figura 16. Intercambio de agua en la circulación sistémica y periférica durante el ejercicio. ΔPV : cambio en el volumen plasmático. TM: tejido músculo-esquelético. AI: auricular izquierda. VI: ventrículo izquierdo. AD: auricular derecha. VD: ventrículo derecho. Las líneas rojas y azules representan sangre arterial y venosa, respectivamente. Las líneas verdes representan la circulación linfática.

Ya que el músculo-esquelético representa la mayor parte de agua intracelular (Bhave and Neilson 2011), el tejido muscular que no está en contracción podría actuar también como reservorio de agua para compensar la reducción del VP en el músculo-esquelético ejercitado. En el tejido muscular que no está en contracción, el flujo sanguíneo se mantiene estable, mientras que la osmolaridad del plasma circulante aumenta debido al incremento en la concentración de metabolitos producidos por el tejido músculo-esquelético en contracción. Estos factores podrían determinar el flujo neto de agua desde

el fluido intersticial al espacio intravascular, resultando en un aumento en el VP.

Aunque este estudio, diseñado para demostrar la hipótesis de que el VP podría aumentar cuando la sangre pasa a través del músculo-esquelético que no está en contracción durante el ejercicio, no ha sido todavía publicado, existen otros datos ya publicados que apoyarían esta hipótesis. Durante la práctica de ejercicio intermitente de piernas, las concentraciones de lactato, K^+ , Cl^- y Na^+ , en sangre arterial braquial es mayor que en la sangre venosa antecubital (Lindinger et al. 1990). Resultados similares fueron obtenidos por McKelvie y colaboradores en los mismos vasos durante ejercicio isocinético en bicicleta (McKelvie et al. 1992). Esto podría ser debido a que las concentraciones de iones intersticiales son más bajas que las concentraciones plasmáticas en los capilares. Este factor estaría a favor de un flujo de agua hacia el espacio intravascular. Sin embargo en este último estudio, un $\Delta VP < 0$ fue observado tras el ejercicio. Ya que el flujo neto de agua depende también de la P_c , el aumento en la PA durante el ejercicio podría aumentar el flujo neto de agua al espacio intersticial frente a las diferencias en la presión osmótica. Finalmente, no cabe duda que para realizar una interpretación correcta de estos resultados sería deseable identificar el efecto de cada factor (A , P_c , π_{if}) que aumenta la pérdida de VP a través del músculo-esquelético.

Adaptación cardíaca a los cambios del volumen plasmático inducido por el ejercicio físico

En reposo, el 40% del volumen sanguíneo se encuentra principalmente en venas de pequeño calibre de la circulación sistémica. Durante el ejercicio, el sistema respiratorio se adapta para incrementar la captación de oxígeno. Durante la realización de ejercicio, los tejidos llegan a necesitar hasta 500 veces más de la cantidad de oxígeno de la que utilizan en reposo. Este aumento se logra gracias a diferentes medidas adaptativas que se esquematizan en la **Figura 17**. Por lo tanto, la capacidad máxima de ejercicio viene fundamentalmente determinada por el aporte de oxígeno a los tejidos y por el grado de adaptación intrínseca del sistema musculoesquelético.

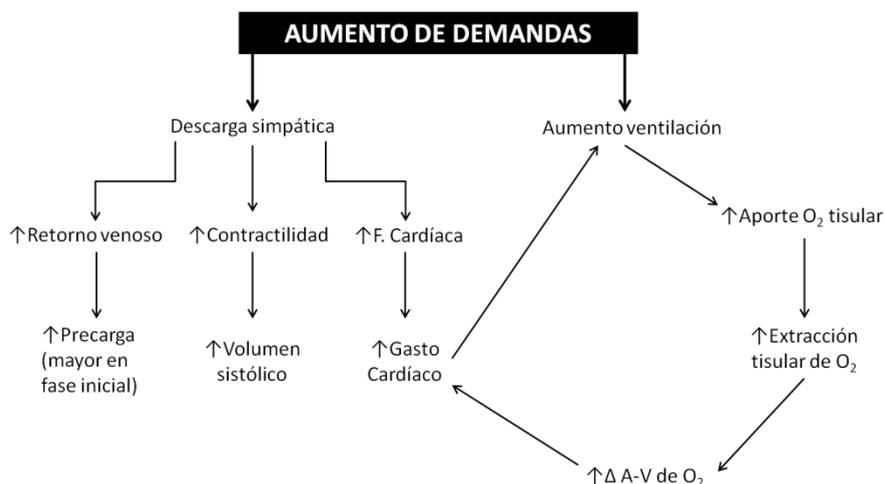


Figura 17. Esquema de adaptabilidad cardíaca a los cambios del VP inducidos por el ejercicio físico.

En resumen (McArdle et al. 2014):

- Se produce un aumento del GC al aumentar la FC y el volumen sistólico (VS), aumentando la PA (fundamentalmente la sistólica). El GC puede llegar desde los 4-5 lpm hasta 30-35 lpm.
- Mediante un incremento de la ventilación minuto se consigue un aumento de la cantidad de oxígeno que llega a los pulmones, acompañado de un aumento en la capacitancia del lecho pulmonar.
- Aumenta el oxígeno que llega a las células musculares debido a una vasodilatación local, disminuyendo las resistencias periféricas (es por ello por lo que no se incrementen significativamente los valores de PA diastólica), y al aumento de la extracción de oxígeno producido por cambios en la curva de disociación de la Hb, desplazada a la derecha durante el ejercicio.
- Aumenta la cantidad de sangre dirigida hacia la piel. Esto redundaría en una mayor capacidad para disipar la energía que se transforma en calor durante el ejercicio físico.

Una de las razones más importantes por la que un deportista entrenado aumenta la capacidad de ejercicio es por el incremento en la capacidad para utilizar el metabolismo

oxidativo hasta etapas más tardías, lo que frena la producción de lactato y la acidosis tisular (McArdle et al. 2014).

El entrenamiento también induce una hipertrofia cardíaca que facilita la consecución de gastos cardíacos mayores durante el ejercicio y permite que en reposo puedan mantenerse gastos cardíacos normales con FC más baja. De la misma forma, la bradicardia en reposo permite un mayor incremento del GC al taquicardizar con el ejercicio, existiendo pues una mayor "reserva" en el incremento de la FC (principal factor para aumentar el GC con el ejercicio) (McArdle et al. 2014).

Hay que subrayar que una contracción muscular tónica sostenida (ejercicios de fuerza) produce un efecto predominantemente vasoconstrictor simpático, aumentando considerablemente la PA. En el ejercicio aeróbico (p.e. natación o ciclismo), sin embargo, predomina el efecto vasodilatador de la acción muscular generalizada continuada y no intensa.

Efectos crónicos del ejercicio relevantes para la regulación del volumen plasmático

Angiogénesis y ejercicio físico

El sistema vascular es responsable del aporte de nutrientes y oxígeno al organismo. La formación *de novo* de vasos

sanguíneos o neovascularización se divide en dos componentes principales: la vasculogénesis y la angiogénesis. La vasculogénesis es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir del hemangioblasto que se diferencian en células sanguíneas y células maduras endoteliales (Roskoski 2007), mientras que la angiogénesis es el proceso de formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de redes vasculares preexistentes por crecimiento capilar. La angiogénesis es responsable de la remodelación y ampliación del plexo vascular primitivo proveniente de la vasculogénesis. El factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) es imprescindible para un correcto desarrollo tanto de la vasculogénesis como de la angiogénesis (Roskoski 2007; Hall et al. 2006).

La activación del programa angiogénico se produce cuando hay un desplazamiento del equilibrio fundamental entre factores pro-angiogénicos e inhibidores de la angiogénesis a favor de los primeros. Las células regulan al alza factores pro-angiogénicos en respuesta a: estrés metabólico (hipoxia, disminución del pH e hipocalcemia), estrés físico (presión), inflamación y activación de oncogenes (Carmeliet and Jain 2000). Entre ellos, la hipoxia es un potente estimulador de la angiogénesis a través de la señalización a través de una familia de factores de transcripción inducibles por hipoxia (HIF) que pueden incrementar los niveles de VEGF hasta 30 veces en

pocos minutos (Pugh and Ratcliffe 2003). Podemos diferenciar tres grupos principales de factores inductores de la angiogénesis (Klagsbrun and Moses 1999). El primer grupo consiste en la familia VEGF y las angiopoyetinas, que actúan específicamente sobre las células endoteliales. El segundo grupo estaría formado por moléculas de acción más directa, incluyendo varias citocinas, quimiocinas (Moore et al. 1998), y enzimas angiogénicos (Brown and Bicknell 1998) que activan una amplia gama de células diana, además de las células endoteliales. El tercer grupo de moléculas angiogénicas incluye los factores de acción indirecta, cuyo efecto sobre la angiogénesis resulta del incremento de factores de acción directa de macrófagos, células endoteliales o tumorales. Los factores más ampliamente estudiados son factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y el factor de crecimiento transformante- β (TGF- β) (Liekens et al. 2001). Cabe la pena subrayar que los factores angiogénicos más importantes implicados en la angiogénesis en respuesta al ejercicio son: VEGF, factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factores de crecimiento transformante (TGF), factores de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), angiopoyetinas (Ang-1 y -2), integrinas, especies reactivas del oxígeno (ERO) y metaloproteinasas de matriz (MMP).

La angiogénesis mediada por el VEGF es una adaptación bien documentada inducida por la práctica regular de ejercicio físico

en sujetos sanos (Hudlicka et al. 1992; Prior et al. 2004). El VEGF se une a receptores expresados en las células endoteliales para promover la proliferación de células endoteliales y su migración, y en última instancia la formación de nuevos capilares. Durante la práctica de ejercicio, el VEGF es liberado por el músculo esquelético y se une con sus receptores (VEGFR-1 y VEGFR-2) de las células endoteliales vecinas (Wood et al. 2006).

También se ha demostrado que el VEGF es un factor importante para la capilarización basal del músculo esquelético, así como para la angiogénesis inducida por el ejercicio físico aeróbico (Amaral et al. 2001; Wagner et al. 2006). El ejercicio incrementa los niveles de VEGF (ARNm) en el músculo esquelético, tanto en humanos, como en ratas (Gavin and Wagner 2002; Olfert et al. 2001) y ratones (Choi et al. 2005; Gavin et al. 2006). Otros estudios demuestran el impacto del ejercicio de fuerza sobre la angiogénesis inducida en el músculo esquelético (Campos et al. 2002; Green et al. 1999). El incremento en los niveles de ARNm es máximo al final del ejercicio y se mantiene elevado hasta cuatro horas después. Ocho horas después del ejercicio los niveles de ARNm vuelven a los niveles basales (Bloor 2005; Breen et al. 1996).

El aumento en los niveles de ARNm inducidos por el ejercicio físico coincide con los incrementos en los niveles de VEGF (proteína funcional) (Gustafsson et al. 2001). El incremento en

la expresión de VEGF en el músculo esquelético inducida por el ejercicio físico fue significativamente mayor en el sexto y décimo día (Suzuki 2004), mientras que, se mantuvo elevado después de cinco semanas de entrenamiento, aunque no fue significativamente diferente al control sedentario (Suzuki 2002). Además, el ejercicio también regula al alza otros elementos importantes implicados en la angiogénesis, incluyendo los receptores VEGFR-1 y VEGFR-2 (Gavin and Wagner 2002; Lloyd et al. 2003).

Así pues, queda patente que el ejercicio puede regular al alza los niveles de VEGF y sus receptores en diferentes tejidos, lo que sugiere que ciertas enfermedades mediadas por angiogénesis como diversos trastornos cardiovasculares y neuromusculares pueden ser controladas mediante la práctica de ejercicio físico. Aunque, el ejercicio puede promover la angiogénesis, ésta es diferente según el órgano.

Este efecto de la exposición crónica al ejercicio puede jugar un importante papel en las posibles diferencias en la regulación del VP durante el ejercicio entre sujetos entrenados y no entrenados, ya que un mayor número de capilares en el tejido muscular entrenado puede incrementar la capacidad de filtración al haber una mayor superficie para el intercambio.

Equilibrio entre el sistema nervioso simpático y parasimpático

Tanto la respuesta central como el reflejo presor son importantes para determinar la respuesta cardiovascular durante el ejercicio, mientras que las interacciones dinámicas entre estos circuitos se asocian con adaptaciones beneficiosas a largo plazo en los sistemas nerviosos simpático y parasimpático. Los efectos beneficiosos se pueden observar poco después del inicio del ejercicio y se mantienen mientras continúa la actividad. Investigaciones recientes han mostrado que la práctica de ejercicio remodela centros cardiorrespiratorios, y por lo tanto reduce la actividad simpática y mejora la parasimpática (vagal) (Green et al. 2004; Nelson et al. 2005; Billman and Kukielka 2007).

Dado que el sistema nervioso simpático se activa durante cada sesión de ejercicio, la activación repetida de este sistema puede resultar en una atenuación de su actividad (Grassi et al. 2000; Fraga et al. 2007; Fu et al. 2010). Estudios en animales han sugerido que el óxido nítrico reduce la excitabilidad simpática general a nivel cerebral, posiblemente, a través de acciones en las regiones superiores del cerebro (hipotálamo) (Goodson et al. 1994; Patel et al. 1996). Debido a las restricciones experimentales obvias, no está claro si el aumento de la liberación de óxido nítrico con la práctica de ejercicio tiene un efecto inhibitorio del sistema nervioso central

simpático en los seres humanos. Por otro lado, el ejercicio previene el aumento de peso y la obesidad visceral, que también puede contribuir a la reducción de la actividad simpática (Joyner and Green 2009). Adaptaciones musculares inducidas por el entrenamiento parecen ser importantes en la disminución de los niveles de insulina mediado por la activación simpática (Julius et al. 1991; Baron et al. 1993; Kohno et al. 2000; Henriksen 2002), y puede ser especialmente potenciada por el entrenamiento de fuerza, que aumenta la masa muscular en general (Kraus and Levine 2007; Church et al. 2010).

El ejercicio físico disminuye la FC en reposo como resultado de un aumento del tono vagal y una disminución de la frecuencia cardíaca intrínseca, mientras que una reducción de la actividad simpática es probable que tenga, como máximo, un impacto mínimo (Rosenwinkel et al. 2001). Los sujetos entrenados se recuperan más rápidamente de una sesión aguda de ejercicio que los no entrenados (Rosenwinkel et al. 2001; Hagberg et al. 1979; Hagberg et al. 1980; Imai et al. 1994). La rápida recuperación de la FC en los individuos entrenados parece ser independiente de una respuesta simpática. Un estudio inicial mostró que la eliminación de la norepinefrina plasmática durante el periodo de recuperación no cambió significativamente después de 2 meses de desentrenamiento (Hagberg et al. 1979). Es más probable que un mecanismo vagal sea el responsable de la recuperación de la FC en

sujetos entrenados (Rosenwinkel et al. 2001). Numerosos estudios han demostrado que el ejercicio mejora el equilibrio autonómico cardíaco (es decir, el aumento de la actividad parasimpática y una disminución de la actividad simpática cardíaca) y aumenta la variabilidad del ritmo cardíaco (Iwasaki et al. 2003; Galbreath et al. 2011; Levy et al. 1998; Rennie et al. 2003; Okazaki et al. 2005). Además, la práctica de ejercicio puede inducir remodelación cardíaca, aumentar el tamaño y la masa del corazón, al igual que mejorar su función (Fu et al. 2010; Levine et al. 1991a; Levine et al. 1991b; Levine 1993).

El ejercicio físico mejora la función barorrefleja (Okazaki et al. 2005; Iwasaki et al. 2003; Galbreath et al. 2011), y protege contra la disminución en la sensibilidad barorrefleja asociada con la edad (Joyner and Green 2009; Monahan et al. 2000). La mejora en la función barorrefleja con la práctica de ejercicio podría ser debida tanto a una mayor distensibilidad de los vasos sanguíneos como a una mejor transducción de señales en áreas barosensitivas del seno carotídeo y arco aórtico (Monahan et al. 2000; Tanaka et al. 2000), así como también puede significar una mejoría o mantenimiento de la integración central en los centros cardiovasculares del tronco cerebral (Joyner and Green 2009).

Asimismo, numerosos estudios han demostrado que el ejercicio disminuye la PA. La reducción de la PA inducida por el entrenamiento es probable que sea atribuible a un aumento de

la liberación de óxido nítrico que resulta de un aumento del estrés vascular producido durante el ejercicio (Kingwell 2000). El entrenamiento también mejora la capacidad aeróbica y la conductancia vascular, y disminuye la grasa corporal, lo que también podría contribuir en la reducción de la PA (Blair et al. 1984; Duncan et al. 1985; Hall et al. 2001; Snell et al. 1987). Sin embargo, muchos investigadores creen que la reducción de la PA que se observa en la práctica de ejercicio está mediada principalmente por un mecanismo nervioso, ya que la actividad vasomotora simpática disminuye después del entrenamiento (Fu et al. 2010; Brown et al. 2002; Grassi et al. 1992; Laterza et al. 2007).

Frecuencia cardíaca y presión arterial

Al inicio y durante el ejercicio hay un aumento paralelo en la PA y la FC. Diversos estudios en humanos y en animales han demostrado que el control barorreflejo de la FC y la PA durante el ejercicio se restablece con cambios mínimos en la ganancia o la sensibilidad (Bevegard and Shepherd 1966; Joyner 2006; Raven 2008). La sensibilidad se refiere al cambio en la PA causada por un cambio dado en la presión en los barorreceptores arteriales (más comúnmente del seno carotídeo). También se refiere a la pendiente de la relación entre la FC o la PA y la presión del seno carotídeo. Un reajuste al alza del barorreflejo arterial parece ser el principal factor

responsable de la respuesta excitatoria simpática y el aumento de la PA durante el ejercicio (DiCarlo and Bishop 1992).

Se ha propuesto que el el barorreflejo arterial se restablece a través de una orden central, aumentando a su vez el GC por la disminución repentina del flujo de salida cardíaco. Por el contrario, la activación del reflejo presor inducida por el ejercicio también puede contribuir a la puesta a cero del barorreflejo arterial (Ichinose et al. 2008; Rowell and O'Leary 1990).

La rápida recuperación de la FC después de sesiones agudas de ejercicio parece ser debida a la reactivación vagal junto con disminución de la actividad simpática (Imai et al. 1994) (Pierpont et al. 2000). Una peor recuperación de la FC después de una sesión de ejercicio físico puede significar que la actividad del reflejo vagal se encuentre disminuida, siendo un potente predictor de mortalidad total, independiente de la carga de trabajo, la presencia o ausencia de defectos de perfusión miocárdica, o cambios en la FC durante el ejercicio (Cole et al. 1999).

Este efecto de la práctica habitual de ejercicio puede inducir algún efecto sobre la regulación del VP ya que el eje FC, GC, PA está fuertemente influido por el balance del sistema nervioso autónomo que en sujetos entrenados está desplazado hacia un predominio vagal.

OBJETIVOS

Objetivo principal:

Evaluar el efecto de diferentes protocolos de ejercicio y el nivel de entrenamiento sobre el volumen plasmático.

Este objetivo general se desglosa en los siguientes **objetivos específicos**:

1. Comparar el efecto que ejerce la intensidad del ejercicio sobre el volumen plasmático.
2. Estudiar el efecto de la intensidad del ejercicio sobre la respuesta de la viscosidad plasmática.
3. Explorar el efecto de la intensidad del ejercicio sobre la relación entre el volumen plasmático y la viscosidad plasmática durante el ejercicio.
4. Evaluar el efecto que ejerce un ejercicio incremental máximo sobre el volumen plasmático, identificando las diferencias inducidas por el grado de entrenamiento.
5. Evaluar el efecto que ejerce un programa de entrenamiento sobre la hemoconcentración provocada por un ejercicio de alta intensidad.

MATERIALES Y METODOS

Diseño experimental

De acuerdo con los objetivos establecidos, planteamos 3 fases experimentales.

En primer lugar, para dar respuesta a los objetivos 1, 2 y 3 se determinó y comparó el efecto de un ejercicio interválico de alta intensidad y de un ejercicio continuo de baja intensidad en tapiz rodante sobre el volumen y viscosidad plasmática (**Figura 18**).

En segundo lugar, para dar respuesta al objetivo 4, sujetos sedentarios y sujetos entrenados realizaron una prueba incremental máxima en tapiz rodante, determinándose el efecto sobre el VP y las diferencias inducidas por el grado de entrenamiento (**Figura 18**).

En tercer lugar, para dar respuesta al objetivo 5, se determinó el efecto que ejerce un ejercicio continuo de alta intensidad sobre el VP en sujetos antes y después de someterse a un proceso de entrenamiento (**Figura 18**).

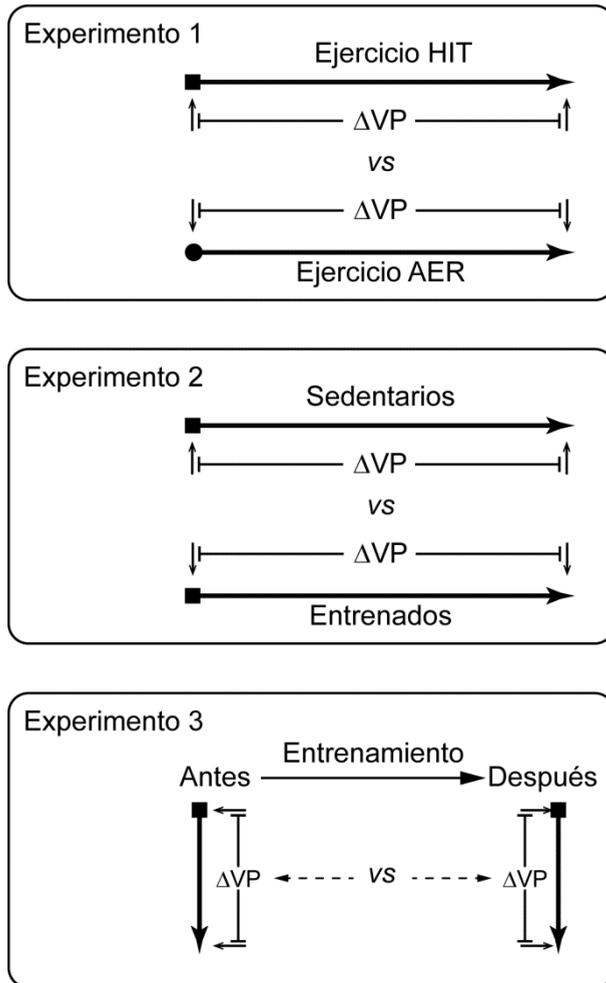


Figura 18. Fases experimentales

A continuación detallaremos los procedimientos realizados y métodos utilizados en cada una de las fases experimentales.

Fase Experimental 1

Sujetos

Diez sujetos varones participaron voluntariamente en esta fase experimental. Los sujetos fueron reclutados mediante anuncios escritos situados en la facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de la Universidad de Valencia. Los sujetos reclutados practicaban ejercicio físico con asiduidad pero no se encontraban envueltos en ningún proceso sistemático de entrenamiento.

Previamente a la inclusión en esta fase experimental, todos los participantes fueron informados del propósito, protocolos y procedimientos. Los sujetos que dieron su consentimiento por escrito fueron finalmente incluidos en la fase experimental.

Este experimento cumple con los principios éticos para la investigación médica en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial. El experimento fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Valencia.

Criterios de inclusión

Los pacientes fueron incluidos en esta fase experimental en el caso de que cumplieran todos los criterios detallados en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Criterios de inclusión en la fase experimental 1

Ser varones entre 20 y 40 años
Tolerar la punción venosa
Ser capaz de dar el consentimiento por escrito
No estar involucrado en ningún proceso de entrenamiento reglado
No estar tomando ningún tipo de antioxidantes.
No haber donado sangre un mes antes de la realización del experimento

Criterios de exclusión:

Los pacientes fueron excluidos de en esta fase experimental en caso de cumplir alguno de los criterios detallados en la **Tabla 7**.

Tabla 7. Criterios de exclusión en la fase experimental 1

Presencia de procesos infecciosos
Enfermedades hematológicas o inflamatorias
Enfermedades hormonales
Obesidad (índice de masa corporal (IMC) $> 30 \text{ kg/m}^2$)
Uso de Tabaco (>1 cigarrillo al día)
PAS $> 140 \text{ mmHg}$
PAD $>90 \text{ mmHg}$

Protocolos de ejercicio

Los participantes en esta fase experimental realizaron tres protocolos de ejercicio. En el primer test, se determinó el VO_2max y FC máxima (FCmax) de los sujeto mediante una prueba incremental máxima en tapiz rodante. Una semana después, los sujetos realizaron los dos protocolos de ejercicio

donde se tomaron muestras sanguíneas, en orden aleatorio, separados por una semana.

Test incremental máximo

La prueba incremental máxima se realizó en un tapiz rodante hasta la imposibilidad del sujeto de mantener la carrera a pesar de los estímulos verbales del equipo investigador. Se les indicó a los sujetos que no realizaran ningún ejercicio en las 24 horas previas a la realización de la prueba. Antes de comenzar el test, los sujetos fueron pesados y su altura medida.

Durante la prueba incremental máxima, el volumen y composición de los gases expirados, así como la frecuencia respiratoria y la FC, fueron registrados mediante el analizador de gases K4b² (Cosmed, Italia). Previamente a la realización del test incremental se realizaron las calibraciones pertinentes siguiendo las instrucciones del fabricante.

Después de informar al sujeto de las particularidades del protocolo de ejercicio, se realizó la instrumentación del sujeto mediante la instalación de una banda en el pecho para registrar la actividad cardíaca y una máscara (Hans Rudolph, Inc., Kansas City, MO, USA) y sujeción de talla adecuada. Posteriormente, se implementó el equipo K4b² y la turbina previamente calibrados siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez se comprobó el funcionamiento del sistema se pasó a realizar el test incremental hasta el agotamiento.

Tras un periodo de calentamiento de 3 minutos, corriendo a 7 km/h, la velocidad se incrementó a razón de 0.5 km/h por cada minuto de prueba, sin modificar la pendiente del tapiz (0 %).

El test se consideró máximo cuando se cumplieron al menos dos de las siguientes condiciones: $L_{\bar{a}}$ sanguíneo post-ejercicio > 8 mM, coeficiente respiratorio (CR) > 1.1 o FC máxima durante la prueba > predicha como $220 - \text{edad}$ (Wasserman et al. 2005). En todos los casos la prueba se consideró máxima.

Test de baja intensidad (AER)

Los sujetos acudieron al laboratorio en ayunas entre las 8 y 9 de la mañana. Se les indicó a los sujetos que no realizaran ningún ejercicio en las 24 horas previas a la realización de la prueba. Adicionalmente, se les indicó que no bebieran ninguna cantidad de agua desde 2 horas antes de la realización de la prueba. Durante la prueba y los 30 minutos posteriores a esta, los sujetos no tuvieron permitido ingerir ninguna cantidad de alimento o bebida.

Tras ser pesados (sin camiseta ni zapatillas), se registró la PA mediante auscultación. Tras ser informados del protocolo de ejercicio, los sujetos pasaron a realizar el test AER, consistente en 60 minutos corriendo a una velocidad equivalente al 55% de la velocidad correspondiente al $VO_2\text{max}$ (Katch et al. 2011). Al acabar la prueba, el sujeto fue pesado en las mismas condiciones que antes de realizar la prueba.

Test de alta intensidad (HIT)

El protocolo de ejercicio de alta intensidad se basó en protocolos de ejercicio intermitente de alta intensidad y bajo volumen (low-volume HIT) previamente publicados. (Little et al. 2010; Gillen et al. 2012).

Los sujetos acudieron al laboratorio en ayunas entre las 8 y 9 de la mañana. Se les indicó a los sujetos que no realizaran ningún ejercicio en las 24 horas previas a la realización de la prueba. Adicionalmente, se les indicó que no bebieran ninguna cantidad de agua desde 2 horas antes de la realización de la prueba. Durante la prueba y los 30 minutos posteriores a esta, los sujetos no tuvieron permitido ingerir ninguna cantidad de alimento o bebida.

Tras ser pesados (sin camiseta ni zapatillas), se registró la PA mediante auscultación. Tras ser informados del protocolo de ejercicio, los sujetos pasaron a realizar el test HIT, consistente en 2 minutos de calentamiento corriendo a 8 km/h. Tras esta fase, se realizaron 5 repeticiones de 2 minutos de duración hasta alcanzar una FC equivalente al 90 % de la FC_{max}, separados mediante intervalos de 2 minutos corriendo a 2 km/h. El protocolo acabó con otros 2 minutos a 2 km/h (**Figura 19**). Al acabar la prueba, el sujeto fue pesado en las mismas condiciones que antes de realizar la prueba.

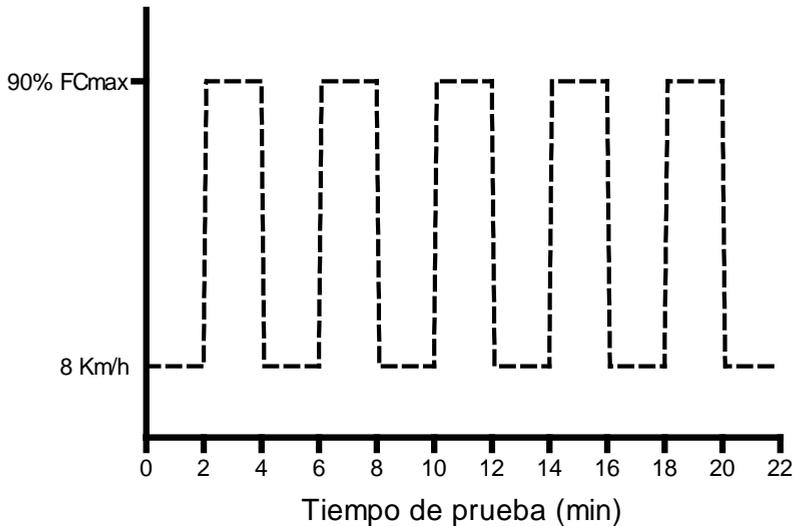


Figura 19. Velocidad de carrera durante el protocolo de ejercicio HIT

Durante la prueba se registró en todo momento la velocidad de carrera de los sujetos así como la FC mediante un pulsómetro RX800 (Polar Electro Oy, Kempele, Finlandia).

Obtención de muestras

Se obtuvieron muestras sanguíneas mediante punción en la vena antecubital, antes y justo al acabar el ejercicio y tras 30 minutos de recuperación. En todas estas ocasiones, la muestra fue obtenida con el sujeto sentado para minimizar el efecto del cambio postural sobre el VP.

Para las determinaciones hematológicas, la sangre se recogió en tubos de vacío Vacutainer® conteniendo K₃EDTA como anticoagulante. Para las determinaciones de fibrinógeno, se

utilizaron tubos de vacío Vacutainer® conteniendo 0.129 M de citrato de sodio como anticoagulante. Para las determinaciones bioquímicas se utilizaron tubos de vacío Vacutainer® sin aditivos, se dejaron coagular siguiendo las instrucciones del fabricante.

Métodos de laboratorio

La concentración de La^- sanguíneo se determinó al finalizar ambos test de ejercicio y el test incremental máximo mediante un analizador portátil de La^- y punción en el dedo corazón (Lactate Pro LT-170, Arkray KDK, Japón) En todos los casos el dispositivo se calibró y utilizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

En todas las muestras obtenidas se determinaron los niveles de Hb y el Hto, mediante un analizador hematológico automático XE-2100L (Sysmex, Kobe, Japan). La Hb, se expresa en gramos por decilitro (g/dL) y se determina mediante espectrofotometría con un coeficiente de variación intra-ensayo del 0.30 %. Las medidas de Hto tienen una reproducibilidad del 0.34 % y se realizan mediante detección por acumulación de altura de pulsos. Se expresa en porcentaje (%).

La determinación de la concentración de fibrinógeno (Fbr) en el plasma se realizó mediante método coagulométrico derivado del tiempo de activación de protrombina, en un analizador

centrífugo ACL-7000 (Instrumentation Laboratory, Milán, Italia). La unidad es el miligramo por decilitro (mg/dL).

Las concentraciones en suero de proteínas totales (PT), colesterol total (CT), triglicéridos (Tg) y glucosa (Glu) fueron determinados en un autoanalizador Olympus AU 5430 (Tokio, Japón).

La VPlasm se determinó en un viscosímetro capilar (Fresenius GmbH, Alemania) a 37°C (Jung et al. 1983). Este dispositivo tiene una precisión de ± 3 %. Tras centrifugar (1500 g, 20 minutos, 4°C) la muestra, se recoge la parte plasmática en una jeringa de 2 mL con un aguja redonda, evitando la formación de burbujas. En el extremo de esta se introduce el tubo capilar (Fresenius GmbH, Alemania) previamente cortado (20 cm). A continuación, se colocan jeringa y tubo capilar en la ranura dispuesta en el viscosímetro, se baja la tapa protectora transparente y el aparato inicia la determinación de forma automática. El émbolo de la jeringa se presiona de forma que entran 0.25 mL de plasma en el tubo capilar. A continuación, el viscosímetro corta automáticamente el extremo del capilar unido a la jeringa y el fluido recorre el capilar. La viscosidad depende del tiempo de paso entre dos sensores ópticos colocados en el recorrido. Cuanto mayor es el tiempo de paso, mayor es la viscosidad del plasma (Rosencranz and Bogen 2006). Antes del uso el viscosímetro, éste ha de ser calibrado

con fluidos de viscosidad conocida. La unidad de medida de la VPlasm es el mili Pascal por segundo (mPa·s)

Reducción de datos

El ΔVP tras el ejercicio y tras la recuperación se calculó mediante la fórmula de Dill y Costill (Dill and Costill 1974), basada en los cambios de Hto y Hb:

$$\Delta VP(\%) = 100 \times \left(\frac{Hb_{pre}}{Hb_{post}} \times \frac{100 - Hto_{post}}{100 - Hto_{pre}} - 1 \right)$$

El IMC se determinó mediante la fórmula (Keys et al. 1972):

$$IMC = \frac{\text{Peso (kg)}}{\text{Altura (m)}^2}$$

Las concentraciones de los parámetros bioquímicos tras el ejercicio y la recuperación se corrigieron por el ΔVP como sigue:

$$[\text{parametro}]_c = [\text{parametro}]_{sc} / \left(1 + \frac{\Delta VP(\%)}{100} \right)$$

donde los subíndices c y sc indican corregido y sin corregir, respectivamente.

Se calculó el peso perdido por los sujetos en cada una de los protocolos de ejercicio, restando el peso antes de la prueba al peso justo al acabar la prueba. Los umbrales ventilatorios se

establecieron mediante el método de equivalentes respiratorios (Reinhard et al. 1979).

Análisis estadístico

La normalidad de las distribuciones de las variables continuas se analizó mediante el test Shapiro-Wilk. La gran mayoría de las variables mostraron una distribución normal (ver **tabla anexa 1**). Cuando fue necesario, las variables fueron logaritmizadas para mejorar la normalidad de las distribuciones.

Se utilizó el test de análisis de la varianza (ANOVA) para medidas repetidas (nivel de medida: pre, post y 30') con el fin de explorar el efecto de los protocolos de ejercicio en las variables determinadas. Se comparó la magnitud del $\Delta V P$ tras el ejercicio y la recuperación entre los protocolos AER y HIT mediante una ANOVA de medidas repetidas (nivel de medida: AER y HIT). Cuando la condición de esfericidad se violó, se adoptó la corrección de Greenhouse-Geisser. Se realizaron comparaciones *post hoc* mediante la corrección de Bonferroni.

Para analizar la asociación de las variables contínuas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 21 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). El error de tipo I aceptado se estableció en un 5% ($\alpha=0.05$), por tanto los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $p<0.05$. Las variables continuas con distribución

Normal se expresan como media \pm desviación típica o como mediana (10^o-90^o percentil) en el caso de mostrar una distribución no Normal.

Fase Experimental 2

Sujetos

Treinta varones adultos sanos participaron voluntariamente en esta fase experimental. Los sujetos fueron reclutados mediante anuncios escritos situados en la facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de la Universidad de Valencia. De los reclutados, veinte fueron sujetos físicamente activos (grupo entrenado). Este grupo se compuso de triatletas y atletas de deportes de resistencia cuya práctica de actividad física superaba las 12 horas semanales. Los restantes 10 sujetos reclutados fueron sujetos sedentarios (grupos sedentario) cuya práctica de actividad física fue menor de una hora semanal.

Previamente a la inclusión en esta fase experimental, todos los participantes fueron informados del propósito, protocolos y procedimientos. Los sujetos que dieron su consentimiento por escrito fueron finalmente incluidos en la fase experimental.

Este experimento cumple con los principios éticos para la investigación médica en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial. El

experimento fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Valencia.

Criterios de inclusión

Los pacientes fueron incluidos en esta fase experimental en el caso de que cumplieran todos los criterios detallados en la **Tabla 8**.

Tabla 8. Criterios de inclusión en la fase experimental 2

Ser varones entre 20 y 40 años
Tolerar la punción venosa
Ser capaz de dar el consentimiento por escrito
No estar tomando ningún tipo de antioxidantes.
No haber donado sangre un mes antes de la realización del experimento

Criterios de exclusión:

Los pacientes fueron excluidos de en esta fase experimental en caso de cumplir alguno de los criterios detallados en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Criterios de exclusión en la fase experimental 2

Presencia de procesos infecciosos
Enfermedades hematológicas o inflamatorias
Enfermedades hormonales
Obesidad (IMC > 30 kg/m²)
Uso de Tabaco (>1 cigarrillo al día)
PAS > 140 mmHg
PAD >90 mmHg

Protocolo de ejercicio

En esta fase experimental, los sujetos realizaron un único protocolo de ejercicio consistente en una prueba incremental en tapiz rodante hasta la imposibilidad del sujeto de mantener la carrera a pesar de los estímulos verbales del equipo investigador.

Todos los participantes acudieron al laboratorio entre las 8 y las 9 de la mañana en ayunas. Previamente, se les había indicado que no realizaran ningún ejercicio en las 24 horas previas a la realización de la prueba.

Antes de comenzar el test, los sujetos fueron pesados y su altura medida. El test comenzó con un periodo de calentamiento de 5 minutos. Durante este periodo el sujeto eligió la velocidad de carrera de acuerdo a sus preferencias y a su ritmo habitual de entrenamiento. Esta velocidad se mantuvo constante durante toda la prueba mientras que la pendiente se incrementó un 1 % cada minuto. El test finalizó una vez que el sujeto no fue capaz de continuar el ejercicio pese a los estímulos verbales del equipo investigador. La **Figura 20** muestra el diseño del protocolo de ejercicio.

Durante la prueba se registraron los volúmenes, frecuencia y composición de gases en cada una de las respiraciones. Para ello los sujetos llevaron una máscara facial (Hans Rudolph, Inc., Kansas City, MO, EEUU) conectada a un analizador de

gases (MetaLyzer 3B-R2, Cortex GmbH, Germany). Así mismo, la FC se controló mediante un electrocardiógrafo con 12 derivaciones.

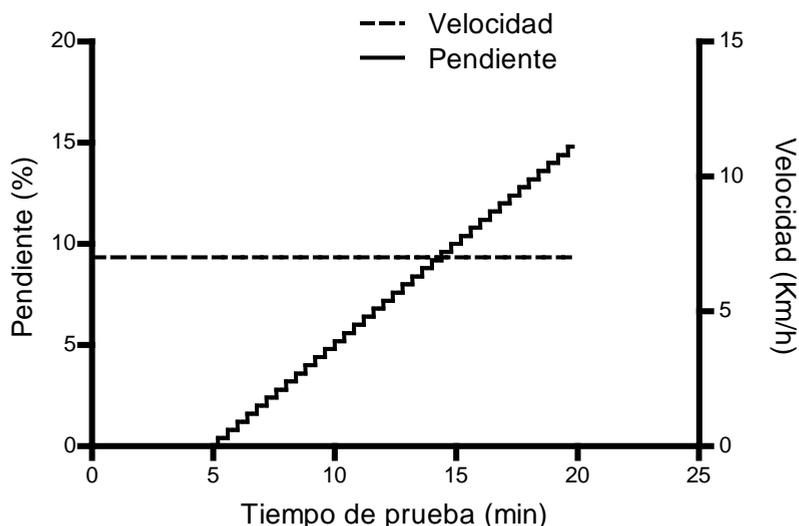


Figura 20. Diseño del protocolo de ejercicio en la fase experimental 2.

El test se consideró máximo cuando se cumplieron al menos dos de las siguientes condiciones: La^- sanguíneo post-ejercicio > 8 mM, $CR > 1.1$ o FC máxima durante la prueba $>$ predicha como 220-edad (Wasserman et al. 2005). En 4 casos (todos del grupo entrenado), la prueba no se consideró máxima bajo estos criterios y fueron, por tanto, excluidos del estudio.

Obtención de muestras

Se obtuvieron muestras sanguíneas mediante punción en la vena antecubital, antes y justo al acabar el ejercicio y tras 30

minutos de recuperación. En todas estas ocasiones, la muestra fue obtenida con el sujeto sentado para minimizar el efecto del cambio postural sobre el VP.

Para las determinaciones hematológicas, la sangre se recogió en tubos de vacío Vacutainer® conteniendo K₃EDTA como anticoagulante. Para las determinaciones bioquímicas se utilizaron tubos de vacío Vacutainer® sin aditivos, se dejaron coagular siguiendo las instrucciones del fabricante.

Métodos de laboratorio

En todas las muestras obtenidas se determinaron por duplicado el recuento de glóbulos rojos (RBC), los niveles de Hb, Hto, el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) mediante un analizador hematológico automático XE-2100L (Sysmex, Kobe, Japón). El VCM se determina dividiendo el Hto entre el número de hematíes por unidad de volumen, y se expresa en femtolitros (fL). La reproducibilidad de esta medida es del 1 %. La HCM se calcula dividiendo la concentración de Hb entre el número de hematíes por unidad de volumen. Se expresa en picogramos (pg) y estas medidas en el citado analizador tienen una reproducibilidad del 1.5 %. La CHCM se expresa en gramos por decilitro (g/dL) y es el cociente entre la concentración de Hb y el Hto. La reproducibilidad es del 1.5 %.

Las concentraciones en suero de PT, CT, Tg y Glu fueron determinados en un autoanalizador Olympus AU 5430 (Tokio, Japón).

Las concentraciones en suero de las enzimas creatina quinasa (CK) y lactato deshidrogenasa (LDH) fueron determinadas mediante el sistema Roche Cobas® 6000 (Roche Diagnosis GmbH, Alemania) según las instrucciones del fabricante. El coeficiente de variación de la técnica para ambas determinaciones fue menor del 5 %.

Las concentraciones de La^- sanguíneo se determinaron inmediatamente tras la extracción en un autoanalizador Biosen C-line (EKF-diagnostic GmbH, Alemania). Veinte microlitros de sangre fueron pipeteados en los tubos suministrados por el fabricante. Tras agitar ligeramente fueron insertados en el analizador, previamente calibrado siguiendo las instrucciones del fabricante. Todas las determinaciones fueron realizadas en duplicado. El coeficiente de variación de la técnica fue del 1.40 %.

Reducción de datos

Se determinó el ΔVP tras el ejercicio y la recuperación mediante la de Dill y Costill (Dill and Costill 1974), basada en los cambios de Hto y Hb. Las concentraciones de los parámetros bioquímicos tras el ejercicio y la recuperación se corrigieron por el ΔVP como se ha descrito en la fase

experimental 1. Se determinó el IMC (Keys et al. 1972). Se calculó el peso perdido por los sujetos en cada una de los protocolos de ejercicio, restando el peso antes de la prueba al peso justo al acabar la prueba. Los umbrales ventilatorios se establecieron mediante el método de equivalentes respiratorios (Reinhard et al. 1979).

Análisis estadístico

La normalidad de las distribuciones de las variables continuas se analizó mediante el test Shapiro-Wilk. La gran mayoría de las variables mostraron una distribución normal (ver **tabla anexa 2**). Cuando fue necesario, las variables fueron logaritmizadas para mejorar la normalidad de las distribuciones.

Se utilizó el test ANOVA para medidas repetidas (nivel de medida: pre, post y 30') con el fin de explorar el efecto de los protocolos de ejercicio en las variables determinadas. Para identificar las diferencias significativas entre los grupos sedentario y entrenado en las variables analizadas se utilizó el test ANOVA para medidas independientes (factor: sedentario, entrenado). La homogeneidad de la varianza se evaluó mediante el test de Levene. Cuando esta condición se violó se adoptó la corrección de Welch.

Para evaluar la interacción del factor entrenamiento en el efecto del protocolo de ejercicio sobre las variables determinadas se utilizó el test ANOVA de dos vías (nivel de

medida: pre, post y 30'; factor: sedentario, entrenado). EN ambos casos, cuando la condición de esfericidad se violó, se adoptó la corrección de Greenhouse-Geisser. Se realizaron comparaciones *post hoc* mediante la corrección de Bonferroni.

Para analizar la asociación de las variables continuas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para las variables con distribución tipo Normal o de Spearman para las variables con distribución no Normal.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 21 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). El error de tipo I aceptado se estableció en un 5% ($\alpha=0.05$), por tanto los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $p<0.05$. Las variables continuas con distribución Normal se expresan como media \pm desviación típica o como mediana (10^o-90^o percentil) en el caso de mostrar una distribución no Normal.

Fase Experimental 3

Sujetos

Dieciséis varones adultos sanos participaron voluntariamente en esta fase experimental. Los sujetos fueron reclutados mediante anuncios escritos situados en la facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de la Universidad de Valencia. Los sujetos reclutados no participaban activamente en procesos de entrenamiento reglado ni en ninguna competición oficial. Los sujetos fueron distribuidos aleatoriamente en grupo control y grupo entrenamiento. Los sujetos en el grupo entrenamiento realizaron un protocolo de entrenamiento durante 8 semanas mientras que los sujetos en el grupo control fueron instruidos para no cambiar sus hábitos de actividad física durante un periodo de 8 semanas. Antes y después del periodo de 8 semanas todos los sujetos realizaron una prueba incremental máxima en tapiz rodante y un test de 15 minutos al 110% de la velocidad del umbral anaeróbico (vUAN). La **Figura 21** representa el diseño de esta fase experimental.

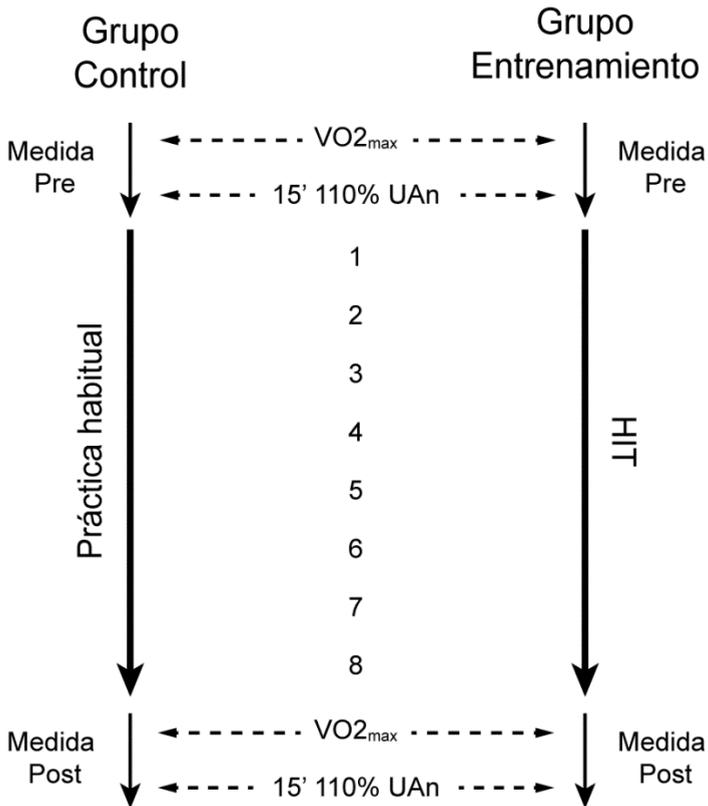


Figura 21. Diseño de la fase experimental 3.

Previamente a la inclusión en esta fase experimental, todos los participantes fueron informados del propósito, protocolos y procedimientos. Los sujetos que dieron su consentimiento por escrito fueron finalmente incluidos en la fase experimental.

Este experimento cumple con los principios éticos para la investigación médica en seres humanos establecidos en la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial. El experimento fue aprobado por el Comité Ético de la Universidad de Valencia.

Criterios de inclusión

Los pacientes fueron incluidos en esta fase experimental en el caso de que cumplieran todos los criterios detallados en la **Tabla 10**.

Tabla 10. Criterios de inclusión en la fase experimental 3

Ser varones entre 20 y 40 años
Tolerar la punción venosa
Ser capaz de dar el consentimiento por escrito
No estar tomando ningún tipo de antioxidantes.
No haber donado sangre un mes antes de la realización del experimento

Criterios de exclusión:

Los pacientes fueron excluidos de en esta fase experimental en caso de cumplir alguno de los criterios detallados en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Criterios de exclusión en la fase experimental 3

Estar inmerso en ningún proceso de entrenamiento
Participar en ninguna competición oficial durante el estudio
Presencia de procesos infecciosos
Enfermedades hematológicas o inflamatorias
Enfermedades hormonales
Obesidad (IMC > 30 kg/m²)
Uso de Tabaco (>1 cigarrillo al día)
PAS > 140 mmHg
PAD >90 mmHg

Muerte experimental

Cinco de los sujetos reclutados e incluidos en la fase experimental 3 no acabaron las actividades incluidas en el estudio y por tanto causaron baja. Uno de los sujetos en el grupo entrenado desarrolló una infección cardíaca en la octava semana de entrenamiento. La muerte experimental en el grupo entrenado fue de un 12.5 %. Cuatro de los sujetos incluidos en el grupo control no accedieron a realizar los protocolos de ejercicio a las 8 semanas. Por tanto, los datos de estos sujetos fueron excluidos del estudio. La muerte experimental en el grupo control fue del 50 %.

Protocolo de entrenamiento

Los sujetos en el grupo entrenamiento realizaron un protocolo de entrenamiento interválico de alta intensidad (HIT, del inglés “high-intensity interval training”) de 8 semanas de duración. Cada una de estas semanas se realizó 3 sesiones de entrenamiento en carrera, por lo que cada sujeto completó un total de 24 sesiones. Cada sesión comenzó con un periodo de calentamiento de 10 minutos, pautado por el experimentador presente en cada una de las sesiones. La parte principal constó de 5 series de carrera, separadas por 90 segundos de recuperación pasiva, a un porcentaje de la velocidad de $VO_2\text{max}$ ($vVO_2\text{max}$). Esta velocidad de carrera se incrementó cada semana de la forma que se muestra en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Diseño de las sesiones en el protocolo de entrenamiento HIT.

| Semanas | Sesiones | Numero series | Duración (min) | Intensidad (%vVO ₂ max) | Recuperación entre series (s) |
|---------|----------|---------------|----------------|------------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 1-3 | 5 | 3 | 84 | 90 |
| 2 | 4-6 | 5 | 3 | 84 | 90 |
| 3 | 7-9 | 5 | 3 | 86 | 90 |
| 4 | 10-12 | 5 | 3 | 86 | 90 |
| 5 | 13-15 | 5 | 3 | 88 | 90 |
| 6 | 16-18 | 5 | 3 | 88 | 90 |
| 7 | 19-21 | 5 | 3 | 90 | 90 |
| 8 | 22-24 | 5 | 3 | 90 | 90 |

Para la correcta realización de las sesiones y control de las velocidades de carrera, se estableció un recorrido circular de longitud conocida. Para cada uno de los sujetos y sesión se calculó el número de vueltas a recorrer (más la porción de vuelta pertinente). Tras la parte principal, se realizó una vuelta a la calma pautada por el experimentador presente.

Las sesiones de entrenamiento se programaron lunes, miércoles y viernes, aunque cuando las condiciones climáticas u otros contratiempos lo hicieron necesario, fueron reprogramadas siempre dentro de la misma semana.

Los 8 sujetos que realizaron los entrenamientos fueron divididos en dos grupos de 4 componentes para realizar los entrenamientos. Los grupos se compusieron de forma que las velocidades objetivo en las sesiones fueran similares. En ningún caso se animó a los sujetos a competir con los compañeros en las sesiones de entrenamiento, intentando en

todo caso que las sesiones fueran totalmente individualizadas aunque se realizaran en grupo.

Protocolos de ejercicio

Los participantes en esta fase experimental realizaron dos protocolos de ejercicio, antes y después del periodo de 8 semanas. En ambos momentos, se realizó primero una prueba incremental máxima en tapiz rodante, donde se determinó el $VO_2\text{max}$. Al menos dos días después, los sujetos realizaron un protocolo de ejercicio continuo por encima del umbral anaeróbico (UAN), donde se tomaron muestras sanguíneas y se determinó el efecto sobre el ΔVP .

Test incremental máximo

La prueba incremental máxima se realizó en un tapiz rodante hasta la imposibilidad del sujeto de mantener la carrera a pesar de los estímulos verbales del equipo investigador. Se les indicó a los sujetos que no realizaran ningún ejercicio en las 24 horas previas a la realización de la prueba. Antes de comenzar el test, los sujetos fueron pesados y su altura medida. Se determinó la PA mediante auscultación.

Durante la prueba incremental máxima, el volumen y composición de los gases expirados, así como la frecuencia respiratoria y la FC, fueron registrados mediante el analizador de gases K4b² (Cosmed, Italia). Previamente a la realización

del test incremental se realizaron las calibraciones pertinentes siguiendo las instrucciones del fabricante.

Después de informar al sujeto de las particularidades del protocolo de ejercicio, se realizó la instrumentación del sujeto mediante la instalación de una banda en el pecho para registrar la actividad cardíaca y una máscara (Hans Rudolph, Inc., Kansas City, MO, USA) y sujeción de talla adecuada. Posteriormente, se implementó el equipo K4b² y la turbina previamente calibrados siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez se comprobó el funcionamiento del sistema se pasó a realizar el test incremental hasta el agotamiento.

Tras un periodo de calentamiento de 3 minutos, corriendo a 7 km/h, la velocidad se incrementó a razón de 0.5 km/h por cada minuto de prueba, sin modificar la pendiente del tapiz (0 %). El test finalizó una vez que el sujeto no fue capaz de continuar el ejercicio pese a los estímulos verbales del equipo investigador.

El test se consideró máximo cuando se cumplieron al menos dos de las siguientes condiciones: La^- sanguíneo post-ejercicio > 8 mM, CR > 1.1 o FC máxima durante la prueba $>$ predicha como 220-edad (Wasserman et al. 2005). En todos los casos la prueba se consideró máxima.

Test continuo por encima del UAn

Los sujetos acudieron al laboratorio en ayunas entre las 8 y 9 de la mañana. Tras la prueba incremental habían sido instruidos para no realizar actividad física intensa. Adicionalmente, se les indicó que no bebieran ninguna cantidad de agua desde 2 horas antes de la realización de la prueba. Durante la prueba y los 30 minutos posteriores a esta, los sujetos no tuvieron permitido ingerir ninguna cantidad de alimento o bebida.

Tras ser pesados (sin camiseta ni zapatillas), se registró la PA mediante auscultación. Tras ser informados del protocolo de ejercicio, los sujetos pasaron a realizar el test. Este comenzó con 2 minutos de calentamiento, tras lo cual se incrementó la velocidad hasta la objetivo (110 % vUAn) y se mantuvo durante 15 minutos, cuando se dio por finalizado el test. La velocidad objetivo fue calculada multiplicando por 1.1 vUAn expresada en km/h). En 4 ocasiones los sujetos fueron incapaces de acabar el test a pesar de los estímulos verbales del equipo investigador. Sin embargo, estas pruebas se consideraron aceptables ya que duraron más de 12 minutos.

Durante el test se monitorizó la FC mediante un pulsómetro Polar RX800 (Polar Electro Oy, Kempele, Finlandia).

Obtención de muestras

Previamente a la realización del test continuo por encima del UAn se emplazó un catéter 18g (Introcan Certo, Braun, España) en la vena antecubital del sujeto. A este catéter se conectó a una llave de tres vías (CPKIV, Braun, España). Después de cada toma de muestras el catéter y llave se limpió con 3 mL de suero fisiológico estéril. Antes, justo al acabar el test y tras 30 minutos de recuperación se obtuvieron muestras sanguíneas. Para ello se conectó a la llave de tres vías una campana de extracción de tipo Vacutainer®. En todas estas ocasiones, la muestra fue obtenida con el sujeto sentado para minimizar el efecto del cambio postural sobre el VP.

Para las determinaciones hematológicas, la sangre se recogió en tubos de vacío Vacutainer® conteniendo K₃EDTA como anticoagulante. Para las determinaciones bioquímicas se utilizaron tubos de vacío Vacutainer® sin aditivos, se dejaron coagular siguiendo las instrucciones del fabricante.

Métodos de laboratorio

El La⁻ se determinó al finalizar el test incremental máximo y el test continuo por encima del UAn mediante un analizador portátil de lactato y punción en el dedo corazón (Lactate Pro LT-170, Arkray KDK, Japón) En todos los casos el dispositivo se calibró y utilizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

En todas las muestras obtenidas se determinaron por duplicado RBC, los niveles de Hb y Hto mediante un analizador hematológico automático XE-2100L (Sysmex, Kobe, Japan). Las concentraciones en suero de CT, Tg, Glu, creatinina y urea fueron determinados en un autoanalizador Olympus AU 5430 (Tokio, Japón).

Reducción de datos

Se determinó el ΔVP tras el ejercicio y la recuperación mediante la de Dill y Costill (Dill and Costill 1974), basada en los cambios de Hto y Hb. Las concentraciones de los parámetros bioquímicos tras el ejercicio y la recuperación se corrigieron por el ΔVP como se ha descrito en la fase experimental 1. Se determinó el IMC (Keys et al. 1972). Los umbrales ventilatorios en las pruebas incrementales se establecieron mediante el método de equivalentes respiratorios (Reinhard et al. 1979).

Análisis estadístico

La normalidad de las distribuciones de las variables continuas se analizó mediante el test Shapiro-Wilk. Los resultados de este anexo se detallan en la **tabla anexa 3**. Debido al limitado número de sujetos en el grupo control se consideraron las distribuciones no normales y se adoptaron pruebas no paramétricas de contraste de hipótesis.

El efecto del periodo de 8 semanas (niveles de medida: pre, post) en las variables determinadas se analizó mediante el test de Wilcoxon (z). El efecto de los protocolos de ejercicio en las variables determinadas, antes y después del periodo de 8 semanas, se analizó mediante el test de Friedman (χ^2). Adicionalmente, se compararon los valores post-ejercicio y a 30' de recuperación con los pre-ejercicio mediante el test de Wilcoxon, aplicando la corrección de Bonferroni. Las diferencias en las variables determinadas entre los sujetos del grupo control y del grupo entrenamiento fueron analizadas mediante el test Mann-Whitney (U).

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa estadístico SPSS versión 21 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). El error de tipo I aceptado se estableció en un 5% ($\alpha=0.05$), por tanto los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando $p<0.05$. Las variables se expresan como mediana (10^o-90^o percentil).

RESULTADOS

A continuación presentaremos los resultados obtenidos en cada uno de las fases experimentales atendiendo al objetivo al que dan respuesta.

Resultados obtenidos en la fase experimental 1

Los 10 sujetos incluidos en la fase experimental 1 presentaron una edad de 25.80 ± 3.39 años, un IMC de 23.2 ± 2.2 kg/m² y un VO₂max de 45.1 ± 5.4 mL/min/kg.

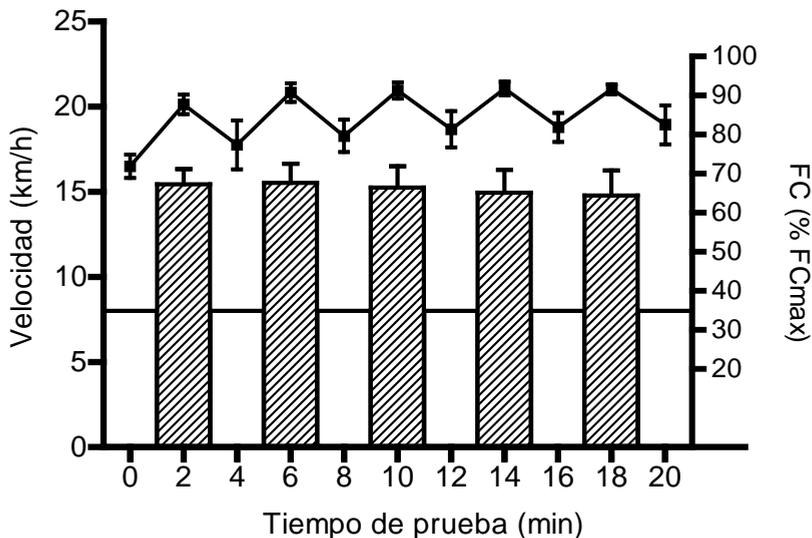


Figura 22. Velocidad de carrera y frecuencia cardíaca (FC) durante el protocolo de ejercicio HIT. Las series de alta intensidad han sido señaladas mediante barras ralladas. Las barras y los símbolos representan la media, mientras que las barras de error la desviación típica.

Durante el protocolo de ejercicio HIT la velocidad de carrera y la FC fueron monitorizados con el fin de no exceder el límite de intensidad fijado. La **Figura 22** representa los datos de velocidad de carrera y de FC durante el protocolo HIT.

Objetivo 1

Para dar respuesta al **objetivo 1** (*comparar el efecto que ejerce la intensidad del ejercicio sobre el volumen plasmático*), se determinó, en los protocolos de ejercicio AER y HIT, los niveles de Hb y Hto, antes, justo al acabar y tras 30 minutos de recuperación y se calculó, mediante la fórmula de Dill y Costill el ΔVP .

Tanto el protocolo de ejercicio AER ($F_{2,18}=10.204$, $p=0.001$) como el protocolo de ejercicio HIT ($F_{2,18}=21.0524$, $p<0.001$) provocaron efectos significativos sobre los niveles de Hb (**Figura 23**). De igual forma, el Hto también se vio afectado por los dos protocolos (AER $F_{2,18}=13.361$, $p<0.001$; HIT $F_{2,18}=16.585$, $p<0.001$). Las comparaciones *post hoc* mostraron que los valores de Hb y Hto post-ejercicio fueron significativamente mayores que los pre-ejercicio tanto en el ejercicio AER como en el HIT (**Figura 23**).

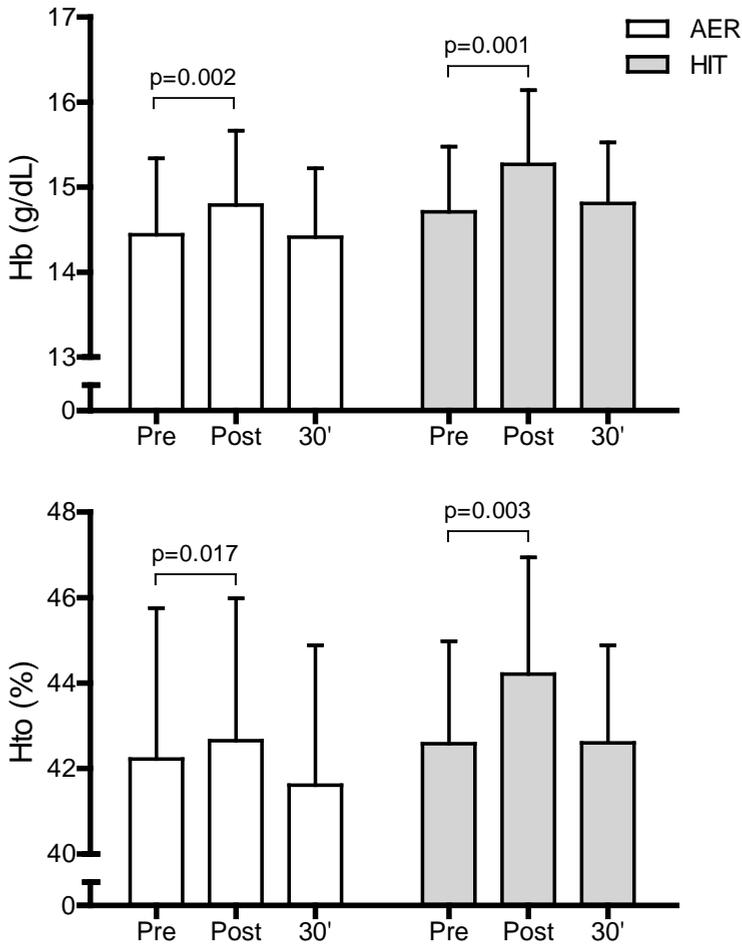


Figura 23. Niveles de hemoglobina (Hb) y hematocrito (Hto) antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación en los protocolos de ejercicio AER (barras vacías) y HIT (barras sombreadas). Las comparaciones significativas con los valores pre-ejercicio han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

En concordancia con los datos de Hb y Hto, encontramos un efecto de hemoconcentración justo al acabar el ejercicio en los dos protocolos (**Figura 24**). La comparación de la $\Delta V P$ post-

ejercicio entre ambos protocolos reveló que el ejercicio HIT provocó una mayor hemoconcentración que el ejercicio AER (AER -3.11 ± 3.47 %, HIT -6.11 ± 2.49 %; $F_{1,9}=5.388$, $p=0.045$; **Figura 24**). Sin embargo, tras 30 minutos, el efecto de hemoconcentración se recuperó (AER 1.17 ± 4.32 %, HIT -0.68 ± 3.10 %; **Figura 24**), sin encontrar diferencias entre ambos protocolos ($F_{1,9}=0.769$, $p=0.403$).

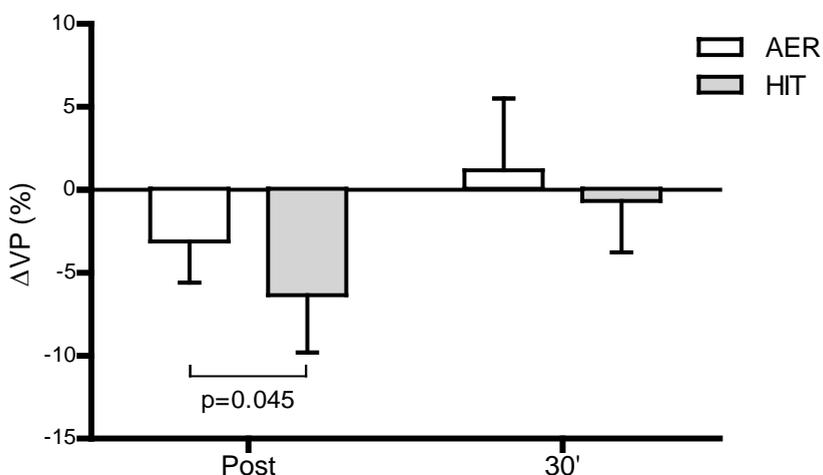


Figura 24. Cambio en el volumen plasmático (ΔVP) justo tras el ejercicio y la recuperación en los protocolos AER (barras vacías) y HIT (barras sombreadas). Las comparaciones significativas entre los protocolos han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

El peso perdido durante la prueba AER (1.26 ± 0.31 kg) fue mayor que el perdido durante la prueba HIT (0.92 ± 0.17 kg, $F_{1,9}=24.793$, $p=0.001$). Sin embargo en ninguno de los casos se encontró una correlación significativa entre el peso perdido

durante el ejercicio y el ΔVP (AER $r=0.457$, $p=0.184$; HIT $r=0.017$, $p=0.963$).

Objetivo 2

Para dar respuesta al **objetivo 2** (*estudiar el efecto de la intensidad del ejercicio sobre la respuesta de la viscosidad plasmática*), se determinó, en los protocolos de ejercicio AER y HIT, la V_{Plasm} , antes, justo al acabar y tras 30 minutos de recuperación. Adicionalmente, se determinaron las concentraciones circulantes de los componentes del plasma que ejercen un efecto importante en la V_{Plasm} : PT, Fbr, CT, Tg y Glu.

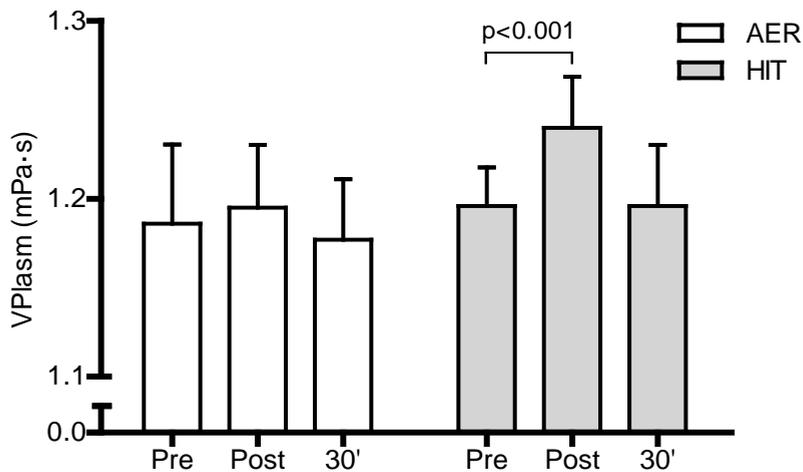


Figura 25. Viscosidad plasmática (V_{Plasm}) antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación, en los protocolos de ejercicio AER (barras vacías) y HIT (barras sombreadas). Las comparaciones significativas con los valores pre-ejercicio han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

La VPlasm se vió afectada significativamente solamente por el ejercicio tipo HIT (AER $F_{2,18}=2.496$, $p=0.110$; HIT $F_{2,18}=21.724$, $p<0.001$; **Figura 25**).

Las comparaciones por pares mostraron que los valores post-ejercicio de la VPlasm (1.19 ± 0.02 mPa·s) fueron significativamente mayores que los pre-ejercicio (1.24 ± 0.03 mPa·s, $p<0.001$), lo que en términos relativos supone un incremento del 3.68 ± 1.58 %.

El ejercicio tipo HIT tuvo efecto sobre las concentraciones de PT ($F_{2,18}=28.532$, $p<0.001$) pero no el ejercicio tipo AER ($F_{2,18}=1.679$, $p=0.214$). Una vez las concentraciones fueron corregidas por la ΔVP , no se observó efecto alguno en ninguno de los dos protocolos (AER $F_{2,18}=2.314$, $p=0.127$; HIT $F_{2,18}=0.604$, $p=0.558$). El análisis *post hoc*, con corrección de Bonferroni, reveló que los niveles de PT post-ejercicio (8.13 ± 0.39 g/dL) fueron significativamente mayores que los niveles pre-ejercicio (7.61 ± 0.44 g/dL, $p<0.001$) en el protocolo HIT (**Figura 26**).

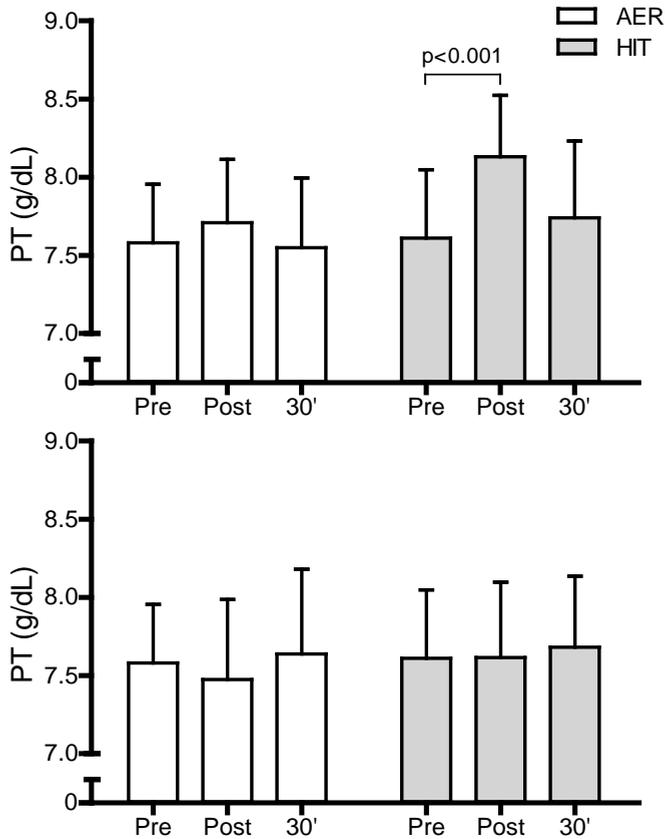


Figura 26. Concentraciones de proteínas totales (PT), sin corregir (arriba) y corregidas por la hemoconcentración (abajo), antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación, en los protocolos de ejercicio AER (barras vacías) y HIT (barras sombreadas). Han sido señaladas las comparaciones significativas con los valores pre-ejercicio. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

Las concentraciones de Fbr circulante sin corregir (AER $F_{1.290,11.612}=2.555$, $p=0.132$; HIT $F_{1.054,9.482}=0.813$, $p=0.396$) o corregidas por la hemoconcentración (AER $F_{1.195,10.754}=0.789$, $p=0.416$; HIT $F_{1.107,9.960}=2.701$, $p=0.130$) no se vieron afectadas por los protocolos de ejercicio (**Figura 27**).

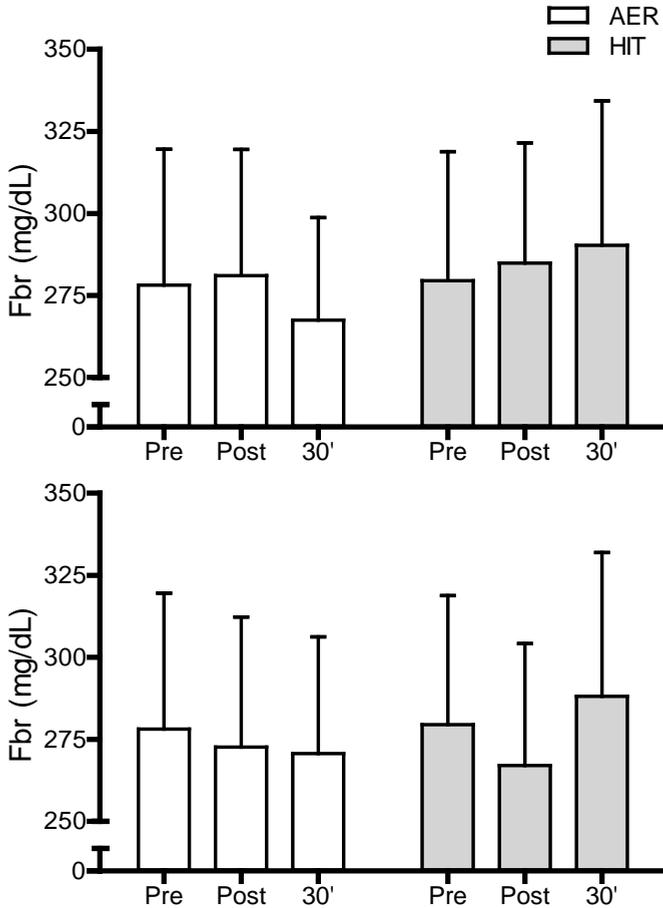


Figura 27. Concentraciones de fibrinógeno (Fbr), sin corregir (arriba) y corregidas por la hemoconcentración (abajo), antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación, en los protocolos de ejercicio AER (barras vacías) y HIT (barras sombreadas). La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

El ejercicio tipo HIT, pero no el tipo AER, tuvo efecto sobre las concentraciones de CT sin corregir por la hemoconcentración (AER $F_{2,18}=1.745$, $p=0.203$; HIT $F_{2,18}=20.665$, $p<0.001$; **Figura 28**). Sin embargo, cuando se aplicó la corrección por el ΔVP ,

los niveles de CT se vieron afectados por el ejercicio AER y no por el HIT ($F_{1.186,10.674}=4.355$, $p=0.036$; HIT $F_{1.541,13.873}=1.801$, $p=0.204$; **Figura 28**).

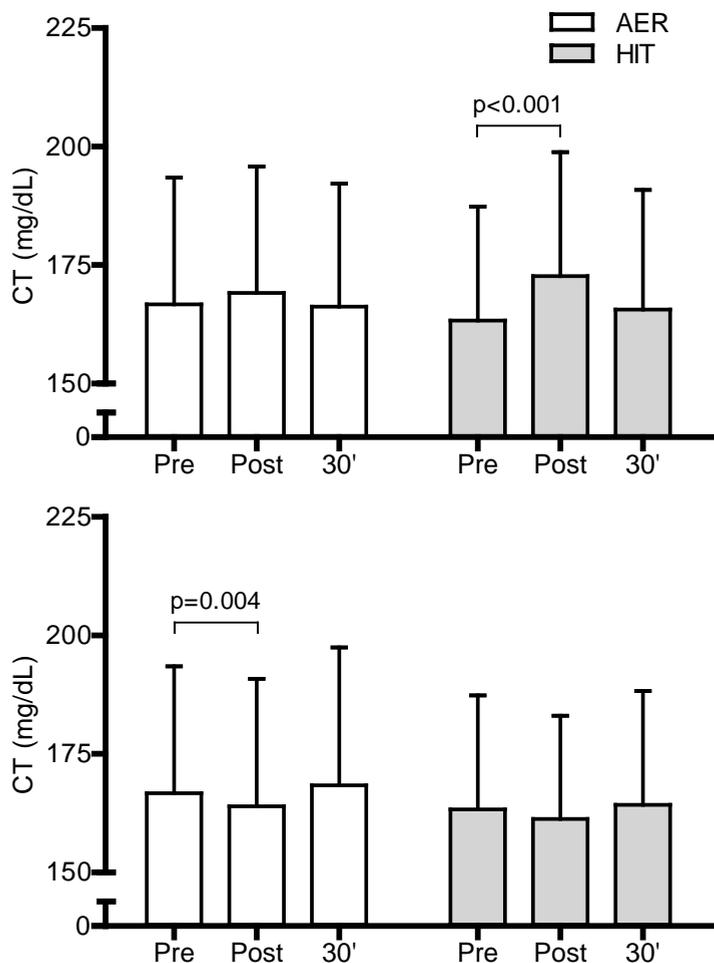


Figura 28. Concentraciones de colesterol total (CT), sin corregir (arriba) y corregidas por la hemoconcentración (abajo), antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación, en los protocolos de ejercicio AER (barras vacías) y HIT (barras sombreadas). Han sido señaladas las comparaciones significativas con los valores pre-ejercicio. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

La concentración post-ejercicio de CT en el protocolo HIT, sin corregir por la hemoconcentración, fue significativamente mayor que la pre-ejercicio (163.3 ± 24.0 mg/dL vs 172.7 mg/dL, $p < 0.001$). En cambio, cuando se corrigió por la hemoconcentración, la concentración post-ejercicio de CT en el protocolo HIT fue menor que la pre-ejercicio (166.7 mg/dL vs 163.9 mg/dL, $p = 0.004$).

El análisis estadístico de las concentraciones de Tg reveló que existió un efecto significativo ejercido por los dos tipos de ejercicio tanto en el caso de las concentraciones sin corregir (AER $F_{2,18} = 6.078$, $p = 0.010$; HIT $F_{2,18} = 20.790$, $p < 0.001$; **Figura 29**) como en el de las corregidas por la hemoconcentración (AER $F_{1.247,11.225} = 5.502$, $p = 0.033$; HIT $F_{2,18} = 12.536$, $p < 0.001$; **Figura 29**). Sin embargo, las comparaciones *post hoc*, con los valores pre-ejercicio, mostraron que solo el ejercicio tipo HIT produjo un incremento significativo de las concentraciones de Tg cuando las concentraciones no fueron corregidas por la hemoconcentración (**Figura 29**).

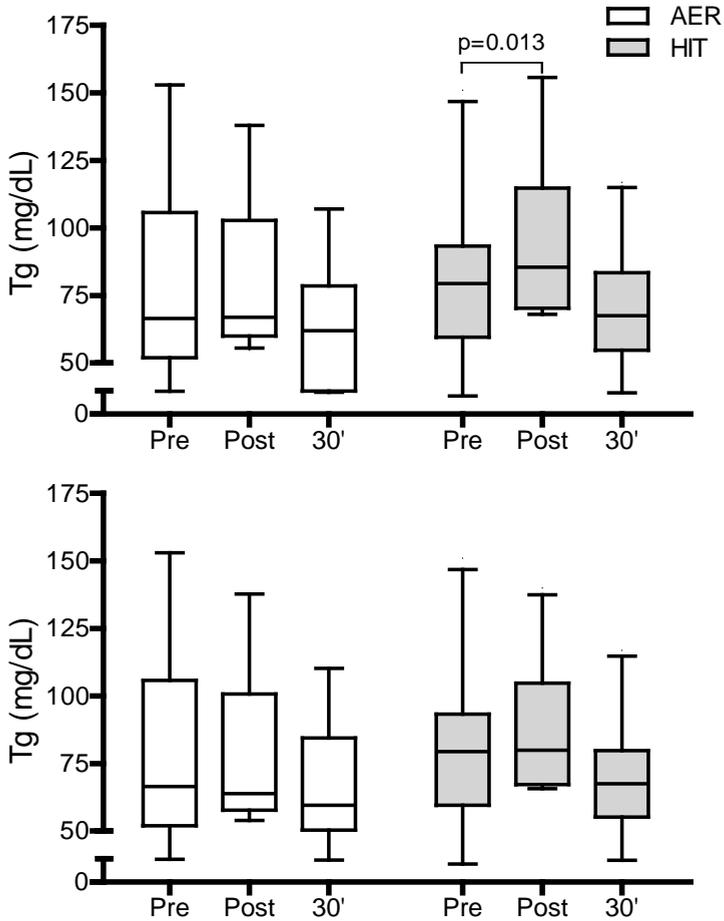


Figura 29. Concentraciones de triglicéridos (Tg), sin corregir (arriba) y corregidas por la hemoconcentración (abajo), antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación, en los protocolos de ejercicio AER (cajas vacías) y HIT (cajas sombreadas). Las comparaciones significativas con los valores pre-ejercicio han sido señaladas. Las cajas representan el valor de la mediana y el rango intercuartil mientras que las barras de error los percentiles 10 y 90.

Los niveles circulantes de Glu se vieron afectados por el ejercicio HIT independientemente de que las concentraciones fueron corregidas por la hemoconcentración (no corregida

$F_{2,18}=25.556$, $p<0.001$; corregida $F_{2,18}=18.130$, $p<0.001$; **Figura 30**). En los casos, las concentraciones post-ejercicio fueron mayores que las pre ejercicio ($p\leq 0.003$).

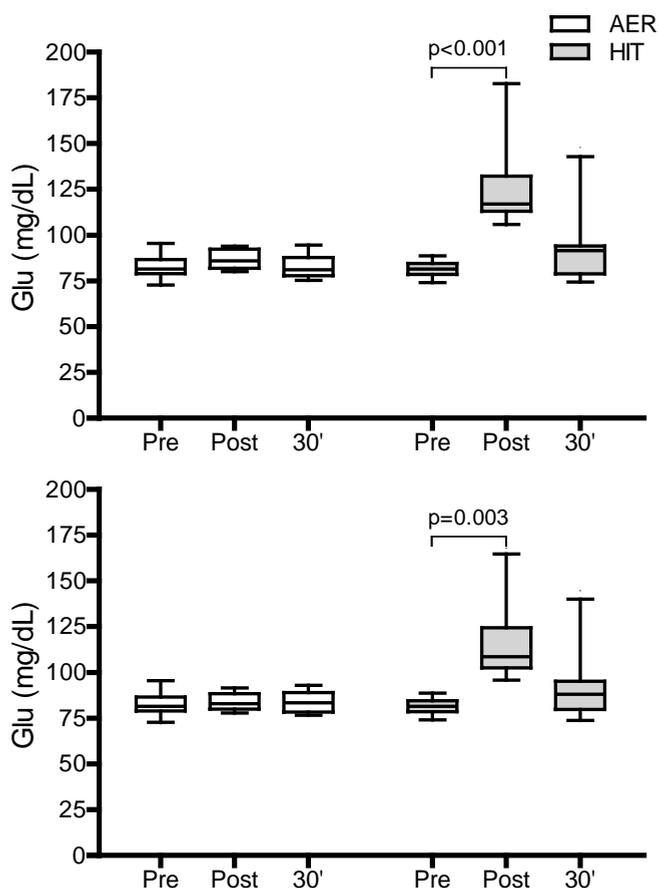


Figura 30. Concentraciones de glucosa (Glu), sin corregir (arriba) y corregidas por la hemoconcentración (abajo), antes, justo después y tras 30 minutos de recuperación, en los protocolos de ejercicio AER (cajas vacías) y HIT (cajas sombreadas). Las comparaciones significativas con los valores pre-ejercicio han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

El protocolo de ejercicio AER tuvo efecto significativo sobre las concentraciones de Glu solo cuando las concentraciones no fueron corregidas por la hemoconcentración (no corregida $F_{2,18}=4.154$, $p=0.033$; corregida $F_{2,18}=0.306$, $p=0.740$; **Figura 30**). Sin embargo, las comparaciones *post hoc* con corrección de Bonferroni no indicaron diferencias significativas entre los valores medios de Glu antes y después del ejercicio AER ($p=0.212$; **Figura 30**).

Objetivo 3

Para dar respuesta al **objetivo 3** (*explorar el efecto de la intensidad del ejercicio sobre la relación entre el volumen plasmático y la viscosidad plasmática durante el ejercicio*) se realizó un análisis de correlación entre el efecto del ejercicio sobre el VP y la VPlasm al finalizar cada uno de los protocolos de ejercicio.

En el protocolo de ejercicio AER no se observó una correlación significativa entre el ΔVP y la evolución de la VPlasm tras el ejercicio, ni cuando se expresó en valores absolutos ($r=0.244$, $p=0.497$) como en valores relativos a los basales ($r=0.125$, $p=0.730$, **Figura 31**).

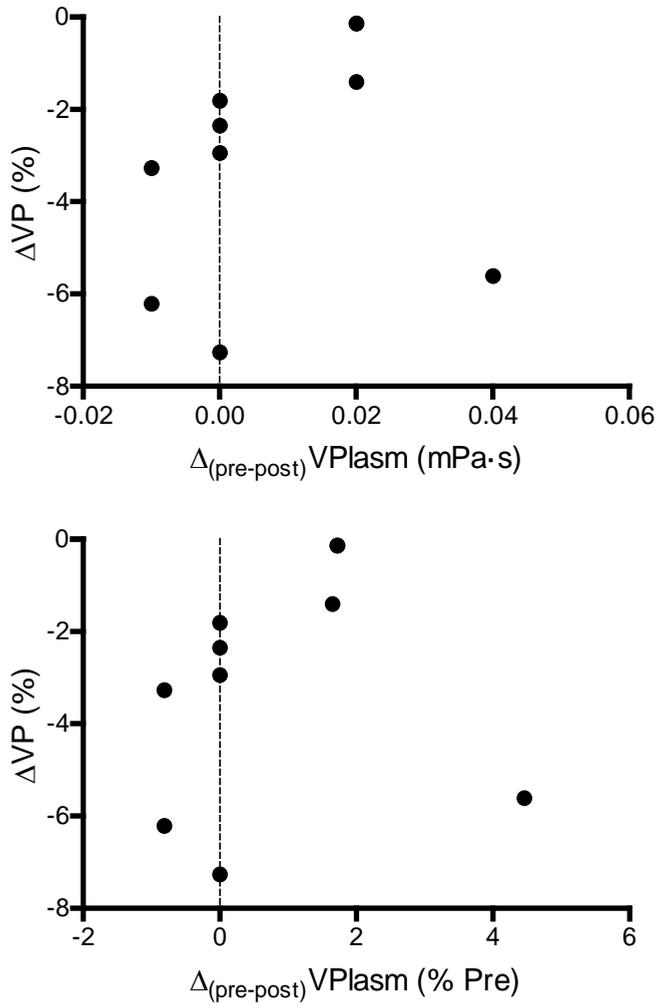


Figura 31. Correlación entre el efecto del ejercicio tipo AER sobre el volumen plasmático (ΔVP) y la viscosidad plasmática ($VPlasm$) expresada en valores absolutos (arriba) o en valores relativos a los basales (abajo).

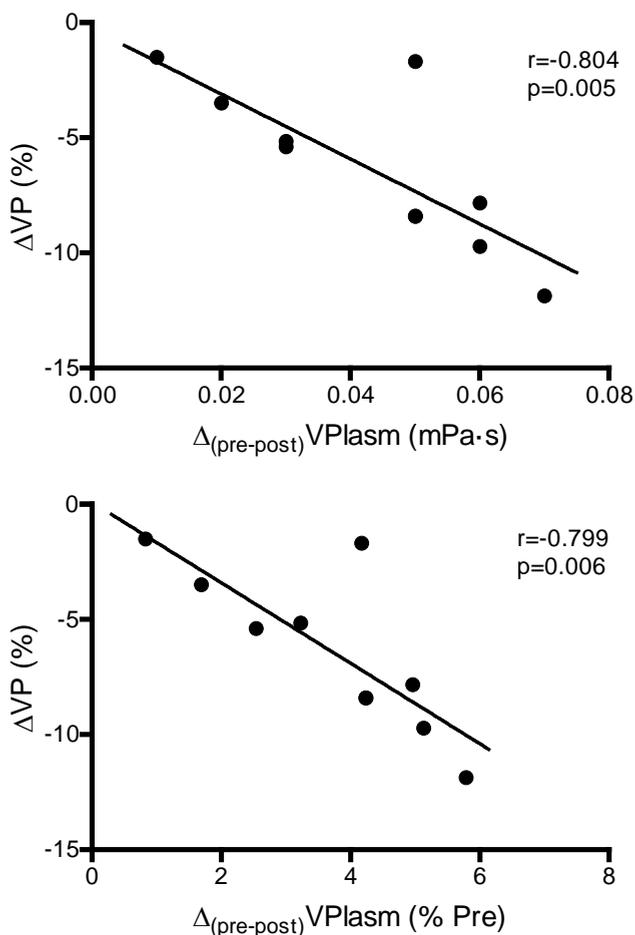


Figura 32. Correlación entre el efecto del ejercicio tipo HIT sobre el volumen plasmático (ΔVP) y la viscosidad plasmática ($VPlasm$) expresada en valores absolutos (arriba) o en valores relativos a los basales (abajo).

En cambio, el protocolo de ejercicio tipo HIT indujo cambios del VP y la $VPlasm$ significativamente relacionados independientemente de que la $VPlasm$ se expresara en valores absolutos ($r=-0.804$, $p=0.005$) o relativos ($r=-0.799$, $p=0.006$, **Figura 32**).

Resultados obtenidos en la fase experimental 2

Para dar respuesta al **objetivo 4** (*evaluar el efecto que ejerce un ejercicio incremental máximo sobre el volumen plasmático, identificando las diferencias inducidas por el grado de entrenamiento*), se analizaron las diferencias en la hemoconcentración inducida por un esfuerzo máximo entre sujetos no entrenados (grupo sedentario) y sujetos con un grado de entrenamiento elevado (grupo entrenado). Adicionalmente, se analizaron las diferencias entre grupos del efecto del protocolo de ejercicio en los parámetros bioquímicos circulante. Por último analizamos la asociación entre el Δ VP y los parámetros de rendimiento.

Tabla 13. Edad, peso, altura e IMC de los sujetos en el grupo sedentario y entrenado.

| | Sedentario (n=10) | Entrenado (n=16) | p |
|--------------------------|----------------------|---------------------|-------|
| Edad (años) | 30.4±6.4 | 33.8±6.9 | 0.228 |
| Peso (kg) | 77.34±5.98 | 70.09±5.21 | 0.003 |
| Altura (m) | 1.78±0.08 | 1.76±0.06 | 0.361 |
| IMC (kg/m ²) | 24.39±2.05 | 22.68±1.41 | 0.019 |

El peso ($F_{1,25}=10.647$, $p=0.003$) e IMC ($F_{1,25}=6.332$, $p=0.019$) de los sujetos reclutados en el grupo entrenado fue menor que el de los sujetos reclutados en el grupo sedentario (**Tabla 13**).

Sin embargo no se encontraron diferencias entre grupos en la edad y altura de los sujetos (**Tabla 13**).

Tabla 14. Parámetros hematológicos y bioquímicos en los grupos sedentario y entrenado.

| | Sedentario (n=10) | Entrenado (n=16) | p |
|----------------------------|----------------------|---------------------|-------|
| RBC ($10^6/\mu\text{L}$) | 5.11±0.17 | 5.00±0.36 | 0.345 |
| Hb (g/dL) | 15.36±0.59 | 15.29±1.01 | 0.856 |
| Hto (%) | 44.84±1.10 | 44.57±2.85 | 0.736 |
| VCM (fL) | 87.76±3.23 | 89.28±2.93 | 0.228 |
| HCM (pg) | 30.04±1.36 | 30.61±0.85 | 0.196 |
| CHCM (g/dL) | 34.24±0.70 | 34.31±0.79 | 0.830 |
| PT (g/dL) | 7.79±0.33 | 7.99±0.42 | 0.220 |
| CT (mg/dL) | 202.4±35.5 | 197.3±33.7 | 0.722 |
| Tg (mg/dL) | 75.5±27.8 | 79.1±26.3 | 0.745 |
| Glu (mg/dL) | 86.1±3.5 | 91.5±8.8 | 0.040 |
| CK (U/L) | 137(67-737) | 172(95-420) | 0.333 |
| LDH (U/L) | 355(276-416) | 362(295-450) | 0.350 |

RBC, recuento glóbulos rojos, Hb: hemoglobina, Hto: hematocrito, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media, PT: proteínas totales, CT: colesterol total, Tg: triglicéridos. Glu: glucosa,, CK creatina quinasa, LDH lactato deshidrogenasa.

No encontramos diferencias significativas, entre los sujetos en los dos grupos en los parámetros hematológicos y bioquímicos antes de realizar el ejercicio, excepto en el caso de los niveles

circulantes de glucosa que fue mayor en el grupo entrenado ($F_{1,21.291}=4.788$, $p=0.04$; **Tabla 14**).

La velocidad seleccionada en la prueba incremental máxima fue mayor en los sujetos entrenados que en los sujetos sedentarios ($F_{1,25}=31.380$, $p<0.001$, **Tabla 15**). La FC máxima alcanzada en la prueba incremental fue menor en los sujetos entrenados que en los sedentarios ($F_{1,25}=8.795$, $p=0.007$). El $VO_2\text{max}$, tanto relativizado al peso corporal ($F_{1,25}=44.157$, $p<0.001$) como que no relativizado ($F_{1,25}=7.482$, $p=0.012$), fue mayor en los sujetos entrenados que en los no entrenados.

Tabla 15. Parámetros recogidos durante el test de ejercicio en los grupos sedentario y entrenado.

| | Sedentario (n=10) | Entrenado (n=16) | p |
|------------------------------|----------------------|---------------------|--------|
| Duración test (s) | 747±82 | 740± 127 | 0.882 |
| Velocidad test (km/h) | 9.0(8.0-10.0) | 11.0(9.9-11.9) | <0.001 |
| $VO_2\text{max}$ (mL/min/kg) | 44.6±4.8 | 56.1± 4.0 | <0.001 |
| $VO_2\text{max}$ (L/min) | 3.46±0.51 | 3.93± 0.37 | 0.012 |
| UAn (% $VO_2\text{max}$) | 84.1± 6.7 | 91.5± 4.6 | 0.003 |
| CRmax | 1.30± 0.11 | 1.22± 0.08 | 0.059 |
| FCmax (lpm) | 187±10 | 177± 8 | 0.007 |
| [La] post ejercicio (mM) | 9.76± 2.63 | 9.15± 2.21 | 0.528 |

$VO_2\text{max}$: consumo máximo de oxígeno, UAn: umbral anaeróbico, CR: coeficiente respiratorio, FC: frecuencia cardíaca, La⁻ lactato.

El UAn ($F_{1,25}=11.204$, $p=0.003$) se encontró a un porcentaje mayor del $VO_2\max$ en los sujetos entrenados que en los sedentarios. Sin embargo no encontramos diferencias significativas entre grupos en el CR máximo ($F_{1,25}=3.941$, $p=0.059$) y en la concentración de La^- sanguíneo al acabar el test de ejercicio ($F_{1,25}=0.410$, $p=0.528$).

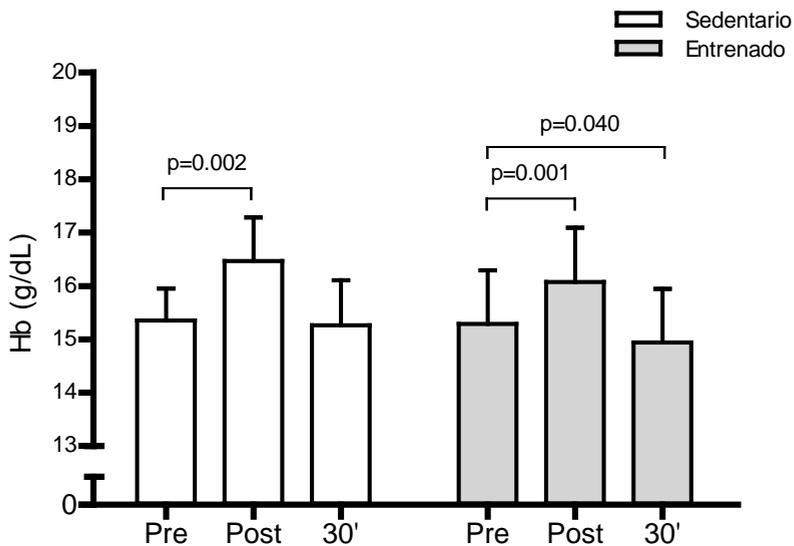


Figura 33. Efecto del protocolo de ejercicio sobre los niveles de hemoglobina (Hb) en los sujetos del grupo sedentario (barras vacías) y en los sujetos del grupo entrenado (barras sombreadas). Las comparaciones significativas han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

El protocolo de ejercicio indujo un efecto significativo en los niveles de Hb (**Figura 33**) tanto en el grupo sedentario ($F_{2,18}=70.387$, $p<0.001$) como en el entrenado ($F_{2,30}=61.787$, $p<0.001$). No se identificó ninguna diferencia significativa en

estos efectos debido al grado de entrenamiento ($F_{2,48}=2.354$, $p=0.106$).

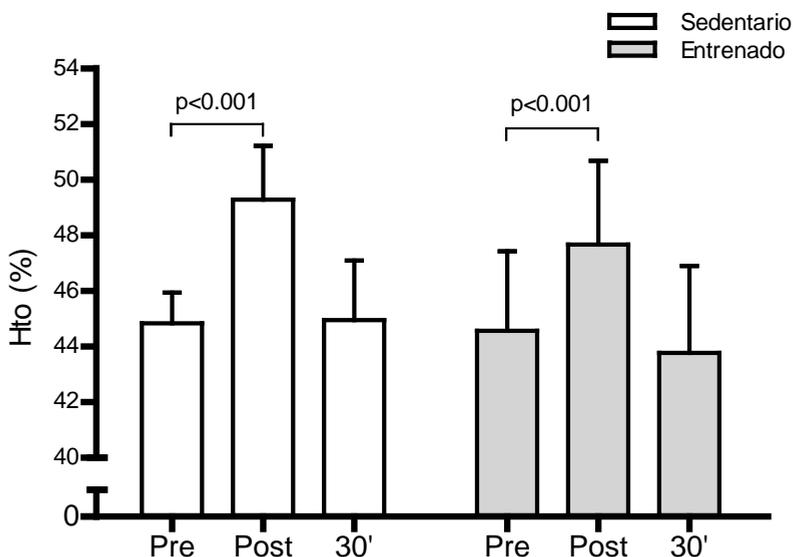


Figura 34. Efecto del protocolo de ejercicio sobre el hematocrito (Hto) en los sujetos del grupo sedentario (barras vacías) y en los sujetos del grupo entrenado (barras sombreadas). Las comparaciones significativas han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

El Hto se vio afectado por el protocolo de ejercicio en ambos grupos (sedentario $F_{2,18}=81.596$, $p<0.001$, entrenado $F_{2,30}=96.961$, $p<0.001$, **Figura 34**). El grado de entrenamiento ejerció un efecto significativo en la respuesta del Hto al ejercicio ($F_{2,48}=3.909$, $p=0.027$), aunque no encontramos ninguna comparación *post hoc* significativa.

La magnitud del $\Delta V P$, calculado mediante la fórmula de Dill y Costill, fue menor ($F_{1,25}=5.702$, $p=0.025$) en los sujetos del

grupo entrenado (-10.12 ± 4.51 %) que en los del grupo sedentario (-14.17 ± 3.66 %) justo al acabar el ejercicio (**Figura 35**). Sin embargo, tras 30 minutos de recuperación no encontramos diferencias entre grupos en el ΔVP ($F_{1,25}=2.209$, $p=0.150$).

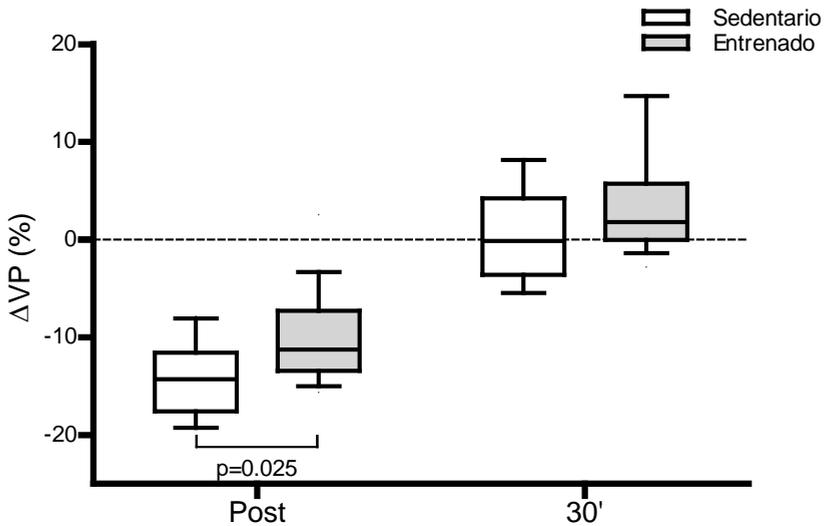


Figura 35. Efecto del protocolo de ejercicio sobre el cambio del volumen plasmático (ΔVP) justo al acabar el ejercicio y tras 30 minutos de recuperación en los sujetos del grupo sedentario (cajas vacías) y en los sujetos del grupo entrenado (cajas sombreadas). Las comparaciones significativas han sido señaladas. Las cajas representan el valor de la mediana y el rango intercuartil mientras que las barras de error los percentiles 10 y 90.

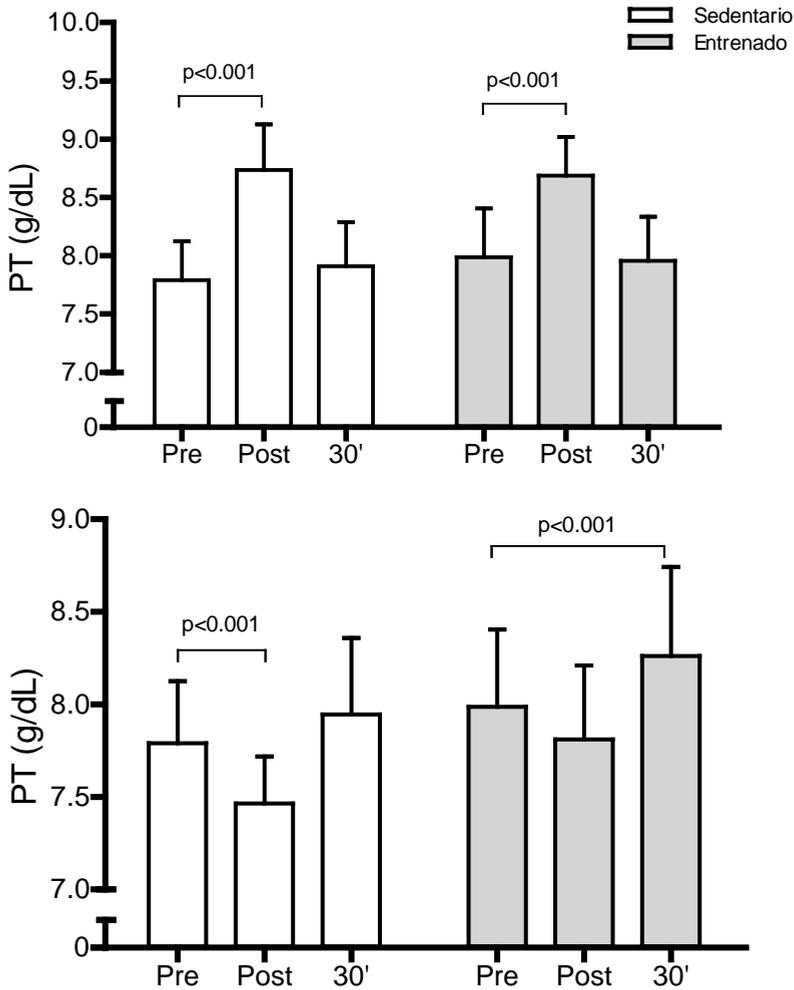


Figura 36. Efecto del protocolo de ejercicio sobre la concentración de proteínas totales (PT) en los sujetos del grupo sedentario (barras vacías) y en los sujetos del grupo entrenado (barras sombreadas). Las comparaciones significativas han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

Las concentraciones de PT circulantes se vieron afectadas por el ejercicio en los dos grupos (sedentario $F_{2,16}=48.206$, $p<0.001$; entrenado $F_{1,445,20.233}=30.878$, $p<0.001$), sin

diferencias debidas por el grado de entrenamiento ($F_{1.577,34.694}=0.913$, $p=0.389$). En los dos grupos, las concentraciones de PT aumentan justo al acabar el ejercicio (**Figura 36**). Cuando las concentraciones se corrigieron por el ΔVP , observamos un efecto significativo del protocolo de ejercicio en ambos grupos (sedentario $F_{2,16}=23.520$, $p<0.001$; entrenado $F_{2,28}=26.484$, $p<0.001$), sin diferencias entre grupos ($F_{2,44}=1.612$, $p=0.209$). Sin embargo las comparaciones por pares mostraron un descenso significativo de la concentración de PT en los sujetos sedentarios pero no en los entrenados justo al acabar el ejercicio (**Figura 36**).

Las concentraciones de CT se vieron afectadas por el protocolo de ejercicio en ambos grupos (sedentario $F_{2,14}=40.191$, $p<0.001$; entrenado $F_{2,24}=21.817$, $p<0.001$) sin encontrar diferencias inducidas por el grado de entrenamiento ($F_{2,38}=0.445$, $p=0.644$). Las comparaciones por pares mostraron que tras el ejercicio los niveles de CT aumentaron con respecto a los valores basales en ambos grupos (**Figura 37**). De similar forma que en el caso de las PT, cuando se aplica la corrección por la hemoconcentración se encontró efecto significativo sobre CT en ambos grupos (sedentario $F_{2,14}=23.581$, $p<0.001$; entrenado $F_{2,24}=13.215$, $p<0.001$), sin diferencias entre grupos ($F_{2,38}=1.582$, $p=0.219$), mostrando las comparaciones por pares un descenso de las concentraciones post-ejercicio (**Figura 37**).

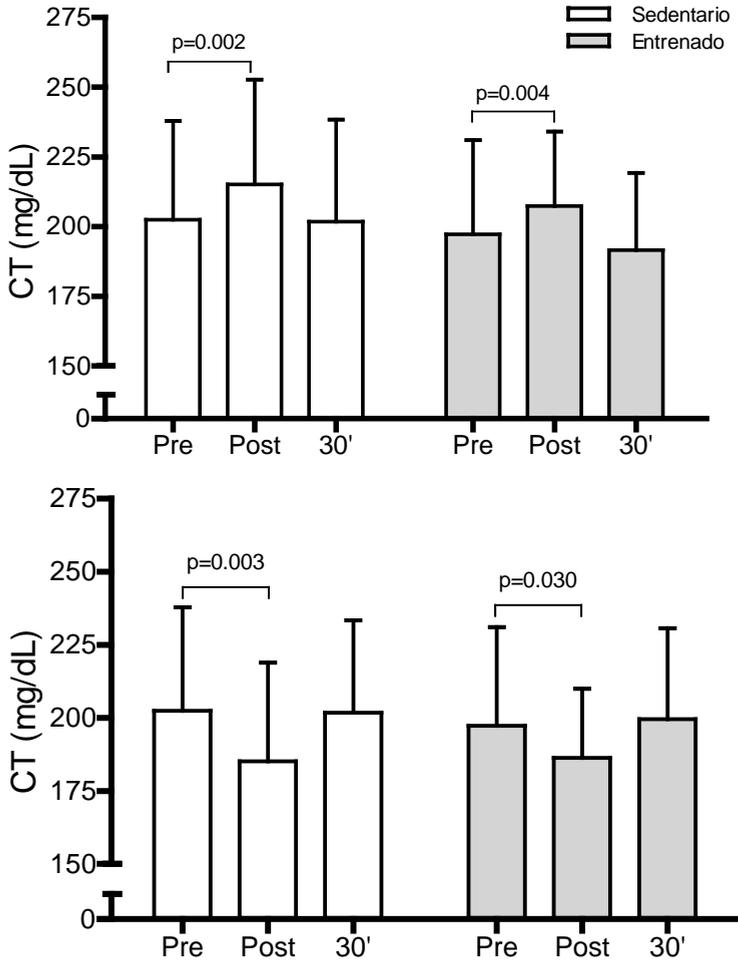


Figura 37. Efecto del protocolo de ejercicio sobre la concentración de colesterol total (CT) en los sujetos del grupo sedentario (barras vacías) y en los sujetos del grupo entrenado (barras sombreadas). Las comparaciones significativas han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

El protocolo de ejercicio ejerció un efecto significativo sobre las concentraciones circulantes de Tg en ambos grupos (sedentario $F_{2,16}=25.840$, $p<0.001$; entrenado $F_{2,28}=45.617$,

$p < 0.001$), sin diferencias significativas entre los grupos ($F_{2,44} = 0.791$, $p = 0.460$). La **Figura 38** muestra un aumento significativo de los valores de Tg justo al acabar el ejercicio.

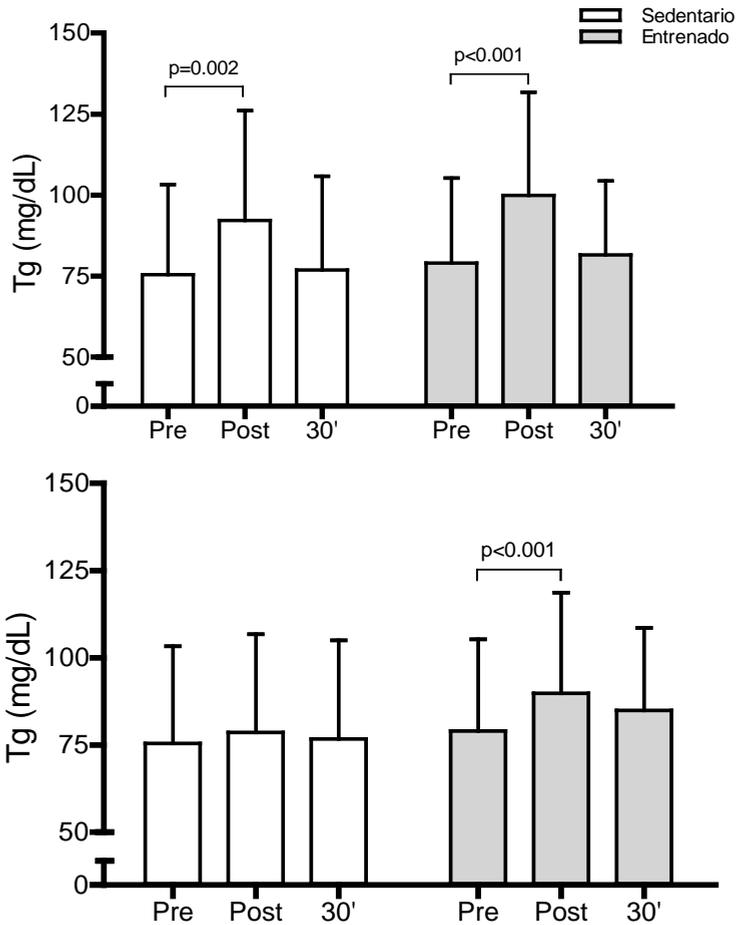


Figura 38. Efecto del protocolo de ejercicio sobre la concentración de triglicéridos (Tg) en los sujetos del grupo sedentario (barras blancas) y en los sujetos del grupo entrenado (barras negras). Las comparaciones significativas han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

Cuando se corrigieron las concentraciones de Tg por el ΔVP , solo encontramos un efecto significativo del ejercicio sobre los niveles de Tg en los sujetos entrenados ($F_{2,28}=8.502$, $p=0.001$) siendo mayores los valores post-ejercicio que los basales (**Figura 38**).

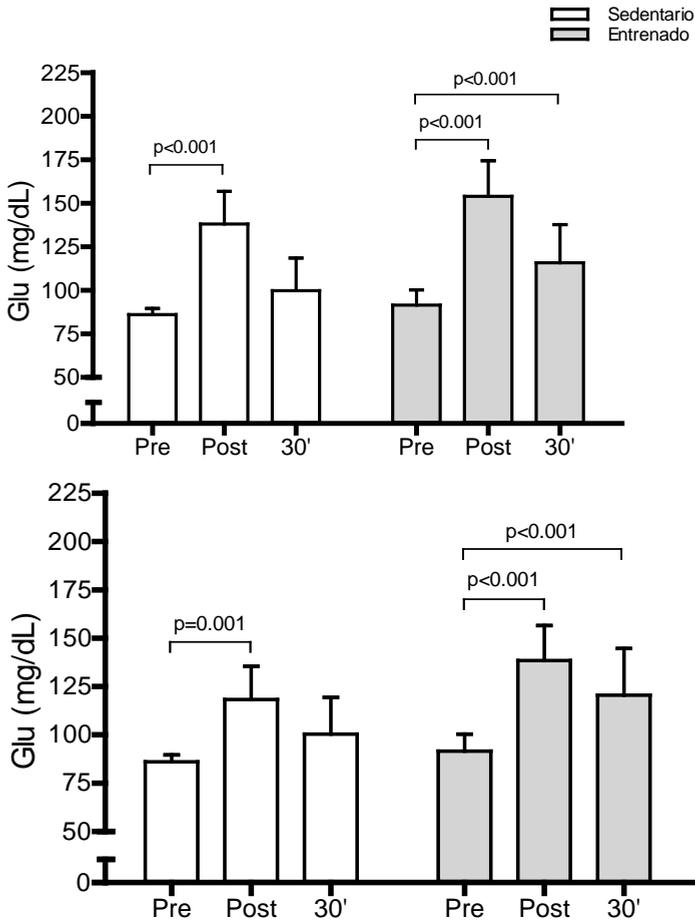


Figura 39. Efecto del protocolo de ejercicio sobre la concentración de glucosa (Glu) en los sujetos del grupo sedentario (barras blancas) y en los sujetos del grupo entrenado (barras negras). Las comparaciones

significativas han sido señaladas. La altura de las columnas representa el valor medio y las barras de error la desviación típica.

Las concentraciones de Glu se vieron significativamente afectadas por el ejercicio en ambos grupos (sedentario $F_{2,16}=41.722$, $p<0.001$; entrenado $F_{2,28}=97.054$, $p<0.001$; **Figura 39**) sin que el grado de entrenamiento indujera diferencias significativas ($F_{2,44}=0.955$, $p=0.378$). Las concentraciones de Glu corregidas por la hemoconcentración aún mostraron efecto del ejercicio ($F_{2,16}=15.588$, $p<0.001$; entrenado $F_{2,28}=51.609$, $p<0.001$; **Figura 39**) sin diferencias entre los dos grupos ($F_{2,44}=2.058$, $p=0.140$).

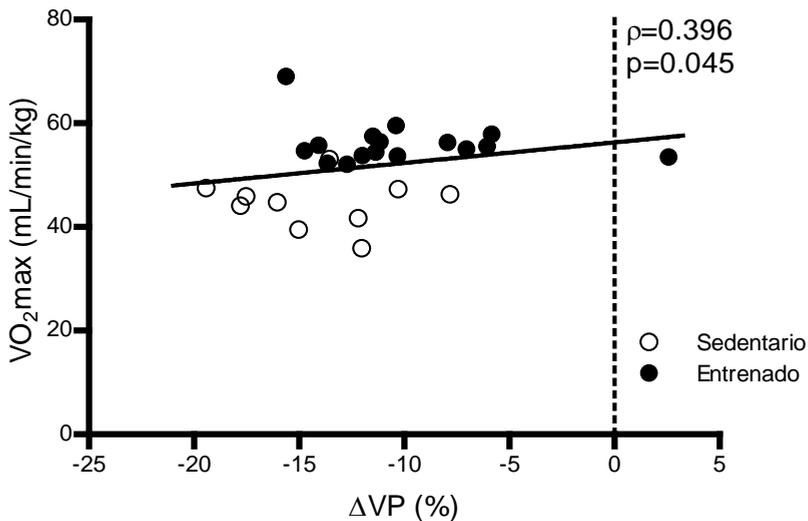


Figura 40. Correlación entre el cambio del volumen plasmático tras el ejercicio (ΔVP) y el consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) en todos los sujetos (sedentario: símbolos blancos, entrenados: símbolos negros).

El VO_2max en la prueba incremental máxima correlacionó positivamente con el ΔVP tras el ejercicio ($r=0.396$, $p=0.045$, **Figura 40**).

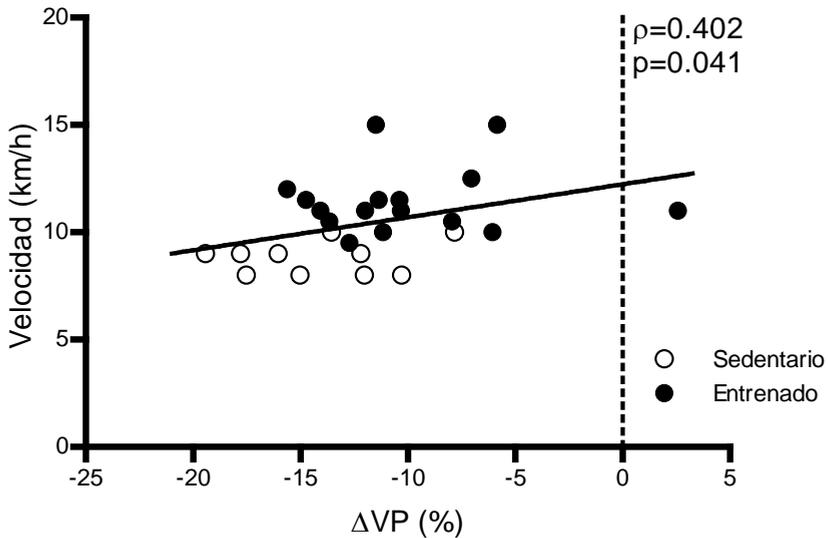


Figura 41. Correlación entre el cambio del volumen plasmático tras el ejercicio (ΔVP) y la velocidad de carrera en el protocolo de ejercicio en todos los sujetos (sedentario: símbolos blancos, entrenados: símbolos negros).

La velocidad de carrera elegida por los sujetos en la prueba incremental máxima se vio correlacionada positivamente con el ΔVP tras el ejercicio ($r=0.402$, $p=0.041$, **Figura 41**).

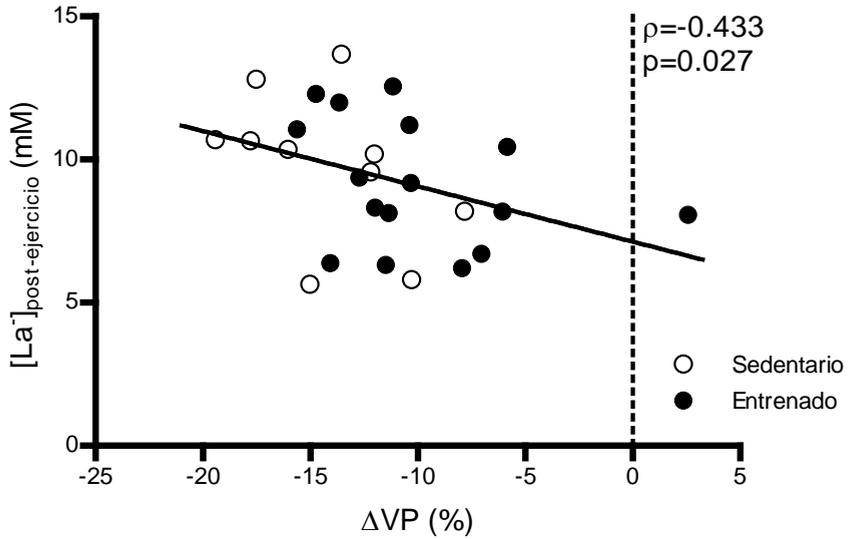


Figura 42. Correlación entre el cambio del volumen plasmático tras el ejercicio (ΔVP) y la concentración de lactato sanguíneo (La^-) al acabar el protocolo de ejercicio en todos los sujetos (sedentario: símbolos blancos, entrenados: símbolos negros).

La concentración de La^- sanguíneo justo al acabar la prueba incremental máxima correlacionó negativamente con el ΔVP tras el ejercicio ($r = -0.433$, $p = 0.027$, **Figura 42**).

Resultados obtenidos en la fase experimental 3

Para dar respuesta al **objetivo 5** (*evaluar el efecto que ejerce un programa de entrenamiento sobre la hemoconcentración provocada por un ejercicio de alta intensidad*), comparamos la hemoconcentración inducida por un esfuerzo exhaustivo (15' 110% vUAN) antes y después de un periodo de entrenamiento de 8 semanas (grupo entrenamiento). Como control, Se seleccionó un grupo de sujetos (grupo control) en el que se analizó la hemoconcentración inducida por el mismo tipo de ejercicio antes y después de un periodo de 8 semanas en el que estos sujetos no realizaron entrenamiento alguno.

Al comienzo de la fase experimental 3, los sujetos en el grupo control y en el grupo entrenamiento presentaron una edad (control 19.5 (19.5 – 30.5) años, entrenamiento 20.0(19.0 – 23.0) años, $U=12.000$, $p=0.747$) y altura similares (control 1.77 (1.73 – 1.78) m, entrenamiento 1.75 (1.72 – 1.78) m, $U=11.500$, $p=0.694$).

Tabla 16. Efectos del periodo de 8 semanas sobre el peso, IMC y PA en los sujetos del grupo control y entrenamiento.

| | Semana 0 | | Semana 8 | |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| | Control | Entrenamiento | Control | Entrenamiento |
| Peso (kg) | 70.6 (68.3-79.0) | 72.4 (65.3-79.9) | 69.5 (66.9-79.9) | 71.8 (65.6-79.2) |
| IMC (kg/m ²) | 22.4 (22.0-26.1) | 24.8 (22.1-25.6) | 22.3 (21.2-26.4) | 24.3 (22.2-25.7) |
| PAD (mmHg) | 82 (75-90) | 85 (76-86) | 80 (71-100) | 77 (72-83) |
| PAS (mmHg) | 133 (114-141) | 138 (132-148) | 132 (120-142) | 131 (118-137)* |

PAD: presión arterial diastólica, PAS: presión arterial sistólica. * p=0.049 vs semana 0.

El periodo de 8 semanas no produjo ningún efecto sobre el peso ($z=0.000$, $p=1.000$), IMC ($z=0.000$, $p=1.000$), PAD, ($z=-0.365$, $p=0.878$) y PAS ($z=-0.552$, $p=0.745$) en los sujetos en el grupo control (**Tabla 16**). En el caso de los sujetos que realizaron en el protocolo de entrenamiento, la TAS disminuyó ligeramente ($z=-2.302$, $p=0.049$), mientras que no encontramos efectos significativos en peso ($z=-0.085$, $p=0.969$), IMC ($z=-0.085$, $p=0.969$) y PAD ($z=-1.183$, $p=0.297$). No encontramos diferencias significativas entre los sujetos de ambos grupos antes o después del periodo de 8 semanas en el peso, IMC, PAD y PAS ($p \geq 0.412$).

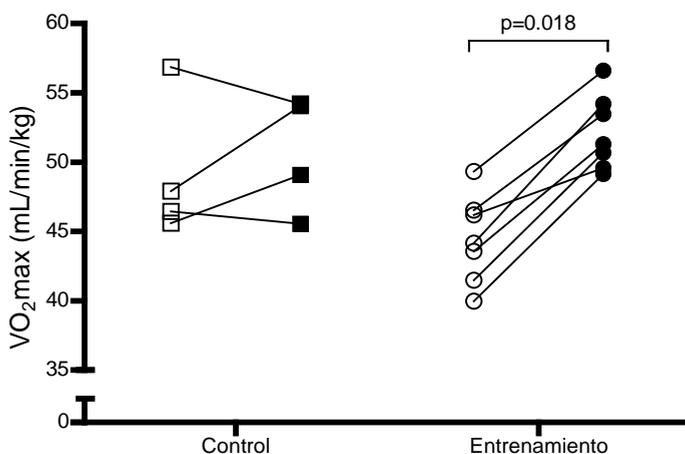


Figura 43. Efecto del periodo de 8 semanas en el consumo máximo de oxígeno ($VO_2\max$) en cada los sujetos del grupo control (cuadrados) y del grupo entrenamiento (círculos). Los símbolos vacíos representan los valores previos mientras que los símbolos completos representan los valores posteriores al periodo de 8 semanas. Las diferencias significativas entre las distribuciones previas y posteriores han sido señaladas.

Antes del periodo de 8 semanas no observamos diferencias significativas entre los sujetos del grupo control y del grupo entrenamiento en el $VO_2\max$ ($U=6.000$, $p=0.131$; **Figura 43**), la posición del UAn expresado como porcentaje del $VO_2\max$ ($U=11.000$, $p=0.571$), el número de estadios completados ($U=8.000$, $p=0.254$), el coeficiente respiratorio máximo (CRmax) alcanzado ($U=6.000$, $p=0.130$), la concentración máxima de La^- ($U=8.000$, $p=0.254$) y la FCmax alcanzada durante la prueba ($U=14.000$, $p=1.000$; **Tabla 17**). Tras el periodo de entrenamiento de 8 semanas, los sujetos en el grupo entrenamiento vieron incrementado el $VO_2\max$ ($z=-2.366$, $p=0.018$; **Figura 43**) así como el número de estadios

completados ($z=-2.214$, $p=0.027$) en la prueba incremental (**Tabla 17**). Sin embargo, ninguna variable en el grupo control se vio afectada por el periodo de 8 semanas ($p\geq 0.066$).

Tabla 17. Efectos del periodo de 8 semanas sobre los parámetros obtenidos en la prueba incremental máxima.

| | Semana 0 | | Semana 8 | |
|-------------------------------|------------------|------------------|-------------------|------------------|
| | Control | Entrenamiento | Control | Entrenamiento |
| UAn (%VO ₂ max) | 92.3 (79.7-94.1) | 90.4 (87.1-91.3) | 87.1 (81.8-88.1) | 85.8 (83.6-88.9) |
| Nº estadios | 26 (23-29) | 24 (20-25) | 23 (20-26) | 25 (24-28)* |
| CRmax | 1.18 (1.14-1.22) | 1.14 (1.11-1.16) | 1.12 (1.10-1.14) | 1.12 (1.1-1.17) |
| [La-]max | 11.3 (9.9-15.8) | 10.6 (9.4-13.5) | 11.3 (10.0-14.75) | 11.1 (10.0-13.1) |
| FCmax (lpm) | 189 (183-193) | 191 (168-195) | 180 (154-189) | 187 (184-199) |

UAn: umbral anaeróbico, CR: coeficiente respiratorio, FC: frecuencia cardíaca máxima. * $p=0.027$ vs semana 0.

Los parámetros hematológicos y bioquímicos antes del periodo de 8 semanas no fueron diferentes significativamente entre los sujetos del grupo control y del grupo entrenamiento (RBC $U=11.500$, $p=0.636$; Hb $U=8.000$, $p=0.255$; Hto $U=12.000$, $p=0.705$; VCM $U=10.000$, $p=0.450$; HCM $U=12.000$, $p=0.705$, CHCM $U=5.000$, $p=0.089$; Glu $U=4.000$, $p=0.058$; CT $U=10.000$, $p=0.450$; Tg $U=12.000$, $p=0.705$; creatinina $U=8.000$, $p=0.256$; urea $U=10.500$, $p=0.506$; **Tabla 18**). En el grupo control, ninguno de los parámetros se vio afectado por el periodo de 8 semanas ($p\geq 0.141$). El periodo de entrenamiento

de 8 semanas tuvo efecto sobre el VCM ($z=-2.197$, $p=0.028$) y la HCM ($z=-2.003$, $p=0.045$; **Tabla 18**).

Tabla 18. Efecto del periodo de 8 semanas en los parámetros hematológicos y bioquímicos en los sujetos del grupo control y entrenamiento.

| | Semana 0 | | Semana 8 | |
|--------------------------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|
| | Control | Entrenamiento | Control | Entrenamiento |
| RBC ($\times 10^6/\mu\text{L}$) | 5.0 (4.8-5.1) | 4.9 (5.5-4.8) | 4.8 (5.1-4.5) | 4.8 (5.3-4.8) |
| Hb (g/dL) | 14.0 (13.6-14.8) | 15.0 (13.9-15.3) | 13.6 (12.8-14.9) | 14.9 (13.7-15.4) |
| Hto (%) | 42.4 (41.8-43.9) | 43.9 (41.3-44.7) | 41.4 (39.4-44.5) | 43.3 (40.4-45.1) |
| VCM (fL) | 86 (85-88) | 84 (83-89) | 87 (86-88) | 85 (83-90)* |
| HCM (pg) | 28.6 (27.6-29.6) | 28.4 (27.3-31.1) | 28.7 (27.9-29.5) | 28.7 (27.6-31.4)* |
| CHCM (g/dL) | 33.1 (32.4-33.8) | 33.9 (33.6-34.8) | 32.9 (32.3-33.7) | 33.8 (33.1-34.4) |
| CT (mg/dL) | 141 (136-171) | 165 (144-171) | 137 (129-171) | 151 (134-155) |
| Tg (mg/dL) | 59 (38-78) | 62 (59-69) | 61 (46-76) | 60 (46-72) |
| Glu (mg/dL) | 80 (78-84) | 88 (80-91) | 80 (78-82) | 86 (82-87) |
| Creatinina (mg/dL) | 0.88 (0.77-1.01) | 0.93 (0.89-1.15) | 0.90 (0.775-1.01) | 0.99 (0.85-1.05) |
| Urea (mg/dL) | 38 (27-47.5) | 38 (32-62) | 33 (27-36) | 39 (31-47) |

RBC, recuento glóbulos rojos, Hb: hemoglobina, Hto: hematocrito, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media, CT: colesterol total, Tg: triglicéridos, Glu: glucosa. * $p<0.05$ vs semana 0.

Tanto antes como después del periodo de 8 semanas, los parámetros del protocolo de ejercicio (**Tabla 19**) no difirieron entre los sujetos del grupo control y del grupo entrenamiento

($p \geq 0.174$). El periodo de 8 semanas no tuvo efecto sobre estos parámetros, ni en el grupo control ($p \geq 0.068$) ni en el entrenado ($p \geq 0.080$; **Tabla 19**).

Tabla 19. Características del protocolo de ejercicio antes y después del periodo de 8 semanas en los sujetos del grupo control y del grupo entrenamiento.

| | Semana 0 | | Semana 8 | |
|------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Control | Entrenamiento | Control | Entrenamiento |
| Tiempo prueba (min) | 14.6(13.2-15.0) | 15.0(13.5-15.0) | 14.0(12.5-15.0) | 15.0(12.5-15.0) |
| $[La^-]_{final}$ (mM) | 11.6(10.0-12.6) | 9.3(8.0-11.5) | 11.8(10.5-12.3) | 10.8(10.0-12.9) |
| Velocidad test (km/h) | 13.6(12.4-14.5) | 12.9(11.2-13.5) | 12.6(11.4-14.4) | 14.3(13.2-14.6) |
| Velocidad test (% vUAn) | 110(106-110) | 110(97-114) | 110(109-110) | 110(98-112) |
| FC_{final} (lpm) | 188(180-191) | 190(174-199) | 186(174-186) | 186(184-202) |
| FC_{final} (% FC_{max}) | 99(98-100) | 98(97-100) | 98(97-100) | 100(99-100) |

La^- : lactato, vUAn: velocidad umbral anaeróbico, FC: frecuencia cardíaca,

En los sujetos del grupo control encontramos un efecto significativo del protocolo de ejercicio sobre los niveles de Hb tanto antes ($\chi^2(2)=6.500$, $p=0.039$) como después ($\chi^2(2)=6.000$, $p=0.049$) del periodo de 8 semanas (**Figura 44**). En el grupo entrenamiento, encontramos un efecto significativo del protocolo de ejercicio sobre Hb únicamente después del periodo de 8 semanas (pre $\chi^2(2)=4.846$, $p=0.089$, post $\chi^2(2)=9.407$, $p=0.009$; **Figura 44**).

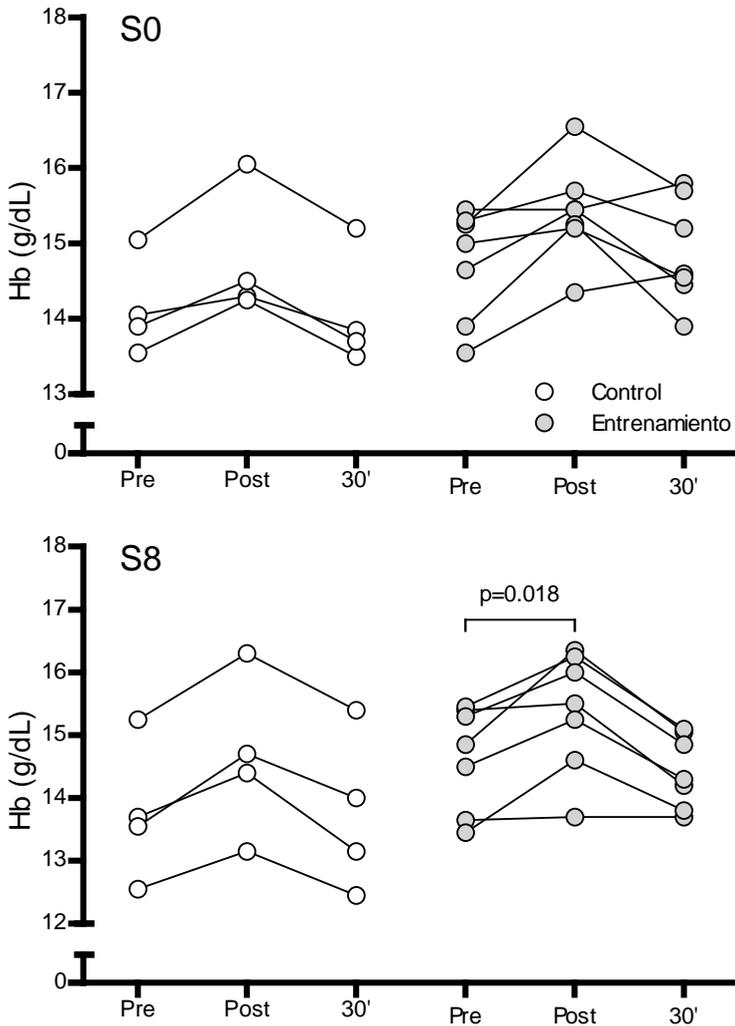


Figura 44. Efecto del protocolo de ejercicio sobre los niveles de hemoglobina (Hb) antes (arriba) y después (abajo) del periodo de 8 semanas, en cada uno de los sujetos del grupo control (símbolos vacíos) y del grupo entrenamiento (símbolos sombreados). Han sido señaladas las comparaciones por pares mediante el test de Wilcoxon.

Sin embargo. Las comparaciones por pares con los niveles pre-ejercicio, mediante el test de Wilcoxon, solo revelaron

diferencias significativas en los niveles post-ejercicio en sujetos del grupo entrenamiento en la semana 8 ($z=-2.366$, $p=0.018$; **Figura 44**).

El protocolo de ejercicio tuvo efecto sobre el Hto tanto antes ($\chi^2(2)=6.500$, $p=0.039$) como después ($\chi^2(2)=6.000$, $p=0.049$) del periodo de 8 semanas en los sujetos del grupo control. Sin embargo el test de Wilcoxon no señaló ninguna comparación significativa con los niveles pre-ejercicio por pares ($p \geq 0.068$; **Figura 45**). En el grupo entrenamiento, encontramos efecto significativo del protocolo de ejercicio sobre el Hto únicamente después de las 8 semanas de entrenamiento (pre $\chi^2(2)=3.429$, $p=0.180$, post $\chi^2(2)=11.143$, $p=0.004$). Las comparaciones por pares revelaron diferencias significativas de los niveles post-ejercicio comparados con los basales en la semana 8 ($z=-2.366$, $p=0.018$, **Figura 45**).

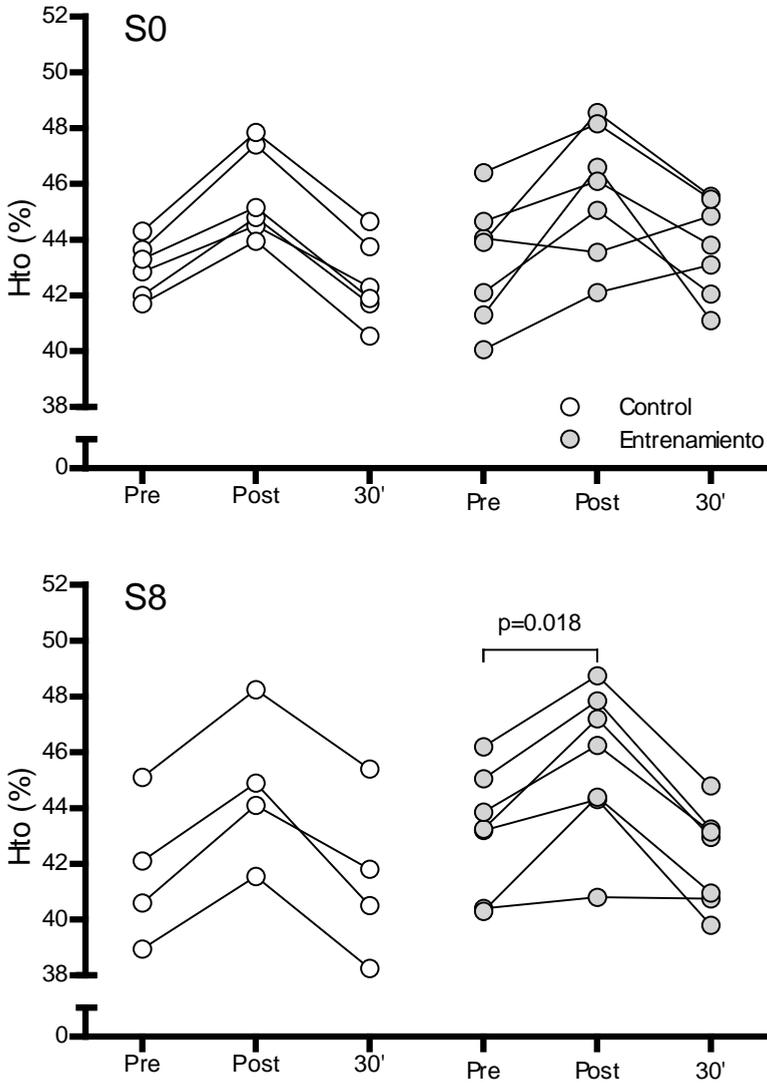


Figura 45. Efecto del protocolo de ejercicio sobre el hematocrito (Hto) antes (arriba) y después (abajo) del periodo de 8 semanas, en cada uno de los sujetos del grupo control (símbolos vacíos) y del grupo entrenamiento (símbolos sombreados). Han sido señaladas las comparaciones por pares mediante el test deWilcoxon.

Antes del periodo de 8 semanas, la ΔVP justo al acabar el protocolo de ejercicio no fue significativamente diferente al comparar los sujetos del grupo control y del grupo entrenamiento ($U=14.000$, $p=1.000$; **Figura 46**). Al comparar la hemoconcentración inducida por el ejercicio antes y después de las 8 semanas en cada uno de los grupos, no encontramos diferencias significativas ni en el grupo control ($z=-0.730$, $p=0.465$) ni en el grupo entrenamiento ($z=0.000$, $p=1.000$; **Figura 46**)

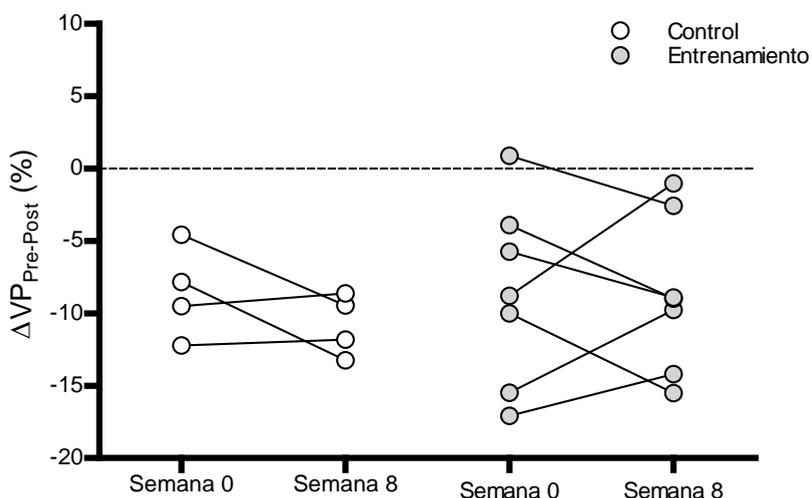


Figura 46. Cambio del volumen plasmático (ΔVP) justo al acabar el protocolo de ejercicio, antes y después del periodo de 8 semanas, en cada uno de los sujetos del grupo control (símbolos vacíos) y del grupo entrenamiento (símbolos sombreados).

Tras 30 minutos de recuperación, el ΔVP en relación con los niveles pre-ejercicio no difirió entre los sujetos del grupo control y entrenamiento en la semana 0 ($U=10.000$, $p=0.450$, **Figura**

47). De forma parecida, no encontramos diferencia alguna inducida por el periodo de 8 semanas (control $z=-0.365$, $p=0.715$; entrenamiento $z=-1.183$, $p=0.237$; **Figura 47**)

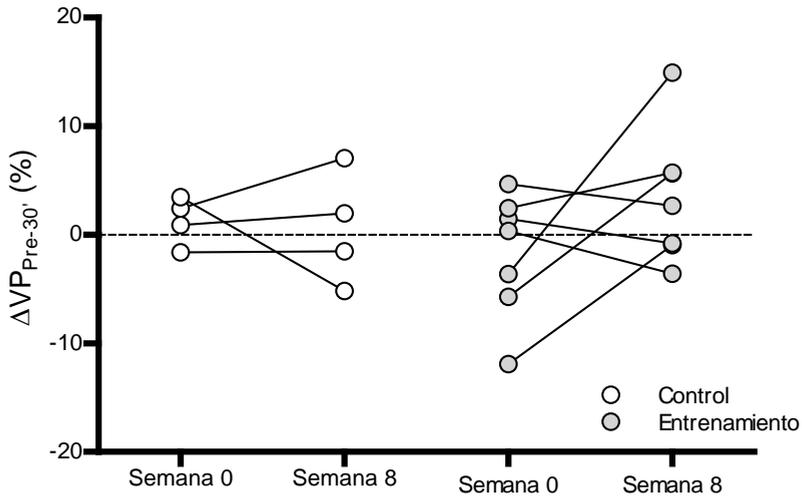


Figura 47. Cambio del volumen plasmático (ΔVP) tras 30' de recuperación, antes y después del periodo de 8 semanas, en cada uno de los sujetos del grupo control (símbolos vacíos) y del grupo entrenamiento (símbolos sombreados).

DISCUSSION

Discusión de resultados relativos al objetivo 1.

Durante la primera fase experimental, los participantes fueron sometidos a dos protocolos de ejercicio diferentes. Una sesión de ejercicio tipo HIT y una sesión de ejercicio continuo, las dos realizadas en tapiz rodante. Ambos protocolos de ejercicio tuvieron efecto sobre los niveles de Hb y Hto, como se puede observar en la **Figura 23**. Sin embargo, la magnitud de la hemoconcentración observada en tras el protocolo HIT (-6.40 %) fue mayor que la observada tras el protocolo de ejercicio AER (-3.11 %; $p=0.045$).

Estos datos apuntan a que la magnitud de la hemoconcentración está directamente relacionada con la intensidad del ejercicio. Esto es decir, cuanto mayor es la intensidad mayor es la respuesta en hemoconcentración. De hecho, experimentos previos apoyan esta observación. Pruebas incrementales hasta la extenuación provocan importantes ΔVP ya sea en tapiz rodante (-14 %) (van Beaumont 1973) o en ciclo ergómetro (-18 %) (Berthoin et al. 2003). De la misma forma, estudios que han empleado bajas intensidades de esfuerzo han descrito una menor hemoconcentración. Por ejemplo, 50 minutos de ejercicio en cicloergómetro al 55 % de la potencia máxima aeróbica indujo un ΔVP aproximadamente del -4 % (Bocqueraz et al. 2004),

cercano a lo observado en nuestro estudio durante el protocolo AER.

Dos estudios previos, aunque realizados en ciclo ergómetro, han mostrado la relación entre la intensidad del esfuerzo y la magnitud de la hemoconcentración. (Greenleaf et al. 1977) observaron en 6 sujetos que tras 60 minutos de esfuerzo, el ΔVP era creciente (-3.4 %, -4.5 % y -14.4 %) en función del porcentaje el VO_2max al que se situó la intensidad de pedaleo (23 %, 43 % y 63 % del VO_2max , respectivamente). De parecida forma, Convertino et al. (1981) observaron que cuanto mayor era la potencia absoluta a la que se fijaba la intensidad de pedaleo (100 W, 175 W, 225 W) mayor era la hemoconcentración inducida en los 15 sujetos que participaron en el estudio (-3.7 %, -8.8 % y -12.4 %). Esta relación también se ha observado en otro modelo de esfuerzo como es el de de resistencia a la fuerza. Manteniendo los mismos ejercicios así como los tiempos de trabajo y de descanso, al aumentar la intensidad, como el porcentaje de una repetición máxima (1-RM), se observó un aumento de la hemoconcentración inducida por el ejercicio (40 % 1-RM -7.7 %, 50 % 1-RM -10.7 %, 60 % 1-RM -12.1 % y 70 % 1-RM 13.9 %) en 15 sujetos (Collins et al. 1989). Sin embargo, esta relación no había sido establecida en un estudio en tapiz rodante.

La magnitud de la filtración de agua desde el espacio intravascular hacia el líquido intersticial es función de la

diferencia de presiones hidrostáticas así como de las diferencias de presión osmótica entre el espacio vascular y el intersticial, además del área disponible para el intercambio y de la conductividad de la membrana capilar. Durante el ejercicio, la contracción produce un incremento de la osmolaridad en el tejido muscular y por tanto de la osmolaridad del fluido que lo rodea (Sjogaard 1983). Esto contribuye a un aumento de la migración neta de agua desde el espacio vascular al intersticial (Sjogaard and Saltin 1982). En paralelo, las demandas metabólicas del tejido muscular en contracción son satisfechas gracias al incremento del flujo sanguíneo local (Joyner and Wilkins 2007). La liberación de metabolitos produce una vasodilatación local en el tejido muscular que puede llegar hasta 20 veces los niveles basales (Sarelius and Pohl 2010). Este aumento del reclutamiento capilar incrementa la superficie disponible para el intercambio de líquido y por tanto contribuye a la reducción del VP. Por otro lado, el efecto sistémico del ejercicio aumenta el GC, y por tanto la presión hidrostática en el espacio vascular. Este factor contribuye a una mayor migración de líquido a través de la membrana capilar y, por tanto, a la hemoconcentración inducida por el ejercicio.

Estos factores son dependientes de la intensidad de la contracción muscular. Cuanto más requerido es el tejido muscular, mayor será el reclutamiento capilar, la producción de metabolitos y por tanto la osmolaridad intersticial. De parecida

forma, cuanto mayor sea la implicación central del sistema cardiovascular debida a la intensidad del ejercicio, mayor será la presión en el extremo arterial de los capilares en el tejido muscular. Sin embargo, hay que destacar que tanto este como la gran mayoría de los experimentos realizados previamente han determinado la hemoconcentración mediante la determinación de Hb y Hto en sangre venosa obtenida de la fosa antecubital; mientras que los modelos de ejercicio más utilizados, ciclo ergómetro y tapiz rodante, implican de forma mayoritaria la musculatura del tren inferior. Por tanto, hay que suponer que son los factores centrales (aumento de la PA) los que contribuyen de forma mayoritaria a la hemoconcentración observada en nuestro estudio.

En línea con este razonamiento, las mayores magnitudes de ΔVP post ejercicio que hemos encontrado en la literatura científica corresponden a intensidad de ejercicio supramáximas. En un estudio realizado en cicloergómetro al 100 % o al 200 % de la potencia máxima desarrollada, con un diseño interválico, induce una hemoconcentración del 19 % (Bloomer and Farney 2013). En 8 sujetos que realizaron un esfuerzo *all out* en tapiz rodante se registró un ΔVP aproximadamente del -17.7 % (Tsampoukos et al. 2014).

Por tanto, los resultados obtenidos en la primera fase experimental relativos al objetivo 1 indican que la reducción del VP es dependiente de la intensidad del ejercicio, de forma que

cuanto mayor sea la intensidad mayor será la hemoconcentración inducida.

Discusión de resultados relativos al objetivo 2.

Durante la primera fase experimental, se determinó la VPlasm antes, justo después y tras 30 minutos tanto del protocolo de ejercicio AER como del HIT. Solo tras el protocolo de ejercicio HIT se detectó una alteración significativa de la VPlasm en comparación con los niveles basales (**Figura 25**), aumentando esta en aproximadamente un 3.7 %.

Adicionalmente se determinaron las concentraciones en suero de PT, Fbr, CT, Tg y Glu, importantes determinantes de la VPlasm (Baskurt 2007; Connes et al. 2013). Tras el protocolo de ejercicio HIT, las concentraciones de PT, Tg y Glu aumentaron significativamente. Aunque cuando se descontó el efecto de la hemoconcentración, solo los niveles de Glu aumentaron significativamente (**Figura 30**). El protocolo de ejercicio AER no causó alteraciones significativas en los valores circulantes de las especies determinadas, excepto en los niveles de CT corregidas por la pérdida del VP que se encontraron disminuidos tras los 60 minutos de ejercicio al 55 % del $VO_2\text{max}$ (**Figura 28**). Probablemente, la disminución de CT tras el ejercicio pueda estar relacionada con las demandas metabólicas de este modelo de ejercicio, lo que contrasta con

la elevación de los niveles de Glu en el protocolo HIT, probablemente debido a la activación adrenérgica inducida por las altas intensidades de esfuerzo. Los valores de La^- post ejercicio ponen de manifiesto los diferentes requerimientos metabólicos de ambos protocolos.

Estudios previos han detectado incrementos similares de la VPlasm tras ejercicio. Tras 1 minuto pedaleando a una intensidad de 110% del VO_2max (Connes 2006) o tras 30 minutos al 70-75 % de la $FCmax$ (Ahmadizad et al. 2011) se han detectado aumentos de la VPlasm equivalentes a los descritos en este estudio tras el protocolo HIT.

Los datos obtenidos en esta fase experimental indican que el incremento de la VPlasm tras el ejercicio HIT está relacionado con el incremento de las concentraciones circulantes de macromoléculas, que, debido a las interacciones entre ellas, tienen un importante efecto aumentando la VPlasm (Baskurt 2007; Connes et al. 2013). Sin embargo, los datos de estas concentraciones corregidos por la pérdida de VP ponen de manifiesto que, lejos de aumentar la cantidad de estas moléculas tras el protocolo HIT (excepto en el caso de la Glu), la disminución de la cantidad de disolvente es el causante del aumento de estas concentraciones. Por tanto, la hemoconcentración inducida por el ejercicio parece ser responsable del incremento de la VPlasm tras el protocolo HIT. Como se discutió en el objetivo 1, la intensidad de ejercicio

determina el ΔVP y esta es menor en durante el ejercicio AER que el HIT.

Por tanto, los datos recogidos en la primera fase experimental relativos al objetivo 2 indican que el incremento de la VPlasm tras el protocolo HIT está relacionado con la intensidad del ejercicio, probablemente mediante la reducción del VP.

Discusión de resultados relativos al objetivo 3.

Durante la primera fase experimental analizamos, en ambos protocolos de ejercicio, la correlación entre el ΔVP y la respuesta de la VPlasm. En el protocolo de ejercicio AER no encontramos correlación significativa entre el ΔVP y la respuesta de la VPlasm ni en términos absolutos o relativos a los niveles pre ejercicio (**Figura 31**). Como se discutió en el objetivo 2, no detectamos efecto significativo en la VPlasm en la medida post ejercicio en este protocolo. Por lo que parece que la intensidad de ejercicio no fue suficiente para causar efecto significativo en la VPlasm, probablemente debido a que la hemoconcentración inducida no fue de la suficiente magnitud.

Sin embargo, en el protocolo de ejercicio HIT, la hemoconcentración inducida por el ejercicio correlacionó significativamente con la respuesta de la VPlasm al ejercicio,

tanto en términos absolutos como relativos a los valores basales (**Figura 32**). En este caso, el esfuerzo al que se sometió a los participantes tuvo la intensidad necesaria como para inducir un ΔVP suficiente para tener efecto en la VPlasm. La correlación entre estas variables, así como los datos discutidos en el objetivo 2, indican la estrecha relación entre la hemoconcentración inducida por el ejercicio y la respuesta de la VPlasm. Sin embargo, parece que esta relación es dependiente de la intensidad del ejercicio.

Por tanto, los datos recogidos en la primera fase experimental relativos al objetivo 3 indican que la respuesta de la VPlasm es dependiente de la hemoconcentración inducida por el ejercicio cuando la intensidad es la suficiente como para causar un incremento significativo de la VPlasm.

Discusión de resultados relativos al objetivo 4.

Durante la segunda fase experimental, sujetos sedentarios y sujetos entrenados fueron sometidos a una prueba incremental máxima en tapiz rodante. Antes, justo al acabar y tras 30 minutos de recuperación se determinaron los niveles de Hb y Hto para determinar el efecto del protocolo de ejercicio en el VP. Treinta sujetos fueron incluidos, aunque 4 de ellos, pertenecientes todos al grupo de sujetos entrenados, fueron excluidos del estudio ya que la prueba no se consideró máxima

según los criterios establecidos con anterioridad a la realización del estudio (Wasserman et al. 2005).

Ambos grupos de sujetos presentaron diferencias en el peso e IMC (**Tabla 13**) aunque no presentaron diferencias significativas en los parámetros hematológicos y bioquímicos, con la excepción de la glucemia (**Tabla 14**) previamente a la realización del protocolo de ejercicio. Sin embargo, el grado de entrenamiento indujo un efecto significativo en los parámetros de rendimiento recogidos en la prueba incremental máxima (**Tabla 15**).

En ambos grupos, los niveles de Hb y Hto al finalizar el ejercicio fueron significativamente mayores que los niveles basales (**Figura 33** y **Figura 34**). En concordancia con estos datos, se registró un ΔVP negativo tras el ejercicio en ambos grupos. Sin embargo, la magnitud del ΔVP , fue menor en los sujetos del grupo entrenado (-10.12 ± 4.51 %) que en los del grupo sedentario (-14.17 ± 3.66 %; **Figura 35**). Por tanto, el grado de entrenamiento parece tener un efecto protector ante la hemoconcentración inducida por un esfuerzo máximo en tapiz rodante.

La magnitud de la hemoconcentración observada en esta fase experimental concuerda con la observada en estudios previos con diseños experimentales similares. En 7 sujetos que realizaron una prueba incremental máxima en tapiz rodante se

observó un ΔVP de aproximadamente un -11 % (Hew-Butler et al. 2008b). De forma parecida pero en ciclo ergómetro se observó una hemoconcentración del 12.9 % en 10 sujetos (Mannix et al. 1990).

Determinamos los niveles circulantes de PT, CT, Tg y Glu antes, justo al acabar y tras 30 minutos de cesar el test incremental máximo. No encontramos diferencias entre los grupos en cuanto al efecto de ejercicio en las concentraciones de estas especies, corregidas o no por el ΔVP . Por tanto, estos datos apuntan a un efecto similar sobre la $VPlasm$ en ambos grupos, aunque no pudimos determinar esta variable en la segunda fase experimental.

Al analizar la asociación del ΔVP con los parámetros de rendimiento obtenidos en la prueba incremental máxima observamos una correlación significativa con el VO_2max (**Figura 40**), la velocidad de carrera (**Figura 41**) y el La^- post ejercicio (**Figura 42**). La asociación del ΔVP con el VO_2max y con la velocidad de carrera es positiva, por lo que a menor hemoconcentración mayor VO_2max y mayor velocidad de carrera seleccionada para realizar la prueba. Ambas variables presentaron un efecto del grado de entrenamiento (**Tabla 15**). Por lo tanto, podemos suponer que se establece una relación entre el grado de entrenamiento y la hemoconcentración. De esta forma, cuanto mayor sea el grado de entrenamiento del

sujeto, menor será la hemoconcentración inducida por una prueba incremental máxima.

La correlación entre el La^- post ejercicio y el ΔVP es inversa, por lo que cuanto mayor sea la hemoconcentración inducida por el ejercicio mayor será la concentración de este anión en sangre. Esta relación parece indicar una asociación de la filtración de líquido en el tejido muscular con la intensidad del ejercicio, ya que no se encontraron diferencias significativas entre el grupo de sujetos entrenados y el grupo de sujetos sedentarios en el La^- post ejercicio (**Tabla 15**).

Como ya señalamos anteriormente, en este estudio, la hemoconcentración se ha estimado mediante el cambio de los niveles de Hb y Hto en sangre venosa obtenida de la fosa antecubital. Aunque que el tipo de ejercicio aplicado, carrera a pie, implica a la mayoría de músculos, el nivel de requerimiento del paquete muscular irrigado por los vena antecubital no es elevado. Por lo que suponemos que el ΔVP detectado será función de factores centrales y por tanto, que las diferencias observadas entre sujetos sedentarios y entrenados se deberán a estos factores.

En la prueba incremental máxima, la FC_{max} que alcanzaron los sujetos sedentarios fue mayor que la que desarrollaron los sujetos entrenados (**Tabla 15**). Por lo tanto, es posible que la presión hidrostática en el extremo arterial de los capilares en el

tejido muscular, fuera más elevada en los sujetos sedentarios que en los entrenados, y que esto tuviera efecto sobre la filtración de fluido hacia el intersticio. Sin embargo, es conocido que la PA es función del GC y de la resistencia ejercida por el árbol vascular, en todos sus niveles. Por tanto son varios los factores, a parte de la FC, que pueden verse influidos por la práctica regular de actividad física y que podrían jugar un papel en la regulación de la presión hidrostática en el extremo arterial de los capilares.

Una de las adaptaciones que induce el entrenamiento orientado a actividades de resistencia es el aumento del VS y por tanto del GC a una cierta FC. Aunque no disponemos de datos relativos a esta variable hay que suponer que los sujetos del grupo entrenado presentarán un mayor VS ya que eran fueron reclutados entre atletas y triatletas con un nivel de práctica de más de 12 horas semanales. La diferencia en la FCmax promedio entre los sujetos sedentarios y entrenados fue del orden de 10 lpm (**Tabla 15**). Sin embargo, no podemos conocer si esta diferencia de FC es suficiente como superar el efecto de un hipotético mayor VS en los entrenados y, por tanto, cual sería la diferencia de GC en la prueba incremental máxima entre sujetos sedentarios y entrenados. De igual forma no tenemos datos sobre PA durante la prueba incremental máxima en ambos grupos. Sin embargo, ha sido previamente demostrado que el entrenamiento de resistencia induce una

reducción de la PA debido a una disminución de la resistencia vascular como efecto de una regulación a la baja del sistema nervioso simpático y del sistema renina-angiotensina (Cornelissen and Fagard 2005). La disminución de la resistencia vascular en sujetos entrenados puede ser el factor, independientemente del GC, que pudiera explicar la diferencia en la magnitud de la hemoconcentración observada debida al grado de entrenamiento, ya que una resistencia vascular más elevada acarrearía una mayor PA y por tanto una mayor presión hidrostática en el extremo arterial de los capilares y, consecuentemente, una mayor filtración de líquido al espacio intersticial.

Por tanto, los datos recogidos en la segunda fase experimental relativos al objetivo 4 indican que el grado de entrenamiento reduce el efecto sobre el VP causado por una prueba incremental máxima.

Discusión de resultados relativos al objetivo 5.

En la tercera fase experimental reclutamos 16 sujetos a los que se sometió a un protocolo de entrenamiento (8 sujetos, grupo entrenamiento) o fueron incluidos en el grupo control (8 sujetos). Antes y después de este periodo de 8 semanas, se registró la hemoconcentración inducida por un test de ejercicio

en tapiz rodante al 110% de la vUAN mediante la variación de los niveles de Hb y Hto.

El análisis de los datos recogidos indica que el periodo de entrenamiento no tuvo efecto sobre la hemoconcentración inducida por el test de ejercicio (**Figura 46**). Uno de los sujetos en el grupo entrenamiento no completó el estudio, con lo que el tamaño muestral en este grupo se redujo a 7. De estos sujetos, 3 de ellos presentaron una tendencia a reducir el impacto en hemoconcentración del protocolo de ejercicio, mientras que los 4 restantes presentaron la tendencia contraria (**Figura 46**).

El grupo control presentó una alta muerte experimental (50 %). De los 4 sujetos que acabaron el estudio, dos no presentaron efecto de las 8 semanas en la hemoconcentración mientras que los otros dos sujetos presentaron un ligero aumento en la magnitud del ΔVP registrado.

Estos datos contrastan con los obtenidos en la segunda fase experimental, en la que observamos un efecto del grado de entrenamiento sobre la hemoconcentración ejercida por una prueba incremental máxima en tapiz rodante. Sin embargo, son varios los factores a los que se puede atribuir la falta de concordancia entre las observaciones relativas a los objetivos 4º y 5º.

En primer lugar, la muerte experimental en la tercera fase experimental, como ya hemos comentado, fue muy alta. Esto,

obligó a realizar los análisis estadísticos con pruebas no paramétricas, lo que reduce la potencia estadística. Sin embargo, la observación de las variaciones individuales del ΔVP en los test de ejercicio antes y después de las 8 semanas no indica un efecto homogéneo del periodo de entrenamiento. Por lo que no parece que el problema sea la sensibilidad de la prueba estadística para señalar como significativo el efecto del tratamiento experimental.

El test de ejercicio en esta fase experimental consistió en una prueba a intensidad estable (110 % vUAN), de 15 minutos de duración, mientras que en la segunda fase experimental se realizó una prueba incremental máxima, ambos tests en tapiz rodante. Aunque ambos protocolos de ejercicio son similares, el test incremental tiene la característica de llegar hasta el límite de la capacidad del sujeto mientras que el test de 15' resultó más o menos exhaustivo para cada sujeto en función de sus características individuales, a pesar de compartir una misma intensidad relativa (110 % vUAN). Esta intensidad se fijó antes y después del periodo de 8 semanas en función de los resultados en una prueba incremental máxima, por lo que desviaciones en el cálculo de la posición del UAN pueden haber inducido errores en la selección de la intensidad del test de ejercicio y, por tanto, ser una fuente de error con impacto en la hemoconcentración registrada que haya evitado detectar el efecto del entrenamiento. Un estudio realizado en 8 sujetos

adultos, analizó la hemoconcentración inducida por una prueba incremental hasta la extenuación y de un test al 120 % de la potencia aeróbica máxima, también hasta la extenuación, en ciclo ergómetro (Berthoin et al. 2003). Estos autores encontraron un menor efecto de hemoconcentración en la prueba al 120 % de la potencia aeróbica máxima (-18.7 % vs -16.9 %). Por tanto, parece que una prueba incremental induce una mayor reducción del VP independientemente del carácter exhaustivo de la prueba, lo que posiblemente tenga un efecto positivo en la reproductibilidad del test de ejercicio. Por esta razón, es posible que no hayamos podido detectar el efecto del entrenamiento en el ΔVP inducido por el test de ejercicio en esta fase experimental. En este sentido, no pudimos programar sesiones de familiarización de los sujetos tanto para las pruebas incrementales como para los test de ejercicio, lo que posiblemente hubiera reducido este error experimental. Esta circunstancia, junto con el reducido tamaño muestral de partida de los grupos control y entrenamiento, son debilidades de nuestro estudio en esta fase experimental.

Otra posibilidad a explorar es que el periodo de entrenamiento no hubiera causado las adaptaciones necesarias para inducir diferencias en el ΔVP tras el test de ejercicio. Sin embargo, varias observaciones nos hacen descartar esa idea. En primer lugar, el efecto del periodo de entrenamiento se vio reflejado en los datos recogidos en la prueba incremental máxima (**Figura**

43, Tabla 17), con lo que hay que suponer que diversos sistemas fisiológicos sufrieron las adaptaciones necesarias para permitir el aumento del consumo máximo de O₂. Además, observamos una modesta, pero significativa, reducción de la PAS en los sujetos del grupo entrenamiento (**Tabla 16**), lo que, como hemos discutido anteriormente, ha de ser un factor fundamental para interpretar el efecto del ejercicio en el ΔVP determinado en los cambios en Hb y Hto en sangre venosa obtenida de la fosa antecubital. Por estas razones, no creemos que la falta de efecto del periodo de entrenamiento sobre la hemoconcentración inducida por el protocolo de ejercicio sea debido a la falta de adaptación al entrenamiento. Sin embargo, cabe pensar que un periodo más largo de entrenamiento que hubiera inducido adaptaciones más importantes tanto en el sistema nervioso central como en el sistema cardiovascular, posiblemente hubiera tenido un efecto mayor sobre el ΔVP . Lo que hubiera podido sobrepasar el error experimental inducido por el tipo de test de ejercicio propuesto para esta fase experimental.

Por tanto, los datos recogidos en la tercera fase experimental relativos al objetivo 5 indican que un periodo de entrenamiento de 8 semanas no induce adaptaciones suficientemente importantes como para tener efecto sobre la hemoconcentración inducida por un test de ejercicio de 15 minutos al 110 % de la vUAN.

CONCLUSIONES

- En relación al **objetivo 1** concluimos que la reducción del volumen plasmático es dependiente de la intensidad del ejercicio, de forma que cuanto mayor sea la intensidad mayor será la hemoconcentración inducida.
- En relación al **objetivo 2** concluimos que el incremento de la viscosidad plasmática tras el protocolo de ejercicio tipo HIT está relacionado con la intensidad del ejercicio, mediado la reducción del volumen plasmático.
- En relación al **objetivo 3** concluimos que la respuesta de la viscosidad plasmática es dependiente de la hemoconcentración inducida por el ejercicio cuando la intensidad es la suficiente como para causar un incremento significativo de la viscosidad plasmática.

- En relación al **objetivo 4** concluimos que el grado de entrenamiento reduce el efecto sobre el volumen plasmático causado por una prueba incremental máxima.

- En relación al **objetivo 5** concluimos que un periodo de entrenamiento de 8 semanas no induce adaptaciones suficientemente importantes como para tener efecto sobre la hemoconcentración inducida por un test de ejercicio de 15 minutos al 110 % de la vUAN.

REFERENCIAS

- Ahmadizad S, Bassami M (2010) Interaction effects of time of day and sub-maximal treadmill exercise on the main determinants of blood fluidity. *Clin Hemorheol Microcirc* 45 (2-4):177-184. doi:10.3233/ch-2010-1295
- Ahmadizad S, El-Sayed MS, MacLaren DPM (2006) Effects of water intake on the responses of haemorheological variables to resistance exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 35 (1-2):317-327
- Ahmadizad S, Moradi A, Nikookheslat S, Ebrahimi H, Rahbaran A, Connes P (2011) Effects of age on hemorheological responses to acute endurance exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 49 (1):165-174. doi:10.3233/ch-2011-1466
- Alis R, Sanchis-Gomar F, Ferioli D, La Torre A, Blesa JR, Romagnoli M (2014a) Exercise Effects on Erythrocyte Deformability in Exercise-induced Arterial Hypoxemia. *Int J Sports Med* In press
- Alis R, Sanchis-Gomar F, Lippi G, Romagnoli M (2014b) Microcentrifuge or automated hematological analyzer to assess hematocrit in exercise? Effect on plasma volume calculations. *Life Sciences* Under review
- Alis R, Sanchis-Gomar F, Primo-Carrau C, Lozano-Calve S, Dipalo M, Aloe R, Blesa J, Romagnoli M, G. L (2014c) Hemoconcentration induced by exercise. Revisiting the Dill & Costill equation. *Scand J Med Sci Sports* In press
- Amaral SL, Papanek PE, Greene AS (2001) Angiotensin II and VEGF are involved in angiogenesis induced by short-term exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 281 (3):H1163-1169
- Atanasovska T, Petersen AC, Rouffet DM, Billaut F, Ng I, McKenna MJ (2014) Plasma K⁺ dynamics and implications during and following intense rowing

exercise. *J Appl Physiol* 117 (1):60-68.
doi:10.1152/jappphysiol.01027.2013

- Baron AD, Brechtel-Hook G, Johnson A, Hardin D (1993) Skeletal muscle blood flow. A possible link between insulin resistance and blood pressure. *Hypertension* 21 (2):129-135
- Baskurt OK, , Hardeman M., Rampling M. W., & Meiselman H. J. (2007) *Handbook of hemorheology and hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam
- Baskurt OK, Meiselman HJ (2003) Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 29 (5):435-450.
doi:10.1055/s-2003-44551
- Bates DO, Levick JR, Mortimer PS (1994) Starling pressures in the human arm and their alteration in postmastectomy oedema. *J Physiol* 477 (Pt 2):355-363
- Ben Abderrahman A, Prioux J, Chamari K, Ben Ounis O, Tabka Z, Zouhal H (2013) Running interval training and estimated plasma-volume variation. *Int J Sports Physiol Perform* 8 (4):358-365
- Berthoin S, Allender H, Baquet G, Dupont G, Matran R, Pelayo P, Robin H (2003) Plasma lactate and plasma volume recovery in adults and children following high-intensity exercises. *Acta Paediatr* 92 (3):283-290
- Bevegard BS, Shepherd JT (1966) Circulatory effects of stimulating the carotid arterial stretch receptors in man at rest and during exercise. *J Clin Invest* 45 (1):132-142.
doi:10.1172/JCI105317
- Bhave G, Neilson EG (2011) Body fluid dynamics: back to the future. *J Am Soc Nephrol* 22 (12):2166-2181.
doi:10.1681/asn.2011080865

- Billman GE, Kukielka M (2007) Effect of endurance exercise training on heart rate onset and heart rate recovery responses to submaximal exercise in animals susceptible to ventricular fibrillation. *J Appl Physiol* 102 (1):231-240. doi:00793.2006
[pii]10.1152/jappphysiol.00793.2006
- Blair SN, Goodyear NN, Gibbons LW, Cooper KH (1984) Physical fitness and incidence of hypertension in healthy normotensive men and women. *JAMA* 252 (4):487-490
- Bloomer RJ, Farney TM (2013) Acute plasma volume change with high intensity sprint exercise. *J Strength Cond Res.* doi:10.1519/JSC.0b013e318282d416
- Bloor CM (2005) Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 8 (3):263-271. doi:10.1007/s10456-005-9013-x
- Bocqueraz O, Koulmann N, Guigas B, Jimenez C, Melin B (2004) Fluid-regulatory hormone responses during cycling exercise in acute hypobaric hypoxia. *Med Sci Sports Exerc* 36 (10):1730-1736
- Breen EC, Johnson EC, Wagner H, Tseng HM, Sung LA, Wagner PD (1996) Angiogenic growth factor mRNA responses in muscle to a single bout of exercise. *J Appl Physiol* 81 (1):355-361
- Brown MD, Dengel DR, Hogikyan RV, Supiano MA (2002) Sympathetic activity and the heterogenous blood pressure response to exercise training in hypertensives. *J Appl Physiol* 92 (4):1434-1442. doi:10.1152/jappphysiol.00477.2001
- Brown NS, Bicknell R (1998) Thymidine phosphorylase, 2-deoxy-D-ribose and angiogenesis. *Biochem J* 334 (Pt 1):1-8

- Brun J-F, Varlet-Marie E, Connes P, Aloulou I (2010)
Hemorheological alterations related to training and overtraining. *Biorheology* 47 (2):95-115. doi:10.3233/bir-2010-0563
- Brun JF, Micallef, J. P., & Orsetti, A. (1994). (1994)
Hemorheological effects of light prolonged exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 14:807-818
- Calbet JA, Jensen-Urstad M, van Hall G, Holmberg HC, Rosdahl H, Saltin B (2004) Maximal muscular vascular conductances during whole body upright exercise in humans. *J Physiol* 558 (Pt 1):319-331. doi:10.1113/jphysiol.2003.059287
- Campos GE, Luecke TJ, Wendeln HK, Toma K, Hagerman FC, Murray TF, Ragg KE, Ratamess NA, Kraemer WJ, Staron RS (2002) Muscular adaptations in response to three different resistance-training regimens: specificity of repetition maximum training zones. *Eur J Appl Physiol* 88 (1-2):50-60. doi:10.1007/s00421-002-0681-6
- Cannon WB (1929) Organization for physiological homeostasis. *Physiol Rev* 9 (3):399-431
- Carmeliet P, Jain RK (2000) Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407 (6801):249-257. doi:10.1038/35025220
- Cole CR, Blackstone EH, Pashkow FJ, Snader CE, Lauer MS (1999) Heart-rate recovery immediately after exercise as a predictor of mortality. *N Engl J Med* 341 (18):1351-1357. doi:10.1056/NEJM199910283411804
- Collins MA, Cureton KJ, Hill DW, Ray CA (1989) Relation of plasma volume change to intensity of weight lifting. *Med Sci Sports Exerc* 21 (2):178-185
- Connes P, Sara, F., Hardy-Dessources, M. D., Marlin, M., Etienne, F., Larifla, L., Saint-Martin, C., & Hue, O. (2006)

Effects of short supramaximal exercise on hemorheology in sickle cell trait carriers. . *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 97:143-150

Connes P, Simmonds MJ, Brun JF, Baskurt OK (2013) Exercise hemorheology: classical data, recent findings and unresolved issues. *Clin Hemorheol Microcirc* 53 (1-2):187-199. doi:10.3233/ch-2012-1643

Convertino VA, Keil LC, Bernauer EM, Greenleaf JE (1981) Plasma volume, osmolality, vasopressin, and renin activity during graded exercise in man. *J Appl Physiol* 50 (1):123-128

Cornelissen VA, Fagard RH (2005) Effects of endurance training on blood pressure, blood pressure-regulating mechanisms, and cardiovascular risk factors. *Hypertension* 46 (4):667-675. doi:10.1161/01.hyp.0000184225.05629.51

Costill DL, Cote R, Fink WJ, Van Handel P (1981) Muscle water and electrolyte distribution during prolonged exercise. *Int J Sports Med* 2 (3):130-134. doi:10.1055/s-2008-1034598

Costill DL, Fink WJ (1974) Plasma volume changes following exercise and thermal dehydration. *J Appl Physiol* 37 (4):521-525

Cheuvront SN, Kenefick RW, Montain SJ, Sawka MN (2010) Mechanisms of aerobic performance impairment with heat stress and dehydration. *J Appl Physiol* 109 (6):1989-1995. doi:10.1152/jappphysiol.00367.2010

Choi S, Liu X, Li P, Akimoto T, Lee SY, Zhang M, Yan Z (2005) Transcriptional profiling in mouse skeletal muscle following a single bout of voluntary running: evidence of increased cell proliferation. *J Appl Physiol* 99 (6):2406-2415. doi:10.1152/jappphysiol.00545.2005

- Church TS, Blair SN, Cocreham S, Johannsen N, Johnson W, Kramer K, Mikus CR, Myers V, Nauta M, Rodarte RQ, Sparks L, Thompson A, Earnest CP (2010) Effects of aerobic and resistance training on hemoglobin A1c levels in patients with type 2 diabetes: a randomized controlled trial. *JAMA* 304 (20):2253-2262. doi:304/20/2253 [pii]10.1001/jama.2010.1710
- DiCarlo SE, Bishop VS (1992) Onset of exercise shifts operating point of arterial baroreflex to higher pressures. *Am J Physiol* 262 (1 Pt 2):H303-307
- Dill DB, Costill DL (1974) Calculation of percentage changes in volumes of blood, plasma, and red cells in dehydration. *J Appl Physiol* 37 (2):247-248
- Duncan JJ, Farr JE, Upton SJ, Hagan RD, Oglesby ME, Blair SN (1985) The effects of aerobic exercise on plasma catecholamines and blood pressure in patients with mild essential hypertension. *JAMA* 254 (18):2609-2613
- Durkot MJ, Martinez O, Brooks-McQuade D, Francesconi R (1986) Simultaneous determination of fluid shifts during thermal stress in a small-animal model. *J Appl Physiol* 61 (3):1031-1034
- Edwards RJ, Harrison MH, Cochrane LA, Mills FJ (1983) Blood volume and protein responses to skin cooling and warming during cycling exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 50 (2):195-206
- El-Sayed MS, Ali N, Omar AA (2011) Effects of posture and ergometer-specific exercise modality on plasma viscosity and plasma fibrinogen: the role of plasma volume changes. *Clin Hemorheol Microcirc* 47 (3):219-228. doi:10.3233/ch-2010-1383
- El-Sayed MS, Omar AA, Ali N (2010) Does ambient temperature affect exercise-induced changes in the main

determinants of blood rheology? Clin Hemorheol
Microcirc 46 (1):13-21. doi:10.3233/ch-2010-1329

- Fraga R, Franco FG, Roveda F, de Matos LN, Braga AM, Rondon MU, Rotta DR, Brum PC, Barretto AC, Middlekauff HR, Negrao CE (2007) Exercise training reduces sympathetic nerve activity in heart failure patients treated with carvedilol. Eur J Heart Fail 9 (6-7):630-636. doi:10.1016/j.ejheart.2007.03.003
- Fu Q, Vangundy TB, Galbreath MM, Shibata S, Jain M, Hastings JL, Bhella PS, Levine BD (2010) Cardiac origins of the postural orthostatic tachycardia syndrome. J Am Coll Cardiol 55 (25):2858-2868. doi:10.1016/j.jacc.2010.02.043
- Galbreath MM, Shibata S, VanGundy TB, Okazaki K, Fu Q, Levine BD (2011) Effects of exercise training on arterial-cardiac baroreflex function in POTS. Clin Auton Res 21 (2):73-80. doi:10.1007/s10286-010-0091-5
- Galy O, Hue O, Boussana a, Peyreigne C, Mercier J, Préfaut C (2005) Blood rheological responses to running and cycling: a potential effect on the arterial hypoxemia of highly trained athletes? Int J Sports Med 26 (1):9-15. doi:10.1055/s-2004-815817
- Gavin TP, Wagner PD (2002) Attenuation of the exercise-induced increase in skeletal muscle Flt-1 mRNA by nitric oxide synthase inhibition. Acta Physiol Scand 175 (3):201-209. doi:10.1046/j.1365-201X.2002.00987.x
- Gavin TP, Westerkamp LM, Zwetsloot KA (2006) Soleus, plantaris and gastrocnemius VEGF mRNA responses to hypoxia and exercise are preserved in aged compared with young female C57BL/6 mice. Acta Physiol (Oxf) 188 (2):113-121. doi:10.1111/j.1748-1716.2006.01609.x

- Gillen JB, Little JP, Punthakee Z, Tarnopolsky MA, Riddell MC, Gibala MJ (2012) Acute high-intensity interval exercise reduces the postprandial glucose response and prevalence of hyperglycaemia in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 14 (6):575-577.
doi:10.1111/j.1463-1326.2012.01564.x
- Gladden LB (2004) Lactate metabolism: a new paradigm for the third millennium. *J Physiol* 558 (1):5-30.
doi:10.1113/jphysiol.2003.058701
- Goodson AR, Leibold JM, Gutterman DD (1994) Inhibition of nitric oxide synthesis augments centrally induced sympathetic coronary vasoconstriction in cats. *Am J Physiol* 267 (4 Pt 2):H1272-1278
- Gore CJ, Scroop GC, Marker JD, Catcheside PG (1992) Plasma volume, osmolarity, total protein and electrolytes during treadmill running and cycle ergometer exercise. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 65 (4):302-310
- Grassi G, Seravalle G, Bertinieri G, Turri C, Dell'Oro R, Stella ML, Mancia G (2000) Sympathetic and reflex alterations in systo-diastolic and systolic hypertension of the elderly. *J Hypertens* 18 (5):587-593
- Grassi G, Seravalle G, Calhoun D, Bolla GB, Mancia G (1992) Physical exercise in essential hypertension. *Chest* 101 (5 Suppl):312S-314S
- Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R (2004) Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol* 561 (Pt 1):1-25.
doi:10.1113/jphysiol.2004.068197
- Green H, Goreham C, Ouyang J, Ball-Burnett M, Ranney D (1999) Regulation of fiber size, oxidative potential, and capillarization in human muscle by resistance exercise. *Am J Physiol* 276 (2 Pt 2):R591-596

- Greenleaf JE, Convertino VA, Stremel RW, Bernauer EM, Adams WC, Vignau SR, Brock PJ (1977) Plasma [Na⁺], [Ca²⁺], and volume shifts and thermoregulation during exercise in man. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 43 (6):1026-1032
- Greenleaf JE, Van Beaumont W, Brock PJ, Morse JT, Mangseth GR (1979) Plasma volume and electrolyte shifts with heavy exercise in sitting and supine positions. *Am J Physiol* 236 (3):R206-214
- Gregory DS, Donald EM (1998) Opposite effects of low-density and high-density lipoprotein on blood viscosity in fasting subjects. *Clin Hemorheol Microcirc* 19 (3):197-203
- Gustafsson T, Bodin K, Sylven C, Gordon A, Tyni-Lenne R, Jansson E (2001) Increased expression of VEGF following exercise training in patients with heart failure. *Eur J Clin Invest* 31 (4):362-366. doi:eci816 [pii]
- Guyton AC, Hall JE (2006) *Textbook of Medical Physiology*. 11 edn. Elsevier, Philadelphia, PA, USA
- Hagan RD, Diaz FJ, Horvath SM (1978) Plasma volume changes with movement to supine and standing positions. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 45 (3):414-417
- Hagberg JM, Hickson RC, Ehsani AA, Holloszy JO (1980) Faster adjustment to and recovery from submaximal exercise in the trained state. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 48 (2):218-224
- Hagberg JM, Hickson RC, McLane JA, Ehsani AA, Winder WW (1979) Disappearance of norepinephrine from the circulation following strenuous exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 47 (6):1311-1314
- Hall AP, Westwood FR, Wadsworth PF (2006) Review of the effects of anti-angiogenic compounds on the epiphyseal

growth plate. *Toxicol Pathol* 34 (2):131-147.
doi:10.1080/01926230600611836

Hall JE, Hildebrandt DA, Kuo J (2001) Obesity hypertension: role of leptin and sympathetic nervous system. *Am J Hypertens* 14 (6 Pt 2):103S-115S

Hebestreit H, Meyer F, Htay H, Heigenhauser GJ, Bar-Or O (1996) Plasma metabolites, volume and electrolytes following 30-s high-intensity exercise in boys and men. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 72 (5-6):563-569

Henriksen EJ (2002) Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance. *J Appl Physiol* 93 (2):788-796.
doi:10.1152/jappphysiol.01219.2001

Hew-Butler T, Collins M, Bosch A, Sharwood K, Wilson G, Armstrong M, Jennings C, Swart J, Noakes T (2007) Maintenance of plasma volume and serum sodium concentration despite body weight loss in ironman triathletes. *Clin J Sport Med* 17 (2):116-122.
doi:10.1097/JSM.0b013e3180326836

Hew-Butler T, Dugas JP, Noakes TD, Verbalis JG (2010) Changes in plasma arginine vasopressin concentrations in cyclists participating in a 109-km cycle race. *Br J Sports Med* 44 (8):594-597.
doi:10.1136/bjism.2008.049742

Hew-Butler T, Jordaan E, Stuempfle KJ, Speedy DB, Siegel AJ, Noakes TD, Soldin SJ, Verbalis JG (2008a) Osmotic and nonosmotic regulation of arginine vasopressin during prolonged endurance exercise. *J Clin Endocrinol Metab* 93 (6):2072-2078. doi:10.1210/jc.2007-2336

Hew-Butler T, Noakes TD, Soldin SJ, Verbalis JG (2008b) Acute changes in endocrine and fluid balance markers during high-intensity, steady-state, and prolonged

endurance running: unexpected increases in oxytocin and brain natriuretic peptide during exercise. *Eur J Endocrinol* 159 (6):729-737. doi:10.1530/eje-08-0064

Hudlicka O, Brown M, Egginton S (1992) Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev* 72 (2):369-417

Ichinose M, Saito M, Kondo N, Nishiyasu T (2008) Baroreflex and muscle metaboreflex: control of muscle sympathetic nerve activity. *Med Sci Sports Exerc* 40 (12):2037-2045. doi:10.1249/MSS.0b013e318180bc59

Imai K, Sato H, Hori M, Kusuoka H, Ozaki H, Yokoyama H, Takeda H, Inoue M, Kamada T (1994) Vagally mediated heart rate recovery after exercise is accelerated in athletes but blunted in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 24 (6):1529-1535. doi:10.1016/0735-1097(94)90150-3

Iwasaki K, Zhang R, Zuckerman JH, Levine BD (2003) Dose-response relationship of the cardiovascular adaptation to endurance training in healthy adults: how much training for what benefit? *J Appl Physiol* 95 (4):1575-1583. doi:10.1152/jappphysiol.00482.2003

Jacob G, Ertl AC, Shannon JR, Furlan R, Robertson RM, Robertson D (1998) Effect of standing on neurohumoral responses and plasma volume in healthy subjects. *J Appl Physiol* 84 (3):914-921

Joyner MJ (2006) Baroreceptor function during exercise: resetting the record. *Exp Physiol* 91 (1):27-36. doi:10.1113/expphysiol.2005.032102

Joyner MJ, Green DJ (2009) Exercise protects the cardiovascular system: effects beyond traditional risk factors. *J Physiol* 587 (Pt 23):5551-5558. doi:10.1113/jphysiol.2009.179432

- Joyner MJ, Wilkins BW (2007) Exercise hyperaemia: is anything obligatory but the hyperaemia? *J Physiol* 583 (Pt 3):855-860. doi:10.1113/jphysiol.2007.135889
- Julius S, Gudbrandsson T, Jamerson K, Tariq Shahab S, Andersson O (1991) The hemodynamic link between insulin resistance and hypertension. *J Hypertens* 9 (11):983-986
- Jung F, Roggenkamp HG, Schneider R, Kiesewetter H (1983) Das Kapillarschlauch-Plasmaviskosimeter Ein neues Meßgerät zur Quantifizierung der Blutplasmaviskosität. *Biomedizinische Technik* 30 (6):152-158. doi:10.1515/bmte.1983.28.11.249
- Kargotich S, Goodman C, Keast D, Morton AR (1998) The influence of exercise-induced plasma volume changes on the interpretation of biochemical parameters used for monitoring exercise, training and sport. *Sports Med* 26 (2):101-117
- Katch VL, McArdle WD, Katch I (2011) *Essentials of Exercise Physiology*. 4 edn. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, USA
- Kenefick RW, Sollanek KJ, Charkoudian N, Sawka MN (2014) Impact of skin temperature and hydration on plasma volume responses during exercise. *J Appl Physiol* 117 (4):413-420. doi:10.1152/jappphysiol.00415.2014
- Késmárky G, Kenyeres P, Rábai M, Tóth K (2008) Plasma viscosity: A forgotten variable. *Clin Hemorheol Microcirc* 39 (1):243-246. doi:10.3233/ch-2008-1088
- Keys A, Fidanza F, Karvonen MJ, Kimura N, Taylor HL (1972) Indices of relative weight and obesity. *J Chronic Dis* 25 (6-7):329-343. doi:10.1016/0021-9681(72)90027-6

- Kingwell BA (2000) Nitric oxide as a metabolic regulator during exercise: effects of training in health and disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27 (4):239-250
- Klagsbrun M, Moses MA (1999) Molecular angiogenesis. *Chem Biol* 6 (8):R217-224. doi:10.1016/S1074-5521(99)80081-7
- Kohno K, Matsuoka H, Takenaka K, Miyake Y, Okuda S, Nomura G, Imaizumi T (2000) Depressor effect by exercise training is associated with amelioration of hyperinsulinemia and sympathetic overactivity. *Intern Med* 39 (12):1013-1019
- Kraus WE, Levine BD (2007) Exercise training for diabetes: the "strength" of the evidence. *Ann Intern Med* 147 (6):423-424. doi:147/6/423 [pii]
- Kwaan HC (2010) Role of plasma proteins in whole blood viscosity: A brief clinical review. *Clin Hemorheol Microcirc* 44 (3):167-176. doi:10.3233/ch-2010-1271
- Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, Krieger EM, Negrao CE, Rondon MU (2007) Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension* 49 (6):1298-1306. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.106.085548
- Levick JR, Michel CC (2010) Microvascular fluid exchange and the revised Starling principle. *Cardiovasc Res* 87 (2):198-210. doi:10.1093/cvr/cvq062
- Levine BD (1993) Regulation of central blood volume and cardiac filling in endurance athletes: the Frank-Starling mechanism as a determinant of orthostatic tolerance. *Med Sci Sports Exerc* 25 (6):727-732
- Levine BD, Buckey JC, Fritsch JM, Yancy CW, Jr., Watenpaugh DE, Snell PG, Lane LD, Eckberg DL, Blomqvist CG (1991a) Physical fitness and cardiovascular regulation:

mechanisms of orthostatic intolerance. *J Appl Physiol* 70 (1):112-122

Levine BD, Lane LD, Buckey JC, Friedman DB, Blomqvist CG (1991b) Left ventricular pressure-volume and Frank-Starling relations in endurance athletes. Implications for orthostatic tolerance and exercise performance. *Circulation* 84 (3):1016-1023

Levy WC, Cerqueira MD, Harp GD, Johannessen KA, Abrass IB, Schwartz RS, Stratton JR (1998) Effect of endurance exercise training on heart rate variability at rest in healthy young and older men. *Am J Cardiol* 82 (10):1236-1241

Liekens S, De Clercq E, Neyts J (2001) Angiogenesis: regulators and clinical applications. *Biochem Pharmacol* 61 (3):253-270. doi:S0006-2952(00)00529-3 [pii]

Lindinger MI, Heigenhauser GJ, McKelvie RS, Jones NL (1990) Role of nonworking muscle on blood metabolites and ions with intense intermittent exercise. *Am J Physiol* 258 (6 Pt 2):R1486-1494

Lippi G, Brocco G, Franchini M, Schena F, Guidi G (2004) Comparison of serum creatinine, uric acid, albumin and glucose in male professional endurance athletes compared with healthy controls. *Clin Chem Lab Med* 42 (6):644-647. doi:10.1515/CCLM.2004.110

Lippi G, Brocco G, Salvagno GL, Montagnana M, Dima F, Guidi GC (2005a) High-workload endurance training may increase serum ischemia-modified albumin concentrations. *Clin Chem Lab Med* 43 (7):741-744. doi:10.1515/CCLM.2005.126

Lippi G, Franchini M, Guidi G (2002) Haematocrit measurement and antidoping policies. *Clin Lab Haematol* 24 (1):65-66

- Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Guidi GC (2005b) Chronic influence of vigorous aerobic training on hemostasis. *Blood Coagul Fibrinolysis* 16 (7):533-534
- Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Schena F, Ballestrieri F, Guidi GC (2006) Influence of physical exercise and relationship with biochemical variables of NT-pro-brain natriuretic peptide and ischemia modified albumin. *Clin Chim Acta* 367 (1-2):175-180.
doi:10.1016/j.cca.2005.11.018
- Little JP, Safdar A, Wilkin GP, Tarnopolsky MA, Gibala MJ (2010) A practical model of low-volume high-intensity interval training induces mitochondrial biogenesis in human skeletal muscle: potential mechanisms. *J Physiol* 588 (6):1011-1022. doi:10.1113/jphysiol.2009.181743
- Lundvall J, Bjerkhoel P, Edfeldt H, Ivarsson C, Lanne T (1993) Dynamics of transcapillary fluid transfer and plasma volume during lower body negative pressure. *Acta Physiol Scand* 147 (2):163-172. doi:10.1111/j.1748-1716.1993.tb09485.x
- Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL (2003) Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284 (5):H1668-1678.
doi:10.1152/ajpheart.00743.2002
- Mannix ET, Palange P, Aronoff GR, Manfredi F, Farber MO (1990) Atrial natriuretic peptide and the renin-aldosterone axis during exercise in man. *Med Sci Sports Exerc* 22 (6):785-789
- McArdle W, Katch F, Katch V (eds) (2000) *Essentials of Exercise Physiology*. 2nd edn. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA

- McArdle WD, Katch FI, Katch VL (eds) (2014) Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance. 8th edn. Wolters Kluwer,
- McKelvie RS, Lindinger MI, Jones NL, Heigenhauser GJ (1992) Erythrocyte ion regulation across inactive muscle during leg exercise. *Can J Physiol Pharmacol* 70 (12):1625-1633
- McKenna MJ, Heigenhauser GJ, McKelvie RS, MacDougall JD, Jones NL (1997) Sprint training enhances ionic regulation during intense exercise in men. *J Physiol* 501 (Pt 3):687-702
- Miles DS, Sawka MN, Glaser RM, Petrofsky JS (1983) Plasma volume shifts during progressive arm and leg exercise. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 54 (2):491-495
- Monahan KD, Dinunno FA, Tanaka H, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR (2000) Regular aerobic exercise modulates age-associated declines in cardiovascular baroreflex sensitivity in healthy men. *J Physiol* 529 Pt 1:263-271. doi:PHY_1300 [pii]
- Moore BB, Keane MP, Addison CL, Arenberg DA, Strieter RM (1998) CXC chemokine modulation of angiogenesis: the importance of balance between angiogenic and angiostatic members of the family. *J Investig Med* 46 (4):113-120
- Mora-Rodriguez R, Fernandez-Elias VE, Hamouti N, Ortega JF (2014) Skeletal muscle water and electrolytes following prolonged dehydrating exercise. *Scand J Med Sci Sports*. doi:10.1111/sms.12316
- Mougios V (2006) Exercise biochemistry. Human Kinetics, Champaign, IL, USA

- Nelson AJ, Juraska JM, Musch TI, Iwamoto GA (2005) Neuroplastic adaptations to exercise: neuronal remodeling in cardiorespiratory and locomotor areas. *J Appl Physiol* 99 (6):2312-2322. doi:10.1152/jappphysiol.00693.2005
- Okazaki K, Iwasaki K, Prasad A, Palmer MD, Martini ER, Fu Q, Arbab-Zadeh A, Zhang R, Levine BD (2005) Dose-response relationship of endurance training for autonomic circulatory control in healthy seniors. *J Appl Physiol* 99 (3):1041-1049. doi:10.1152/jappphysiol.00085.2005
- Olfert IM, Breen EC, Mathieu-Costello O, Wagner PD (2001) Skeletal muscle capillarity and angiogenic mRNA levels after exercise training in normoxia and chronic hypoxia. *J Appl Physiol* 91 (3):1176-1184
- Patel KP, Zhang K, Zucker IH, Krukoff TL (1996) Decreased gene expression of neuronal nitric oxide synthase in hypothalamus and brainstem of rats in heart failure. *Brain Res* 734 (1-2):109-115
- Pierpont GL, Stolpman DR, Gornick CC (2000) Heart rate recovery post-exercise as an index of parasympathetic activity. *J Auton Nerv Syst* 80 (3):169-174
- Ploutz LL, Tatro DL, Dudley GA, Convertino VA (1993) Changes in plasma volume and baroreflex function following resistance exercise. *Clin Physiol* 13 (4):429-438
- Prior BM, Yang HT, Terjung RL (2004) What makes vessels grow with exercise training? *J Appl Physiol* 97 (3):1119-1128. doi:10.1152/jappphysiol.00035.2004
- Pugh CW, Ratcliffe PJ (2003) Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 9 (6):677-684. doi:10.1038/nm0603-677

- Raven PB (2008) Recent advances in baroreflex control of blood pressure during exercise in humans: an overview. *Med Sci Sports Exerc* 40 (12):2033-2036. doi:10.1249/MSS.0b013e318180bc41
- Reed RK, Rubin K (2010) Transcapillary exchange: role and importance of the interstitial fluid pressure and the extracellular matrix. *Cardiovasc Res* 87 (2):211-217. doi:10.1093/cvr/cvq143
- Reinhard U, Muller PH, Schmulling RM (1979) Determination of anaerobic threshold by the ventilation equivalent in normal individuals. *Respiration* 38 (1):36-42
- Reinhart W (2001) Molecular biology and self-regulatory mechanisms of blood viscosity: A review. *Biorheology* 38 (2):203-212
- Rennie KL, Hemingway H, Kumari M, Brunner E, Malik M, Marmot M (2003) Effects of moderate and vigorous physical activity on heart rate variability in a British study of civil servants. *Am J Epidemiol* 158 (2):135-143
- Retallick CJ, Baker JS, Williams SR, Whitcombe D, Davies B (2007) Plasma volume response to 30-s cycle ergometry: influence on lipid and lipoprotein. *Med Sci Sports Exerc* 39 (9):1579-1586. doi:10.1249/mss.0b013e318093f585
- Robergs RA, Ghiasvand F, Parker D (2004) Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 287 (3):R502-R516. doi:10.1152/ajpregu.00114.2004
- Romagnoli M, Alis R, Martinez-Bello V, Sanchis-Gomar F, Aranda R, Gomez-Cabrera MC (2014) Blood rheology effect of submaximal exercise on young subjects. *Clin Hemorheol Microcirc* 56 (2):111-117. doi:10.3233/ch-121657

- Rosencranz R, Bogen SA (2006) Clinical Laboratory Measurement of Serum, Plasma, and Blood Viscosity. *Am J Clin Pathol* 125 (Suppl 1):S78-S86. doi:10.1309/fff7u8rrpk26vapy
- Rosenwinkel ET, Bloomfield DM, Arwady MA, Goldsmith RL (2001) Exercise and autonomic function in health and cardiovascular disease. *Cardiol Clin* 19 (3):369-387
- Roskoski R, Jr. (2007) Vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling in tumor progression. *Crit Rev Oncol Hematol* 62 (3):179-213. doi:10.1016/j.critrevonc.2007.01.006
- Rowell LB, O'Leary DS (1990) Reflex control of the circulation during exercise: chemoreflexes and mechanoreflexes. *J Appl Physiol* 69 (2):407-418
- Sanchis-Gomar F, Lippi G (2012) Hb(mass) for anti-doping purposes should be assessed in combination with hemoglobin and blood volume. *Int J Sports Med* 33 (6):502. doi:10.1055/s-0032-1312625
- Sanchis-Gomar F, Lippi G (2014) Physical activity - an important preanalytical variable. *Biochem Med* 24 (1):68-79. doi:10.11613/bm.2014.009
- Sarelius I, Pohl U (2010) Control of muscle blood flow during exercise: local factors and integrative mechanisms. *Acta Physiol (Oxf)* 199 (4):349-365. doi:10.1111/j.1748-1716.2010.02129.x
- Sawka MN (1988) Body fluid responses and hypohydration during exercise heat stress. In: Pandolf KB SM, and Gonzalez RR (ed) *Human Performance Physiology and Environmental Medicine at Terrestrial Extremes*. Cooper Publishing Group, Indianapolis, IN, pp 227–266
- Sawka MN, Convertino VA, Eichner ER, Schnieder SM, Young AJ (2000) Blood volume: importance and adaptations to

exercise training, environmental stresses, and trauma/sickness. *Med Sci Sports Exerc* 32 (2):332-348

Sawka MN, Coyle EF (1999) Influence of body water and blood volume on thermoregulation and exercise performance in the heat. *Exerc Sport Sci Rev* 27:167-218

Sawka MN, Francesconi RP, Pimental NA, Pandolf KB (1984) Hydration and vascular fluid shifts during exercise in the heat. *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol* 56 (1):91-96

Sawka MN, Montain SJ (2000) Fluid and electrolyte supplementation for exercise heat stress. *Am J Clin Nutr* 72 (2 Suppl):564S-572S

Sawka MN, Young AJ, Pandolf KB, Dennis RC, Valeri CR (1992) Erythrocyte, plasma, and blood volume of healthy young men. *Med Sci Sports Exerc* 24 (4):447-453

Scatchard G (1946) Physical chemistry of protein solutions; derivation of the equations for the osmotic pressure. *J Am Chem Soc* 68 (11):2315-2319

Silverthorn DU (2010) *Human Physiology: an integrated approach*. Pearson, San Francisco

Sjogaard G (1983) Electrolytes in slow and fast muscle fibers of humans at rest and with dynamic exercise. *Am J Physiol* 245 (1):R25-31

Sjogaard G, Saltin B (1982) Extra- and intracellular water spaces in muscles of man at rest and with dynamic exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 243 (3):R271-R280

Snell PG, Martin WH, Buckey JC, Blomqvist CG (1987) Maximal vascular leg conductance in trained and untrained men. *J Appl Physiol* 62 (2):606-610

- Starling EH (1896) On the Absorption of Fluids from the Connective Tissue Spaces. *J Physiol* 19 (4):312-326
- Staverman AJ (1951) The theory of measurement of osmotic pressure. *Rec Trav Chim* 70 (4):344-352.
doi:10.1002/recl.19510700409
- Suzuki J (2002) Microvascular remodelling after endurance training with Co₂+ treatment in the rat diaphragm and hind-leg muscles. *Jpn J Physiol* 52 (5):409-419
- Suzuki J (2004) Time-course changes in VEGF expression and capillarity in the early stage of exercise training with Co treatment in rat skeletal muscles. *Acta Physiol Scand* 181 (2):225-232. doi:10.1111/j.1365-201X.2004.01279.x
- Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR (2000) Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 102 (11):1270-1275
- Tsampoukos A, Stokes K, Nevill M (2014) Separate and combined influence of posture and sprint running on plasma volume changes. *Eur J Sport Sci* 14 Suppl 1:S267-274. doi:10.1080/17461391.2012.691114
- van Beaumont W, Strand, J. C., Petrofsky, J.S., Hipskind, S.G., & Greenleaf, J.E. (1973) Changes in total plasma content of electrolytes and proteins with maximal exercise. *J Appl Physiol* 1:102-106
- Wagner PD, Olfert IM, Tang K, Breen EC (2006) Muscle-targeted deletion of VEGF and exercise capacity in mice. *Respir Physiol Neurobiol* 151 (2-3):159-166.
doi:10.1016/j.resp.2005.09.007
- Wasserman K, Hansen JE, Sue DY, Stringer WW, Whipp B (2005) *Principles of Exercise Testing and Interpretation*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, USA

Wood RE, Sanderson BE, Askew CD, Walker PJ, Green S, Stewart IB (2006) Effect of training on the response of plasma vascular endothelial growth factor to exercise in patients with peripheral arterial disease. *Clin Sci (Lond)* 111 (6):401-409. doi:10.1042/CS20060151

Zappe DH, Tankersley CG, Meister TG, Kenney WL (1993) Fluid restriction prior to cycle exercise: effects on plasma volume and plasma proteins. *Med Sci Sports Exerc* 25 (11):1225-1230

ANEXOS

Tabla Anexa 1. Análisis de la normalidad de las distribuciones de las variables continuas en la fase experimental 1, mediante el test de Shappiro-Wilk.

| Variable | Protocolo AER | | Protocolo HIT | |
|--------------------------------|---------------|-------|---------------|-------|
| | W(10) | p | W(10) | p |
| VO ₂ _{max} | 0.926 | 0.572 | 0.926 | 0.572 |
| Peso | 0.929 | 0.440 | 0.694 | 0.001 |
| Pérdida peso | 0.949 | 0.652 | 0.877 | 0.119 |
| La ⁻ | 0.638 | 0.000 | 0.912 | 0.292 |
| ΔVP _{pre-post} | 0.923 | 0.382 | 0.950 | 0.670 |
| ΔVP _{pre-30min} | 0.950 | 0.664 | 0.931 | 0.461 |
| VPlasm _{pre} | 0.915 | 0.320 | 0.869 | 0.098 |
| VPlasm _{post} | 0.935 | 0.499 | 0.946 | 0.620 |
| VPlasm _{30min} | 0.885 | 0.150 | 0.808 | 0.018 |
| Hto _{pre} | 0.966 | 0.849 | 0.921 | 0.365 |
| Hto _{post} | 0.909 | 0.275 | 0.935 | 0.501 |
| Hto _{30min} | 0.968 | 0.876 | 0.964 | 0.827 |
| Hb _{pre} | 0.911 | 0.290 | 0.914 | 0.307 |
| Hb _{post} | 0.902 | 0.230 | 0.931 | 0.461 |
| Hb _{30min} | 0.893 | 0.183 | 0.919 | 0.349 |
| Fbr _{pre} | 0.932 | 0.469 | 0.947 | 0.635 |
| Fbr _{post} | 0.968 | 0.876 | 0.945 | 0.611 |
| Fbr _{30min} | 0.924 | 0.389 | 0.955 | 0.724 |
| Fbr _{post-correg} | 0.963 | 0.821 | 0.922 | 0.373 |
| Fbr _{30min-correg} | 0.968 | 0.871 | 0.924 | 0.391 |
| PT _{pre} | 0.919 | 0.345 | 0.960 | 0.788 |
| PT _{post} | 0.872 | 0.105 | 0.871 | 0.103 |
| PT _{30min} | 0.977 | 0.950 | 0.975 | 0.933 |
| PT _{post-correg} | 0.940 | 0.549 | 0.938 | 0.529 |
| PT _{30min-correg} | 0.829 | 0.032 | 0.874 | 0.112 |
| CT _{pre} | 0.950 | 0.672 | 0.905 | 0.248 |
| CT _{post} | 0.965 | 0.842 | 0.924 | 0.394 |
| CT _{30min} | 0.890 | 0.171 | 0.922 | 0.378 |
| CT _{post-correg} | 0.949 | 0.652 | 0.928 | 0.425 |
| CT _{30min-correg} | 0.980 | 0.964 | 0.945 | 0.613 |
| Tg _{pre} | 0.765 | 0.005 | 0.925 | 0.398 |
| Tg _{post} | 0.779 | 0.008 | 0.865 | 0.088 |

| | | | | |
|-----------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Tg _{30min} | 0.791 | 0.011 | 0.914 | 0.311 |
| Tg _{post-correg} | 0.764 | 0.005 | 0.869 | 0.097 |
| Tg _{30min-correg} | 0.797 | 0.013 | 0.892 | 0.176 |
| Glu _{pre} | 0.927 | 0.420 | 0.934 | 0.487 |
| Glu _{post} | 0.882 | 0.139 | 0.736 | 0.002 |
| Glu _{30min} | 0.937 | 0.518 | 0.710 | 0.001 |
| Glu _{post-correg} | 0.943 | 0.586 | 0.831 | 0.034 |
| Glu _{30min-correg} | 0.948 | 0.643 | 0.732 | 0.002 |

Tabla Anexa 2. Análisis de la normalidad de las distribuciones de las variables continuas en la fase experimental 2, mediante el test de Shappiro-Wilk.

| Variable | Grupo Sedentario | | Grupo Entrenado | |
|-----------------------------|------------------|-------|-----------------|-------|
| | W(10) | p | W(16) | p |
| Edad | 0.890 | 0.171 | 0.955 | 0.579 |
| Peso | 0.846 | 0.052 | 0.952 | 0.524 |
| Altura | 0.950 | 0.670 | 0.965 | 0.750 |
| IMC | 0.905 | 0.247 | 0.946 | 0.426 |
| VO _{2max} | 0.968 | 0.870 | 0.757 | 0.001 |
| Pérdida peso | 0.791 | 0.011 | 0.767 | 0.002 |
| Velocidad test | 0.820 | 0.025 | 0.834 | 0.008 |
| Duración test | 0.967 | 0.867 | 0.965 | 0.750 |
| UAe (% VO _{2max}) | 0.849 | 0.057 | 0.921 | 0.177 |
| UAn (% VO _{2max}) | 0.923 | 0.386 | 0.988 | 0.997 |
| CR | 0.906 | 0.252 | 0.969 | 0.825 |
| FCmax | 0.942 | 0.579 | 0.911 | 0.121 |
| La ⁻ | 0.930 | 0.446 | 0.921 | 0.174 |
| ΔVP _{pre-post} | 0.975 | 0.930 | 0.878 | 0.036 |
| ΔVP _{pre-30min} | 0.950 | 0.673 | 0.795 | 0.002 |
| RBC _{pre} | 0.970 | 0.895 | 0.940 | 0.354 |
| Hb _{pre} | 0.923 | 0.386 | 0.939 | 0.335 |
| Hb _{post} | 0.965 | 0.843 | 0.929 | 0.234 |
| Hb _{30min} | 0.903 | 0.233 | 0.982 | 0.975 |
| Hto _{pre} | 0.977 | 0.944 | 0.849 | 0.057 |
| Hto _{post} | 0.953 | 0.707 | 0.905 | 0.098 |
| Hto _{30min} | 0.951 | 0.685 | 0.932 | 0.261 |
| VCM _{pre} | 0.950 | 0.670 | 0.938 | 0.320 |
| HCM _{pre} | 0.926 | 0.407 | 0.887 | 0.059 |
| CHCM _{pre} | 0.914 | 0.307 | 0.907 | 0.104 |
| LDH _{pre} | 0.953 | 0.702 | 0.952 | 0.527 |
| CK _{pre} | 0.565 | 0.000 | 0.885 | 0.047 |
| PT _{pre} | 0.926 | 0.407 | 0.857 | 0.018 |
| PT _{post} | 0.965 | 0.845 | 0.967 | 0.809 |
| PT _{30min} | 0.891 | 0.176 | 0.944 | 0.402 |
| PT _{post-correg} | 0.961 | 0.811 | 0.943 | 0.425 |
| PT _{30min-correg} | 0.952 | 0.688 | 0.799 | 0.003 |

| | | | | |
|------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| CT _{pre} | 0.873 | 0.109 | 0.886 | 0.059 |
| CT _{post} | 0.890 | 0.233 | 0.965 | 0.773 |
| CT _{30min} | 0.850 | 0.058 | 0.885 | 0.057 |
| CT _{post} -correg | 0.895 | 0.259 | 0.975 | 0.929 |
| CT _{30min} -correg | 0.885 | 0.149 | 0.897 | 0.086 |
| Tg _{pre} | 0.907 | 0.259 | 0.886 | 0.059 |
| Tg _{post} | 0.954 | 0.733 | 0.918 | 0.180 |
| Tg _{30min} | 0.923 | 0.383 | 0.922 | 0.183 |
| Tg _{post} -correg | 0.939 | 0.576 | 0.910 | 0.136 |
| Tg _{30min} -correg | 0.891 | 0.175 | 0.941 | 0.363 |
| Glu _{pre} | 0.937 | 0.523 | 0.958 | 0.629 |
| Glu _{post} | 0.920 | 0.389 | 0.983 | 0.984 |
| Glu _{30min} | 0.938 | 0.526 | 0.974 | 0.904 |
| Glu _{post} -correg | 0.928 | 0.465 | 0.956 | 0.626 |
| Glu _{30min} -correg | 0.929 | 0.439 | 0.933 | 0.274 |

Tabla Anexa 3. Análisis de la normalidad de las distribuciones de las variables continuas en la fase experimental 3, mediante el test de Shappiro-Wilk.

| Variable | Grupo Control | | Grupo Entrenamiento | |
|-------------------------------|---------------|-------|---------------------|-------|
| | W(4) | p | W(7) | p |
| Edad | 0.677 | 0.006 | 0.843 | 0.106 |
| Altura | 0.927 | 0.577 | 0.896 | 0.310 |
| Peso S0 | 0.827 | 0.159 | 0.927 | 0.524 |
| Peso S8 | 0.834 | 0.179 | 0.939 | 0.626 |
| BMI S0 | 0.717 | 0.018 | 0.913 | 0.416 |
| BMI S8 | 0.837 | 0.187 | 0.923 | 0.492 |
| TAD S0 | 0.863 | 0.272 | 0.804 | 0.045 |
| TAD S8 | 0.921 | 0.542 | 0.955 | 0.774 |
| TAS S0 | 0.916 | 0.517 | 0.913 | 0.414 |
| TAS S8 | 0.981 | 0.908 | 0.879 | 0.220 |
| VO ₂ max S0 | 0.788 | 0.082 | 0.981 | 0.966 |
| VO ₂ max S8 | 0.872 | 0.306 | 0.936 | 0.607 |
| UAn (%VO ₂ max) S0 | 0.761 | 0.049 | 0.960 | 0.814 |
| UAn (%VO ₂ max) S8 | 0.825 | 0.156 | 0.903 | 0.350 |
| Nº estadios S0 | 0.799 | 0.100 | 0.896 | 0.306 |
| Nº estadios S8 | 0.940 | 0.653 | 0.949 | 0.720 |
| CRmax S0 | 0.998 | 0.995 | 0.959 | 0.808 |
| CRmax S8 | 0.971 | 0.850 | 0.920 | 0.468 |
| [La ⁻]max S0 | 0.851 | 0.231 | 0.932 | 0.569 |
| [La ⁻]max S8 | 0.916 | 0.517 | 0.973 | 0.919 |
| FCmax S0 | 0.866 | 0.282 | 0.835 | 0.090 |
| FCmax S8 | 0.882 | 0.349 | 0.885 | 0.251 |
| RBC S0 | 0.864 | 0.273 | 0.870 | 0.186 |
| RBC_2 | 0.974 | 0.866 | 0.888 | 0.265 |
| RBC_3 | 0.948 | 0.706 | 0.986 | 0.983 |
| RBC S8 | 0.944 | 0.677 | 0.852 | 0.128 |
| RBC_6 | 0.988 | 0.948 | 0.972 | 0.911 |
| RBC_7 | 0.957 | 0.758 | 0.977 | 0.942 |
| Hb _{pre} S0 | 0.898 | 0.420 | 0.875 | 0.206 |
| Hb _{post} S0 | 0.733 | 0.026 | 0.932 | 0.569 |
| Hb _{30'} S0 | 0.797 | 0.097 | 0.927 | 0.523 |
| Hb _{pre} S8 | 0.948 | 0.701 | 0.865 | 0.168 |

| | | | | |
|-------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Hb _{post} S8 | 0.974 | 0.865 | 0.919 | 0.460 |
| Hb _{30'} S8 | 0.973 | 0.859 | 0.897 | 0.316 |
| Hto _{pre} S0 | 0.913 | 0.499 | 0.973 | 0.919 |
| Hto _{post} S0 | 0.809 | 0.120 | 0.958 | 0.804 |
| Hto _{30'} S0 | 0.952 | 0.726 | 0.929 | 0.541 |
| Hto _{pre} S8 | 0.978 | 0.889 | 0.921 | 0.479 |
| Hto _{post} S8 | 0.979 | 0.897 | 0.936 | 0.599 |
| Hto _{30'} S8 | 0.980 | 0.901 | 0.934 | 0.583 |
| VCM _{pre} S0 | 0.967 | 0.825 | 0.926 | 0.518 |
| VCM _{post} S0 | 0.966 | 0.819 | 0.960 | 0.817 |
| VCM _{30'} S0 | 0.918 | 0.527 | 0.927 | 0.522 |
| VCM _{pre} S8 | 0.909 | 0.477 | 0.893 | 0.292 |
| VCM _{post} S8 | 0.913 | 0.500 | 0.934 | 0.583 |
| VCM _{30'} S8 | 0.897 | 0.415 | 0.929 | 0.540 |
| HCM _{pre} S0 | 0.772 | 0.061 | 0.900 | 0.328 |
| HCM _{post} S0 | 0.792 | 0.088 | 0.910 | 0.397 |
| HCM _{30'} S0 | 0.750 | 0.039 | 0.950 | 0.727 |
| HCM _{pre} S8 | 0.826 | 0.158 | 0.888 | 0.265 |
| HCM _{post} S8 | 0.800 | 0.103 | 0.879 | 0.222 |
| HCM _{30'} S8 | 0.803 | 0.107 | 0.871 | 0.191 |
| CHCM _{pre} S0 | 0.994 | 0.977 | 0.921 | 0.478 |
| CHCM _{post} S0 | 0.947 | 0.696 | 0.905 | 0.363 |
| CHCM _{30'} S0 | 0.908 | 0.473 | 0.954 | 0.768 |
| CHCM _{pre} S8 | 0.930 | 0.592 | 0.898 | 0.320 |
| CHCM _{post} S8 | 0.909 | 0.476 | 0.881 | 0.232 |
| CHCM _{30'} S8 | 0.874 | 0.314 | 0.874 | 0.202 |
| CT S0 | 0.759 | 0.047 | 0.916 | 0.437 |
| CT S8 | 0.821 | 0.146 | 0.965 | 0.858 |
| TG S0 | 0.824 | 0.152 | 0.602 | 0.000 |
| TG S8 | 0.999 | 0.997 | 0.812 | 0.054 |
| Glu S0 | 0.849 | 0.224 | 0.879 | 0.221 |
| Glu S8 | 0.950 | 0.714 | 0.726 | 0.007 |
| Creatinina S0 | 0.997 | 0.991 | 0.924 | 0.497 |
| Creatinina S8 | 0.987 | 0.941 | 0.960 | 0.817 |
| Urea S0 | 0.852 | 0.233 | 0.886 | 0.256 |
| Urea S8 | 0.860 | 0.262 | 0.948 | 0.710 |
| Tiempo test S0 | 0.832 | 0.173 | 0.552 | 0.000 |
| Tiempo test S8 | 0.830 | 0.169 | 0.618 | 0.000 |

| | | | | |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| [La]final S0 | 0.968 | 0.830 | | |
| [La]final S8 | | | 0.935 | 0.591 |
| Velocidad test S0 | 0.977 | 0.885 | 0.961 | 0.814 |
| Velocidad test S8 | 0.916 | 0.514 | 0.949 | 0.725 |
| Vel test (% vUAn) S0 | 0.665 | 0.004 | 0.941 | 0.670 |
| Vel test (% vUAn) S8 | 0.854 | 0.241 | 0.803 | 0.107 |
| FCfin S0 | 0.915 | 0.507 | 0.866 | 0.249 |
| FCfin S8 | 0.674 | 0.006 | 0.863 | 0.163 |
| FCfin (% FCmax) S0 | 0.948 | 0.702 | 0.887 | 0.344 |
| FCfin (% FCmax) S8 | 0.908 | 0.413 | 0.927 | 0.526 |
| $\Delta PV_{\text{pre-post}}$ S0 | 0.997 | 0.990 | 0.970 | 0.897 |
| $\Delta PV_{\text{pre-30'}}$ S0 | 0.940 | 0.655 | 0.921 | 0.474 |
| $\Delta PV_{\text{pre-post}}$ S8 | 0.960 | 0.781 | 0.933 | 0.578 |
| $\Delta PV_{\text{pre-30'}}$ S8 | 0.992 | 0.967 | 0.913 | 0.416 |
