

González Calvo, G. y García López, D. (2012). Ejercicio físico y radicales libres, ¿es necesaria una suplementación con antioxidantes? / Physical activity and free radicals, is a supplementation with antioxidants necessary? Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y el Deporte vol. 12 (46) pp. 369-388
[Http://cdeporte.rediris.es/revista/revista46/artejercicio295.htm](http://cdeporte.rediris.es/revista/revista46/artejercicio295.htm)

REVISIÓN

EJERCICIO FÍSICO Y RADICALES LIBRES, ¿ES NECESARIA UNA SUPLEMENTACIÓN CON ANTIOXIDANTES?

PHYSICAL ACTIVITY AND FREE RADICALS, IS A SUPPLEMENTATION WITH ANTIOXIDANTS NECESSARY?

González Calvo, G.¹ y García López, D.²

¹Departamento de Didáctica de la Expresión Musical, Plástica y Corporal. Universidad de Valladolid. gustavogonzalezcalvo@gmail.com

²Departamento de Fisiología. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Europea Miguel de Cervantes dgarcia@uemc.es

Código UNESCO / UNESCO code: 2411.06 Fisiología del Ejercicio / Exercise physiology.

Clasificación del Consejo de Europa / Council of Europe classification: 6. Fisiología del Ejercicio / Exercise physiology.

Recibido 29 de agosto de 2010 **Received** August 29, 2010

Aceptado 3 de noviembre de 2011 **Accepted** November 3, 2011

RESUMEN

Aunque son ampliamente conocidos los beneficios que provienen de la práctica regular de ejercicio físico, existe también considerable evidencia de que, durante su práctica, aumenta la producción de radicales libres que producen daño oxidativo en el tejido muscular, hígado, sangre y, posiblemente, en otras estructuras. Para contrarrestar dicho daño, en los últimos tiempos se ha arraigado en nuestra sociedad la creencia de que el consumo habitual de determinados productos y suplementos antioxidantes mejora no sólo el estado de salud, sino también el rendimiento deportivo. En este artículo planteamos una revisión acerca de la necesidad de emplear este tipo de suplementación, así como los posibles riesgos y/o beneficios que de ella se derivan.

PALABRAS CLAVE: Radicales libres, estrés oxidativo, antioxidantes enzimáticos, antioxidantes no enzimáticos, suplementación, ejercicio físico.

ABSTRACT

Although the benefits that derive from the regular physical activity are widely known, there is also substantial evidence that, during its practice, free radical production, which produces oxidative stress in muscle tissue, liver, blood and, possibly, in other structures, experiments an increase. To counteract this oxidative stress, the belief that the habitual intake of certain antioxidant vitamin products and supplements improves not only the health, but the sport performance, has taken root in society lately. On this paper, we set out a revision on the need of using this type of supplementation, as well as the possible risks and/or benefits that derive from its use.

KEY WORDS: Free radicals, oxidative stress, enzymatic antioxidants, non-enzymatic antioxidants, supplementation, physical activity.

1. INTRODUCCIÓN

Se puede definir a los radicales libres como moléculas o fragmentos moleculares que contienen uno o más electrones desapareados en sus átomos u orbitales moleculares (Halliwell y Gutteridge, 1999). Estos electrones desapareados normalmente proporcionan un considerable grado de reactividad a la molécula.

Son los radicales derivados del oxígeno los que representan la mayoría de las especies radicales que se generan en los seres vivos (Miller et al., 1990). Ejemplos de estas sustancias son el anión superóxido, el radical hidroxilo o el peróxido de hidrógeno, entre otros. Pero no sólo las especies reactivas del oxígeno son las causantes del estrés oxidativo en el organismo. También ejercen un importante papel las especies reactivas del nitrógeno, que son las causantes del llamado estrés nitrosativo, y entre ellas destacan el óxido nítrico y el peroxinitrito generado por la reacción del óxido nítrico con el radical superóxido.

A pesar de que se tiende a enfatizar la peligrosidad de estas especies para los seres vivos, lo cierto es que forman parte de los procesos básicos de la vida como son la diferenciación, proliferación o limitación del crecimiento celular y apoptosis (Ghosh et al., 1996) y la defensa contra microorganismos patógenos mediante el “*estallido de oxígeno*” (Bae et al., 1997; Lee et al., 1998).

Cuando los radicales libres generados sobrepasan la capacidad de los sistemas antioxidantes del organismo, se llega a una situación de estrés

oxidativo, el cuál puede derivar en una serie de alteraciones celulares causantes de diversas patologías e incluso conducir a un envejecimiento prematuro. El término de estrés oxidativo fue definido por Sies (1986) como “una alteración del balance entre los agentes oxidantes y antioxidantes de la célula, a favor de los primeros”.

El estrés oxidativo es resultado inevitable de la vida en un medio rico en oxígeno. Para los organismos aeróbicos, el oxígeno es fundamental para su existencia, a pesar de resultar dañino. Es lo que se ha dado en llamar la “paradoja del oxígeno” (Jenkins, 2000).

2. OBJETIVOS

2.1. General

Conocer las variables determinantes del estrés y daño asociados a un programa de ejercicio físico y su relación con la suplementación alimenticia.

2.2. Específicos

1. Comprender la relación entre ejercicio físico, estrés oxidativo y suplementación.
2. Valorar el daño oxidativo que determinadas recomendaciones de suplementación alimenticia físico pueden tener en determinadas poblaciones, para poder ser prescrito y supervisado por profesionales adecuados.
3. Determinar los marcadores más habituales de daño oxidativo en los diferentes tejidos corporales a consecuencia de la práctica deportiva.

3 METODOLOGÍA

En el presente estudio se ha llevado a cabo un diseño de investigación establecido según los parámetros de una revisión sistemática (Benito *et al.*, 2007).

La selección de los artículos que forman parte de la presente revisión fueron consultados de las bases de datos *PubMed*, *EMBASE*, *MedLine*, *Web of Science*, *Dialnet*, *Teseo*, *DoCuMed*, *SportDiscus*, y el diccionario de Descriptores en Ciencias de la Salud *DeCS*.

Mención aparte merecen las bases de datos de revisiones sistemáticas, que se erigieron en uno de los pilares fundamentales y en una herramienta imprescindible en la elaboración del trabajo. Dentro de éstas, cabe destacar la base de datos de *Cochrane*, que proporcionó una información en castellano orientada a la toma de decisiones clínicas, al mismo tiempo que nos ofreció la posibilidad de acceder a evidencias científicas no publicadas pero sí de gran importancia (Argimon y Jiménez, 2005). Por otra parte, dentro de la base de

datos *Cochrane*, las que se emplearon en mayor medida fueron *Cochrane Database of Systematic Reviews*, donde consultamos revisiones sistemáticas que sintetizan el estado actual de la temática abordada; *DARE* (del inglés *Database of Abstracts of Reviews of Effectiveness*), muy útil al ofrecernos la posibilidad de consultar resúmenes estructurados en los que se incluyen los métodos de revisión, resultados y conclusiones, al tiempo que presenta un comentario crítico sobre la revisión; y *Cochrane Methodology Register*, donde se incluyen referencias de artículos acerca de aspectos metodológicos relacionados con las revisiones sistemáticas.

De forma general, se siguieron los siguientes pasos en la redacción de la revisión bibliográfica (Thomas y Nelson, 2007):

1. Consulta de las fuentes secundarias (como enciclopedias y revisiones de investigación), esto es, las fuentes de datos en las que un autor ha evaluado y resumido investigaciones previas.
2. Determinación de los descriptores, es decir, los términos de búsqueda que ayudan a localizar fuentes pertenecientes a un tema. En nuestro caso, los descriptores fueron “*oxidative stress*”, “*antioxidation mechanisms*”, “*free radical oxidative stress*”, “*oxidative stress exercise and antioxidant supplementation*”, “*lipid peroxidation AND antioxidant supplementation*”, “*oxidative stress AND exercise*”, “*oxidative stress AND maximal exercise*”, “*free radicals AND exercise*”.
3. Búsqueda de las fuentes preliminares y de las fuentes primarias.
4. Lectura, registro y categorización de la literatura.
5. Redacción de la revisión bibliográfica.

En la selección de los artículos seguimos una serie de criterios de validez, entre los que destacan los siguientes: 1) que existiera una homogeneidad en cuanto a la problemática abordada; 2) que el artículo hubiera sido publicado en una revista con índice de impacto; 3) que tuviera una antigüedad inferior a diez años, salvo en el caso de tratarse de artículos científicos considerados clásicos dentro de la materia de investigación; 4) que valoraran adecuadamente el estado del problema objeto de estudio; 5) que indicaran el modo de hacer frente al problema, esto es, las medidas llevadas a cabo para su cuantificación y tratamiento; 6) que se ofrezcan resultados con un alto nivel de robustez.

4. EJERCICIO FÍSICO Y ESTRÉS OXIDATIVO

Se sabe que la práctica regular y sistemática de ejercicio físico está asociada con múltiples bondades sobre el organismo (aumento del tono muscular, pérdida de peso, mejoría funcional del aparato cardiovascular, aumento del metabolismo energético y de las defensas antioxidantes, aumento de la fuerza y de la resistencia y disminución de la osteoporosis, entre otros). Por este motivo, cada día son más las campañas divulgativas institucionales sobre la necesidad de adoptar estilos de vida saludables, animando a la población a realizar ejercicio. Sin embargo, no podemos obviar que existe también considerable evidencia de que, durante su práctica, aumenta la

producción de radicales libres que producen daño oxidativo en el tejido muscular, hígado, sangre y, posiblemente, en otras estructuras (Jenkins, 1988; Sjodin et al., 1990; Davies, 1999). Desde hace más de una década, se ha incrementado sustancialmente el interés en este tópico, así como en los efectos que tienen las distintas terapias antioxidantes (Ji, 1995; Sen et al., 1994). De forma general, se acepta que sesiones aisladas de ejercicio incrementan el daño oxidativo al organismo, y el ejercicio realizado de forma regular y sistemática lo reduce (Gómez-Cabrera et al., 2008), mientras que el ejercicio excesivo y el sobreentrenamiento conducen a un estado de estrés oxidativo (Radák, 2008).

La primera hipótesis empleada para tratar de avalar un incremento del estrés oxidativo a partir de la práctica de ejercicio físico es el incremento del metabolismo asociado a dicha actividad mediante la fosforilación oxidativa que se produce en la cadena respiratoria mitocondrial como consecuencia de la actividad de sistemas enzimáticos, tales como la xantina deshidrogenasa/oxidasa, la NADH/NADPH oxidasa, las lipoxigenasas, las ciclooxigenasas y las sintasas del óxido nítrico (Páramo et al., 2001), y por el incremento del consumo de oxígeno para satisfacer la demanda que supone la actividad muscular (Caillaud et al., 1999). No obstante, el grupo de Britton Chance (1979, en Gómez-Cabrera et al., 2008) reveló que, aproximadamente el 2% del oxígeno utilizado por la mitocondria es convertido a radicales libres solamente cuando la mitocondria está en estado de reposo; sin embargo, cuando la mitocondria está en estado activo, produciendo ATP desde el ADP, la proporción de oxígeno convertido a radicales libres es un décimo de la encontrada en el estado de reposo. Con estos cálculos en mente, el papel de la mitocondria en la formación de radicales libres durante el ejercicio debería reconsiderarse. Así, entre las posibles fuentes de producción de radicales libres durante el ejercicio, se pueden citar las siguientes (Pradas, 2007):

1. Un "escape" de electrones, en la cadena mitocondrial de transporte de electrones con producción de anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) (Boveris y Chance, 1973; Boveris y Cadenas, 1975; Cadenas et al., 1977; Sjodin et al., 1990).
2. El fenómeno de isquemia-reperfusión, con la conocida producción de radicales libres que la acompaña (Bloomer et al., 2010; Kellog y Fridovich, 1975; Wolbarsht y Fridovich, 1989).
3. La autooxidación de catecolaminas, cuyos niveles suelen estar aumentados durante el ejercicio (Kan et al., 1999; Singh, 1999).

Durante la actividad física, aún en individuos entrenados, se incrementa notablemente la producción de radicales libres y, por lo tanto, es mayor el requerimiento de mecanismos de defensa antioxidante. Algunas de las defensas antioxidantes se adecuan con el entrenamiento, pero pueden ser superadas cuando se excede el nivel de ejercicio al cuál se han adaptado,

generando una situación de estrés oxidativo. El daño oxidativo va a depender no sólo de la agresividad química del propio oxidante, sino también de la cantidad de éste y del tiempo de exposición, así como del tipo de tejido que sufra el efecto y de la eficacia de las defensas antioxidantes disponibles (Sies, 1991).

Ya en 1978 se demostró por primera vez que el ejercicio físico podía conducir a un incremento en la peroxidación lipídica. Dillard et al. (1978, en de Dios, 2008) observaron un aumento de 1,8 veces en el nivel de pentano exhalado, un subproducto de la peroxidación lipídica, después de realizar un ejercicio consistente en sesenta minutos de pedaleo. Desde entonces se han acumulado crecientes evidencias que sostienen la hipótesis de que la actividad física tiene la capacidad de aumentar la producción de radicales libres y conducir al estrés oxidativo.

Asimismo, el estrés oxidativo juega un papel fundamental en la progresión del daño producido en la fibra muscular una vez se ha producido el daño inicial cuando el ejercicio físico ha tenido un carácter predominantemente excéntrico (García-López et al., 2007).

Los deportistas que, regularmente, se someten a ejercicios físicos extenuantes, a lo largo de los años pueden acumular productos de daño molecular especialmente en músculo esquelético, hueso, cartílago, hígado e inflamación generalizada. Por ello, la utilización de sustancias antioxidantes, que disminuyan dicha acumulación, podría contribuir a mejorar la salud a largo plazo de los atletas; de ahí la importancia de desarrollar estrategias que permitan no sólo mejorar su rendimiento, sino también prevenir sus lesiones.

5. MARCADORES DE DAÑO OXIDATIVO COMO CONSECUENCIA DE LA PRÁCTICA DEPORTIVA

Si el ejercicio aumenta la producción de radicales libres, parece lógico que este aumento pueda evidenciarse de una manera u otra. Medir la producción de radicales libres directamente es una tarea muy compleja, principalmente, por la corta vida de éstos. Para paliar este inconveniente, existe una serie de marcadores que posibilitan determinar, ya sea directa o indirectamente, el daño que las especies radicales provocan en el organismo. De este modo, se puede valorar el daño producido sobre los lípidos (peroxidación lipídica) determinando los niveles de malondialdehído, de 4-hidroxinonenal o de 8-isoprostanos; el daño provocado sobre las proteínas, cuantificando la concentración de grupos carbonilos; o el daño que ha sufrido el ADN, valorando la concentración de 8-hidroxiguanosina.

Todas estas determinaciones pueden llevarse a cabo en muestras de sangre entera, en plasma, suero sanguíneo y/u orina, mediante técnicas bioquímicas como espectrofotometría, cromatografía, etc.

A continuación se detallan los principales marcadores de estrés oxidativo en seres humanos:

5.1. Proteínas

Las proteínas son moléculas objetivo de los efectos de los radicales libres, pudiendo ocasionar una disminución en la función de las mismas. El contenido de proteínas carboniladas, generadas por una ruptura y oxidación de la cadena polipeptídica principal o por una oxidación de las cadenas laterales en determinados aminoácidos (como arginina, lisina, prolina y treonina, entre otros) es utilizado como marcador de estrés oxidativo (Lopaczynski y Zeisel, 2002). Los datos existentes son algo contradictorios respecto a las alteraciones en los niveles de proteínas carboniladas respecto al ejercicio físico. A pesar de que algunos autores han observado un aumento de estos niveles bajo condiciones de entrenamiento regulares (Radák et al., 1999; Radák et al., 2003), otros en cambio no encuentran variaciones significativas (Bloomer et al., 2006).

5.2. Peroxidación lipídica

Entre las medidas de cuantificación de peroxidación lipídica se incluyen el pentano espirado, el malondialdehído, los hidroperóxidos lipídicos, los isoprostanos y los dienos conjugados (Urso y Clarkson, 2003). La mayoría de los estudios emplean la medición de malondialdehído como marcador de estrés oxidativo impuesto por el ejercicio físico. Cuando se forman los radicales libres, éstos pueden atacar a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares, conduciendo a una serie de reacciones químicas en cadena llamadas peroxidación lipídica; estos ácidos grasos, al romperse, forman gases hidrocarbonatos (tales como etano o pentano) y aldehídos (por ejemplo, malondialdehído) (Ghosh, 1996).

Como ya se ha comentado anteriormente, Dillard et al. (1978) demostraron que la concentración de pentano exhalado se incrementa después de realizar un ejercicio de larga duración. Este descubrimiento fue confirmado por numerosos investigadores, incluyendo un estudio de Kanter et al. (1993), quienes concluyeron que los niveles de pentano exhalado se incrementaron de forma proporcional a la carga de trabajo durante un ejercicio sobre bicicleta llevado a cabo en humanos. No obstante, la validez de uso de los hidrocarbonos como marcadores de peroxidación lipídica *in vivo* necesitaba ser confirmada. Así, se supo que el contenido de malondialdehído durante el ejercicio se incrementaba en varios tejidos, y se comprobó que la magnitud de la peroxidación lipídica parecía estar estrechamente vinculada con la intensidad del ejercicio practicado (Alessio, 1993).

5.3. Ácidos nucleicos

Los ácidos nucleicos también pueden ser atacados por los radicales libres. La citotoxicidad de estas especies químicas, en buena parte, es

consecuencia de las alteraciones cromosómicas producidas por las modificaciones químicas que sufren las bases y los azúcares del ADN al reaccionar con los radicales libres, especialmente con el radical hidroxilo, con consecuencias similares a las de los agentes carcinógenos.

Se ha demostrado que la excreción urinaria de 8-hidroxy-deoxyguanosina se incrementa después del ejercicio (Okamura et al., 1997), lo que se considera una medición de oxidación en las bases del ADN como respuesta al ataque de los radicales libres (Han et al., 2000, en Urso y Clarkson, 2003).

Se han empleado varias técnicas para evaluar la 8-hidroxy-deoxyguanosina, entre las que se incluyen HPLC (cromatografía líquida de alta eficacia, de acuerdo con sus siglas en inglés), GCMS (cromatografía de gases acoplada a espectrómetro de masas) así como ensayos enzimáticos (Han et al., 2000, en Urso y Clarkson, 2003).

Okamura et al. (1997) examinaron los cambios en la excreción urinaria de 8-hidroxy-deoxyguanosina en corredores de larga distancia que participaron en un entrenamiento de ocho días. Las medidas en orina a las 24 horas mostraban un incremento significativo desde el día de pre-entrenamiento hasta el octavo día de entrenamiento. Por el contrario, corredores entrenados y sujetos sedentarios que llevaron a cabo el ejercicio físico una única vez sobre tapiz rodante no mostraron niveles elevados de 8-hidroxy-deoxyguanosina inmediatamente después del ejercicio, lo que sugiere que es necesario someterse a sesiones repetidas de ejercicio de resistencia para que se acumulen productos de oxidación en el ADN (Cuevas et al., 2005).

5.4. Glutation

El glutatión es un antioxidante que se emplea como medida de estrés oxidativo. Así, la ratio glutatión oxidado/glutatión reducido disminuye bajo condiciones oxidativas (Urso y Clarkson, 2003). Los métodos de detección incluyen HPLC y técnicas espectrofotométricas.

Varios estudios han concluido que la tasa a que hacíamos referencia anteriormente, disminuye como respuesta al ejercicio (Laaksonen et al., 1999; Sen, 1999). Así, por ejemplo, Laaksonen et al. (1999) encontraron que el glutatión oxidado se incrementó un 50% después de pedalear durante 40 minutos al 60% del consumo máximo de oxígeno. Ji et al. (1993) examinaron el mecanismo de cambio en glutatión en sangre como respuesta al ejercicio, encontrando que la ratio glutatión oxidado/glutatión reducido así como el glutatión total se incrementaron como consecuencia de un ejercicio consistente en pedalear desde el 70% del consumo máximo de oxígeno hasta el agotamiento.

5.5. Homocisteína

A pesar de que la homocisteína, un aminoácido sulfurado derivado del metabolismo de la metionina, no es un marcador directo del estrés oxidativo inducido por el ejercicio, la incluimos aquí porque existen concluyentes evidencias de que la práctica de actividad físico incrementa los niveles de ésta (Herrmann et al., 2003; Real et al., 2005; McAnulty et al., 2005)

La homocisteína plasmática total es un factor de riesgo cardiovascular, incluyendo arteriosclerosis, enfermedad arterial coronaria, enfermedad cerebrovascular e infarto de miocardio (Herrmann, 2005). Estudios previos muestran que la homocisteína contribuye a la patogénesis de la arterioesclerosis, provocando disfunción endotelial y promoviendo el crecimiento de las células vasculares del músculo liso, patología que forma parte del proceso aterogénico. Se piensa que estos efectos adversos son debidos a su estrecha relación con el proceso de oxidación celular. Así, la homocisteína genera especies reactivas de oxígeno (superóxidos y peróxido de hidrógeno) que, a su vez, provocan lesiones en los endotelios de los vasos arteriales, al mismo tiempo que disminuyen la biodisponibilidad de óxido nítrico endotelial. El óxido nítrico, por su parte, desempeña un importante papel en la regulación del tono vascular basal, y se piensa que un aumento en la producción de éste está relacionada con el descenso de la presión sanguínea observada en la realización de ejercicio de manera regular, actuando como mecanismo de adaptación (Poveda et al., 1997).

6. MECANISMOS PROTECTORES ANTE EL DAÑO OXIDATIVO. ¿SON NECESARIOS LOS SUPLEMENTOS ANTIOXIDANTES?

Puesto que resulta imposible prevenir la producción *in vivo* de todos los radicales libres, parece normal que los organismos hayan desarrollado una amplia variedad de defensas antioxidantes. Se define el término antioxidante como *“cualquier sustancia que retrasa, previene o elimina el daño oxidativo provocado en una molécula diana”* (Halliwell y Gutteridge, 2007).

La exposición a radicales libres conduce a los organismos a desarrollar una serie de mecanismos de defensa antioxidante (Cadenas, 1997). No existe un antioxidante mejor o peor que los demás, sino que el rango depende de la naturaleza del daño oxidativo.

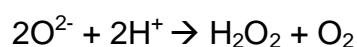
Los mecanismos de defensa contra el estrés oxidativo provocado por los radicales libres suponen, en términos generales: (i) mecanismos preventivos, (ii) mecanismos reparadores, (iii) defensas físicas, y (iv) defensas antioxidantes. Las defensas antioxidantes, a su vez, pueden clasificarse, en términos generales, en enzimáticas, no enzimáticas y plasmáticas.

Las defensas enzimáticas incluyen la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y la catalasa. Los antioxidantes no enzimáticos son el ácido ascórbico (vitamina C), tocoferol (vitamina E), glutatión (GSH), flavonoides, ácido úrico y otros antioxidantes.

Además, una sesión de ejercicio físico realizado a una intensidad de carácter ligero a moderado ha demostrado estimular la actividad de las enzimas antioxidantes, lo que podría considerarse como un mecanismo defensivo de las células sobre el estrés oxidativo. Por esta razón, el ejercicio físico de moderada intensidad podría considerarse, en sí mismo, como un agente antioxidante.

6.1. Antioxidantes enzimáticos

La superóxido dismutasa (SOD) es una enzima que solamente actúa en organismos aeróbicos. Es la encargada de catalizar la dismutación del anión superóxido a oxígeno y peróxido de hidrógeno, a través de la siguiente reacción:

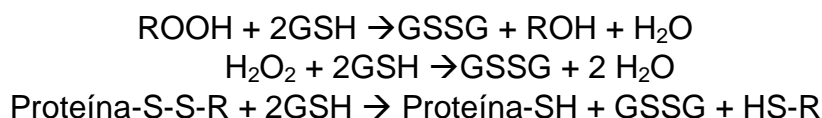


En humanos existen tres tipos de superóxido dismutasa: Cu/Zn-SOD, en el citosol celular; Mn-SOD, en la mitocondria; y SOD extracelular.

La catalasa, por su parte, se encuentra en los peroxisomas, siendo la enzima encargada de reducir el peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno:



Pero el principal sistema de protección antioxidante endógeno viene dado por la enzima glutatión peroxidasa, que se encuentra en mitocondrias y citosol. Esta enzima cataliza la reducción del peróxido de hidrógeno, empleando como agente reductor al glutatión reducido, en base a las siguientes reacciones:



Puesto que el interés de nuestra revisión se centra en el papel de la suplementación administrada de forma exógena, no profundizaremos más en los sistemas de protección antioxidante enzimáticos.

6.2. Antioxidantes no enzimáticos

6.1.1. Vitamina C (ácido ascórbico)

Los efectos antioxidantes de la vitamina C (ácido ascórbico) han sido considerados como beneficiosos en muchas enfermedades humanas, como arterioesclerosis, cáncer y cataratas. No obstante, se ha sugerido que, bajo ciertas condiciones, la vitamina C podría actuar como pro-oxidante, debido a la alta reactividad de ésta con los metales de transición, tales como el hierro. Los resultados de un estudio llevado a cabo por Childs et al. (2001) indican que la

suplementación con vitamina C, después de una inflamación severa y aguda provocada por un ejercicio de carácter excéntrico, incrementa el estrés oxidativo y los niveles de daño celular por encima de los niveles provocados solamente por la lesión sin tomar suplementación. Al parecer, son los incrementos en los metales libres, debidos a la ingesta de suplementos, y la activación celular en la producción de peróxidos, los responsables de estos elevados niveles de estrés oxidativo y de daño muscular en los sujetos que reciben suplementación.

Un estudio llevado a cabo por Reid et al. (1993) concluyó que la administración de suplementos de vitamina C en ratas por encima de sus necesidades dietéticas conducía a una disminución en su consumo máximo de oxígeno y en la capacidad de correr asociadas al entrenamiento, lo que suponen malas adaptaciones al ejercicio físico. En el lado contrario se sitúa el estudio de Ashton et al. (2003), realizado sobre diez estudiantes de Educación Física de entre 18 y 30 años a los que se les suministraron 1000 mg de ácido ascórbico dos horas antes de la realización del protocolo de ejercicio físico. Los resultados demostraron que la administración del suplemento de vitamina C disminuyó de forma significativa la peroxidación lipídica de las membranas celulares y el nivel de nitritos, aunque condujo a un incremento significativo del radical derivado del ácido ascórbico.

6.1.2. Vitamina E (α -tocoferol)

La vitamina E es una vitamina liposoluble antioxidante esencial para el correcto funcionamiento de las células, y uno de los suplementos vitamínicos sobre el que más documentación se ha reportado.

La interrelación entre ejercicio físico, suplementación antioxidante con α -tocoferol, estrés oxidativo y niveles plasmáticos de homocisteína no están claros. McAnulty et al. (2005) propusieron la hipótesis de que la suplementación con vitamina E podría reducir el nivel plasmático de homocisteína y los marcadores de estrés oxidativo en comparación con el grupo placebo. Este estudio indica que una prolongada suplementación con α -tocoferol no afecta a las concentraciones plasmáticas de homocisteína en atletas altamente entrenados durante el ejercicio exhaustivo. De la misma manera, la suplementación con vitamina E no tuvo ningún efecto sobre el rendimiento deportivo de los atletas (no hubo diferencias en el tiempo de carrera entre el grupo de suplementación y el grupo control).

Parecidas conclusiones se extraen del estudio de Wright et al. (1998), en el que la suplementación durante dos meses con α -tocoferol en triatletas no mostró efecto alguno tras hacer ejercicio exhaustivo (Wright et al., 1998).

Por otro lado, un estudio efectuado por Aoi et al. (2004) sometió a dos grupos de ratas (subdivididos, a su vez, en otros dos grupos: uno sedentario con dieta normal, uno sedentario que sigue una dieta rica en α -tocoferol, uno

sometido a ejercicio físico regular con dieta normal, y uno sometido a ejercicio físico que sigue una dieta rica en α -tocoferol) para determinar si la suplementación con vitamina E resultaría beneficiosa como protector antioxidante. La dieta normal consistía en una administración de 20 mg/kg de peso de α -tocoferol, mientras que la dieta rica alcanzaba los 500 mg/kg de peso. Tras someter a ambos grupos a una prueba de esfuerzo consistente en correr a una velocidad de 25 metros/minuto durante 60 minutos, se extrajo tejido muscular del gastrocnemio, concluyendo que el daño oxidativo provocado por el ejercicio agudo provocaba lesiones en el músculo tanto en ratas entrenadas como sedentarias, si bien una dieta alta en α -tocoferol minimiza el daño. Estos resultados indican que el daño muscular de aparición tardía está relacionado con las especies reactivas de oxígeno mediante la inflamación que acontece por la infiltración de fagocitos, y el α -tocoferol parece atenuar dicho proceso inflamatorio.

A este respecto del proceso inflamatorio asociado al ejercicio, señalar el estudio de Mastaloudis et al. (2004). Para determinar si 6 semanas de suplementación con vitaminas E y C podrían aliviar la peroxidación lipídica y la inflamación inducidas por el ejercicio, se estudiaron 22 corredores durante una prueba de resistencia aeróbica de 50 kilómetros. Los sujetos fueron asignados aleatoriamente a uno de dos grupos: grupo placebo o grupo antioxidantes (tomaban 1000 miligramos de vitamina C y 300 miligramos de tocoferol acetato). Con suplementación, los niveles plasmáticos de tocoferol y ácido ascórbico se incrementaron en el grupo de antioxidantes, pero no en el grupo placebo. Los marcadores de inflamación se incrementaron dramáticamente en respuesta a la carrera independientemente del grupo de tratamiento. Así, cabe concluir que la suplementación previno la peroxidación lipídica inducida por el ejercicio de resistencia aeróbica (disminución en la cantidad de F2-isoprostanos), pero no tuvo efecto en los marcadores inflamatorios.

6.1.3. Ácido úrico

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas en humanos, y se encuentra en la sangre en forma de urato monosódico.

Está considerado un potente antioxidante extracelular, debido a que elimina radicales solubles en agua tales como ácido hipocloroso, peroxinitrito y oxígeno singlete (Howell y Wyngaarden, 1960; Ames et al., 1981; Maples y Mason, 1988).

Algunos estudios demuestran que el ácido úrico representa una gran parte (más del 50%) de la capacidad antioxidante plasmática (Wayner et al., 1987). Así, el ácido úrico ayuda a proteger las membranas celulares, los eritrocitos, el ácido hialurónico y el ADN de la oxidación por radicales libres.

Otra propiedad antioxidante importante del ácido úrico es su acción protectora de la vitamina C (Wayner et al., 1987), debido a su capacidad para formar complejos estables con iones de hierro.

El ejercicio físico intenso incrementa la concentración plasmática de ácido úrico, difundiendo éste a los músculos para protegerlos de la oxidación por acción de los radicales libres. Por este motivo, se puede considerar al ácido úrico como uno de los antioxidantes más importantes en plasma y músculo. En todo caso, no existen publicaciones, a día de hoy, que indiquen si la administración exógena de ácido úrico podría tener efectos beneficiosos sobre el daño oxidativo inducido por el ejercicio físico.

6.2. Otros agentes antioxidantes

6.2.1. Aguas sulfuradas

Las aguas sulfuradas son las que poseen mayor un número de indicaciones terapéuticas, debido fundamentalmente a que el contenido de azufre que aportan al organismo se absorbe prácticamente por completo por todas las vías de balneación. Entre las muchas propiedades terapéuticas del agua sulfurada, hay cuatro que son exclusivas dentro del conjunto de las aguas mineromedicinales: propiedad hematopoyética, propiedad detoxificante hepática, propiedad antioxidante y revitalizante.

Se ha demostrado, en personas mayores que acudieron a balnearios, los efectos beneficiosos del tratamiento con aguas mineromedicinales sulfuradas (Hernández-Torres et al., 1999; 2004) y bicarbonatadas sulfatadas (Ramón et al., 2006) constatando, del mismo modo, el descenso en la eliminación urinaria de malondialdehído, uno de los productos finales de la peroxidación lipídica.

Aunque la bibliografía existente sobre las propiedades antioxidantes del agua sulfurada es bastante limitada, el estudio de Hernández et al. (2004) sugieren que los niveles de malondialdehído disminuyen a medida que los individuos del estudio siguen un tratamiento a largo plazo consistente en la toma de aguas sulfuradas.

Son necesarios posteriores estudios que determinen si el tratamiento con aguas sulfuradas en personas deportistas puede no sólo mejorar su rendimiento, sino fundamentalmente prevenir el daño oxidativo que se origina como consecuencia de la práctica regular y sistemática de ejercicio físico.

6.2.2. Flavonoides

Los flavonoides, un gran grupo de metabolitos secundarios de las plantas, son compuestos fenólicos que se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en ciertas bebidas como el vino y la cerveza. Forman parte natural de nuestra dieta, y actualmente tienen un interés creciente para la medicina alternativa, pues se les atribuye varias propiedades beneficiosas, entre las que se incluyen efectos antioxidantes, antiinflamatorios y anticancerígenos (Galati y O'Brien, 2004; Dorta et al., 2008).

El mayor flavonoide occidental en la dieta y el que mayor capacidad antioxidante posee es la quercitina (Duthie et al., 2003). De acuerdo con varias investigaciones, las personas que siguen una dieta rica en flavonoides tienen hasta un 60% menos de probabilidades de padecer enfermedades cardiovasculares (Hertog et al., 1996; Geleijnse et al., 2002).

Otras investigaciones, en cambio, demuestran que los fenoles de la dieta actúan como sustancias pro-oxidantes en aquellos sistemas que contienen metales como cobre o hierro, pues en presencia de oxígeno dichos metales catalizan el ciclo de oxidación-reducción de éstos, lo que conduce a la formación de especies reactivas de oxígeno y de radicales fenoxilo que podrían ocasionar daños en ADN, membranas lipídicas y otras moléculas biológicas (Decker, 1997; Yamanaka et al., 1997), lo que puede explicar la base de sus acciones mutagénicas y citotóxicas (Hodnick et al., 1988). Ahora bien, debe señalarse que dichas acciones únicamente parecen producirse cuando la dosis ingerida de flavonoides es muy alta (Da Silva et al., 2002), por lo que dosis normales, entre 20 y 26 mg/día (Rimm et al., 1996) de frutas y verduras (cebollas, manzanas, naranjas y uvas son ricas en flavonoides), así como infusiones de té verde o té negro, son sin duda una buena e imprescindible elección en la dieta del deportista. No obstante, el hábito de suplementarse con este tipo de nutrientes, particularmente a través de fórmulas antioxidantes y mezclas herbales que se recomiendan frecuentemente en dosis de gramos más que de miligramos, podría resultar en una exposición a niveles potencialmente tóxicos (Skibola, 2000), por lo que desaconsejamos su empleo.

6.2.3. *Ginkgo biloba*

El extracto de *Ginkgo biloba* ha demostrado ser efectivo en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, y se emplea comúnmente para tratar enfermedades arteriales e insuficiencia cerebral (DeFeudis, 1988). El extracto contiene, fundamentalmente, dos tipos de constituyentes: flavonoides y terpenoides (DeFeudis, 1988).

Boveris et al. (2007) estudiaron el efecto de la suplementación con *Ginkgo biloba* en la peroxidación lipídica de membranas microsomales en ratas. Así, los animales tratados mostraron un contenido significativamente menor de radicales lipídicos y de TBARS (un marcador de peroxidación lipídica) después de la exposición a estrés oxidativo tanto *in vivo* como *in vitro*. De acuerdo con estos datos, parece que el extracto de *Ginkgo biloba* es capaz de limitar la peroxidación lipídica y proteger a las membranas celulares del daño oxidativo.

El equipo de Wang et al. (2007), por su parte, analizó si el ejercicio físico combinado con suplementación a base de *Ginkgo biloba* sería más beneficioso que el ejercicio por sí solo en pacientes con enfermedades arteriales periféricas. Al parecer, la suplementación de *Ginkgo biloba* asociada al ejercicio físico no provoca mayores mejoras que el ejercicio por sí mismo, al menos en el tratamiento de este tipo de enfermedades.

7. CONCLUSIONES

Si bien es cierto que existen numerosos informes y estudios acerca del aumento del rendimiento físico a partir de tratamientos con agentes antioxidantes, previniendo el daño ocasionado por los radicales libres, los resultados de la suplementación con este tipo de sustancias deben establecerse a largo plazo, dejando clara su intervención en la disminución del deterioro del rendimiento corporal provocado por el proceso normal de envejecimiento, así como en el incremento de los beneficios derivados de la práctica física regular tanto en atletas como en personas físicamente activas.

Preguntas tales como ¿cuánta suplementación es demasiada?, ¿una ingesta elevada en antioxidantes puede bloquear total o parcialmente los efectos positivos que tienen los radicales libres sobre el organismo?, ¿una dieta alta en carbohidratos incrementa las necesidades de antioxidantes?, ¿una ingesta elevada de grasas poliinsaturadas, o una ingesta de hierro o cobre afectan las necesidades de antioxidantes? Los resultados de los estudios no son consistentes, en parte debido a los diferentes niveles de entrenamiento de los sujetos, los diferentes tipos de deportes, ejercicios e intensidades llevados a cabo, así como por las numerosas medidas de estrés oxidativo empleadas.

Son necesarias investigaciones futuras que empleen metodologías más recientes y sofisticadas para proporcionar respuestas a varias de estas cuestiones. A día de hoy, no existen evidencias concluyentes para poder afirmar que el ejercicio resulte en un estado de estrés oxidativo dañino, así como tampoco existen certezas de que los antioxidantes puedan minimizar el estrés oxidativo si éste llegara a ocurrir.

Desde nuestra perspectiva, pensamos que una recomendación prudente podría consistir en recomendar a los deportistas una alimentación rica en antioxidantes naturales, más que una suplementación adicional de los mismos.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alessio, H. M. (1993). Exercise-induced oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.* 25: 218–224.

Ames, B. N.; Cathcart, R.; Schwiers, E.; Hochstein, P. (1981). Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant-and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci.* 78(11): 6858-62

Aoi, W.; Naito, Y.; Takanami, Y.; Kawai, Y.; Sakuma, K.; Ichikawa, H.; Yoshida, N.; Yoshikawa, T. (2004). Oxidative stress and delayed-onset muscle damage after exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 37(4): 480-487.

Ashton, T.; Young, I. S.; Davison, G. W. *et al.* (2003). Exercise-induced endotoxemia: the effect of ascorbic acid supplementation. *Free Radic Biol Med,* 35(3): 284-291.

Bae, Y. S.; Kang, S. W.; Seo, M. S. (1997). Epidermal growth factor (EGF)-induced generation of hydrogen peroxide. Role in EGF receptor-mediated tyrosine phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 272 (1): 217-221.

Benito, P. J.; Díaz, V.; Calderón, J.; Peinado, A. B.; Martín, C. *et al.* (2007). La revisión bibliográfica sistemática en fisiología del ejercicio: recomendaciones prácticas. *Revista Internacional de Ciencias del Deporte*, 6(3): 1-11. [<http://www.cafyd.com/REVISTA/art1n6a07.pdf>] [acceso el 4.7.2010].

Bloomer, R. J.; Smith, R. W.; Fisher-Wellman, K. H. (2010). Oxidative stress in response to forearm ischemia-reperfusion with and without carnitine administration. *Int J Vitam Nutr Res*, 80(1): 12-23.

Boveris, A.; Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide: general properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochem J.* 134: 707-716.

Boveris, A.; Cadenas, E. (1975). Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin insensitive respiration. *FEBS Lett.* 54: 311-314.

Boveris, A. D.; Galleano, M.; Puntarulo, S. (2007). In vivo supplementation with Ginkgo biloba protects membranes against lipid peroxidation. *Phytother. Res.* 21(8):735-740.

Cadenas, E.; Boveris, A.; Ragan, C. I.; Stoppani, O. M. (1977). Production of superoxide radicals and hydrogen peroxide by NADH-ubiquinone reductase and ubiquinol-cytochrome c reductase from beef heart mitochondria. *Arch Biochem Biophys.* 180: 248-257.

Cadenas, E. (1997). Basic mechanisms of antioxidant activity. *Biofactors.* 6: 391-397.

Caillaud, C.; Py, G.; Eydoux, N.; Legros, P.; Prefaut, C.; Mercier, J. (1999). Antioxidants and mitochondrial respiration in lung, diaphragm, and locomotor muscles: effect of exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 26(9-10): 1292-1299.

Childs, A.; Jacobs, C.; Kaminski, T.; Halliwell, B.; Leeuwenburgh, C. (2001). Supplementation with vitamin C and N-acetyl-cysteine increases oxidative stress in humans after an acute muscle injury induced by eccentric exercise. *Free Radic. Biol. Med.* 31(6): 745-753.

Cuevas, M. J.; Almar, M.; García-Glez, J. C.; García-López, D.; De Paz, J. A.; Alvear-Órdenes, I.; González-Gallego, J. (2005). Changes in oxidative stress markers and NF-kappaB activation induced by sprint exercise. *Free Radic Res.* 39(4):431-9.

Davies, K. J. A. (1999). The Broad Spectrum of Responses to Oxidants in Proliferating Cells: a New Paradigm for Oxidative Stress. *IUBMB Life.* 48: 41 - 47.

Da Silva, J.; Herrmann, S. M.; Peres, W.; Possa Marroni, N.; Gonzalez Gallego, J.; Erdtmann, B. (2002). Evaluation of the genotoxic effect of rutin and quercetin by comet assay and micronucleus test. *Food Chem. Toxicol.* 40: 941-947.

Decker, E. A. (1997). Phenolics: prooxidants or antioxidants? *Nutr. Rev.* 55: 396- 407.

de Dios Benítez, J. (2008): *Valoración del estrés oxidativo producido por el ejercicio físico inducido en dos grupos de varones prepuberales y puberales*. Tesis Doctoral. Córdoba: Universidad de Córdoba.

[http://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/2352/abre_fichero.pdf?sequence=1] [acceso el 17.7.2010].

DeFeudis, F. V. (1988). *Gingko biloba Extract (EGb761): From Chemistry to the Clinic*. Ulstein Medical. Wisbaden, Germany.

Dillard, C. J.; Litov, R. E.; Savin, W. M.; Dumelin, E. E.; Tappel, A.L. (1978). Effects of exercise, vitamin E and ozone on pulmonary function and lipid peroxidation. *J. Appl. Physiol.* 45: 927-932.

Dorta, D. J.; Pigoso, A. A.; Mingatto, F. E.; Rodrigues, T.; Pestana, C. R.; Uyemura, S. A.; Santos, A. C.; Curti, C. (2008). Antioxidant activity of flavonoids in isolated mitochondria. *Phytother. Res.* 22(9): 1213-1218.

Duthie, G. G.; Gardner, P. T.; Kyle, J. A. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proc. Nutr. Soc.* 62(3): 599-60.

Galati, G.; O'Brien, P. J. (2004). Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties. *Free Radic. Biol. Med.* 37(3): 287-303.

García-López, D.; Cuevas, M. J.; Almar, M.; Lima, E.; de Paz, J. A., González-Gallego, J. (2007). Effects of eccentric exercise on NF- κ B activation in blood mononuclear cells. *Med. Sci. Sports Exerc.* 39(4): 653-664.

Geleijnse, J. M.; Launer, L.J.; Van der Kuip, D.A.; Hofman, A.; Witteman, J. C. (2002). Inverse association of tea and flavonoid intakes with incident myocardial infarction: the Rotterdam study. *Am. J. Clin. Nutr.* 75: 880-886.

Ghosh, S. K.; Chakraborti, T.; Banerjee, A. B.; Roychoudhury, S.; Chakraborti, S. (1996). Role of hydroxyl radical in superoxide induced microsomal lipid peroxidation: Protective effect of anion channel blocker. *J. Biosci.* 21: 35-43.

Gómez-Cabrera, M. C.; Domenech, E.; Viña, J. (2008). Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology & Medicine.* 44: 126-131.

Halliwell, B.; Gutteridge, J. M. C. (1999). *Free radicals in biology and medicine* (3rd ed.). Oxford University Press.

Halliwell, B.; Gutteridge, J.M.C. (2007) *Free Radicals in Biology and Medicine*. 4th ed. Clarendon Press, Oxford.

Hernández-Torres, A.; Ramón, J. R.; Cuenca, E.; Márquez, J. (1999). Acción antioxidante de la crenoterapia con aguas sulfuradas y peloides sobre el organismo humano en relación con la edad. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* 34: 215-225.

Hernández-Torres, A.; Cuenca, E.; Ramón J. R.; Casado, A.; López-Fernández, M.E. (2004). Duración mínima del tratamiento con aguas bicarbonatadas sulfatadas para conseguir un efecto antioxidante en personas mayores de 65 años. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* 39(3):166-173.

Herrmann, M.; Schorr, H.; Obeid, R.; Scharhag, J.; Urhausen, A.; Kindermann, W.; Herrmann, W. (2003). Homocysteine increases during endurance exercise. *Clin. Chem. Lab. Med.* 41(11): 1518-1524.

Herrmann, W. (2001). The importance of hyperhomocysteinemia as a risk factor for diseases: an overview. *Clin. Chem. Lab. Med.* 39: 666-674.

Hertog, M. G.L.; Hollman, P. C. H.; Putte, van de B. (1996). Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines, and fruit juices. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1242-1246.

Hodnick, W.; Milosaljevic, E.; Nelson, J. (1988). Electrochemistry of flavonoids. *Biochem. Pharmacol.* 37: 2607- 2611.

Howell, R. R.; Wyngaarden, J. B. (1960). On the mechanism of peroxidation of uric acids by hemoproteins. *J. Biol. Chem.* 235: 3544-50

Jenkins, R. R. (1998). Free radicals chemistry: relationship to exercise. *Sports Med.* 5: 156-170.

Jenkins, R. R. (2000). Exercise and oxidative stress methodology: a critique. *Am. J. Clin. Nutr.* 72 (2 Suppl): 670S-674S.

Ji, L. L.; Katz, A.; Fu, R.; Griffiths, M.; Spencer, M. (1993). Blood glutathione status during exercise: effect of carbohydrate supplementation. *J. Appl. Physiol.* 74 (2): 788-792.

Ji, L. L. (1995). Oxidative stress during exercise: Implications of antioxidant nutrients. *Free Rad. Biol. Med.* 18: 1079-1086.

Kan, H.; Xie, Z.; Finkel, M. S. (1999). Norepinephrine-stimulated MAP kinase activity enhances cytokine-induced NO production by rat cardiac myocytes. *Am. J. Physiol.* 276 (1 Pt 2): H47-52.

Kanter, M. M.; Nolte, L. A.; Holloszy, J. O. (1993). Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and postexercise. *J. Appl. Physiol.* 74: 965–969.

Kellog, E. W.; Fridovich, I. (1975). Superoxide, hydrogen peroxide, and singlet oxygen in lipid peroxidation by a xanthine oxidase system. *J Biol Chem.* 250: 8812-8817.

Laaksonen, D. E.; Atalay, M.; Niskanen, L.; Uusitupa, M.; Hanninen, O.; Sen, C.K. (1999). Blood glutathione homeostasis as a determinant of resting and exercise-induced oxidative stress in young men. *Redox Rep.* 4 (1-2): 53-59.

Lee, Y. J.; Galoforo, S. S.; Berns, C. M. (1998). Glucose deprivation-induced cytotoxicity and alterations in mitogen-activated protein kinase activation are mediated by oxidative stress in multidrug-resistant human breast carcinoma cells. *J. Biol. Chem.* 273 (9): 5294-5299.

Lopaczynski, W.; Zeisel, S. H. (2002). Antioxidants, programmed cell death, and cancer. *Nutrition Research.* 21(1-2): 295-307.

McAnulty, S. R.; McAnulty, L. S.; Nieman, D. C.; Morrow, J.D.; Shooter, L.A.; Holmes, S.; Heward, C.; Henson, D. A. (2005). Effect of alpha-tocopherol supplementation on plasma homocysteine and oxidative stress in highly trained athletes before and after exhaustive exercise. *J. Nutr. Biochem.* 16(9): 530-537.

Maples, K. R.; Mason, R. P. (1988). Free radical metabolite of uric acid. *J. Biol. Chem.* 263(4): 1709-12.

Miller, D. M.; Buettner, G. R.; Aust, S. D. (1990). Transition metals as catalysts of "autoxidation" reactions. *Free Radic. Biol. Med.* 8: 95–108.

Okamura, K.; Doi, T.; Koichiro, H.; Sakurai, M.; Yoshioka, Y.; Mitsuzono, R.; Migita, T.; Sumida, S.; Sugawa-Katayama, Y. (1997). Effect of repeated

exercise on urinary 8-hydroxy-deoxyguanosine excretion in humans. *Free Rad. Res.* 26: 507-514.

Páramo, J. A.; Orbe, M. J.; Rodríguez, J. A. (2001). Papel de los antioxidantes en la prevención de la enfermedad cardiovascular. *Med. Clin. (Barc)*. 116: 629-635.

Poveda, J. J.; Riestra, A.; Salas, E.; Cagigas, M. L.; López-Somoza, C.; Amado, J. A.; Berrazueta, J. R. (1997). Contribution of nitric oxide to exercise-induced changes in healthy volunteers: effects of acute exercise and long-term physical training. *Eur. J. Clin. Invest.* 27(11): 967-971.

Pradas de la Fuente, F. (2007): *Efectos del explay sobre el rendimiento deportivo y los riesgos del entrenamiento físico de larga duración*. Tesis Doctoral. Granada: Universidad de Granada.

[<http://hera.ugr.es/tesisugr/16733733.pdf>] [acceso el 15.8.2010].

Radák, Z.; Kaneko, T.; Tahara, S.; Nakamoto, H.; Ohno, H.; Sasvári, M.; Nyakas, C.; Goto, S. (1999). The effect of exercise training on oxidative damage of lipids, proteins, and DNA in rat skeletal muscle: evidence for beneficial outcomes. *Free Radic. Biol. Med.* 27(1-2): 69-74.

Radák, Z.; Ogonovszky, H.; Dubecz, J.; Pavlik, G.; Sasvari, M.; Pucsok, J.; Berkes, I.; Csont, T.; Ferdinandy, P. (2003). Super-marathon race increases serum and urinary nitrotyrosine and carbonyl levels. *Eur. J. Clin. Invest.* 33(8): 726-730.

Radák, Z.; Chung, H. Y.; Koltai, E.; Taylor, A.W.; Goto, S. (2008). Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res. Rev.* 7(1): 34-42.

Ramón, J. R.; Hernández-Torres, A.; Cuenca Giralde, E.; Casado, A.; López-Fernández, M. E. (2006). La eliminación urinaria de productos de lipoperoxidación depende del ritmo biológico anual. *Rev. Esp. Geriatr. Gerontol.* 41 (5): 285-288.

Real, J. T.; Merchante, A.; Gómez, J. L.; Chaves, F. J.; Ascaso, J. F.; Carmena, R. (2005). Effects of marathon running on plasma total homocysteine concentrations. *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases.* 15: 134-139.

Reid, M. B.; Khawli, F. A.; Moody, M. R. (1993). Reactive oxygen in skeletal muscle. Contractility of unfatigued muscle. *J. Appl. Physiol.* 75: 1081-1087.

Rimm, E. R.; Katan, M. B.; Ascherio, A.; Stampfer, M.; Willet, W. (1996). Relation between intake of flavonoids and risk for coronary heart disease in male health professionals. *Ann. Intern. Med.* 125: 384-389.

Sen, C.K.; Rankinen, T.; Vaisanen, S.; Rauramaa, R. (1994). Oxidative stress after human exercise: effect after N-acetylcysteine supplementation. *J. Appl. Physiol.* 76: 2570-2577.

Sen, C.K. (1999). Glutathione homeostasis in response to exercise training and nutritional supplements. *Mol. Cell. Biochem.* 196: 31-42.

Sies, H. (1986). Biochemistry of oxidative stress. *Angewandte Chemie.* 25: 1058-1071.

Sies, H. (1991). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *London Academic Press.*

Sjodin, B.; Hellsten Westing, Y.; Apple, F. S. (1990). Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med.* 10: 236-254.

Thomas, J. R.; Nelson, J. K. (2007). *Métodos de investigación en actividad física*. Barcelona: Paidotribo.

Urso, M. L.; Clarkson, P. M. (2003). Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology.* 189 (1-2): 41-54.

Wang, J.; Zhou, S.; Bronks, R.; Graham, J.; Myers, S. (2007). Supervised exercise training combined with ginkgo biloba treatment for patients with peripheral arterial disease. *Clin. Rehabil.* 21(7): 579-86.

Wayner, D. D. M.; Burton, G. W.; Ingold, K. U. (1987). The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. *Biochim. Biophys. Acta.* 73: 235-47

Wolbarsht, M. L.; Fridovich, I. (1989). Hyperoxia during reperfusion is a factor in reperfusion injury. *Free Rad Biol Med.* 6: 61-62.

Wright, M.; Francis, K.; Cornwell, P. (1998). Effect of acute exercise on plasma homocysteine. *J. Sports Med. Phys. Fitness.* 38: 262-265.

Yamanaka, A.; Oda, O.; Nagao, S. (1997). Green tea catechins such as epicatechin and epigallocatechin accelerate Cu²⁺-induced low density lipoprotein oxidation in propagation phase. *FEBS Lett.* 401: 230– 234.

Referencias totales / Total references: 73 (100%)

Referencias propias de la revista / Journal's own references: 0