

INGESTA AGUDA DE *p*-SINEFRINA: EFECTOS SOBRE EL RENDIMIENTO FÍSICO, OXIDACIÓN DE
LOS SUSTRATOS ENERGÉTICOS Y RESPUESTA CARDIOVASCULAR EN REPOSO Y EJERCICIO

JORGE GUTIÉRREZ HELLÍN



TESIS DOCTORAL

**INGESTA AGUDA DE *p*-SINEFRINA:
EFECTOS SOBRE EL RENDIMIENTO FÍSICO,
OXIDACIÓN DE LOS SUSTRATOS ENERGÉTICOS
Y RESPUESTA CARDIOVASCULAR
EN REPOSO Y EJERCICIO**

— Facultad de Educación y Salud —



Autor

Jorge Gutiérrez Hellín



Director

Dr. Juan José Salinero Martín

Tutor

Dr. Juan del Coso Garrigós

 **Universidad
Camilo José Cela**



FACULTAD DE EDUCACIÓN Y SALUD

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

**INGESTA AGUDA DE *p*-SINEFRINA: EFECTOS SOBRE EL
RENDIMIENTO FÍSICO, OXIDACIÓN DE SUSTRATOS ENERGÉTICOS
Y RESPUESTA CARDIOVASCULAR EN REPOSO Y EJERCICIO**

AUTOR

JORGE GUTIÉRREZ HELLÍN

DIRECTOR

DR. JUAN JOSÉ SALINERO

TUTOR

DR. JUAN DEL COSO GARRIGÓS

Madrid 2019

A mi abuelo, Balbino.

A Susana.

A mis padres, Mercedes y Alberto.

A mi hermana, Silvia.

A mis amigos...

Agradecimientos

A todos y cada uno de los participantes que han formado parte de mis investigaciones con una sonrisa en la cara y de manera altruista con el único objetivo de ayudarme a sacar adelante esta Tesis Doctoral. A todos y todas ellas les doy las gracias sinceramente porque sin ellos no se habría podido desarrollar este documento.

A mis profesores y compañeros que son los que me han enseñado a lo largo de todo este camino, desde la carrera universitaria, pasando por el máster hasta culminar con esta Tesis Doctoral. Me gustaría destacar la gran generosidad y entrega que les definen al igual que su grandísimo esfuerzo y trabajo que realizan día a día para transmitir el conocimiento a todos y cada uno de sus alumnos.

A cada uno de mis compañeros y compañera de mi grupo de entrenamiento que dan forma a mi vida, el deporte, ayudándome día a día y poniendo el cuerpo y la mente al límite de sus posibilidades con el único objetivo de la superación propia.

A mis compañeros del doctorado con los que he pasado una gran cantidad de tiempo durante este camino, aportado grandes conocimientos y momentos, brindando también, un apoyo fundamental en la realización de la Tesis Doctoral.

A mi familia porque lo es todo, sin ellos no sería la persona que soy hoy. Especialmente a mi abuelo, un libro del que solo se puede aprender y sonreír. Seguramente sin su ayuda, apoyo, motivación no habría podido compaginar la Tesis Doctoral con el trabajo y con el atletismo de alto nivel. A ellos les debo sinceramente la mayor gratitud, por que pase lo que pase, siempre están ahí.

A mi director de Tesis, Juan José Salinero y a mi tutor Juan Del Coso, quienes han tenido el mayor protagonismo en la realización de la tesis. Trabajadores, profesionales, genios... Gracias por vuestra paciencia y tiempo que habéis invertido en mí. Estoy muy agradecido por todo lo que me habéis enseñado. Para mí, grandísimos profesionales predicando con el ejemplo y no con palabras.

ÍNDICE

Abreviaturas utilizadas	11
Índice de tablas	13
Índice de figuras	14
1. Resumen	19
2. Abstract	23
3. Marco teórico	29
3.1. Justificación	29
3.2. <i>p</i> -Sinefrina, isómeros y enantiómeros	31
3.3. Farmacocinética y farmacodinamia de la <i>p</i> -Sinefrina en humanos	33
3.4. Seguridad y toxicidad de la <i>p</i> -Sinefrina	37
3.5. <i>p</i> -Sinefrina y ejercicio físico	41
3.6. Cafeína	47
3.6.1. Cafeína	47
3.6.2. Cafeína y rendimiento deportivo	48
3.6.3. Cafeína y oxidación de grasas	49
3.6.4. Cafeína y <i>p</i> -Sinefrina	50
4. Objetivos e hipótesis	55
5. Estudios de campo y laboratorio	59
5.1. Estudio 1	
EL CONSUMO AGUDO DE <i>p</i> -SINEFRINA	
NO AUMENTA EL RENDIMIENTO DEPORTIVO EN VELOCISTAS DE ÉLITE	65
5.1.1. Objetivos del estudio	65
5.1.2. Material y métodos	65
5.1.3. Resultados	70

5.2. Estudio 2	
LA INGESTA AGUDA DE <i>p</i> -SINEFRINA AUMENTA EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS DURANTE UN EJERCICIO INCREMENTAL	75
5.2.1. Objetivos del estudio	75
5.2.2. Material y métodos	75
5.2.3. Resultados	79
5.3. Estudio 3	
EFFECTOS DE LA DOSIS RESPUESTA DE LA <i>p</i> -SINEFRINA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS DURANTE EL EJERCICIO DE INTENSIDAD INCREMENTAL	83
5.3.1. Objetivos del estudio	83
5.3.2. Material y métodos	83
5.3.3. Resultados	87
5.4. Estudio 4	
EFFECTOS DE LA COMBINACIÓN DE <i>p</i> -SINEFRINA Y CAFEÍNA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS Y CARBOHIDRATOS DURANTE EL EJERCICIO	91
5.4.1. Objetivos del estudio	91
5.4.2. Material y métodos	91
5.4.3. Resultados	94
5.5. Estudio 5	
EFFECTOS DE LA INGESTA DE <i>p</i> -SINEFRINA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS Y CARBOHIDRATOS DURANTE UN EJERCICIO DE INTENSIDAD INCREMENTAL EN CICLISTAS DE ÉLITE	99
5.5.1. Objetivos del estudio	99
5.5.2. Material y métodos	99
5.5.3. Resultados	104
5.6. Estudio 6	
EFFECTOS DE LA INGESTA AGUDA DE <i>p</i> -SINEFRINA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS DURANTE 60 MINUTOS DE EJERCICIO	107
5.6.1. Objetivos del estudio	107
5.6.2. Material y métodos	107
5.6.3. Resultados	109

6. Discusión	115
6.1. <i>p</i> -Sinefrina e influencia en el rendimiento deportivo	115
6.2. <i>p</i> -Sinefrina y oxidación de sustratos energéticos	121
6.3. <i>p</i> -Sinefrina, dosis respuesta	127
6.4. <i>p</i> -Sinefrina y combinación con cafeína	129
6.5. <i>p</i> -Sinefrina y efectos secundarios	133
7. Limitaciones	137
8. Conclusiones	141
9. Conflicto de intereses	145
10. Bibliografía	149
11. Anexos	169



Abreviaturas utilizadas

ANOVA: *Analysis of variance* (análisis de varianza), por sus siglas en inglés.

ATP: *Adenosine Triphosphate* (adenosín trifosfato), por sus siglas en inglés.

CA: *Citrus Aurantium*.

CHO: Carbohidrato.

CMJ: *Countermovement jump* (salto con contra-movimiento), por sus siglas en inglés.

d: Tamaño del efecto (Cohen).

DEXA: *Dual-energy X-ray absorptiometry* (absorciometría de rayos x de doble energía), por sus siglas en inglés.

Fatmax: Intensidad del ejercicio a la que se consigue la máxima tasa de oxidación de grasa.

FC: Frecuencia cardíaca.

FC_{max}: Frecuencia cardíaca máxima.

FDA: *Food and Drug Administration* (Agencia de alimentos y medicamentos de Estados Unidos), por sus siglas en inglés.

HDL: *High density lipoprotein* (lipoproteínas de alta densidad), por sus siglas en inglés.

IAAF: *International Association of Athletics Federations* (Asociación internacional de federaciones de atletismo) por sus siglas en inglés.

IMC: Índice de masa corporal.

JCR: *Journal Citation Reports* (Informes de citas de revistas), por sus siglas en inglés.

LDL: *Low density lipoprotein* (lipoproteínas de baja densidad), por sus siglas en inglés.

MFO: *Maximal fat oxidation* (máximo consumo de grasas), por sus siglas en inglés.

NEFA: *Non-esterified fatty acid* (Ácidos grasos no esterificados), por sus siglas en inglés.

O₂: Oxígeno diatómico.

PA: Presión arterial.

PLAC: Placebo.

PS: *p*-Sinefrina.

RPE: *Rate perceived exertion* (nivel de esfuerzo percibido), por sus siglas en inglés.

RPM: Revoluciones por minuto.

RM: Repetición máxima.

SCX: Intercambiador catiónico fuerte a base de gel de sílice, con ácido bencenosulfónico.

SD: *Standard deviation* (desviación estándar), por sus siglas en inglés.

SJ: *Squat jump* (salto con flexión de rodillas mantenida), por sus siglas en inglés.

SNC: Sistema nervioso central.

SSCE: *Stretch-shortening cycle efficiency* (Eficiencia del ciclo de estiramiento-acortamiento), por sus siglas en inglés.

TP: *Transformation product* (producto de transformación), por sus siglas en inglés.

UA: Unidades arbitrarias.

WADA: *World Anti-doping Agency*, (Agencia Mundial Antidopaje) por sus siglas en inglés.

W_{max}: *Maximal Watts* (Vatios máximos), por sus siglas en inglés.

VCO₂: Producción de dióxido de carbono.

VO₂: Consumo de oxígeno.

VO_{2max}: Consumo máximo de oxígeno.

VO_{2pico}: Consumo pico de oxígeno.

Índice de tablas

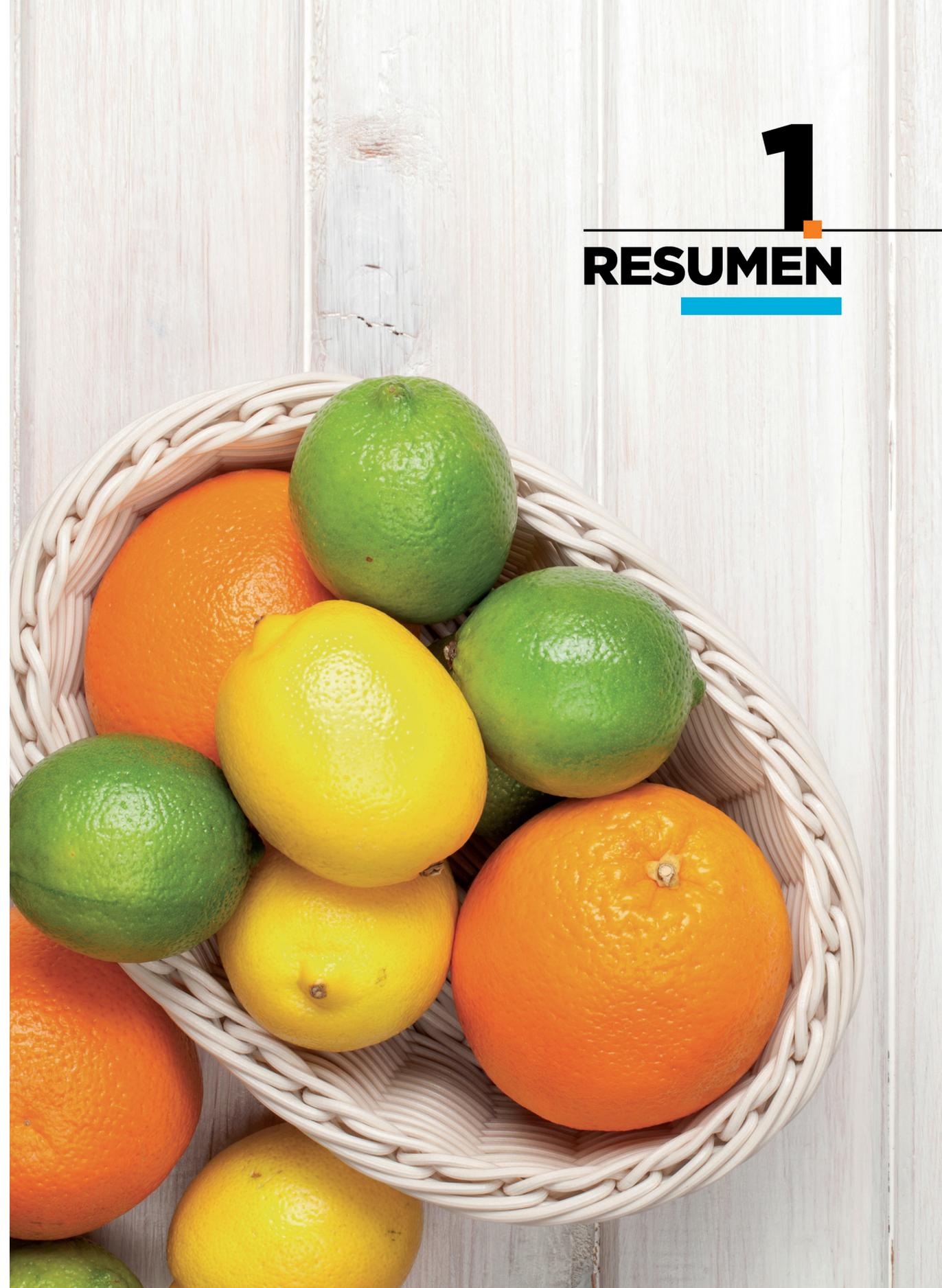
Tabla 1. Revista de publicación de los artículos de la Tesis Doctoral e índice de impacto en el momento de elaboración de la Tesis Doctoral.	60
Tabla 2. Esquema con las principales características metodológicas y principales resultados de los estudios que conforman esta Tesis Doctoral.	62
Tabla 3. Características morfológicas, años de experiencia y hábitos de entrenamiento de los participantes en el estudio (n=13).	66
Tabla 4. Variables durante el salto Countermovement Jump (CMJ) y squat jump (SJ) tras una ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo (control).	71
Tabla 5. Concentraciones urinarias de <i>p</i> -sinefrina y ácido 4-hidroxi mandélico antes y después del protocolo específico para velocistas con una ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo (control).	73
Tabla 6. Prevalencia de efectos secundarios y percepciones durante el protocolo de test específico para velocistas durante las siguientes horas con una ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo (control).	73
Tabla 7. Variables metabólicas y cardiovasculares durante el reposo, una hora después de la ingesta de <i>p</i> -sinefrina o placebo. Los datos se presentan como la media ± SD de 18 participantes.	79
Tabla 8. Clasificación de la aptitud percibida después de una prueba incremental hasta la fatiga volitiva y la prevalencia de efectos secundarios durante las 24 horas siguientes a la prueba con una ingesta de 1, 2 y 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo (control).	90
Tabla 9. Variables cardiovasculares en reposo una hora después de ingerir 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina, 3 mg·kg ⁻¹ de cafeína, la combinación de ambas o placebo. Los datos se presentan como promedio ± SD de 13 participantes.	98
Tabla 10. Clasificación de la aptitud percibida después de una prueba incremental hasta la fatiga volitiva y la prevalencia de efectos secundarios durante las 24 horas siguientes a la prueba con una ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina, 3 mg·kg ⁻¹ de cafeína, combinación de ambas sustancias o placebo. Los datos se presentan como el promedio ± SD o frecuencias para 13 participantes.	98
Tabla 11. Edad, características morfológicas e información relevante de los participantes de la investigación.	101

Índice de figuras

Figura 1. <i>Citrus Aurantium</i> (Naranja amarga), perteneciente a la familia de las Rutáceas. Hoja, fruto y flor.	30
Figura 2. Estructura química: a) <i>p</i> -sinefrina, b) <i>m</i> -sinefrina y c) <i>o</i> -sinefrina.	31
Figura 3. Estructura enantiomérica de la <i>p</i> -sinefrina (Sidney & Harry, 2012).	32
Figura 4. Vías de transformación de <i>p</i> -sinefrina. Las especies se reportan como iones protonados (Medana et al., 2013).	35
Figura 5. Laboratorio de fisiología del ejercicio de la Universidad Camilo José Cela y pista de atletismo del polideportivo municipal de Moratalaz. Entornos donde se han desarrollado las investigaciones experimentales.	61
Figura 6. Células fotoeléctricas en la pista de atletismo del polideportivo municipal de Moratalaz, durante las pruebas de sprint 60m y 100m.	68
Figura 7. Test de altura de salto durante 15-s repetidos a la máxima altura tras una ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo (control).	71
Figura 8. Velocidad de carrera durante el test de velocidad de 60 m y 100 m lisos con una ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo (control).	72
Figura 9. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	80
Figura 10. Consumo de grasas (gráfico superior) y consumo de carbohidratos (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	81
Figura 11. Diagrama de cajas y bigotes (gráfico superior), y respuesta individual (gráfico inferior) del consumo máximo de grasas registrado durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de ingerir 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	82
Figura 12. Cápsulas opacas de <i>p</i> -sinefrina y placebo con su respectiva numeración alfanumérica.	84
Figura 13. Ritmo de oxidación de grasa (gráfico superior) de carbohidratos (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad creciente una hora después de la ingesta de 1, 2 y 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	88
Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes (gráfico superior), y media ± SD (gráfico inferior) para las tasas máximas de oxidación de grasa alcanzadas durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 1, 2 y 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	89
Figura 15. En la imagen se muestra a uno de los sujetos durante las pruebas experimentales en el test de intensidad incremental durante la investigación.	93
Figura 16. Gasto energético (gráfico superior), el ritmo de oxidación de carbohidratos (gráfico central) y ritmo de oxidación de grasas (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina, 3 mg·kg ⁻¹ de cafeína, la combinación de ambas sustancias o placebo.	96
Figura 17. Diagrama de cajas (gráfico superior) y tasas máximas de oxidación de grasa (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina, 3 mg·kg ⁻¹ de cafeína, la combinación de 3 mg·kg ⁻¹ de ambas sustancias o placebo.	97
Figura 18. Sujetos de la investigación. Ciclistas de élite de un equipo español.	100
Figura 19. Sujeto de la investigación realizando el test de intensidad incremental en el cicloergómetro durante la realización de las pruebas experimentales.	103
Figura 20. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	105
Figura 21. Ritmo de oxidación de carbohidratos (gráfico superior) y ritmo de oxidación de grasas (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	106
Figura 22. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad (Fatmax) mantenida durante 60 minutos una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	111
Figura 23. Ritmo de oxidación de carbohidratos (gráfico superior) y ritmo de oxidación de grasas (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad (Fatmax) mantenida durante 60 minutos una hora después de la ingesta de 3 mg·kg ⁻¹ de <i>p</i> -sinefrina o placebo.	112
Figura 24. Biosíntesis de la <i>p</i> -sinefrina y de las catecolaminas (Rossato, Costa, Limberger, et al., 2011).	117

1

RESUMEN



La *p*-sinefrina (PS) es un protoalcaloide presente en algunas de las plantas de la familia Rutaceae popularmente denominado como *citrus*. Esta sustancia puede ser ingerida a través de productos naturales como los zumos de cítricos, mandarinas, naranjas de Sevilla, pomelos, etc. Por otro lado, la PS también puede ser sintetizada en el laboratorio para ser incluida en suplementos alimenticios en dosis mayores a las encontradas naturalmente en las frutas. En la actualidad, este alcaloide se incluye comúnmente en productos destinados a incrementar el rendimiento deportivo para el control del peso corporal. Sin embargo, la información científica disponible hasta la fecha sobre la eficacia y seguridad de la PS en humanos es muy limitada.

El objetivo de la presente Tesis Doctoral fue investigar los efectos de la ingesta aguda de PS en el rendimiento físico, en la oxidación de los sustratos energéticos y en la respuesta cardiovascular en el reposo y el ejercicio. Para cumplir este objetivo se plantearon seis investigaciones con un diseño experimental de medidas repetidas, doble-ciego y con orden aleatorizado en las que la PS fue ingerida 45 minutos antes del inicio de las pruebas y fue comparada a una sustancia placebo (PLAC). En total, 89 deportistas jóvenes y sanos participaron en las investigaciones.

En el Estudio 1 se investigó el efecto de una dosis de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS en pruebas de velocidad en atletismo (60 metros lisos, 100 metros lisos), la potencia de salto y posibles efectos secundarios en 13 velocistas experimentados. En esta investigación, la PS no fue efectiva para incrementar el rendimiento físico en las pruebas de velocidad y salto mientras que tampoco se encontraron efectos secundarios en las 24 horas siguientes a la ingesta en comparación con el PLAC.

En el Estudio 2 se investigó los efectos de una dosis de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS sobre la oxidación de los sustratos energéticos, la presión arterial (PA) y la frecuencia cardíaca (FC) en reposo y durante un ejercicio de intensidad incremental en un total de 18 participantes. Se observó que la PS aumentó el ritmo de oxidación de grasas,

mientras redujo el ritmo de oxidación de carbohidratos (CHO) durante el ejercicio de intensidad baja/moderada. La PS no modificó la respuesta cardiovascular ni en el reposo ni en el ejercicio, ni produjo efectos secundarios en las 24 horas siguientes a la ingesta en comparación con el PLAC.

En el Estudio 3 se investigó el efecto dosis-respuesta de la PS sobre la oxidación de sustratos energéticos y la FC en el reposo y durante el ejercicio. Para ello, se administraron 1, 2 o 3 mg·kg⁻¹ de PS antes de un ejercicio de intensidad creciente a un total de 17 participantes activos. En esta investigación se observó un efecto dosis respuesta desde 1 hasta 2 mg·kg⁻¹ mientras que la dosis de 3 mg·kg⁻¹ no produjo efectos superiores. No se encontró ningún efecto en la FC en reposo ni durante el ejercicio en ninguna de las dosis utilizadas.

En el Estudio 4 se investigó los efectos de la combinación de la PS y cafeína sobre el efecto en variables cardiovasculares medidas en reposo y sobre la oxidación de sustratos energéticos durante el ejercicio de intensidad incremental en el cicloergómetro. 13 sujetos activos participaron en esta investigación. Tanto la PS como la cafeína, ingeridas de manera aislada, fueron efectivas para incrementar la oxidación de grasas durante el ejercicio. Sin embargo, la adición de 3 mg·kg⁻¹ de cafeína, no potenció el efecto sobre la oxidación de grasas que mostro la ingesta aislada de PS. Tampoco se encontraron efectos secundarios tras la ingesta aislada de PS, mientras que la cafeína aumentó las puntuaciones de potencia muscular y resistencia percibidas, pero redujo el nivel de esfuerzo percibido (RPE) en comparación con el PLAC.

El Estudio 5 tuvo por objetivo determinar los efectos agudos de la ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de PS en el ritmo de oxidación de grasas y CHO durante el ejercicio de intensidad incremental en ciclistas de élite. Para ello se reclutaron 15 participantes altamente entrenados que realizaron un test incremental. La ingesta aguda de 3 mg·kg⁻¹ de PS no modificó la FC ni las presiones arteriales medidas en reposo ni mostró una mayor potencia alcanzada durante el test de intensidad incremental en el cicloergómetro. Sin embargo, esta dosis incrementó la oxidación de grasas durante el ejercicio en intensidades de moderadas a altas.

Finalmente, el Estudio 6 tuvo por objetivo analizar el efecto de la ingesta aguda de 3 mg·kg⁻¹ de PS sobre el ritmo de oxidación de grasas durante 60 minutos de ejercicio al Fatmax en el cicloergómetro. Para este objetivo se reclutaron 13 participantes jóvenes y sanos. Los resultados obtenidos mostraron que la ingesta aguda de 3 mg·kg⁻¹ no modificó ninguna de las variables medida en reposo (FC ni PA

sistólica ni diastólica). Sin embargo, la ingesta de 3 mg·kg⁻¹ PS incrementó la oxidación de grasas en comparación con el PLAC en 60 minutos de ejercicio a una intensidad mantenida (Fatmax) reduciendo la oxidación de CHO en comparación con el PLAC.

En conclusión, la ingesta aguda de PS no incrementó el rendimiento físico en pruebas de potencia/velocidad, pero fue efectiva para incrementar el ritmo de oxidación de grasas durante el ejercicio de intensidad de baja a moderada, a expensas del ritmo de oxidación de CHO. Por otro lado, la PS no modificó la PA ni la FC en el reposo ni durante el ejercicio, ni produjo efectos secundarios en las 24 horas siguientes a su ingesta. Por tanto, la PS ingerida de manera aguda, y al menos con una dosis de 2 mg·kg⁻¹, puede ser considerada como una sustancia efectiva para incrementar la oxidación de grasas durante el ejercicio a intensidades bajas/moderadas y segura en términos de ausencia de efectos secundarios. Sin embargo, los efectos de la PS deben ser investigados cuando se utiliza en dosis mayores y tras su consumo a largo plazo.

Palabras clave: *citrus aurantium*, oxidación de grasas, estimulante, suplemento dietético, ejercicio.

2. ABSTRACT

p-Synephrine (PS) is a protoalkaloid present in some plants of the Rutaceae family that are popularly known as citrus. This substance can be ingested through natural products such as citrus juices, tangerines, Seville oranges, grapefruit, etc. On the other hand, PS can also be artificially to be included in food supplements at higher doses than those naturally found in fruits. Currently, this alkaloid is commonly included in products intended to increase sports performance to control body weight. However, the scientific information available to date on the efficacy and safety of PS in humans is very limited.

The objective of this Doctoral Thesis was to investigate the effects of acute PS ingestion on physical performance, on the oxidation of energy substrates, and on the cardiovascular response at rest and exercise. To achieve these objectives, six investigations were proposed with an experimental design of repeated measures, double-blind and with randomized order in which PS was ingested 45 minutes before the start of the tests and compared to a placebo substance (PLAC). In total, 89 young and healthy athletes participated in the investigations.

In Study 1, the effect of a 3 mg·kg⁻¹ PS dose on speed tests in athletics (60 meters flat, 100 meters flat), the power of vertical jump, and possible side effects in 13 experienced sprinters was investigated. In this investigation, the PS was not effective at increasing physical performance in the speed and jump tests, not finding a higher prevalence of side effects in the 24 hours after the ingestion in the comparison with the PLAC.

In Study 2, the effect of a 3 mg·kg⁻¹ dose of PS was measured. We measured the dosage's effect on energy substrate oxidation, blood pressure, resting heart rate, and exercise heart rate. This was tested on 18 participants during an incremental

intensity exercise. PS increased the rate of fat oxidation, while reducing the rate of carbohydrate oxidation during low/moderate intensity exercise. PS did not modify the cardiovascular response either at rest or during exercise, nor did it produce a higher prevalence of side effects 24 hours after ingestion in comparison to PLAC.

In Study 3, the dose-response effect of PS on energy substrate oxidation and resting and exercise heart rates was investigated. To do this, 1, 2 or 3 mg·kg⁻¹ of PS were administered before an exercise of increasing intensity to a total of 17 active participants. A dose response effect was observed from 1 to 2 mg·kg⁻¹ while the dose of 3 mg·kg⁻¹ did not produce superior effects. No effect on resting heart rate or during exercise was found in any of the doses used.

In Study 4, we combined PS and caffeine to investigate their effects on cardiovascular variables measured at rest. We also measured their effects on energy substrate oxidation during an incremental exercise intensity test on an ergometric bicycle. 13 active subjects participated in this investigation. Both PS and caffeine, which were both ingested individually, were effective at increasing fat oxidation during exercise. However, the addition of 3 mg·kg⁻¹ of caffeine did not potentiate the fat oxidation that showed the isolated intake of PS. No side effects were found after the individual intake of PS. Although caffeine increased perceived muscle power and endurance scores, it reduced the level of perceived exertion (RPE) in comparison to the PLAC.

Study 5 aimed to determine PS's (3 mg·kg⁻¹) acute effects on fat and carbohydrate oxidation during incremental intensity exercise trials in 15 elite cyclists. The acute intake of 3 mg·kg⁻¹ of PS did not modify the heart rate or resting arterial pressures nor did it show a greater power reached. However, this dose increased fat oxidation at moderate to high intensities.

Finally, in Study 6, we measured PS's (3 mg·kg⁻¹) acute effect on fat oxidation during 60 minutes of exercise on the cycle ergometer. 13 young and healthy participants were recruited. The obtained results showed that the acute intake of mg·kg⁻¹ did not modify any of the variables measured at rest (heart rate, systolic or diastolic blood pressure). However, the intake of 3 mg·kg⁻¹ PS increased fat oxidation in comparison to the PLAC in 60 minutes of exercise at a maintained intensity (Fatmax).

In conclusion, acute PS intake did not increase physical performance in power/speed tests, but it was effective in increasing the rate of fat oxidation during low to moderate intensity exercise. However, it was at the expense of the

carbohydrate oxidation rate. On the other hand, PS did not modify blood pressure or HR at rest or during exercise, nor did it produce, side effects in the 24 hours after its ingestion. Therefore, acutely ingested PS, and at least a dose of 2 mg·kg⁻¹, can be considered as an effective substance to increase fat oxidation during exercise at low/moderate intensities and safe in terms of absence of side effects. However, the effects of PS should be investigated when used in larger doses and after long-term use.

Key words: *citrus aurantium*, fats metabolism, stimulant, dietary supplement, exercise.



3

**MARCO
TEÓRICO**

3.1 JUSTIFICACIÓN

La *p*-sinefrina (PS, 4-[1-hidroxi-2-(metilamino)etil]fenol) es un derivado de la feniletilamina presente de forma natural en la naranja amarga (Figura 1; *Citrus aurantium* (CA)). La PS es la amina adrenérgica principal en esta fruta y por tanto, considerada como la principal responsable de los efectos de la ingesta de CA (Pellati, Benvenuti, y Melegari, 2004; Roman, Betz, y Hildreth, 2007). Es una sustancia que se puede obtener/ingerir a través de productos naturales, aunque también puede ser obtenida de manera artificial en el laboratorio (Pellati y Benvenuti, 2007; Rossato et al., 2010). La PS está presente de manera natural en otros alimentos derivados de frutas cítricas que consumimos diariamente, como es el caso de zumos cítricos, naranjas de Sevilla, mandarinas, pomelos, mermeladas de cítricos, etc. (Dragull, Breksa, y Cain, 2008). Sin embargo, la concentración y la cantidad de PS ingerida a través de estos alimentos es muy inferior a las dosis que se establecen en productos comerciales que contienen esta sustancia (Arbo et al., 2008; Avula, Upparapalli, Navarrete, y Khan, 2005; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011). Por ejemplo, la PS se encuentra en una concentración de entre el 0,10-0,35% en las frutas mencionadas anteriormente (entre 50-100 mg para tamaños promedios de estas frutas), en una concentración de entre 3,00-3,08% en extractos secos y en un rango de 0,25-0,99% en medicamentos a base de productos naturales (Pellati et al., 2004). Por otro lado, en su manera sintética, la PS se puede encontrar en suplementos alimenticios, con concentraciones entre 0,65-27,41 mg·g⁻¹ de producto (Pellati y Benvenuti, 2007), lo que facilita la utilización de dosis elevadas. Por otra parte, puede ser sintetizada en el cuerpo humano utilizando las mismas vías implicadas en la síntesis de las catecolaminas (Rossato, Costa, Limberger, Bastos Mde, y Remiao, 2011), aunque se la considera una amina traza debido a sus bajos niveles plasmáticos.

En su apartado sintético, la PS es una sustancia de venta libre en todo el mundo, ganando gran popularidad en el ámbito del rendimiento deportivo y el *fitness* debido a que se ha convertido en una alternativa a la efedra (como resultado de la prohibición de los productos alimenticios que contienen efedrina por la *Food and Drug Administration* (FDA); (*Food and Drug Administration*, 2004). En la actualidad,

la PS se está incluyendo de manera habitual en diversos productos dietéticos, complementos alimenticios o en suplementos deportivos con diferentes objetivos. En estos productos, la sustancia se puede encontrar como PS de manera pura pero también como extracto de CA, aunque el principio activo de estas dos formas comerciales es el mismo. De especial relevancia es el uso de la PS en suplementos dietéticos destinados a la pérdida de peso corporal debido a su supuesto efecto termogénico, y en productos estimulantes pre-entreno por su posible acción estimulante (Haller, Duan, Jacob, y Benowitz, 2008; Stohs, Preuss, y Shara, 2012).

El uso de esta sustancia en el mundo del deporte se ha extendido en los últimos años en deportes con categorías por peso por su posible efecto termogénico y en deportes de fuerza/potencia por su posible efecto estimulante. Esto ha producido que la WADA (Agencia Mundial Antidopaje, *World Anti-doping Agency* por sus siglas en inglés) haya decidido realizar un seguimiento sobre el uso de esta sustancia en deportistas de alto rendimiento, a través de la inclusión de la PS en el *Monitoring Program* (WADA, 2014). A día de hoy, la PS no está incluida en la lista de sustancias prohibidas, pero se está considerando su inclusión en función de futuras investigaciones sobre el efecto ergogénico y la seguridad que plantea esta sustancia en el mundo del deporte. Por otro lado, la PS ha recibido mucha menos atención social y científica que otros estimulantes de características similares (e.g., cafeína, efedrina, etc.), por lo que todavía no es una sustancia con un consumo tan generalizado como las anteriores, al menos desde un punto de vista intencional. Todas estas circunstancias hacen que sea de gran interés investigar los efectos agudos de la ingesta de PS en la población de deportistas, midiendo sus acciones fisiológicas tanto en el reposo como durante el ejercicio. También es necesario el estudio de sus posibles efectos adversos, ya que la literatura es muy escasa en esta temática y los datos de seguridad están enmarcados en el uso de grandes dosis en mamíferos.



Figura 1. *Citrus Aurantium* (Naranja amarga), perteneciente a la familia de las Rutáceas. Hoja, fruto y flor.

3.2 *p*-SINEFRINA, ISÓMEROS Y ENANTIÓMEROS

La sinefrina presenta tres isómeros diferentes en función de donde esté localizado el grupo carboxilo (Figura 2; *meta* (*m*), *orto* (*o*) y *para* (*p*)), mostrando así diferentes actividades farmacológicas y fisiológicas (Pellati et al., 2004; Rossato, Costa, de Pinho, et al., 2011; Rossato et al., 2010; Stohs et al., 2012). La única sinefrina que es de origen natural es la PS, mientras que el resto se han obtenido de manera artificial en el laboratorio a través de cambios en la estructura básica de la sustancia (Stohs, 2013). En este sentido, algunas investigaciones han utilizado el término “sinefrina” para referirse a la *m*-sinefrina (también conocida como fenilefrina, una droga sintética con efectos negativos en el aparato cardiovascular; (Stohs et al., 2012)) lo que ha incrementado la confusión sobre la seguridad de la PS y de los productos que contienen CA. Por otro lado, la *o*-sinefrina no tiene ningún efecto farmacológico en el organismo, al menos hasta donde se conoce hoy en día (Rossato, Costa, Limberger, et al., 2011). Es importante destacar que en aquellos productos que contienen CA, el único isómero encontrado, y por tanto responsable del efecto, es la PS (Rossato et al., 2010).

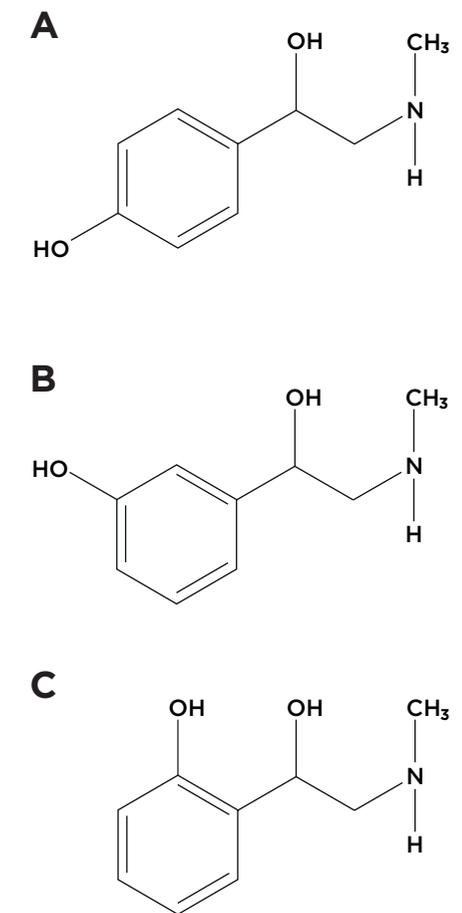


Figura 2. Estructura química de: A) *p*-sinefrina, B) *m*-sinefrina y C) *o*-sinefrina.

La PS sintética es una mezcla de los compuestos enantioméricos *L*- y *D*- (Mercader, Wanecq, Chen, & Carpené, 2011), también conocidos como las formas *R*- (-) - y *S*- (+) -, respectivamente (Figura 3; (Pellati, Cannazza, & Benvenuti, 2010)).

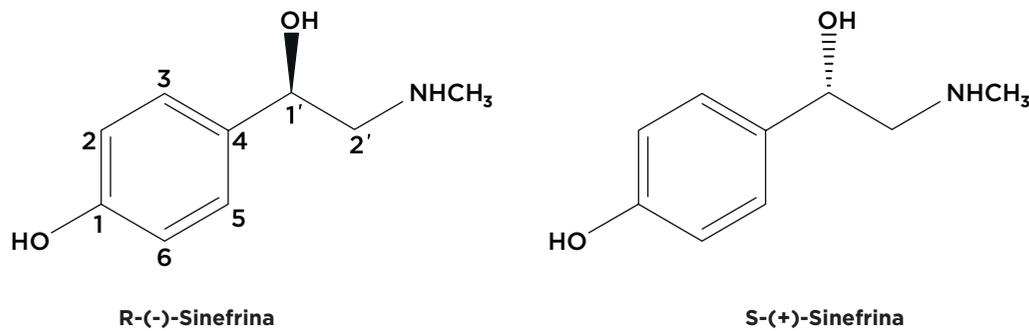


Figura 3. Estructura enantiomérica de la *p*-sinefrina (Sidney & Harry, 2012).

La forma *L*- de la PS es la forma que se encuentra en la naturaleza (frutos), mientras que la forma *D*- no se presenta en frutos ni en el CA (Pellati, Benvenuti, Melegari, y Firenzuoli, 2002; Pellati et al., 2010). Sin embargo, en el proceso de extracción y aislamiento de la PS se suelen producir pequeñas cantidades de la forma *D*- de la PS (Kusu, Matsumoto, Arai, y Takamura, 1996; Pellati et al., 2010). Es bien sabido que una mezcla de los dos enantiómeros, *D*- y *L*-, en un determinado fármaco tendrá menos actividad que la ingesta aislada de uno de ellos (Ma, Bavadekar, Schaneberg, Khan, y Feller, 2010). Esto es debido a que uno de los dos enantiómeros exhibirá poco o ningún efecto por sus diferencias estereoquímicas. En este caso, el enantiómero efectivo es el *L*-, el que encontramos de forma natural (Wang, Ouyang, y Baeyens, 2008). De tal modo, es importante tener en cuenta que la PS que encontramos con origen artificial, presenta una mezcla racémica, por lo que en teoría, sería menos efectiva que la PS obtenida de productos naturales (Sidney y Harry, 2012).

3.3 FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DE LA *p*-SINEFRINA EN HUMANOS

Por su estructura química, la PS activa receptores adrenérgicos específicos, lo que la relaciona con su efecto farmacológico en humanos (Haaz et al., 2006). Es conocido que la PS tiene un mecanismo de acción estimulante en estos receptores, incrementando la pérdida de masa grasa a través de un efecto lipolítico moderado. Específicamente, este efecto ocurre tras la activación de los receptores adrenérgicos β -3 de las membranas de varios tipos de células, produciendo un incremento en el gasto energético celular -comúnmente conocido como efecto termogénico (Brunton, Lazo, y Parker, 2005; M. Takagi, Kimura, Nakashima, Hirai, y Inoue, 2018)-. También está demostrado que la PS ejerce un efecto lipolítico, debido a la eficiente activación de los receptores NMU2R del cerebro, relacionados con la función lipolítica (Zheng, Guo, Wang, y Deng, 2014). En los adipocitos de ratones, la PS promueve la liberación del mensajero intracelular AMP-cíclico, que a su vez activa la enzima que promueve la liberación de grasa del adipocito (Arch, 2002), siendo más efectiva en dosis altas ($\geq 100 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; (Mercader et al., 2011)). Como resultado de esta estimulación adrenérgica, los principales efectos de la ingesta de PS en humanos, son el incremento del gasto metabólico en reposo y un aumento de la liberación de ácidos grasos al torrente sanguíneo (Gougeon et al., 2005; Haaz et al., 2006; Sale, Harris, Delves, y Corbett, 2006; Stohs et al., 2012). Desde un punto de vista científico, se especula que la ingesta de esta sustancia puede aumentar la oxidación de grasas dentro de las células (Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011), pero esta especulación no se ha comprobado de manera específica. Algunos trabajos también indican que la PS puede suprimir el apetito y, por su estructura química, puede actuar como un simpaticomimético indirecto, estimulando el sistema nervioso central (SNC; (Fredholm, 2010; Fugh-Berman y Myers, 2004; Grandy, 2007)). Sin embargo, estos mecanismos de acción requieren más investigación para que puedan ser vinculados de manera objetiva con esta sustancia. En cualquier caso, esta revisión de la mecánica de acción de la PS en el cuerpo humano nos indica que

la sustancia tiene varias vías de acción y por tanto, su efecto puede estar vinculado a varios tejidos y órganos.

Por el contrario, la PS tiene poca o ninguna unión a los receptores $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$, implicados en la regulación del funcionamiento cardiovascular. De tal modo varias investigaciones anteriores con esta sustancia han mostrado cambios mínimos en la regulación de la presión arterial (PA) y la frecuencia cardíaca (FC) (Ratamess et al., 2017; Stohs, 2017; Stohs, Preuss, y Shara, 2011). Sin embargo, atendiendo a falta de efectividad de esta sustancia para aumentar el rendimiento físico, se debe probablemente a la poca capacidad de la PS para estimular los receptores adrenérgicos $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$ y $\beta 2$, produciendo así una menor actividad adrenérgica en comparación con la efedrina y las catecolaminas (Stohs, Preuss, y Shara, 2011; M. Takagi et al., 2018). En este sentido, la mayor diferencia entre la m- y la PS radica en los diferentes receptores estimulados, y de ahí las acciones farmacológicas diferentes. Finalmente, la solubilidad lipídica de la PS es significativamente menor en comparación con estas otras aminas, como la efedrina, resultando en una menor capacidad para cruzar la barrera hematoencefálica (Arch, 2002; Kaats, Miller, Preuss, y Stohs, 2013). Esta característica hace que los efectos de la PS sean principalmente locales/periféricos, con una menor influencia en el funcionamiento del SNC y que se excrete a gran velocidad, permaneciendo durante un promedio de 2,6 h en el organismo (Haller et al., 2008).

En cuanto a la farmacocinética de la PS, en la Figura 4 encontramos a través de un método de simulación de degradación fotocatalítica heterogénea las diferentes vías de transformación. Esta técnica se basa en la absorción de energía visible o radiación ultravioleta por un catalizador que recibe el nombre de fotocatalizador homogéneo. En este proceso se administró $0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ a 3 humanos y 3 ratas, tomando muestras de sangre y orina para el análisis. Tres horas después de la administración, se determinó que el ácido 4-hidroximandélico fue el principal metabolito en la orina y que las principales rutas metabólicas fueron las S5 y S6, encontrando también, pero en menor cantidad en la orina el TP S7 tras la oxidación del grupo fenólico (Medana et al., 2013).

La simulación de este método muestra un total de 7 rutas tras la simulación de desaparición de PS. El proceso de desaparición mostró las siguientes rutas:

1. Pérdida de anillo aromático con hidroxilación (TP (Producto de transformación) S1 y S2): Vía A,
2. Desmetilación (TP S3): Vía B,
3. Hidroxilación con apertura de anillo aromático (TP S4): Vía C,
4. Hidroxilación, oxidación del grupo fenólico y posterior apertura del anillo (TP S5, S6 y S7): vía D (Medana et al., 2013).

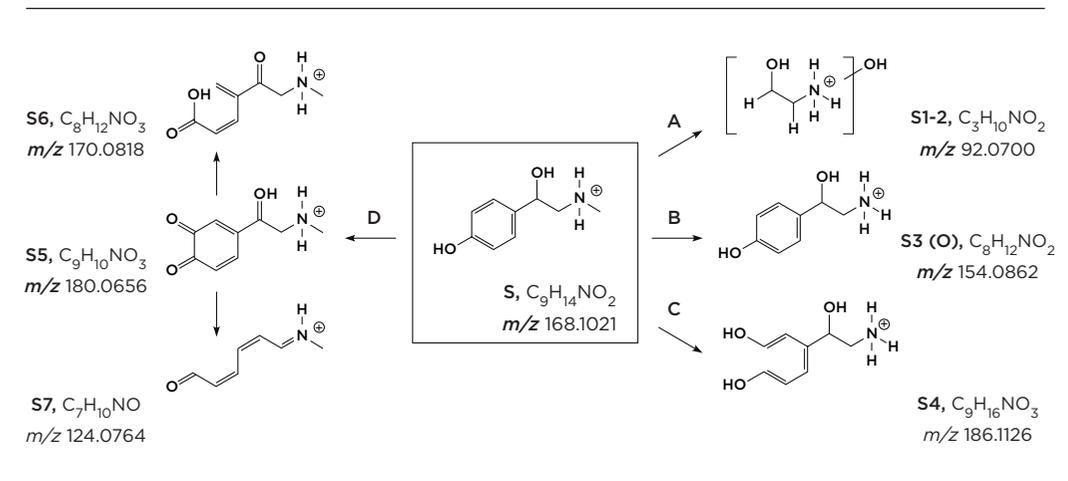


Figura 4. Vías de transformación de *p*-sinefrina. Las especies se reportan como iones protonados (Medana et al., 2013).

3.4 SEGURIDAD Y TOXICIDAD DE LA *p*-SINEFRINA

Durante un periodo comprendido entre 1998 y 2004, el sistema de salud canadiense registró 16 casos adversos relacionados con un mal funcionamiento del sistema cardiovascular (taquicardia, paro cardíaco, fibrilación ventricular, colapso transitorio y muerte súbita) producido por el consumo de productos que contenían CA (Jordan, Murty, y Pilon, 2004). Entre 2004 y 2009, la FDA evaluó y revisó otros 22 casos de problemas cardiovasculares supuestamente asociados también con este extracto de naranja amarga (Rossato et al., 2010; Stohs, 2010). Sin embargo, un análisis más profundo de estos casos determinó que, la casuística estuvo relacionada con el consumo de productos/suplementos nutricionales que contenían PS junto a otros estimulantes, por lo que es difícil discernir qué sustancia fue la principal responsable de los episodios cardiovasculares -o bien si fue el resultado de la combinación de varios de estos estimulantes-. Después de estos casos y la alarma social generada por el uso de productos que contenían PS, la WADA (2014) introdujo la PS en el *Monitoring Program*, con el objetivo de incrementar el interés científico sobre esta sustancia, especialmente en lo relacionado con el uso en el deporte. Hasta la fecha, ni la WADA, ni la FDA han tomado decisiones relacionadas con la prohibición de esta sustancia, por lo que podemos indicar que el carácter actual de esta sustancia se encuentra dentro del marco legal.

Diferentes estudios de toxicidad demuestran que es una sustancia con toxicidad baja. En ratas, la administración de $\approx 100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de peso no ha producido efectos adversos (Arbo et al., 2008; Arbo et al., 2009). Se han tratado animales con 300, 450, 600, 800, 1000 y 2000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS, mostrando efectos de toxicidad aguda en todas las dosis, manifestando una caída de la actividad del aparato locomotor acompañada con salivación, exoftalmia y piloerección. Todos los efectos duraron en torno a 3-4 horas y fueron reversibles, volviendo todos los animales a la normalidad tras este periodo (Arbo et al., 2008).

En términos de seguridad farmacológica, varios artículos sobre el consumo de PS en humanos en dosis moderadas/normales (de 10 a 100 mg) indican que esta sustancia carece de efecto sobre la regulación de la PA (Colker, S., Torina, y Chris Street, 1999; Haaz et al., 2006; Haller, Benowitz, y Jacob, 2005; Hoffman et al., 2006; Min, Cios, Kluger, y White, 2005; Penzak et al., 2001; Ratamess et al., 2017, 2018; Sale et al., 2006; Seifert, Nelson, Devonish, Burke, y Stohs, 2011; Shara, Stohs, y Mukattash, 2016; Stohs, 2017; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011; Stohs et al., 2012; Zenk, Leikam, Kassen, y Kuskowski, 2005), sobre la FC en reposo (Colker et al., 1999; Gougeon et al., 2005; Hoffman et al., 2006; Min et al., 2005; Penzak et al., 2001; Sale et al., 2006; Seifert et al., 2011; Shara et al., 2016; Stohs, 2017; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011; Stohs et al., 2012; Zenk et al., 2005), la química sanguínea, el recuento de células sanguíneas o sobre el registro electrocardiográfico (Bush et al., 2018; Shara et al., 2016). Además, estas investigaciones no han reportado efectos secundarios negativos tras la ingesta aislada y aguda de esta sustancia.

En otra investigación, Kaefer (2014) analizó la mutagenicidad de la PS bajo condiciones ácidas, básicas, oxidativas y proteolíticas. Los resultados indicaron que la PS y sus productos de degradación no fueron mutagénicos en células cultivadas hasta la concentración de 50 ng/mL, ni afectó la viabilidad o proliferación de leucocitos. Un incremento en la concentración hasta 100 ng/mL, mostró daños en el ADN. La dosis de 100 ng/mL sería el equivalente a la concentración sanguínea en humanos 2 h después de haber ingerido 490 mg de PS (Shara et al., 2016; Stohs, 2017). De este modo Kaefer concluyó ningún efecto negativo sobre el ADN hasta concentraciones de 50 ng/mL (equivalente a un consumo de 245 mg de PS).

Por otro lado, la mayor parte de suplementos dietéticos que contienen PS poseen también altas cantidades de otros estimulantes, entre ellos la cafeína. En los estudios que han investigado el efecto de la ingesta combinada de PS y cafeína, comparándola con una situación control (e.g., solo PS), han encontrado que el aumento de la PA y FC únicamente sucede en la situación de PS + cafeína, lo que indica que estos efectos cardiovasculares se deben principalmente a los efectos de la cafeína (Ratamess et al., 2017; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011). Otros estimulantes habitualmente co-ingrididos con la PS y la cafeína en los suplementos dietéticos/nutricionales/deportivos son la yohimbina, la guaraná, el sauce blanco, la cola de nuez, el ma huang, el ginkgo biloba y panax ginseng. Además, podemos encontrar la PS en combinación con octopamina y tiramina, que son dos aminas biogénicas relacionadas con el sistema adrenérgico y dopaminérgico (Pellati et al., 2004). Es importante tener en cuenta que una gran parte de los consumidores de estos productos para la pérdida de peso corporal o reducción de grasa son personas con

adiposidad excesiva y por lo tanto, una población con factores de riesgo como obesidad, la diabetes tipo II y otros factores de riesgo cardiovascular. Estos individuos, en su búsqueda de métodos alternativos para reducir su masa grasa, utilizan estos cócteles de suplementos alimenticios incrementando el riesgo de sufrir problemas cardiovasculares, por lo que, en el futuro, la seguridad de estos productos con mezcla de estimulantes debería ser vigilada por las autoridades sanitarias (World Health Organization, 2015).

Atendiendo a un consumo crónico/prolongado de esta sustancia, encontramos dos investigaciones. En la primera de ellas, Kaats et al. (2013) evaluó la seguridad del extracto CA (aproximadamente 49 mg de PS) solo o en combinación con naringina y hesperidina. En el estudio, doble ciego y controlado con PLAC, participaron 25 personas sanas a las que se les suministró dos veces al día una cápsula con 49 mg de PS durante 60 días. No hubo cambios significativos en la presión sistólica o diastólica, la bioquímica sanguínea o recuentos de células sanguíneas al comparar el grupo control y el grupo suplementado con PS. Tampoco se encontraron diferencias significativas en la FC en ninguno de los grupos. En otra investigación relacionada con el consumo crónico, Shara, Stohs, y Smadi (2018) evaluaron los efectos cardiovasculares y hemodinámicos del CA (49 mg PS) suministrados diariamente a 16 sujetos sanos durante un total de 15 días. El estudio fue doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC y se midieron diferentes variables como la FC, la presión arterial y electrocardiograma. También se tomaron muestras de sangre al inicio, y en los días 5, 10 y 15. Los niveles séricos de PS se midieron a lo largo de la 1ª y 2ª semana. Los resultados mostraron que no se produjeron cambios significativos en la FC, ni en los electrocardiogramas. Tampoco se modificó la presión arterial sistólica o diastólica, ni los recuentos de células sanguíneas o bioquímica sanguínea en los grupos control o tratados con PS en cualquier punto de tiempo. Tampoco se reportaron efectos adversos en respuesta a la PS. Por tanto, el extracto de naranja amarga y PS parecen no tener efectos adversos en dosis de hasta 98 mg al día durante 60 días en base a los parámetros medidos. Debido a que solamente existen estas dos investigaciones que midan el consumo de PS a largo plazo, no existe aún evidencia científica en este campo, y es necesario tomar con cautela la recomendación del uso de la PS de manera crónica. Por otro lado, esta carencia sugiere la necesidad de estudiar en profundidad los efectos del consumo crónico de la PS e ingestas más elevadas tanto en personas sanas como en personas con obesidad.

3.5 *p*-SINEFRINA Y EJERCICIO FÍSICO

Tras revisar la literatura científica, a continuación, se presentan las investigaciones que relacionan el consumo de este alcaloide y la actividad física y ejercicio, debido a su relación con los objetivos de la presente Tesis Doctoral. Como podremos comprobar en las siguientes líneas, la temática de la mayor parte de las investigaciones va enfocada a medir la efectividad y los efectos secundarios de suplementos dietéticos/nutricionales a base de estimulantes -entre ellos la PS-, durante y tras la realización de ejercicio. Estas son las líneas de investigación seguidas por los grupos de investigación a nivel mundial que están trabajando con esta sustancia (e.g., combinación de la PS con otros estimulantes (Gutiérrez-Hellín, Del Coso, y García Pastor, 2014)). Este aspecto hace remarcar la originalidad de las investigaciones que se presentan en la presente Tesis Doctoral, en cuanto a la ingesta aislada de PS, para dilucidar las diversas y en algunas ocasiones, contrarias conclusiones que encontramos en los diferentes trabajos, donde la PS aparece siempre mezclada con otros estimulantes (Gutiérrez-Hellín et al., 2014).

En una revisión sistemática sobre la PS y su relación con el ejercicio y la pérdida de peso, Gutiérrez-Hellín et al. (2014) revisaron todas las publicaciones indexadas en JCR relacionadas con el consumo de PS y la obesidad, la PS endógena, la PS exógena, la PS y sus efectos en humanos, los isómeros que presenta, la PS y el dopaje, la PS y su toxicidad y por último los estudios con humanos que relacionan su consumo con la pérdida de masa grasa y la actividad física. Estos autores concluyeron que en la mayoría de las investigaciones el consumo de PS ha sido combinado con otros estimulantes, impidiendo establecer los efectos aislados de esta sustancia. Aun así, no se encontraron efectos adversos en las investigaciones analizadas. Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas en la variable de pérdida de masa grasa tras la ingesta de esta sustancia en varias de las investigaciones.

Colker et al. (1999) realizaron una investigación experimental, doble ciego y controlada con PLAC. El estudio consistía en un programa de ejercicio en circuito, 3 días a la semana, al 70% de la Frecuencia cardíaca máxima (FC_{max}) durante 6 semanas. La muestra, formada por un total de 23 participantes con índice de masa corporal (IMC) superior a $25 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$, se dividió en 3 grupos: un grupo experimental, un grupo PLAC y uno de control. Durante 6 semanas, el grupo 1 ingirió 975 mg al día de extracto de CA, 528 mg de cafeína y 900 mg de hierba de San Juan; el grupo 2 tomó un PLAC (maltodextrina); y el 3 no recibió ningún tratamiento (grupo control). Además, todos ellos participaron en un programa de ejercicio en circuito, 3 días a la semana, al 70% de la FC_{max} durante 6 semanas y tuvieron una dieta controlada. Los resultados obtenidos mostraron que los sujetos del grupo experimental redujeron su masa corporal un 1,5% (1,4 kg de peso corporal) mientras que el grupo control y PLAC no redujeron su peso de forma significativa. Como promedio, el grupo experimental redujo su porcentaje de grasa un 2,9%, mostrando diferencias con respecto al grupo PLAC y control. Igualmente se encontró una pérdida significativa de masa grasa en el grupo experimental de 3,1 kg (13%), mostrando también diferencias con los grupos PLAC y control, donde no hubo un cambio significativo. No se observaron cambios significativos en los resultados del cuestionario Perfil de Estados de Ánimo para la fatiga o el vigor en ninguno de los 3 grupos. De la misma forma, no se observaron cambios significativos en la PA, FC, ni en los electrocardiogramas, ni las pruebas de análisis de orina en ninguno de los grupos. Por lo tanto, la ingesta de este compuesto, combinado con el plan de ejercicio y dieta en personas con sobrepeso, fue eficaz para aumentar la pérdida de masa grasa sin modificar ninguna de las variables cardiovasculares ni mostrar efectos secundarios tras su ingesta.

En un ensayo clínico, doble ciego, aleatorizado, y controlado con PLAC, Kalman, Colker, Shi, y Swain (2000), estudiaron el efecto de un compuesto a base de efedrina y PS sobre la masa corporal, IMC, variables metabólicas y estados de ánimo. La muestra estaba formada por 30 participantes adultos con sobrepeso ($> 27 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$). El grupo experimental ingirió 20 mg de efedrina, 5 mg de PS, 200 mg de cafeína y 15 mg de salicina y el grupo control un PLAC (maltodextrina). El tratamiento se ingirió en dos ocasiones al día, durante las 8 semanas que duraba el estudio. En estas semanas se realizó actividad aeróbica incremental hasta el 70% de la FC_{max} 3 días·semana⁻¹. Los resultados obtenidos mostraron que el grupo que ingirió el suplemento perdió más peso en comparación con el grupo que ingirió PLAC (3,14 kg vs. 2,05 kg). El grupo experimental registró una pérdida del 16% más en la masa grasa corporal en comparación con el grupo PLAC. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en la PA, electrocardiograma, química sanguínea ni en los estados de ánimo. Estos hallazgos sugirieron una seguridad en

la ingesta de este producto, y una efectividad en la pérdida de masa grasa combinada con un programa de ejercicio.

Armstrong, Johnson, y Duhme (2001) estudiaron los efectos de una preparación de hierbas que contenía *ma huang* (335 mg, de los cuales 20 mg fueron efedrina), CA (85 mg de los cuales 5 mg fueron de PS) y guaraná (910 mg, de los cuales 200 mg eran de cafeína) en el gasto energético de reposo, la química sanguínea y la composición corporal en adultos obesos. El estudio estaba formado por 5 hombres y 15 mujeres que fueron asignados al azar al grupo experimental o al grupo PLAC. Todos ellos participaron en un programa de ejercicio aeróbico de 44 días (3 días·semana⁻¹). La primera semana caminaban 1,5 millas a un ritmo cómodo, incrementando la distancia cada semana en 2 millas más. El gasto energético en reposo se determinó mediante calorimetría indirecta, y se analizaron muestras de suero para determinar la concentración de glucosa, colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL) y lipoproteínas de baja densidad (LDL). Se determinaron los cambios en la masa corporal, % de masa grasa y masa libre de grasa usando DEXA (absorciometría de rayos x de doble energía, *dual-energy X-ray absorptiometry*, por sus siglas en inglés). Únicamente se encontraron diferencias significativas en reducción de masa corporal total y masa grasa en el grupo suplementado con la mezcla de estimulantes, mostrando una tendencia no significativa en la reducción del IMC. El suplemento, por lo tanto, redujo la masa grasa corporal, y mostró un bajo efecto sobre el gasto energético y la bioquímica sanguínea después de un período de seis semanas de suplementación y entrenamiento. Siendo imposible determinar si los efectos fueron causados por la PS o por la mezcla de todos los compuestos.

Sale et al. (2006) realizaron un estudio experimental, contrabalanceado y controlado con PLAC para medir los efectos metabólicos y fisiológicos tras la ingesta de extractos de CA, té verde y guaraná, con unas dosis de sus principios activos de: 6 mg de PS, 150 mg de cafeína y 150 mg de catequina y polifenoles. La muestra estaba formada por 10 hombres sedentarios con más del 20% de grasa corporal. El estudio incluyó dos partes: en la primera parte los participantes completaron 7 horas de reposo en posición supina y en la segunda realizaron 60 minutos al 60% de la FC de reserva en el tapiz rodante. Se recogieron muestras de sangre venosa dos veces en reposo y 8 veces durante el ejercicio en el tapiz rodante en los minutos 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50 y 60. Las mediciones de gases expirados se recogieron en los minutos 4, 9, 14, 19, 29, 39, 49 y 59 para calcular la oxidación de CHO o ácidos grasos libres (NEFA) a través de calorimetría indirecta. Los resultados obtenidos no mostraron ninguna diferencia significativa en las variables medidas en reposo entre la mezcla de estimulantes y el PLAC. Sin embargo, en las pruebas experimentales se vio un incremento significativo

en la oxidación de CHO y una disminución en la oxidación de grasas en el grupo experimental en comparación con el control.

Haller et al. (2008) realizaron un trabajo experimental, doble ciego, controlado con PLAC en 10 adultos sanos (3 mujeres). El objetivo de este estudio fue medir los efectos de un suplemento deportivo con 21 mg de PS y 304 mg de cafeína sobre la PA, FC, electrolitos séricos, consumo de oxígeno y percepción del esfuerzo percibido durante el ejercicio. Los participantes de la investigación realizaron dos situaciones experimentales, un día ingirieron el suplemento deportivo, y en el otro, un PLAC (control). La ingesta se realizó una hora antes de una tanda de ejercicio de intensidad moderada (30 minutos de cicloergómetro al 75-80% de la FC_{max}). Los resultados obtenidos no mostraron efectos secundarios tras la ingesta del suplemento. Sin embargo, la PA y la glucosa plasmática aumentaron significativamente tras la ingesta del suplemento después del ejercicio. Por otro lado, la percepción del esfuerzo fue significativamente mayor con el PLAC. No se encontraron variaciones significativas en el consumo de oxígeno, en la concentración de lactato sanguíneo al finalizar el ejercicio o en la concentración de insulina sérica. Esta investigación indicó que la mezcla de PS y cafeína puede ser efectiva para reducir la percepción de esfuerzo durante el ejercicio, aunque este efecto ya ha sido encontrado para la ingesta aislada de cafeína (Salinero et al., 2014) y por tanto, se podría especular que la actividad de la PS para este efecto está limitada.

Por otro lado, Ratamess et al. (2015) estudiaron los posibles efectos ergogénicos tras la suplementación con PS de manera aislada, y PS junto con cafeína, durante el ejercicio de fuerza con pesos libres. En el estudio experimental, doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC, 12 participantes sanos realizaron un protocolo que estaba formado por un ejercicio de fuerza (sentadilla) que constaba de 6 series de 10 repeticiones al 80% de la repetición máxima (RM) con 2 minutos de recuperación entre series. La investigación diferenció 3 grupos: PS (100 mg), PS + cafeína (100 mg de PS + 100 mg de cafeína), o un PLAC. Cada situación experimental estuvo separada por una semana para la completa eliminación de los estimulantes. Los participantes consumieron el suplemento durante 3 días antes de cada protocolo. Los resultados de esta investigación concluyeron que la ingesta de PS y PS + cafeína aumentó el rendimiento en el ejercicio de fuerza (número total de repeticiones y el volumen de carga) sin aumentar la concentración de lactato sanguíneo o la percepción de esfuerzo durante la realización del ejercicio. La combinación de cafeína + PS incrementó significativamente la potencia media y la velocidad de ejecución de las sentadillas en comparación con el PLAC y PS. Estos resultados indican que la suplementación con PS y PS + cafeína pueden mejorar la resistencia muscular local durante el trabajo de fuerza.

Jung et al. (2017) examinaron los efectos de la ingesta aguda de un pre-entrenamiento con y sin PS en la función cognitiva, el rendimiento físico y los marca-

dores de seguridad. La investigación doble ciego, aleatorizada, contrabalanceda y controlada con PLAC fue realizada por 25 hombres activos y sanos. El producto pre-entrenamiento estaba compuesto por beta-alanina (3 g), nitrato de creatina (2 g), arginina alfa-cetoglutarato (2 g), N-acetil-L-tirosina (300 mg), cafeína (284 mg), extracto de *Mucuna pruriens* estandarizado para 15% de L-Dopa (15 mg), vitamina C (500 mg), niacina (60 mg), folato (50 mg) y vitamina B12 (70 mg), además de 2 g de maltodextrina y saborizantes. La dosis de tratamiento que se añadía el pre-entrenamiento fue de 20 mg de PS. Tras la ingesta del producto se midieron variables de FC, PA, gasto energético en reposo, electrocardiograma de 12 derivaciones y se realizó una prueba de función cognitiva (test de Stroop). Una vez realizadas estas pruebas, se completó un protocolo de fuerza formado por *press* de banca y *press* de pierna (2 series de 10 repeticiones al 70% de 1RM y 1 serie hasta llegar al fallo muscular). Al término de los ejercicios de fuerza se realizó un test de Wingate. Se tomaron muestras de sangre antes y después del ejercicio. Los resultados mostraron que no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en FC, PA, en los resultados del electrocardiograma o en las concentraciones sanguíneas. Los participantes informaron una mayor percepción del optimismo sobre las pruebas de rendimiento y mayor vigor y energía con el pre-entrenamiento y con el pre-entrenamiento + PS en comparación con el control. Ambos tratamientos mejoraron los cambios en la función cognitiva en comparación con el PLA. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el volumen total durante el ejercicio de *press* de banca, ni en el de *press* de piernas. Los tratamientos tampoco fueron efectivos para incrementar el rendimiento durante el test de Wingate. La ingesta del pre-entrenamiento, con o sin PS, antes del ejercicio parece ser bien tolerados cuando son consumidos por individuos jóvenes y saludables. Los efectos tras su ingesta parecen aumentar el gasto energético en reposo y mejorar las percepciones a la hora de realizar trabajo de fuerza y esfuerzos anaeróbicos. Sin embargo, no tiene ningún efecto en mejorar la fuerza muscular ni la capacidad para producir trabajo en un test de potencia anaeróbica.

Kliszczewicz et al. (2018) estudiaron la respuesta del sistema nervioso autónomo cardíaco en reposo tras la ingesta de un complemento alimenticio que contenía CA + cafeína y su influencia en la recuperación después de una sesión de ejercicio anaeróbico de alta intensidad en sujetos que consumían habitualmente cafeína. La investigación estaba formada por 10 hombres sanos y activos. En cada visita al laboratorio, los participantes consumieron una cápsula de CA + cafeína (100 mg de CA y 100 mg de cafeína) o PLAC. Después de la ingesta, los participantes fueron monitoreados a lo largo de un período de 45 minutos, luego completaron un protocolo de ejercicio que constaba de 3 Wingates (30 segundos) con 2 minutos de recuperación activa entre ellos, para más tarde medirles a lo largo de un período de recuperación de 45 minutos. La función autonómica cardíaca (FC y variabilidad de la FC) y las

concentraciones de epinefrina y norepinefrina en plasma se tomaron en cuatro momentos diferentes. La variabilidad de la FC se evaluó en incrementos de 5 minutos. Se encontraron diferencias significativas dependientes del tiempo en la FC, marcadores simpáticos relacionados con la variabilidad de la FC, epinefrina y nor-epinefrina plasmáticos en la segunda medición (periodo posterior a la ingesta) solo en el ensayo CA + cafeína ($p < 0,05$) en comparación con el PLAC. Sin embargo, no se observaron cambios significativos en los marcadores parasimpáticos de la variabilidad de la FC. Los participantes se recuperaron de manera similar en todos los marcadores de variabilidad de la FC y catecolaminas después de los ensayos de PLA y CA + cafeína. De tal modo, los autores de esta investigación concluyeron que el consumo de CA + cafeína produce un aumento de la actividad simpática durante las condiciones de reposo sin influir en la actividad parasimpática. La combinación CA + cafeína (100 mg de CA) no proporcionó ninguna influencia sobre la recuperación autonómica cardíaca.

Las conclusiones obtenidas a la luz de las investigaciones existentes son diversas; en la gran mayoría de las investigaciones encontramos efectos ergo/termogénicos de la PS mezclada con otros estimulantes, pero estos efectos también han sido reportados para dosis similares de otros estimulantes sin la presencia de PS. Estos protocolos experimentales impiden obtener conclusiones específicas sobre los efectos agudos y aislados de la PS, ya que sus beneficios, si los hubiera, están enmascarados por los efectos de otras sustancias. En 4 de los 9 estudios, tras la ingesta del suplemento y la realización de un programa de ejercicios de varias semanas de duración, se encuentran cambios significativos en la pérdida de masa grasa (Armstrong et al., 2001; Colker et al., 1999; Haller et al., 2008; Kalman et al., 2000) sin encontrar efectos secundarios ni durante, ni tras la ingesta. Solamente una investigación muestra una ausencia de efectividad en la pérdida de masa grasa (Sale et al., 2006). Por otro lado, la investigación de Ratamess et al. (2015) y la de Jung et al. (2017), son las únicas que estudian los efectos de la ingesta aguda de PS sobre el rendimiento físico. De este modo, encontramos una disparidad en los diseños experimentales de las investigaciones, en cuanto a dosis administradas, variables analizadas y objetivos de las investigaciones. Por lo tanto, los resultados obtenidos en estas investigaciones no pueden atribuirse a la PS únicamente, sino a la co-ingesta de la PS con otras sustancias con probado efecto estimulante.

3.6 CAFEÍNA

3.6.1. Cafeína

La cafeína (1,3,7-trimetilxantina) es un alcaloide natural presente en hojas, frutas y semillas de varias plantas (café, cola, te, mate, etc.) en cantidades diferentes. La cafeína también se puede sintetizar en laboratorios como componente de ciertos medicamentos, cosméticos, suplementos nutricionales y bebidas comerciales (Magkos y Kavouras, 2005).

Sin embargo, no es una sustancia determinante para los procesos fisiológicos ni se considera un nutriente. La cafeína tiene una acción estimulante muy potente en el SNC que aumenta el nivel de alerta, activación y vigorosidad, y produce una disminución de la somnolencia (Heckman, Weil, y Gonzalez de Mejia, 2010). Además, la cafeína tiene una serie de efectos indirectos sobre el organismo, como la relajación del músculo liso, el aumento del flujo renal y producción de orina en reposo, el incremento de la lipólisis, el incremento de la concentración de catecolaminas en sangre y el aumento de la FC y de la fuerza de contracción muscular (Graham, 2001; Magkos y Kavouras, 2005). Por otra parte, la literatura científica actual sugiere que el consumo de bebidas energéticas o alimentos con contenido en cafeína es seguro en población sana (Campbell et al., 2013), al menos en una dosis menor a los 200 mg·día⁻¹.

El efecto que produce la cafeína en el cuerpo humano puede venir determinado por lo habituado que esté el cuerpo a su ingesta (Attwood, Higgs, y Terry, 2007), ya que la cafeína es una sustancia que produce tolerancia y que puede reducir el efecto ergogénico de la sustancia (Beaumont et al., 2017). El tiempo de absorción se completa sobre los 45-60 minutos (Mumford et al., 1996), aunque ya a partir de los 15 minutos, y hasta los 120 posteriores a su ingesta, se empieza a alcanzar el pico de concentración en plasma (Kamimori et al., 2002; Mumford et al., 1996). La vida media en el cuerpo es de aproximadamente 2,5 horas tras la ingesta,

y la excreción total se produce después de aproximadamente 10 horas, para dosis no superiores a $10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína, aunque esta velocidad vendrá influida por la actividad del citocromo CYP1A2 (Magkos y Kavouras, 2005) -encargado de su metabolización en el hígado (Hakooz, 2009)- y del tipo de consumidor (e.g., habitual o esporádico; (Van Soeren, Sathasivam, Spriet, y Graham, 1993)).

3.6.2. Cafeína y rendimiento deportivo

Hoy en día ya existen un gran número de investigaciones científicas en las que se revisa la influencia de esta sustancia en el organismo durante el ejercicio físico general y el rendimiento deportivo en diferentes modalidades (Goldstein et al., 2010; Graham, 2001; Magkos y Kavouras, 2005; Peeling, Binnie, Goods, Sim, y Burke, 2018; Southward, Rutherford-Markwick, y Ali, 2018). Existe un consenso creciente que indica que el mecanismo principal encargado de los efectos ergogénicos de la cafeína durante el ejercicio es la capacidad de este estimulante actuando como antagonista de los receptores A1, A2A y A2B de la adenosina en el sistema nervioso central (Davis et al., 2003; Fredholm, Yang, y Wang, 2017).

Sokmen et al. (2008) realizaron una revisión en la que se recogían los posibles mecanismos relacionados con el efecto ergogénico de la cafeína en el deporte. Entre ellos, destaca el efecto sobre el SNC, sobre variables metabólicas, sobre la producción de hormonas y sobre los sistemas cardiovascular, pulmonar y muscular.

Con respecto a su efecto de mejora en el rendimiento, la cafeína se ha demostrado efectiva cuando se consume a partir de dosis bajas-moderadas (e.g., entre 3 y $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en deportes de resistencia y en deportes de alta intensidad tanto de duración prolongada (Goldstein et al., 2010), como intermitentes (Killen et al., 2013). Por encima de estas dosis (e.g., $> 9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), a pesar de haberse observado mejoras del rendimiento, no han sido mayores que las encontradas con dosis de entre 3 - $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, por lo que no se recomiendan al no reportar beneficios adicionales, e incrementar la presencia de efectos secundarios adversos (Pallares et al., 2013).

También existe evidencia científica que demuestra el efecto ergogénico de la cafeína en la velocidad en deportes individuales como el remo (e.g., incremento en la potencia media de remada en un test de 2.000 m y disminución del 1,2% del tiempo de realización de la prueba, con ingestas de 6 y $9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Bruce et al., 2000)) y la natación (e.g., disminución del tiempo de finalización de pruebas de 100 m libre (Collomp, Ahmaidi, Chatard, Audran, y Prefaut, 1992), y 50 m en diferentes estilos (Lara et al., 2015), con dosis de 250 mg y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ respectivamente). Ingestas de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína encapsulada o en forma de bebida energética fueron efectivas para mejorar

el rendimiento en situaciones de sprints repetidos en diferentes deportes colectivos como fútbol femenino y masculino, rugby y rugby 7 (Del Coso, Munoz-Fernandez, et al., 2012; Glaister et al., 2008; Lara et al., 2014; Stuart, Hopkins, Cook, y Cairns, 2005). Dosis ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) en forma de bebida energética aumentaron el ritmo de carrera tanto en test de sprints repetidos como en partido simulado de rugby 7 (Del Coso et al., 2013), sin afectar a la velocidad máxima alcanzada.

Dosis de 3 y $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína también fueron efectivas para mejorar la velocidad de contracción dinámica máxima en acciones de corta duración en tren superior (Bazzucchi, Felici, Montini, Figura, y Sacchetti, 2011; Del Coso, Salinero, Gonzalez-Millan, Abian-Vicen, y Perez-Gonzalez, 2012). En cuanto a potencia, se observó como la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína mejoró la potencia de salto de jugadores de rugby 7 (Del Coso, Munoz-Fernandez, et al., 2012), de fútbol masculino (Del Coso et al., 2013), de jugadoras de fútbol femenino (Lara et al., 2014), de atletas de Brazilian Jiu-jitsu (Diaz-Lara et al., 2016), de jugadores y jugadoras de voleibol (Del Coso et al., 2014; Perez-Lopez et al., 2015) y de jugadores de bádminton de élite, a quienes esta dosis también hizo incrementar la altura de vuelo en remate (Abian et al., 2015).

Además de mostrar este efecto ergogénico sobre el rendimiento físico, la cafeína puede provocar una serie de efectos secundarios sobre los deportistas, principalmente en las horas siguientes a su ingesta. Según indican Pallares et al. (2013), la frecuencia en la aparición de efectos secundarios como insomnio (54%), problemas gastrointestinales (38%) o incremento en la producción de orina (54%) incrementaron drásticamente entre ingestas agudas ($9 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y bajas o moderadas (de 3 a $6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$). A este respecto, frente al PLAC, los efectos observados por (Salinero et al., 2014) tras suministrar dosis bajas-moderadas de cafeína ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) a 90 deportistas en diferentes modalidades deportivas, fueron la prevalencia de insomnio (20,8%), nerviosismo (13,2%) y activación (13%). No encontraron diferencias en la prevalencia de efectos secundarios entre hombres y mujeres.

3.6.3. Cafeína y oxidación de grasas

Además de los efectos ergogénicos de la cafeína, hay pruebas que sugieren que la administración aguda de cafeína puede aumentar la tasa metabólica en reposo (Hursel et al., 2011; Jo et al., 2016; Poehlman et al., 1985) y la oxidación de lípidos después del ejercicio (Fernandez-Elias et al., 2015; Jo et al., 2016). La cafeína puede también ejercer efectos metabólicos periféricos en reposo y durante el ejercicio submáximo mediante una mayor liberación de epinefrina y la movilización de ácidos grasos del tejido adiposo (Graham y Spriet, 1995; Souza, Del Coso, Casonatto, y Polito, 2017). Sin embargo, la efectividad de la cafeína para modificar la oxidación del sustrato durante el ejercicio no está clara. En la literatura, varias investigaciones

no han mostrado cambios en la oxidación de los sustratos durante el ejercicio submáximo prolongado después de la administración aguda de 3-9 mg·kg⁻¹ de cafeína (Beaumont et al., 2017; Dean, Braakhuis, y Paton, 2009; Graham, Battam, Dela, El-Soheily, y Thong, 2008; Graham y Spriet, 1995; Hodgson, Randell, y Jeukendrup, 2013), mientras que un aumento en el ritmo de oxidación de grasa también se ha informado repetidamente con dosis similares de cafeína (Alkhatib, Seijo, Larumbe, y Naclerio, 2015; Anderson y Hickey, 1994; Costill, Dalsky, y Fink, 1978; Cruz et al., 2015; Donnelly y McNaughton, 1992; Schubert et al., 2014). Las diferencias en los protocolos de ejercicio (potencia elegida libremente o fija), las dosis y formas de administración de la cafeína junto con la ingesta con otras sustancias, probablemente hayan afectado la consistencia de los resultados (Gonzalez y Stevenson, 2012).

3.6.4. Cafeína y *p*-sinefrina

Como se ha comentado en páginas anteriores, ambas sustancias podrían tener un efecto sobre la oxidación de sustratos energéticos durante el ejercicio. Por lo tanto, la ingesta combinada de PS y cafeína podría tener efectos aditivos sobre la oxidación del sustrato durante el ejercicio, ya que cada sustancia actúa a través de una vía fisiológica diferente (Anderson y Hickey, 1994; Graham y Spriet, 1995; Stohs et al., 2012). Sin embargo, hasta donde sabemos, solo seis investigaciones han determinado los efectos de la ingesta simultánea de PS y cafeína durante o después del ejercicio en comparación con un PLAC (Haller et al., 2008; Jung et al., 2017; Kliszczewicz et al., 2018; Ratamess et al., 2016; Ratamess et al., 2017; Sale et al., 2006).

La investigación realizada por Sale et al. (2006) encontraron que un suplemento comercial que contenía naranja amarga, té verde y guaraná (con 0,1 mg·kg⁻¹ de PS y 1,7 mg·kg⁻¹ de cafeína) aumentaba la oxidación de los CHO, mientras que reducía el uso de ácidos grasos no esterificados durante 60 minutos de ejercicio de intensidad moderada en una cinta rodante. Haller et al. (2008) determinaron que la ingesta combinada de PS (0,3 mg·kg⁻¹) y cafeína (4,2 mg·kg⁻¹) produjo una menor percepción de esfuerzo durante 30 minutos de ejercicio moderado, pero estos autores no midieron la utilización del sustrato durante el ejercicio.

Ratamess et al. (2015) encontraron que la ingesta aislada de PS (1,2 mg·kg⁻¹) y la combinación junto a cafeína aumentaron el número de repeticiones realizadas durante un protocolo de ejercicios de resistencia en comparación con los resultados obtenidos con PLAC. Ratamess et al. (2016) concluyeron que la ingesta aislada también de (1,2 mg·kg⁻¹) produjo un mayor gasto de energía y tasas de oxidación de grasas después del ejercicio, mientras que la combinación de cafeína (1,2 mg·kg⁻¹) y PS (1,2 mg·kg⁻¹) no mostro un incremento en los resultados obtenidos.

Jung et al. (2017) investigaron los efectos de la ingesta aguda de un suplemento dietético pre-entrenamiento con y sin PS (20 mg) en las percepciones de preparación para el desempeño, la función cognitiva, el rendimiento deportivo y los marcadores de seguridad. Los autores determinaron que la ingesta del suplemento o suplemento + PS antes del ejercicio fue bien tolerado por personas jóvenes y sanas. Los efectos principales mostraron un incremento en el gasto energético en reposo, mejorando las percepciones sobre la preparación para el desempeño y la función cognitiva con efectos limitados sobre la resistencia muscular y el Wingate (capacidad anaeróbica). La adición de 20 mg de PS al suplemento no potenció los resultados obtenidos.

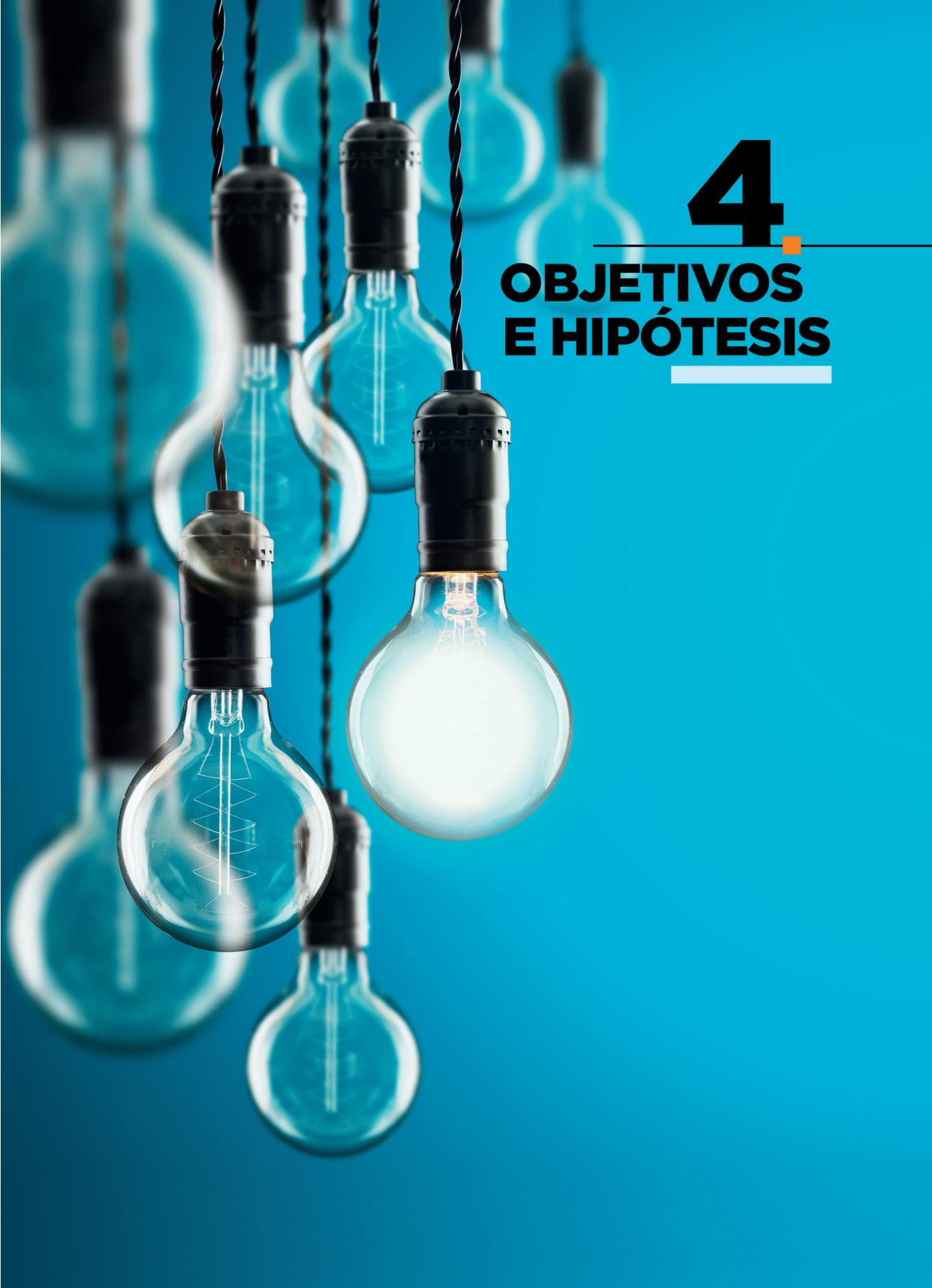
La última investigación que encontramos en torno a esta temática es la de Kliszczewicz et al. (2018) examinó la respuesta del sistema nervioso autónomo cardíaco en reposo tras la ingesta de un complejo que contenía CA (100mg CA; 3,3 mg PS) + cafeína (100 mg) y su influencia en la recuperación después de una sesión de ejercicio anaeróbico de alta intensidad (3 Wingate con 2 minutos de recuperación activa) en 10 sujetos que consumían habitualmente cafeína (≥ 300 mg·día⁻¹). La investigación concluyó que el consumo de CA + cafeína produjo un aumento de la actividad simpática durante las condiciones de reposo sin afectar en la actividad parasimpática. CA + cafeína no proporcionó ninguna influencia sobre la recuperación autonómica cardíaca.

Por consiguiente, presentamos a continuación los objetivos e hipótesis de la presente Tesis Doctoral, con el fin de aportar información científica objetiva y novedosa a los efectos de la PS en relación con el rendimiento físico, oxidación de sustratos energéticos y la respuesta cardiovascular durante el reposo y el ejercicio.



4

OBJETIVOS E HIPÓTESIS



- Investigar los efectos de la ingesta aguda de *p*-sinefrina sobre la tasa de oxidación de carbohidratos y grasas durante el ejercicio.
- Determinar la efectividad ergogénica de la *p*-sinefrina en el rendimiento deportivo.
- Analizar la dosis-respuesta de la ingesta aguda de *p*-sinefrina sobre el ritmo de oxidación de grasas y carbohidratos durante el ejercicio.
- Investigar los efectos de la combinación de *p*-sinefrina y cafeína sobre la oxidación de carbohidratos y grasas durante el ejercicio
- Analizar los efectos secundarios y los efectos en la frecuencia, derivados de la ingesta aguda de *p*-sinefrina y los efectos en la frecuencia cardíaca y presión arterial en reposo y durante el ejercicio.

Para estos objetivos de investigación, se plantean cinco hipótesis de partida:

Hipótesis 1: La ingesta aguda de *p*-sinefrina aumentará el gasto de energía y el ritmo de oxidación de grasas tanto en el reposo como durante el ejercicio de intensidad incremental.

Hipótesis 2: Una ingesta aguda de *p*-sinefrina mejorará el rendimiento físico en atletas velocistas de alto rendimiento al igual que en ciclistas de élite.

Hipótesis 3: En dosis de 1, 2 o 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina, la mayor dosis producirá los mayores efectos en oxidación de grasas durante el ejercicio, presentándose por tanto un efecto de dosis-respuesta para esta sustancia en la oxidación de las grasas.

Hipótesis 4: La ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina o 3 mg·kg⁻¹ de cafeína, provocará una mayor tasa de oxidación de grasas durante el ejercicio de intensidad incremen-

tal, a diferencia de la combinación de ambas sustancias, que no producirá registros superiores a los de la ingesta aislada.

Hipótesis 5: La ingesta aguda de *p*-sinefrina no mostrará ningún efecto secundario durante los ensayos, a las horas siguientes ni al día siguiente después de la ingesta. Del mismo modo la frecuencia cardíaca y la presión arterial en reposo no se verá modificada tras su ingesta ni tampoco durante el ejercicio.

5

ESTUDIOS DE CAMPO Y LABORATORIO

La presente Tesis Doctoral está compuesta por seis investigaciones experimentales llevadas a cabo por el Doctorando, junto al grupo de investigación del Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Universidad Camilo José Cela (Madrid). Cinco de ellas se pueden calificar como “investigaciones de laboratorio” llevadas a cabo en condiciones controladas en el laboratorio de fisiología de la Universidad Camilo José Cela, mientras que la investigación restante se trata de un estudio de campo, realizado en una pista de atletismo homologada bajo los parámetros de la IAAF (Asociación Internacional de Federaciones de Atletismo), (Figura 5).

Los seis estudios incluidos en esta Tesis Doctoral se han planteado de forma experimental a través de diseños con medidas repetidas, en el que los participantes siempre actuaron como sus propios controles. El orden de las pruebas siempre ha sido aleatorizado, contrabalanceado y cada prueba realizada con PS ha sido controlada por una situación experimental idéntica en el que los participantes ingirieron una sustancia PLAC. Además, en todos los casos se realizó un diseño doble-ciego en el que tanto los participantes como los investigadores que desarrollaron la recogida de datos no conocían la sustancia ingerida por cada participante en las distintas situaciones experimentales.

Como resultado de estas investigaciones, se han publicado 4 artículos científicos en revistas con factor de impacto en el *Journal Citation Reports* (JCR) en el área de las Ciencias del Deporte y de la Farmacología. Los otros dos artículos restantes se encuentran bajo revisión a fecha de publicación de la presente Tesis Doctoral. A continuación, se pueden ver los títulos de los mismos, junto con la información de publicación y el factor de impacto JCR (Tabla 1). Se puede consultar una copia completa de cada artículo en los anexos de la presente Tesis Doctoral. En la tabla 2, se pueden observar las características metodológicas, así como el número de participantes en cada investigación, las variables medidas y los principales hallazgos encontrados.

Tabla 1. Revista de publicación de los artículos de la Tesis Doctoral e índice de impacto en el momento de elaboración de la Tesis Doctoral.

	Título	Factor de impacto JCR	Cuartiles	Área de conocimiento
Estudio 1	<i>Acute consumption of p-syneprine does not enhance performance in sprint athletes.</i> Gutiérrez-Hellín J, JJ Salinero, Abián-Vicen J, F Areces, Lara B, C Gallo, Puente C, Del Coso J. Appl Physiol Nutr Metab. 2016 Ene; 41 (1): 63-9. doi: 10.1139 / apnm-2.015-0.299.	2,023	Q2 29/81	Ciencias del deporte
Estudio 2	<i>Acute p-syneprine ingestion increases fat oxidation rate during exercise.</i> Gutiérrez-Hellín J, Del Coso J. Br J Clin Pharmacol. 2016 Aug; 82 (2): 362-8. doi: 10.1111 / bcp.12952.	3,493	Q1 60/257	Farmacología y Farmacia
Estudio 3	<i>Dose-response effects of p-syneprine on fat oxidation rate during exercise of increasing intensity.</i> Gutiérrez-Hellín J, Del Coso J. Phytoterapy Research, 2017 Oct: 10.1002/ptr.5937.	3,092	Q2 81/257	Farmacología y Farmacia
Estudio 4	<i>Effects of p-Syneprine and Caffeine Ingestion on Substrate Oxidation during Exercise.</i> Gutiérrez-Hellín J, Del Coso J. Med Sci Sports Exerc. 2018 Sep; 50(9):1899-1906. doi: 10.1249/MSS.0000000000001653.	4,141	Q1 6/81	Ciencias del Deporte
Estudio 5	<i>Effects of p-syneprine ingestion on fat oxidation rate during exercise of increasing intensity in elite cyclists.</i> Gutiérrez-Hellín J, Baltazar-Martins G, Rodríguez I, Lara B, Ruiz-Moreno C, Aguilar M, Del Coso J.			UNDER REVIEW
Estudio 6	<i>Acute p-syneprine ingestion increases whole-body fat oxidation rate during 1 hour of exercise at Fatmax.</i> Gutiérrez-Hellín J, Ruiz-Moreno C, Del Coso J.			UNDER REVIEW

TOTAL 12,749



Figura 5. Laboratorio de fisiología del ejercicio de la Universidad Camilo José Cela y pista de atletismo del polideportivo municipal de Moratalaz. Entornos donde se han desarrollado las investigaciones experimentales.

Tabla 2. Esquema con las principales características metodológicas y

principales resultados de los estudios que conforman esta Tesis Doctoral.

	ESTUDIO 1	ESTUDIO 2	ESTUDIO 3		ESTUDIO 4	ESTUDIO 5	ESTUDIO 6
DISEÑO	Estudio experimental, doble ciego, contrabalanceado, aleatorizado y controlado con placebo.	Estudio experimental, doble ciego, contrabalanceado, aleatorizado y controlado con placebo.	Estudio experimental, doble ciego, contrabalanceado, aleatorizado y controlado con placebo.		Estudio experimental, doble ciego, contrabalanceado, aleatorizado y controlado con placebo.	Estudio experimental, doble ciego, contrabalanceado, aleatorizado y controlado con placebo.	Estudio experimental, doble ciego, contrabalanceado, aleatorizado y controlado con placebo.
PARTICIPANTES	13 atletas de alto rendimiento.	18 sujetos sanos y activos.	17 sujetos sanos y activos.		13 sujetos sanos y activos.	15 ciclistas de élite.	13 sujetos sanos y activos.
DOSIS	3 mg·kg ⁻¹ PS	3 mg·kg ⁻¹ PS	1, 2 y 3 mg·kg ⁻¹ PS		3 mg·kg ⁻¹ PS y 3 mg·kg ⁻¹ PS de cafeína	3 mg·kg ⁻¹ PS	3 mg·kg ⁻¹ PS
ÁMBITO	Estudio de campo.	Estudio de laboratorio.	Estudio de laboratorio.		Estudio de laboratorio.	Estudio de laboratorio.	Estudio de laboratorio.
VARIABLES DEPENDIENTES	Tiempo en 60m, 100m, altura de salto, concentraciones de PS en orina y efectos secundarios.	Oxidación de grasas, oxidación de CHO, MFO, Fatmax, FC y PA	Oxidación de grasas, oxidación de CHO, MFO, Fatmax, FC, PA y efectos secundarios.		Oxidación de grasas, oxidación de CHO, MFO, Fatmax, FC, PA y efectos secundarios.	Oxidación de grasas, oxidación de CHO, MFO, Fatmax y FC.	Oxidación de grasas, oxidación de CHO, consumo de energía y FC.
PROTOCOLO DEPORTIVO	Sprint y saltos.	Test incremental en cicloergómetro.	Test incremental en cicloergómetro.		Test incremental en cicloergómetro.	Test incremental en cicloergómetro.	60 minutos al Fatmax.
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	Prueba t, Anova de dos vías y McNemar.	Prueba t, Anova de una y dos vías y McNemar.	Prueba t, Anova de una y dos vías y McNemar.		Prueba t, Anova de una y dos vías.	Prueba t, Anova de una y dos vías y McNemar.	Prueba t, Anova de una y dos vías y McNemar.
PRINCIPALES RESULTADOS	La ingesta aguda de 3 mg·kg ⁻¹ de PS no mejoró el rendimiento en pruebas de velocidad. No se encontraron efectos secundarios.	La ingesta aguda de 3 mg·kg ⁻¹ de PS aumentó el Fatmax durante ejercicio de intensidad incremental sin modificar variables cardiovasculares.	La ingesta aguda de 2 y 3 mg·kg ⁻¹ de PS mostraron una mayor magnitud en el incremento de oxidación de grasas durante el ejercicio incremental.		No se modificó el consumo de energía ni la FC durante el ejercicio en comparación con el placebo. El MFO fue mayor en PS y en PS + Cafeína en comparación con el placebo. En el Fatmax no hubo diferencias significativas.	La ingesta aguda de 3 mg·kg ⁻¹ de PS aumentó el consumo de grasas durante ejercicio de intensidad incremental sin modificar variables cardiovasculares ni el consumo energético. El consumo de CHO se redujo tras la ingesta de PS.	La ingesta aguda de 3 mg·kg ⁻¹ de PS aumentó el consumo de grasas total en comparación con el placebo sin afectar al gasto energético ni a la FC. El consumo de CHO se redujo tras la ingesta de PS.

p-Sinefrina (PS), carbohidrato (CHO), máximo consumo de grasas (MFO), frecuencia cardíaca (FC),

presión arterial (PA) e intensidad a la que se consigue el MFO (Fatmax).

5.1 ESTUDIO 1

EL CONSUMO AGUDO DE *p*-SINEFRINA NO AUMENTA EL RENDIMIENTO DEPORTIVO EN VELOCISTAS DE ÉLITE

5.1.1. Objetivos del estudio

Determinar la efectividad ergogénica de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS en la fuerza explosiva de miembros inferiores y el rendimiento deportivo durante una competición simulada de velocidad en atletismo. A su vez, determinar los efectos secundarios derivados de la dosis administrada en estos deportistas y durante un periodo de 24 horas.

5.1.2. Material y métodos

Aspectos éticos

Antes de participar en la investigación, todos los participantes fueron informados sobre los riesgos y los beneficios derivados de su participación en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado para poder participar voluntariamente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Camilo José Cela, de acuerdo con la versión más reciente de la Declaración de Helsinki y los derechos de los participantes fueron protegidos durante todo el experimento.

Participantes

Trece atletas experimentados del mismo equipo de atletismo (11 hombres y 2 mujeres) se ofrecieron voluntariamente para participar en esta investigación. La edad, las características morfológicas y los años de experiencia deportiva de los participantes se describen en la Tabla 3. Todos los participantes en esta investigación fueron atletas especializados en distancias de 60 a 400 metros, por los que se les puede considerar como velocistas. Todos los participantes habían entrenado más de $2 \text{ h}\cdot\text{día}^{-1}$, $6 \text{ días}\cdot\text{semana}^{-1}$ durante el año previo. Además, ninguno de

ellos había tenido un historial previo de enfermedades cardiopulmonares ni lesiones musculoesqueléticas en los tres meses anteriores. Los atletas fueron informados que, durante la duración del estudio, no podían hacer uso de ningún medicamento, suplemento deportivo, alimenticio o estimulantes. Las mujeres participantes desarrollaron las pruebas siempre durante la fase lútea del ciclo menstrual para evitar los efectos de la menstruación en las variables investigadas.

Tabla 3. Características morfológicas, años de experiencia y hábitos de entrenamiento de los participantes en el estudio (n=13).

Variable (unidades)	Media \pm SD
N	13
Hombre/Mujer	11 / 2
Edad (años)	22,0 \pm 2,0
Masa corporal (kg)	71,8 \pm 6,5
Altura (cm)	179 \pm 6
Porcentaje de masa grasa (%)	12,4 \pm 4,7
Porcentaje masa libre de grasa (%)	86,7 \pm 4,8
Experiencia como atleta (años)	7,2 \pm 5,0

Diseño experimental

En esta investigación se empleó un diseño experimental, aleatorizado, doble ciego, controlado con PLAC y contrabalanceado. Cada atleta participó en 2 ensayos experimentales en una pista de atletismo homologada para competir (400 m de cuerda). Durante las pruebas, que se celebraron en invierno, la temperatura del aire fue de $8,1 \pm 1,0$ °C con una humedad relativa de $93 \pm 5\%$, sin diferencia entre los dos días. Los ensayos experimentales fueron separados una semana para permitir la recuperación completa y el lavado de la PS en el organismo. En una ocasión, los atletas ingirieron 3 mg de PS por kg de peso corporal (99%; Sinefrina HCL, *Power Nutrition*, España) en una cápsula opaca. En otra ocasión, los atletas ingirieron una cápsula idéntica, pero esta vez con un PLAC (celulosa; prueba de control). Las cápsulas se ingirieron con 150 mL de agua embotellada 60 minutos antes del inicio de los ensayos experimentales. Un código alfanumérico se asignó a cada prueba para conservar el ciego de los participantes y de los investigadores, de tal manera que ni los participantes ni los investigadores sabían que sustancia había ingerido cada participante.

Protocolo experimental

Dos días antes del primer ensayo experimental, los participantes se sometieron a un control médico rutinario para asegurar que estuvieran con buena salud

y no tuvieran ninguna condición de exclusión. Posteriormente se pesaron desnudos para calcular la dosis de PS, su masa grasa corporal y la masa libre de grasa. Estas variables se calcularon utilizando el análisis de impedancia bioeléctrica segmentaria (BC-418, Tanita, Japón). Veinticuatro horas antes de cada ensayo experimental, los participantes se abstuvieron de realizar ejercicio extenuante, ingiriendo una dieta y un régimen de ingesta de líquidos similar. Los participantes fueron alentados a consumir su comida habitual previa a la competición, 3 horas antes del comienzo de las pruebas, y se replicó antes de cada ensayo experimental. Estas estandarizaciones fueron trasladadas al personal técnico del equipo de investigación para analizar y garantizar el cumplimiento.

El día de los ensayos experimentales, los participantes llegaron a la hora habitual de sus entrenamientos (5.00 p.m.) y se les dio un bote esterilizado para recoger una muestra de orina. La cápsula que contenía PS o PLAC fue proporcionada individualmente en bolsas no identificables. Los atletas, a continuación, vestidos con su ropa de competición (incluyendo camiseta, pantalones cortos y zapatillas para correr) realizaron 30 minutos de calentamiento estandarizado, que incluyó 10 minutos de carrera continua para aumentar la temperatura muscular, seguidos de ejercicios de estiramiento dinámico para la parte superior e inferior de las extremidades y ejercicios de velocidad específicos. Cuarenta y cinco minutos después de la ingesta de la cápsula, los atletas realizaron 2 saltos máximos con flexión de rodillas mantenida a 90° (SJ) y 2 saltos máximos con contra movimiento (CMJ) con 1 minuto de descanso entre repeticiones. En el salto CMJ, los participantes comenzaron en una posición vertical con su peso distribuido uniformemente sobre ambos pies. Cada participante colocó sus manos sobre su cintura con el fin de eliminar la influencia de los brazos en el salto. A la orden de “ya”, el participante flexionó sus rodillas y saltó tan alto como fue posible, manteniendo las manos en la cintura y aterrizó con ambos pies. La potencia muscular de las piernas (pico y promedio) durante la fase del impulso y la altura del salto se determinaron utilizando una plataforma de fuerza (Quattrojump, Kistler, Suiza). En el salto SJ, la flexión de las rodillas se mantuvo durante 3 segundos para eliminar el efecto elástico de las estructuras anatómicas (e.g., músculo y tendones) durante el salto. Los saltos (SJ y CMJ) con una mayor altura de salto fueron los utilizados para el análisis estadístico. La eficiencia del ciclo de estiramiento-acortamiento de los músculos de las piernas (SSCE) se estimó como el porcentaje de ganancia de altura del CMJ sobre el SJ, con el objetivo de evaluar los efectos de PS sobre las propiedades musculares (Castagna y Castellini, 2013; Johnson et al., 2010). Después de tres minutos, los participantes realizaron un test de saltos repetidos a una intensidad máxima mantenidos durante 15 s, determinando la altura máxima de cada salto usando células fotoeléctricas (Optojump Next, Microgate, Italia). Para esta prueba de salto, los participantes comenzaron en

una posición vertical con su peso distribuido uniformemente sobre ambos pies. A la orden de “ya”, los participantes flexionaron las rodillas y saltaron tan alto como les fue posible, manteniendo las manos en la cintura, y repitiendo esta acción de salto durante 15 s. Durante la prueba, los atletas fueron animados verbalmente para producir un rendimiento máximo en cada repetición. La profundidad/flexión de piernas durante la fase de aterrizaje de cada salto fue elegida libremente, con el fin de producir la altura máxima en el siguiente salto. Los participantes se familiarizaron previamente con todos los tipos de salto utilizados en esta investigación.

Después de 10 minutos para la recuperación total, los participantes realizaron una carrera de competición simulada de 60 m y 100 m, con 15 minutos de recuperación entre cada sprint. Para estas competiciones simuladas, los atletas realizaron sus rutinas pre-competición habituales en relación con la preparación física y mental. La prueba se realizó en una pista de atletismo bajo las mismas normas de reglamento. Todos ellos realizaron la simulación con tacos de salida homologados.

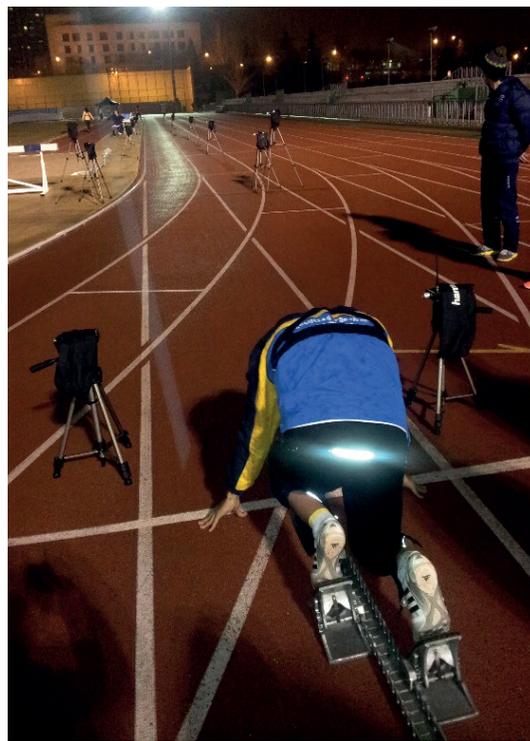


Figura 6. Células fotoeléctricas en la pista de atletismo del polideportivo municipal de Moratalaz, durante las pruebas de sprint 60m y 100m.

El inicio de la competición simulada se realizó mediante una señal acústica y las voces oficiales (“a sus puestos”, “listos”) y el registro de los tiempos se realizó utilizando células fotoeléctricas (0,001s de precisión, DSD Sport System, España). La velocidad del viento se midió individualmente para cada competición, con el objetivo de confirmar que los tiempos de ejecución fueron legales ($<2 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) y que esta variable no tuvo influencia en los resultados de la investigación. Para la obtención de las velocidades de carrera durante los 60 m se colocaron un par de células fotoeléctricas, a 1 m de la línea de salida, a los 10 m (sistema de doble haz (García-López et al., 2012)), 20, 30, 40, 50 y 60 m. Para la prueba de carrera de 100 m, las parejas de células se colocaron a 1 m de la línea de salida, a 10 m (sistema de doble haz), 20, 40, 60, 80 y 100 m. Las competiciones simuladas se realizaron

de manera individual en la calle uno, previamente balizada y cerrada al resto de usuarios de la instalación para evitar cualquier interferencia que pudieran producir otros atletas en los resultados de esta investigación.

Una vez finalizadas las pruebas físicas, se pidió a los atletas que rellenaran un cuestionario acerca de sus sensaciones de potencia, resistencia, esfuerzo percibido (RPE) y nerviosismo durante las pruebas. En este cuestionario se incluyó una escala de 1 a 10 puntos para evaluar cada variable, informando previamente a los participantes que 1 punto significaba una cantidad mínima y 10 puntos significaba una cantidad máxima para la presencia de cada variable. Este cuestionario ha sido utilizado previamente para evaluar aspectos subjetivos en otras situaciones deportivas después de la ingesta de cafeína y de bebidas energéticas (Salinero et al., 2014). Además, los participantes recibieron un cuestionario para ser complementado a la mañana siguiente sobre la calidad del sueño, nivel de activación, problemas gastrointestinales y otras molestias asociadas al consumo de la PS. Este cuestionario incluyó 6 elementos en una escala dicotómica de sí/no que indicaba la presencia -o no- de la variable en cuestión. Este cuestionario también incluía preguntas específicas para evaluar el éxito en el procedimiento del ciego de los participantes. Sesenta minutos después del final de las pruebas (120 minutos tras la ingesta), se obtuvieron muestras de orina de todos los participantes para determinar la concentración de PS y sus metabolitos asociados.

Pruebas de orina

Se analizó la concentración de ácido 4-hidroximandélico en las muestras de orina obtenidas antes y después de cada ensayo experimental. La concentración del ácido 4-hidroximandélico se midió en la orina como marcador de la ingesta de PS, debido a que este ácido se ha encontrado como uno de los principales metabolitos de PS (Medana et al., 2013).

Para la medición de la concentración de PS en la orina, se trató una alícuota de 100 μL de orina con β -glucuronidasa (Sigma, España) y posteriormente se purificó. Se realizó un proceso de evaporación en cada alícuota y posteriormente se lavó con agua destilada, se diluyó con acetonitrilo y el resultante se aplicó directamente a un tándem de cromatografía de líquidos/espectrómetro de masas (UPLC-MS/MS, 1290 Infinity Triple Quad 6430, Agilent, España). Para la medición del ácido 4-hidroximandélico, se trató una alícuota de 100 μL de orina con β -glucuronidasa (Sigma, España) y se realizó una extracción líquido-líquido (acetato de etilo). Después de aplicar un proceso de evaporación, cada alícuota se lavó con agua destilada, se diluyó con metanol y se aplicó directamente al mismo tándem empleado para la PS.

Se construyeron curvas de calibración para PS y ácido 4-hidroximandélico a partir de cinco puntos de calibración en el intervalo de 0,1 y 50 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para PS y 1,0 y 150 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para ácido 4-hidroximandélico. El límite de detección fue de 0,01 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para la PS y 0,1 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ para el ácido 4-hidroximandélico.

Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS v 20.0. La normalidad de cada variable cuantitativa se probó inicialmente con la prueba de Shapiro-Wilk. Todas las variables cuantitativas incluidas en esta investigación presentaron una distribución normal ($P > 0,05$) y se utilizaron estadísticas paramétricas para determinar las diferencias entre la PS y el PLAC. Para las variables obtenidas una vez durante el experimento (alturas de salto de SJ y CMJ, percepciones, etc.) se realizó la comparación de PS versus el ensayo de control utilizando la prueba t de Student para muestras emparejadas. Para las variables obtenidas dos veces o más durante el experimento (prueba de salto de 15 s, velocidad de ejecución durante las competencias simuladas, variables de orina, etc.), la comparación entre los ensayos experimentales se realizó utilizando un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías (tiempo x tratamiento). La prueba de McNemar también se usó para detectar diferencias en la prevalencia de efectos secundarios después de la ingesta de PS y el PLAC. También se incluyeron intervalos de confianza del 95% (CI del 95%) para las comparaciones por parejas. El nivel de significación se estableció en $P < 0,05$. Los datos se presentan como media \pm desviación estándar.

5.1.3. Resultados

Sólo 4 de cada 13 participantes (31%) identificó correctamente el orden de los ensayos experimentales (PS o PLAC) lo que indica que los participantes no fueron capaces de identificar ambas sustancias. En la Tabla 4 se representan las variables de salto obtenidos después de la ingesta de PS o el PLAC (control). Durante el CMJ, la altura del salto, la potencia pico y la potencia media en la fase de propulsión del salto no se modificaron por la ingesta de PS. Del mismo modo, estas variables no se vieron afectadas por la ingesta de PS durante el SJ. Por otra parte, el SSCE, calculado a partir de los saltos CMJ y SJ, fue similar en el ensayo con PS y en el ensayo de control (Tabla 4).

Durante la prueba de salto de 15 s, la ingesta de PS no mejoró la altura media de salto ($32,2 \pm 3,6$ vs. $31,8 \pm 4,1$ cm, respectivamente; $P = 0,18$) en comparación con la prueba de control. Sin embargo, la PS aumentó la altura media de salto alcanzado durante los últimos 6 saltos de la prueba (Figura 7, $P = 0,03$).

Tabla 4. Variables durante el salto *Countermovement jump* (CMJ) y *squat jump* (SJ) tras una ingesta de 3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina o placebo (control).

Variables (unidades)		Control	<i>p</i> -Sinefrina	Diferencia (95% CI)	P valor
C M J	Altura de salto (cm)	37,4 \pm 4,2	36,7 \pm 3,3	0,7 (-2,9 / 1,6)	0,52
	Pico de potencia ($\text{W}\cdot\text{kg}^{-1}$)	53,3 \pm 4,9	53,2 \pm 4,9	0,1 (-2,1 / 1,9)	0,93
	Promedio de potencia ($\text{W}\cdot\text{kg}^{-1}$)	30,6 \pm 2,9	30,5 \pm 3,6	0,1 (-1,6 / 1,4)	0,87
S J	Altura de salto (cm)	34,4 \pm 3,6	33,9 \pm 3,7	0,5 (-1,6 / 0,6)	0,34
	Pico de potencia ($\text{W}\cdot\text{kg}^{-1}$)	52,2 \pm 5,0	52,2 \pm 5,0	0,0 (-1,9 / 1,9)	0,99
	Promedio de potencia ($\text{W}\cdot\text{kg}^{-1}$)	23,5 \pm 2,2	23,3 \pm 2,1	0,2 (-1,5 / 1,1)	0,72
Eficiencia del ciclo de estiramiento-acortamiento (%)		108,7 \pm 6,5	108,9 \pm 8,6	-0,2 (-6,0 / 5,8)	0,96

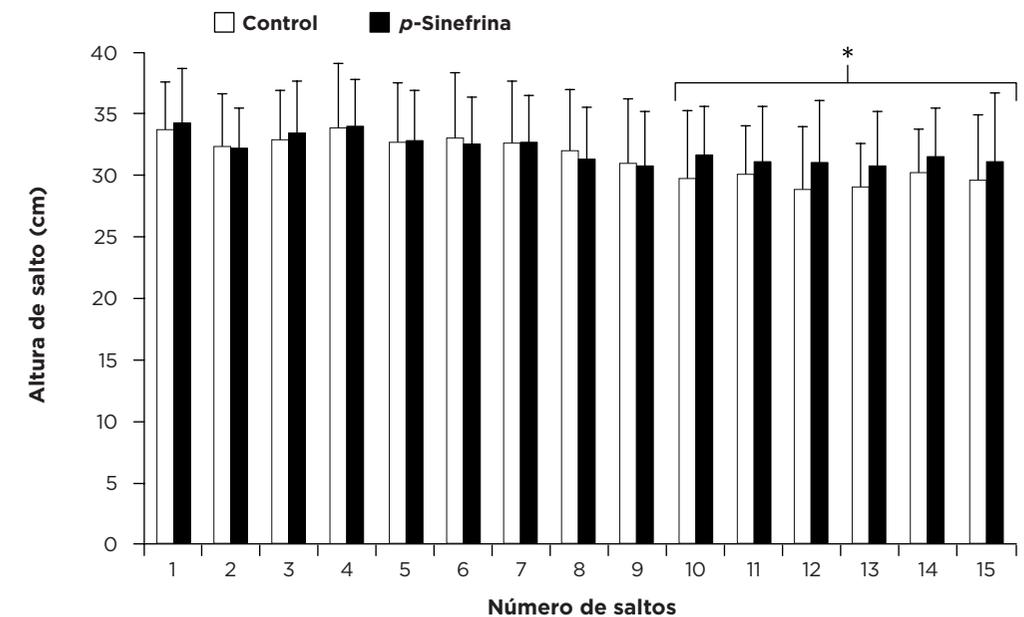


Figura 7. Test de altura de salto durante 15-s repetidos a la máxima altura tras una ingesta de 3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina o placebo (control).

(*) Diferencias respecto al control en $P < 0,05$.

La Figura 8 representa las velocidades alcanzadas en los diferentes segmentos de las competiciones simuladas (60 y 100 m). La ingesta de PS no modificó la velocidad media ($7,3 \pm 0,3$ vs. $7,3 \pm 0,3$ m·s⁻¹, respectivamente; $P = 0,60$) ni la velocidad máxima ($9,0 \pm 0,5$ vs. $9,0 \pm 0,4$ m·s⁻¹, respectivamente, $P = 0,55$) durante la competición simulada de 60 m, en comparación con la prueba de control. De la misma manera, la PS no cambió la velocidad media ($7,7 \pm 0,4$ vs. $7,7 \pm 0,4$ m·s⁻¹, respectivamente; $P = 0,68$) ni la velocidad de carrera máxima ($8,8 \pm 0,5$ vs. $8,8 \pm 0,5$ m·s⁻¹, respectivamente; $P = 0,92$) durante la competición de 100 m.

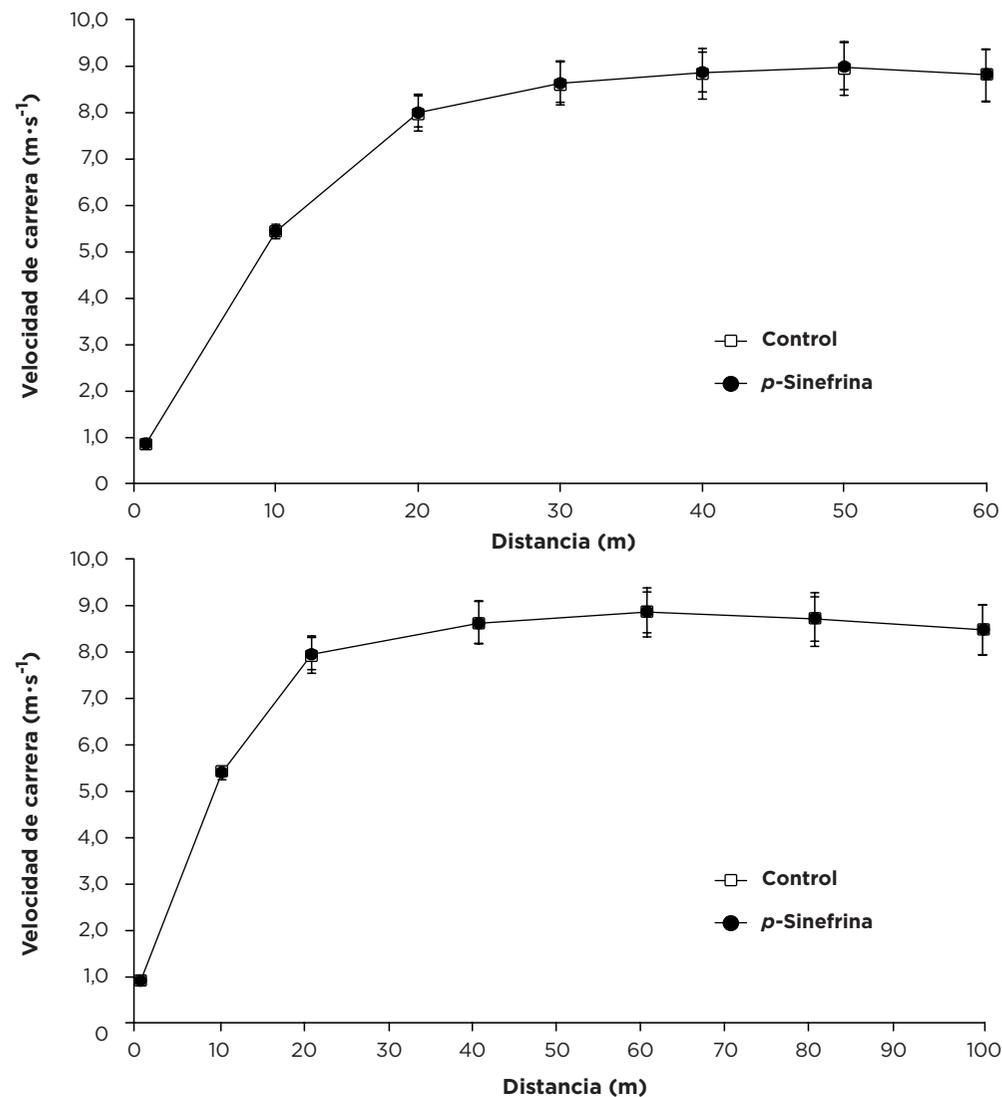


Figura 8. Velocidad de Carrera durante el test de velocidad de 60 m y 100 m lisos con una ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de p-sinefrina o placebo (control).

(*) Diferencias respecto al control en $P < 0,05$.

Después de las pruebas, la concentración urinaria de PS aumentó significativamente en el ensayo experimental con la administración de PS mientras que se mantuvo constante en el ensayo de control (Tabla 5). La concentración de ácido 4-hidroximandélico de la orina también aumentó después de la ingesta de PS, mientras que permaneció estable después de la administración del PLAC (Tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones urinarias de p-sinefrina y ácido 4-hidroximandélico antes y después del protocolo específico para velocistas con una ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de p-sinefrina o placebo (control).

Variable (unidades)		Control	p-Sinefrina	Diferencia (95% CI)	P valor
p-Sinefrina (µg·L ⁻¹)	Pre	88,9 ± 179,9	85,6 ± 165,5	3,6 (-8,4 / 18,6)	0,37
	Post	83,8 ± 159,5	7663 ± 2728 [†]	-7579 (-9192 / -5955)	<0,01
Ácido 4-hidroximandélico (µg·L ⁻¹)	Pre	88,9 ± 179,9	85,6 ± 165,5	3,6 (-8,4 / 18,6)	0,37
	Post	83,8 ± 159,5	7663 ± 2728 [†]	-7579 (-9192 / -5955)	<0,01

([†]) Diferencias respecto a la medida Pre en $P < 0,05$.

Durante la prueba, los atletas no percibieron que la PS modificara su rendimiento físico, debido a que sus sensaciones percibidas en cuanto a energía, resistencia y esfuerzo fueron muy similares en ambos ensayos experimentales (Tabla 6). Curiosamente, los atletas reportaron mayores sentimientos subjetivos de nerviosismo a pesar de no existir diferencias significativas ($P = 0,052$) durante las pruebas después de la ingesta de PS, aunque los valores se encontraban en el rango bajo de la escala de 1-10 puntos (Tabla 6). Durante las 24 horas después de las pruebas, los atletas reportaron una incidencia similar de dolores de cabeza, molestias gastrointestinales, dolor muscular, o de insomnio con la PS y con el PLAC.

Tabla 6. Prevalencia de efectos secundarios y percepciones durante el protocolo de test específico para velocistas durante las siguientes horas con una ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de p-sinefrina o placebo (control).

Variabes (unidades)	Control	p-Sinefrina	(95% CI)	P valor
Potencia (puntos)	6,6 ± 1,9	7,1 ± 1,3	-0,5 (-1,0 / 2,5)	0,31
Resistencia (puntos)	6,8 ± 1,3	6,4 ± 1,5	0,4 (-2,0 / 0,5)	0,21
Esfuerzo (puntos)	5,0 ± 2,2	4,2 ± 1,4	0,8 (-0,4 / 1,8)	0,22
Nerviosismo (puntos)	1,9 ± 1,3	2,8 ± 2,1	-0,9 (-0,4 / -1,4)	0,05
Dolor de cabeza (%)	7,7	15,4	-	1,00
Malestar abdominal/intestinal (%)	0	7,7	-	1,00
Dolor muscular (%)	23,1	15,4	-	1,00
Aumento de la actividad (%)	7,7	7,7	-	1,00
Insomnio (%)	0	7,7	-	1,00
Aumento en la ansiedad (%)	0	7,7	-	1,00

5.2 ESTUDIO 2

LA INGESTA AGUDA DE *p*-SINEFRINA AUMENTA EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS DURANTE UN EJERCICIO INCREMENTAL

5.2.1. Objetivos del estudio

Determinar los efectos de una dosis aguda de 3 mg·kg⁻¹ de PS en el ritmo de oxidación de grasas y CHO en reposo y durante el ejercicio de intensidad incremental.

5.2.2. Material y métodos

Aspectos éticos

Antes de participar en la investigación, todos los participantes fueron informados sobre los riesgos y los beneficios derivados de su participación en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado para poder participar voluntariamente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Camilo José Cela, de acuerdo con la versión más reciente de la Declaración de Helsinki y los derechos de los participantes fueron protegidos durante todo el experimento.

Participantes

Dieciocho participantes jóvenes, sanos y deportistas se ofrecieron a participar en esta investigación. Todos los participantes se consideraron como deportistas, teniendo una experiencia previa en carrera y ciclismo durante los tres años anteriores. Todos los participantes eran no fumadores, no tenían ninguna historia anterior de enfermedades cardiopulmonares y no habían sufrido lesiones musculoesqueléticas en los 6 meses anteriores. Los participantes fueron informados de que debían evitar el uso de medicamentos, suplementos nutricionales y estimulantes durante toda la duración del estudio y su cumplimiento fue examinado con cuestionarios.

Diseño experimental

Para esta investigación se utilizó un diseño experimental doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC. Cada sujeto participó en 2 ensayos experimentales separados por 3 días entre sí, con el fin de permitir la recuperación completa y la eliminación de la PS. En una ocasión, los participantes ingirieron 3 mg de PS por kg de masa corporal (99% de pureza, *Synephrine HCL, Nutrition Power*, España) contenida dentro de una cápsula opaca. Esta dosis fue superior a las investigaciones anteriores en las que se administró PS (Ratamess et al., 2015) o suplementos de CA (Haller et al., 2008) antes de la realización de ejercicio, pero se basó en una publicación anterior en la que 3 mg·kg⁻¹ de PS no mostraba efectos secundarios en velocistas de élite (Gutierrez-Hellin et al., 2016). En otra ocasión, los participantes ingirieron una cápsula idéntica que contenía un PLAC (celulosa). Las cápsulas fueron ingeridas con 150 mL de agua embotellada 60 minutos antes del inicio de los ensayos experimentales. Un código alfanumérico fue asignado a cada ensayo por una persona independiente de la toma de datos para realizar el procedimiento de doble ciego de los participantes y de los investigadores en referencia a las sustancias ingeridas. Las pruebas se realizaron en un laboratorio con temperatura y humedad controladas. La temperatura ambiental y la humedad se registraron utilizando un monitor digital de temperatura y humedad (OH1001, OH Haus, España) y las condiciones medioambientales durante la prueba fueron 20,3 ± 0,6 °C de temperatura del aire y 44 ± 16% de humedad relativa.

Protocolo experimental

Dos días antes del primer ensayo experimental, los participantes se pesaron desnudos para calcular la dosis de PS, y se sometieron a un control médico rutinario para asegurar que estuvieran con buena salud y no tuvieran ninguna condición de exclusión. Veinticuatro horas antes de cada ensayo experimental, los participantes se abstuvieron de realizar ejercicio extenuante y realizaron una dieta similar y régimen de ingesta de líquidos. Para esta estandarización, se solicitó a los participantes que completaran un registro dietético de 24 horas el día antes de la primera prueba experimental y que siguieran el mismo patrón dietético antes de la segunda prueba experimental. Se informó a los participantes de que se debían abstener de consumir productos y alimentos que contenían alcohol, cafeína y cítricos durante las 48 horas antes de cada visita al laboratorio. Los participantes fueron alentados a asistir en estado de ayuno (al menos 8 horas después de su última comida sólida) antes de cada ensayo y tras una noche de sueño. El cumplimiento de estos controles experimentales se confirmó verbalmente con los participantes antes de comenzar cada sesión experimental.

El día de los ensayos experimentales, los participantes llegaron al laboratorio (09.00 a.m.) y acto seguido se les suministró individualmente la cápsula que contenía PS o PLAC en bolsas no identificables. Los participantes realizaron las pruebas vestidos con una camiseta, pantalón corto y una banda de FC ajustada al pecho (PolarW, Finlandia). A continuación, descansaron en decúbito supino durante 60 minutos para permitir la absorción de PS/celulosa. Posteriormente, se recogieron datos durante 15 minutos a través de un sistema de calorimetría indirecta (analyzer de gases con el sistema de respiración por respiración; *MetaLyzer 3B*, Cortex, Alemania) para calcular el consumo de oxígeno (VO₂) y la producción de dióxido de carbono (VCO₂) en reposo, siguiendo procedimientos estándar. Se promediaron los datos durante los últimos 5 minutos de este período de recolección de variables respiratorias para obtener un valor representativo para estas variables. Para esta medición, los participantes permanecieron inmóviles sin estímulo visual o acústico. Para la calibración del analizador de gases se emplearon gases certificados (16,0% de O₂, 5,0% de CO₂, *Cortex*, Alemania) y una jeringa de 3 L para calibrar el analizador de gas y el caudalímetro antes de cada ensayo. Durante este período, se midió continuamente la FC en reposo y se promedió durante el mismo período de 5 minutos. La PA sistólica y la PA diastólica se midieron por triplicado en el brazo izquierdo utilizando un esfigmomanómetro automático (*M6 Comfort*, *Omron*, Japón) mientras el paciente estaba en decúbito supino. Se utilizó un promedio de las tres mediciones de la PA para el análisis.

Después de las mediciones en reposo, los participantes realizaron un calentamiento estandarizado que incluyó 10 minutos a 50 W en un cicloergómetro (*SNT Medical, Cardgirus*, España) y completaron una prueba de intensidad incremental en el cicloergómetro que incluía incrementos de 25 W cada 3 minutos hasta la fatiga volitiva (la carga de trabajo inicial se fijó en 50 W para todos los participantes). Los gases espirados se recogieron y se analizaron con el mismo analizador de gases utilizado para las mediciones en reposo (*MetaLyzer 3B*, *Cortex*, Alemania) con el fin de calcular el VO₂ y VCO₂ durante el ejercicio. Durante la prueba de intensidad incremental, el consumo de oxígeno pico (VO_{2pico}) se definió como el mayor valor de VO₂ alcanzado durante el pedaleo. El VO_{2pico} se consideró válido cuando se alcanzaron los siguientes criterios finales al término de la prueba: la diferencia de VO₂ entre las dos últimas cargas consecutivas fue inferior a 0,15 L·min⁻¹, el cociente respiratorio fue superior a 1,10, la calificación del participante en referencia al esfuerzo percibido (escala Borg de 6 a 20 puntos) fue superior a 19 puntos y su FC fue superior al 80% de la estimación ajustada por edad de la FC_{max} (Edvardsen, Hem, y Anderssen, 2014). La misma prueba, con idénticas cargas de trabajo y tiempos se utilizó para los dos ensayos experimentales, replicando una cadencia individualmente elegida (entre 70 y 90 revoluciones por minuto (rpm) para todos los participantes). Todos los partici-

pantes se familiarizaron con esta prueba realizando un ensayo de familiarización al menos una semana antes del inicio de los ensayos experimentales. Durante el último minuto de cada etapa se promediaron los datos respiratorios para conseguir un valor representativo de cada carga. La intensidad absoluta del ejercicio en vatios (W) se normalizó utilizando el $VO_{2\text{pico}}$ del individuo. Para cada individuo, las variables medidas se utilizaron para construir curvas del gasto energético y oxidación de sustratos energéticos frente a la intensidad del ejercicio, expresado como % $VO_{2\text{pico}}$, siguiendo una investigación previa (Achten, Gleeson, y Jeukendrup, 2002).

Cálculos

Las tasas de gasto energético y de oxidación de los sustratos energéticos (grasa y CHO) se calcularon utilizando el cociente respiratorio no proteico (Brouwer, 1957; Frayn, 1983). El gasto de energía ($\text{kcal}\cdot\text{min}^{-1}$) en reposo y durante el ejercicio se calculó como $(3,869 \times VO_2) + (1,195 \times VCO_2)$, donde VO_2 y VCO_2 están en $\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. El ritmo de oxidación de grasa ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$) se calculó como $(1,67 \times VO_2) - (1,67 \times VCO_2)$ y la velocidad de oxidación de CHO ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$) se calculó como $(4,55 \times VCO_2) - (3,21 \times VO_2)$ (Frayn, 1983). El Fatmax se calculó individualmente para cada participante como la intensidad a la que se obtenía el valor más alto del ritmo de oxidación de grasa durante la prueba de intensidad incremental.

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SPSS v 20.0 para el análisis de los datos. La normalidad de cada variable cuantitativa se probó inicialmente con la prueba de Shapiro-Wilk. Todas las variables cuantitativas incluidas en esta investigación presentaron una distribución normal ($P > 0,05$) y se utilizaron estadísticos paramétricos para determinar las diferencias entre la PS y el PLAC. Se utilizó un ANOVA de una vía para comparar el gasto energético y la oxidación de CHO y grasas, la FC y la PA en reposo. Se utilizó un ANOVA de dos vías (tratamiento \times carga) para comparar estas mismas variables durante el ejercicio. Después de obtener una prueba F significativa (corrección Greenhouse-Geisser para la asunción de esfericidad), las diferencias entre las medias se identificaron utilizando el ajuste de Bonferroni. El nivel de significación se estableció en $P < 0,05$. Todos los datos se presentan como media \pm desviación estándar. El tamaño del efecto (d) se calculó en todas las comparaciones pareadas de acuerdo con la fórmula propuesta por Glass, McGaw, y Smith (1981). La magnitud del tamaño del efecto, en valores absolutos, se interpretó utilizando la escala de Cohen (1988) un tamaño de efecto inferior a 0,2 fue considerado pequeño, un tamaño de efecto alrededor de 0,5 fue considerado como medio y se consideró un tamaño de efecto superior a 0,8 grande.

5.2.3. Resultados

En comparación con el PLAC, la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS no cambió los valores de VO_2 o VCO_2 en reposo (Tabla 7, $P > 0,05$). Por lo tanto, el gasto energético y los sustratos energéticos usados en reposo no se modificaron por la ingesta de PS. Esta sustancia tampoco modificó la FC o la PA sistólica y diastólica en reposo ($P > 0,05$). Los tamaños del efecto inducidos por la ingesta de PS en las medidas en reposo fueron de pequeño a moderado en todas las variables metabólicas y cardiovasculares estudiadas.

Tabla 7. Variables metabólicas y cardiovasculares durante el reposo, una hora después de la ingesta de ρ -sinefrina o placebo. Los datos se presentan como la media \pm SD de 18 participantes.

Valores en reposo	Placebo	ρ -Sinefrina	d	P valor
VO_2 ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)	$0,32 \pm 0,05$	$0,32 \pm 0,05$	0,01	0,42
VCO_2 ($\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$)	$0,28 \pm 0,05$	$0,26 \pm 0,04$	0,29	0,64
Consumo de energía ($\text{kcal}\cdot\text{min}^{-1}$)	$1,6 \pm 0,3$	$1,6 \pm 0,3$	0,10	0,69
Consumo de carbohidratos ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)	$0,22 \pm 0,04$	$0,18 \pm 0,12$	0,40	0,45
Consumo de grasas ($\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$)	$0,08 \pm 0,02$	$0,10 \pm 0,04$	0,79	0,15
Frecuencia cardíaca ($\text{latidos}\cdot\text{min}^{-1}$)	56 ± 5	57 ± 6	0,18	0,53
Presión sistólica (mmHg)	123 ± 13	123 ± 13	0,22	0,82
Presión diastólica (mmHg)	73 ± 9	74 ± 9	0,04	0,55

La Figura 9 muestra el consumo de energía y la FC durante el protocolo incremental. Ambas variables se incrementaron de manera progresiva a medida que aumentó la intensidad del ejercicio, pero la PS no modificó el consumo de energía ni la FC en ninguna carga estudiada ($P > 0,05$).

La Figura 10 muestra el ritmo de oxidación de los sustratos energéticos durante el protocolo de ejercicio incremental, obtenido a partir de los valores de VO_2 y VCO_2 . La ingesta de PS desplazó la curva de ritmo de oxidación de grasa-intensidad del ejercicio hacia arriba durante la realización del ejercicio incremental y produjo tasas de oxidación de grasa significativamente mayores en el rango entre el 40 y 80% de $VO_{2\text{pico}}$ en comparación con la ingesta del PLAC ($P < 0,05$). Por el contrario, la ingesta de PS desplazó la curva de ritmo de oxidación de CHO-intensidad del ejercicio hacia abajo, con menores tasas de oxidación de CHO a todas las intensidades, en el rango entre el 40 y el 60% de $VO_{2\text{pico}}$ (Figura 10; $P < 0,05$).

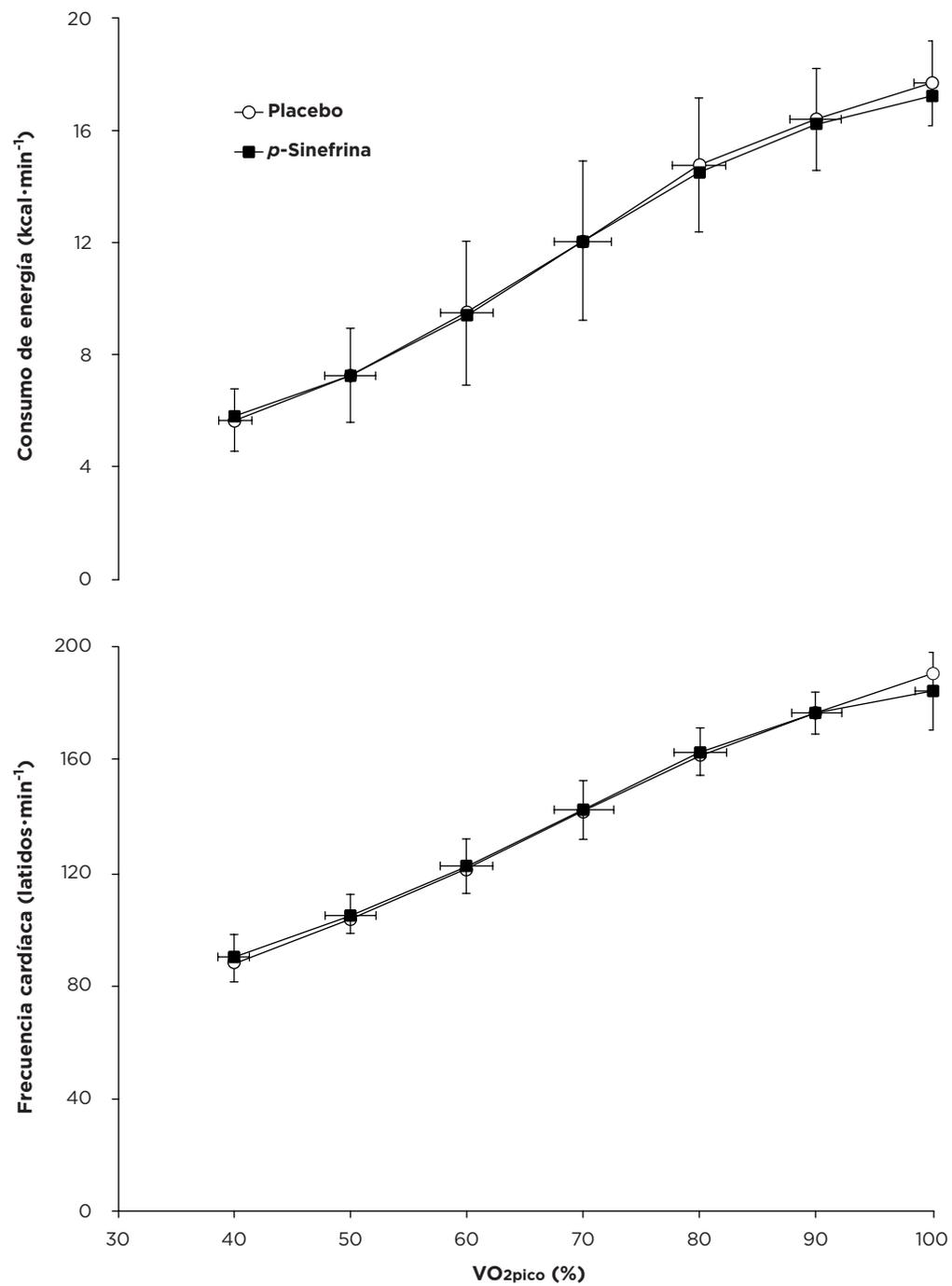


Figura 9. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de p-sinefrina o placebo. Los datos se presentan como media ± SD de 18 participantes.

(*) Diferencias respecto al control en $P < 0,05$.

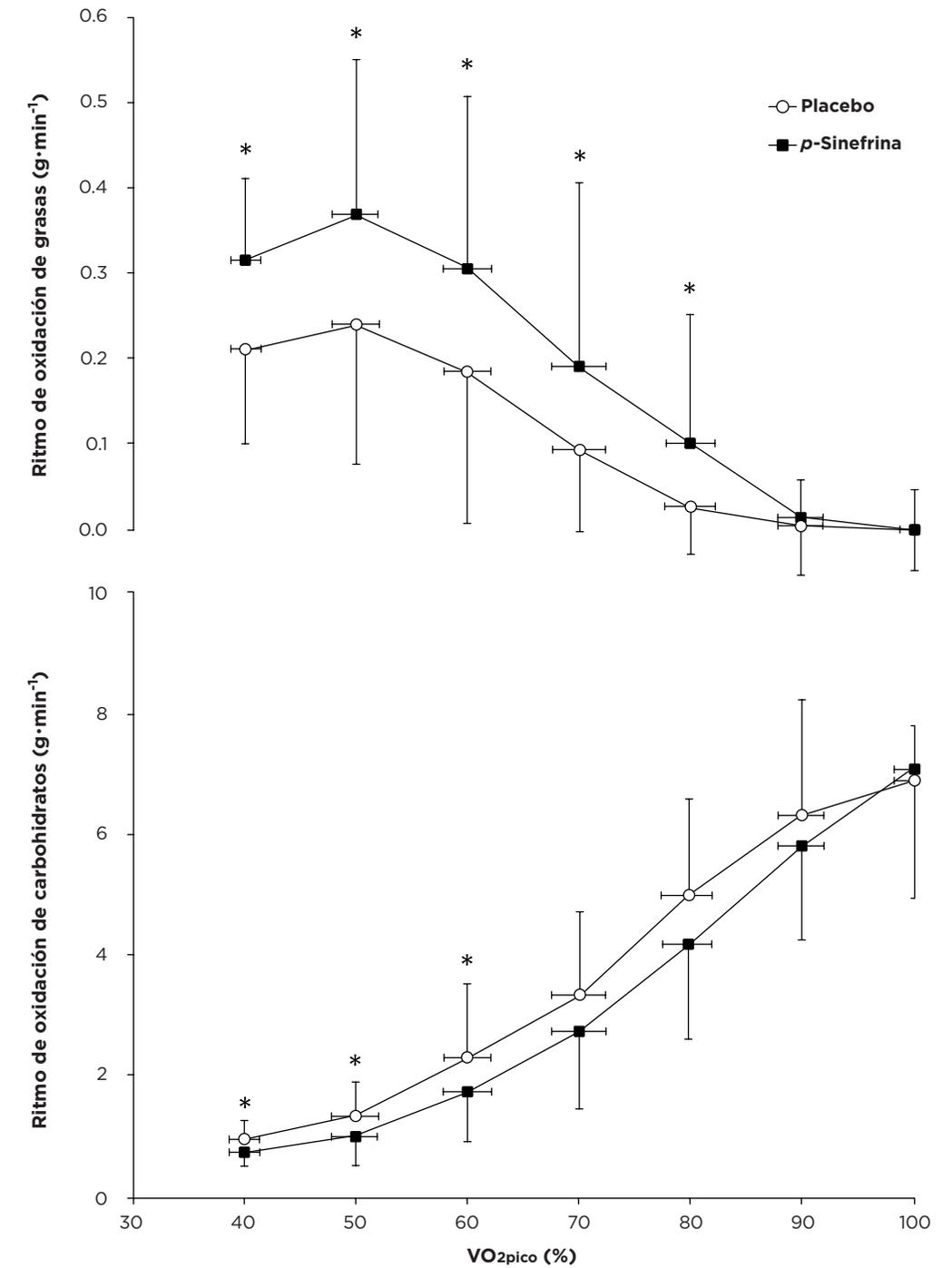


Figura 10. Consumo de grasas (gráfico superior) y consumo de carbohidratos (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de p-sinefrina o placebo. Los datos se presentan como media ± SD de 18 participantes.

(*) Diferencias respecto al control en $P < 0,05$.

La Figura 11 representa los valores medios e individuales de los máximos registros de consumos de grasas obtenidos durante los ensayos experimentales. La PS aumentó la tasa máxima de oxidación de la grasa ($0,29 \pm 0,15$ vs. $0,40 \pm 0,18$ $\text{g}\cdot\text{min}^{-1}$; $P = 0,01$) con un tamaño de efecto moderado ($d = 0,79$) en comparación con los valores obtenidos tras la ingesta del PLAC. Sin embargo, la ingesta pre-ejercicio de PS no afectó al Fatmax (intensidad a la que se logró el máximo consumo de grasas) ($55,8 \pm 7,7$ vs. $56,7 \pm 8,2\%$ $\text{VO}_{2\text{pico}}$; $P = 0,51$, $d = 0,01$). De los 18 participantes, 13 (72% de la muestra) obtuvieron un mayor consumo de grasas con PS mientras que los 5 restantes obtuvieron un mayor consumo de grasas con la ingesta del PLAC.

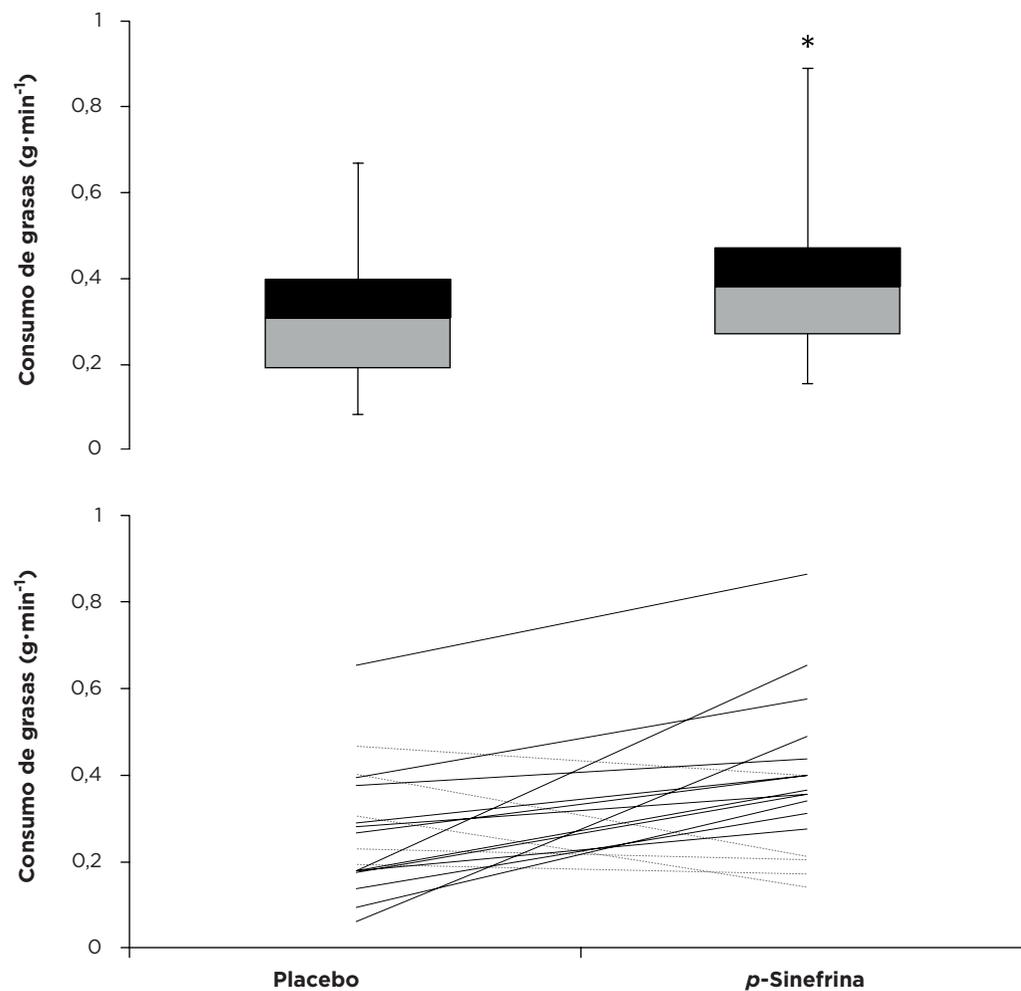


Figura 11. Diagrama de cajas y bigotes (gráfico superior) y respuesta individual (gráfico inferior) del consumo máximo de grasas registrado durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de ingerir $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina o placebo.

(*) Diferencias respecto al control en $P < 0,05$.

5.3 ESTUDIO 3

EFECTOS DE LA DOSIS RESPUESTA DE LA *p*-SINEFRINA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS DURANTE EL EJERCICIO DE INTENSIDAD INCREMENTAL

5.3.1. Objetivos del estudio

Investigar la dosis-respuesta de la ingesta aguda de PS ($1, 2$ o $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS) sobre el ritmo de oxidación de grasas y CHO durante el ejercicio de intensidad incremental.

5.3.2. Material y métodos

Aspectos éticos

Antes de participar en la investigación, todos los participantes fueron informados sobre los riesgos y los beneficios derivados de su participación en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado para poder participar voluntariamente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Camilo José Cela, de acuerdo con la versión más reciente de la Declaración de Helsinki y los derechos de los participantes fueron protegidos durante todo el experimento.

Participantes

Diecisiete participantes jóvenes, sanos y deportistas participaron voluntariamente en esta investigación (edad: $26,0 \pm 6,0$ años, masa corporal: $66,8 \pm 11,5$ kg, altura corporal: 176 ± 8 cm e IMC: $21,3 \pm 1,8$ $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$). En la muestra había tres mujeres que siempre realizaron los ensayos en su fase lútea del ciclo menstrual. Los participantes eran no fumadores, no tenían antecedentes de enfermedades cardiopulmonares y no habían sufrido lesiones musculoesqueléticas en los 6 meses anteriores a la investigación. Se indicó a los participantes que debían evitar medicamentos, suplementos

nutricionales y estimulantes durante la duración del estudio y el cumplimiento de esta estandarización fue verificado a través de cuestionarios.

Diseño experimental

En esta investigación se utilizó un diseño experimental de medidas repetidas, doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC. Cada participante completó 4 ensayos idénticos separados 3 días entre sí para permitir la recuperación completa y la eliminación de la PS. Los participantes ingirieron 1, 2 o 3 mg de PS por kg de masa corporal (99% de pureza, *Synephrine HCL, City Powder*, Estados Unidos) o PLAC (celulosa). Las sustancias se administraron en una cápsula opaca e inidentificable y se ingirieron con 150 mL de agua embotellada 60 minutos antes del inicio de los ensayos experimentales. La dosificación de la PS y la asignación del orden de los ensayos fueron realizados por una persona independiente a la realización de los test con el fin de garantizar el doble ciego de los participantes y de los investigadores.



Figura 12. Cápsulas opacas de *p*-sinefrina y placebo con su respectiva numeración alfanumérica.

Protocolo experimental

Dos días antes del primer ensayo experimental, los participantes se pesaron desnudos para calcular la dosis de PS. Además, se sometieron a un control médico rutinario para asegurar que estuvieran con buena salud y no tuvieran ninguna condición de exclusión. Posteriormente, los participantes realizaron un calentamiento normalizado, que incluyó 10 minutos a 50 W en un cicloergómetro (SNT Medical, *Cardgirus*, España) y completaron una prueba de ejercicio incremental en el cicloergómetro (incremento de 25 W cada minuto) hasta que la fatiga volitiva con el objetivo de determinar su consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}). Durante el ensayo, se midió continuamente el VO_2 mediante un analizador de gases (*Metalizer 3B, Cortex*, Alemania) promediando los datos cada 15 s. El VO_{2max} se definió como el valor de VO_2 más alto obtenido durante la prueba incremental. El VO_{2max} se consideró válido cuando los participantes evaluaron su esfuerzo percibido por encima de 19 en la escala de Borg, la diferencia de VO_2 entre las dos últimas cargas consecutivas fue inferior a $0,15 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$, el cociente respiratorio fue superior a 1,10 y la FC fue superior al 80% de la estimación ajustada por edad de la FC_{max} (Edvardsen et al., 2014). Para normalizar la intensidad del ejercicio a utilizar en los ensayos experimentales (aumentos del 10% VO_{2max}) entre los individuos, se realizó un análisis de regresión para cada sujeto, relacionando los W y VO_2 obtenidos en esta prueba.

Veinticuatro horas antes de cada ensayo experimental, los participantes se abstuvieron de realizar ejercicio extenuante y adoptaron una dieta y régimen de ingesta de líquidos similar. Los participantes también debían abstenerse de productos y alimentos que contenían alcohol, cafeína y cítricos durante 24 horas antes de cada ensayo. Para normalizar estas rutinas, se solicitó a los participantes que completaran un registro dietético de 24 horas el día antes de la primera visita al laboratorio y que siguieran el mismo patrón dietético antes de las visitas posteriores. Los participantes llegaron al laboratorio (09:00 a.m.) en estado de ayuno (al menos 8 horas después de su última comida) y la cápsula con el tratamiento experimental se proporcionó en una bolsa no identificable. Los participantes realizaron las pruebas experimentales vestidos con una camiseta, pantalones cortos y una cinta de FC colocada en su pecho (*Wearlink*, Polar, Finlandia). Después de esto, descansaron en decúbito supino durante 60 minutos para permitir la absorción de la PS/celulosa. Se midió la FC y la PA sistólica y diastólica (*M6 Comfort, Omron*, Japón, por triplicado) en los últimos 5 minutos del período de reposo. Para la PA, se utilizó un promedio de tres mediciones, al igual que se indicó para el Estudio 2.

Después de las mediciones en reposo, los participantes realizaron un calentamiento estandarizado de 10 minutos a una carga de trabajo equivalente al 30% del VO_{2max} en el cicloergómetro, incrementando la intensidad del ejercicio en incrementos del 10% del VO_{2max} cada 3 minutos, hasta completar la carga de trabajo equivalente a 90 % del VO_{2max} . Del total, 9 participantes no completaron la carga de trabajo equivalente al 100% del VO_{2max} y, por tanto, esta carga de trabajo se ha excluido del análisis. Durante esta prueba incremental, los datos de intercambio de gas se recogieron continuamente por el analizador de gases mencionado anteriormente para calcular el VO_2 y VCO_2 en cada carga. Durante el último minuto de cada etapa, se promediaron los datos de intercambio gaseoso y de FC cada 15 segundos para obtener valores representativos en cada intensidad. Para la calibración se utilizaron gases de calibración certificados (16,0% de O_2 , 5,0% de CO_2 , Cortex, Alemania) y una jeringa de 3 L para calibrar el caudalímetro antes de cada ensayo. La cadencia de pedaleo fue individualmente elegida (entre 70 y 90 rpm para todos los participantes) y se replicó en todos los días de pruebas experimentales. La temperatura ambiental y la humedad se mantuvieron constantes en todos los ensayos experimentales ($20,9 \pm 0,5$ °C temperatura del aire y $42,0 \pm 11,0$ % de humedad relativa). Al final de la prueba, los participantes debían rellenar un cuestionario para evaluar sus percepciones de potencia muscular, resistencia y esfuerzo durante la prueba incremental (usando una escala de 1 a 10 puntos para evaluar cada ítem). Además, a los participantes se les entregó un cuestionario que debían cumplimentar a la mañana siguiente sobre la calidad del sueño, nerviosismo, problemas gastrointestinales y otras molestias (usando una escala de sí/no para evaluar cada ítem). Estos cuestionarios fueron adaptados a partir de una versión utilizada para evaluar la aptitud percibida durante el ejercicio y los efectos secundarios derivados de la ingesta de cafeína (Salinero et al., 2014). Para evaluar el éxito del proceso de doble-ciego durante el experimento, se pidió a los participantes que indicasen el orden en que creían que habían realizado los ensayos experimentales (PS o PLAC) al finalizar el segundo ensayo.

Cálculos

Las tasas de gasto energético y la oxidación del sustrato (grasa y CHO) se calcularon utilizando el cociente respiratorio no proteico (Brouwer, 1957; Frayn, 1983). Las fórmulas utilizadas fueron las mismas descritas para el Estudio 2. El máximo consumo de grasas (MFO) se calculó individualmente para cada participante como el valor más alto del ritmo de oxidación de grasa obtenida durante la prueba de intensidad incremental. También se determinó a la intensidad en la que se conseguía (Fatmax).

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete estadístico SPSS v 20.0 para el análisis de los datos. El nivel de significación se estableció en $P < 0,05$. La normalidad de cada variable cuantitativa se probó inicialmente con la prueba de Shapiro-Wilk. Todas las variables cuantitativas incluidas en esta investigación presentaron una distribución normal y se usaron estadísticos paramétricos para determinar las diferencias entre las diferentes dosis de PS y el PLAC. Se utilizó una ANOVA de una vía para comparar la FC y la PA en reposo. Se utilizó un ANOVA de dos vías (tratamiento \times carga de trabajo) para comparar el gasto energético, las tasas de oxidación de grasas y CHO y la FC durante el ejercicio. El tamaño del efecto (d) se calculó para la comparación de cada dosis de PS contra el PLAC de acuerdo con la fórmula propuesta por Glass et al. (1981). La magnitud de tamaño del efecto se interpretó según los valores descritos en el Estudio 2.

5.3.3. Resultados

Sólo un participante (5,9% de la muestra) adivinó correctamente el orden de los ensayos, lo que indicó la correcta realización del protocolo del ciego. En comparación con el PLAC (52 ± 4 latidos·min⁻¹), la ingesta de 1, 2 y 3 mg·kg⁻¹ de PS no modificó la FC en reposo (54 ± 6 , 49 ± 5 y 52 ± 7 latidos·min⁻¹, respectivamente, $P = 0,58$). La ingesta de PS no modificó ni la PA sistólica (114 ± 13 vs. 115 ± 7 , 112 ± 8 y 113 ± 10 mmHg, respectivamente, $P = 0,52$) ni la PA diastólica (66 ± 5 vs. 67 ± 3 , 66 ± 4 y 66 ± 8 mmHg, respectivamente, $P = 0,61$). Los tamaños del efecto inducidos por la ingesta de las diferentes dosis de PS fueron $d < 0,6$ en todas las variables cardiovasculares medidas en reposo.

La tasa de gasto energético aumentó progresivamente con la carga de trabajo, de $5,4 \pm 1,4$ kcal·min⁻¹ en el 30% del VO_{2max} a $16,0 \pm 2,7$ kcal·min⁻¹ en el 90% de VO_{2max} ($P < 0,05$). La tasa de gasto energético en todas las dosis de PS, imitó la respuesta encontrada con el PLAC y no hubo diferencias significativas en ninguna carga de trabajo entre dosis ni en comparación con el PLAC ($P > 0,05$). Del mismo modo, la FC aumentó de 95 ± 10 latidos·min⁻¹ en el 30% VO_{2max} a 174 ± 9 latidos·min⁻¹ al 90% VO_{2max} ($P < 0,05$), mientras que ninguna dosis de PS produjo ningún cambio significativo durante la prueba de intensidad incremental ($P > 0,05$). Sin embargo, la ingesta de PS modificó los sustratos utilizados durante el ejercicio. Todas las dosis de esta sustancia desplazaron la curva de intensidad del ejercicio-oxidación de grasa hacia arriba durante el protocolo de ejercicio (Figura 13). Concretamente, 1 mg·kg⁻¹ aumentó de forma significativa la oxidación de grasas respecto al PLAC en el 30 y 60% del VO_{2max} , mientras que las dos dosis superiores, 2 y 3 mg·kg⁻¹, también aumentaron el ritmo de oxidación de grasa sobre el PLAC desde el 30 al 60% VO_{2max} ($P < 0,05$, Figura 13 gráfico superior).

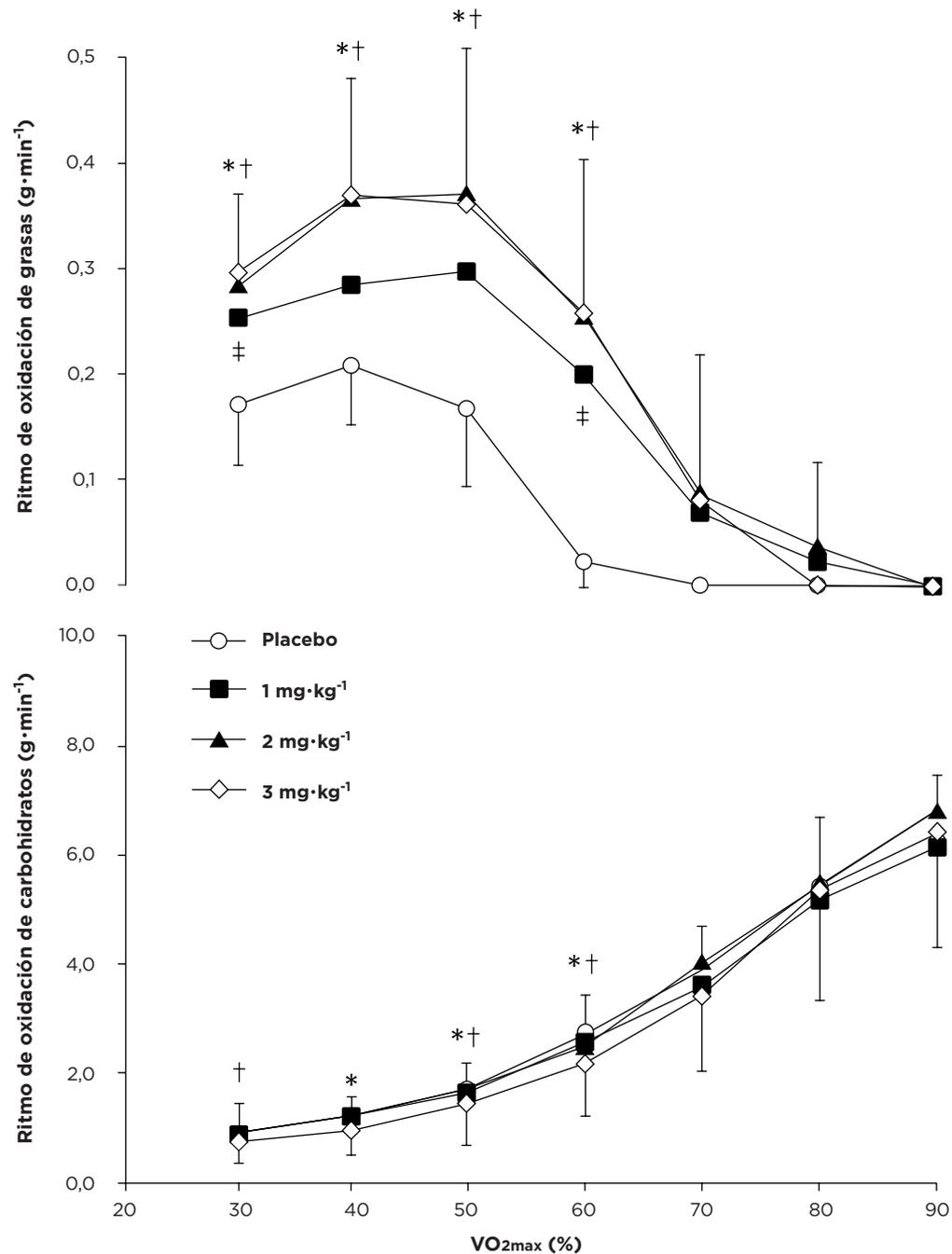


Figura 13. Ritmo de oxidación de grasa (gráfico superior) de carbohidratos (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad creciente una hora después de la ingesta de 1, 2 y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ de *p*-sinefrina o placebo. Los datos son media \pm SD para 17 participantes.

(‡) Diferencias entre placebo y 1 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$). (†) Diferencias entre placebo y 2 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$). (*) Diferencias entre placebo y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en el ritmo de oxidación de grasa entre las tres dosis de PS, pero los tamaños de efecto fueron siempre mayores con 2 (d desde 2,0 a 7,1) y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ (d desde 2,2 a 7,4) que con 1 $mg \cdot kg^{-1}$ (d desde 1,4 a 5,5). Las diferentes dosis de PS redujeron el ritmo de oxidación de CHO durante el ejercicio, pero este efecto sólo fue significativo con 2 y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ y con cargas de trabajo del 30 al 60% VO_{2max} ($P < 0,05$, Figura 13, gráfico inferior). El Fatmax con PLAC ($0,35 \pm 0,05 g \cdot min^{-1}$, Figura 14) se alcanzó en el $38,0 \pm 1,9\%$ del VO_{2max} (rango de 30 a 60% VO_{2max}). La ingesta de 1 $mg \cdot kg^{-1}$ aumentó el MFO a $0,47 \pm 0,11 g \cdot min^{-1}$ ($P = 0,01$, $d = 3,2$), pero no cambió el Fatmax al que se obtuvo el MFO ($42,0 \pm 9,4\%$ del VO_{2max} , rango de 30 a 60% de VO_{2max}). La ingesta de 2 y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ de PS incrementó el MFO a $0,54 \pm 0,13 g \cdot min^{-1}$ para 2 $mg \cdot kg^{-1}$ y $0,55 \pm 0,14 g \cdot min^{-1}$ para 3 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,01$, $d = 4,7$ y 4,9, respectivamente), aunque sólo la dosis de 3 $mg \cdot kg^{-1}$ cambió ligeramente el Fatmax ($43,0 \pm 9,5\%$ de VO_{2max} , $P < 0,01$, $d = 0,5$, rango de 30 a 60% VO_{2max} , Figura 14).

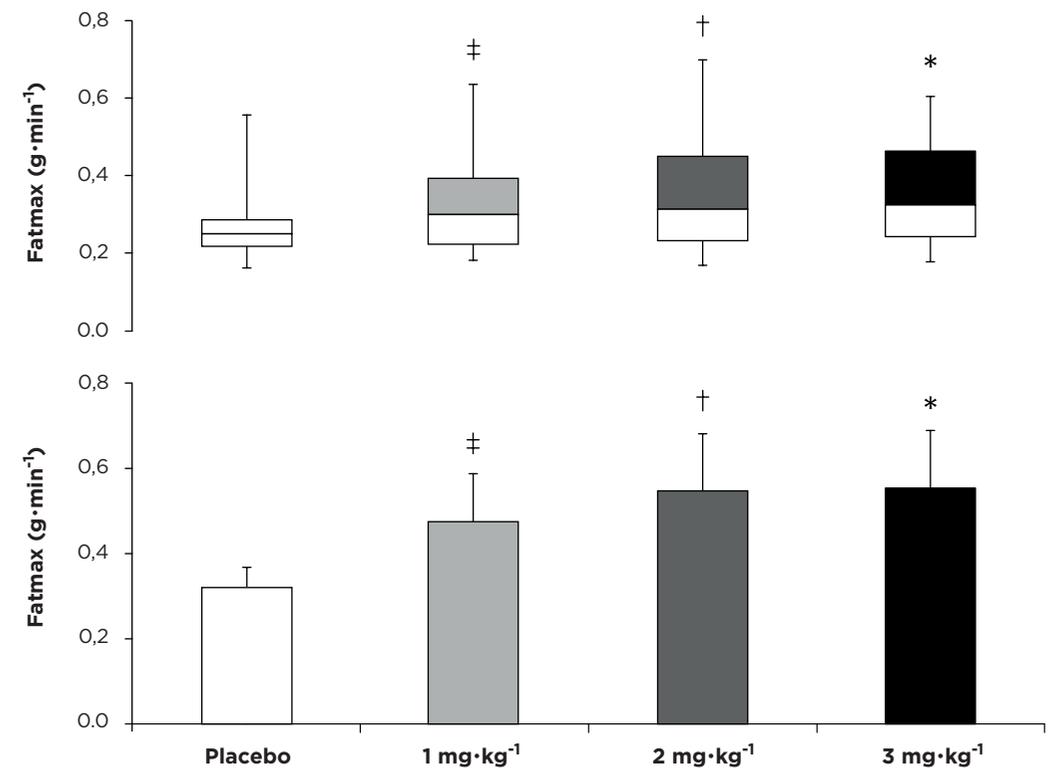


Figura 14. Diagrama de cajas y bigotes (gráfico superior), y media \pm SD (gráfico inferior) para las tasas máximas de oxidación de grasa alcanzadas durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 1, 2 y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ de *p*-sinefrina o placebo.

(‡) Diferencias entre placebo y 1 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$). (†) Diferencias entre placebo y 2 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$). (*) Diferencias entre placebo y 3 $mg \cdot kg^{-1}$ ($P < 0,05$).

Los participantes no percibieron que ninguna de las dosis de PS cambiaba sus percepciones de potencia, resistencia y esfuerzo durante el ejercicio (Tabla 8). Además, ninguna de las dosis de PS aumentó la prevalencia de dolor de cabeza, molestias gastrointestinales, dolor muscular, nivel de activación, ansiedad o insomnio durante las 24 horas siguientes a las pruebas (Tabla 8).

Tabla 8. Clasificación de la aptitud percibida después de una prueba incremental hasta la fatiga volitiva y la prevalencia de efectos secundarios durante las 24 horas siguientes a la prueba con una ingesta de 1, 2 y 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina o placebo (control).

Variables (unidades)	Placebo	1 mg·kg ⁻¹	2 mg·kg ⁻¹	3 mg·kg ⁻¹	P valor
Potencia (UA)	6,3 ± 1,7	6,4 ± 1,3	6,4 ± 1,7	6,5 ± 1,7	0,42
Resistencia (UA)	6,4 ± 1,8	6,7 ± 1,7	6,4 ± 1,9	6,5 ± 1,9	0,55
Esfuerzo (UA)	5,6 ± 1,8	5,4 ± 1,7	5,6 ± 2,2	6,3 ± 1,6	0,34
Dolor de cabeza (%)	21,4	14,3	0	15,4	0,69
Malestar abdominal/intestinal (%)	7,1	21,4	0	15,4	0,54
Dolor muscular (%)	21	7,1	15,4	23,1	1,00
Nivel de activación (%)	14,3	14,3	30,8	38,5	0,47
Insomnio (%)	14,3	7,1	0	15,4	0,61
Aumento de la ansiedad (%)	0	0	0	0	0,73

Las calificaciones de la aptitud percibida (potencia, resistencia y esfuerzo) después de la prueba se obtuvieron mediante una escala del 1-10 para evaluar cada elemento.

5.4 ESTUDIO 4

EFFECTOS DE LA COMBINACIÓN DE *p*-SINEFRINA Y CAFEÍNA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS Y CARBOHIDRATOS DURANTE EL EJERCICIO

5.4.1. Objetivos del estudio

Determinar los efectos de la combinación de 3 mg·kg⁻¹ de PS y 3 mg·kg⁻¹ de cafeína en el ritmo de oxidación de grasas y CHO en reposo y durante el ejercicio de intensidad incremental.

5.4.2. Material y métodos

Aspectos éticos

Antes de participar en la investigación, todos los participantes fueron informados sobre los riesgos y los beneficios derivados de su participación en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado para poder participar voluntariamente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Camilo José Cela, de acuerdo con la versión más reciente de la Declaración de Helsinki y los derechos de los participantes fueron protegidos durante todo el experimento.

Participantes

Trece participantes jóvenes, sanos y deportistas participaron voluntariamente en esta investigación (edad = 25,0 ± 7,0 años, masa corporal = 67,7 ± 11,9 kg, altura = 176 ± 8 cm, índice de masa corporal = 21,5 ± 2,7 kg·m⁻², grasa corporal = 13,8% ± 5,11%, VO_{2max} = 50,8 ± 5,0 mL·kg⁻¹·min⁻¹). La muestra del estudio incluyó dos mujeres que siempre fueron evaluadas en su fase lútea.

Todos los participantes fueron clasificados como consumidores bajos de cafeína (<50 mg·d⁻¹) utilizando un cuestionario de frecuencia de alimentos para evaluar el hábito de ingesta de cafeína (Goncalves et al., 2017). Los sujetos fueron alentados

a evitar medicamentos, suplementos nutricionales y estimulantes simpáticos durante la duración del estudio, y el cumplimiento fue examinado con cuestionarios dietéticos. Una semana antes del inicio de la investigación, los sujetos fueron informados de los procedimientos experimentales y los riesgos asociados de la investigación.

Diseño experimental

En esta investigación se utilizó un diseño experimental doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC. Cada participante completó 4 ensayos idénticos separados 3 días entre sí para permitir la recuperación completa y la eliminación de la PS. En un orden aleatorio, los participantes ingirieron una cápsula 60 minutos antes del inicio de la prueba que contenía 3 mg·kg⁻¹ de PLAC (100% de pureza, celulosa, Guinama, España), 3 mg·kg⁻¹ de cafeína (100% de pureza, Bulk Powders, Reino Unido), 3 mg·kg⁻¹ de PS (99% de pureza; *Synephrine HCL*, Nutrition Power, España), o una combinación de las mismas dosis de PS y cafeína. El uso de 3 mg·kg⁻¹ tanto de cafeína como de PS se basó en publicaciones anteriores, que han encontrado que estas dosis son efectivas para producir efectos físicos (p. ej., aumento del rendimiento de la capacidad física o aumento de la oxidación de grasas durante el ejercicio) con una baja prevalencia de efectos secundarios (Del Coso, Salinero, et al., 2012; Gutierrez-Hellin y Del Coso, 2018).

Protocolo experimental

Veinticuatro horas antes de cada prueba experimental, los participantes se abstuvieron de realizar ejercicio extenuante y adoptaron una dieta y régimen de ingesta de líquidos similares. Los sujetos también debían abstenerse de consumir alcohol, cafeína y alimentos que contenían CA (por ejemplo, naranja amarga, naranja dulce y mandarina) durante 24 horas antes de cada prueba. Para estandarizar estas rutinas, a los sujetos se les solicitó completar un registro dietético de 24 horas en el día antes del primer ensayo y seguir el mismo patrón dietético antes de las visitas posteriores. Los participantes llegaron al laboratorio (11:00 a.m.) al menos 4 h después de su última comida. Las comidas pre ejercicio fueron analizadas con un software nutricional (PCN, Cesnid, España), y los rangos de las proporciones de los macronutrientes fueron los siguientes: CHO = 53% - 62%, proteína = 7% - 19% y grasa = 25% - 39%. A su llegada al laboratorio se les dio una cápsula opaca proporcionada en una bolsa no identificable con el compuesto experimental asignado. La cápsula fue ingerida con 150 mL de agua del grifo. Los participantes tenían que venir vestidos con ropa de deporte; y se les puso una cinta de FC (*Wearlink*, Polar, Finlandia). Durante 60 minutos los sujetos descansaron en una posición de decúbito supino para permitir la absorción. La FC en reposo y PA sistólica (*M6 Comfort*, *Omron*, Japón; por triplicado) se midieron durante los últimos 5 minutos del período de descanso. Se usó un promedio de las tres medidas de PA para el posterior análisis.

Después de las mediciones en reposo, los participantes realizaron un calentamiento estandarizado de 10 minutos a una carga de trabajo equivalente al 30% del VO_{2max} en el cicloergómetro. Posteriormente, la intensidad del ejercicio se incrementó en un 10% de VO_{2max} cada 3 minutos hasta que completaran la carga de trabajo equivalente al 90% de VO_{2max} (Figura 15). Durante esta prueba de intensidad incremental, los datos de intercambio de gases (analyzer de gases con el sistema de respiración por respiración; *Metalyzer 3B*, *Cortex*, Alemania) se recopilaron continuamente y se usaron para calcular VO₂ y VCO₂. Se utilizaron los datos del último minuto de cada estadio para el análisis posterior. Todos los datos fueron promediados cada 15 s para lograr valores representativos para cada nivel de intensidad. Para la calibración del analyzer de gases se emplearon gases certificados (16,0% de O₂, 5,0% de CO₂, *Cor-*



Figura 15. En la imagen se muestra a uno de los sujetos durante las pruebas experimentales en el test de intensidad incremental durante la investigación.

tex, Alemania) y una jeringuilla de 3 L para calibrar el caudalímetro antes de cada ensayo. Se replicó una cadencia elegida individualmente (entre 70 y 90 rpm para todos los participantes) en todos los días experimentales. El promedio de la temperatura ambiental durante todos los ensayos experimentales fue de $20,8^{\circ}\text{C} \pm 0,6^{\circ}\text{C}$, mientras que la humedad relativa fue del $40\% \pm 12\%$.

Una vez finalizadas las pruebas físicas, se pidió a los atletas que rellenaran el mismo cuestionario que en las investigaciones 1ª y 3ª presentadas anteriormente acerca de sus sensaciones de potencia, resistencia, RPE y nerviosismo durante las pruebas.

Cálculos

Las tasas de gasto energético y la oxidación del sustrato (grasa y CHO) se calcularon utilizando el cociente respiratorio no proteico (Brouwer, 1957; Frayn, 1983). Las fórmulas utilizadas fueron las mismas descritas para el Estudio 2 y 3. El MFO se calculó individualmente para cada participante como el valor más alto del ritmo de oxidación de grasa obtenida durante la prueba de intensidad incremental. También se determinó a la intensidad en la que se conseguía (Fatmax).

Análisis estadístico

Los resultados de cada prueba fueron incluidos en el paquete estadístico SPSS versión 20.0 y analizados posteriormente. La normalidad de cada variable cuantitativa se analizó inicialmente con la prueba de Shapiro-Wilk. Todas las variables cuantitativas incluidas en esta investigación presentaron una distribución normal y la estadística paramétrica se usó para determinar las diferencias entre los ensayos experimentales. Se empleó un ANOVA de una vía para comparar la FC y la presión sanguínea en reposo. Un ANOVA de dos vías (tratamiento x carga de trabajo) se usó para comparar el gasto de energía, tasas de oxidación de grasas y de CHO y FC durante el ejercicio. En el caso de una prueba F significativa (corrección Geisser-Greenhouse para la asunción de la esfericidad), se realizó la comparación entre pares con la corrección de Bonferroni para identificar las diferencias entre los ensayos. Los niveles de significancia se establecieron en $P < 0,05$. Los datos se presentaron como media \pm SD.

5.4.3. Resultados

Ninguno de los participantes adivinó correctamente el orden de los ensayos (31%, 31%, 31% y 23% para la ingesta de PLAC, PS, cafeína, y PS + cafeína, respectivamente), lo que indicó el correcto uso del diseño ciego. En comparación con el PLAC,

la ingesta de PS no modificó las variables cardiovasculares en reposo (Tabla 9). Sin embargo, la ingesta de cafeína aumentó la PA sistólica, diastólica y el promedio de la PA sanguínea. La combinación de PS y cafeína aumentó todas las variables cardiovasculares medidas en reposo ($P < 0,05$).

Durante el ejercicio, tras la ingesta de PLAC, la FC aumentó progresivamente con la intensidad del ejercicio ($P < 0,05$). Sin embargo, la ingesta de PS, cafeína, y PS + cafeína no modificó la FC en ninguna carga de trabajo cuando se comparó con el PLAC. Lo mismo ocurrió con la tasa de gasto de energía, que aumentó progresivamente con la carga de trabajo ($P < 0,05$, Figura 16, gráfico superior). Además, la ingesta de PS, cafeína, y PS + cafeína tampoco modificó la tasa de gasto de energía en ninguna de las cargas de trabajo. La oxidación de CHO aumentó con la carga de trabajo ($P < 0,05$, Figura 16, gráfico central). La oxidación de CHO y su relación con la carga de trabajo siguió un patrón similar para la ingesta de PS, cafeína, y PS + cafeína. Sin embargo, el ritmo de oxidación de CHO en el ensayo de PLAC fue más alto en comparación con la PS para la carga de trabajo de 60% de $\text{VO}_{2\text{max}}$ ($P = 0,05$) y comparado con la cafeína en el 70% de $\text{VO}_{2\text{max}}$ ($P < 0,05$). Con el PLAC, la oxidación de grasa aumentó en las cargas del 30% al 40% de $\text{VO}_{2\text{max}}$, y posteriormente descendió según iba aumentando la intensidad del ejercicio, presentando una curva invertida en forma de U entre la cantidad de grasas oxidadas y la intensidad de ejercicio ($P < 0,05$, Figura 16, gráfico inferior). En comparación con el PLAC, la ingesta de PS incrementó el ritmo de oxidación de grasa en el 40% de $\text{VO}_{2\text{max}}$ ($P < 0,05$). La ingesta de cafeína aumentó el ritmo de oxidación de grasa en las cargas del 30%, 40%, 50%, 60% y 70% de $\text{VO}_{2\text{max}}$ ($P < 0,05$). La combinación de PS y cafeína también aumentó las tasas de oxidación de grasas en el 40% y 70% de $\text{VO}_{2\text{max}}$ ($P < 0,05$), aunque el efecto de la combinación de estas sustancias no fue mayor que con la ingesta aislada de la PS o cafeína.

La Figura 17 representa las respuestas individuales promediadas \pm SD (gráfico inferior) junto con un diagrama de cajas (los bigotes de las cajas representan el valor mínimo y máximo para todo el grupo al no existir casos atípicos ni extremos) para MFO obtenido durante el ejercicio de intensidad incremental. El MFO fue $0,30 \pm 0,12 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ obtenido a $44,4\% \pm 8,8\%$ de $\text{VO}_{2\text{max}}$ tras la ingesta de PLAC. La PS aumentó el MFO en un $45,5\% \pm 29,5\%$ llegando a registrar unos valores de $0,43 \pm 0,19 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ ($P < 0,05$), obteniéndose a un porcentaje similar de $\text{VO}_{2\text{max}}$ ($46,3\% \pm 13,0\%$ de $\text{VO}_{2\text{max}}$). La ingesta de cafeína aumentó el MFO en $48,5\% \pm 18,5\%$ ($0,44 \pm 0,15 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$; $P < 0,05$) sin afectar la intensidad a lo que se obtuvo ($47,0\% \pm 10,6\%$ de $\text{VO}_{2\text{max}}$). Finalmente, la combinación de PS + cafeína aumentó el MFO en $52,3\% \pm 17,2\%$ ($0,45 \pm 0,15 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$; $P < 0,05$) sin cambiar la intensidad del ejercicio a la que se consiguió ($47,0\% \pm 8,2\%$ de $\text{VO}_{2\text{max}}$).

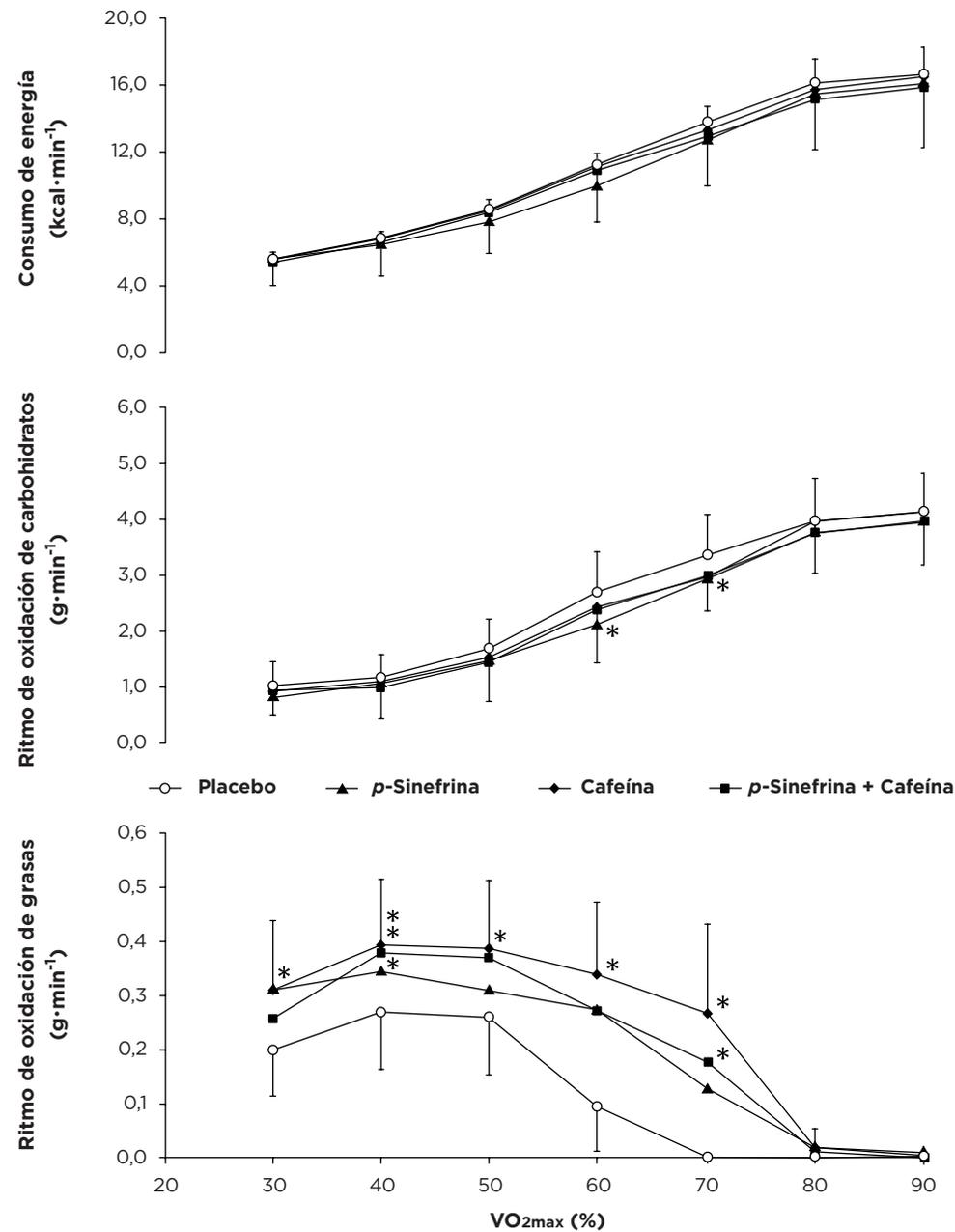


Figura 16. Gasto energético (gráfico superior), el ritmo de oxidación de carbohidratos (gráfico central) y ritmo de oxidación de grasas (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina, $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína, la combinación de ambas sustancias o placebo. Los datos son el promedio \pm SD para 13 participantes (solo se presenta SD para placebo y cafeína para mayor claridad).

(*) Diferencias respecto al placebo en $P < 0,05$.

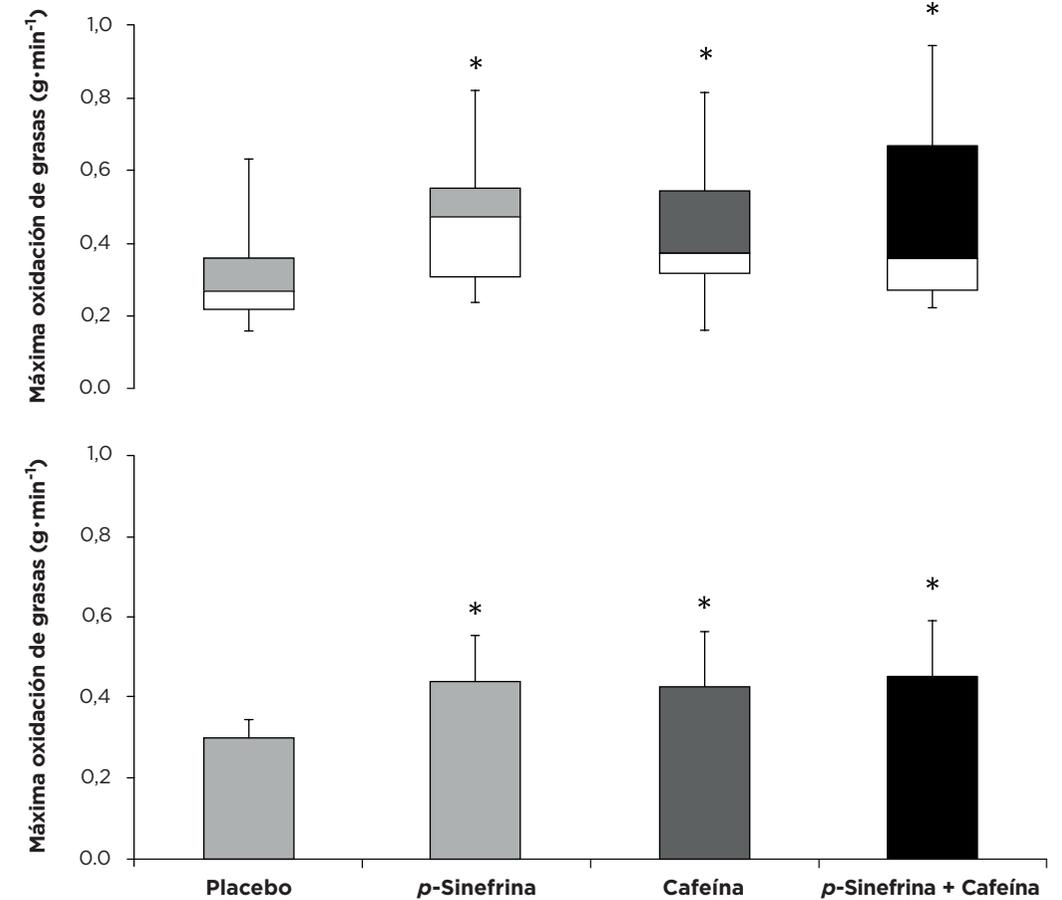


Figura 17. Diagrama de cajas (gráfico superior) y tasas máximas de oxidación de grasa (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina, $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína, la combinación de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de ambas sustancias o placebo. Los datos en el gráfico inferior incluyen el promedio \pm SD para los 13 participantes.

(*) Diferencias respecto al placebo en $P < 0,05$.

La ingesta de PS no modificó la calificación de la percepción respecto a la potencia muscular, resistencia o esfuerzo durante el ejercicio en comparación con la ingesta de PLAC (Tabla 10). Por el contrario, la ingesta de cafeína aumentó las puntuaciones de potencia muscular y resistencia percibidas, pero redujo la RPE en comparación con el PLAC (todos $P < 0,05$). La combinación de PS + cafeína solo aumentó la sensación de potencia muscular durante el ejercicio con respecto a la ingesta del PLAC ($P < 0,05$). Respecto al malestar abdominal en las horas posteriores al ejercicio, se registraron calificaciones bajas y no se modificó con la ingesta de los tratamientos de PS y cafeína.

Tabla 9. Variables cardiovasculares en reposo una hora después de ingerir 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina, 3 mg·kg⁻¹ de cafeína, la combinación de ambas o placebo. Los datos se presentan como promedio ± SD para 13 participantes.

Valores en reposo	Placebo	<i>p</i> -Sinefrina	Cafeína	<i>p</i> -Sinefrina + cafeína
Frecuencia cardíaca (latidos·min ⁻¹)	52 ± 7	52 ± 7	53 ± 8	55 ± 6 ^{††}
Presión sistólica (mmHg)	114 ±	113 ± 10	121 ± 10 ^{††}	121 ± 10 ^{††}
Presión diastólica (mmHg)	66 ± 6	66 ± 8	70 ± 7 ^{††}	72 ± 9 ^{††}
Promedio de la presión arterial (mmHg)	82 ± 7	82 ± 9	87 ± 8 ^{††}	88 ± 9 ^{††}

(*) Diferencias respecto al placebo en $P < 0,05$.

(†) Diferencias respecto a la *p*-sinefrina en $P < 0,05$.

Tabla 10. Clasificación de la aptitud percibida después de una prueba incremental hasta la fatiga voluntaria y la prevalencia de efectos secundarios durante las 24 horas siguientes a la prueba con una ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina, 3 mg·kg⁻¹ de cafeína, combinación de ambas sustancias o placebo. Los datos se presentan como el promedio ± SD o frecuencias para 13 participantes.

Variables (unidades)	Placebo	<i>p</i> -Sinefrina	Cafeína	<i>p</i> -Sinefrina + cafeína
Potencia (UA)	6,3 ± 1,7	6,5 ± 1,7	7,5 ± 1,6*	7,3 ± 1,6*
Resistencia (UA)	6,4 ± 1,8	6,5 ± 1,9	7,9 ± 1,1*	7,1 ± 1,8
Esfuerzo (UA)	5,6 ± 1,8	6,3 ± 1,6	4,6 ± 1,8 ^{††}	5,2 ± 1,9
Dolor de cabeza (%)	21,4	15,4	7,1	0
Malestar abdominal/intestinal (%)	7,1	15,4	0	7,1
Dolor muscular (%)	21,4	21,4	7,1	0
Nivel de activación (%)	14,3	35,8	35,8	28,6
Insomnio (%)	14,3	14,3	14,3	7,1
Aumento de la ansiedad (%)	0	0	0	0

Las calificaciones de la aptitud percibida después de la prueba se obtuvieron mediante una escala del 1-10 para evaluar cada elemento. La presencia de efectos secundarios se midió con una pregunta dicotómica (sí/no).

(*) Diferencias respecto al placebo en $P < 0,05$.

(†) Diferencias respecto a la *p*-sinefrina en $P < 0,05$.

5.5 ESTUDIO 5

EFFECTOS DE LA INGESTA DE *p*-SINEFRINA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS Y CARBOHIDRATOS DURANTE UN EJERCICIO DE INTENSIDAD INCREMENTAL EN CICLISTAS DE ÉLITE

5.5.1. Objetivos del estudio

Determinar los efectos agudos de la ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de PS en el ritmo de oxidación de grasas y CHO durante el ejercicio de intensidad incremental en ciclistas de élite.

5.5.2. Material y métodos

Aspectos éticos

Antes de participar en la investigación, todos los participantes fueron informados sobre los riesgos y los beneficios derivados de su participación en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado para poder participar voluntariamente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Camilo José Cela, de acuerdo con la versión más reciente de la Declaración de Helsinki y los derechos de los participantes fueron protegidos durante todo el experimento.

Participantes

Quince participantes jóvenes, sanos y altamente entrenados (Figura 18) participaron voluntariamente en esta investigación. Los sujetos fueron ciclistas de élite de un equipo español de ciclismo (Tabla 11) (edad = 21 ± 1,5 años, masa corporal = 69,6 ± 6,1 kg, altura = 1,78 ± 0,05 m, índice de masa corporal = 21,9 ± 1,6 kg·m⁻²). Los sujetos fueron considerados de élite debido a que todos entrenaban ~240 minutos de ejercicio por día durante al menos 6 días por semana, competían a nivel profesional continental

y estaban registrados en la *Unión Ciclista Internacional Europe Tour Ranking*. Todos los participantes eran no fumadores, no tenían antecedentes de enfermedades cardiopulmonares y no habían sufrido lesiones musculoesqueléticas en los últimos 6 meses. Se alentó a los participantes a evitar medicamentos, suplementos nutricionales, estimulantes simpáticos durante la duración del estudio y se examinó el cumplimiento con cuestionarios dietéticos. Una semana antes del inicio de la investigación, los participantes fueron informados de los procedimientos experimentales, los riesgos y posibles problemas asociadas con el protocolo de investigación.



Figura 18. Sujetos de la investigación. Ciclistas de élite de un equipo español.

Diseño experimental

En esta investigación se utilizó un diseño experimental doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC. Cada participante completó 2 pruebas idénticas separadas 48 horas para permitir la recuperación completa y la eliminación de la PS. Los participantes ingirieron 3 mg de PS sintética por kg de masa corporal (99% de pureza, Synephrine HCL, *Nutrition Power*, España) o PLAC (celulosa). Las sustancias

se administraron en una cápsula opaca e inidentificable y se ingirieron con 150 mL de agua del grifo 60 minutos antes del comienzo de los ensayos experimentales. Para evitar la identificación de la sustancia investigada en cada ensayo, la cápsula siempre se rellenó con la misma cantidad de tal modo que el peso de la cápsula siempre fue el mismo para cada individuo. Cada sujeto fue asignado independiente con un código alfanumérico. La temperatura ambiental y la humedad se registraron usando un monitor digital de temperatura y humedad (OH1001, OH Haus, España), y las condiciones ambientales promedio durante la prueba fueron de $21,3 \pm 0,7$ °C y $43 \pm 4\%$ de humedad relativa. La asignación del orden de los ensayos fue realizada por un investigador independiente para realizar el doble ciego de participantes e investigadores.

Tabla 11. Edad, características morfológicas e información relevante de los participantes de la investigación.

Variables (unidades)	Media \pm SD
N	15
Hombre/Mujer	15 / 0
Edad (años)	21,0 \pm 1,5
Masa corporal (kg)	69,6 \pm 6,1
Altura (m)	1,78 \pm 0,06
Masa grasa (%)	10,1 \pm 2,1
VO ₂ max (mL·kg·min ⁻¹)	77,0 \pm 7,0
VO ₂ max (L·min ⁻¹)	5,3 \pm 0,5
Vatios máximos (W)	458 \pm 30

Protocolo experimental

Después de las mediciones en reposo, se midió el grosor de los pliegues. Estas lecturas se realizaron en cuatro puntos anatómicos en todos los sujetos, en el bíceps, tríceps, subescapular y suprailíaco. Estos se realizaron en el lado derecho del cuerpo con el sujeto en posición anatómica. El instrumento utilizado fue el calibrador Harpenden (Holtain Ltd, Bryberian, Crymmych, Pembrokeshire) (Durnin y Womersley, 1974). Los lugares seleccionados fueron los siguientes. (1) Bíceps: sobre el punto medio muscular con el brazo descansando en posición supina apoyado sobre el muslo del sujeto. (2) Tríceps: se midió sobre el punto medio del vientre muscular, a mitad de camino entre el olécranon y la punta del acromion, con la parte superior del brazo colgando verticalmente (3) Subescapular: justo debajo de la punta del ángulo inferior de la escápula, en un ángulo de aproximadamente 45° con respecto a la vertical. (4) Suprailíaco: justo encima de la cresta ilíaca en la línea axilar media. En estos cuatro

puntos anatómicos, el pliegue cutáneo fue apretado firmemente entre el pulgar y el índice y se separó ligeramente de los tejidos subyacentes antes de aplicar los calibradores (plícómetro) para la medición (Durnin y Rahaman, 2003).

Después de estas medidas, los participantes realizaron un calentamiento estandarizado que incluyó 10 minutos a 150 W en un cicloergómetro (SNT Medical, *Cardgirus*, España) y completaron una prueba de ejercicio de intensidad incremental en el cicloergómetro formada por estadios de 25 W cada minuto hasta llegar a la fatiga volitiva (la carga de trabajo inicial se fijó en 150 W, Figura 19). El intercambio gaseoso fue recolectado con un dispositivo estacionario de calorimetría indirecta (*MetaLyzer 3B*, *Cortex*, Alemania) para calcular la absorción de oxígeno (VO_2) y la producción de dióxido de carbono (VCO_2) durante el ejercicio. Durante la prueba de intensidad de ejercicio incremental, el $\text{VO}_{2\text{max}}$ se definió como el valor más alto de VO_2 . El $\text{VO}_{2\text{max}}$ se consideró válido cuando se consiguieron alcanzar los siguientes criterios al final de la prueba: estabilización de VO_2 a pesar de aumentos en la potencia del ergómetro, la relación de intercambio respiratorio fue mayor a 1,10, la calificación de esfuerzo percibido del participante (6 a 20 puntos escala de Borg) fue mayor de 19 puntos, y su FC fue superior al 80% de la estimación ajustada por edad de la FC_{max} (Edvardsen, Hem y Anderssen, 2014). La misma prueba con cargas de trabajo y tiempos idénticos se utilizó para los dos ensayos experimentales. Durante los ensayos de cada etapa, los datos de intercambio de gases se promediaron cada 15 segundos para lograr un valor representativo. Todos los datos se organizaron de acuerdo con el 100% de la potencia de salida atendiendo a los vatios máximos obtenidos (W_{max}). Se usaron gases de calibración certificados (16,0% de O_2 , 5,0% de CO_2 , *Cortex*, Alemania) y una jeringa de 3 L para calibrar el analizador de gases y el medidor de flujo antes de cada prueba.

Cálculos

Las tasas de gasto energético y la oxidación del sustrato (grasa y CHO) se calcularon utilizando el cociente respiratorio no proteico (Brouwer, 1957; Frayn, 1983). Las fórmulas utilizadas fueron las mismas descritas para el Estudio 2, 3 y 4. El MFO se calculó individualmente para cada participante como el valor registrado más alto del ritmo de oxidación de grasa obtenida durante la prueba de intensidad incremental. También se determinó a la intensidad en la que se conseguía (Fatmax).

Análisis estadístico

Los resultados de cada prueba se introdujeron en el paquete estadístico SPSS v 20.0 para ser analizados. La normalidad de cada variable cuantitativa se probó ini-

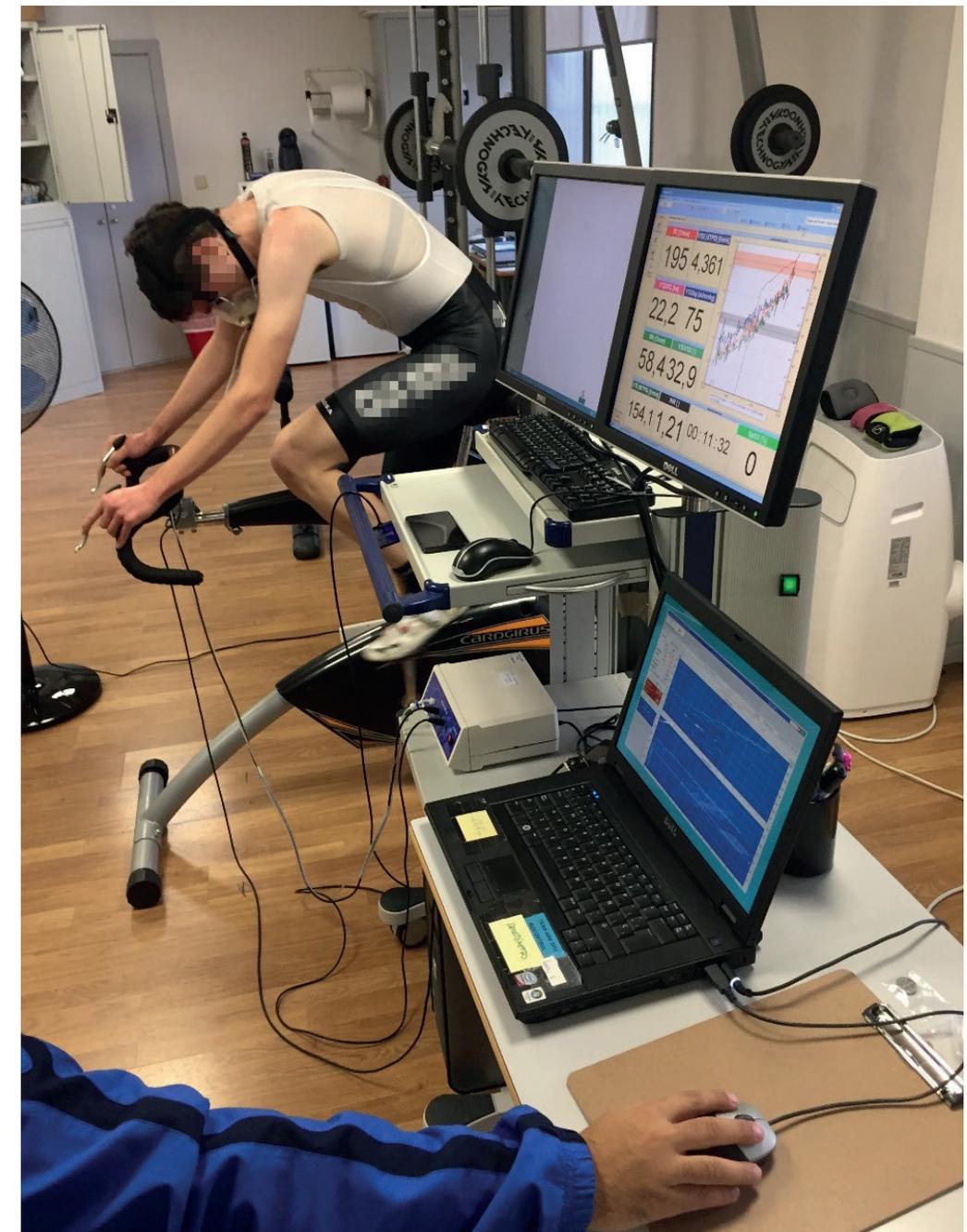


Figura 19. Sujeto de la investigación realizando el test de intensidad incremental en el cicloergómetro durante la realización de las pruebas experimentales.

cialmente con la prueba de Shapiro-Wilk. Todas las variables cuantitativas incluidas en esta investigación presentaron una distribución normal ($P > 0,05$) y se usaron estadísticas paramétricas para determinar las diferencias entre PS y PLAC. Se utilizó una prueba t para muestras relacionadas para comparar el gasto de energía, la oxidación de grasas, la oxidación de CHO, la FC y la PA en reposo, entre el PLAC y la PS. Se utilizó un ANOVA de dos vías (tratamiento \times carga) para comparar estas variables durante el ejercicio. Después de una prueba F significativa (corrección de Geisser-Greenhouse para la asunción de la esfericidad), las diferencias entre las medias se identificaron aplicando comparaciones por pares con la corrección de Bonferroni. El nivel de significancia se estableció en $P < 0,05$. Todos los datos se presentan como los promedios \pm desviación estándar.

5.5.3. Resultados

En comparación con el PLAC, la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS no modificó ninguna de las variables medidas en reposo. Ni la FC (PS $48,6 \pm 8$ vs. PLAC $4,2 \pm 9$ latidos $\cdot\text{min}^{-1}$; $P > 0,05$) ni la PA sistólica (PS 121 ± 10 vs. 122 ± 8 mmHg; $P > 0,05$) ni la PA diastólica (PS 73 ± 8 vs. 72 ± 3 mmHg; $P > 0,05$).

El gasto energético aumentó progresivamente con la carga de trabajo, de $10,7 \pm 0,8 \text{ kcal}\cdot\text{min}^{-1}$ al 25% W_{max} de los ciclistas a $27,4 \pm 2,3 \text{ kcal}\cdot\text{min}^{-1}$ a 90% W_{max} ($P < 0,05$) para PLAC y $10,5 \pm 1 \text{ kcal}\cdot\text{min}^{-1}$ al 25% W_{max} a $27,6 \pm 2,9 \text{ kcal}\cdot\text{min}^{-1}$ al 90% W_{max} ($P < 0,05$) para la PS. La tasa de gasto de energía imitó la respuesta encontrada con el PLAC y no se encontraron diferencias estadísticas en ninguna carga de trabajo ($P > 0,05$, Figura 20). De forma similar, la FC aumentó de $113 \pm 8,8$ latidos $\cdot\text{min}^{-1}$ al 25% W_{max} a 191 ± 8 latidos $\cdot\text{min}^{-1}$ al 90% W_{max} ($P < 0,05$, Figura 20) mientras que para la PS no produjo ningún cambio estadístico durante el test de intensidad incremental ($P > 0,05$). Sin embargo, la ingesta de PS aumentó el ritmo de oxidación de grasa con respecto al PLAC durante el ejercicio, ya que la curva de oxidación de grasa e intensidad del ejercicio, se desplazó hacia arriba durante el protocolo de ejercicio incremental (Figura 20). Específicamente, la PS ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) aumentó la oxidación de grasa con respecto al PLAC a 45, 50, 60, 80 y 85% de W_{max} ($P < 0,05$, Figura 20 gráfico inferior). La PS redujo el ritmo de oxidación de CHO durante el ejercicio. Este efecto mostró diferencias significativas en las intensidades al 45 y 60% de W_{max} ($P > 0,05$, Figura 21, gráfico superior). La tasa más alta de oxidación de grasas (MFO) con PLAC ($0,91 \pm 0,24 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$, Figura 21) se alcanzó al $50 \pm 10\%$ de W_{max} . La ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ aumentó el MFO a $1,01 \pm 0,2 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ ($P = 0,06$) pero no cambió la intensidad a la que se obtuvo (Fatmax) ($49 \pm 8\%$ de W_{max}). Por otro lado, la PS no mostró un efecto ergogénico en la potencia máxima generada durante el test de intensidad incremental ($458,06 \pm 30,08 \text{ W PS vs. } 457,25 \pm 29,19 \text{ W PLAC}$; $P > 0,05$).

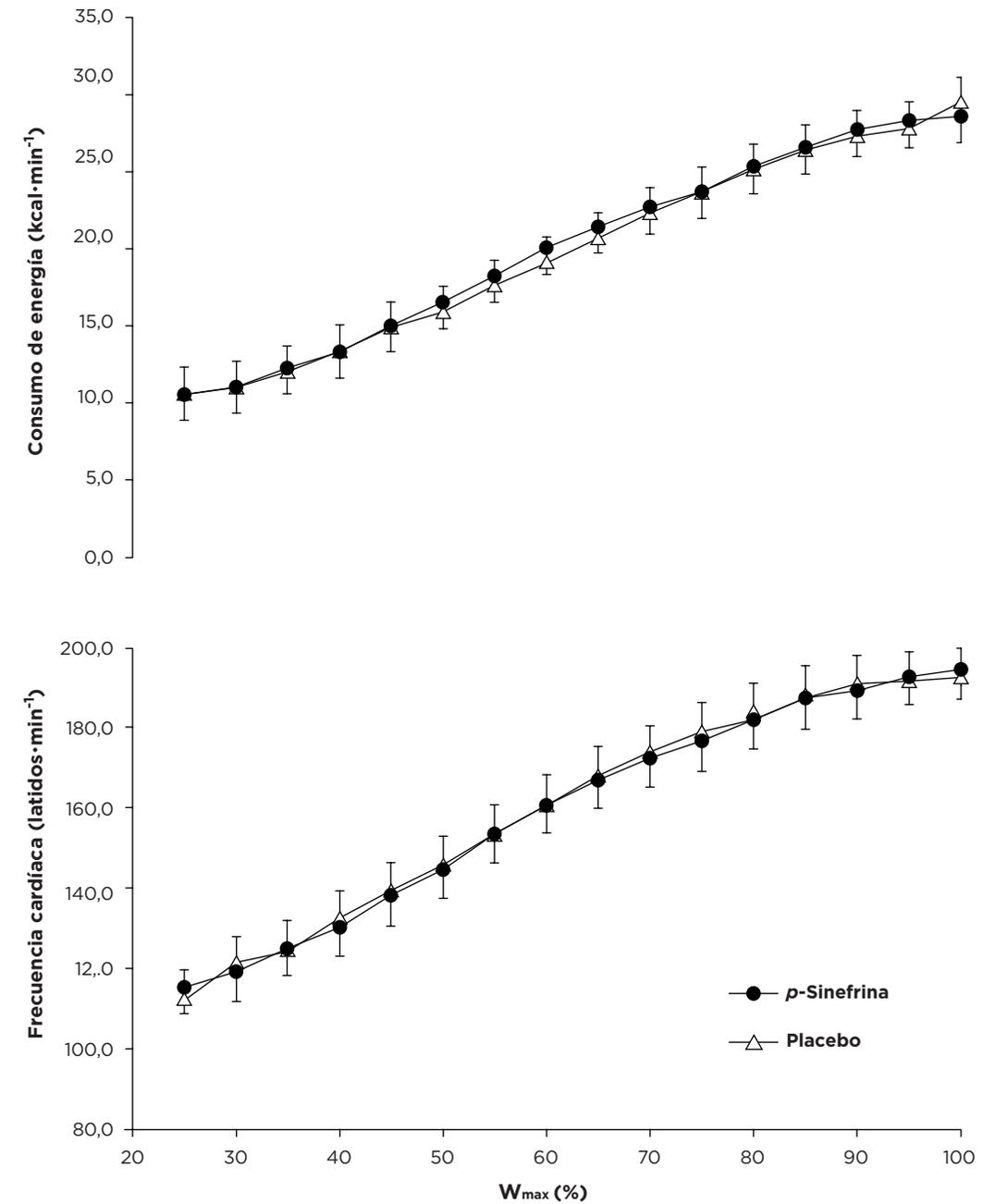


Figura 20. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de p-sinefrina o placebo. Los datos se presentan como promedio \pm SD para los 15 participantes.

(*) Diferencias significativas entre placebo y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de p-sinefrina ($P < 0,05$).

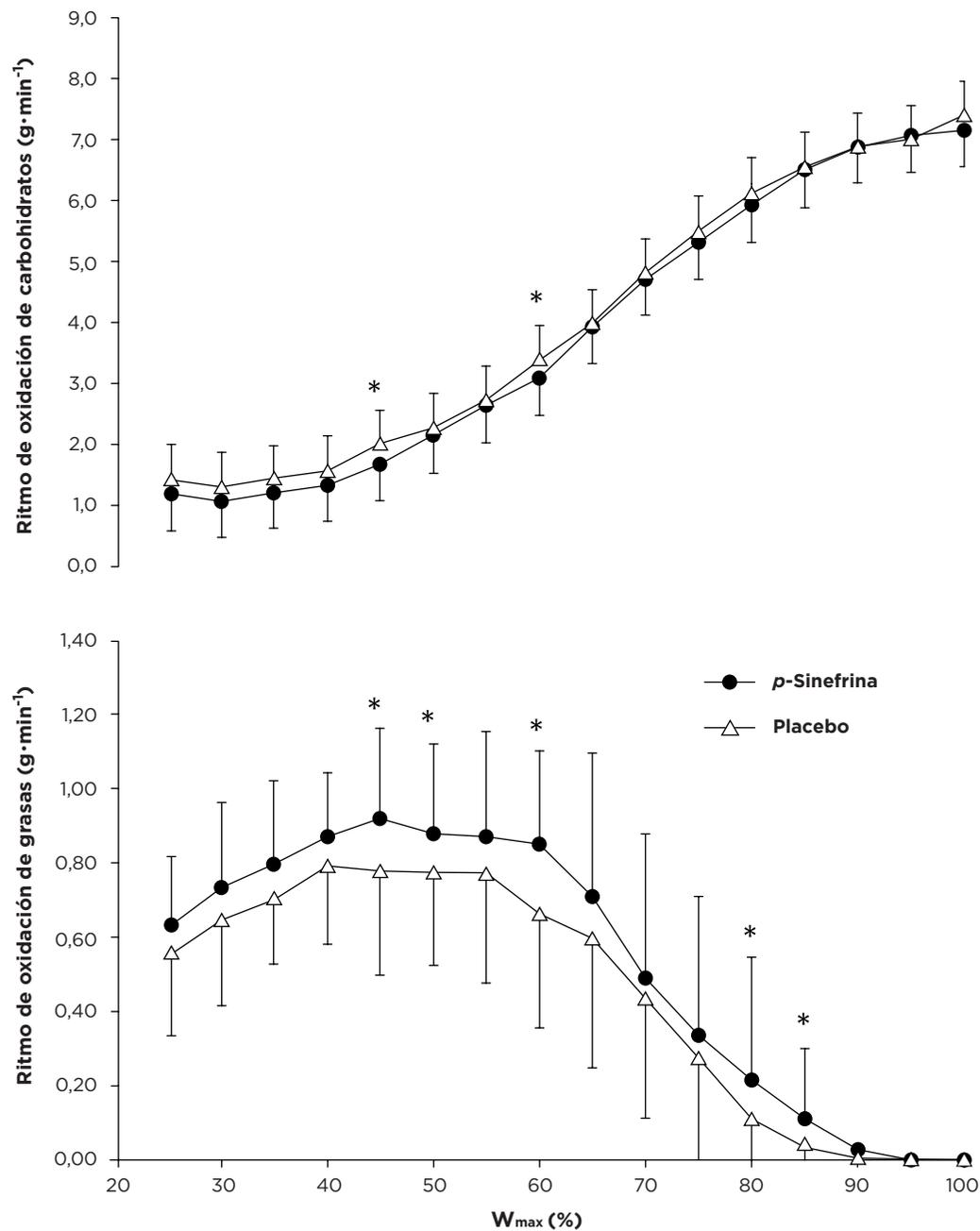


Figura 21. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad incremental una hora después de la ingesta de 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina o placebo. Los datos se presentan como promedio ± SD para los 15 participantes.

(*) Diferencias significativas entre placebo y 3 mg·kg⁻¹ de *p*-sinefrina ($P < 0,05$).

5.6 ESTUDIO 6

EFFECTOS DE LA INGESTA AGUDA DE *p*-SINEFRINA SOBRE EL RITMO DE OXIDACIÓN DE GRASAS DURANTE 60 MINUTOS DE EJERCICIO

5.6.1. Objetivos del estudio

Analizar el efecto de la ingesta aguda de 3 mg·kg⁻¹ de PS sobre el ritmo de oxidación de grasas durante 60 minutos de ejercicio al Fatmax en cicloergómetro.

5.6.2. Material y métodos

Aspectos éticos

Antes de participar en la investigación, todos los participantes fueron informados sobre los riesgos y los beneficios derivados de su participación en el estudio y firmaron una hoja de consentimiento informado para poder participar voluntariamente. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Camilo José Cela, de acuerdo con la versión más reciente de la Declaración de Helsinki y los derechos de los participantes fueron protegidos durante todo el experimento.

Participantes

Trece participantes jóvenes, sanos y deportistas participaron voluntariamente en esta investigación (edad = 31 ± 7 años, masa corporal = 71,0 ± 5,8 kg, altura = 1,76 ± 0,04 m, índice de masa corporal = 22,7 ± 1,8 kg·m⁻²). Todos los participantes eran no fumadores, no tenían antecedentes de enfermedades cardiopulmonares y no habían sufrido lesiones musculo-esqueléticas en los últimos 6 meses. Se alentó a los participantes a evitar medicamentos, suplementos nutricionales, estimulantes simpáticos durante la duración del estudio y se examinó el cumplimiento con cuestionarios dietéticos. Una semana antes del inicio de la investigación, los participantes fueron informados de los procedimientos experimentales, los riesgos y posibles problemas asociadas con el protocolo de investigación.

Diseño experimental

En esta investigación se utilizó un diseño experimental doble ciego, aleatorizado y controlado con PLAC. Cada participante completó 2 pruebas idénticas separadas 48 horas para permitir la recuperación completa y la eliminación de la PS. Los participantes ingirieron 3 mg de PS sintética por kg de masa corporal (99% de pureza, *Synephrine HCL, Nutrition Power, España*) o PLAC (celulosa). Las sustancias se administraron en una cápsula opaca e inidentificable y se ingirieron con 150 mL de agua 60 minutos antes del comienzo de los ensayos experimentales. Para evitar la identificación de la sustancia investigada en cada ensayo, la cápsula siempre se rellenó con la misma cantidad de tal modo que el peso de la cápsula siempre fue el mismo para cada individuo. Cada sujeto fue asignado independiente con un código alfanumérico. La temperatura ambiental y la humedad se registraron usando un monitor digital de temperatura y humedad (OH1001, OH Haus, España), y las condiciones ambientales promedio durante la prueba fueron de $21,1 \pm 0,8$ °C y $40 \pm 5\%$ de humedad relativa. La asignación del orden de los ensayos fue realizada por un investigador independiente para realizar el doble ciego de participantes e investigadores.

Protocolo experimental

Los sujetos realizaron un test de intensidad incremental setenta y dos horas antes del comienzo de las pruebas experimentales. Este test se realizó para calcular la carga de trabajo a la que consumían la mayor cantidad de grasas (Fatmax). Esta prueba de ejercicio de intensidad incremental se realizó en el cicloergómetro y estuvo formada por estadios de 25 W cada 1 minuto hasta llegar a la fatiga volitiva (la carga de trabajo inicial se fijó en 50 W). Durante la prueba de intensidad de ejercicio incremental para determinar el Fatmax, el VO_{2max} se definió como el valor más alto de VO_2 . El VO_{2max} se consideró válido cuando se consiguieron alcanzar los siguientes criterios al final de la prueba: estabilización de VO_2 a pesar de aumentos en la potencia del ergómetro, la relación de intercambio respiratorio fue mayor a 1,10, la calificación de esfuerzo percibido del participante (6 a 20 puntos Escala de Borg) fue mayor de 19 puntos, y su FC fue superior al 80% de la estimación ajustada por edad de la FC_{max} (Edvardsen, Hem y Anderssen, 2014).

El día de las pruebas experimentales los sujetos acudieron al laboratorio a las 9:00 a.m. en ayunas. Tras 60 minutos de ingerir la cápsula opaca se midió la FC y PA en una situación de reposo. Después de estas medidas, los participantes realizaron un calentamiento estandarizado que incluyó 10 minutos al 70% de la carga de trabajo (Fatmax) en un cicloergómetro (*SNT Medical, Cardgirus, España*) y completaron 60 minutos de ejercicio de intensidad mantenida al Fatmax en el cicloergómetro. El intercambio gaseoso fue registrado durante el total del test de 60 minutos de peda-

leo y fue recolectado con un dispositivo estacionario de respiración por respiración (*MetaLyzer 3B, Cortex, Alemania*) para calcular la absorción de oxígeno (VO_2) y la producción de dióxido de carbono (VCO_2) durante el ejercicio. Durante los ensayos de cada etapa, los datos de intercambio de gases se promediaron cada 5 minutos para lograr un valor representativo. Se usaron gases de calibración certificados (16,0% de O_2 , 5,0% de CO_2 , *Cortex, Alemania*) y una jeringa de 3 L para calibrar el analizador de gases y el medidor de flujo antes de cada prueba.

Cálculos

Las tasas de gasto energético y la oxidación del sustrato (grasa y CHO) se calcularon utilizando el cociente respiratorio no proteico (Brouwer, 1957; Frayn, 1983). Las fórmulas utilizadas fueron las mismas descritas para el Estudio 2, 3, 4 y 5.

Análisis estadístico

Los datos se recogieron como se indicó previamente y los resultados de cada prueba se introdujeron ciegamente en el paquete estadístico SPSS v 20.0 para ser analizados. La normalidad de cada variable cuantitativa se probó inicialmente con la prueba de Shapiro-Wilk. Todas las variables cuantitativas incluidas en esta investigación presentaron una distribución normal ($P > 0,05$) y se usaron estadísticas paramétricas para determinar las diferencias entre PS y PLAC. Se utilizó una prueba t para muestras relacionadas para comparar el gasto de energía, la oxidación de grasas, la oxidación de CHO, la FC y la PA en reposo entre la situación de PS y la situación PLAC. Se utilizó un ANOVA de dos vías (tratamiento \times tiempo) para comparar estas variables durante el ejercicio. Después de una prueba F significativa (corrección de Geisser-Greenhouse para la asunción de la esfericidad), las diferencias entre las medias se identificaron mediante comparaciones por pares con la corrección de Bonferroni. El nivel de significancia se estableció en $P < 0,05$. Todos los datos se presentan como promedio \pm desviación estándar.

5.6.3. Resultados

En comparación con el PLAC, la ingesta de $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de PS no modificó ninguna de las variables medidas en reposo: FC (PS 51 ± 8 vs. PLAC 51 ± 7 latidos $\cdot \text{min}^{-1}$; $P > 0,05$) ni la PA sistólica (PS 116 ± 7 vs. 116 ± 9 mmHg; $P > 0,05$) ni la PA diastólica (PS 71 ± 14 vs. 68 ± 8 mmHg; $P > 0,05$).

El gasto energético se mantuvo constante durante la prueba (PLAC $11,45 \pm 0,23$ vs. PS $11,25 \pm 0,22$ kcal $\cdot \text{min}^{-1}$, Figura 22 gráfico superior). En comparación con el PLAC, la PS redujo el consumo energético en el promedio de los primeros 5 minutos de prueba (PS $10,76 \pm 2,39$ kcal $\cdot \text{min}^{-1}$ vs. PLAC $11,08 \pm 2,54$, Figura 22 gráfico superior)

durante el resto de la prueba la tasa de gasto de energía imitó la respuesta encontrada con el PLAC y no se encontraron diferencias estadísticas en ningún minuto de la prueba ($P > 0,05$).

La FC aumentó de 122 ± 9 latidos·min⁻¹ en el promedio de los primeros 5 minutos a 133 ± 13 latidos·min⁻¹ al promedio de los últimos 5 minutos de la prueba para PLAC (del minuto 1 al 60, $P = 0,03$) y de 120 ± 10 latidos·min⁻¹ a 131 ± 15 latidos·min⁻¹ para la PS ($P = 0,04$). La ingesta de PS no produjo ningún efecto en la FC a lo largo de la prueba en comparación con el PLAC ($P > 0,05$, Figura 22 gráfico inferior).

Atendiendo al promedio cada 5 minutos de la prueba, mostrado en la Figura 23 (Gráfico inferior) se observa una tendencia significativa con un incremento del ritmo de oxidación de grasas tras la ingesta de PS en comparación con el PLAC. Solo se encontraron diferencias significativas en los promedios del 25 al 30 (PS $0,60 \pm 0,22$ g·min⁻¹ vs. PLAC $0,54 \pm 0,19$ g·min⁻¹, $P < 0,05$) y del 35 al 40 (PS $0,66 \pm 0,21$ g·min⁻¹ vs. PLAC $0,59 \pm 0,19$, $P < 0,05$). La ingesta de PS aumentó el ritmo de oxidación de grasa con respecto al PLAC ($31,52 \pm 10,86$ g vs. PS $35,04 \pm 12,18$ g; $P < 0,05$) durante el sumatorio de los 60 minutos de la prueba. La ingesta de PS aumentó un 10,05% la oxidación de grasas en comparación con el PLAC en 60 minutos de ejercicio a una intensidad mantenida.

Respecto al promedio cada 5 minutos del ritmo de oxidación de CHO, se encontraron diferencias significativas en casi la totalidad de las agrupaciones (5, 10, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50,55 y 60 minutos, $P < 0,05$, Figura 23 gráfico superior). La PS redujo un 12,31% el ritmo de oxidación de CHO durante el ejercicio, mostrando diferencias significativas en el sumatorio total de la tasa oxidativa de CHO (PS $89,41 \pm 30,03$ g vs. PLAC $101,95 \pm 30,33$ g, $P < 0,05$).

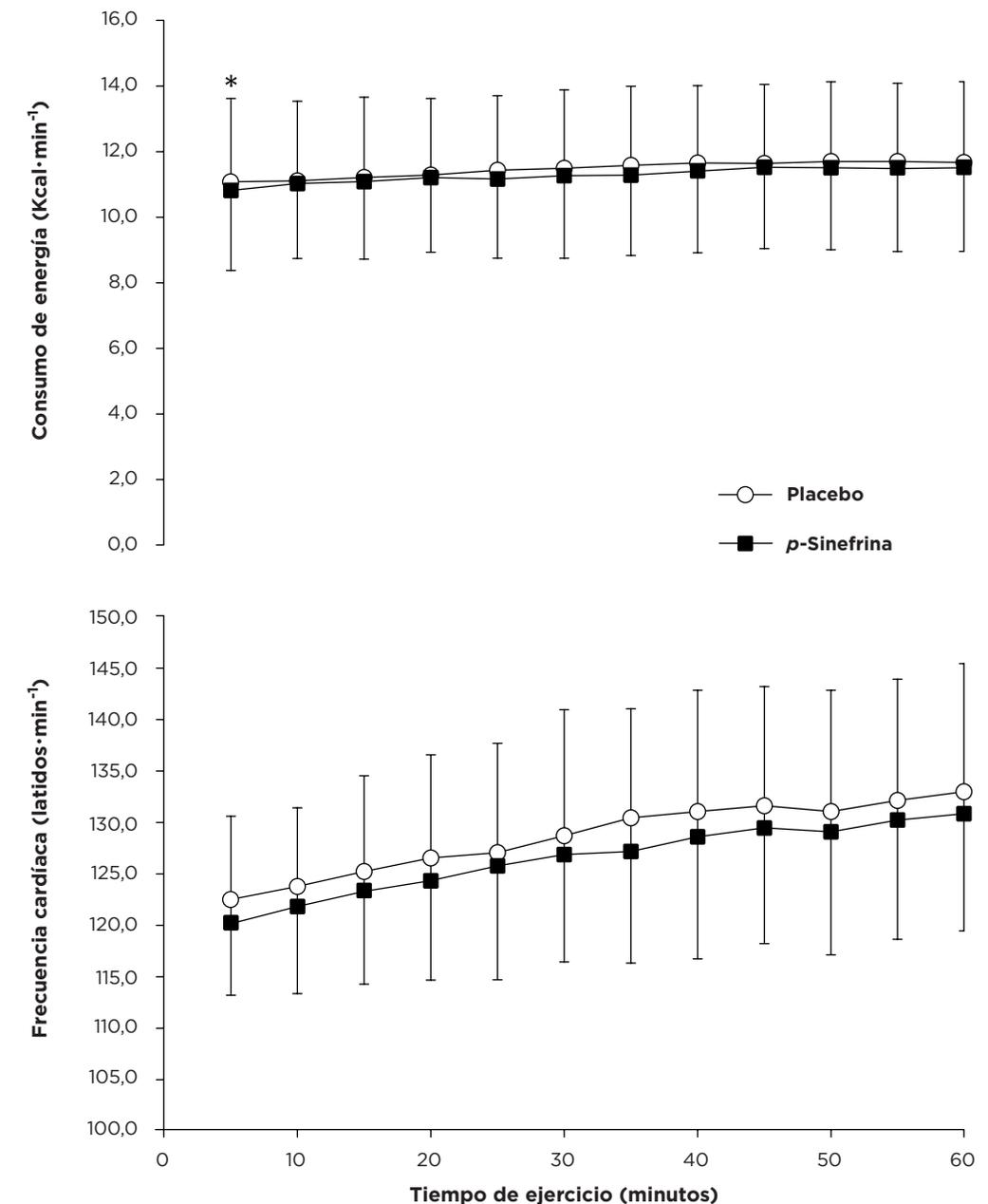


Figura 22. Consumo de energía (gráfico superior) y frecuencia cardíaca (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad (Fatmax) mantenida durante 60 minutos una hora después de la ingesta de $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de p-sinefrina o placebo. Los datos se presentan como promedio \pm SD para los 13 participantes.

(*) Diferencias significativas entre placebo y $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de p-sinefrina ($P < 0,05$).

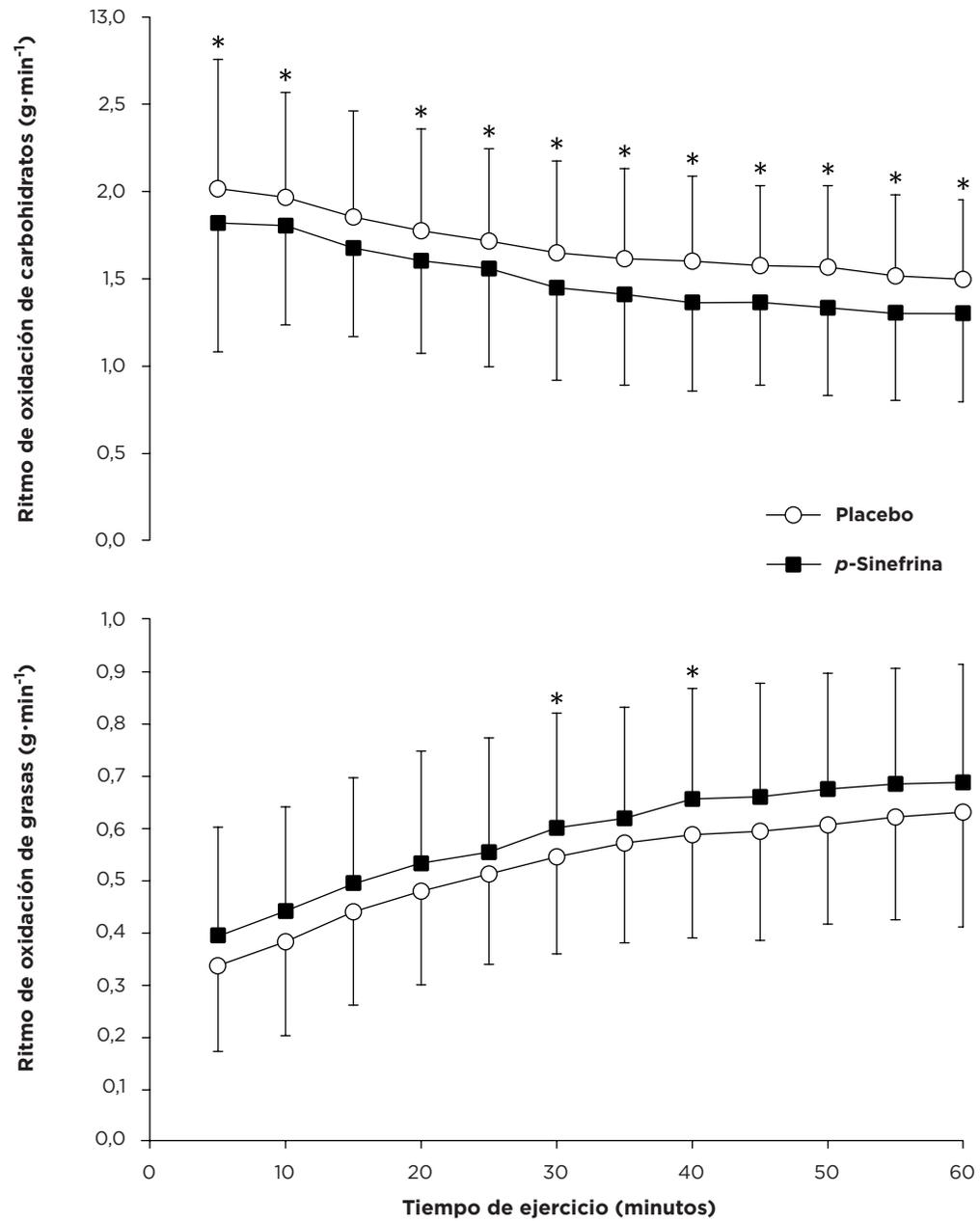


Figura 23. Ritmo de oxidación de carbohidratos (gráfico superior) y ritmo de oxidación de grasas (gráfico inferior) durante el ejercicio de intensidad (Fatmax) mantenida durante 60 minutos una hora después de la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina o placebo. Los datos se presentan como promedio \pm SD para los 13 participantes.

(*) Diferencias significativas entre placebo y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina ($P < 0,05$).

6

DISCUSIÓN



6.1 *p*-SINEFRINA E INFLUENCIA EN EL RENDIMIENTO DEPORTIVO

La primera investigación de la presente Tesis Doctoral tuvo como objetivo investigar los efectos de la PS sobre el rendimiento físico de atletas de velocidad durante una competición simulada y test de salto, así como la evaluación de la influencia de esta sustancia en la prevalencia de efectos secundarios durante y después de la competición. Para ello se midieron variables relacionadas con el rendimiento deportivo, concentraciones de metabolitos en orina relacionados con la PS y un cuestionario sobre efectos percibidos tras la ingesta de PS. Todas estas variables se compararon con una situación experimental idéntica en la que los atletas habían ingerido un PLAC. Los principales resultados de esta investigación fueron: en comparación con la prueba de control, la ingesta de PS a) no mejoró la altura del salto ni el rendimiento en un test de saltos repetidos (Tabla 4 y Figura 7); b) no aumentó la velocidad durante las competiciones simuladas de 60 m y 100 m (Figura 8); c) no modificó la percepción subjetiva de fuerza muscular, resistencia y fatiga durante las competiciones ni aumentó la frecuencia de efectos secundarios después de la competición (Tabla 6). Por otra parte, la ingesta de PS aumentó la concentración de PS y de ácido 4-hidroximandélico después de las competiciones simuladas (Tabla 5).

La lista de sustancias prohibidas de la WADA incluye sustancias y métodos que científicamente han sido demostrados como ergogénicos y/o potencialmente dañinos para el bienestar de los atletas. Entre las sustancias prohibidas sólo en competición, hay varios estimulantes con una estructura química muy similar a la PS (Rosato, Costa, Limberger, et al., 2011). La efedrina, la *m*-sinefrina, la adrenalina, la norepinefrina y la octopamina son ejemplos de estimulantes incluidos en la lista prohibida de la WADA debido a sus efectos sobre el rendimiento de los atletas y los riesgos potenciales para la salud de los mismos (Docherty, 2008). La PS tiene una estructura similar (un anillo aromático con una cadena lateral sustituida con etilamina) y puede estimular receptores adrenérgicos. Por este motivo, se ha especulado que la PS podría ejercer una acción estimulante que aumentaría el rendimiento en ejercicio a corto

y largo plazo. Es posible que la similitud de la PS con otros estimulantes prohibidos en el deporte sea responsable de la inclusión de esta sustancia en el *Monitoring Program* de la WADA, un programa antidopaje diseñado para rastrear tendencias de uso y abuso de sustancias sospechosas -pero no confirmadas- como dopantes. Teniendo en cuenta estos resultados mostrados, la PS puede que no cumpla con los criterios del código mundial antidopaje para que se considere como una sustancia dopante (WADA, 2015).

La diferencia más apreciable de la PS con respecto a la efedrina es la presencia de un grupo hidroxilo en el anillo aromático que limita la capacidad de la PS para cruzar la barrera hematoencefálica (Rossato, Costa, Limberger, et al., 2011). Además, en los seres humanos, la vía biosintética de la PS es paralela a la implicada en la síntesis de adrenalina y noradrenalina, aunque la velocidad de síntesis de la PS es mucho menor que la de las catecolaminas (Figura 24; (Branchek y Blackburn, 2003)).

A pesar del parecido químico con otras sustancias prohibidas, la presente investigación sugiere que los efectos de la PS sobre el rendimiento y la salud de los atletas son mínimos, al menos en las modalidades de sprint y en la dosis investigada. La falta de efectividad para aumentar el rendimiento se debió probablemente a la poca capacidad de la PS para estimular los receptores adrenérgicos α_1 , α_2 , β_1 y β_2 , produciendo así una menor actividad adrenérgica de esta sustancia en comparación con la efedrina y las catecolaminas (Stohs, Preuss, y Shara, 2011; M. Takagi et al., 2018). Sin embargo, el mecanismo de acción de la PS como estimulante en la pérdida de peso se atribuye al efecto lipolítico que se produce con la activación de los receptores adrenérgicos β_3 y la consecuente termogénesis (Moro y Basile, 2000; M. Takagi et al., 2018). Por lo tanto, se debe comprobar si la PS puede aumentar el rendimiento en pruebas de resistencia donde el aumento en la oxidación de la grasa y la reserva de glucógeno hepático y muscular es clave para el éxito (Jeukendrup, Saris, y Wagenmakers, 1998). Es por este motivo que los Estudios 2, 3, 4, 5 y 6 de esta Tesis se plantearon sobre esta base científica, en relación a la potencial capacidad que tendría la PS para modificar la oxidación de sustratos energéticos durante el ejercicio.

El Estudio 1 incluyó varias pruebas de salto para evaluar los efectos de la PS en la producción de potencia muscular en el tren inferior. Usando estas mismas pruebas, se ha podido determinar la efectividad de la cafeína para mejorar la potencia muscular en varios deportes (Abian et al., 2015; Del Coso, Estevez, y Mora-Rodriguez, 2008; Lara et al., 2014; Perez-Lopez et al., 2015). Sin embargo, la ingesta de PS no mejoró la altura del salto o la potencia muscular durante los saltos con contra movimiento y salto sin contramovimiento (Tabla 4). Curiosamente, aunque la PS no

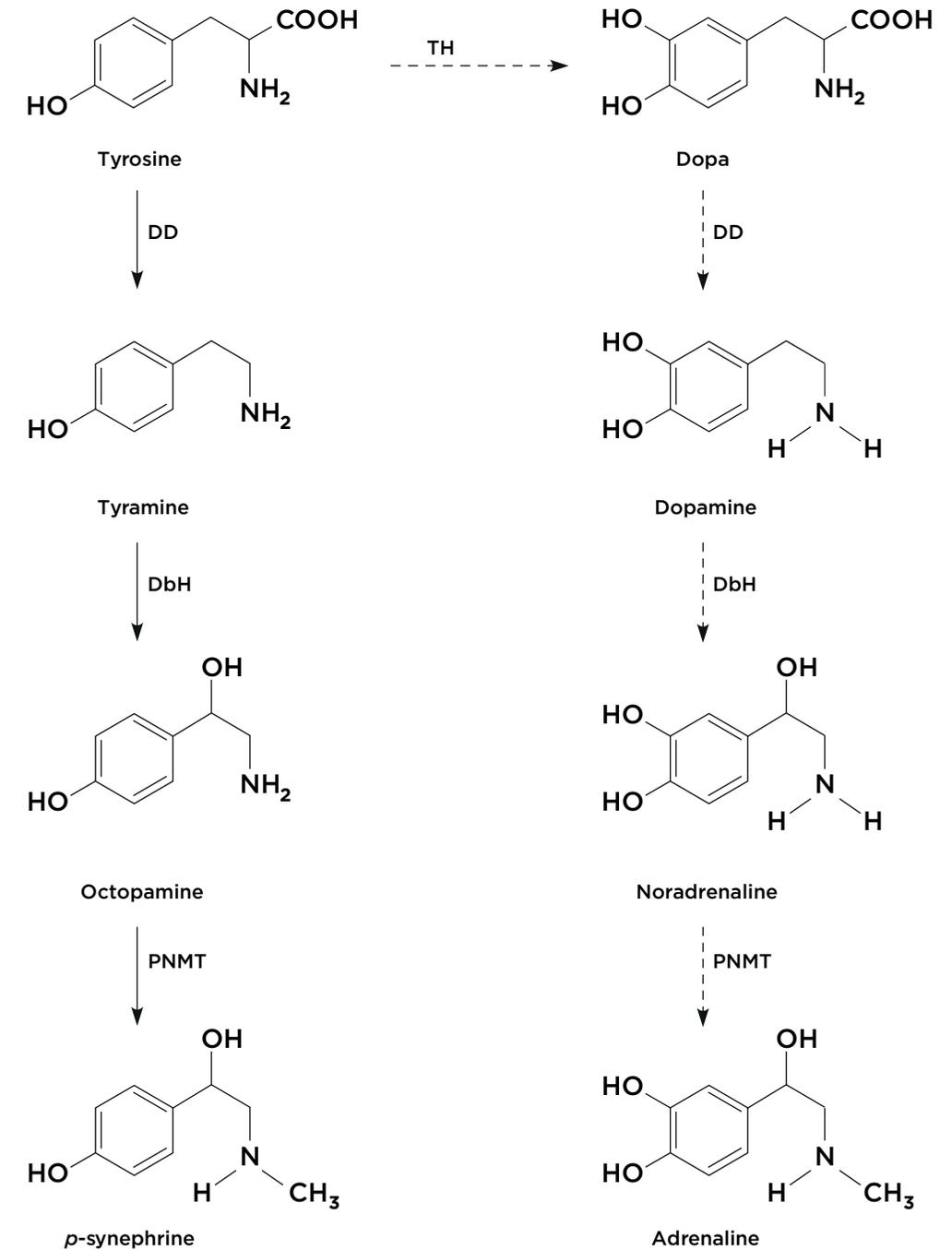


Figura 24. Biosíntesis de la *p*-sinefrina y de las catecolaminas (Rossato, Costa, Limberger, et al., 2011).

cambió la altura de salto promedio durante la prueba de saltos repetidos de 15 s, esta sustancia mantuvo mejor la altura de salto durante los últimos saltos de esta prueba (Figura 7) en comparación con el PLAC. Este efecto sugiere la idea de que la PS puede ejercer un efecto ergogénico para pruebas más largas que las realizadas en esta investigación (e.g., 400 m, 800 m, etc.), aunque esto debe ser verificado en futuros estudios. En base a nuestros datos, especulamos que la PS no aumenta la potencia muscular durante las pruebas individuales de menos de 15 s, pero podría ayudar a mantener la potencia muscular en actividades fatigantes que implican la depleción de los almacenes de adenosin trifosfato (ATP) y fosfocreatina en las fibras musculares. Sin embargo, los resultados de la presente investigación sugieren que la PS no puede ser clasificada como una ayuda ergogénica para los velocistas, ya que su efecto sobre el rendimiento fue inexistente.

Además, el experimento incluyó dos competiciones simuladas para evaluar los posibles efectos positivos y negativos de la PS en un contexto ecológico. Los participantes en esta investigación replicaron sus rutinas habituales de competición con respecto a dieta, ejercicio, calentamiento y preparación psicológica y se les animó a competir a máxima intensidad. La Figura 8 representa claramente la ausencia de cualquier efecto derivado de la ingesta de PS, al menos en estas competiciones deportivas basadas en sprint.

La presente Tesis Doctoral recoge otra investigación en la que se mide el rendimiento deportivo tras la ingesta de PS. En el Estudio 5 la ingesta aguda y aislada de PS ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) fue efectiva para aumentar el ritmo de oxidación de las grasas en un rango amplio de intensidades de ejercicio (45%, 50%, 60%, 80% y 85% de W_{max}) en comparación con la ingesta de PLAC. Esto podría suponer un aumento del rendimiento en deportes de larga duración (ciclismo, maratones de montaña, etc) ahorrando CHO y por lo tanto siendo más eficiente en la oxidación de los sustratos. Por otro lado, la ingesta de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS no mostró ningún efecto ergogénico en la potencia máxima generada en un test de intensidad incremental, corroborando la ausencia de efecto ergogénico al igual que en el Estudio 1. No se encontraron diferencias en W_{max} cuando se comparó la ingesta de PS con el PLAC. De tal modo que la ingesta aguda de PS ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) no aumentó el rendimiento en ciclistas de élite atendiendo a la máxima producción de potencia que fueron capaces de generar durante el test de intensidad incremental.

Estudios previos han encontrado resultados contradictorios (Haller et al., 2008; Jung et al., 2017; Ratamess et al., 2015). Por una parte, Haller et al. (2008) encontraron una menor percepción de fatiga durante 30 minutos de ciclismo después

de la ingesta de un suplemento dietético que tenía PS y cafeína, aunque es imposible confirmar si este efecto está relacionado con alguno de los ingredientes incluidos en el suplemento o a su combinación. Jung et al. (2017) examinaron los efectos de la ingesta aguda de un suplemento dietético pre-entrenamiento con y sin PS en las percepciones de preparación para el desempeño, la función cognitiva, el rendimiento del ejercicio y los marcadores de seguridad durante un test cognitivo, una prueba de Wingate y el levantamiento de pesas en *press* de banca y *press* de piernas. Los resultados mostraron que ambos tratamientos (Con PS y sin PS) no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en el volumen total de levantamiento de *press* de banca, el volumen de levantamiento de *press* de piernas o el rendimiento de sprint del Wingate.

Ratamess et al. (2015) realizaron un protocolo de ejercicios de resistencia controlada que consistía en 6 series de sentadillas de hasta 10 repeticiones utilizando el 80% de 1RM con 2 minutos de descanso entre series después de ingerir 100 mg PS, 100 mg PS + 100 mg de cafeína o PLAC. Los resultados mostraron un mayor número de repeticiones realizadas tras ingerir PS y PS + CAF. En cambio, en la 1ª investigación de la presente Tesis Doctoral estudiamos el efecto de la ingesta aguda de PS ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) sobre el rendimiento deportivo en los velocistas de élite, y no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables medidas. Solo la fatiga se retrasó en la prueba de 15 segundos de saltos repetidos.

En resumen, la ingesta aguda y aislada de PS ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) no mostró ningún efecto ergogénico en atletas de velocidad ni en ciclistas de élite. El alto nivel de entrenamiento de los ciclistas parece afectar a la variabilidad del efecto oxidativo de la PS en comparación con investigaciones previas con sujetos no entrenados. Sin embargo, es necesario investigar más sobre esta sustancia y el ejercicio. Sin duda, la ingesta de PS parece ser prometedora para aumentar la oxidación de grasas en ciclistas altamente entrenados. Esto puede ofrecer futuras líneas de investigación sobre si este efecto encontrado puede traducirse en mejores adaptaciones del entrenamiento, como mayor capacidad aeróbica, aumento de $\text{VO}_{2\text{max}}$, aumento de la actividad mitocondrial o mejora en la expresión de genes del músculo esquelético relacionado con las adaptaciones del entrenamiento.

6.2 *p*-SINEFRINA Y OXIDACIÓN DE SUSTRATOS ENERGÉTICOS

Pocos estudios se han orientado para dar respuesta a la eficacia de la ingesta de la PS para incrementar el gasto energético en reposo (Stohs et al., 2012). En algunos de ellos, los suplementos multi-ingredientes que contienen CA aumentaron la tasa metabólica en reposo después de la ingesta aguda (Gougeon et al., 2005; Hoffman et al., 2006; Jung et al., 2017; Sale et al., 2006; Seifert et al., 2011; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011) o crónica de este tipo de suplementos (Colker et al., 1999; Zenk et al., 2005). Sin embargo, en la mayoría de estas investigaciones, los suplementos experimentales contenían otros estimulantes y sustancias simpaticomiméticas, además de la PS, como la cafeína, una sustancia termogénica con efecto bien establecido (Hursel y Westerterp-Plantenga, 2010). Por lo tanto, es difícil saber si se debe atribuir el aumento del gasto energético a la PS o al resto de las sustancias incluidas en los productos administrados. En la presente Tesis Doctoral se utilizó un suplemento de PS comercialmente disponible con una pureza del 99%, mientras que la ingesta de otros estimulantes se restringió para aislar los efectos de la PS en los resultados de este estudio. Curiosamente, la ingesta de PS no cambió el gasto energético ni el uso de grasas y CHO en reposo (Tabla 7), a pesar de que nuestra dosis ($3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ equivalente a $214 \pm 0,02 \text{ mg}$ de PS) era mucho más alta que la utilizada en la mayoría de investigaciones anteriores (entre 12 y 100 mg de PS (Colker et al., 1999; Haller et al., 2008; Hoffman et al., 2006; Jung et al., 2017; Ratamess et al., 2015; Ratamess et al., 2018; Sale et al., 2006; Seifert et al., 2011; Shara et al., 2018; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011; Zenk et al., 2005)). Por lo tanto, es probable que la supuesta termogénesis atribuida al CA y otros suplementos que contienen PS en reposo (Colker et al., 1999; Gougeon et al., 2005; Hoffman et al., 2006; Sale et al., 2006; Seifert et al., 2011; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011; Zenk et al., 2005) esté más relacionada con otros co-ingredientes incluidos en este tipo de suplementos termogénicos, como la cafeína, que a los efectos aislados de la PS.

Numerosas investigaciones en fisiología del ejercicio han tratado de determinar las mejores circunstancias para incrementar el Fatmax durante el ejercicio. En síntesis, se ha establecido que el Fatmax se obtiene normalmente en el ejercicio a una intensidad moderada de entre el 40 al 60% del VO_{2max} (Achten et al., 2002; Nordby, Saltin, y Helge, 2006), aunque factores como la duración del ejercicio (Romijn et al., 1993), la aptitud aeróbica (Del Coso, Hamouti, Ortega, y Mora-Rodriguez, 2010), la comida pre-ejercicio (Achten y Jeukendrup, 2003) y la temperatura ambiental (Febbraio, Snow, Stathis, Hargreaves, y Carey, 1994) pueden modificar sustancialmente la cantidad de grasa oxidada a una carga de trabajo fija. La PS no mostró un cambio significativo en la intensidad del ejercicio en el que se obtuvo el Fatmax en los Estudios 2 (~ 56% del VO_{2pico}), 3 (~ 42% del VO_{2max}), 4 (~ 46% del VO_{2max}) y 5 (~ 49% del W_{max}) en comparación con el PLAC, sin embargo, los datos actuales indican que la PS puede ayudar a aumentar el MFO, ya que en el Estudio 2 esta sustancia aumentó la tasa máxima de oxidación de grasa en ~ 38% (Figura 11). En el Estudio 3 la PS aumentó el ritmo de oxidación de grasa del 30 al 60% del VO_{2max} y redujo la oxidación de CHO en estas cargas de trabajo (Figura 13). En el Estudio 5 la PS aumentó las tasas de oxidación de grasas a 45, 50, 60, 65, 80 y 85% del W_{max} y redujo la oxidación de CHO en estas cargas de trabajo (Figura 21) y en el Estudio 6 incrementó la cantidad total de grasas oxidadas durante 60 min de ejercicio a una intensidad mantenida de Fatmax en comparación con el PLAC (Figura 23).

Los principales resultados en las pruebas incrementales tras la ingesta de PS muestran: a) no se modificó el gasto energético, el ritmo de oxidación de grasas y CHO en reposo y tampoco aumentó la FC, la PA sistólica o diastólica en reposo; b) la PS aumentó significativamente el ritmo de oxidación de grasa para la misma carga de trabajo relativa a intensidades bajas a moderadas, mientras que se redujo la utilización de CHO durante el ejercicio; c) la PS no modificó el gasto energético, ni la FC durante el ejercicio de intensidad creciente. Teniendo en cuenta estos resultados, se sugiere que la PS $-3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ se podría utilizar como suplemento para aumentar la oxidación de la grasa durante el ejercicio de intensidad moderada. En estas investigaciones en las que se utilizó un protocolo de intensidad incremental se evaluó la oxidación de sustratos energéticos durante el ejercicio. Curiosamente, la PS no modificó el gasto energético o la FC durante el ejercicio, pero modificó en gran medida la utilización de sustratos en cargas de trabajo entre 40 y 80% del VO_{2pico} . En estas intensidades de ejercicio, la ingesta pre-ejercicio de PS cambió la utilización de CHO hacia una mayor oxidación de grasa. El efecto de la PS no estuvo presente en las intensidades de ejercicio más altas, debido principalmente a la supresión de la oxidación de la grasa a altas demandas de energía, igualando la oxidación de la grasa a ~ $0 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ por encima del 90% VO_{2pico} (Achten et al., 2002).

Las Figuras 10, 13, 16 y 21 indican que la ingesta pre-ejercicio de una dosis alta de PS fue capaz de aumentar el ritmo de oxidación de grasa durante el ejercicio de intensidad baja a moderada, lo que probablemente sea debido a un mayor uso de grasa en las mitocondrias de los músculos activos. Sin embargo, nuestras investigaciones no ofrecen información sobre el mecanismo exacto relacionado con este efecto metabólico. Como se indicó en la introducción de esta Tesis, la PS tiene una pobre afinidad de unión a los receptores adrenérgicos α_1 , α_2 , β_1 y β_2 (Hwa y Perez, 1996; Stohs, Preuss, y Shara, 2011; M. Takagi et al., 2018). Sin embargo, la PS activa los receptores adrenérgicos β_3 que pueden ser responsables del aumento de la utilización de grasa durante el ejercicio mediante la modulación de la lipólisis a través de la adenilato ciclasa, inducida por una mayor producción y liberación a la sangre de adrenalina y noradrenalina (Hoffman et al., 2006). El Estudio 2 es la primera investigación que ha determinado los efectos positivos de la ingesta aguda de PS en la oxidación de grasas durante el ejercicio.

Por otro lado, atendiendo al nivel de entrenamiento de la muestra de una investigación, es bien sabido por la comunidad científica, que atletas muy bien entrenados en resistencia aeróbica registran valores elevados de oxidación de lípidos. Estos valores pueden alcanzar hasta $1,27 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ en jugadores de fútbol americano, $1,20 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ para jugadores de baloncesto, $1,04 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ para jugadores de lacrosse o $1,09 \text{ g}\cdot\text{min}^{-1}$ para jugadores de rugby (Randell et al., 2017). El Estudio 5 mostró efectos similares tras la ingesta de PS en la oxidación de grasas durante el ejercicio incremental en ciclistas de élite. Esta sustancia modificó la oxidación del sustrato durante el ejercicio de intensidad creciente incrementando la tasa de oxidación de grasas y disminuyendo la tasa de oxidación de CHO cuando se comparó con un PLAC.

Los resultados de las investigaciones sugieren que, al utilizar $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, la ingesta de PS es eficaz para aumentar el ritmo de oxidación de la grasa tanto en sujetos activos como con un alto nivel de entrenamiento. El 3^{er} Estudio de esta Tesis Doctoral proporcionó $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS y mostró efectos estimulantes sobre la oxidación de la grasa en sujetos físicamente activos. En el Estudio 5, el alto nivel deportivo de los sujetos de estudio podría haber reducido la variabilidad de la respuesta ante la ingesta de la PS, pero, aun así, se registró una tasa de oxidación de grasas superior tras la ingesta de PS que tras la ingesta de PLAC.

En relación a esfuerzos de carga constante, la ingesta de PS ha demostrado incrementar la oxidación de grasas en pruebas de 60 minutos de ejercicio en el cicloergómetro. Además, esto ocurrió tanto en la primera como en la segunda mitad de la prueba experimental del Estudio 6 (Figura 23 gráfico inferior) cuando se

comparó con el PLAC. En este estudio, donde la intensidad se fijó en el Fatmax de los participantes, se puede observar como los sujetos cada vez tienden a una mayor oxidación de las grasas según va avanzando el tiempo de la prueba.

De tal modo, nuestros datos señalan que la PS fue capaz de aumentar el ritmo de oxidación de grasa durante el ejercicio de intensidad incremental (Estudio 2, 3, 4 y 5), y durante el ejercicio de intensidad mantenida durante 60 min a una carga de trabajo de Fatmax (Estudio 6). Estos resultados probablemente se debieron a un mayor uso de grasa en las mitocondrias de los músculos activos tal y como hemos discutido anteriormente. Sin embargo, una de las limitaciones es la ausencia de muestras biológicas que nos hubieran permitido confirmar este argumento.

Por otro lado, atendiendo a los CHO, los resultados obtenidos muestran que la ingesta de PS redujo el ritmo de oxidación de este sustrato durante el ejercicio en comparación con la ingesta de PLAC. Este efecto mostró diferencias significativas en todas las investigaciones realizadas. Podemos verlo de manera gráfica y muy clara en el sumatorio total en gramos de la tasa oxidativa de CHO del Estudio 6 (Figura 23 gráfico superior). Estos resultados son muy interesantes ya que cumplen con el mismo patrón en todas las investigaciones (Estudio 2, 3, 4, 5 y 6), tanto de intensidad incremental como en la investigación de intensidad mantenida.

Cabe destacar que el Estudio 6 ha sido pionero en medir el efecto agudo de la PS sobre la oxidación de las grasas durante el ejercicio de intensidad mantenida acercando la metodología a la práctica y tipo de ejercicio que se desarrolla habitualmente en la situación deportiva real. De tal modo, se podría considerar como un estudio más ecológico que los anteriormente desarrollados.

En síntesis, los datos actuales presentan la PS como una sustancia eficaz para aumentar el ritmo de oxidación de la grasa a intensidades bajas y moderadas durante una prueba de ejercicio incremental y durante 60 min de intensidad mantenida en el Fatmax. Ello sugiere la utilidad de esta sustancia para los atletas o deportistas de fitness con el objetivo de modificar el uso de los sustratos energéticos oxidativos durante el ejercicio. Sin embargo, su efectividad para aumentar la oxidación de grasas en reposo es menos clara como hemos discutido anteriormente (Gougeon et al., 2005; Gutierrez-Hellin y Del Coso, 2016; Stohs, Preuss, Keith, et al., 2011).

Este efecto de la PS sobre la oxidación de las grasas está relacionado con su alta afinidad de unión a los receptores adrenérgicos β_3 , mientras que las propiedades de la PS para unirse a los β_1 y los β_2 son menos evidentes, al menos en comparación

con otras sustancias como nor-epinefrina (Stohs et al., 2012). Por lo tanto, los datos de esta Tesis Doctoral sugieren que la PS es una sustancia eficaz para aumentar la oxidación de las grasas durante el ejercicio de intensidad baja a moderada (30-80% VO_{2max}), al menos cuando se ingiere de forma aguda y con dosis de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Aun así, es necesario investigar los efectos de las ingestas crónicas de PS en variables metabólicas y cardiovasculares.

6.3 *p*-SINEFRINA, DOSIS RESPUESTA

Una vez comprobamos en el Estudio 2 como la ingesta aguda de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS incrementaba la tasa de oxidación de las grasas durante el ejercicio, decidimos evaluar los efectos de una dosis respuesta sobre la oxidación de los sustratos. El Estudio 3 de la presente Tesis Doctoral fue desarrollado para clarificar el conocimiento científico acerca de las dosis más eficaces de PS para incrementar la tasa de oxidación de las grasas durante el ejercicio. En esta investigación se evaluó el efecto de 1, 2 y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS. Los resultados obtenidos mostraron que la ingesta de PS modificó la oxidación de los sustratos energéticos durante el ejercicio de intensidad incremental, tal y como habíamos encontrado en la investigación anterior. Concretamente, la PS aumentó el ritmo de oxidación de grasa del 30 al 60% del $\text{VO}_{2\text{max}}$ y redujo la oxidación de CHO en estas cargas de trabajo. La novedad del Estudio 3 fue que las dosis más eficaces para obtener estos cambios metabólicos fueron $\geq 2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS. Curiosamente, mediante el uso de una dosis adecuada de PS y la intensidad del ejercicio concreta (Fatmax), la oxidación de la grasa puede aumentarse en un $72 \pm 20\%$ en individuos activos sanos, efecto que puede ser de gran utilidad para diferentes fines en el mundo del rendimiento deportivo, del *fitness* e incluso de la salud.

El Estudio 3 completó la información sobre los efectos de la PS sobre la oxidación de las grasas durante el ejercicio, ya que se obtuvo un efecto muy similar al del Estudio 2 con una dosis ligeramente inferior ($2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), mientras que $1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ produjo un efecto menor, al menos en magnitud. Sin embargo, las similitudes en las respuestas con 2 y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sugieren una meseta en los efectos metabólicos de esta sustancia, lo que indica que los beneficios de la PS sobre la oxidación de la grasa durante el ejercicio podrían estar maximizados a $2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Sin embargo, esta especulación debe contrastarse utilizando dosis superiores a $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, lo cual será planteado en futuras investigaciones de este grupo de investigación.

Si comparamos las dosis utilizadas en la presente Tesis Doctoral con las dosis encontradas en otras investigaciones podemos comprobar que las dosis empleadas

en nuestros Estudios son superiores a las empleadas en investigaciones anteriores. Haller et al. (2008) usaron PS ($0,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y cafeína ($4,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Ratamess et al. (2015) utilizaron en su investigación PS aislada ($1,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Ratamess et al. (2016) en otra investigación también uso una ingesta aislada de PS ($1,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), Jung et al. (2017) utilizaron un suplemento dietético pre-entrenamiento con y sin PS (20 mg) y Kliszczewicz et al. (2018) utilizaron un suplemento que contenía CA (100 mg CA; 3,3 mg PS) + cafeína (100 mg). El uso de estas dosis se fundamentó en estudios pilotos previos donde pudimos comprobamos que dosis de 2 y 3 mg por kilogramo de peso mostraban los mayores efectos en la estimulación de la tasa oxidativa durante el ejercicio sin efectos secundarios adversos.

6.4 *p*-SINEFRINA Y COMBINACIÓN CON CAFEÍNA

En la introducción de la presente Tesis Doctoral se muestra como la PS normalmente viene combinada con otras sustancias en suplementos dietéticos y deportivos a pesar de la falta de información científica existente. La mezcla con cafeína es la combinación más habitual que encontramos en el ámbito deportivo. Varios autores ya han descrito los efectos de la combinación de estas sustancias (Jung et al., 2017; Kliszczewicz et al., 2018; Ratamess et al., 2016; Ratamess et al., 2015; Sale et al., 2006)

Sale et al. (2006) encontraron que un suplemento comercial que contenía naranja amarga, té verde y guaraná (con $0,1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS y $1,7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de cafeína) aumentaba la oxidación de los CHO, mientras que reducía el uso de ácidos grasos no esterificados durante 60 min de ejercicio de intensidad moderada en una cinta rodante. Por otra parte Haller et al. (2008) determinaron que la ingesta combinada de PS ($0,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y cafeína ($0,42 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) produjo una menor percepción de esfuerzo durante 30 minutos de ejercicio moderado, pero estos autores no midieron la utilización del sustrato durante el ejercicio.

Ratamess et al. (2015) encontraron que la ingesta aislada de PS ($1,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y la combinación junto a cafeína aumentaron el número de repeticiones realizadas durante un protocolo de ejercicios de resistencia en comparación con los resultados obtenidos con PLAC. Por otra parte, Ratamess et al. (2016) concluyeron que la ingesta aislada también de ($1,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) produjo un mayor gasto de energía y tasas de oxidación de grasas después del ejercicio, mientras que la combinación de cafeína ($1,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) y PS ($1,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) no mostró un incremento en los resultados obtenidos en comparación con el control.

Jung et al. (2017) investigaron los efectos de la ingesta aguda de un suplemento dietético pre-entrenamiento con y sin PS (20 mg) en las percepciones de preparación

para el desempeño, la función cognitiva, el rendimiento deportivo y los marcadores de seguridad. Los autores determinaron que la ingesta del suplemento o suplemento + PS antes del ejercicio fue bien tolerada cuando la consumen personas jóvenes y sanas. Los efectos principales mostraron un aumento en el consumo energético en reposo, una mejora en las percepciones sobre la preparación para el desempeño y la función cognitiva con efectos limitados sobre la resistencia muscular y el Wingate (capacidad anaeróbica). La adición de 20 mg de PS no potenció los efectos encontrados tras la ingesta aislada del suplemento deportivo. Por lo que concluye que no hay un efecto sinérgico entre el suplemento deportivo y la PS cuando se consumen de manera combinada.

La última investigación que encontramos en torno a esta temática es la de Kliszczewicz et al. (2018) que examinó la respuesta del sistema nervioso autónomo cardíaco en reposo tras la ingesta de un complejo que contenía CA (100mg CA; 3,3mg PS) + cafeína (100mg) y su influencia en la recuperación después de una sesión de ejercicio anaeróbico de alta intensidad (3 Wingate con 2 minutos de recuperación activa) en 10 sujetos que consumían habitualmente cafeína (≥ 300 mg·día⁻¹). La investigación concluyó que el consumo de CA + cafeína produjo un aumento de la actividad simpática durante las condiciones de reposo sin afectar a la actividad parasimpática. Además, la ingesta de CA + cafeína no proporcionó ninguna influencia sobre la recuperación autonómica cardíaca.

En esta línea nuestros datos han demostrado como la combinación de 3 mg·kg⁻¹ cafeína y 3 mg·kg⁻¹ de PS no tuvo un efecto mayor en la oxidación de lípidos durante el ejercicio de intensidad incremental cuando se comparaba con los controles. Tanto la ingesta aguda y aislada de PS (3 mg·kg⁻¹) como de cafeína (3 mg·kg⁻¹) fueron efectivas para aumentar el MFO durante el ejercicio sin afectar la intensidad con la que se utilizan los lípidos. Por otra parte, la ingesta aislada de cafeína incrementó el ritmo de oxidación de las grasas en un rango más amplio de intensidades de ejercicio (de 30 a 70% del VO_{2max}) en comparación con la ingesta aislada de PS (40% del VO_{2max}).

Si profundizamos en el análisis de los resultados en nuestro estudio, encontramos que en comparación con la situación placebo, las sustancias investigadas en este estudio mostraron: a) La ingesta aislada de PS no modificó la PA, ni la FC en reposo (Tabla 9), ni el gasto de energía (Figura 16) ni la FC durante el ejercicio. Sin embargo, la PS fue efectiva para aumentar el ritmo de oxidación de grasas al 40% del VO_{2max} y MFO durante el ejercicio (Figura 16). b) La ingesta aislada de cafeína aumentó la PA sistólica y diastólica en reposo (Tabla 9), aunque no modificó la FC ni el

gasto de energía en ninguna carga de trabajo durante el ejercicio. La cafeína aumentó el ritmo de oxidación de grasas en un 30-70% del VO_{2max} (Figura 16) y MFO durante el ejercicio (Figura 17). c) La ingesta conjunta de PS y cafeína aumentó el ritmo cardíaco y la PA en reposo (Tabla 9), sin efectos sobre el gasto de energía (Figura 16) o el ritmo cardíaco durante el ejercicio. La PS + cafeína aumentó el ritmo de oxidación de grasas al 40 y 70% del VO_{2max} (Figura 16) y el MFO durante el ejercicio (Figura 17).

Los resultados de este estudio muestran a la cafeína como una sustancia con la capacidad de aumentar la oxidación de la grasa durante el ejercicio de intensidad creciente, y respalda la evidencia previa que se ha encontrado respecto a la eficacia de la cafeína para incrementar la oxidación de grasas durante el ejercicio prolongado (Alkhatib et al., 2015; Anderson y Hickey, 1994; Costill et al., 1978; Cruz et al., 2015; Donnelly y McNaughton, 1992; Schubert et al., 2014). De hecho, la cafeína, en comparación con el PLAC, aumentó significativamente el ritmo de oxidación de las grasas en todas las cargas de ejercicio entre el 30 y el 70% del VO_{2max}. Aunque el ritmo de oxidación de grasas no fue mayor con la ingesta aguda de cafeína en comparación con la ingesta aguda de PS, la cafeína mostró la capacidad para aumentar la oxidación de grasas a intensidades de ejercicio $\geq 50\%$ del VO_{2max}. Esto podría indicar una cierta ventaja de la cafeína sobre la PS para aumentar la oxidación de lípidos durante el ejercicio de intensidad moderada a alta. Los efectos metabólicos de la ingesta aguda de cafeína fueron acompañados por un aumento de la PA sistólica, diastólica en reposo, así como una mayor potencia muscular, y resistencia percibidas, y una reducción del esfuerzo percibido durante el ejercicio. La cafeína es una sustancia con fuerte evidencia a favor de un efecto ergogénico mediado por mecanismos del sistema nervioso central, al menos en parte al bloquear la adenosina en los receptores adrenérgicos A₁, A_{2A} y A_{2B} (Davis et al., 2003; Fredholm et al., 2017), pero no hay evidencia que demuestre que el bloqueo de los receptores de adenosina en el sistema nervioso central influyan en la oxidación del sustrato durante el ejercicio. Sin embargo, la cafeína también aumenta la liberación de adrenalina y noradrenalina en reposo y durante el ejercicio (Anderson y Hickey, 1994; Graham y Spriet, 1995), que a su vez podría estimular la acción de los receptores adrenérgicos β , responsables de sus efectos metabólicos (Graham et al., 2008). Aunque el aumento de las variables de PA en reposo no puede considerarse clínicamente relevante en nuestra muestra de individuos activos y sanos, este efecto debe considerarse cuando se usa cafeína para estimular la oxidación de la grasa en individuos con anomalías cardiovasculares conocidas o presumibles. Además, el uso de una dosis similar de cafeína se ha relacionado con una mayor frecuencia de insomnio en atletas (Salinero et al., 2014), aunque el mismo efecto no se produjo en la investigación actual, probablemente porque la cafeína se administró por la mañana. En cualquier caso, este inconveniente debe tenerse en cuenta para quienes utilizan

cafeína para aumentar la oxidación de la grasa durante el ejercicio. Por último, todos los participantes en esta investigación se clasificaron como consumidores ligeros de cafeína (Goncalves et al., 2017) y podrían ser más propensos a responder a la ingesta aguda de cafeína que los individuos habituados a esta sustancia, como se ha encontrado en las propiedades ergogénicas de la cafeína (Beaumont et al., 2017). En el futuro, debe investigarse la presencia de una habituación progresiva a los efectos de la cafeína en la oxidación de las grasas durante el ejercicio cuando esta sustancia se ingiere diariamente

En resumen, la combinación de PS y cafeína no produjo un efecto sinérgico sobre la oxidación del sustrato durante el ejercicio, en comparación con la ingesta aguda y aislada de estas sustancias. Por lo tanto, el uso de una sola de estas dos sustancias parece suficiente para aumentar la utilización de lípidos durante el ejercicio. Sin embargo, es necesario investigar si existe una tolerancia progresiva a los efectos de la cafeína y de la PS en la oxidación de las grasas durante el ejercicio cuando estas sustancias se ingieren diariamente.

6.5 *p*-SINEFRINA Y EFECTOS SECUNDARIOS

Varias investigaciones han informado que la ingesta aguda de PS no modifica la FC ni la PA en reposo (Ratamess et al., 2016) ni produce anomalías electrocardiográficas (Shara et al., 2016). Esta capacidad selectiva de la PS para modificar la oxidación del sustrato durante el ejercicio sin modificar la respuesta cardiovascular probablemente se deba tal y como hemos comentado anteriormente en varias ocasiones, a que la PS no presenta afinidad de unión a los receptores adrenérgicos β_1 y los β_2 (Stohs et al., 2012). La frecuencia de los efectos secundarios, como molestias abdominales, dolor muscular e insomnio, derivados de la PS, no fue diferente en comparación con la ingesta del PLAC, como hemos descrito en los distintos Estudios de esta Tesis Doctoral. Por lo tanto, nuestros datos, sugiriendo que la PS es una sustancia segura para aumentar la oxidación de las grasas durante el ejercicio de intensidad baja a moderada (30-80% VO_{2max}), al menos cuando se ingiere de forma aguda y con dosis de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$.

Detalladamente, tras la ingesta de PS no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los Estudios presentados en la Tesis Doctoral en referencia a la FC ni a las PA en comparación con el control (PLAC). Respecto a la respuesta de la FC en reposo y ejercicio, la ingesta aguda de PS no modificó los registros obtenidos en comparación con el PLAC en el Estudio 2, 3, 4 y 5. En el Estudio 6, la FC aumentó a lo largo de la prueba atendiendo a la deriva metabólica tanto tras la ingesta de PS como con PLAC. Sin embargo, cuando se comparó la FC en la prueba con PS y la prueba con PLAC no se encontraron diferencias significativas. Estos resultados sugieren que la PS mostró una ausencia de efectos estimulantes cardiovasculares (Figura 22 gráfico inferior).

Por otro lado, la seguridad de la PS ha sido cuestionada debido a las similitudes estructurales de esta sustancia con la epinefrina y norepinefrina (Kaats et al., 2013). Sin embargo, los informes de casos y los informes de eventos adversos que

se han reportado en la literatura tras el uso de la PS están relacionados con otras sustancias adrenérgicas que se incluyen en los suplementos de múltiples ingredientes vendidos para el control de peso (Stohs et al., 2012). Una revisión sistemática reciente ha mostrado una falta de efectos cardiovasculares después de la ingesta de $0,7 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS, al menos en referencia al aumento de la FC, PA o anomalías electrocardiográficas (Stohs, 2017). Por otro lado, los estudios de Ratamess señalan que la ingesta de 104 mg de PS durante el reposo no modificó la PA sistólica, diastólica ni la FC. Lo que indica que el consumo de 104 mg de PS no produce estrés cardiovascular durante el reposo (Ratamess et al., 2018). En otra investigación evaluaron las respuestas agudas hematológicas y de percepción del estado de ánimo tras la suplementación con 104 mg de PS. En comparación con el PLAC no se encontraron diferencias significativas en ninguna de las variables medidas. Estos datos indican que el consumo de 103 mg de PS no tiene un impacto negativo en los parámetros sanguíneos agudos, y no produce efectos en el estado de ánimo como lo hacen los estimulantes (Bush et al., 2018).

A juzgar por los resultados de las 6 investigaciones (sumando un total de 89 participantes evaluados en el total de las 6 investigaciones) que componen esta Tesis Doctoral, ni la FC en reposo ni la PA fueron afectadas por la PS y tampoco hubo incremento de la frecuencia de efectos adversos asociados al uso de este protoalcaloide ni durante el reposo ni durante el ejercicio. De tal modo parece que esta sustancia es segura para ingerirse de manera aguda, hasta dosis de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ en individuos sanos y deportistas. Aun así, es necesario investigar los efectos de las ingestas crónicas de PS en variables cardiovasculares y otros posibles efectos secundarios.

7

LIMITACIONES



La presente Tesis Doctoral muestra algunas limitaciones que debemos describir y tener presentes. El Estudio 1 presenta algunas limitaciones que deben ser discutidas para entender la aplicabilidad de los resultados. En primer lugar, se utilizó una dosis de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de PS basada en estudios pilotos previos y revisión de la literatura científica. Aunque dosis más bajas en comparación con la utilizada en esta investigación fueron suficientes para producir aumentos en el gasto energético y la lipólisis en reposo (ver Tabla 1 y Tabla 2 de esta referencia (Stohs et al., 2012)), la PS no produjo ningún efecto en el rendimiento físico de los velocistas. Sin embargo, subsiste la posibilidad de que la PS produzca un efecto ergogénico en dosis más altas. En segundo lugar, se obtuvieron muestras de orina pre y a los 60 minutos de terminar los ejercicios, simulando la obtención de muestras de orina para el análisis de dopaje. Se ha informado previamente que la vida media de la PS es de 2,6 h (Haller et al., 2008) y, por lo tanto, con esta única medición después del ejercicio es imposible determinar el pico de excreción de esta sustancia en atletas competidores. Se necesita más investigación para evaluar la farmacodinamia de PS en esta y otras disciplinas deportivas. En cualquier caso, estos datos podrían ser utilizados, en el caso de que la WADA considere la PS como una sustancia dopante, para el control en el uso de esta sustancia.

El diseño experimental utilizado en el Estudio 2, 3, 4 y 5 tuvo varias limitaciones. En primer lugar, utilizamos un protocolo de ejercicios de intensidad creciente que ayuda a identificar el MFO y el Fatmax durante el ejercicio. Sin embargo, el protocolo de intensidad de ejercicio incremental puede producir un valor ligeramente inferior para el ritmo de oxidación de grasa máxima que los protocolos de ejercicio continuo y de carga constante (S. Takagi, Sakamoto, Midorikawa, Konishi, y Katsumura, 2014). Además, el ejercicio de intensidad creciente no es una rutina de entrenamiento típica para los practicantes de ejercicio que buscan la pérdida de masa corporal/grasa corporal, ya que generalmente realizan actividades continuas o intermitentes prolongadas. Por lo tanto, los efectos aislados de la PS y la cafeína

deben confirmarse mediante el uso de protocolos de ejercicio prolongado y de carga constante o mediante el uso de situaciones de entrenamiento con ejercicios más ecológicos. Una segunda limitación es que no obtuvimos muestras de sangre y tejido y, por lo tanto, no podemos determinar si el aumento de la oxidación de la grasa inducida por la PS y la cafeína se debió a una mayor oxidación del tejido adiposo frente a los triglicéridos intramusculares. Tampoco podemos establecer los efectos de estas sustancias para administrar los ácidos grasos liberados al músculo esquelético activo. Finalmente, a pesar de estas limitaciones todas las investigaciones presentadas en la Tesis Doctoral son novedosas y aportan nuevos avances en el conocimiento científico en la materia.



Las conclusiones más destacadas que hemos obtenido relacionadas con las hipótesis de partida planteadas para las diferentes investigaciones que componen esta Tesis Doctoral son:

Conclusión 1

La ingesta aguda de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina en deportistas no tuvo efecto sobre la oxidación de los sustratos energéticos en reposo. Sin embargo, esta sustancia produjo un aumento significativo en el ritmo de oxidación de grasas durante el ejercicio en intensidades bajas y moderadas.

Conclusión 2

La ingesta aguda de $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina no mejoró el rendimiento físico de los atletas en una competición de sprint simulada. Tampoco mejoró el rendimiento físico en ciclistas de élite.

Conclusión 3

Aunque la ingesta aguda de $1, 2$ y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina fue efectiva para aumentar significativamente el ritmo de oxidación de grasas en comparación con el placebo, los mayores efectos se encontraron con 2 y $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. Por lo tanto, la ingesta de una dosis de al menos 2 mg de *p*-sinefrina por kg de masa corporal sería necesaria para obtener una mayor oxidación de grasas durante el ejercicio de intensidad baja a moderada.

Conclusión 4

Tanto la ingesta de *p*-sinefrina como la de cafeína de forma aislada aumentaron el ritmo de oxidación de grasas en intensidades bajas y moderadas (entre 40% y 70% de $\text{VO}_{2\text{max}}$). Sin embargo, la combinación de *p*-sinefrina y cafeína no produjo un efecto sinérgico en la estimulación de la oxidación de las grasas.

Conclusión 5

La ingesta de hasta $3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ de *p*-sinefrina ingerida de manera aislada no modificó las variables cardiovasculares en reposo y ejercicio, lo que unido a la ausencia de efectos secundarios durante los ensayos y en las siguientes horas, puede indicar que en estas dosis es segura para individuos sanos y activos.



9

CONFLICTO DE INTERESES



La realización de las investigaciones se llevó a cabo sin ningún tipo de apoyo por parte de empresas de suplementación dietética o deportiva. Las investigaciones que componen esta Tesis Doctoral no recibieron financiación económica de ningún tipo. No existen relaciones personales o comerciales que puedan haber influido en el trabajo presentado.

- Abian, P., Del Coso, J., Salinero, J. J., Gallo-Salazar, C., Areces, F., Ruiz-Vicente, D., . . . Abian-Vicen, J. (2015). The ingestion of a caffeinated energy drink improves jump performance and activity patterns in elite badminton players. *Journal of sports sciences*, 33(10), 1042-1050. doi: 10.1080/02640414.2014.981849
- Achten, J., Gleeson, M., y Jeukendrup, A. E. (2002). Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 34(1), 92-97.
- Achten, J., y Jeukendrup, A. E. (2003). The effect of pre-exercise carbohydrate feedings on the intensity that elicits maximal fat oxidation. *Journal of sports sciences*, 21(12), 1017-1024. doi: 10.1080/02640410310001641403
- Alkhatib, A., Seijo, M., Larumbe, E., y Naclerio, F. (2015). Acute effectiveness of a "fat-loss" product on substrate utilization, perception of hunger, mood state and rate of perceived exertion at rest and during exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12, 44. doi: 10.1186/s12970-015-0105-8
- Anderson, D. E., y Hickey, M. S. (1994). Effects of caffeine on the metabolic and catecholamine responses to exercise in 5 and 28 degrees C. *Medicine and science in sports and exercise*, 26(4), 453-458.
- Arbo, M. D., Larentis, E. R., Linck, V. M., Aboy, A. L., Pimentel, A. L., Henriques, A. T., . . . Limberger, R. P. (2008). Concentrations of p-syneprine in fruits and leaves of Citrus species (Rutaceae) and the acute toxicity testing of Citrus aurantium extract and p-syneprine. *Food and Chemical Toxicology*, 46(8), 2770-2775. doi: 10.1016/j.fct.2008.04.037
- Arbo, M. D., Schmitt, G. C., Limberger, M. F., Charao, M. F., Moro, A. M., Ribeiro, G. L., . . . Limberger, R. P. (2009). Subchronic toxicity of Citrus aurantium L. (Rutaceae) extract and p-syneprine in mice. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 54(2), 114-117. doi: 10.1016/j.yrtph.2009.03.001

- Arch, J. R. (2002). beta(3)-Adrenoceptor agonists: potential, pitfalls and progress. *European Journal of Pharmacology*, 440(2-3), 99-107. doi: S0014299902014218
- Armstrong, W. J., Johnson, P., y Duhme, S. (2001). The effect of commercial thermogenic weight loss supplement in body composition and energy expenditure in obese adults. *Journal of Exercise Physiology*, 4, 28-35.
- Attwood, A. S., Higgs, S., y Terry, P. (2007). Differential responsiveness to caffeine and perceived effects of caffeine in moderate and high regular caffeine consumers. *Psychopharmacology*, 190(4), 469-477. doi: 10.1007/s00213-006-0643-5
- Avula, B., Upparapalli, S. K., Navarrete, A., y Khan, I. A. (2005). Simultaneous quantification of adrenergic amines and flavonoids in *C. aurantium*, various Citrus species, and dietary supplements by liquid chromatography. *Journal of AOAC International* 88(6), 1593-1606.
- Bazzucchi, I., Felici, F., Montini, M., Figura, F., y Sacchetti, M. (2011). Caffeine improves neuromuscular function during maximal dynamic exercise. *Muscle & nerve*, 43(6), 839-844. doi: 10.1002/mus.21995
- Beaumont, R., Cordery, P., Funnell, M., Mears, S., James, L., y Watson, P. (2017). Chronic ingestion of a low dose of caffeine induces tolerance to the performance benefits of caffeine. *Journal of sports sciences*, 35(19), 1920-1927. doi: 10.1080/02640414.2016.1241421
- Branchek, T. A., y Blackburn, T. P. (2003). Trace amine receptors as targets for novel therapeutics: legend, myth and fact. *Current Opinion in Pharmacology*, 3, 90-97.
- Brouwer, E. (1957). On simple formulae for calculating the heat expenditure and the quantities of carbohydrate and fat oxidized in metabolism of men and animals, from gaseous exchange (Oxygen intake and carbonic acid output) and urine-N. *Acta physiologica et pharmacologica Neerlandica*, 6, 795-802.
- Brunton, L., Lazo, J., y Parker, K. (2005). *Pharmacological Basis of Therapeutics*. McGraw-Hill.
- Bush, J. A., Ratamess, N. A., Stohs, S. J., Ellis, N. L., Vought, I. T., O'Grady, E. A., . . . Faigenbaum, A. D. (2018). Acute hematological and mood perception effects of bitter orange extract (p-synephrine) consumed alone and in combination with caffeine: A placebo-controlled, double-blind study. *Phytotherapy research : PTR*, 32(8), 1593-1607. doi: 10.1002/ptr.6090
- Campbell, B., Willborn, C., La Bounty, P., Taylor, L., Nelson, M. T., Greenwood, M., . . . Kreider, R. B. (2013). International Society of Sports Nutrition position stand: energy drinks. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 10(1), 1. doi: 10.1186/1550-2783-10-1
- Castagna, C., y Castellini, E. (2013). Vertical jump performance in italian male and female national team soccer players. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*, 27(4), 1156-1161. doi: 10.1519/JSC.0b013e3182610999
- Cohen, J. (1988). *Statistical Power Analysis for the behavioral Sciences*. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates.
- Colker, C. M., S., K. D., Torina, G. C., y Chris Street, T. P. (1999). Effects of Citrus aurantium extract, caffeine and St John's wort on body fat loss, lipid levels and mood states in normal weight and obese individuals. *Current Therapeutic Research*, 60(3), 145-153.
- Collomp, K., Ahmaidi, S., Chatard, J. C., Audran, M., y Prefaut, C. (1992). Benefits of caffeine ingestion on sprint performance in trained and untrained swimmers. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 64(4), 377-380.
- Costill, D. L., Dalsky, G. P., y Fink, W. J. (1978). Effects of caffeine ingestion on metabolism and exercise performance. *Medicine and science in sports*, 10(3), 155-158.
- Cruz, R. S., de Aguiar, R. A., Turnes, T., Guglielmo, L. G., Beneke, R., y Caputo, F. (2015). Caffeine Affects Time to Exhaustion and Substrate Oxidation during Cycling at Maximal Lactate Steady State. *Nutrients*, 7(7), 5254-5264. doi: 10.3390/nu7075219

- Davis, J. M., Zhao, Z., Stock, H. S., Mehl, K. A., Buggy, J., y Hand, G. A. (2003). Central nervous system effects of caffeine and adenosine on fatigue. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*, 284(2), R399-404. doi: 10.1152/ajpregu.00386.2002
- Dean, S., Braakhuis, A., y Paton, C. (2009). The effects of EGCG on fat oxidation and endurance performance in male cyclists. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 19(6), 624-644.
- Del Coso, J., Estevez, E., y Mora-Rodriguez, R. (2008). Caffeine effects on short-term performance during prolonged exercise in the heat. *Medicine and science in sports and exercise*, 40(4), 744-751. doi: 10.1249/MSS.0b013e3181621336
- Del Coso, J., Hamouti, N., Ortega, J. F., y Mora-Rodriguez, R. (2010). Aerobic fitness determines whole-body fat oxidation rate during exercise in the heat. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 35(6), 741-748. doi: 10.1139/H10-068
- Del Coso, J., Munoz-Fernandez, V. E., Munoz, G., Fernandez-Elias, V. E., Ortega, J. F., Hamouti, N., . . . Munoz-Guerra, J. (2012). Effects of a caffeine-containing energy drink on simulated soccer performance. *PloS one*, 7(2), e31380. doi: 10.1371/journal.pone.0031380
- Del Coso, J., Perez-Lopez, A., Abian-Vicen, J., Salinero, J. J., Lara, B., y Valades, D. (2014). Enhancing physical performance in male volleyball players with a caffeine-containing energy drink. *International journal of sports physiology and performance*, 9(6), 1013-1018. doi: 10.1123/ijsp.2013-0448
- Del Coso, J., Portillo, J., Munoz, G., Abian-Vicen, J., Gonzalez-Millan, C., y Munoz-Guerra, J. (2013). Caffeine-containing energy drink improves sprint performance during an international rugby sevens competition. *Amino acids*, 44(6), 1511-1519. doi: 10.1007/s00726-013-1473-5
- Del Coso, J., Salinero, J. J., Gonzalez-Millan, C., Abian-Vicen, J., y Perez-Gonzalez, B. (2012). Dose response effects of a caffeine-containing energy drink on muscle performance: a repeated measures design. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 9(1), 21. doi: 10.1186/1550-2783-9-21
- Diaz-Lara, F. J., Del Coso, J., Garcia, J. M., Portillo, L. J., Areces, F., y Abian-Vicen, J. (2016). Caffeine improves muscular performance in elite Brazilian Jiu-jitsu athletes. *European journal of sport science*, 16(8), 1079-1086. doi: 10.1080/17461391.2016.1143036
- Docherty, J. R. (2008). Pharmacology of stimulants prohibited by the World Anti-Doping Agency (WADA). *British journal of pharmacology*, 154(3), 606-622. doi: 10.1038/bjp.2008.124
- Donnelly, K., y McNaughton, L. (1992). The effects of two levels of caffeine ingestion on excess postexercise oxygen consumption in untrained women. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 65(5), 459-463.
- Dragull, K., Breksa, A. P., 3rd, y Cain, B. (2008). Synephrine content of juice from Satsuma mandarins (Citrus unshiu Marcovitch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(19), 8874-8878. doi: 10.1021/jf801225n
- Edvardsen, E., Hem, E., y Anderssen, S. A. (2014). End criteria for reaching maximal oxygen uptake must be strict and adjusted to sex and age: a cross-sectional study. *Plos One*, 9(1), e85276. doi: 10.1371/journal.pone.0085276
- Febbraio, M. A., Snow, R. J., Stathis, C. G., Hargreaves, M., y Carey, M. F. (1994). Effect of heat stress on muscle energy metabolism during exercise. *Journal of applied physiology. Bethesda, Md. : 1985*, 77(6), 2827-2831.
- Fernandez-Elias, V. E., Del Coso, J., Hamouti, N., Ortega, J. F., Munoz, G., Munoz-Guerra, J., y Mora-Rodriguez, R. (2015). Ingestion of a moderately high caffeine dose before exercise increases postexercise energy expenditure. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 25(1), 46-53. doi: 10.1123/ijsnem.2014-0037
- Food and Drug Administration. (2004). Dietary supplements containing ephedrine alkaloids adulterated because they present an unreasonable risk; final rule. *Journal of pain & palliative care pharmacotherapy*, 18(3), 95-107.
- Frayn, K. N. (1983). Calculation of substrate oxidation rates in vivo from gaseous exchange. *Journal of applied physiology: respiratory, environmental and exercise physiology* 55(2), 628-634.

- Fredholm, B. B. (2010). Adenosine receptors as drug targets. *Experimental cell research*, 316(8), 1284-1288. doi: 10.1016/j.yexcr.2010.02.004
- Fredholm, B. B., Yang, J., y Wang, Y. (2017). Low, but not high, dose caffeine is a readily available probe for adenosine actions. *Molecular aspects of medicine*, 55, 20-25. doi: 10.1016/j.mam.2016.11.011
- Fugh-Berman, A., y Myers, A. (2004). Citrus aurantium, an ingredient of dietary supplements marketed for weight loss: current status of clinical and basic research. *Experimental Biology and Medicine*, 229(8), 698-704. doi: 229/8/698
- García-López, J., Morante, J., Ogueta-Alday, A., González-Lázaro, J., Rodríguez-Marroyo, J., y Villa, G. (2012). The use of single- and dual-beam photocells to measure the sprint time: DSD Laser System®. *Revista Internacional Medicina y Ciencias del Deporte*, 30, 324-333.
- Glaister, M., Howatson, G., Abraham, C. S., Lockey, R. A., Goodwin, J. E., Foley, P., y McInnes, G. (2008). Caffeine supplementation and multiple sprint running performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 40(10), 1835-1840. doi: 10.1249/MSS.0b013e31817a8ad2
- Glass, G., McGaw, B., y Smith, M. (1981). Meta-Analysis in social research. *SAGE Publishing Jobs in Newbury Park, CA | Glassdoor*.
- Goldstein, E. R., Ziegenfuss, T., Kalman, D., Kreider, R., Campbell, B., Wilborn, C., . . . Antonio, J. (2010). International society of sports nutrition position stand: caffeine and performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 7(1), 5. doi: 10.1186/1550-2783-7-5
- Goncalves, L. S., Painelli, V. S., Yamaguchi, G., Oliveira, L. F., Saunders, B., da Silva, R. P., . . . Gualano, B. (2017). Dispelling the myth that habitual caffeine consumption influences the performance response to acute caffeine supplementation. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 123(1), 213-220. doi: 10.1152/jappphysiol.00260.2017
- Gonzalez, J. T., y Stevenson, E. J. (2012). New perspectives on nutritional interventions to augment lipid utilisation during exercise. *The British journal of nutrition*, 107(3), 339-349. doi: 10.1017/S0007114511006684
- Gougeon, R., Harrigan, K., Tremblay, J. F., Hedrei, P., Lamarche, M., y Morais, J. A. (2005). Increase in the thermic effect of food in women by adrenergic amines extracted from citrus aurantium. *Obesity Research & Clinical Practice*, 13(7), 1187-1194. doi: 10.1038/oby.2005.141
- Graham, T. E. (2001). Caffeine and exercise: metabolism, endurance and performance. *Sports Medicine*, 31(11), 785-807. doi: 10.2165/00007256-200131110-00002
- Graham, T. E., Battram, D. S., Dela, F., El-Sohehy, A., y Thong, F. S. (2008). Does caffeine alter muscle carbohydrate and fat metabolism during exercise? *Applied physiology, nutrition, and metabolism = Physiologie appliquee, nutrition et metabolisme*, 33(6), 1311-1318. doi: 10.1139/h08-129
- Graham, T. E., y Spriet, L. L. (1995). Metabolic, catecholamine, and exercise performance responses to various doses of caffeine. *Journal of Applied Physiology*, 78(3), 867-874. doi: 10.1152/jappl.1995.78.3.867
- Grandy, D. K. (2007). Trace amine-associated receptor 1-Family archetype or iconoclast? *Pharmacology & Therapeutics*, 116(3), 355-390. doi: S0163-7258(07)00145-3
- Gutierrez-Hellin, J., y Del Coso, J. (2016). Acute p-syneprine ingestion increases fat oxidation rate during exercise. *British journal of clinical pharmacology*, 82(2), 362-368. doi: 10.1111/bcp.12952
- Gutierrez-Hellin, J., y Del Coso, J. (2018). Dose-Response Effects of p-Syneprine on Fat Oxidation Rate During Exercise of Increasing Intensity. *Phytotherapy research : PTR*, 32(2), 370-374. doi: 10.1002/ptr.5937
- Gutiérrez-Hellín, J., Del Coso, J., y García Pastor, T. (2014). p-Syneprine, exercise, weight loss and health. *AGON International Journal of Sport Sciences*, 4(2), 127-137.
- Gutierrez-Hellin, J., Salinero, J. J., Abian-Vicen, J., Areces, F., Lara, B., Gallo, C., . . . Del Coso, J. (2016). Acute consumption of p-syneprine does not enhance performance in sprint athletes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(1), 63-69. doi: 10.1139/apnm-2015-0299

- Haaz, S., Fontaine, K. R., Cutter, G., Limdi, N., Perumean-Chaney, S., y Allison, D. B. (2006). Citrus aurantium and synephrine alkaloids in the treatment of overweight and obesity: an update. *Obesity Reviews*, 7(1), 79-88. doi: 10.1111/j.1467-789X.2006.00195.x
- Hakooz, N. M. (2009). Caffeine metabolic ratios for the in vivo evaluation of CYP1A2, N-acetyltransferase 2, xanthine oxidase and CYP2A6 enzymatic activities. *Current drug metabolism*, 10(4), 329-338.
- Haller, C. A., Benowitz, N. L., y Jacob, P., 3rd. (2005). Hemodynamic effects of ephedra-free weight-loss supplements in humans. *The American Journal of Medicine*, 118(9), 998-1003. doi: 10.1016/j.amjmed.2005.02.034
- Haller, C. A., Duan, M., Jacob, P., 3rd, y Benowitz, N. (2008). Human pharmacology of a performance-enhancing dietary supplement under resting and exercise conditions. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 65(6), 833-840. doi: BCP3144 [pii] 10.1111/j.1365-2125.2008.03144.x
- Heckman, M. A., Weil, J., y Gonzalez de Mejia, E. (2010). Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine) in foods: a comprehensive review on consumption, functionality, safety, and regulatory matters. *Journal of food science*, 75(3), R77-87. doi: 10.1111/j.1750-3841.2010.01561.x
- Hodgson, A. B., Randell, R. K., y Jeukendrup, A. E. (2013). The metabolic and performance effects of caffeine compared to coffee during endurance exercise. *PLoS one*, 8(4), e59561. doi: 10.1371/journal.pone.0059561
- Hoffman, J. R., Kang, J., Ratamess, N. A., Jennings, P. F., Mangine, G., y Faigenbaum, A. D. (2006). Thermogenic effect from nutritionally enriched coffee consumption. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 3, 35-41. doi: 10.1186/1550-2783-3-1-35
- Hursel, R., Viechtbauer, W., Dulloo, A. G., Tremblay, A., Tappy, L., Rumpler, W., y Westerterp-Plantenga, M. S. (2011). The effects of catechin rich teas and caffeine on energy expenditure and fat oxidation: a meta-analysis. *Obesity reviews: an official journal of the International Association for the Study of Obesity*, 12(7), e573-581. doi: 10.1111/j.1467-789X.2011.00862.x
- Hursel, R., y Westerterp-Plantenga, M. S. (2010). Thermogenic ingredients and body weight regulation. *International journal of obesity (2005)*, 34(4), 659-669. doi: 10.1038/ijo.2009.299
- Hwa, J., y Perez, D. M. (1996). The unique nature of the serine interactions for alpha 1-adrenergic receptor agonist binding and activation. *The Journal of biological chemistry*, 271(11), 6322-6327.
- Jeukendrup, A. E., Saris, W. H., y Wagenmakers, A. J. (1998). Fat metabolism during exercise: a review--part III: effects of nutritional interventions. *International journal of sports medicine*, 19(6), 371-379. doi: 10.1055/s-2007-971932
- Jo, E., Lewis, K. L., Higuera, D., Hernandez, J., Osmond, A. D., Directo, D. J., y Wong, M. (2016). Dietary Caffeine and Polyphenol Supplementation Enhances Overall Metabolic Rate and Lipid Oxidation at Rest and After a Bout of Sprint Interval Exercise. *Journal of strength and conditioning research*, 30(7), 1871-1879. doi: 10.1519/jsc.0000000000001277
- Johnson, T. M., Brown, L. E., Coburn, J. W., Judelson, D. A., Khamoui, A. V., Tran, T. T., y Uribe, B. P. (2010). Effect of four different starting stances on sprint time in collegiate volleyball players. *Journal of strength and conditioning research / National Strength & Conditioning Association*, 24(10), 2641-2646. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181f159a3
- Jordan, S., Murty, M., y Pilon, K. (2004). Products containing bitter orange or synephrine: suspected cardiovascular adverse reactions. *Canadian Medical Association Journal*, 171(8), 993-994.
- Jung, Y. P., Earnest, C. P., Koozehchian, M., Galvan, E., Dalton, R., Walker, D., . . . Kreider, R. B. (2017). Effects of acute ingestion of a pre-workout dietary supplement with and without p-synephrine on resting energy expenditure, cognitive function and exercise performance. *Journal of International Society of Sports Nutrition*, 14, 3. doi: 10.1186/s12970-016-0159-2
- Kaats, G. R., Miller, H., Preuss, H. G., y Stohs, S. J. (2013). A 60day double-blind, placebo-controlled safety study involving Citrus aurantium (bitter orange) extract. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 358-362. doi: 10.1016/j.fct.2013.01.013
- Kaefer, C. (2014). *Synephrine development and validation of a stability indicating method and preliminary stability study of Citrus aurantium L. dry extract*. A Dissertation, Federal University of Pampa, Uruguay.

- Kalman, D. S., Colker, C. M., Shi, Q., y Swain, M. A. (2000). Effects of a weight-loss aid in healthy overweight adults: double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Current Therapeutic Research*, *61*, 199-205.
- Kamimori, G. H., Karyekar, C. S., Otterstetter, R., Cox, D. S., Balkin, T. J., Belenky, G. L., y Eddington, N. D. (2002). The rate of absorption and relative bioavailability of caffeine administered in chewing gum versus capsules to normal healthy volunteers. *International journal of pharmaceutics*, *234*(1-2), 159-167.
- Killen, L. G., Green, J. M., O'Neal, E. K., McIntosh, J. R., Hornsby, J., y Coates, T. E. (2013). Effects of caffeine on session ratings of perceived exertion. *European journal of applied physiology*, *113*(3), 721-727. doi: 10.1007/s00421-012-2480-z
- Kluszczewicz, B., Bechke, E., Williamson, C., Bailey, P., Hoffstetter, W., McLester, J., y McLester, C. (2018). The influence of citrus aurantium and caffeine complex versus placebo on the cardiac autonomic response: a double blind crossover design. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, *15*(1), 34. doi: 10.1186/s12970-018-0240-0
- Kusu, F., Matsumoto, K., Arai, K., y Takamura, K. (1996). Determination of synephrine enantiomers in food and conjugated synephrine in urine by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *Analytical Biochemistry*, *235*(2), 191-194. doi: 10.1006/abio.1996.0111
- Lara, B., Gonzalez-Millan, C., Salinero, J. J., Abian-Vicen, J., Areces, F., Barbero-Alvarez, J. C., . . . Del Coso, J. (2014). Caffeine-containing energy drink improves physical performance in female soccer players. *Amino acids*, *46*(5), 1385-1392. doi: 10.1007/s00726-014-1709-z
- Lara, B., Ruiz-Vicente, D., Areces, F., Abian-Vicen, J., Salinero, J. J., Gonzalez-Millan, C., . . . Del Coso, J. (2015). Acute consumption of a caffeinated energy drink enhances aspects of performance in sprint swimmers. *The British journal of nutrition*, *114*(6), 908-914. doi: 10.1017/s0007114515002573
- Ma, G., Bavadekar, S. A., Schaneberg, B. T., Khan, I. A., y Feller, D. R. (2010). Effects of synephrine and beta-phenethylamine on human alpha-adrenoceptor subtypes. *Planta Med*, *76*(10), 981-986. doi: 10.1055/s-0029-1240884
- Magkos, F., y Kavouras, S. A. (2005). Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action. *Critical reviews in food science and nutrition*, *45*(7-8), 535-562. doi: 10.1080/1040-830491379245
- Medana, C., Calza, P., Giacotti, V., Dal Bello, F., Aragno, M., y Baiocchi, C. (2013). Study of the photocatalytic transformation of synephrine: a biogenic amine relevant in anti-doping analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *405*(2-3), 1105-1113. doi: 10.1007/s00216-012-6593-3
- Mercader, J., Wanecq, E., Chen, J., y Carpené, C. (2011). Isopropylornsynephrine is a stronger lipolytic agent in human adipocytes than synephrine and other amines present in Citrus aurantium. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *67*(3), 443-452. doi: 21336650
- Min, B., Cios, D., Kluger, J., y White, C. (2005). Absence of QTc-interval-prolonging or hemodynamic effects of a single dose of bitter-orange extract in healthy subjects. *Pharmacotherapy*, *12*(17), 19-24.
- Moro, C. O., y Basile, G. (2000). Obesity and medicinal plants. *Fitoterapia*, *71* Suppl 1, S73-82.
- Mumford, G. K., Benowitz, N. L., Evans, S. M., Kaminski, B. J., Preston, K. L., Sannerud, C. A., . . . Griffiths, R. R. (1996). Absorption rate of methylxanthines following capsules, cola and chocolate. *European journal of clinical pharmacology*, *51*(3-4), 319-325.
- Nordby, P., Saltin, B., y Helge, J. W. (2006). Whole-body fat oxidation determined by graded exercise and indirect calorimetry: a role for muscle oxidative capacity? *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *16*(3), 209-214. doi: 10.1111/j.1600-0838.2005.00480.x
- Pallares, J. G., Fernandez-Elias, V. E., Ortega, J. F., Munoz, G., Munoz-Guerra, J., y Mora-Rodriguez, R. (2013). Neuromuscular responses to incremental caffeine doses: performance and side effects. *Medicine and science in sports and exercise*, *45*(11), 2184-2192. doi: 10.1249/MSS.0b013e31829a6672
- Peeling, P., Binnie, M. J., Goods, P. S. R., Sim, M., y Burke, L. M. (2018). Evidence-Based Supplements for the Enhancement of Athletic Performance. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, *28*(2), 178-187. doi: 10.1123/ijsnem.2017-0343

- Pellati, F., y Benvenuti, S. (2007). Fast high-performance liquid chromatography analysis of phenethylamine alkaloids in Citrus natural products on a pentafluorophenylpropyl stationary phase. *Journal of Chromatography A*, 1165(1-2), 58-66. doi: 10.1016/j.chroma.2007.07.041
- Pellati, F., Benvenuti, S., y Melegari, M. (2004). High-performance liquid chromatography methods for the analysis of adrenergic amines and flavanones in Citrus aurantium L. var. amara. *Phytochemical Analysis*, 15(4), 220-225. doi: 10.1002/pca.771
- Pellati, F., Benvenuti, S., Melegari, M., y Firenzuoli, F. (2002). Determination of adrenergic agonists from extracts and herbal products of Citrus aurantium L. var. amara by LC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29(6), 1113-1119.
- Pellati, F., Cannazza, G., y Benvenuti, S. (2010). Study on the racemization of synephrine by off-column chiral high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1217(21), 3503-3510. doi: 10.1016/j.chroma.2010.03.026
- Penzak, S. R., Jann, M. W., Cold, J. A., Hon, Y. Y., Desai, H. D., y Gurley, B. J. (2001). Seville (sour) orange juice: synephrine content and cardiovascular effects in normotensive adults. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 41(10), 1059-1063.
- Perez-Lopez, A., Salinero, J. J., Abian-Vicen, J., Valades, D., Lara, B., Hernandez, C., . . . Del Coso, J. (2015). Caffeinated energy drinks improve volleyball performance in elite female players. *Medicine and science in sports and exercise*, 47(4), 850-856. doi: 10.1249/MSS.0000000000000455
- Poehlman, E. T., Despres, J. P., Bessette, H., Fontaine, E., Tremblay, A., y Bouchard, C. (1985). Influence of caffeine on the resting metabolic rate of exercise-trained and inactive subjects. *Medicine and science in sports and exercise*, 17(6), 689-694.
- Randell, R. K., Rollo, I., Roberts, T. J., Dalrymple, K. J., Jeukendrup, A. E., y Carter, J. M. (2017). Maximal Fat Oxidation Rates in an Athletic Population. *Medicine and science in sports and exercise*, 49(1), 133-140. doi: 10.1249/MSS.0000000000001084
- Ratamess, N. A., Bush, J. A., Kang, J., Kraemer, W. J., Stohs, S. J., Nocera, V. G., . . . Faigenbaum, A. D. (2016). The Effects of Supplementation with p-Synephrine Alone and in Combination with Caffeine on Metabolic, Lipolytic, and Cardiovascular Responses during Resistance Exercise. *Journal of the American College of Nutrition*, 35(8), 657-669. doi: 10.1080/07315724.2016.1150223
- Ratamess, N. A., Bush, J. A., Kang, J., Kraemer, W. J., Stohs, S. J., Nocera, V. G., . . . Faigenbaum, A. D. (2015). The effects of supplementation with P-Synephrine alone and in combination with caffeine on resistance exercise performance. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12, 35. doi: 10.1186/s12970-015-0096-5
- Ratamess, N. A., Bush, J. A., Stohs, S. J., Ellis, N. L., Vought, I. T., O'Grady, E. A., . . . Faigenbaum, A. D. (2018). Acute cardiovascular effects of bitter orange extract (p-synephrine) consumed alone and in combination with caffeine in human subjects: A placebo-controlled, double-blind study. *Phytotherapy research : PTR*, 32(1), 94-102. doi: 10.1002/ptr.5953
- Roman, M. C., Betz, J. M., y Hildreth, J. (2007). Determination of synephrine in bitter orange raw materials, extracts, and dietary supplements by liquid chromatography with ultraviolet detection: single-laboratory validation. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 90(1), 68-81.
- Romijn, J. A., Coyle, E. F., Sidossis, L. S., Gastaldelli, A., Horowitz, J. F., Endert, E., y Wolfe, R. R. (1993). Regulation of endogenous fat and carbohydrate metabolism in relation to exercise intensity and duration. *American Journal of Physiology*, 265(3 Pt 1), E380-391.
- Rossato, L. G., Costa, V., de Pinho, P. G., Carvalho, F. I., de Lourdes Bastos, M., y Remião, F. (2011). Structural isomerization of synephrine influences its uptake and ensuing glutathione depletion in rat-isolated cardiomyocytes. *Archives of Toxicology*, 85(8), 929-939.
- Rossato, L. G., Costa, V. M., Limberger, R. P., Bastos Mde, L., y Remiao, F. (2011). Synephrine: from trace concentrations to massive consumption in weight-loss. *Food and Chemical Toxicology*, 49(1), 8-16. doi: 10.1016/j.fct.2010.11.007

- Rossato, L. G., de Pinho, P. G., Silva, R., Carmo, H., Carvalho, F., Bastos Mde, L., . . . Remiao, F. (2010). Development and validation of a GC/IT-MS method for simultaneous quantitation of para and meta-synephrine in biological samples. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 52(5), 721-726. doi: 10.1016/j.jpba.2010.02.022
- Sale, C., Harris, R. C., Delves, S., y Corbett, J. (2006). Metabolic and physiological effects of ingesting extracts of bitter orange, green tea and guarana at rest and during treadmill walking in overweight males. *International Journal of Obesity*, 30(5), 764-773. doi: 10.1038/sj.ijo.0803209
- Salinero, J. J., Lara, B., Abian-Vicen, J., Gonzalez-Millan, C., Areces, F., Gallo-Salazar, C., . . . Del Coso, J. (2014). The use of energy drinks in sport: perceived ergogenicity and side effects in male and female athletes. *The British journal of nutrition*, 112(9), 1494-1502. doi: 10.1017/s0007114514002189
- Schubert, M. M., Hall, S., Leveritt, M., Grant, G., Sabapathy, S., y Desbrow, B. (2014). Caffeine consumption around an exercise bout: effects on energy expenditure, energy intake, and exercise enjoyment. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 117(7), 745-754. doi: 10.1152/jappphysiol.00570.2014
- Seifert, J. G., Nelson, A., Devonish, J., Burke, E. R., y Stohs, S. J. (2011). Effect of acute administration of an herbal preparation on blood pressure and heart rate in humans. *International Journal of Medical Sciences*, 8(3), 192-197.
- Shara, M., Stohs, S. J., y Mukattash, T. L. (2016). Cardiovascular Safety of Oral p-Synephrine (Bitter Orange) in Healthy Subjects: A Randomized Placebo-Controlled Cross-over Clinical Trial. *Phytotherapy research : PTR*, 30(5), 842-847. doi: 10.1002/ptr.5590
- Shara, M., Stohs, S. J., y Smadi, M. M. (2018). Safety evaluation of p-synephrine following 15 days of oral administration to healthy subjects: A clinical study. *Phytotherapy research : PTR*, 32(1), 125-131. doi: 10.1002/ptr.5956
- Sidney, J. S., y Harry, G. P. (2012). Stereochemical and pharmacological differences between naturally occurring p-synephrine and synthetic p-synephrine. *Journal of Functional Foods*, 4.
- Sokmen, B., Armstrong, L. E., Kraemer, W. J., Casa, D. J., Dias, J. C., Judelson, D. A., y Maresh, C. M. (2008). Caffeine use in sports: considerations for the athlete. *Journal of strength and conditioning research*, 22(3), 978-986. doi: 10.1519/JSC.0b013e3181660cec
- Southward, K., Rutherford-Markwick, K. J., y Ali, A. (2018). The Effect of Acute Caffeine Ingestion on Endurance Performance: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sports Medicine*, 48(8), 1913-1928. doi: 10.1007/s40279-018-0939-8
- Souza, D. B., Del Coso, J., Casonatto, J., y Polito, M. D. (2017). Acute effects of caffeine-containing energy drinks on physical performance: a systematic review and meta-analysis. *European journal of nutrition*, 56(1), 13-27. doi: 10.1007/s00394-016-1331-9
- Stohs, S. J. (2010). Assessment of the adverse event reports associated with Citrus aurantium (bitter orange) from April 2004 to October 2009. *Journal of Functional Foods*, 2(235-238).
- Stohs, S. J. (2013). Problems with Citrus aurantium information in "A review on botanical species and chemical compounds with appetite suppressing properties for body weight control". *Plant Foods for Human Nutrition*, 68(3), 329-331. doi: 10.1007/s11130-013-0376-7
- Stohs, S. J. (2017). Safety, Efficacy, and Mechanistic Studies Regarding Citrus aurantium (Bitter Orange) Extract and p-Synephrine. *Phytotherapy research : PTR*, 31(10), 1463-1474. doi: 10.1002/ptr.5879
- Stohs, S. J., Preuss, H. G., Keith, S. C., Keith, P. L., Miller, H., y Kaats, G. R. (2011). Effects of p-synephrine alone and in combination with selected bioflavonoids on resting metabolism, blood pressure, heart rate and self-reported mood changes. *International Journal of Medical Sciences*, 8(4), 295-301.
- Stohs, S. J., Preuss, H. G., y Shara, M. (2011). A review of the receptor-binding properties of p-synephrine as related to its pharmacological effects. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2011, 482973. doi: 10.1155/2011/482973

- Stohs, S. J., Preuss, H. G., y Shara, M. (2012). A review of the human clinical studies involving Citrus aurantium (bitter orange) extract and its primary protoalkaloid p-synephrine. *International Journal of Medical Sciences*, 9(7), 527-538.
- Stuart, G. R., Hopkins, W. G., Cook, C., y Cairns, S. P. (2005). Multiple effects of caffeine on simulated high-intensity team-sport performance. *Medicine and science in sports and exercise*, 37(11), 1998-2005.
- Takagi, M., Kimura, K., Nakashima, K. I., Hirai, T., y Inoue, M. (2018). Induction of beige adipocytes by naturally occurring beta3-adrenoceptor agonist p-synephrine. *European journal of pharmacology*, 836, 67-74. doi: 10.1016/j.ejphar.2018.08.011
- Takagi, S., Sakamoto, S., Midorikawa, T., Konishi, M., y Katsumura, T. (2014). Determination of the exercise intensity that elicits maximal fat oxidation in short-time testing. *Journal of sports sciences*, 32(2), 175-182. doi: 10.1080/02640414.2013.815360
- Van Soeren, M. H., Sathasivam, P., Spriet, L. L., y Graham, T. E. (1993). Caffeine metabolism and epinephrine responses during exercise in users and nonusers. *Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, 75(2), 805-812. doi: 10.1152/jappl.1993.75.2.805
- WADA. (2014). World Anti-Doping agency.
- WADA. (2015). World Anti-Doping Code. Consultado el 04/12/2017, de http://www.wada-ama.org/Documents/World_Anti-Doping_Program/WADP-The-Code/Code_Review/Code%20Review%202015/Code%20Final%20Draft/WADA-2015-World-Anti-Doping-Code.pdf
- Wang, Z., Ouyang, J., y Baeyens, W. R. (2008). Recent developments of enantioseparation techniques for adrenergic drugs using liquid chromatography and capillary electrophoresis: a review. *Journal of chromatography. B, Analytical technologies in the biomedical and life sciences*, 862(1-2), 1-14. doi: 10.1016/j.jchromb.2007.11.034
- World Health Organization. (2015). Enfermedades cardiovasculares. Consultado el 06/05/2018, de <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>
- Zenk, J. L., Leikam, S. A., Kassen, L. J., y Kuskowski, M. A. (2005). Effect of lean system 7 on metabolic rate and body composition. *Nutrition*, 21(2), 179-185. doi: 10.1016/j.nut.2004.05.025
- Zheng, X., Guo, L., Wang, D., y Deng, X. (2014). p-Synephrine: A novel agonist for neuromedin U2 receptor. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. doi: DN/JST.JSTAGE/bpb/b13-00788



11

ANEXOS



Anexo 1. Comité de ética de investigación <i>p</i> -sinefrina	171
Anexo 2. Estudio 1. Gutierrez-Hellin, J., Salinero, J. J., Abian-Vicen, J., Areces, F., Lara, B., Gallo, C., Del Coso, J. (2016). Acute consumption of <i>p</i> -synephrine does not enhance performance in sprint athletes. <i>Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism</i> , 41(1), 63-69. doi: 10.1139/apnm-2015-0299	173
Anexo 3. Estudio 2. Gutierrez-Hellin, J., y Del Coso, J. (2016). Acute <i>p</i> -synephrine ingestion increases fat oxidation rate during exercise. <i>British journal of clinical pharmacology</i> , 82(2), 362-368. doi: 10.1111/bcp.12952	181
Anexo 4. Estudio 3. Gutierrez-Hellin, J., y Del Coso, J. (2018). Dose-Response Effects of <i>p</i> -Synephrine on Fat Oxidation Rate During Exercise of Increasing Intensity. <i>Phytotherapy research</i> : PTR, 32(2), 370-374. doi: 10.1002/ptr.5937	189
Anexo 5. Estudio 4. Gutierrez-Hellin, J., y Del Coso, J. (2018). Effects of <i>p</i> -Synephrine and Caffeine Ingestion on Substrate Oxidation during Exercise. <i>Medicine and science in sports and exercise</i> , 50(9), 1899-1906. doi: 10.1249/MSS	195
Anexo 6. Estudio 5. Effects of <i>p</i> -synephrine ingestion on fat oxidation rate during exercise of increasing intensity in elite cyclists. Bajo revisión a fecha de presentación de la presente Tesis Doctoral	203
Anexo 7. Certificado Congreso Internacional <i>European College of Sport Science</i> 2014. Ámsterdan, Países Bajos	223
Anexo 8. IX Congreso Internacional de la Asociación Española de Ciencias del Deporte. Jorge Gutiérrez Hellín. 2016. Toledo, Castilla la Mancha, España	225
Anexo 9. X Congreso Internacional de la Asociación Española de Ciencias del Deporte. Jorge Gutiérrez Hellín. 2018. A Coruña, Galicia, España	227
Anexo 10. Premio a la mejor comunicación oral en el área de fisiología del ejercicio y biomecánica. X Congreso Internacional de la Asociación Española de Ciencias del Deporte. Jorge Gutiérrez Hellín. 2018. A Coruña, Galicia, España	229
Anexo 11. Consentimiento informado Prueba de Rendimiento <i>American College of Sport Medicine</i>	231
Anexo 12. Consentimiento informado <i>p</i> -sinefrina	233
Anexo 13. Cuestionario efectos secundarios	234
Anexo 14. Hoja de toma de datos prueba rendimiento incremental	237
Anexo 15. Hoja de toma de datos Estudio 3	239
Anexo 16. Hoja de toma de datos Estudio 6	241



Dr. Francisco López Muñoz, Presidente del Comité Ético de Investigación de la Universidad Camilo José Cela (CEI-UCJC)

CERTIFICA

Que en la reunión del CEI-UCJC celebrada el día 15 / 04 / 2016 se analizó el formulario de solicitud del proyecto de investigación SINEFRINA (investigador principal Dr. Juan del Coso Garrigós.

Que se acordó por unanimidad, al considerar correctos y adecuados los aspectos éticos, metodológicos y legales del estudio, la aprobación del mismo por el CEI-UCJC.

Y para que conste, se expide el presente certificado en Madrid, a 18 de Abril de 2016.

Fdo. Dr. Francisco López Muñoz

European College of Sport Science



19th annual Congress of the
EUROPEAN COLLEGE OF SPORT SCIENCE

SPORT SCIENCE AROUND THE CANALS

2nd - 5th July 2014, Amsterdam - The Netherlands

Hosted by VU University Amsterdam



Thursday, 22 January 2015

Confirmation of Acceptance Presentation and Publication

To whom it may concern,

Hereby, we confirm that **Jorge Gutierrez Hellin's** abstract has been accepted at the 19th annual Congress of the ECSS in Amsterdam by the Scientific Committee.

Jorge Gutierrez Hellin presented the Mini Oral titled "EFFECTS OF ACUTE INGESTION OF P-SYNEPHRINE ON SPRINTERS' PERFORMANCE" at the 19th annual Congress of the ECSS in Amsterdam, The Netherlands (02nd – 05th of July 2014).

The abstract "EFFECTS OF ACUTE INGESTION OF P-SYNEPHRINE ON SPRINTERS' PERFORMANCE" by **Jorge Gutierrez Hellin** was also published in the Book of Abstracts of the 19th annual Congress of the ECSS in Amsterdam, The Netherlands (02nd – 05th of July 2014).

Yours sincerely,

Thomas Delaveaux
Executive Director



JOSÉ MANUEL GARCÍA GARCÍA, DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE DE LA UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA, EN CALIDAD DE PRESIDENTE DEL COMITÉ ORGANIZADOR DEL IX CONGRESO INTERNACIONAL DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE CIENCIAS DEL DEPORTE,

HAGO CONSTAR:

Que la **comunicación** denominada ***El consumo agudo de p-sinefrina aumenta el Fatmax durante el ejercicio incremental***, realizada por el/los autor/es: **Gutiérrez Hellín, Juan del Coso Garrigos**, ha sido presentada en el ***IX Congreso Internacional de la Asociación Española de Ciencias del Deporte***, celebrado en este Campus Tecnológico entre los días 21 y 23 de abril de 2016.

Y, para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Toledo, a veintitrés de abril de dos mil dieciséis.

Facultade de Ciencias do Deporte e a Educación Física
(INEF Galicia)



El Comité Científico

CERTIFICA QUE:

***Gutiérrez-Hellín, Jorge; Baltazar-Martins, Gabriel; Lara, Beatriz;
Ruiz-Moreno, Carlos; Aguilar, Millán; Del Coso, Juan***

Han presentado la comunicación:

***“Effects of p-Syneprine ingestion on fat oxidation rate during
exercise of increasing intensity in elite cyclists”***

*durante el X Congreso Internacional de la Asociación Española de
Ciencias del Deporte (AECCD), celebrado en Oleiros (A Coruña),
durante los días 21 a 23 de noviembre de 2018*

A blue ink signature of Fernando del Villar Álvarez.

Fernando del Villar Álvarez
Presidente de la AECCD



A blue ink signature of José Andrés Sánchez Molina.

José Andrés Sánchez Molina
Secretario del Comité Científico





**X CONGRESO INTERNACIONAL DE LA
ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE CIENCIAS DEL DEPORTE**

El Comité Científico otorga

EL PREMIO A LA COMUNICACIÓN DEL ÁREA DE FISIOLÓGIA DEL EJERCICIO Y BIOMECÁNICA, a la comunicación **"Effects of p-synephrine ingestion on fat oxidation rate during exercise of increasing intensity in elite ciclista"**, presentada por los autores **Gutiérrez-Hellín, Jorge; Baltazar-Martins, Gabriel; Lara, Beatriz; Ruíz Moreno, Carlos; Aguilar, Millán; Del Coso, Juan**, en el X Congreso Internacional de la Asociación Española de Ciencias del Deporte, organizado por la "Facultade de Ciencias do Deporte e a Educación Física" de la "Universidade de A Coruña", del 21 al 23 de noviembre de 2018.

Dr. Miguel González Valeiro
Presidente del Comité Organizador

Dr. Miguel Fernández del Olmo
Presidente del Comité Científico



A Coruña, 23 de noviembre de 2018

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PRUEBA DE RENDIMIENTO

NOMBRE Y APELLIDOS _____

DNI _____

Usted va a realizar una prueba de ejercicio sobre un ergómetro (cicloergómetro o tapiz rodante). La intensidad del ejercicio va a comenzar baja y se aumentara la carga en periodos de tiempo iguales hasta que se obtenga su máximo esfuerzo. Durante la prueba se le solicitará que respire a través de una careta o boquilla para analizar su consumo de oxígeno. Este procedimiento no le impedirá respirar normalmente el aire de la sala. Durante los estadios de la prueba se le podrá extraer una pequeña muestra de sangre por medio de punción en el pulpejo del dedo. Durante estas extracciones se seguirán procedimientos con la mayor asepsia posible para evitar la infección de las punciones. Además, se le monitorizará la frecuencia cardiaca a través de una banda elástica fijada a su pecho.

Nosotros podemos parar la prueba en cualquier momento si observamos en usted signos de fatiga anormales, cambios repentinos en su frecuencia cardiaca, presión sanguínea, u otros síntomas que usted pueda experimentar (mareos, descoordinación). Es importante que sepa que puede suspender la prueba en cualquier momento por sentir fatiga u otras molestias que no fuesen obvias para nosotros.

Existe la posibilidad que ocurran anomalías en la tensión arterial, alteración en el ritmo cardiaco o en raras ocasiones, fibrilación o parada cardio-respiratoria. Todos nuestros esfuerzos estarán encaminados a minimizar estos riesgos y se tendrá una observación cuidadosa durante la prueba. En caso de que se de una situación de emergencia de este tipo se le brindarán los primeros auxilios y se le trasladaría con la mayor celeridad al hospital más cercano.

La información que usted nos oculte o nos de inadecuadamente acerca de experiencias previas de síntomas relacionados con su sistema cardio-respiratorio (semejantes a dificultad respiratoria con bajo nivel de actividad física, dolor o sensación de opresión en el pecho, cuello, mandíbula, espalda o brazos) en relación a esfuerzos físicos puede afectar la seguridad de su prueba de rendimiento en forma negativa. La información acerca de cualquiera de estos síntomas durante la práctica del ejercicio es de vital importancia y debería de comunicárnoslo ahora mismo.

Igualmente debe usted decirnos los medicamentos que este tomando en los últimos días y especialmente los tomados el mismo día de la prueba.

Cualquier pregunta o duda que tenga usted acerca de la prueba, por favor debe hacérsela saber y se la resolveremos.

La información fruto de esta prueba de rendimiento será confidencial y no será revelada a ninguna persona, excepto a su médico y/o entrenador. Sin embargo, esta información puede ser usada para análisis estadísticos y propósitos científicos.

CONSENTIMIENTO:

Es así que acepto voluntariamente realizar la prueba de rendimiento para determinar el nivel de capacidad física y rendimiento deportivo. Entiendo que puedo parar la prueba en cualquier momento si así lo decidiese. Se me ha ofrecido una copia de esta hoja para quedármela si lo deseo.

He leído y entendido los procedimientos de la prueba de rendimiento y el riesgo que puede conllevar la misma y he tenido una respuesta satisfactoria a mis preguntas acerca de la misma.

Consiento pues en la prueba de rendimiento realizada en _____

Fecha **Firma del sujeto a estudio o su padre o tutor**

Fecha **Firma del testigo**



CONSENTIMIENTO INFORMADO

LABORATORIO DE FISIOLÓGIA DEL EJERCICIO

Título del Proyecto: Efectos de la ingesta aguda de p-sinefrina sobre el rendimiento deportivo y el metabolismo celular de los deportistas

D./Dña con fecha de nacimiento: y con DNI nº, manifiesta que ha sido convenientemente informado por el investigador responsable del proyecto, el Dr. Juan Del Coso Garrigós, quien le ha explicado las actividades que se van a realizar y ha resuelto todas sus dudas por lo que afirma que es conocedor de lo que su participación supone, incluyendo todos los beneficios y riesgos que podría suponer su participación en este estudio, que son los siguientes:

El beneficio derivado de tu participación será:

- A nivel individual: La posibilidad de obtener información sobre tu rendimiento deportivo con la ingesta de p-sinefrina, pudiendo tener, por tanto, si así lo solicitas, tus resultados de las diferentes pruebas realizadas.
- A nivel social: La obtención de información muy útil para establecer el efecto que tiene la p-sinefrina en el rendimiento deportivo, en las diferentes modalidades que vamos a estudiar.

Los riesgos derivados de tu participación se limitan a:

- Posibilidad de lesión en la realización de las pruebas, por algún accidente que pudiese acontecer en la realización de las mismas. En cualquier caso, el riesgo de lesión no será mayor al de otros entrenamientos. Los investigadores minimizarán el riesgo de lesión estableciendo un calentamiento estandarizado con una parte específica.
- Existe también el riesgo de que la p-sinefrina te genere cierta intolerancia tras su consumo, aunque no hay investigaciones que hayan encontrado efectos secundarios negativos tras el consumo de esta sustancia.

Afirma, igualmente que ha sido también informado de que sus datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a y con las garantías de la ley 15/1999 de 13 de diciembre.

Por ello, su firma en el presente documento significa que participa voluntariamente en los procedimientos experimentales explicados en la hoja informativa y que OTORGA su CONSENTIMIENTO para el uso de sus datos y muestras obtenidas, con el único fin de cubrir los objetivos especificados del presente estudio.

Madrid a dedel.....

Fdo.

CUESTIONARIO SOBRE PERCEPCIÓN

DE ESFUERZO Y EFECTOS SECUNDARIOS

		NADA/BAJA		POCO		NORMAL		BASTANTE		MUCHO/ALTO	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
DURANTE LAS PRUEBAS	Valora tu percepción de fuerza/velocidad durante las pruebas										
	Valora tu percepción de resistencia durante las prueba										
	Valora tu percepción de fatiga durante las prueba										
	¿Te han gustado/servido los efectos que has sentido?										
		NADA/BAJA		POCO		NORMAL		BASTANTE		MUCHO/ALTO	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
EN LAS HORAS SIGUIENTES	Indica tu estado de fatiga										
	Valora tu estado de nerviosismo										
		Si	No								
	¿Has tenido algún problema estomacal?										
	¿Te has encontrado más enérgico que de costumbre?										
	¿Te has notado irritable?										
A LA MAÑANA SIGUIENTE	¿Has notado dolor muscular o rigidez?										
	¿Has sentido dolor de cabeza?										
	¿Has tenido dificultad para dormir?										
	P-SIN	CAF			P-SIN+CAF	PLAC					
	¿Qué crees que has ingerido hoy?										

p-Sinefrina

SUJETO:

FECHA

Temperatura ambiente: Humedad:

Mediciones de Tensión Arterial: _____ / _____ / _____

Frecuencia Cardíaca de reposo: / /

Sillín: Rpm: Máscara:

Vatios	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C (entre el seg.40 y 50)
Calentamiento			
50			
75			
100			
125			
150			
175			
200			
225			
250			
275			
300			
325			
350			
375			
400			
425			
Escala de Borg (al final)			
Observaciones:			

VO_{2max}	
--------------------------	--

SUJETO Y CÓDIGO:

Potencia máxima:

HORA INGESTA 1:

HORA INGESTA 2:

HORA INGESTA 3:

HORA INGESTA 4:

HORA INGESTA 5:

HORA INGESTA 6:

Fecha de nacimiento:

Mascarilla:

Sillín:

Peso:

*si las dos medidas primeras son iguales no se realiza la tercera

Estatura:

FC reposo

Tensión arterial día 1:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tensión arterial día 2:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tensión arterial día 3:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tensión arterial día 4:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tensión arterial día 5:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Tensión arterial día 6:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Cena:

A- TEMPERATURA Y HUMEDAD:

FECHA:

W	% VO2max	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C media	RPM
Warm up	30	1	5		
	40				
	50				
	60				
	70				
	80				
	90				
	100				

Cena:

B- TEMPERATURA Y HUMEDAD:

FECHA:

W	% VO2max	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C media	RPM
Calentamiento	30	1	5		
	40				
	50				
	60				
	70				
	80				
	90				
	100				

C- TEMPERATURA Y HUMEDAD: FECHA:

Cena:

W	% VO2max	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C media	RPM
Warm up	30	1	5		
	40				
	50				
	60				
	70				
	80				
	90				
	100				

D- TEMPERATURA Y HUMEDAD: FECHA: :

Cena:

W	% VO2max	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C media	RPM
Calentamiento	30	1	5		
	40				
	50				
	60				
	70				
	80				
	90				
	100				

E- TEMPERATURA Y HUMEDAD: FECHA:

Cena:

W	% VO2max	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C media	RPM
Calentamiento	30	1	5		
	40				
	50				
	60				
	70				
	80				
	90				
	100				

F- TEMPERATURA Y HUMEDAD: FECHA:

Cena:

W	% VO2max	Minuto de inicio	Minuto de fin	F.C media	RPM
Calentamiento	30	1	5		
	40				
	50				
	60				
	70				
	80				
	90				
	100				

HOJA DE DATOS OXIDACIÓN DE GRASAS Y P-SINEFRINA

SUJETO:

FATMAX:

PRUEBA: A/B

FECHA:

HORA DE INGESTA:

HIDRATACION:

TEMPERATURA:

HUMEDAD:

TENSIÓN ARTERIAL:

SISTÓLICA	DIASTÓLICA	FC

MINUTOS ANALIZADOR	MINUTOS DE MEDICIÓN	FRECUENCIA CARDÍACA
	4-5	
	9-10	
	14-15	
	19-20	
	24-25	
	29-30	
	34-35	
	39-40	
	44-45	
	49-50	
	54-55	
	59-60	

