



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

# **Comportamiento de los marcadores de rabdomiolisis después de un evento de ejercicio aeróbico submáximal en entrenados y sedentarios.**

**Carlos Enrique Melo Moreno**

Código: 597428

Universidad Nacional de Colombia  
Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas  
Maestría en Fisiología  
Bogotá, Colombia  
2012



# **Comportamiento de los marcadores de rhabdomiolisis después de un evento de ejercicio aeróbico submáximal en entrenados y sedentarios.**

**Carlos Enrique Melo Moreno**

Código: 507428

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:

**Magister en Fisiología**

Director:

Doctor Mauricio Serrato Roa

Línea de Investigación:

Fisiología del Ejercicio

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina, Departamento de Ciencias Fisiológicas

Maestría en Fisiología

Bogotá, Colombia

2012



## **Dedicatoria**

*Este trabajo lo dedico de forma especial a mi papá y a mi mamá quienes han llenado mi vida de amor y siempre han apoyado mis ideas.*

*A mis hermanos por sus afectos, por mostrarme el camino de diferentes maneras*

*A mi profesora Elvira Gross de Melo, quien me enseñó el amor por el estudio.*

*A mi profesor Fernando Palomino, quien en los inicios de mi carrera profesional fue mi ejemplo de la pasión por el estudio de las Ciencias básicas en Medicina.*



## **Agradecimientos**

Agradecimientos especiales a los profesores del Departamento de Ciencias Fisiológicas de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia por sus grandes aportes en mi formación académica. En especial a mi director de tesis, Profesor Mauricio Serrato por su invaluable orientación.

Agradecimientos a cada uno de los deportistas y personas que participaron en los experimentos, a todo el personal del Centro de Estudios Biomédicos al Deporte, Laboratorio de Unisalud, Laboratorio de Fisiología, Laboratorio de Bioquímica de la Universidad Nacional de Colombia por su aporte y ayuda desinteresada en la ejecución de este trabajo. En especial al profesor Doctor Eduardo Caminos, por su apoyo incondicional.

La mención más especial es para el Doctor Henry León quien compartió cada una de las etapas del presente estudio con el propósito de aprender y sin desfallecer ante las adversidades, supero sus propias expectativas y termino enseñándome.





## Resumen

### **Comportamiento de los marcadores de rabdomiolisis después de un evento de ejercicio aeróbico submáximal en entrenados y sedentarios.**

El daño muscular inducido por el ejercicio se denomina rabdomiolisis, cuyas manifestaciones van desde el dolor muscular hasta complicaciones severas poco frecuentes; se asocia a elevación de proteínas musculares intracelulares en sangre, específicamente mioglobina y creatinafosfoquinasa (CPK).

El propósito de este estudio fue medir la concentración plasmática y observar la cinética de liberación de mioglobina y CPK en sujetos entrenados y sedentarios y determinar si existen diferencias en el grado de rabdomiolisis con un modelo de ejercicio aeróbico submaximal sin componente excéntrico, y observar si el entrenamiento aeróbico se comporta como factor protector de rabdomiolisis.

Se obtuvieron muestras sanguíneas de 32 sujetos divididos en dos grupos uno de sedentarios (18) y uno de entrenados (14), tomadas antes, después de finalizar, 1, 2, 3, 24 y 48 horas después de realizar la prueba, se midieron niveles de CPK y mioglobina; para observar el impacto del ejercicio se tuvieron en cuenta los cambios desde la condición inicial.

Se encontraron diferencias en la cinética y magnitud de la liberación de marcadores de daño muscular entre el grupo de sedentarios y entrenados, siendo más elevados en el grupo de sedentarios y más temprano para la mioglobina en ambos grupos, lo que evidencia que el entrenamiento ejerce un papel protector ante el daño muscular ocasionado por ejercicio y que la mioglobina sería un marcador temprano para la detección de daño muscular en procesos de entrenamiento. Además, los resultados fueron similares a los presentados con otros modelos, por lo tanto se presenta un modelo preliminar de ejercicio aeróbico controlado sin contracción excéntrica válido para el estudio de los mecanismos asociados a la rabdomiolisis.

**Palabras Claves:** Rabdomiolisis, Ejercicio Aeróbico Dinámico, Entrenamiento, Mioglobina.

## Abstract

### **Rhabdomyolysis markers behavior after a submaximal aerobic exercise event in trained and sedentary.**

Exercise-induced muscle damage is called rhabdomyolysis, whose manifestations range from muscle pain to rare severe complications, is associated with elevated blood intracellular muscle proteins, specifically myoglobin and creatin-kinasa (CPK).

The purposes of this study was to measure plasma concentrations of myoglobin and CPK in trained and sedentary subjects and determine whether there are differences in the level of rhabdomyolysis with a submaximal aerobic exercise model without eccentric component, and see if the aerobic training behaves as protector of rhabdomyolysis.

Blood samples were obtained from 32 subjects divided into two groups, sedentary (18) and trained (14), taken before, after finish, 1, 2, 3, 24 and 48 hours after do the test, CPK and myoglobin levels were measured; to observe the impact of exercise were taken into account the changes from the initial condition.

There were differences in the kinetics of release of markers of muscle damage between sedentary and trained group, being higher in the sedentary group and earlier for myoglobin in both groups, which demonstrates that training has a protective role to muscle damage caused by exercise and that myoglobin would be an early marker for the detection of muscle damage in training processes. Therefore, the results of this study were similar to others; this preliminary model of controlled aerobic exercise without excentric contraction is valid for the study of the mechanisms associated with rhabdomiolisis.

**Keywords:** Rhabdomyolysis, Dynamic Aerobic Exercise, Training, Myoglobin.

# Contenido

RESUMEN .....	IX
LISTA DE FIGURAS.....	XIII
LISTA DE TABLAS .....	XIV
LISTA DE ANEXOS.....	XV
INTRODUCCIÓN .....	1
<b>1. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>3</b>
1.1. RABDOMIOLISIS .....	3
1.1.1. Aspectos Históricos.....	4
1.1.2. Causas de rabdomiolisis.....	5
1.1.3. Rabdomiolisis inducida por ejercicio.....	7
1.1.4. Fisiopatología de la rabdomiolisis.....	9
1.1.5. Aspectos epidemiológicos.....	10
1.1.6. Mioglobina como marcador de rabdomiolisis.....	10
1.1.7. Rabdomiolisis y falla renal.....	13
1.2. EJERCICIO.....	15
1.2.1. Tipos de ejercicio .....	16
1.2.2. Tipos de contracción .....	19
1.2.3. Intensidad del ejercicio.....	20
1.3. ENTRENAMIENTO Y ENTRENAMIENTO AERÓBICO .....	24
1.3.1. Adaptaciones fisiológicas del entrenamiento aeróbico.....	25
1.3.2. Efectos del entrenamiento aeróbico sobre el músculo esquelético.....	28
<b>2. PROPÓSITO.....</b>	<b>33</b>
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>34</b>
<b>3.1. OBJETIVO GENERAL.....</b>	<b>34</b>
<b>3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....</b>	<b>34</b>
<b>4. METODOLOGÍA.....</b>	<b>35</b>
4.1. TIPO DE ESTUDIO.....	35
4.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	35
4.3. TAMAÑO MUESTRAL.....	35
4.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	36
4.4.1. Criterios de inclusión.....	36
4.4.2. Criterios de exclusión.....	37

4.5.	CUADRO DE VARIABLES.....	38
4.6.	PLAN DE ANÁLISIS.....	40
<b>4.6.1.</b>	<b><i>Evaluación estadística</i></b> .....	40
4.6.2.	<i>Control de variables y sesgos</i> .....	42
4.7.	DESARROLLO DEL ESTUDIO.....	43
4.7.1.	<i>Etapa de convocatoria de voluntarios</i> .....	43
4.7.2.	<i>Etapa de tamizaje</i> .....	44
4.7.3.	<i>Etapa experimental</i> .....	45
4.7.4.	<i>Procesos de laboratorio o tecnológicos</i> .....	47
4.7.5.	<i>Pruebas de tamizaje</i> .....	48
4.7.6.	<i>Análisis de las muestras del experimento</i> .....	52
4.8.	RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN Y CALIDAD DEL DATO.....	52
4.9.	EVENTOS ADVERSOS.....	53
4.10.	ASPECTOS ÉTICOS.....	53
4.11.	DISPOSITIVOS DE SEGURIDAD Y CONFIDENCIALIDAD.....	54
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>56</b>
5.1.	<i>Comparación de los niveles séricos de Creatinfosfoquinasa (CPK)</i> .....	57
5.2.	<i>Comparación de los niveles séricos de Mioglobina</i> .....	60
<b>6.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>64</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>68</b>
<b>8.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>106</b>

## Lista de figuras

Figura 1. Estructura tridimensional mioglobina. ....	11
Figura 2. Posición del grupo Hem y sus interacciones con las histidinas de los sitios 64 y 93.....	12
Figura 3. Componentes del bienestar (fitness) físico. ....	15
Figura 4. Sistemas energéticos durante el ejercicio.....	16
Figura 5. Protocolo continuo de Astrand en cicloergómetro.....	45
Figura 6. Modificación Protocolo continuo de Astrand modificado en cicloergómetro. ....	46
Figura 7. Descripción general del experimento.....	47
Figura 8. Diagrama de flujo de actividades del trabajo. ....	55
Figura 9. Promedios y medianas de las mediciones de CPK en los grupos de participantes entrenados y sedentarios. ....	59
Figura 10. Promedios y medianas de los cambios desde la condición inicial del impacto del ejercicio en los valores de CPK. ....	60
Figura 11. Promedios y medianas de las mediciones de mioglobina en los grupos de participantes entrenados y sedentarios. ....	62
Figura 12. Promedios y medianas de los cambios desde la condición inicial del impacto del ejercicio en los valores de mioglobina.....	63

## Lista de tablas

Tabla 1. Causas de Rabdomiolisis.....	7
Tabla 2. Escala de percepción de Esfuerzo de Borg.....	22
Tabla 3. Clasificación de la intensidad de la actividad física.....	23
Tabla 4. Tabla de variables del estudio.....	38
Tabla 5. Características demográficas y fisiológicas de entrenados y sedentarios.....	57
Tabla 6. Promedios, prueba bootstrap de estadística de t-student e intervalos de confianza, y medianas de los cambios desde la condición de base de CPK en entrenados y sedentarios. ....	58
Tabla 7. Promedios, prueba bootstrap de estadística de t-student e intervalos de confianza y medianas de los cambios desde la condición de base de mioglobina en entrenados y sedentarios.....	61

## Lista de Anexos.

Anexo A: Consentimiento informado .....	69
Anexo B: Encuesta MET´s .....	73
Anexo C: Historia clínica .....	76
Anexo D: Protocolo de canalización intravenosa periférica. ....	81
Anexo E: Protocolo de hidratación .....	82
Anexo F: Formato de recolección de datos. ....	83
Anexo G: Recomendaciones de bioseguridad para laboratorios de diagnóstico e investigación que trabajan con materiales biológicos. ....	85
Anexo H: Procesos de laboratorio o tecnológicos.....	91
Anexo I: Tablas de datos mediciones.....	103





# Introducción

El dolor que se desarrolla después de realizar ejercicio extenuante se debe a daño muscular inducido por el ejercicio (1), este daño muscular se denomina rabdomiolisis, que representa una ruptura, en ocasiones severa, del músculo esquelético, liberando sustancias de carácter tóxico al torrente sanguíneo, que pueden llevar a alteraciones en la función orgánica (2-7) . Este daño muscular se presenta clínicamente la mayoría de las veces como dolor muscular, el cual no es motivo de consulta frecuente y típicamente resuelve sin complicaciones serias (1), únicamente siendo evidente en los reportes, las complicaciones más severas, las cuales son poco frecuentes.

El daño muscular (rabdomiolisis) severo se caracteriza por mialgias, dolor localizado, debilidad, edema, hematomas, orina oscura (mioglobinuria), manifestaciones sistémicas como fiebre, náuseas, eméesis, confusión, delirio y anuria e incremento en los niveles de proteínas musculares en sangre, específicamente mioglobina y creatinfosfokinasa (CPK) (8-10). Estas se utilizaron como marcador de rabdomiolisis, siendo muy confiables.

El interés sobre la rabdomiolisis ha inquietado a varios investigadores en ejercicio centrados en la pregunta ¿Por qué algunos individuos presentan formas más intensas de rabdomiolisis en respuesta al ejercicio y la mayoría restante no?; lo cual es difícil de averiguar y aún más complicado de predecir (1).

De esta manera, el propósito de este estudio cuasi-experimental fue medir la concentración plasmática de mioglobina y CPK, como marcadores de rabdomiolisis en sujetos entrenados y sedentarios para determinar si existen diferencias en el nivel de rabdomiolisis entre ellos, y la cinética de liberación cuando se exponen a una sesión de ejercicio aeróbico submaximal. Estos datos nos ayudaran a determinar el papel del entrenamiento aeróbico como factor protector de rabdomiolisis.

El presente estudio presenta un modelo preliminar controlado en laboratorio de ejercicio con características aeróbicas sin componente excéntrico que demuestra la cinética de liberación de marcadores de rabdomiolisis aún en este tipo de ejercicio, siendo la fortaleza más importante presentada, asociado a la descripción de la cinética de liberación de los marcadores de rabdomiolisis en sujetos entrenados y sedentarios a 2600 msnm.

Además, se propone la utilización de la mioglobina como marcador de detección temprana del daño muscular en entrenamiento dada su expresión más pronta comparada con la de creatinfosfoquinasa, como se ha mencionado en otras áreas como la evaluación clínica.

# 1. Marco teórico.

## 1.1. Rabdomiolisis

La palabra rabdomiolisis proviene de las raíces griegas:

ῥάβδος (rhabdos): que significa vara o en forma de vara (11), pero también significa estrías, rayas o surcos (12).

μῦς, mys y del latín mus: que significan ratón, y musculus: que es el diminutivo de ratón (algunos músculos tienen forma de ratón) (13).

Además, Mio proviene del inglés Myo-, que se usa como prefijo en biología para denotar músculo (13;14).

Lisis que viene del griego λύσις, lysis (aflojando) de luein (aflojar) que significa separar o romper (15).

Por lo tanto, rabdomiolisis es la ruptura del músculo estriado (esquelético) que se asocia a la liberación del contenido intracelular muscular hacia el espacio extracelular y al sistema circulatorio (16-18). La rabdomiolisis genera una elevación plasmática de las proteínas intracelulares musculares y, clínicamente se caracteriza por presentar un amplio espectro de signos y síntomas; podemos observar desde una elevación asintomática de estas, hasta un incremento masivo que puede generar falla renal aguda, alteraciones severas de los niveles de electrolitos y coagulación intravascular diseminada (16). Entre las proteínas liberadas al torrente sanguíneo se encuentran el factor de necrosis tumoral alfa, la interleucina (IL)1 beta, IL 6, IL 8, IL 10, lactato deshidrogenasa, aldolasa, y glutámico-oxalacetato transaminasa, creatinfosfoquinasa y mioglobina, además del incremento de electrolitos como el potasio (8-10).

La rabdomiolisis se define clínicamente por la presencia de mialgias, dolor localizado, debilidad, rigidez, edema muscular y orina oscura (mioglobinuria), además, se puede asociar a manifestaciones sistémicas como fiebre, náuseas, eméesis, confusión, delirio y anuria (1;8-10). En el diagnóstico, estos signos y síntomas se asocian al incremento de CPK y mioglobina principalmente. Aunque la rabdomiolisis puede ser diagnosticada en presencia de mioglobinuria, esta no siempre se presenta, o no se alcanza a medir debido a su rápida eliminación; en cambio, siempre se acompaña de incrementos en la CPK que usualmente puede llegar a exceder las 70000 U/L (10 -200U/L). Sin embargo, la mioglobinuria es una de las causas de alarma después de ejercicio muy intenso (1).

### **1.1.1. Aspectos Históricos**

La rabdomiolisis es un síndrome reconocido desde tiempos antiguos. Existen reportes en el antiguo testamento que hacen referencia a una condición con características similares a la rabdomiolisis, descrita como una plaga sufrida por los israelitas durante su éxodo desde Egipto, donde mucha gente murió después de ingerir codornices (Dios Habla Hoy, números 11:31-33). La miolisis que se presenta después del consumo de codorniz, es un cuadro bien conocido en los países del mediterráneo, resultado de la intoxicación por hierbas de cicuta, las cuales son consumidas por las codornices durante la migración de primavera. Existen evidencias que indican que el episodio bíblico ocurrió en primavera (16;17;19).

En tiempos modernos, las primeras descripciones de rabdomiolisis estuvieron asociadas al trauma muscular y el síndrome por aplastamiento; este último, fue reportado por primera vez en la literatura alemana en 1909 por Colmers, quien describió los casos del terremoto en Messina (Sicilia), en 1908 como "Necrosis aguda por presión", donde solo se pudo describir un caso de orina coloreada y oliguria por la tardanza de la llegada de la misión (17). También se encuentran reportes en la literatura militar médica alemana durante la primera guerra mundial (16). Los últimos hacen referencia a la descripción de varios autores entre ellos Frankenthal en 1916, quienes describieron los casos de rabdomiolisis observados en los soldados que habían sido enterrados en las trincheras, con presión en los miembros durante los enfrentamientos, donde se describió el edema y la necrosis muscular asociada (17).

El interés en la rabdomiolisis se incrementó por su asociación con falla renal aguda y subsecuente muerte. En la literatura Inglesa moderna, los doctores Bywaters y Beall publicaron en detalle los reportes de daño muscular y falla renal relacionadas al síndrome por aplastamiento de cuatro víctimas del bombardeo a Londres durante la batalla de Gran Bretaña en 1940, en el marco de la segunda guerra mundial (16;17); durante estas observaciones se describen los cambios clínicos en los pacientes y los signos de compromiso renal, aclarando que dichas alteraciones progresaban a pesar de la amputación de los miembros afectados. Reportan la oliguria asociada a dicho cuadro en fases tardías a pesar del manejo adecuado del estado de choque, y describen la coloración café oscura de la orina con la presencia de cilindros coloreados (16;17). Bywaters y colaboradores al observar los cambios de la pigmentación de la orina, propusieron su relación con la presencia de mioglobina en ella, relacionándolo con una enfermedad equina descrita por Minami en 1923 (17).

Con la experiencia de las batallas en Inglaterra y de Vietnam, se describe la presencia de mioglobina en orina y mediante técnicas de histoquímica se demostró la presencia del pigmento en los túbulos renales durante la necropsia, y su relación con el proceso de falla renal (17). Para poner de manifiesto la relación entre el proceso de daño muscular y falla renal por mioglobina, en 1942 Bywaters realiza unos trabajos experimentales en conejos, en donde al inyectarles mioglobina observa que esta “toxina” es la responsable de la falla renal seguida del daño muscular; posteriormente mediante un modelo de daño muscular por colapso de los vasos musculares describe claramente la liberación del pigmento del músculo y confirma su relación con falla renal (16;19).

En 1959 Korein y colaboradores dividen la rabdomiolisis en relacionadas o no con ejercicio (19) y hasta la década de los 70`s, Rowland y Penn describen una serie de deficiencias enzimáticas asociadas con mioglobinuria y lesión muscular, posteriormente se reconocen causas de rabdomiolisis no traumáticas y no relacionadas con ejercicio (16;19).

### **1.1.2. Causas de rabdomiolisis.**

Las causas más comunes de rabdomiolisis en adultos son el uso de drogas ilícitas, abuso de alcohol, medicamentos, enfermedades musculares, trauma, síndrome maligno

neuroléptico, convulsiones e inmovilidad (20). Mientras en pacientes pediátricos, las causas más comunes son miositis viral, trauma, desordenes del tejido conectivo, ejercicio y sobredosis de drogas (21).

Existen varias clasificaciones de rabdomiolisis referidas a su etiología. Podemos dividir las causas de rabdomiolisis en traumáticas y no traumáticas, endógena y exógena o formas hereditarias y adquiridas. En cuanto a las hereditarias tenemos las enfermedades metabólicas del glicógeno y de los lípidos, la hipertermia maligna, idiopáticas y alteración de las proteínas estructurales musculares. En las formas no hereditarias, el paciente ha sido sometido a circunstancias extremas: ejercicio, traumatismos, isquemia muscular, enfermedades infecciosas, drogas y toxinas. Ver Tabla 1 (8). Pueden existir pacientes con posibles causas hereditarias subclínicas de carácter miopático, que al ser expuestos a actividades deportivo-recreativas, así sean de baja intensidad, pueden desencadenar eventos de lisis celular muscular severos. Aunque la mayoría cursa con niveles plasmáticos basales elevados de CPK entre 20 a 100 veces el nivel normal (22;23) y en las diferentes miopatías se encuentra elevada por lo menos 5 veces el valor normal (24), en algunas, en especial las de carácter dominante se pueden encontrar valores normales.

**Tabla 1. Causas de Rbdomiolisis.**

CAUSA DE RABDOMIÓLISIS	
HEREDITARIAS	ADQUIRIDAS
<b>Déficits enzimáticos</b>	<b>Tóxicos</b> Alcohol, Fenciclidina, Heroína, Opiáceos, Cocaina, Anfetamina, Metanfetamina, Metadona, Acido dietilamina lisergico (LSD).
<b>Alteraciones en el metabolismo del glicógeno</b>	<b>Fármacos</b>
Miofosforilasa ( enf. De McArdle)	<b>Antipsicóticos y antidepresivos:</b> Amitriptilina, amoxapina, doxipina, fluoxetina, fluopenacina, haloperidol, litio, protriptilina, perfenazina, prometazina, cloropromazina y trifluoperazina;
Fosforilasa kinasa	<b>Hipnóticos y sedantes:</b> Benzodiazepinas: Diazepam, Nitrazepam, Flumitrazepam, Lorazepam, Triazolam, Barbitúricos, Neurolépticos, teofilinas;
Fosfofructokinasa (enf. De Tarui)	<b>Antihistamínicos:</b> Difenhidramina, doxilamina;
Fosfogliceratokinasa	<b>Antihiperlipidémicos:</b> Lovastatina, Pravastatina, Simvastatina, Fluvastatina, Atorvastatina, Rosuvastatina, Cerivastatina, <b>Fibratos</b> : Clofibrato, Bezafibrato; <b>Otros:</b> Ácido epsilonaminocaproico, antibióticos, azatioprina, anfotericina B, Halotano, Quinidina, Fenilpropanolamina, Moxalactam, Oxprenolol, Paracetamol, Penicilamina, Pentamidina, Salcilatatos, Succinilcolina, Teofilina, Terbutalina, Tiazidas, Vasopresina.
Lactato deshidrogenasa	
<b>Alteraciones del metabolismo de los lípidos</b>	
Déficit de carnitin palmitoil transferas I y II	
Déficit de carnitina	
<b>Otras</b>	<b>Toxinas</b> Succinilcolina, toxina tétanos, tifus, estafilococo, venenos de serpiente, monóxido de carbono, tolueno, virus.
Rbdomiolisis Idiopática	<b>Ejercicio muscular</b> Deporte, estatus epiléptico, asma, distonias
Déficit de mioadenilato deaminasa	<b>Daño muscular directo</b> Traumatismo, quemadura, inmovilización
Hipertermia maligna	<b>Isquemia</b> Compresion vascular, infarto muscular.
Síndrome neuroléptico maligno	<b>Trastornos metabólicos</b> Cetoacidosis diabética, coma hiperosmolar, hipotiroidismo, hipofosfatemia, hiponatremia, hipokalemia
Colagenosis	<b>Enfermedades infecciosas</b> Bacterianas (Legionella streptococo, salmonella) o víricas (influenza, varicela zóster y VIH)
<b>Alteraciones de proteínas estructurales musculares</b>	<b>Miopatias</b> Polimiositis y dermatomiositis.
Distrofia de Duchenne	<b>Otras</b> Síndrome anticolinérgico, retirada de L-Dopa, Golpe de calor, Hipotermia
Distrofia de Becker.	
Distrofia congenita.	
Distrofia Emery – Dreifuss	
Distrofias fascioescapulohumeral.	
Distrofia del anillo osea.	
Distrofia distal	
Distrofia miotónica.	
Distrofia oculofaringea	

**Tabla 1. Causas de Rbdomiolisis.** Modificada de Rbdomiolisis inducida por ejercicio. Medfam y Rbdomiolysis: historical background, clinical, diagnostic and therapeutic features. Cervellin et al. Clin Chem Lab Med 2010;48(6):749-756.

### 1.1.3. Rbdomiolisis inducida por ejercicio

La mayoría de personas que han realizado cualquier actividad física sea competitiva o recreativa, han experimentado alguna vez, formas leves de rbdomiolisis como dolor o molestia muscular; esto es debido al daño muscular ocasionado por el ejercicio que aumenta en proporción a la intensidad de la actividad realizada y que se presenta en los días siguientes a la realización de este (1).

La actividad muscular asociada a ejercicio extenuante esporádico como el ejercicio militar (18;25), y la maratón están asociadas a rabdomiolisis (16;26). Entre más intenso o prolongado el ejercicio, se incurrirá en más daño (21); resultando en liberación de sustancias intracelulares al torrente sanguíneo y líquido extracelular (Potasio, mioglobina, proteasas, etc), que si presenta de manera severa, puede llevar a alteraciones en la función renal, falla renal aguda, arritmias y síndromes compartimentales severos (3-7;16;17;19;27).

La mayoría de reportes y estudios de rabdomiolisis inducida por ejercicio están asociados a la realización de contracciones de tipo excéntrico las cuales junto al ejercicio extenuante son factores relacionados con esta (1).

La rabdomiolisis inducida por ejercicio ha sido reportada en una gran variedad de actividades deportivas en individuos entrenados y no entrenados independientemente. Entre los reportes se encuentra rabdomiolisis inducida por ejercicios realizados por militares durante la primera semana de entrenamiento, hasta reportes de desenlaces fatales (18), maratonistas, remeros, corredores recreativos y caminantes, motocrossistas, escaladores, levantadores de pesas y fisicoculturistas e incluso en niños de colegio durante las actividades de educación física (1;3-9;28).

Entre los factores primarios como el estrés directo del ejercicio y secundarios como hipoxia tisular, condiciones genéticas como la enfermedad de células falciformes (especialmente en combinación con altitud), deficiencia de fosforilasa o carnitin-palmitoil transferasa, condiciones metabólicas como la hipocalcemia (frecuentemente como resultado de la sudoración excesiva) y el estado de entrenamiento pueden contribuir a rabdomiolisis inducida por ejercicio (8-10;18;21;29).

Otros factores que contribuyen a dicha condición, pueden ser enfermedades virales o síntomas parecidos, enfermedades infecciosas bacterianas, alteraciones abruptas de la dieta, uso de ayudas ergogénicas, por ejemplo ciertos componentes de estas ayudas como la efedrina o esteroides, el uso de diuréticos o laxantes, el alcohol y el abuso de drogas.

La rabdomiolisis aumenta con la temperatura y humedad ambiente elevadas, las cuales exacerbaban el estrés por calor y la deshidratación (1). Por lo tanto, múltiples factores



están involucrados en el desarrollo de rhabdomiolisis inducida por ejercicio, esta se asocia a la presencia de un factor primario más la suma de varios factores secundarios (1;21).

#### **1.1.4. Fisiopatología de la rhabdomiolisis.**

En el miocito normal, el sarcolema contiene numerosas bombas que regulan los gradientes electroquímicos de la célula. La concentración de sodio intracelular es normalmente 10 mEq/L mantenida por la bomba sodio-potasio adenosina trifosfatasa (Na/K ATPasa) (30). La bomba Na/K ATPasa transporta activamente sodio desde el interior de la célula al exterior; como resultado el interior celular queda cargado negativamente con respecto al exterior. El gradiente de sodio hacia el interior de la célula genera un intercambio con calcio mediante un intercambiador iónico; sin embargo, los niveles bajos de calcio intracelular son mantenidos por la bomba  $\text{Ca}^{++}$  ATPasa que promueve la entrada de calcio al retículo sarcoplasmático y la mitocondria. El proceso descrito depende de la presencia de ATP como fuente de energía.

En el ejercicio, la rhabdomiolisis es el resultado de un aumento en las fuerzas tensiles sobre la membrana del miocito y/o un desbalance energético celular, que parecen seguir una vía común, que lleva a la destrucción del miocito y posterior liberación de los componentes del interior muscular a la circulación.

El mecanismo mejor descrito es la disminución intracelular de ATP, que parece ser el resultado final de la mayoría de las causas de rhabdomiolisis, esta disminución resulta en alteración de la función de las bombas Na/K ATPasa y  $\text{Ca}^{++}$  ATPasa, el resultado final es un incremento en la permeabilidad celular a los iones de sodio debido, ya sea por una alteración de la membrana plasmática o, una reducción de la producción de energía reducida a nivel celular (31). La acumulación de sodio en el citoplasma lleva a un incremento en las concentraciones intracelulares de calcio. Este exceso de calcio luego, incrementa la actividad de las enzimas proteolíticas intracelulares que degradan la célula muscular. Entre tanto, grandes cantidades de potasio, aldolasa, fosforo, mioglobina, CPK, lactato deshidrogenasa, aspartato transaminasa y urato son liberados hacia el espacio extracelular y la circulación (21).

Bajo condiciones fisiológicas, la concentración plasmática de mioglobina es muy baja (0 a 0,003 mg/mL). Si se dañan mas de 100 gramos de músculo esquelético, los niveles

circulantes de mioglobina exceden la capacidad de unión a proteínas del plasma y puede precipitarse en el filtrado glomerular. El exceso de mioglobina puede causar posteriormente obstrucción tubular renal, nefrotoxicidad directa y falla renal aguda (32).

### **1.1.5. Aspectos epidemiológicos.**

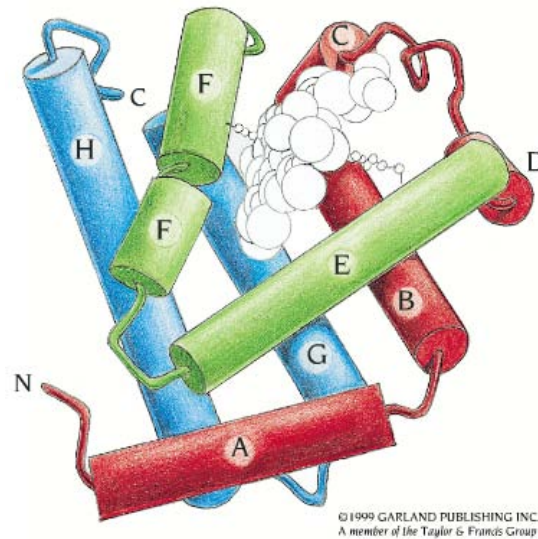
**Mortalidad/morbilidad:** La rhabdomiolisis relacionada con mioglobinuria se asocia a poca morbilidad y mortalidad, aún en presencia de hipercalemia, hipocalcemia y falla renal aguda, pero al asociarse con rhabdomiolisis severa, la falla renal aguda inducida por rhabdomiolisis es una complicación común y letal en muy pocas ocasiones (19).

**Género:** La mioglobinuria tiende a afectar a hombres más que a mujeres por su predisposición al trauma y a su participación en actividades deportivas extenuantes.

**Edad:** se considera un factor predisponente, dado que los niños y jóvenes tienden a estar involucrados en actividades extenuantes y tener mayor trauma muscular.

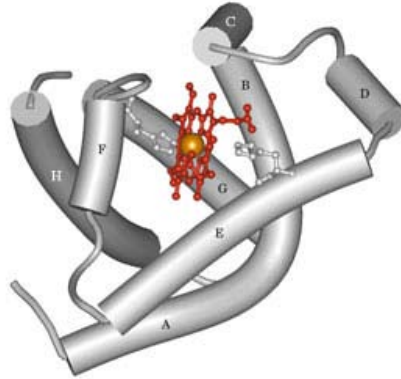
### **1.1.6. Mioglobina como marcador de rhabdomiolisis.**

La mioglobina es una proteína con un peso molecular de 18.800 Da, con un grupo prostético que no presenta isoformas, evolutivamente conservada con un ancestro común con la hemoglobina cerca de 500 millones de años atrás (33). La mioglobina fue la primera proteína a la cual se le determinó su estructura tridimensional por cristalografía de rayos-X en 1957 (34), similar a la hemoglobina, está formada por 154 aminoácidos y consta casi exclusivamente de residuos aminoácidos no polares en su interior, mientras en su exterior contiene residuos polares y no polares. Alrededor del 40% de la cadena polipeptídica está conformada por 8 hélices alfa numeradas con letras desde la A hasta la H. Ver Figura 1.



**Figura 1. Estructura tridimensional mioglobina. Garland Publishing. 1999.**

La mioglobina posee un grupo prostético Heme, un anillo de porfirina unido a hierro. La cadena polipeptídica está plegada y anida el grupo prostético Heme, posicionándolo entre 2 residuos de histidina, His 64 e His 93. Ver Figura 2. El hierro interactúa con 6 ligandos, cuatro de los cuales están dados por los átomos de nitrógeno de los cuatro anillos pirrólicos y comparten un mismo plano; la cadena lateral de imidazol de la His 93 da el quinto enlace, estabilizando el grupo Heme y desplaza un poco el ión de hierro fuera del plano del Heme. La sexta posición, no ocupada en estado desoximioglobina, sirve como sitio de unión para el oxígeno así como para otros posibles ligandos como el Monóxido de Carbono (CO) o el óxido nítrico (NO) (33).



**Figura 2. Posición del grupo Hem y sus interacciones con las histidinas de los sitios 64 y 93. Tomada de [www.scibio.unifi.it/.../proteine/proteins24.html](http://www.scibio.unifi.it/.../proteine/proteins24.html).**

Su liberación hacia el torrente sanguíneo alcanza niveles basales entre 0 a 85 ng/ml cuyos valores difieren según el género; estos valores tienden a aumentar con la edad siendo más pronunciados después de los 50 años, esta diferencia se conserva mayor en hombres hasta los 60 años, periodo donde se igualan los valores en ambos géneros (35).

Cuando es liberada a la sangre se une a las globinas plasmáticas diferentes de la albúmina, del tipo  $\alpha 2$  o  $\beta$  globina, aunque la hemoglobina libre interviene con dicha unión. También se une a la haptoglobina, con una afinidad menor a la de la hemoglobina, ya que su unión a la haptoglobina durante un evento de lisis celular por estrés oxidativo sería cercana a cero, debido a la alta afinidad de la hemoglobina liberada durante la hemólisis asociada al mismo evento (36-39).

En las investigaciones adelantadas para identificar la función de la mioglobina se ha observado principalmente que es una proteína que almacena y facilita la difusión de oxígeno desde los capilares hacia las mitocondrias, para ser utilizado durante fases de hipoxia (33;40;41). Durante el ejercicio u otras situaciones de bajo aporte de oxígeno al músculo, como se observa en los mamíferos que bucean y en los habitantes de altitudes elevadas, presentan un aumento de la concentración de mioglobina muscular en 10 – 30 veces (33).

Se ha observado además en los experimentos de bloqueo farmacológico con CO y en los ratones con la mutación Myo  $-/-$  que no presentan mioglobina constitutivamente, una disminución del consumo de oxígeno y una disminución de la contractilidad en el músculo cardíaco durante las fases de hipoxia inducida, evento que no se presentaba en los controles (42). La supresión de la mioglobina no conlleva a daños en los animales ya que

sobreviven y son fértiles; pero se han observado durante el desarrollo embrionario algunas lesiones a nivel miocárdico y deficiencia en algunos mecanismos de adaptación a la hipoxia, los cuales tratan de ser regulados por mecanismos compensatorios como el aumento del hematocrito, aumento del flujo basal coronario y muscular, y aumento de la densidad capilar. Estas adaptaciones tienden a aumentar el gradiente de Presión Parcial de Oxígeno ( $PO_2$ ) desde el capilar a la mitocondria (42).

También se ha observado una función como amortiguadora de las concentraciones intracelulares de  $O_2$ , regulando sus niveles, primero controlando la difusión al estar saturada y segundo, facilitando la entrega de  $O_2$  a la mitocondria durante los eventos de hipoxia. Se le ha asignado un papel de barredor de NO y de especies reactivas de  $O_2$ , ya que se ha observado que aparte del beneficio de vasodilatador, el NO inhibe la citocromo C oxidasa alterando la respiración mitocondrial (40). Además, los estudios en músculo cardíaco de ratones con Knockout del gen han rescatado el papel de la mioglobina como barredor de NO y más generalmente como antioxidante (40).

La cinética de liberación de mioglobina al torrente sanguíneo presenta un pico a las 2 horas durante la realización de ejercicio (43). Solo pequeñas cantidades alcanzan la orina por filtración renal, si la mioglobina libre alcanza niveles superiores a la capacidad de las globinas plasmáticas, es filtrada a nivel glomerular pasando a la orina, coloreándola de marrón oscuro; en algunas situaciones también se sedimenta a nivel tubular (aún más si se presentan cuadros de deshidratación o a causa de la acidosis a nivel renal) ocasionando obstrucción, necrosis tubular y falla renal aguda (1;43). Para llegar a dichos niveles, el daño muscular debe ser demasiado, ya que cada kilogramo de músculo tiene 4g de mioglobina y el riñón puede filtrar aproximadamente 300ng/ml/min (1). Además del efecto obstructivo por sedimentación, también presenta un efecto tóxico directo cuando la mioglobina se disocia en globina y ferrihemato, siendo éste último un tóxico oxidativo directo sobre los túbulos renales (1;32).

### **1.1.7. Rabdomiolisis y falla renal.**

Cuando la lesión muscular es severa, la mioglobina puede precipitarse en los riñones resultando en falla renal aguda, siendo más frecuente cuando el nivel de hidratación está comprometido y/o existe una combinación de volumen sanguíneo bajo y disminución del pH (1).

A pH menor a 5.4, la mioglobina se disocia en globina y ferrihemato, el cual tiene un efecto tóxico directo sobre los túbulos renales. Por lo tanto, se especula que la falla renal no se debe únicamente a la toxicidad de la mioglobina, sino que se debe a los efectos compuestos de deshidratación, estrés por calor e hipotensión, los cuales disminuyen la perfusión renal y facilitan el proceso de obstrucción en la nefrona por la precipitación de la mioglobina. Aproximadamente entre el 5 – 7% del total de las rhabdomiolisis progresan a falla renal (1;19).

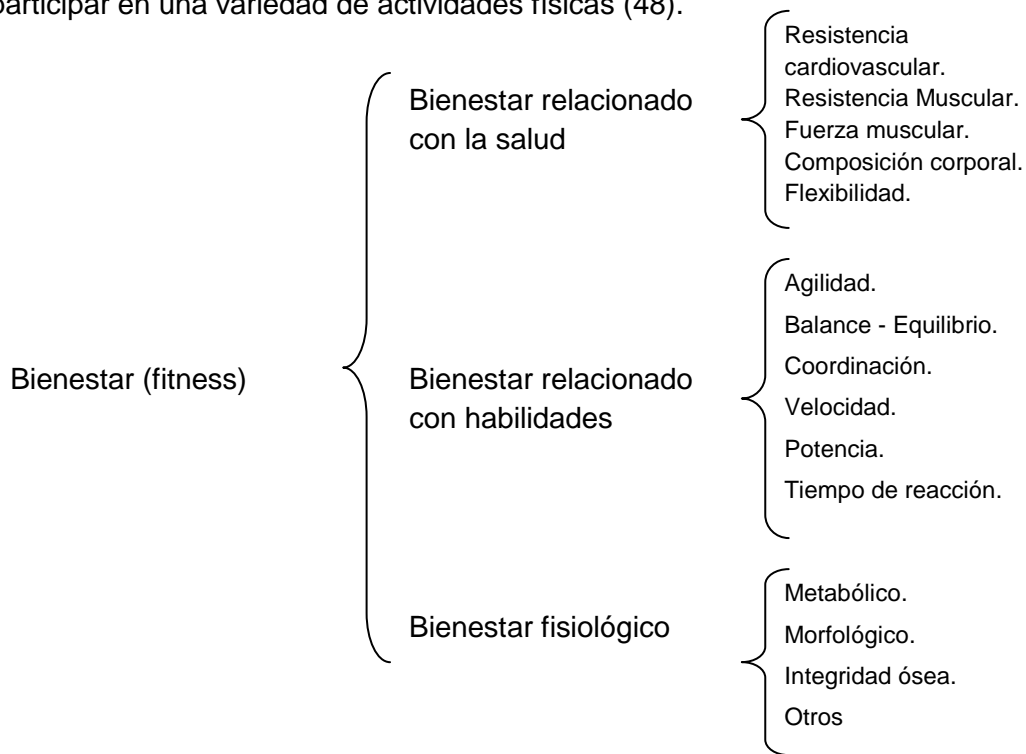
En ejercicio excéntrico, la rhabdomiolisis se asocia a una incidencia del 3% de los eventos adversos. Se ha estudiado dicho fenómeno usando los músculos flexores del codo de un solo brazo, así que la cantidad de mioglobina liberada nunca va a ser lo suficientemente alta para comprometer la función renal. Sin embargo, en un porcentaje pequeño, estos ejercicios resultan en edema severo, incrementos en CPK de 20.000 a 40.000 U/L y una pérdida profunda de la fuerza muscular (mayor al 65%). De todos los participantes observados por el laboratorio de la profesora Clarkson, solo una persona presentó mioglobinuria después de ejercicio excéntrico de los músculos flexores de un brazo y se asoció a un estado postgripal. En quien se había realizado una prueba 1 mes antes sin ninguna complicación (44). En la población general, la incidencia de ejercicio extenuante que lleve a falla renal aguda es muy baja. Por ejemplo, de los 16.506 participantes de una competencia de fitness en Nueva York durante 1988 a 1989, únicamente 12 fueron hospitalizados con falla renal aguda asociada a rhabdomiolisis, con una incidencia del 0,07%. Sin embargo, en aquellos que experimentaron dolor muscular severo (rhabdomiolisis manifestada clínicamente), la incidencia de falla renal puede ser tan alta como del 33% (45).

Porque algunos individuos y no otros incurren en dolor muscular severo o daño muscular que progresa a falla renal no se conoce(44). En una serie de 35 casos de rhabdomiólisis inducida por ejercicio no se describió fallo renal en alguno de los casos, lo que hace pensar que es necesario la presencia añadida de cofactores nefrotóxicos (hipovolemia marcada y/o acidosis/aciduria, isquemia renal) para desencadenar la falla renal (44;46).

## 1.2. Ejercicio

El movimiento corporal es una necesidad instintiva, siempre creando y preparando para la vida. En el contexto del movimiento corporal, se define la actividad física como cualquier movimiento corporal producido por la contracción de los músculos esqueléticos que sustancialmente incrementa el gasto de energía (47-50). Pero, cuando este gasto de energía está enmarcado por ciertas condiciones, se define como ejercicio. De esta manera, el ejercicio es un subgrupo de la actividad física (50), definido como la realización de alguna actividad física que tiene como objetivo mejorar o mantener de manera positiva, uno o más de los componentes del bienestar (fitness) físico. Por consiguiente, debe estar planeado, estructurado y realizarse de manera repetitiva con movimientos corporales (47-50).

El bienestar físico (fitness) son una serie de atributos (ver Figura 3) que la gente tiene o logra y se relacionan con la habilidad de realizar actividades físicas con vigor (47;50), es un estado de bienestar con bajo riesgo de problemas prematuros de salud y energía para participar en una variedad de actividades físicas (48).



**Figura 3. Componentes del bienestar (fitness) físico.** Modificado de: Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. Public Health Rep 1985; 100: 126-131).

Como se observa, podemos realizar ejercicio para mejorar cualquiera de los componentes enunciados en la figura 3, aunque la mayoría de textos se centran en los 5 componentes agrupados en el bienestar (fitness) relacionado con la salud. De esta manera, dichos componentes se logran principalmente usando 3 tipos de ejercicios (49;51;52), los ejercicios de tipo aeróbico que tendrían como objetivo mejorar tanto la resistencia cardiovascular como muscular; los ejercicios de tipo anaeróbico y/o de fuerza que tendrían como objetivo mejorar la fuerza muscular, pero que involucrarían además algunos elementos como la velocidad y la potencia, los dos en conjunto mejorarían la composición corporal. Por último los ejercicios de flexibilidad que mejorarían el componente elástico muscular.

### 1.2.1. Tipos de ejercicio

Los diferentes ejercicios dirigidos a mejorar los elementos del bienestar (fitness) físico se enmarcan en los tres tipos de ejercicios mencionados previamente, la clasificación de los ejercicios de tipo aeróbico y anaeróbico se ha hecho con base en su duración, intensidad, y a la activación predominante de los sistemas de entrega de energía al músculo (52). Ver figura 4.

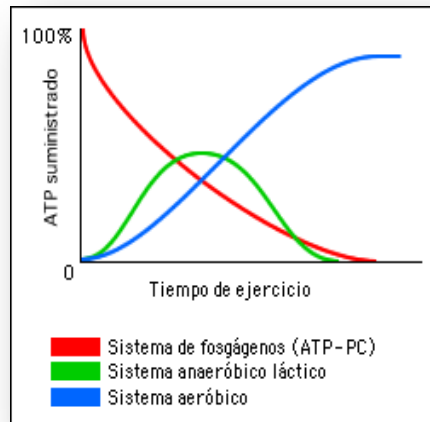


Figura 4. Sistemas energéticos durante el ejercicio. Tomado de [www.inatacion.com/.../fisiología/sistemas.html](http://www.inatacion.com/.../fisiología/sistemas.html).



## ▪ **Ejercicio anaeróbico**

Los ejercicios potentes de corta duración que no superan los 6 segundos, utilizan casi exclusivamente de manera inmediata la energía generada de la ruptura de los fosfatos de alta energía, ATP y Creatina-fosfato. Consecuentemente, los deportistas de potencia como corredores de 100 metros, deben dirigir su entrenamiento a mejorar la capacidad de estos sistemas de transferencia de energía en el músculo. Mientras el ejercicio progresa a una duración de 60 segundos y la generación de fuerza disminuye, la mayor porción de energía es generada todavía a través de las vías anaeróbicas. Estas reacciones metabólicas envuelven el sistema energético de corta duración, la glicólisis, y la subsiguiente formación de ácido láctico (52;53).

En resumen, son los ejercicios que se realizan en periodos cortos de tiempo a una intensidad alta, donde los sistemas de entrega de energía funcionan sin oxígeno. Ej. Correr 100 metros, levantamiento de pesas, etc. Se caracterizan por depletar rápidamente las reservas energéticas de la célula muscular y pueden desencadenar de manera más rápida lo eventos fisiopatológicos que conducen a rabdomiolisis, además, su presencia aumenta si durante la realización de estos ejercicios se incluyen en gran medida el efecto mecánico de contracciones excéntricas (44).

## ▪ **Ejercicio aeróbico.**

Mientras la intensidad del ejercicio disminuye aún más y la duración se extiende, la dependencia de la energía de las reservas de fosfato y la glicólisis a nivel muscular disminuye, y la producción aeróbica de ATP comienza a incrementar de manera importante. Si se prolonga el ejercicio aún más y se disminuye la intensidad, más del 99% de los requerimientos energéticos son generados por el metabolismo aeróbico (52;53).

En resumen, el ejercicio aeróbico es todo tipo de ejercicio cuya intensidad es moderada y se realiza por periodos largos de tiempo, donde los sistemas de entrega de energía muscular funcionan en presencia de oxígeno. Ej. Correr, caminar, montar bicicleta, nadar etc. Durante los ejercicios de tipo aeróbico la disminución de las reservas energéticas es más controlada, incluso, se mantiene por periodos largos de tiempo el aporte de ATP por

los sistemas aeróbicos de producción de energía, siempre y cuando se mantenga intensidades moderadas o bajas, por lo tanto se esperaría que los mecanismos asociados a la fisiopatología de la rabdomiolisis no se presentaran. Existen estudios donde con modelos de contracciones excéntricas se ha revelado que incluso a bajas intensidades se puede presentar dicho fenómeno. Por lo tanto los fenómenos asociados a dicho cuadro no están claramente establecidos (1).

Se ha mostrado que las diferentes actividades, dependiendo de su duración e intensidad, requieren de la activación de sistemas específicos de energía, ubicando las actividades dentro del grupo de aeróbico o anaeróbico. Pero se reconoce que es difícil colocar ciertas actividades en una u otra categoría. Por ejemplo, mientras una persona incrementa su condición aeróbica, una actividad previamente clasificada como anaeróbica puede ser reclasificada como aeróbica (52). En muchos casos, los tres sistemas de transferencia de energía operan simultáneamente en diferentes momentos durante el ejercicio, como se observa en la figura 4, modificando, según la intensidad y la duración, la prevalencia de cada uno de los sistemas.

#### ▪ **Ejercicios de flexibilidad.**

Los ejercicios de flexibilidad están dirigidos a aumentar tanto el rango de movimiento de las articulaciones, como la elongación de los grupos musculares relacionados con dichas articulaciones mediante estiramiento de tipo dinámico, estático y la facilitación neuromuscular propioceptiva (47).

Los tipos de ejercicio mencionados forman un subgrupo de la actividad física, la cual incluye una contracción muscular que utiliza diferentes sustratos energéticos (aeróbicos y anaeróbicos) dependiendo de la intensidad y la duración de la actividad a realizar. De esta manera, es preciso definir los diferentes tipos de contracción involucrados en los tipos de ejercicio descritos. Además, para efectos del estudio, es importante aclarar los métodos para medir la intensidad del ejercicio aeróbico.

## 1.2.2. Tipos de contracción

Dependiendo de la magnitud de la fuerza contráctil (capacidad o voluntad del sujeto) en relación a la carga impuesta, el resultado de la contracción o activación varía y es clasificada en tres tipos de acciones (2;53).

1. **Contracción concéntrica:** Cuando la fuerza contráctil supera la resistencia, presentado un acortamiento del músculo y una disminución del ángulo articular, representado por el entrecruzamiento de los filamentos de actina y miosina musculares (53).
2. **Contracción estática o isométrica:** donde el músculo es capaz de generar fuerza de contracción pero su longitud permanece sin cambios, debido a una fuerza resistiva de la misma magnitud, manteniendo el ángulo articular estático (53).
3. **Contracción excéntrica:** Si la fuerza contráctil es menor a la fuerza de oposición, se realiza fuerza pero la longitud del músculo y el ángulo articular se amplía, actuando como freno (8).

Tanto la contracción excéntrica como la concéntrica son llamadas **contracciones dinámicas**, las cuales se utilizan habitualmente. Tanto las contracciones dinámicas como estáticas se presentan en la mayoría de las actividades (47).

Se presenta además la **contracción isotónica**, la cual describe el desarrollo de fuerza constante durante el movimiento (2;53).

La actividad que ha presentado un componente fuerte de lesión muscular es la contracción excéntrica y los ejercicios pliométricos (movimiento que contiene un fase excéntrica seguida de una fase concéntrica). Estas contracciones usan pocas unidades motoras para manejar la carga, lo que incrementa la fuerza por unidad de área muscular llevando a mayor lesión muscular (2).

### 1.2.3. Intensidad del ejercicio.

El ejercicio aeróbico, es el tipo de ejercicio realizado a bajas y moderadas intensidades, durante largos periodos de tiempo; se puede realizar de manera incremental hasta completar la intensidad objetivo propuesta (Maximal o submaximal) (47).

La intensidad describe, ya sea en términos relativos o absolutos, el esfuerzo asociado con la actividad física (54). Se han hecho muchos esfuerzos para objetivizar el esfuerzo realizado durante una prueba de ejercicio.

En términos de intensidad absoluta se describe la tasa actual de gasto de energía. Se utilizan el consumo de oxígeno (L/min.), El consumo de oxígeno relativo a la masa corporal (mL/kg/min.), kilocalorías o Kilojulios por minuto, y múltiplos de la tasa metabólica basal (MET's) (54).

- **MET (Tasa metabólica):** Se obtiene dividiendo el consumo de oxígeno en mL/Kg/min. por 3.5 mL/kg/min. que es la cantidad de mL de oxígeno que se consumen por kilogramo de peso cada minuto en reposo, y corresponde a 1 MET. Una expresión alternativa de MET es 1 Kcal/kg/h. El costo energético absoluto valorado en MET's está asociado a valores asignados a todas las categorías de intensidad de las actividades físicas (49;54).
- **VO<sub>2</sub>:** Su utiliza el término consumo de oxígeno para expresar un parámetro fisiológico que indica la cantidad de oxígeno que se consume o utiliza en el organismo por unidad de tiempo. El oxígeno que consume un sujeto en reposo nos indica el metabolismo basal, y se ha calculado en 3.5 mL de oxígeno por kilogramo de peso corporal y minuto (2).
- **VO<sub>2</sub> máx.:** Se define como la cantidad máxima de oxígeno que el organismo es capaz de difundir, transportar y consumir por unidad de tiempo. El factor limitante es la capacidad de utilizar el oxígeno, puesto que la sangre venosa después de pasar por los tejidos contiene siempre oxígeno. Es un parámetro indicador de la capacidad funcional de los individuos o de su potencia aeróbica. Existe una gran variabilidad que depende de factores como: dotación genética, edad, composición corporal, sexo, grado de entrenamiento (2). Al realizar las pruebas, en la ergoespirometría se describe una curva de VO<sub>2</sub> que asciende a medida que la intensidad del ejercicio aumenta; esta curva al final describe una morfología de

meseta que depende de la imposibilidad de consumir más  $O_2$ , bien porque se agote la musculatura respiratoria, se acumulen o falten determinados sustratos en la célula muscular o se alcance el límite para la difusión de  $O_2$  desde el capilar a la miofibrilla, esta meseta se describe como el  $VO_2$  máx. y generalmente corresponde a los niveles más altos de agotamiento y su persistencia depende de la voluntad del sujeto y también del estado de forma de la musculatura que realiza directamente el ejercicio (55).

- **$VO_2$  pico:** Durante las pruebas de determinación del  $VO_2$  máx. El nivel de exigencia requerido por parte del sujeto, no siempre se alcanza debido a diversos factores, de manera que en muchas de las pruebas realizadas no se cumplirán los criterios objetivos que definen  $VO_{2máx}$ . Las principales causas, además de la voluntad del sujeto, son el estado físico del mismo, la motivación, y en ocasiones, la decisión del examinador de no permitir alcanzar el agotamiento por posibles riesgos. Cuando esto ocurre no se puede hablar de  $VO_{2máx}$ , sino de  $VO_2$  pico (2).

Cuando una persona realiza una actividad de ejercicio puede responder de una manera muy diferente a otra cuando se evalúan a valores fijos de intensidad absoluta. Ej. Un ejercicio de intensidad de 10 Kcal/min puede ser el calentamiento para una persona pero puede requerir un esfuerzo máximo para otra. Así que para ajustar dicha variación se valoran las respuestas en términos de intensidad relativa.

La intensidad relativa de una actividad aeróbica ha sido descrita en términos de porcentajes de consumo máximo de oxígeno, consumo de oxígeno de reserva ( $VO_2R$ ), frecuencia cardiaca de reserva (FCR) y frecuencia cardiaca máxima (FC máx.). Además, la intensidad ha sido clasificada relativa a la percepción del esfuerzo por parte del sujeto usando la escala de percepción del esfuerzo de Borg (54).

- **Porcentaje del consumo máximo de oxígeno ( $\%VO_2$  máx.):** Expresión de la intensidad del ejercicio como un porcentaje del  $VO_2$  máx. (49)
- **Porcentaje del consumo de oxígeno de reserva ( $\%VO_2R$ ):** La  $VO_2R$  se calcula restando un MET (3.5 mL/kg/min.) del  $VO_2$  máx. del sujeto. El  $\%VO_2R$  se calcula restándole 1 MET al consumo de oxígeno medido, dividido por el  $VO_{2máx}$ . y multiplicando por 100% (49).

- **Porcentaje de la frecuencia cardiaca de reserva (%FCR):** La FCR se calcula restando la FC de reposo a la FC máxima. El %FCR se calcula restando la FC de reposo a la FC máx. del ejercicio, dividido entre la FC máxima y multiplicando por 100%. El porcentaje de  $VO_2R$  es equivalente al porcentaje de la frecuencia cardiaca de reserva (%FCR) (49).
- **Porcentaje de la frecuencia cardiaca máxima (%FC<sub>máx.</sub>):** Por la relación linear entre la FC (superior a 110 Lat./min.) y el  $VO_2$  durante el ejercicio dinámico, los investigadores y clínicos lo han usado para estimar el porcentaje de  $VO_2$  máx. en una prueba de ejercicio (49).
- **La tabla de percepción del esfuerzo (56) :** No es un sustituto para la prescripción de la intensidad del ejercicio a partir de la FC, pero una vez la relación entre la FC y la tabla haya sido establecida, esta puede ser utilizada (56). Ver Tabla 2.

**Tabla 2. Escala de percepción de Esfuerzo de Borg**

Calificación	Sensación
6	No se siente nada
7	Extermadamente suave
8	
9	Muy suave
10	
11	Suave
12	
13	Ligeramente fuerte
14	
15	Fuerte
16	
17	Muy fuerte
18	
19	Muy, muy fuerte
20	Esfuerzo máximo.

Las escalas de percepción del esfuerzo, son útiles en pruebas repetidas para estudios de comparación, y se correlacionan bien con el porcentaje de frecuencia cardiaca máxima alcanzada. De manera alternativa, la intensidad del esfuerzo muscular efectuado puede agruparse en porcentajes de VO<sub>2</sub> según la condición física del practicante (55).

Todas las definiciones descritas previamente han sido asociadas a una serie de adjetivos como suave, bajo, moderado, vigoroso y fuerte que intentan también explicar el nivel de intensidad (49).

La siguiente tabla muestra los valores correspondientes a las diferentes intensidades de ejercicio. Ver tabla 3:

**Tabla 3. Clasificación de la intensidad de la actividad física.**

Modificado de Type of activity resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. Med Sci Sports Exerc 2001; 33:s364-s369.

Intensidad	Intensidad Relativa			Actividad de tipo aeróbica.							
				Intensidad (MET'S y %VO <sub>2</sub> máx.) en adultos saludables que difieren en VO <sub>2</sub> máx.							
	%VO <sub>2</sub> R	%FC máx.	TPE (Borg)	VO <sub>2</sub> máx.= 12 MET's		VO <sub>2</sub> máx.= 10 MET's		VO <sub>2</sub> máx.= 8 MET's		VO <sub>2</sub> máx.= 5 MET's	
				MET's	%VO <sub>2</sub> máx.	MET's	%VO <sub>2</sub> máx.	MET's	%VO <sub>2</sub> máx.	MET's	%VO <sub>2</sub> máx.
Muy suave	<20	<50	<10	<3.2	<27	<2.8	<28	<2.4	<30	<1.8	<36
Suave	20-39	50-63	10-11.	3.2 - 5.3	27 - 44	2.8 - 4.5	28 - 45	2.4 - 3.7	30 - 47	1.8 - 2.5	36 - 51
moderado	40-59	64-76	12 -13.	5.4 - 7.5	45 - 62	4.6 - 6.3	46 - 63	3.8 - 5.1	48 - 64	2.6 - 3.3	52 - 67
Fuerte	60-84	77-93	14 - 16	7.6 - 10.2	63 - 85	6.4 - 8.6	64 - 86	5.2 - 6.9	65 - 86	3.4 - 4.3	68 - 87
Muy fuerte	≥85	≥93	17 - 19	≥10.3	≥86	≥8.7	≥87	≥7.0	≥87	≥4.4	≥88
Maximal	100	100	20	12	100	10	100	8	100	5	100

Los datos expuestos en la tabla 3, permiten guiar la evaluación del rendimiento aeróbico de las personas en general, realizando diferentes pruebas que se encuentran estandarizadas, los datos expresados de VO<sub>2</sub> permiten diferenciar subgrupos de individuos dependiendo de su capacidad máxima de consumo de oxígeno (parte derecha de la tabla 3). Los valores de VO<sub>2</sub> están normalizados en percentiles con referencia específica a la edad y el género (49). Hay reportes que informan la diferencia entre sedentarios y entrenados a partir de estas referencias, siendo los sedentarios aquellos que no realizan ejercicio físico de manera formal y regular en los últimos dos años y que se encuentran por debajo del percentil 50 del VO<sub>2</sub>máx (57). Los investigadores sugieren además que un VO<sub>2</sub> máx. por debajo del percentil 20 para la edad y el género, está asociado con un incremento del riesgo de muerte de todas las causas (49). Lo que permite observar diferencias entre los individuos gracias al entrenamiento o a un estilo de vida no sedentario.

### 1.3. Entrenamiento y entrenamiento aeróbico

El entrenamiento suele entenderse como algo propio de los deportistas, pero su concepto debe hacerse extensivo a cualquier persona que desee realizar ejercicio, para lograr estar en forma mediante un programa planificado. Matveiev lo define como: “Forma fundamental de preparación de deportistas basado en ejercicios sistemáticos, el cual representa en esencia, un proceso organizado pedagógicamente con el objeto de dirigir la evolución del deportista” (58).

En general, pretende incrementar el potencial físico, desarrollando las cualidades físicas de la forma más adecuada para su nivel de estado físico. Con lo anterior concuerda T. Bompa (1983) quien define el entrenamiento como “una actividad deportiva sistemática de larga duración, graduada de forma progresiva a nivel individual, cuyo objetivo es conformar las funciones humanas, psicológicas y fisiológicas para poder superar las tareas más exigentes” (58).

El concepto de entrenamiento ha evolucionado tomando en cuenta más factores, y tratando de focalizar más aspectos para completar las debilidades del deportista, pero como lo enunciamos al principio, debe hacerse extensivo a todas las personas que realicen actividad física para llevar un control de sus resultados y tener en cuenta los diferentes parámetros a revisar (58).

Entrenamiento Deportivo según Arnold en 1990 y Mozo en el 2002: “Es un proceso pedagógico que se concreta en la organización del ejercicio físico, que varía en cantidad e intensidad, produciendo una carga creciente, que por una parte estimula los procesos fisiológicos de sobrecompensación y mejora las capacidades físicas, tácticas y psíquicas del atleta, a fin de exaltarlo y consolidar su rendimiento. Por otra parte dicho proceso activa las posibilidades cognoscitivas, tanto por la vía de la instrucción como de la autoinstrucción intelectual, contribuyendo de igual modo a la formación de la personalidad del deportista, a través de la preparación moral y volitiva en función de la sociedad” (58).

El Entrenamiento Deportivo, se caracteriza por ser un proceso acumulativo de muchos años, por lo que posee un carácter prospectivo a largo plazo con relación a la obtención del máximo rendimiento por parte del deportista” (58).



El proceso de entrenamiento nunca modifica intrínsecamente los elementos genéticos del individuo, que son los que determinan sus posibilidades, pero si produce una mejoría a través de dos parámetros: el evolutivo y el de adaptación, actuando el primero sobre el aspecto morfofisiológico y el segundo sobre la capacidad funcional (2).

La adaptación al esfuerzo requiere un incremento paulatino de las cargas de trabajo hasta alcanzar niveles óptimos (2), entendiéndose adaptación como el proceso a través del cual el hombre se adecua a las condiciones naturales, de vida, de trabajo, entrenamiento, etc., que llevan a una mejora morfo-funcional del organismo, y a un aumento de su potencial vital y de su capacidad no específica de resistir a los estímulos extremos del ambiente (58).

Aunque no siempre está dirigido al deportista, sino también a personas sin ningún fin deportivo específico, el entrenamiento y la actividad física siempre van a estar enfocados a influenciar un número de factores que constituyen las capacidades de rendimiento físico; esto es, que no solo causa cambios en la fuerza muscular y el consumo máximo de oxígeno, sino que además puede generar cambios estructurales y funcionales en un número de órganos y sistemas, así como cambios psicológicos (53). Los cuales marcan diferencias adaptativas a la exigencia del medio tanto externo como interno (enfermedades) con relación a los sedentarios.

### **1.3.1. Adaptaciones fisiológicas del entrenamiento aeróbico.**

Los programas de entrenamiento, cuando se aplican durante un período de tiempo suficiente, provocan adaptaciones fisiológicas en el organismo que incrementan la capacidad funcional (2).

Es importante diferenciar entre, “adaptaciones del ejercicio” y “respuestas al ejercicio”. Las adaptaciones son cambios que aparecen a largo plazo, que tardan más tiempo en desaparecer y que pueden manifestarse incluso en reposo, mientras que las respuestas, son las modificaciones agudas e inmediatas que experimentan los sistemas fisiológicos ante un estímulo (en este caso, la realización de una actividad física) y que no se presentan durante el reposo (2).

Estas adaptaciones y respuestas son las que nos permiten diferenciar los individuos entrenados de los sedentarios, ya que los segundos responden de forma más intensa y no presentan las adaptaciones logradas a través del tiempo con un entrenamiento.

El entrenamiento implica exponer al organismo a una carga o trabajo de suficiente intensidad, duración, y frecuencia para producir efectos notables o medibles (53), los cuales están limitados por las condiciones genéticas heredadas (2). Utilizaremos la clasificación de las adaptaciones propuesta por López Chicharro enfocados principalmente a las adaptaciones logradas durante un entrenamiento de resistencia aeróbica, entendiéndose resistencia como: la capacidad del cuerpo de sostener un ejercicio rítmico y prolongado (53).

Se clasifican las adaptaciones al entrenamiento así:

a. Adaptaciones del organismo de forma sistémica:

- Sistema Cardiocirculatorio.
- Sistema Pulmonar.
- Otros cambios generales.

b. Adaptaciones periféricas (bioquímicas).

### ▪ **Adaptaciones cardiocirculatorias.**

El aparato cardiocirculatorio para cumplir con una adecuada entrega de oxígeno a los músculos ejercitantes durante el ejercicio, presenta adaptaciones que se pueden observar durante tres momentos, en reposo, durante ejercicios de intensidad submáxima y durante ejercicios máximos.

1. Aumento del peso, volumen, grosor de las paredes ventriculares y aumento de la cavidad izquierda (59-63).
2. Bradicardia en reposo (2;29;64-66) debido a un aumento del tono parasimpático (2;53). Menor frecuencia cardiaca aún en ejercicio submáximo y maximal por disminución de las catecolaminas circulantes y de la sensibilidad cardiaca a estas (2;53).

3. Incremento del volumen sanguíneo a expensas del volumen plasmático (67-69) y el número de eritrocitos y la hemoglobina (2;53;67). Además, un aumento en la tasa de recambio de los eritrocitos (70).
4. Aumento del volumen sistólico (VS), por aumento del volumen de fin de diástole (VFD) (71) y disminución del volumen de fin de sístole (VFS),  $VS=VFD-VFS$  (72) observado tanto en reposo, ejercicio submáximo y maximal.(2;53;73;74).
5. Disminución de la presión arterial principalmente en reposo (2;53).
6. Reducción del  $VO_2$  miocárdico en reposo y ejercicio submaximal con disminución del flujo sanguíneo coronario, el cual aumenta en ejercicio maximal (2;53).
7. El  $VO_{2máx.}$  es menor o igual en ejercicio submaximal en los entrenados, aumenta entre un 5-20% en ejercicio maximal comparado con los sedentarios (2;53).
8. Incremento de la diferencia arteriovenosa de oxígeno particularmente en ejercicio maximal (2;53).

### ▪ **Adaptaciones respiratorias**

1. Disminución de la frecuencia respiratoria asociada a un volumen corriente mayor en reposo y ejercicio submaximal, pero la ventilación máxima aumenta en ejercicios por encima del umbral (2;53).
2. Aumento de los volúmenes pulmonares exceptuando la capacidad vital (2;53).
3. Optimización de la relación ventilación-percusión en todas las zonas pulmonares (2;53).
4. Aumento de la diferencia arteriovenosa (2;53).

### ▪ **Otros cambios generales.**

1. Disminución de la grasa corporal total, aumento ligero del componente muscular con escasas modificaciones del peso corporal (2;53).
2. Disminución del colesterol LDL y VLDL, triglicéridos y aumento del colesterol HDL (2;53).
3. Mejor aclimatación al calor (2).
4. Incremento de la densidad ósea (2).
5. Refuerzo de las inserciones tendinosas y ligamentarias (2).
6. Aumento del espesor del cartílago (2).

### ▪ **Cambios bioquímicos.**

Estos cambios periféricos permiten una mayor producción energética y una mejor eliminación de los productos de desecho metabólicos, reduciendo con ello determinados factores relacionados con la aparición e instauración de la fatiga (53).

De todos los tejidos a nivel periférico, el músculo esquelético es el más susceptible de experimentar modificaciones por efecto del entrenamiento físico (53).

### **1.3.2. Efectos del entrenamiento aeróbico sobre el músculo esquelético**

El ejercicio influye en la periferia, principalmente sobre el músculo (2;53), Andersen y Saltin concluyeron que la capacidad del músculo esquelético para manejar el flujo sanguíneo, excede a la capacidad de aporte del corazón en un factor de 2:3 (75). De esta manera, se debe mejorar tanto el desempeño aeróbico muscular como el sistema de entrega del flujo.

Las principales adaptaciones que ocurren en el músculo esquelético son:

- Aumento en el contenido de mioglobina
- Mayor tasa de oxidación de hidratos de carbono.
- Aumento en el volumen mitocondrial, con un incremento de las enzimas involucradas en el ciclo del ácido cítrico y en la cadena transportadora de electrones.
- Aumento del potencial de reserva de glicógeno
- Mayor capacidad para oxidar grasas.
- Disminución en la producción de ácido láctico (aumento del umbral anaeróbico).
- Incremento en la densidad capilar.
- Aumento en el flujo sanguíneo máximo a través del músculo.

### ▪ **Aumento en el contenido de mioglobina**

El aumento de mioglobina es específico de los músculos involucrados en el ejercicio, principalmente de las fibras tipo I, las que mayor contenido de mioglobina tienen (2;53;76) y parece estar relacionado con la frecuencia del entrenamiento (40;77). Aunque se ha observado que dicho aumento en músculos humanos no se presenta aún en estados de hipoxia hipobárica mediana (78). El entrenamiento aeróbico ha mostrado incrementar el contenido muscular de mioglobina entre un 13 -45% (77) a un 70-80% (53).

### ▪ **Aumento de la tasa de oxidación de hidratos de carbono (glucógeno)**

Se presenta un aumento en la capacidad del músculo de generar energía por la vía aeróbica, debido a dos adaptaciones:

I) Aumento en el número, el tamaño, área de superficie y eficiencia de las mitocondrias del músculo esquelético (2;59;79).

II) Incremento del nivel de actividad y la concentración de las enzimas involucradas en el ciclo del ácido cítrico y en el sistema de transporte de electrones, como la SDH (succinato deshidrogenasa), la CS (citrato sintetasa), la HK (hexoquinasa), la MDH (malato deshidrogenasa) y la CPT (carnitina palmitoil transferasa). Asociado al aumento en la capacidad de acumular glucógeno en el músculo esquelético (2).

### ▪ **Incremento de la oxidación de las grasas**

La oxidación de las grasas para producción de energía, durante el ejercicio submáximo, se ve aumentada. Esto supone una menor depleción de glucógeno y un menor acúmulo de ácido láctico y por tanto, menos fatiga muscular (2;53). Esta adaptación está asociada a:

a) Aumento de las reservas intramusculares de triglicéridos (2;53).

b) Mayor tasa de liberación de ácidos grasos libres (AGL) desde el tejido adiposo (aumento de la disponibilidad de las grasas como combustible) (2;53).

c) Incremento de la actividad y concentración de las enzimas involucradas en la activación, transporte y ruptura de los ácidos grasos, como la carnitín-transferasa, aumento de la proteína transportadora carnitina (2;53).

Se incrementa la tasa de obtención de moléculas de acetil-CoA a partir de los AGL y que entrarán en el ciclo del ácido cítrico, en donde se formara citrato. Los niveles altos de citrato inhiben la actividad de la fosfofructoquinasa (PFK) en el citoplasma, disminuyendo de esta forma el metabolismo de los hidratos de carbono (2;53).

- **Disminución en la producción de ácido láctico (aumento del umbral de anaeróbico)**

El umbral anaeróbico se incrementa, encontrándose entre el 60%-75% del  $VO_{2m\acute{a}x}$ . en los sujetos entrenados. Lo que permitiría trabajar a tasas superiores que los no entrenados (2;53).

- **Cambios morfológicos musculares**

- **Cambios en la densidad capilar e hipertrofia del músculo esquelético.**

El entrenamiento de resistencia causa hipertrofia muscular con un aumento de la capilaridad de hasta un 30% con respecto a los sujetos no entrenados (5,9 capilares por fibra muscular en sujetos entrenados frente a 4,4 capilares por fibra muscular en sujetos no entrenados). Este aumento de la capilaridad puede llegar a ser de hasta un 50% (2;53).

- **Cambios en el flujo sanguíneo muscular durante el ejercicio submáximo.**

El flujo de sangre con relación a la masa de músculos que participan en el ejercicio, es menor en los sujetos entrenados para una misma carga absoluta de trabajo. Los músculos ejercitantes compensan este hecho con una mayor capacidad de extracción de oxígeno, lo que se evidencia por una mayor diferencia arterio-venosa de oxígeno. Este

hecho parece relacionado con los cambios musculares a nivel bioquímico, que se producen como consecuencia del entrenamiento (2;53).

El menor aporte sanguíneo a los músculos, proporciona una mayor disponibilidad del gasto cardiaco a los tejidos que no participan en el ejercicio, como por ejemplo la piel, lo que puede suponer una ventaja durante la realización de ejercicios en condiciones de elevada temperatura a la hora de disipar el calor. En concreto, hay 2 lechos vasculares que reciben un mayor aporte sanguíneo: el hígado y los riñones (2;53).

- **Cambios en el flujo sanguíneo muscular durante el ejercicio maximal.**

El flujo sanguíneo muscular durante ejercicio maximal aumenta tanto en entrenados como sedentarios, siendo mayor en entrenados pero, el flujo de sangre por kilogramo de músculo es similar entre los sujetos de ambos grupos. Los entrenados tienen mayor masa muscular involucrada, y el flujo de sangre se distribuye en una cantidad mayor de masa muscular, permaneciendo constante el valor del flujo sanguíneo relativo a la masa muscular (flujo/kilogramo de músculo) (2;53).

- **Factores que condicionan los efectos del entrenamiento**

- **Intensidad del entrenamiento.**

Según va aumentando la intensidad de los ejercicios, aumenta más el consumo máximo de oxígeno ( $VO_{2m\acute{a}x.}$ ). Existe una intensidad umbral de entrenamiento por encima de la cual los efectos del ejercicio son más acentuados. Este umbral varía entre los sujetos, y está relacionado con el  $VO_{2m\acute{a}x.}$  inicial de cada individuo. Además, si se supera el umbral aeróbico no se presentarían las adaptaciones descritas (2;53).

- **Frecuencia y duración del entrenamiento.**

A mayor frecuencia y duración de las sesiones de entrenamiento mejores resultados se obtienen.

- **Especificidad del entrenamiento.**

La especificidad del entrenamiento tiene 2 bases fisiológicas: metabólica y neuromuscular.

- La base metabólica, tiene dos componentes principales: los sistemas de energía y el sistema cardiorrespiratorio. Los ejercicios de baja intensidad y larga duración, involucran principalmente al sistema aeróbico, y los de alta intensidad y poca duración, involucran principalmente a las rutas metabólicas anaeróbicas. El sistema cardiorrespiratorio está íntimamente relacionado con los cambios ocurridos en el sistema aeróbico (2;53).
- La base neuromuscular, tiene que ver con el tipo de fibra muscular involucrado en cada programa de ejercicios (2;53).

- **Limitaciones genéticas.**

Se ha estimado que el  $VO_{2máx}$  está genéticamente determinado en más de un 90%. Otra variable fisiológica con alta carga genética es la distribución de los diversos tipos de fibras musculares (>95%). De la misma manera, la capacidad del sistema del ácido láctico, y la máxima frecuencia cardiaca tienen un componente genético muy importante (81,4 – 85,9%) (2;53).

No está claro, si el conjunto de cambios musculares que resultan como consecuencia del entrenamiento, disminuye la frecuencia o la intensidad de daño muscular asociado a ejercicio aeróbico; tampoco está claro si estos cambios son el reflejo de la respuesta a daño muscular acumulado durante el entrenamiento.

Para ayudar a resolver el primero de estos interrogantes, se plantean las preguntas de investigación presentadas en este trabajo.



## **2. Propósito.**

Determinar si existen diferencias en la expresión de marcadores de rabdomiolisis entre un grupo de sujetos entrenados y otro de sedentarios después de la realización de un ejercicio aeróbico extenuante controlado sin componente excéntrico, dado que los estudios realizados hasta el momento utilizan el componente excéntrico como principal mecanismo de daño muscular. Lo anterior permitirá describir la cinética de liberación de estos marcadores en este tipo de ejercicio y observar el papel que tiene el entrenamiento en la expresión de los marcadores en el daño muscular asociado a la realización de ejercicio concéntrico dinámico controlado.

## **3. Objetivos.**

### **3.1. Objetivo general**

Establecer si existen diferencias en las concentraciones plasmáticas y en la cinética de mioglobina y creatinfosfoquinasa como marcadores de rbdomiolisis, entre un grupo de entrenados y un grupo de sedentarios durante una prueba de ejercicio aeróbico submaximal.

### **3.2. Objetivos específicos**

- Medir la concentración plasmática de los marcadores de rbdomiolisis (mioglobina y CPK plasmática) antes, inmediatamente después, a la hora, dos horas, 3 horas, 24 y 48 horas posteriores a un evento de ejercicio aeróbico submaximal mediante una prueba de cicloergometría en sujetos sanos entrenados y sedentarios.
- Correlacionar el grado de rbdomiolisis evidenciado con los niveles plasmáticos de mioglobina y CPK.
- Comparar la cinética de liberación entre mioglobina y CPK como marcadores de rbdomiolisis entre sujetos entrenados y no entrenados, sometidos a ejercicio aeróbico submaximal.

## **4. Metodología.**

### **4.1. Tipo de estudio**

Estudio cuasi-experimental controlado no aleatorizado, en el cual participaron dos grupos. Se denomina cuasi-experimental por qué no se tiene control sobre algunas de las variables de confusión que puedan intervenir y modificar los resultados del estudio (no aleatorio, con manipulación de la variable independiente de interés). Así mismo, este estudio es comparativo, ya que se hace un paralelo entre los resultados obtenidos en los hombres del grupo experimental y un grupo control.

### **4.2. Población de estudio**

La población del estudio estuvo integrada por jóvenes sanos nativos entre 18 y 27 años de edad, divididos en dos grupos, un grupo que estaba conformado por hombres sanos entrenados en ciclismo pertenecientes a las ligas de Bogotá, Cundinamarca y Colombia y, un grupo de hombres sanos sedentarios pertenecientes a la Universidad Nacional de Colombia seleccionados mediante encuesta de MET's que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión y aceptaron ingresar al estudio mediante firma del consentimiento informado.

### **4.3. Tamaño muestral.**

El cálculo del tamaño de la muestra se realizó basándose en los estudios previos realizados en deportistas ciclistas donde se midieron las variables de interés (concentración de mioglobina y CPK en plasma) después de una prueba de ejercicio. Se

tomó la Desviación Estándar (DS) post-ejercicio de esta variable y fue empleada en la siguiente fórmula para diferencias de medias:

$n$  para diferencia de medias =  $2 * (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2 / d^2$

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2}{d^2}$$

Dónde:

- $n$  = sujetos necesarios en cada una de las muestras
- $Z_{\alpha}$  = Valor Z correspondiente a la significancia o riesgo.
- $Z_{\beta}$  = Valor Z correspondiente a la potencia
- $S^2$  = Varianza de la variable cuantitativa que tiene el grupo control o de referencia.
- $d$  = Valor mínimo de la diferencia que se desea detectar (datos cuantitativos)

De esta manera el cálculo de la  $n$  para este estudio fue hecho de la siguiente manera: El estudio realizado por el grupo de König presentó una desviación estándar para la mioglobina plasmática después de ejercicio en ciclistas profesionales de 10,4 ng/ml (81). Se acepta un riesgo de 0.05 y se desea un poder de estudio de 90% para detectar diferencias, y tomando una diferencia mínima de detección de 11. El valor de  $Z_{\alpha}$  es de 1,645 y el valor de  $Z_{\beta}$  es de 1,282 según tabla de valores Z (82-84)

Así, la  $n$  para cada uno de los grupos es de 15 sujetos, teniendo un total de 30 sujetos evaluados.

## 4.4. Criterios de inclusión y exclusión.

### 4.4.1. Criterios de inclusión

- Joven sano entre 18 y 27 años de edad nativo de la altura a 2600 msnm.

- Firma de consentimiento informado: Sujetos que aceptaron voluntariamente participar en el estudio y que autorizaron el uso de la información obtenida para el análisis, utilización y divulgación como material científico. Cada individuo dio su consentimiento de forma escrita (Anexo 1), de acuerdo a las recomendaciones de la declaración de Helsinki y a la normatividad relacionada con este tipo de investigaciones.
- Sujetos sedentarios: Según encuesta de MET's con actividad física superior a 4 MET's no mayor del 10% del consumo calórico total diario y consumo máximo de oxígeno inferior a 50 ml/kg/min.
- Sujetos deportistas entrenados en ciclismo: Los cuales debían llevar por lo menos un año de entrenamiento y poseer un consumo máximo de oxígeno superior a 50ml/kg/min.

#### **4.4.2. Criterios de exclusión.**

- Alteración en los datos de la historia clínica la cual estuvo centrada en la detección de alteraciones sintomatológicas metabólicas, osteomusculares, infecciosas y cardiopulmonares.
- Alteración en el examen físico: Se buscaron alteraciones osteomusculares, alteraciones cardiopulmonares, gastrointestinales y síntomas de procesos infecciosos.
- Anomalías en los exámenes de sangre. Hipotiroidismo, hipertiroidismo, anemia o hiperglobulia, alteraciones en el conteo de leucocitos y VSG que sugieran proceso inflamatorio o infeccioso, alteraciones de la función renal y elevación de los valores basales de CPK plasmática por encima de 170U/L que ayuden a diagnosticar y diferenciar las miopatías subclínicas mencionadas en el marco teórico con elevaciones de los valores basales de por lo menos 5 veces los valores de referencia
- Evidencia de arritmias (fibrilación auricular, taquicardia auricular paroxística, síndrome del nódulo sinusal enfermo, síndromes de preexcitación) en el electrocardiograma de reposo.
- Fumadores (Según la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS)), fumador es la persona que ha consumido diariamente durante el último mes cualquier cantidad de cigarrillos, incluso uno (85).

- Trastornos metabólicos no controlados: Hipertiroidismo, hipotiroidismo y diabetes.
- Miopatias de carácter subclínico.
- Enfermedad infecciosa aguda.
- Problemas ortopédicos que impidan la práctica del ejercicio
- Incapacidad para seguir las instrucciones del estudio.

## 4.5. Cuadro de variables.

**Tabla 4. Tabla de variables del estudio.**

Nombre Variable	Definición	Código	Naturaleza	Tipo
Edad	Edad en años cumplidos		Cuantitativa	Discreta
Talla (cm)	Estatura medida en centímetros		Cuantitativa	Continua
Peso (Kg)	Masa del sujeto medida en kilogramos		Cuantitativa	Continua
IMC	Relación entre el peso y la talla, calculada con la formula: $\text{peso}/(\text{talla})^2$		Cuantitativa	Continua
FC reposo (p/min)	Número de pulsaciones por cada minuto. (p/min.)		Cuantitativa	Discreta
TA sistólica (mmHg)	Valor superior de la medición de la presión arterial		Cuantitativa	Discreta
TA diastólica (mmHg)	Valor inferior de la medición de la presión arterial		Cuantitativa	Discreta
FR reposo (p/min)	Numero de ventilaciones realizadas en un minuto.		Cuantitativa	Discreta
VO <sub>2</sub> máx. (ml/kg/min).	Consumo máximo de oxígeno medido en la ergoespirometría (ml/kg/min).		Cuantitativa	Continua

FC máx. (p/min)	Número máximo de pulsaciones medido por minuto durante ergoespirometría.	Cuantitativa	Discreta
VO2 umbral (ml/kg/min.)	Consumo de oxígeno medido en el umbral anaeróbico.	Cuantitativa	Continua
%VO2 umbral (%)	Porcentaje del consumo máximo de oxígeno al cual se alcanza el umbral anaeróbico.	Cuantitativa	Continua
FC umbral (L/min.)	Número de pulsaciones medidas por minuto al alcanzar el umbral anaeróbico.	Cuantitativa	Discreta
FC 85% (L/min.)	Número de pulsaciones medidas por minuto al alcanzar el 85% del consumo máximo de oxígeno.	Cuantitativa	Discreta
Mioglobina Plasmática (ng/ml)	Concentración de mioglobina en plasma medido en ng/mL.	Cuantitativa	Continua
Creatinfosfoquinasa (CPK) (U/L)	Concentración de CPK en plasma medida en U/L.	Cuantitativa	Continua
Estado de Entrenamiento	Clasificación de grupo.	1. Entrenado. 2. Sedentario.	Cualitativa Dicotómica

## 4.6. Plan de análisis.

Software

Microsoft Office "Excel" 2007.

Programa estadístico: R.

Ambos programas con licencia institucional.

### 4.6.1. Evaluación estadística.

Una vez recolectados los datos en ambos grupos, fueron organizados y filtrados aquellos datos completando un total de 14 participantes en el grupo de entrenados y 18 en el grupo de sedentarios. Para las variables demográficas de edad, peso, talla, IMC, FC de reposo, TA sistólica y diastólica, FR en reposo, consumo máximo de oxígeno, FC máxima, consumo de oxígeno en el umbral, porcentaje del consumo máximo de oxígeno al que se alcanza el umbral anaeróbico, la FC en el umbral anaeróbico, la frecuencia cardíaca al 85%, se realizaron descripciones de las medias con su desviación estándar, y se analizó la diferencia mediante un valor de significancia menor de 0.05.

En primer lugar, se analizaron las características estadísticas y distribución de los datos obtenidos de los niveles de mioglobina y CPK medidos tanto del grupo de entrenados y no entrenados.

- Se realizaron las pruebas de normalidad y varianza para observar la distribución de los datos.
- Como las muestras en cada grupo fueron inferiores a 50 se realizó la prueba de Shapiro - Wilks para establecer la distribución de los datos de las variables principales utilizadas en el estudio.
- Además, se realizó la prueba de homogeneidad de las varianzas de los datos de las variables con el estadístico de Levene.
- La significancia estadística se consideró con un valor de  $p < 0,05$  para ambas pruebas (80).



- Al realizar las pruebas mencionadas se encontró que en varias de las mediciones de las variables no existía normalidad y homogeneidad de las varianzas, ni simetría en la distribución, por lo tanto, el análisis de los datos se dirigió a pruebas no paramétricas.
- El análisis de los datos se realizó inicialmente mediante una comparación exploratoria de las medias y medianas de las mediciones en cada uno de grupos.

La evaluación del impacto del ejercicio en rhabdomiolisis se realizó con las variables dependientes (mioglobina y CPK), mediante la diferencia entre las mediciones respectivas tomadas luego de finalizado el ejercicio y el pretest. Estas diferencias se consideran como los cambios ocurridos en cada uno de los participantes, observados en el momento de cada medición, con relación a su condición inicial, dada por el pretest. Si uno de los participantes tenía los valores de CPK o mioglobina superiores o disminuidos en el pretest podía suceder que los valores de las siguientes muestras sigan con la misma condición, sin que se pudiera saber claramente, si las diferencias entre los grupos se debían al efecto del ejercicio o a las condiciones iniciales de los participantes. Entonces, lo más comparable fueron los cambios que se observaron a partir del pretest como condición inicial. Si no se hiciera de esta manera cada resultado podría ser consecuencia del valor de la condición inicial del participante más lo ocasionado por el ejercicio, mientras que eliminando la condición inicial tendríamos aislados, para su observación, los efectos del ejercicio.

- Al comenzar el análisis fue pertinente hacer una comparación entre los dos grupos para ver si existían diferencias entre la condición inicial de los dos grupos, donde se realizó una diferencia de las medias de los valores obtenidos mediante la técnica de remuestreo (bootstrapping).
- Para examinar el impacto del ejercicio en la cinética de liberación de los marcadores de lesión muscular se analizaron las medias de los cambios en los niveles, tanto de CPK como de mioglobina, desde los valores del pretest entre el grupo de sedentarios y deportistas mediante la técnica de remuestreo (bootstrapping).

### **4.6.2. Control de variables y sesgos**

El control de variables se realizó teniendo en cuenta aquellos eventos que puedan alterar en gran magnitud las variables fundamentales en la evaluación del daño muscular asociado a ejercicio, entre ellos tenemos:

CPK de tamizaje y pretest: Se tuvo en cuenta que aquellos participantes cuyos niveles de CPK durante las pruebas de tamizaje o las muestras antes de iniciar la prueba fueran superiores a 170 mg/mL debían ser retirados del análisis, dado que cambiarían el comportamiento de los datos de la muestra.

Mioglobina tamizaje y pretest: Los niveles de mioglobina correspondían em magnitud a los niveles de CPK, por lo tanto en el estudio continuaron los mismos participantes que respetaron los niveles de CPK.

La estandarización en cuanto a los tiempos de la toma de la muestra sanguínea en los participantes. Se realizó siguiendo las normas y tiempos establecidos en la descripción del experimento.

## **4.7. Desarrollo del estudio.**

### **4.7.1. Etapa de convocatoria de voluntarios.**

Se convocó a los sujetos entrenados por medio de contacto con el entrenador e invitación a la participación dentro del estudio.

Se realizó además una convocatoria pública en la Universidad Nacional de Colombia a través de volantes y comunicación directa a los estudiantes.

Se realizaron reuniones informativas donde los convocados e interesados en participar en el estudio obtuvieron información del mismo por medio de una presentación general, se les explicó el objetivo de interés del estudio, las pruebas y métodos a practicar, para que una vez explicado y entendido aceptaran su participación por medio de la firma del consentimiento informado (Anexo N° 1), el cual era entregado al finalizar la reunión y debía entregarse firmado para iniciar las siguientes etapas del estudio.

Los estudiantes de la Universidad Nacional de Colombia contestaron la encuesta de MET's (Anexo N° 2) para clasificarlos como sedentarios y así continuar con su participación.

Los resultados obtenidos en la encuesta dan un índice general de la actividad metabólica expresado en Kcal/día, y distribuidos en tres categorías vinculadas a un nivel de intensidad: ligero, medio e intenso. Las actividades consideradas como "ligeras" son aquellas cuyo código equivale a 1.0, 2.0, 3.0, 3.5, 4.0 MET's; las "moderadas" son las que están en 4.5, 5.0, 5.5 MET's y las "intensas" mayor de 6.0 MET's (86)

De esta manera y en concordancia con Martine y colaboradores, se definieron sedentarios, aquellos sujetos que utilizaron menos del 10% de su gasto energético diario en actividades de 4 o más MET's (87).

### 4.7.2. Etapa de tamizaje.

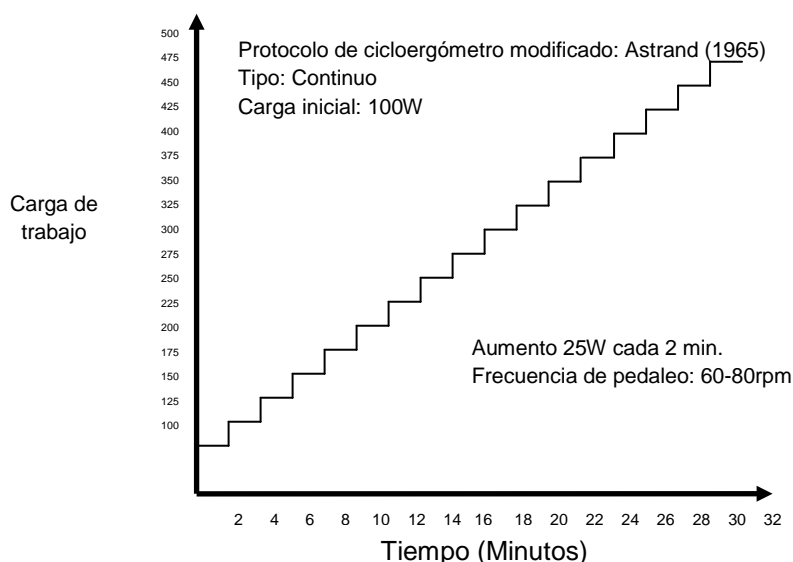
Los participantes fueron clasificados en 2 grupos, un grupo donde estaban los individuos entrenados en deporte aeróbico (ciclismo) y un grupo de sujetos sedentarios clasificados por MET's.

A cada uno de los participantes se le asignó una carpeta donde se llevaba el registro completo de los datos obtenidos durante cada una de las etapas.

Se realizó la selección de sujetos sanos en ambos grupos mediante una historia clínica dirigida (Anexo N° 3) la cual contenía:

- **Anamnesis:** Antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular, pulmonar o metabólica, antecedentes personales médicos, quirúrgicos y ortopédicos, alergias, toma actual de medicamentos, consumo de café, alcohol, tabaco y; en el grupo de entrenados se tuvo en cuenta el tiempo de entrenamiento el cual no debía ser inferior a 2 años.
- **Exploración física:** Peso y talla, presión arterial, auscultación pulmonar, auscultación cardiaca y de las arterias carótidas, palpación de los pulsos centrales y periféricos, exploración neurológica, exploración de las grandes articulaciones y columna vertebral.
- **Pruebas paraclínicas:**
  - Electrocardiograma de 12 derivaciones en reposo
  - Parcial de orina.
  - Análisis sanguíneo que incluía:
    - Hemograma con velocidad de sedimentación globular (VSG)
    - Pruebas de función renal ( creatinina y nitrógeno ureico)
    - Creatifosfoquinasa plasmática. (CPK)
    - TSH
- **Determinación del estado de salud:** Con los datos obtenidos en la anamnesis, en la exploración física y los resultados de los paraclínicos se determinó el estado de salud de cada uno de los participantes. A partir de los datos obtenidos, se realizó la selección de los participantes de los dos grupos que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión anteriormente descritos.

- Nivel de entrenamiento:** Una vez determinado el estado adecuado de salud del participante, se le realizaba una prueba de ejercicio maximal en cicloergometro basada en el protocolo modificado de Astrand para determinar su nivel de condición física y comprobar su nivel de entrenamiento. Ver Figura 5. Con los resultados obtenidos se determinó la frecuencia cardiaca máxima para poder calcular la frecuencia cardiaca al 85% de su capacidad máxima necesaria para la prueba experimental. En el grupo de sedentarios se obtuvieron consumos de oxígeno máximo inferiores a 40 ml/kg/min y en el grupo de entrenados se obtuvieron consumos superiores a 50 ml/kg/min.



**Figura 5. Protocolo continuo de Astrand en cicloergómetro.** Modificado de Heyward V. Evaluación y prescripción del ejercicio. Editorial paidotribo. Primera edición.

### 4.7.3. Etapa experimental.

Los sujetos, tanto del grupo de sedentarios (MET's y VO<sub>2</sub> < 40ml/kg/min.) como entrenados, fueron convocados a la realización de la prueba en horas de la mañana, cuya fecha era asignada y anotada en su carpeta de registro de datos.

Antes de la prueba, los sujetos llegaban al laboratorio, después de un descanso nocturno óptimo, y absteniéndose de ejercicio, alcohol, exposición a tabaco y cafeína durante las 72 horas previas, o consumo de algún medicamento 2 semanas previas.

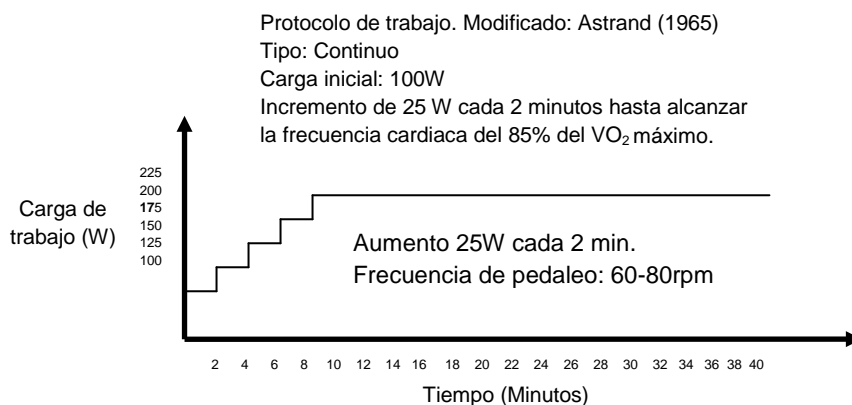
A la llegada del participante se revisaban y confirmaban los datos registrados en la carpeta de seguimiento correspondiente.

Después de cumplir un periodo de reposo de 5 min. se realizaba la canalización de una vena antecubital con catéter heparinizado (Anexo N° 4) y se tomaban las primeras muestras para análisis de concentración plasmática de mioglobina y CPK en reposo.

Luego de la toma de las primeras muestras se adicionaba un nuevo reposo de 5 min y se continuaba el protocolo de hidratación (88). (Anexo N° 5) El cual se mantuvo durante la prueba para controlar los efectos adversos asociados a la rhabdomiolisis.

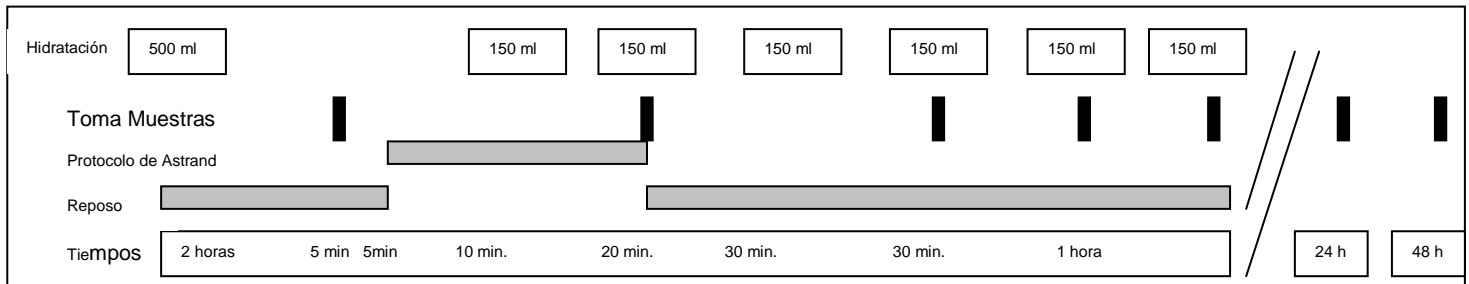
Se realizó una prueba única de ejercicio aeróbico submaximal en cicloergómetro bajo monitoria médica y electrocardiográfica, y registrando las variables de interés del estudio, en condiciones de laboratorio estándar ( $T^{\circ} 20^{\circ}\text{C} \pm 2$  y 60% de HR).

El protocolo de la prueba en cicloergómetro fue incremental continuo adaptando el protocolo de Astrand (1965), se realizó manteniendo un pedaleo entre 60 – 80 rpm (89), hasta alcanzar la frecuencia cardiaca del 85% de su  $\text{VO}_2$  máximo, la cual iniciaba con una carga de 100W durante 2 min. y se incrementaba cada 2 minutos en 25W (51). Los participantes avanzaron en cada una de las etapas con monitoria de la frecuencia cardiaca, la cual nos guiaba hasta la etapa donde se alcanzaba la frecuencia cardiaca del 85% de su  $\text{VO}_2$  máximo, etapa que se mantuvo durante 30 minutos; todos los sujetos eran animados verbalmente a continuar pedaleando por el grupo evaluador para manejar el cansancio volitivo, al finalizar la etapa terminaba la prueba.



**Figura 6. Modificación Protocolo continuo de Astrand modificado en cicloergómetro.** Tomado de Heyward V. Evaluación y prescripción del ejercicio. Editorial paidotribo. Primera edición.

El seguimiento de la sensación de fatiga se realizó mediante la escala de percepción del esfuerzo, la cual fue adaptada para que el participante únicamente tuviera que señalar en la escala gráfica, y se incentivó a los participantes a alcanzar la meta propuesta durante la prueba, para mantener la frecuencia cardiaca objetivo (frecuencia cardiaca al 85% del  $VO_{2m\acute{a}x} \pm 5$  latidos) se realizaron ajustes dentro de los parámetros establecidos de la frecuencia de pedaleo y si no era posible se efectuaron cambios en la carga, una vez finalizada la etapa se regresaba a un pedaleo de recuperación sin carga de 5 – 10 min., durante el cual se tomaba la muestra de sangre propuesta como inmediatamente después; los participantes permanecían en el laboratorio en reposo, para conseguir posteriormente las muestras una hora, dos y tres horas después. Posteriormente eran citados para realizar las tomas propuestas a las 24 y 48 horas posejercicio.



**Figura 7. Descripción general del experimento.**

#### 4.7.4. Procesos de laboratorio o tecnológicos.

Medición de concentración plasmática de mioglobina por electroquimioluminiscencia. Roche ® (90;91).

Medición de la actividad de la CPK por técnica cinética ultravioleta. Roche ®.

Dichas mediciones se realizaron de las muestras tomadas antes, inmediatamente después, 1 hora, 2 horas, 3 horas, 24 horas y 48 horas después de la prueba de ejercicio aeróbico submaximal. Los datos fueron registrados en el formato de recolección de datos. Ver Anexo 6.

## **Muestras sanguíneas.**

### **Protocolo de toma y procesamiento inicial muestras**

El procedimiento de toma de las muestras venosas sanguíneas se hizo según la disposición de las técnicas establecidas en el protocolo de canalización y toma de muestras establecido para el estudio. Ver anexo 4.

El procesamiento inicial de las muestras se realizó mediante separación del suero mediante centrifugación de las muestras sanguíneas a 4000 rpm durante 10 min, el suero fue obtenido mediante pipeteo a tubos Eppendorf de 1,5cc y congelados a -20° centígrados hasta las mediciones posteriores.

### **4.7.5. Pruebas de tamizaje.**

- **Electrocardiograma de 12 derivaciones en reposo.**

El día de la evaluación médica se mantenía al paciente con un reposo de 5 minutos y se realizaba la toma de EKG de 12 derivaciones, y se observaba si los participantes tenían alteraciones cardiacas observables mediante esta técnica, en los deportistas se permitían las manifestaciones de cambios adaptativos al ejercicio como aumento de las cavidades, desviaciones del eje de despolarización cardiaco y bradicardia.

- **Parcial de orina.**

El día anterior a la evaluación médica se llamaba al participante para recordarle que debía tomar la muestra de orina y llevarla al laboratorio, la cual se analizaba mediante tira reactiva Multistix de Bayer, las alteraciones en las características químicas de la orina evaluadas consideraban criterio de exclusión.

- **Hemograma con velocidad de sedimentación globular.**

Las muestras sanguíneas tomadas para el tamizaje de hemograma y velocidad de sedimentación globular eran guardadas en un tubo sin anticoagulante para



separación del suero y otro con anticoagulante EDTA (tapa lila) para realizar el conteo del Hemograma mediante técnica de Impedancia en el equipo Sismex KX21 de Roche, de la Unidad de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia, donde se obtenían los valores de los siguientes parámetros hematológicos: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, LINF%, MXD%, NEUT%, LINF#, MXD#, NEUT#, RDW-SD ó RDW.CV, PWD, MPV, PLCR., alteración en el valor de cualquiera de los parámetros mencionados era motivo de descarte de los participantes. La velocidad de sedimentación se realizó en los tubos de Wintrobe durante 1 hora, si la sedimentación era superior a 10 mm/hora se descartaba al participante.

- **Pruebas de función renal (creatinina y nitrógeno ureico).**

La concentración de creatinina en suero se realizó mediante técnica de Jaffe con desproteinización, la desproteinización es importante ya que el reactivo pícrico reacciona también con proteínas, bilirrubina y hemoglobina, una vez desproteinizado el suero en medio alcalino se hacia reaccionar este con ácido pícrico dando como resultado picrato de creatinina que es un cromógeno naranja que se lee mediante técnica espectrofotométrica a una longitud de onda de 505 nm y la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de creatinina. Los participantes con valores superiores a 1,4 mg/mL de creatinina eran excluidos del estudio.

El nitrógeno ureico fue analizado mediante técnica de Berthelot donde la ureasa convierte a la urea en amoniaco el cual reacciona con salicilato, nitroferricianuro e hipoclorito para dar un color azul-verde. La absorbancia a 610nm es directamente proporcional a la concentración de nitrógeno ureico. Los participantes con valores superiores a 25 mg/mL de nitrógeno ureico eran excluidos del estudio.

- **TSH**

La concentración de TSH fue medida con ensayo de inmunoquimioluminiscencia en un inmunoanalizador *Elecsys* 1010 del laboratorio de Unisalud de la

Universidad Nacional de Colombia con el reactivo TSH de laboratorios ROCHE *diagnostics*. La prueba consiste en una técnica de sándwich con una duración de 9 minutos, con 2 incubaciones y lectura similares a las empleadas a la medición de mioglobina. El rango de referencia de la prueba fue de 0.039 – 4.6 mIU/L, los participantes con valores inferiores o superiores a los datos de referencia eran excluidos del estudio.

#### ▪ **Mioglobina**

La Concentración de mioglobina en suero se midió mediante prueba inmunológica *in vitro* para determinación cuantitativa. El inmunoensayo denominado ECLIA (*electrochemiluminescence immunoassay*) de electroquimioluminiscencia fue realizado en un inmunoanalizador Elecsys 1010 del laboratorio de Unisalud de la Universidad Nacional de Colombia con el reactivo *Myoglobin STAT* de laboratorios ROCHE *diagnostics*.

La prueba consiste en técnica de sándwich con una duración total de 9 minutos.

1º incubación: el antígeno de 15µl de muestra, un anticuerpo biotinilado monoclonal específico anti-mioglobina y un anticuerpo específico monoclonal anti-mioglobina marcado con quelato de rutenio forman un complejo sandwich.

2º incubación: después de incorporar las micropartículas recubiertas de estreptavidina, el complejo formado se fija a la base sólida por interacción entre la biotina y la estreptavidina.

La mezcla de reacciones es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo, los elementos no fijados se eliminan posteriormente con el reactivo procell. Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador.

Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a partir de una calibración a 2 puntos y una curva principal incluida en el código de barras del reactivo.

El cálculo de la concentración lo realiza automáticamente el analizador en cada muestra en ng/mL.

El intervalo de medición es de 21 – 3000 ng/mL (definido por el límite de detección y el máximo de la curva principal). Los valores inferiores a dicho límite de detección se indican como <21 ng/mL. Los valores superiores al intervalo de medición se indican como >3000 ng/mL o bien diluidos por el factor 10 respectivamente hasta 30000 ng/mL.

#### ▪ **Creatinfosfoquinasa (CPK)**

Existen tres formas de creatina kinasa en el citoplasma celular: la CPK-MB (exclusiva del músculo cardíaco), la CPK-MM (en el músculo estriado y el músculo cardíaco) y la CPK-BB (especialmente en el cerebro).

La determinación de las tasas de CPK en suero se usan para el diagnóstico y seguimiento de enfermedades musculares (especialmente en las distrofias musculares) y de las lesiones del músculo estriado y cardíaco. En caso de infarto de miocardio las tasas de CPK total y CPK-MB aumentan rápidamente hasta alcanzar un pico a las 10 – 24 horas después del inicio del infarto. Los niveles normales se restablecen 3 -4 días.

El método empleado para la determinación de la concentración de CPK total plasmática es mediante reacción enzimática y lectura ultravioleta cinética.

La determinación cinética de la CPK se realizó con los reactivos del laboratorio Elitech para uso diagnóstico, mediante los procedimientos basados en la recomendación de la IFCC, bajo el principio de la siguiente reacción:



El procedimiento se realizó mediante técnica manual con suero libre de hemolisis, según instrucciones del inserto, donde se tomaban 50 ml del reactivo de trabajo y se mezclaban con 20 mL del suero a estudio, y después de 2 minutos de incubación se medían los cambios de absorbancia por minutos ( $\Delta\text{Abs}/\text{min}$ ) durante 3 minutos a una longitud de onda de 340 nm a 37°C.

El cálculo se realizó para cubetas de 1 cm de paso de luz mediante la fórmula:

$$\text{Actividad} = \text{U/L} = \Delta\text{Abs}/\text{min} * 4127.$$

Se realizaron controles con sueros control ELITROL1 (control normal) y ELITROL2 (control anormal) para asegurar la calidad de las mediciones.

Los datos fueron obtenidos mediante técnica manual y con lectura espectrofotométrica, con un límite de detección de 2 U/L hasta 1700 U/L.

#### **4.7.6. Análisis de las muestras del experimento.**

Para las muestras conseguidas antes, después, a la hora, 2 horas, 3 horas, 24 y 48 horas después de la prueba, se les realizaron las mediciones de Mioglobina y CPK como variables de interés para la comparación de los efectos del ejercicio en estos marcadores de daño muscular, con las mismas técnicas descritas previamente.

#### **4.8. Recolección de la información y calidad del dato.**

- Los datos demográficos se obtuvieron de las historias clínicas realizadas a los participantes en la etapa de tamizaje.
- La información de actividad física y tiempo de entrenamiento se recolecto mediante los datos administrados en la historia clínica, la encuesta de MET's y la prueba de VO2 max.
- Se tomaron los datos del instrumento de recolección y se digitaron en una base de datos en Excel previamente diseñada.
- Los datos de las mediciones se anotaban en un libro de laboratorio mediante lectura directa de los equipos y confirmación por segunda lectura de los datos por parte de un colaborador de investigación.

- La validación de la base de datos se realizó por medio de una revisión del total de la información digitada en la base de datos en una segunda instancia.
- Se crearon tres copias de seguridad de la base de datos y se dio una más para el director de tesis.
- Los participantes que presentaron en sus resultados datos extremos superiores a los límites demarcados para el tamizaje fueron retirados de los análisis estadísticos. Estos datos se volvieron a revisar comprobándose la veracidad de los mismos.

#### **4.9. Eventos adversos.**

Durante la realización de las pruebas y toma de muestras no se presentaron efectos adversos, los posibles efectos adversos fueron manejados preventivamente mediante el establecimiento de medidas de acuerdo a la información encontrada en la revisión teórica; entre las medidas preventivas se encuentran la implementación del protocolo de hidratación, la instrucción detallada del protocolo de ejercicio y la monitorización completa con monitoria cardiaca y sensación de fatiga durante la prueba. Además, todas las pruebas se realizaron con monitorización médica continua durante la prueba y las 3 horas posteriores a esta. Además, durante las tomas de las 24 y 48 horas se preguntaba sobre la aparición de efectos adversos relacionados con la prueba, entre los cuales se encontraron procesos mialgicos considerados leves y solo se manejaron con medidas de control local.

#### **4.10. Aspectos éticos.**

Los investigadores se basaron estrictamente en lo dispuesto en este protocolo, complementando totalmente las hojas de recolección de datos.

El presente fue un proyecto de investigación con riesgo mínimo, de acuerdo a lo establecido en la resolución No. 008430 de 1993, el artículo 11 literal b) que establece "... estudios en los que se emplea el registro de datos a través de procedimientos comunes consistentes ... en extracción de sangre por punción venosa en adultos en buen estado de salud, con frecuencia máxima de dos veces a la semana y volumen máximo de 450 ml en dos meses excepto durante el embarazo, ejercicio moderado en voluntarios sanos..."

Si durante el estudio algún voluntario sufriera alguna enfermedad o reacción adversa que en si misma o por requerir algún tratamiento farmacológico pudiera modificar negativamente los resultados, se excluiría al voluntario del estudio consignando detalladamente la causa, siendo sustituido por otro voluntario.

Si la reacción adversa fuera leve y no requiriera tratamiento, dicha reacción sería consignada detalladamente y el estudio proseguiría según lo previsto.

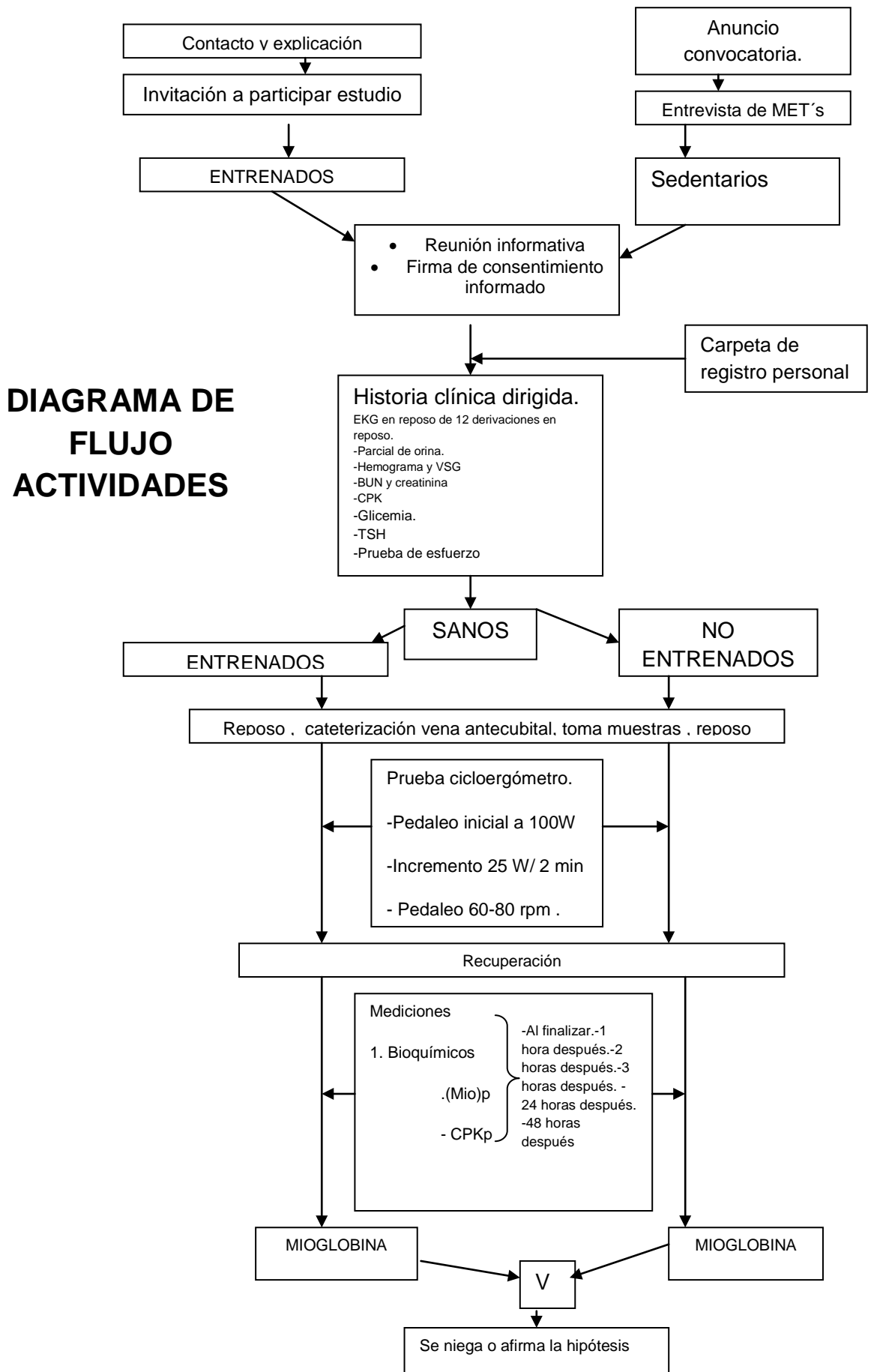
La presente investigación fue sometida a la evaluación del Comité de Ética de la facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia para su aprobación. Se solicitó la aprobación de los sujetos que fueron incluidos en el estudio por medio del formato de consentimiento informado, el cual fue firmado, sin que ello impidiera que en cualquier momento y por cualquier razón pudieran revocarlo y abandonar el estudio.

#### **4.11. Dispositivos de seguridad y confidencialidad.**

La información difundida y obtenida por la puesta en marcha del presente estudio fue considerada confidencial y se trató en todo momento como tal.

En el anexo N° 7 aparecen las recomendaciones de bioseguridad las cuales se aplicaron durante la realización del proyecto.

Figura 8. Diagrama de flujo de actividades del trabajo.



## 5. Resultados.

Se analizaron los resultados de 32 sujetos quienes cumplieron con los criterios de inclusión. En total se recolectaron los datos completos de 14 hombres entrenados (43.75%) y 18 hombres no entrenados (56.25%). Cuando se compararon las variables demográficas de los dos grupos no se encontraron diferencias en edad, talla, peso, índice de masa corporal, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica, frecuencia cardíaca máxima y frecuencia cardíaca calculada para el 85% del consumo máximo de oxígeno. Ver tabla 5.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables que permitieron evaluar el estado de entrenamiento de los participantes y su correspondencia a cada uno de los grupos propuestos para el estudio: los valores de la frecuencia cardíaca en reposo, la frecuencia respiratoria en reposo, el consumo máximo de oxígeno, el consumo de oxígeno en el umbral anaeróbico, el porcentaje del consumo máximo de oxígeno en el umbral anaeróbico y la frecuencia cardíaca en el umbral anaeróbico fueron significativamente inferiores en el grupo de entrenados. Ver Tabla 5.



**Tabla 5. Características demográficas y fisiológicas de entrenados y sedentarios.**

Variable	Entrenados (n=14)		Sedentarios (n=18)		p-Valor.
	Media	DE	Media	DE	
Edad (años)	23,1	± 2,6	21,8	± 2,8	0,192
Talla (m)	1,7	± 0,1	1,7	± 0,1	0,925
Peso (Kg)	65	± 5,0	69,9	± 11,3	0,145
IMC	21,9	± 0,9	23,5	± 3,0	0,073
FC reposo (p/min)	56,2	± 9,9	69,9	± 9,0	0,000 (*)
TA sistólica (mmHg)	96,9	± 10,5	99,2	± 12,3	0,578
TA diastólica (mmHg)	63,9	± 12,4	64,4	± 10,2	0,909
FR reposo (p/min)	14,6	± 2,0	16,3	± 1,4	0,007 (*)
VO2 máx. (ml/kg/min.)	67,3	± 7,9	41,5	± 5,4	0,000 (*)
FC máx. (p/min)	189,3	± 9,7	185,9	± 12,9	0,420
VO2 umbral (ml/kg/min.)	52,7	± 5,0	28	± 6,1	0,000 (*)
%VO2 umbral (%)	78,7	± 7,5	67,6	± 11,2	0,003 (*)
FC umbral (L/min.)	170,6	± 13,4	151,3	± 19,6	0,004 (*)
FC 85% (L/min.)	174	± 10,6	171,4	± 14,8	0,531

\*p<0,05, IMC: Índice de masa corporal, FC: Frecuencia cardiaca, TA: Tensión arterial, FR: Frecuencia respiratoria, VO2: Consumo de oxígeno.

## 5.1. Comparación de los niveles séricos de Creatinfosfoquinasa (CPK)

Se realizó un análisis de los valores de CPK total medidos antes de realizar la prueba en los dos grupos de estudio, los cuales no mostraron diferencias estadísticamente significativas (37.6 U/L Vs 50,0 U/L, p=0.085). Inmediatamente después de terminada la prueba, los cambios de las mediciones con respecto al valor de inicio de cada participante no mostraron diferencias significativas entre los dos grupos (4.7 U/L vs 7.6 U/L, p = 0.308). Ver Tabla 6.

Los cambios de CPK observados a la hora de terminada la sesión de ejercicio con respecto al basal fueron mayores en el grupo de sedentarios comparados con los entrenados (13.2 U/L vs 0.7 U/L, respectivamente, p=0.006), observándose además una disminución de los valores en el grupo de entrenados con respecto al valor del postest. Estas diferencias, aumentaron progresivamente en el tiempo hasta la hora 24 (22.1 U/L vs 242.8 U/L, p=0.003), disminuyendo a la hora 48 (0.3 U/L vs 161.7 U/L, p=0.003). Los resultados observados establecen que el promedio de los cambios de los valores de CPK

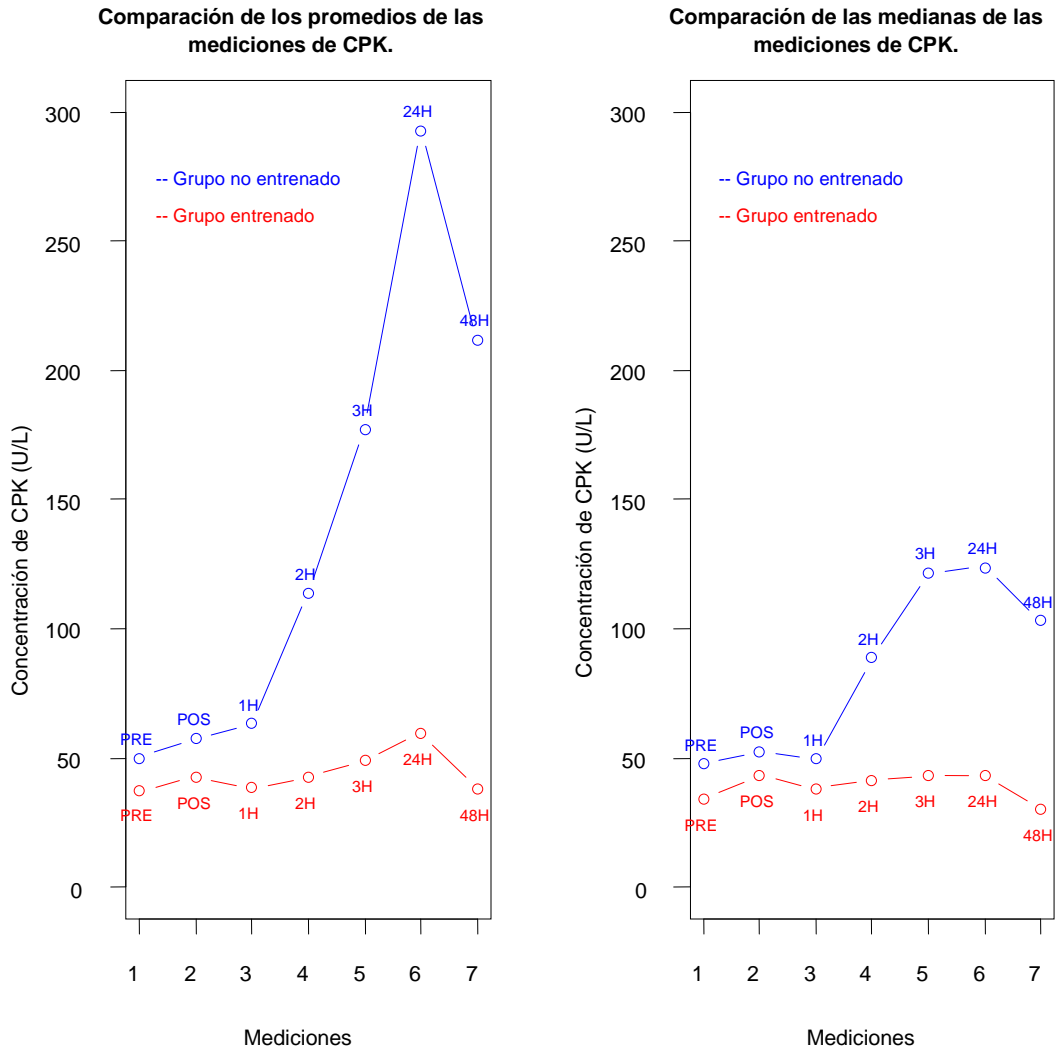
en los entrenados fueron menores que el promedio de los cambios en los sedentarios. Ver Tabla 6.

**Tabla 6. Promedios, prueba bootstrap de estadística de t-student e intervalos de confianza, y medianas de los cambios desde la condición de base de CPK en entrenados y sedentarios.**

Medición	Promedios (U/L)		t-student	p-valor	Límite superior IC 95%	Medianas (U/L)	
	Entrenados	Sedentarios				Entrenados	Sedentarios
Pretest	37.6	50.0	-1,487	0,085	1,289	34.0	47.5
Postest	4.7	7.6	-0,509	0,308	7,027	9.3	6.2
1 hora	0.7	13.2	-2,692	0,006 (*)	-4,676	-1	12.4
2 horas	4.9	64	-2,847	0,002(*)	-26,329	4.1	33
3 horas	11.5	127.1	-3,249	0,001 (*)	-58,934	11.3	60.9
24 horas	22.1	242.8	-2,863	0,003 (*)	-98,101	4.1	76.3
48 horas	0.3	161.7	-2,818	0,003 (*)	-54,972	-5,16	65

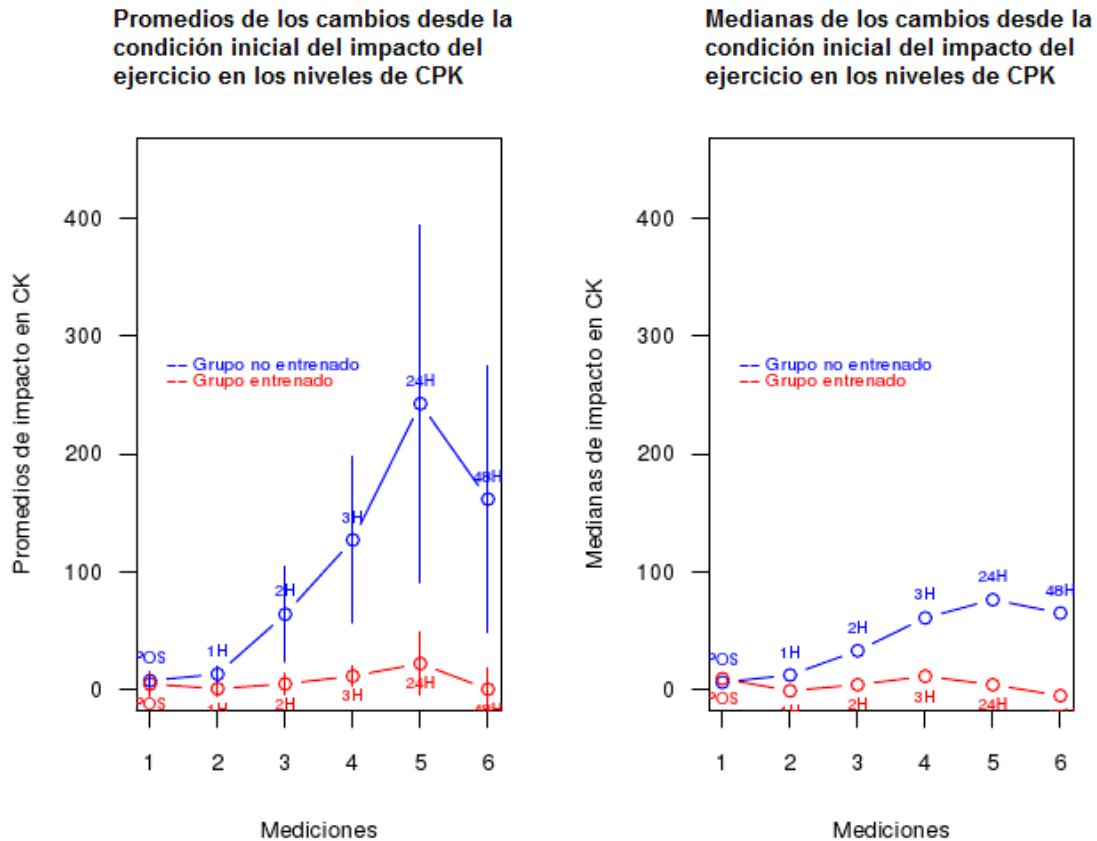
\* p<0.05

El comportamiento de la cinética de liberación al plasma de la enzima CPK en la lesión muscular asociada a la prueba de ejercicio submaximal muestra una curva acorde a las descritas en la literatura (92), presentando un pico a las 24 horas cuando se grafican con los valores medidos, como se puede observar en la Figura 8. Dicho comportamiento se conserva al retirar la influencia de los valores extremos mediante la comparación de las medianas. Ver Tabla 6 y Figura 9.



**Figura 9. Promedios y medianas de las mediciones de CPK en los grupos de participantes entrenados y sedentarios.**

Además, dicha diferencia también se observa en la curva de los valores de los cambios presentados desde el valor de base, que representan el “impacto” del ejercicio aeróbico sobre dichos valores, tanto con los promedios como con las medianas. Ver Figura 10.



**Figura 10. Promedios y medianas de los cambios desde la condición inicial del impacto del ejercicio en los valores de CPK.**

## 5.2. Comparación de los niveles séricos de Mioglobina

El comportamiento de la liberación de la mioglobina posterior al ejercicio fue similar al de la CPK. Los promedios de los valores de mioglobina antes de iniciar la prueba fueron diferentes entre los grupos, esta fue mayor en el grupo de sedentarios (23.5 ng/mL vs 30.8 ng/mL,  $p=0.01$ ). Ver Tabla 7.

Al finalizar la prueba, los cambios de mioglobina del postest con respecto al valor de inicio no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos (9.8 ng/mL en entrenados Vs 15.9 ng/mL en sedentarios,  $p= 0.139$ ). A partir de la primera hora y hasta la tercera se observa un aumento progresivo de los promedios de los

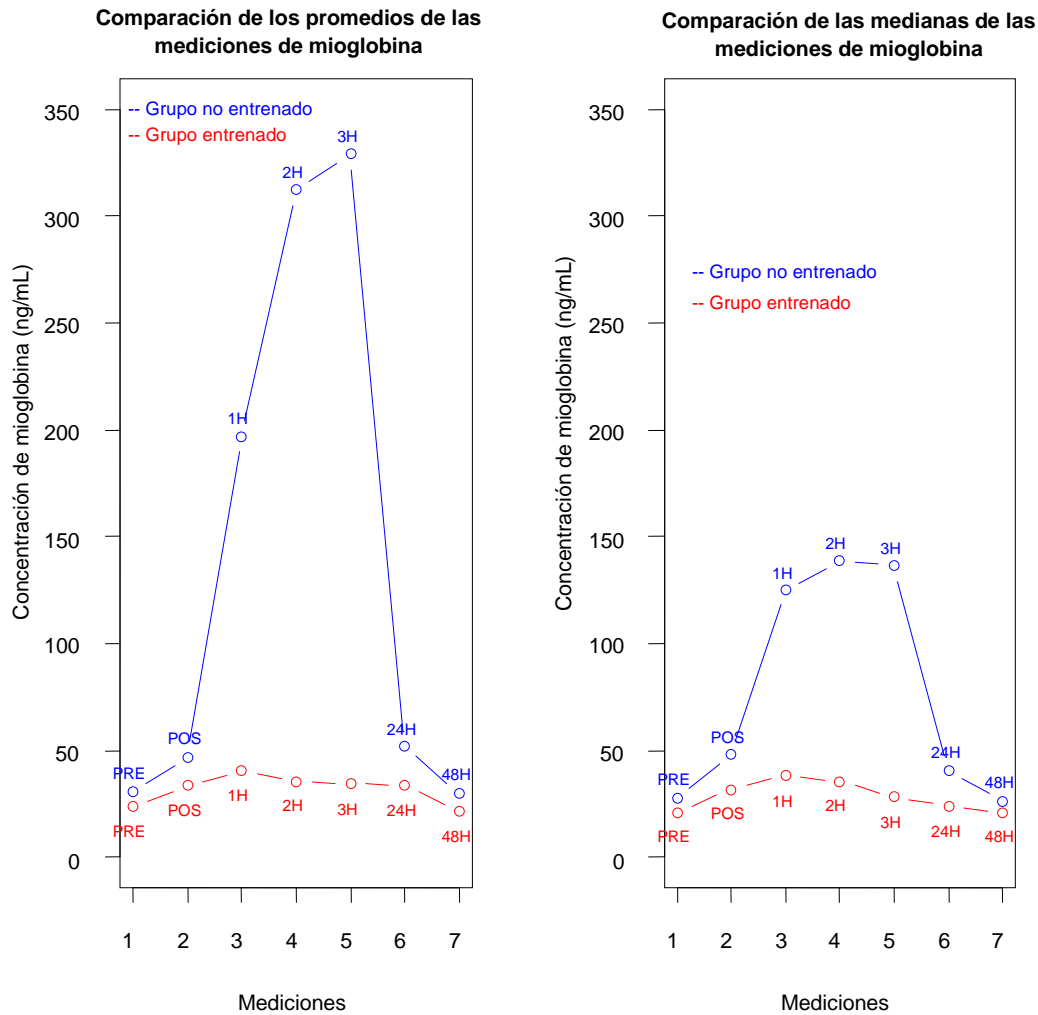
cambios desde la condición inicial, los cuales presentaron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0.001$ ). A las 24 y 48 horas, el promedio de los cambios desde la condición de inicio observados fueron de 10.1 ng/mL en entrenados Vs 21ng/mL en sedentarios,  $p=0.165$  y -1.8ng/mL Vs -0.7 ng/mL respectivamente,  $p=0,358$ , sin hallarse diferencias significativas entre los dos grupos. Ver Tabla 7.

**Tabla 7. Promedios, prueba bootstrap de estadística de t-student e intervalos de confianza y medianas de los cambios desde la condición de base de mioglobina en entrenados y sedentarios.**

Medición	Promedios (ng/mL)		t-student	p-valor	Límite superior IC 95%	Medianas (ng/mL)	
	Entrenados	Sedentarios				Entrenados	Sedentarios
Pretest	23.5	30.8	-2.68	0.010 (*)	-2	21.0	27.8
Postest	9.8	15.9	-1.17	0.139	233.3	8.1	8.3
1 hora	16.9	166.1	-3.17	0.001 (*)	-74.6	15.3	79.3
2 horas	12.0	281.5	-3.04	0.001 (*)	-128.6	12.5	96.9
3 horas	10.9	298.0	-3.11	0.001 (*)	-139.3	6.93	89.3
24 horas	10.1	21	-1.07	0.165	5.5	0	10.2
48 horas	-1.8	-0.7	-0.39	0.358	3.5	0	0

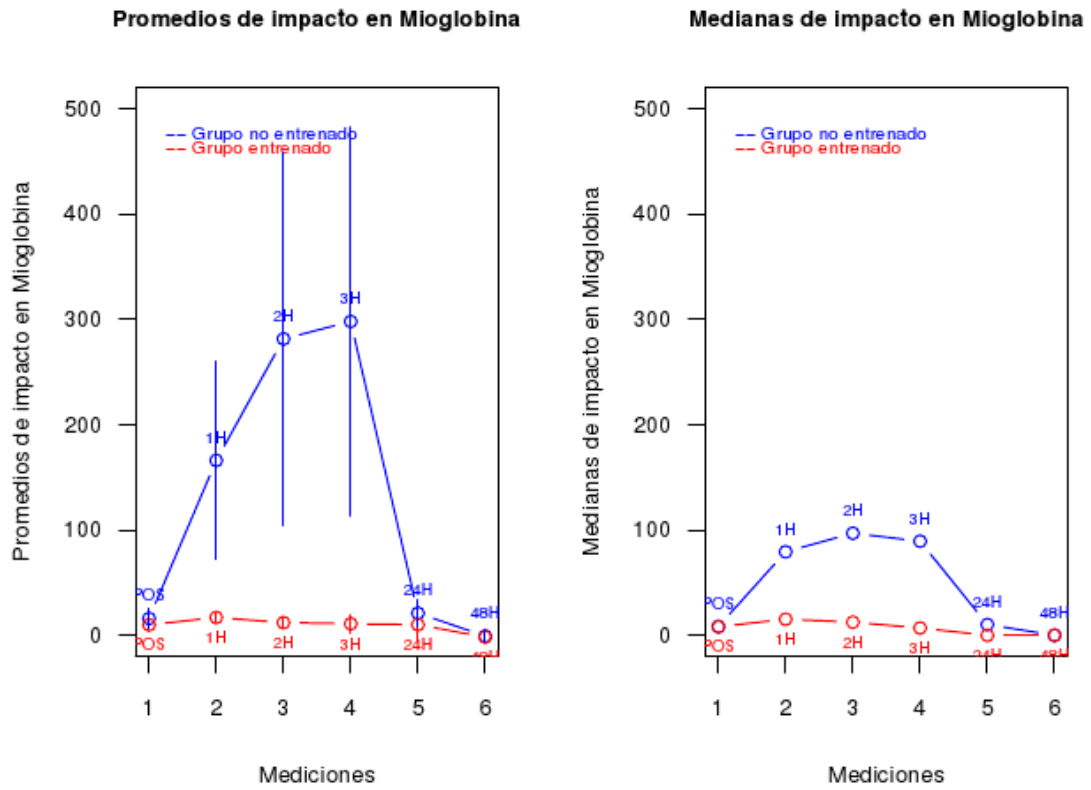
\*  $p<0.05$

El comportamiento cinético de la mioglobina liberada de la lesión muscular asociada a la prueba de ejercicio submaximal al plasma muestra una curva acorde a las descritas en la literatura (92) presentando un pico a las 3 horas, como se puede observar en la Figura 11.



**Figura 11. Promedios y medianas de las mediciones de mioglobina en los grupos de participantes entrenados y sedentarios.**

Además, dicha diferencia también se observa en la curva de los valores de los cambios presentados desde el valor de base (impacto), tanto con los promedios como con las medianas. Ver Figura 12.



**Figura 12. Promedios y medianas de los cambios desde la condición inicial del impacto del ejercicio en los valores de mioglobina.**

## 6. Discusión.

El daño muscular inducido por el ejercicio es una lesión temporal y reparable del músculo estriado y se ha reconocido que es causado principalmente en ejercicio extenuante o de carácter excéntrico (6). La disminución prolongada de la fuerza y el dolor muscular de aparición tardía son las características clínicas con mejor sensibilidad para observar dicho daño, el cual se confirma mediante las evaluaciones paraclínicas (93-95).

Se ha recalcado que marcadores como la mioglobina y la CPK permiten observar el daño de la fibra muscular asociado a ejercicio extenuante, el cual se presenta aún en individuos sanos (96). Aunque la dinámica de la liberación de estos marcadores se ha descrito en varios estudios (97;98), el modelo más empleado ha sido el ejercicio excéntrico de alta intensidad (93;99-102), además de ejercicio extenuante excesivo no controlado (103-105).

Los resultados del presente estudio muestran que la liberación de los marcadores respeta la cinética descrita en otros modelos de estudio (106-108), aún en ejercicio de tipo aeróbico controlado sin componente excéntrico se observa que se presenta una liberación de mioglobina y CPK con picos a la 2-3 horas y 24-48 horas respectivamente.

Además, el estudio muestra que el nivel de entrenamiento influye considerablemente en la magnitud de la liberación de marcadores de rhabdmiolisis, dado que los participantes recibieron una carga relativa similar de ejercicio, lo cual expresaría una mejora en los mecanismos protectores del daño muscular, dadas por un proceso de entrenamiento y adaptación al estrés oxidativo y/o, un aumento en la eficacia de los mecanismos de aclaramiento de las concentraciones plasmáticas de dichos marcadores.



La CPK es el marcador sérico usado como prueba de oro para determinar la magnitud del daño muscular esquelético en ejercicio (108;109), en el modelo experimental del presente estudio, se pudo observar que la CPK se eleva en los dos grupos, siendo mayores los niveles en el grupo de sujetos sedentarios. Estas modificaciones en la actividad de CPK en suero se presentaron con una cinética similar en el tiempo, con el pico a las 24 horas, como se describe en estudios previos (97;98). Este criterio permite suponer que el ejercicio aeróbico controlado del presente estudio, es un modelo adecuado para estudiar los mecanismos de lesión muscular, diferentes de los presentados por aumento de la tensión muscular en el ejercicio excéntrico.

Con respecto al uso de la mioglobina como marcador de daño muscular, al comparar la cinética de elevación de la mioglobina con los estudios descritos previamente, hay similitud en el comportamiento de dicha liberación tanto en los modelos de ejercicio excéntrico como en el modelo usado en el presente estudio (97;98).

En el modelo experimental del presente trabajo se observa que la cinética de liberación de la proteína es mayor en el grupo de sedentarios, además, dichas modificaciones en las concentraciones de mioglobina se presentaron con un pico más temprano (segunda hora) que el de CPK (24 horas), sin existir diferencias en la velocidad de liberación entre los dos grupos. Observándose que la condición de entrenado protege en la magnitud del daño más que en la velocidad de expresión de dichos mecanismos.

Con los resultados encontrados es posible observar que el proceso de entrenamiento ejerce un papel protector del daño muscular expresado en las diferencias observadas en las concentraciones tanto de CPK y mioglobina, estas diferencias permiten suponer que además de los factores mecánicos dados por los cambios en la arquitectura de los elementos tensiles como la elastina y el colágeno (110), existen mecanismos que protegen frente a los cambios oxidativos que se presentan durante el ejercicio de carácter aeróbico y también participan en el proceso de lesión muscular, aunque la diferencia temporal observada en el presente estudio permite suponer que dichos mecanismos solo protegen en la magnitud del daño. Se han observado cambios en la expresión de glutatión, y en la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa como mecanismos de regulación de los cambios de oxidoreducción (108).

La liberación de sustancias intracelulares al plasma durante el ejercicio aeróbico puede ser el resultado del daño de la membrana celular por los radicales libres producidos durante el ejercicio, y además por un aumento de la permeabilidad transitoria de la continuidad de la membrana celular, y no debido a un daño muscular mecánico directo, como se ha presentado en otros estudios (111).

Dado que la CPK se utiliza como marcador de la magnitud de daño que se correlaciona con la magnitud de la carga, se puede observar que la velocidad de la cinética de liberación de la enzima es una limitante en la detección temprana de la lesión muscular, luego de observar la dinámica de los dos marcadores, se encuentra claramente que la expresión más temprana de la mioglobina permitiría proponer a esta como marcador temprano de daño muscular y como control de la carga, con la cual se pueden generar los cambios pertinentes a los programas de entrenamiento sin causar lesión en los atletas, como se ha recomendado para el seguimiento de rabdomiolisis clínica (98).

Los resultados del entrenamiento en la altura han permitido demostrar que en condiciones de hipoxia hipobárica se presenta una expresión mayor de mioglobina, mediada principalmente por la sobrerregulación del factor inducido por hipoxia tipo 1 (HIF-1) (112), de la misma forma la hipoxia hipobárica lleva a una mayor producción de CPK explicada en parte por la mayor liberación hacia el espacio intersticial, secundario esto a la producción de radicales libres y al aumento del paso de la CPK desde el espacio intersticial al espacio intravascular, esto al parecer es debido al aumento de la ventilación pulmonar y la presión intratorácica, los cuales aumentan el transporte linfático desde el intersticio al espacio vascular (113), estas descripciones permiten resaltar que los valores obtenidos en el presente estudio a 2600 msnm, pueden ser mayores en comparación a grupos de entrenamiento a nivel del mar, dada la condición de hipoxia hipobárica presente a este nivel, lo que dejaría un espacio para buscar las diferencias en la liberación de los marcadores de rabdomiolisis entre grupos expuestos a diferentes grados de hipoxia y grupos a nivel del mar.

Cuando se realizan estudios de la liberación de marcadores de rabdomiolisis, se plantea la inquietud de su posible origen miocárdico, pero estudios previos han demostrado que no es posible diferenciar si la elevación de la CPK es secundaria al daño muscular

esquelético o a la lesión miocárdica (114), de la misma forma no es posible diferenciar el origen de la mioglobina (músculo esquelético y músculo cardíaco) si no se utilizan además algunos otros marcadores específicos de lesión muscular (115). Por lo tanto, sería importante adelantar estudios encaminados a diferenciar la posible presencia de compromiso de músculo cardíaco durante ejercicio tanto excéntrico anaeróbico como aeróbico.

En la literatura revisada no se hallaron estudios clínicos, reportes de caso o estudios experimentales que emplearan un modelo de ejercicio aeróbico controlado en laboratorio sin componente excéntrico para el estudio de la rabdomiolisis asociada a ejercicio, solo se encuentran descripciones en pruebas físicas no controladas (100-102).

Con base en la ausencia de resultados producto de la búsqueda, este estudio, presenta un modelo preliminar controlado en laboratorio de ejercicio con características aeróbicas sin componente excéntrico que demuestra la cinética de liberación de marcadores de rabdomiolisis.

Por lo tanto, una de las fortalezas desde el punto de vista experimental, es la presentación de un modelo que permitiría adelantar estudios en fisiología del ejercicio, capaces de aproximarse a la descripción en detalle de otros mecanismos de lesión diferentes del estiramiento mecánico secundario a la contracción excéntrica.

## **7. Conclusiones.**

El presente estudio es la primera investigación que reporta la cinética de liberación de marcadores de daño muscular mediante un modelo de ejercicio aeróbico controlado en laboratorio, sin usar el componente de contracción excéntrica a 2600 msnm; la cinética de liberación de los marcadores es similar a otros modelos, lo que permite observar la validez de este para el estudio de los mecanismos involucrados en el daño muscular asociado a ejercicio de tipo aeróbico.

El entrenamiento cumple un papel protector ante la rabdomiolisis en eventos de ejercicio de tipo aeróbico, realizados a 2600 msnm, dadas las diferencias observadas en la magnitud de liberación de los marcadores de daño muscular entre sujetos entrenados y sedentarios del presente estudio.

# **Anexo A: Consentimiento informado**

## **COMPORTAMIENTO DE LOS MARCADORES DE RABDOMIOLISIS DESPUÉS DE UN EVENTO DE EJERCICIO AERÓBICO SUBMAXIMAL EN ENTRENADOS Y SEDENTARIOS**

### **OBJETIVO Y JUSTIFICACIÓN**

Este documento tiene información sobre un estudio en el que se le ha propuesto participar, cuyo objetivo es establecer si existen diferencias en las concentraciones plasmáticas de mioglobina y creatinfosfoquinasa como marcadores de daño muscular, entre un grupo de entrenados y un grupo de sedentarios durante una prueba de ejercicio aeróbico submaximal.

Aunque los especialistas en fisiología del ejercicio y los entrenadores reconocen el cuadro de daño muscular posejercicio, que se evidencia como la presencia de dolor después de la práctica de ejercicio. El interés se ha centrado en la pregunta de ¿Por qué algunos individuos presentan formas más intensas de rabdomiolisis en respuesta al ejercicio y la mayoría restante no? Lo cual es difícil de averiguar y aun más complicado de predecir. Por lo cual pretendemos observar la influencia del entrenamiento ante dicho evento, de tal manera que lo invitamos a participar de manera activa durante esta prueba.

**Lea detenidamente la información que a continuación se describe, consulte con quién crea necesario y pregunte cualquier duda.**

### **DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

En el estudio participaran 30 personas las cuales serán diferenciadas en dos grupos: un grupo de hombres sanos entrenados y un grupo de hombres sanos sedentarios de la Universidad Nacional de Colombia que hayan aceptado ingresar al estudio mediante firma de este consentimiento informado, los cuales serán sometidos a un protocolo de ejercicio submaximal hasta alcanzar el 85% de su frecuencia cardiaca y se les tomaran muestras sanguíneas para luego ser analizadas. Las pruebas serán realizadas en el Laboratorio de Fisiología del Ejercicio de la Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina, departamento de Fisiología, sede Bogotá, (Calle 45 Carrera 30, Ciudad Universitaria) y el Centro de Servicios Biomedicos, Coldeportes.

En el estudio no pueden participar personas que presenten alguna de las siguientes consideraciones: Alteración en los datos de la historia clínica, alteración en el examen físico, Anomalías en los exámenes de sangre tomados antes del estudio, evidencia de alteraciones del ritmo cardiaco, fumadores, trastornos metabólicos no controlados (Hipertiroidismo, hipotiroidismo y diabetes), miopatias de carácter subclínico, enfermedad infecciosa aguda, problemas ortopédicos que impidan la práctica del ejercicio, incapacidad para seguir las instrucciones del estudio.

## **1.2. LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO.**

Las personas serán convocadas a la realización de la prueba en horas de la mañana, cuya fecha será asignada y anotada en su carpeta de registro de datos. Deben llegar al laboratorio, después de un descanso optimo nocturno, y absteniéndose de ejercicio, alcohol, exposición a tabaco y cafeína por 72 horas previas, o consumo de algún medicamento 2 semanas previas.

A la llegada del voluntario serán revisados y confirmados los datos registrados en la carpeta de seguimiento correspondiente. Después de cumplir un periodo de reposo de 5 min. Se realizará canalización de una vena antecubital con catéter heparinizado y se tomaran las primeras muestras sanguíneas. Luego de la toma de las primeras muestras se adicionará un nuevo reposo de 5 min.

Se realizará una prueba única de ejercicio aeróbico submaximal de manera incremental en cicloergómetro bajo monitoria médica y electrocardiográfica, y registrando las variables de interés del estudio, en condiciones de laboratorio estándar ( $T^{\circ} 20^{\circ}\text{C} \pm 2$  y 60% de HR). La cual finaliza 30 min. después de alcanzar el 85% de la frecuencia cardiaca máxima calculada para la edad o cuando el participante lo señale.

### **1.3. PARTICIPACIÓN O RETIRO VOLUNTARIA DEL ESTUDIO.**

La participación es voluntaria y en el caso en que decida no seguir participando, no implicará ningún tipo de problema. Así mismo, los voluntarios podrán ser retirados del estudio, sin su consentimiento, si el investigador considera que es preferible para su salud y bienestar.

En caso de dudas sobre el estudio o sus derechos, se podrá contactar a cualquiera de los investigadores. La realización de Ejercicio Físico está catalogada como una intervención fisiológica de bajo riesgo, por lo que los riesgos de sufrir molestias son muy pocos.

### **2. CONFIDENCIALIDAD Y PRIVACIDAD.**

Los registros tomados y los resultados de la prueba se manejarán con la más estricta garantía de confidencialidad y se dedicará exclusivamente al estudio de los parámetros establecidos en el protocolo, sin que nunca pueda utilizarse para ninguna otra prueba ni diagnóstico, diferentes a los establecidos. La información, los datos y resultados obtenidos del estudio, serán utilizados para redactar una Tesis de Grado y posiblemente para publicaciones posteriores, sin embargo se protegerá en todo momento la identidad de los participantes. Por otro lado, a estos datos tendrán acceso exclusivo los investigadores del estudio.

### **3. REVISIÓN ÉTICA.**

El ensayo respetará las recomendaciones para Ensayos Clínicos y ha sido aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia.

**YO (Nombre y apellidos)**

---

**He leído la hoja de información que se me ha entregado.**

**He podido hacer preguntas sobre el estudio.**

**He recibido información suficiente sobre el estudio.**

**He hablado con:**

---

**(Nombre del investigador)**

**Comprendo que mi participación es voluntaria.**

**Comprendo que puedo retirarme del estudio:**

- 1. cuando quiera.**
- 2. sin tener que dar explicaciones.**
- 3. sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.**

**Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.**

**FIRMA DEL PARTICIPANTE**

**FIRMA DEL INVESTIGADOR**



## Anexo B: Encuesta MET's (116).

Se entrega un cuestionario, el cual contiene un indicativo (ver tabla) de la calificación asignada al costo energético de las actividades realizadas diariamente, cuyos valores categóricos son de 1 – 9 (para fines computacionales), y cada calificación tiene su valor equivalente en MET's.

- Dichos valores tienen que ser registrados en la tabla de respuestas donde:
- Cada día está dividido en 96 periodos de 15 minutos.
- Para cada 15 minutos, el sujeto introduce un valor categórico que está dentro del rango propuesto de 1-9, correspondiente a la actividad dominante realizada en ese periodo.
- Dicha encuesta es realizada para 3 días completos, incluyendo un día del fin de semana.
- El indicativo no incluye todas las actividades.
- Cuando una actividad no esté listada, se le indicará al sujeto que seleccione el valor categórico más cercano comparable a la intensidad de esa actividad.
- En caso de duda, se interrogará al sujeto para reportar la dificultad al entrevistador, para proponer una clasificación revisando las guías de actividad física.
- Ejemplos de esto son varios juegos recreativos de pelota del colegio, ejercicio de mantenimiento, calistenia, esquí en agua, ejercicios de orientación, Fútbol, balón mano europeo, water-polo.

INDICATIVO DE ACTIVIDADES, COSTO ENERGÉTICO Y VALOR CATEGÓRICO CORRESPONDIENTE.

Valor categórico	Ejemplos de actividades	Costo energético en MET's		Costo energético promedio usado	
		Mínimo	Máximo	MET's	Kcal/Kg/15min
1	Dormir, Descansar en la cama	1.0		1.0	0.26
2	Estar sentado, comer, escuchar, escribir, etc.	1.0	2.0	1.5	0.38

3	Actividades ligeras de pie: Lavar, afeitarse, peinarse, cocinar, etc.	2.0	3.0	2.3	0.57
4	Caminar lento (<4Km/h), manejar, vestirse, bañarse, etc.	2.0	4.0	2.8	0.69
5	Trabajos manuales livianos: Barrer el piso, lavar ventanas, manejar un camión, pintar, tareas de enfermería, tareas fuertes de la casa, electricista, barman, caminar de 4 – 6 Km/h.	2.3	5.0	3.3	0.84
6	Actividades de ocio y deporte en ambiente recreativo: Béisbol, golf, voleyball, canotaje, remo, arquería, jugar bolos, montar bicicleta (< 10Km/h) tenis de mesa, etc.	3.0	8.0	4.8	1.2
7	Trabajos manuales a paso moderado: Minería, carpintería, construcción casas, cargar y cortar leña, remover nieve, cargar y descargar mercancias.etc.	4.0	8.0	5.6	1.4
8	Actividades de ocio y deporte de gran intensidad (no competitivas): Canotaje (5- 8Km/h), montar bicicleta (>15Km/h), bailar, esquiar, badminton, gimnasia, nadar, jugar tenis, montar caballo, caminar (>6Km/h), etc.	5.0	11	6.0	1.5
9	Trabajos manuales intensos: Actividades deportivas de alta intensidad competitivas: Cortar árboles, cargar cosas pesadas, trotar y correr (>9Km/h), raquetball, badminton, nadar, jugar tenis, esqui cross contry (>8Km/h), caminata y escalar montaña, etc.	6.0	~15	7.8	2.0

**FORMATO RECOLECCIÓN DATOS DE GASTO ENERGÉTICO DIARIO**

<p>Código Día: _____</p> <p>Nombre: _____ _____</p> <p>Apellido: _____ _____</p> <p>Género: _____ _____</p> <p>Edad en años: _____ _____</p> <p>Fecha: _____ _____</p> <p>Identificación sujeto: _____</p> <p><b>Escriba en los espacios dados el valor categórico que mejor corresponde a la actividad dominante de cada periodo de 15 minutos.</b></p> <p><b>Por favor, consulte la tabla de actividades para establecer la codificación correcta,</b></p> <p><b>En caso de duda, haga una nota y comente el problema durante la entrevista.</b></p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th style="text-align: left;">Min. Hora</th> <th>0-15</th> <th>16-30</th> <th>31-45</th> <th>46-60</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>0</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>1</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>2</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>3</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>4</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>5</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>6</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>7</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>8</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>9</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>10</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>11</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>12</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>13</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>14</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>15</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>16</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>17</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>18</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>19</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>20</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>21</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>22</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>23</td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	Min. Hora	0-15	16-30	31-45	46-60	0					1					2					3					4					5					6					7					8					9					10					11					12					13					14					15					16					17					18					19					20					21					22					23				
Min. Hora	0-15	16-30	31-45	46-60																																																																																																																										
0																																																																																																																														
1																																																																																																																														
2																																																																																																																														
3																																																																																																																														
4																																																																																																																														
5																																																																																																																														
6																																																																																																																														
7																																																																																																																														
8																																																																																																																														
9																																																																																																																														
10																																																																																																																														
11																																																																																																																														
12																																																																																																																														
13																																																																																																																														
14																																																																																																																														
15																																																																																																																														
16																																																																																																																														
17																																																																																																																														
18																																																																																																																														
19																																																																																																																														
20																																																																																																																														
21																																																																																																																														
22																																																																																																																														
23																																																																																																																														

# Anexo C: Historia clínica

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

CENTRO DE FISIOLÓGIA DEL EJERCICIO

## HISTORIA CLÍNICA

### A. IDENTIFICACIÓN.

Nombres y Apellidos: \_\_\_\_\_

Natural: \_\_\_\_\_ Procedencia: \_\_\_\_\_ Desde: \_\_\_\_\_

Ocupación: \_\_\_\_\_

Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_\_

Documento Identificación: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ N° Celular: \_\_\_\_\_

### B. ANTECEDENTES.

Médicos: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Quirúrgicos: \_\_\_\_\_

Traumáticos: \_\_\_\_\_

Alérgicos: \_\_\_\_\_

Infectocontagiosos: \_\_\_\_\_

Familiares: \_\_\_\_\_

Última consulta médica: \_\_\_\_\_

Motivo: \_\_\_\_\_

## HISTORIA DEPORTIVA

Deporte: \_\_\_\_\_

Entrenamiento: Si \_\_\_\_\_ NO: \_\_\_\_\_

Desde cuándo: \_\_\_\_\_ Frecuencia: \_\_\_\_\_ Intensidad: \_\_\_\_\_

Lesiones deportivas (Tiempo, Evolución, Tratamiento):

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

---

Por qué practica este deporte: \_\_\_\_\_

---

Fecha última práctica deportiva: \_\_\_\_\_

Intensidad: \_\_\_\_\_

### REVISIÓN POR SISTEMAS

Diestro: \_\_\_\_\_ Zurdo: \_\_\_\_\_ Ambidiestro: \_\_\_\_\_

Peso Habitual: \_\_\_\_\_

Piel y faneras: \_\_\_\_\_

---

Órganos de los sentidos: \_\_\_\_\_

---

Cardiovascular: \_\_\_\_\_

---

Respiratorio: \_\_\_\_\_

---

Renal: \_\_\_\_\_

---

Digestivo: \_\_\_\_\_

---

Muscular: \_\_\_\_\_

---

---

Osteoarticular: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Endocrino: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Neurológico: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Psiquiátrico: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### EXAMEN FÍSICO

Talla: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ FC: \_\_\_\_\_ T.A. \_\_\_\_\_ FR: \_\_\_\_\_

IMC: \_\_\_\_\_.

Apariencia general: \_\_\_\_\_

Piel y faneras: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Cara y cuello: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Tórax: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Corazón: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Pulmones: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Abdomen: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Génitourinario: \_\_\_\_\_

Osteomuscular: \_\_\_\_\_

- Columna Vertebral: \_\_\_\_\_
- M. Superiores: \_\_\_\_\_
- M. Inferiores: \_\_\_\_\_

Examen Neurológico: \_\_\_\_\_

RESUMEN DE HALLAZGOS ANORMALES.

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

PARACLÍNICOS:

Cuadro hemático.

WBC: \_\_\_\_\_ RBC: \_\_\_\_\_ Hg: \_\_\_\_\_ Hto: \_\_\_\_\_

Neutrófilos: \_\_\_\_\_ Linfocitos \_\_\_\_\_

Parcial de orina.

\_\_\_\_\_

Glicemia: \_\_\_\_\_ BUN: \_\_\_\_\_ Creatinina: \_\_\_\_\_

TSH: \_\_\_\_\_ CPK: \_\_\_\_\_

RESULTADO ENCUESTA ACTIVIDAD FÍSICA.

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

DIAGNÓSTICO: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

FECHA: \_\_\_\_\_

NOMBRE MÉDICO \_\_\_\_\_

FIRMA MÉDICO \_\_\_\_\_

FIRMA PACIENTE \_\_\_\_\_



## **Anexo D: Protocolo de canalización intravenosa periférica.**

Adaptado de Jean A. Prole (117).

1. Colocarse guantes limpios.
2. Aplicar un torniquete por encima del pliegue antecubital. Meter el extremo del torniquete bajo sí mismo para poderlo soltar con una mano tan pronto como se haya canalizado la vena.
3. Identificar la vena. Si la vena no está dilatada o no se palpa con facilidad, golpear suavemente el área. Hacer que el paciente abra y cierre el puño y bajar la extremidad por debajo del nivel del corazón. Las bifurcaciones son buenos lugares de venopunción porque son estables y no tienden a enrollarse.
4. Limpiar la piel con solución aséptica (alcohol antiséptico al 70%) utilizando un movimiento firme, circular desde el centro hacia el exterior. Dejar que la piel se seque al aire durante 30 segundos.
5. Con el pulgar no dominante, aplicar una ligera tracción hacia la vena distal para ayudar a estabilizarla durante la venopunción. Insertar la aguja en la piel a un ángulo de 10 a 30 grados, con el bisel hacia arriba, en línea y a lo largo de la vena.
6. Cuando se punciona la vena debe aparecer un poco de sangre en el pabellón del catéter. Avanzar la aguja y el catéter unos centímetros dentro de la vena.
7. Avanzar el catéter sobre la aguja y dentro de la vena. Si se encuentra resistencia al avanzar el catéter, parar inmediatamente, retirar la aguja y el catéter, y aplicar presión en la zona.
8. Para extraer las muestras de sangre a través del catéter, acoplar la jeringa o adaptador al pabellón de la aguja.
9. Soltar el torniquete.
10. Obtener las muestras necesarias, aproximadamente 10 C.C.
11. Acoplar el cierre de solución salina o heparina.
12. Aplicar esparadrapo transversalmente al pabellón del catéter para fijarlo. No poner el esparadrapo sobre el lugar de inserción o en la unión de la aguja con el tubo.
13. Fijar firmemente con esparadrapo el catéter.
14. Evaluar el lugar en busca de signos de no cateterización.

## **Anexo E: Protocolo de hidratación (88).**

1. Se recomendará que los individuos consuman una dieta nutricionalmente balanceada e ingesta adecuada de líquidos durante las 24 horas previas al evento de ejercicio, promoviendo hidratación adecuada.
2. Dos horas antes del ejercicio se administrarán 500 ml de agua para promover la correcta hidratación y se permitirá dicho tiempo para que sea excretado el exceso de agua ingerida.
3. Durante la prueba se administrarán 150 ml de agua cada 20 min., los cuales serán administrados sin detener la prueba.
4. Después de la prueba se continuará con la ingesta de 150 ml cada 30 min. durante la primera hora y 150 ml cada hora durante las siguientes 2 horas.

## Anexo F: Formato de recolección de datos.

Código participante: \_\_\_\_\_

Nombre: \_\_\_\_\_

Apellidos: \_\_\_\_\_

Edad (en años): \_\_\_\_\_

Grado de entrenamiento:

Sedentario (Clasificación MET's) \_\_\_\_\_

Entrenado (Deportista alto rendimiento): \_\_\_\_\_

Valores muestras **antes** de realizada la prueba de ejercicio aeróbico extenuante.

NOMBRE PRUEBA	VALOR
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

Valores muestras **después** de realizada la prueba de ejercicio aeróbico extenuante.

### INMEDIATAMENTE

NOMBRE PRUEBA	VALOR
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

**1(UNA) HORA DESPUÉS**

<b>NOMBRE PRUEBA</b>	<b>VALOR</b>
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

**DOS (2) HORAS DESPUÉS**

<b>NOMBRE PRUEBA</b>	<b>VALOR</b>
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

**TRES (3) HORAS DESPUÉS**

<b>NOMBRE PRUEBA</b>	<b>VALOR</b>
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

**VEINTICUATRO (24) HORAS DESPUÉS**

<b>NOMBRE PRUEBA</b>	<b>VALOR</b>
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

**CUARENTA Y OCHO (48) HORAS DESPUÉS**

<b>NOMBRE PRUEBA</b>	<b>VALOR</b>
Creatinfosfoquinasa (U/l)	
Mioglobina plasmática (ng/ml)	

# **Anexo G: Recomendaciones de bioseguridad para laboratorios de diagnóstico e investigación que trabajan con materiales biológicos.**

## **Introducción**

Los siguientes lineamientos de bioseguridad están dirigidos a la protección del personal de laboratorios de diagnóstico e investigación que manejan material biológico que potencialmente pueda estar contaminado con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Estas recomendaciones son aplicables al trabajo con otras enfermedades transmitidas por sangre de diferentes grados de infectividad tal como el virus de la hepatitis B y C (VHB y VHC).

El riesgo de infección en el laboratorio con el VIH está referido primariamente a la contaminación de las manos o mucosas bucal, ocular o nasal con sangre o fluidos corporales de personas infectadas.

Esta contaminación ocurre por injuria penetrante causada por objetos filosos, salpicaduras o diseminación de materiales infectados. No hay evidencia que el VIH sea transmitido por vía aerógena.

Datos actuales indican que la proporción de infección por el virus VIH en trabajadores de laboratorio es baja.

El riesgo de infección siguiente a un accidente por punción percutánea con una aguja con sangre contaminada con VIH está estimado entre 0,13 a 0,50 %. En contraste, el riesgo de infección por el virus de la hepatitis B siguiente a una exposición similar está aumentado al 26%.

Dado que no existe vacuna alguna que prevenga la infección con VIH, las prácticas seguras de trabajo son la única protección con que se cuenta por el momento contra el riesgo de infección con el VIH.

Poner en práctica estas normas significa tomar conciencia que además de nuestra propia salud consideraremos la de los demás.

Estas normas de bioseguridad deben implementarse en forma permanente y universal considerando que todo material biológico es potencialmente infectivo.

## **2.- Modos de infección más frecuentes**

- a. Auto inoculación accidental debida a pinchazos o cortes con agujas, pipetas, bisturíes u otros elementos punzantes.
- b. Exposición de la piel o mucosas a sangre, hemoderivados u otros fluidos biológicos contaminados especialmente cuando la permeabilidad de las mismas

se encuentra alterada por heridas, escoriaciones, eczemas, herpes, conjuntivitis o quemaduras.

- c. Inhalación de aerosoles producidos al agitar muestras, al destapar tubos, al expulsar la última gota de una pipeta, durante la centrifugación, especialmente cuando se emplean tubos abiertos o con mayor volumen del aconsejado por el fabricante en una centrífuga de ángulo fijo o cuando ésta es frenada abruptamente para ganar tiempo.
- d. Salpicaduras en los ojos o aspiración bucal.

### 3.- Responsabilidades

Se recomienda que cada laboratorio de diagnóstico y/o investigación o institución de salud, formule, implemente y evalúe periódicamente un programa de bioseguridad. Al mismo tiempo es necesaria la designación de responsables quienes deberán controlar la seguridad, instrucción y entrenamiento necesarios sobre bioseguridad de todas las personas que trabajen o ingresen a dicho lugar.

### 4.- Recomendaciones generales

Todos los materiales usados en el laboratorio deberán ser adecuadamente descontaminados. Dichos elementos serán posteriormente desechados o lavados, secados y/o esterilizados, según los requisitos que deban reunir para su reutilización.

#### 4.1.- Extracción de sangre

La extracción de sangre debe hacerse siempre con **guantes de látex** y debe ponerse especial cuidado en la manipulación posterior que puedan requerir las jeringas y agujas hasta que puedan depositarse en la solución descontaminante. **En el caso que imprescindiblemente se deba separar de la jeringa, esta operación se hará mediante el uso de pinzas.**

#### 4.2.- Precauciones de trabajo

1. Las puertas del laboratorio deberán estar cerradas y el acceso al mismo deberá estar restringido mientras se lleven a cabo trabajos con materiales biológicos. La puerta deberá portar emblemas que digan: "**Prohibido pasar – Peligro biológico**".
2. El laboratorio deberá ser mantenido limpio, ordenado y libre de materiales extraños.
3. No se permitirá comer, beber, fumar y/o almacenar comidas así como el uso de cualquier otro ítem personal (ej. cosméticos, cigarrillos) dentro del área de trabajo.
4. Usar bata, chaqueta o uniforme dentro del laboratorio. Esta ropa protectora deberá ser quitada inmediatamente antes de abandonar el área de trabajo.
5. Antes de iniciar la tarea diaria asegúrese que la piel de sus manos no presente cortes, raspones y otras lastimaduras, en caso que así sea cubrir la herida de manera conveniente antes de colocarse los guantes.

6. Usar guantes de látex de buena calidad para todo manejo de material biológico o donde exista aunque sea de manera potencial el riesgo de exposición a sangre o fluidos corporales.
7. Cambiar los guantes de látex toda vez que hayan sido contaminados, lavarse las manos y ponerse guantes limpios.
8. No tocar los ojos, nariz o piel con las manos enguantadas.
9. No abandonar el laboratorio o caminar fuera del lugar de trabajo con los guantes puestos.
10. El uso de agujas, jeringas y cualquier otro instrumento similar deberá ser restringido a su uso indispensable. Las agujas y otros elementos punzantes deberán ser descartados en un recipiente resistente. Se deberán evitar los intentos de reintroducir las agujas descartadas en capuchones o de romperlas o doblarlas ya que esta conducta produce aumento de la posibilidad de accidentes por pinchazos o salpicaduras. No usar tijeras con puntas muy agudas. **Por ningún concepto las agujas serán retapadas. El conjunto aguja-jeringa deberá ser descartado en el recipiente destinado a tal fin.**
11. Todos los procedimientos deberán ser realizados de manera tal que sea nula la creación de aerosoles, gotas, salpicaduras, etc.
12. Bajo ninguna circunstancia se pipeteará sustancia alguna con la boca, para ello se usarán pipeteadores automáticos.
13. Las superficies del área de trabajo deberán ser descontaminadas cuando se termine la tarea diaria. Usando para tal efecto una solución de hipoclorito de sodio en concentración adecuada
14. El recipiente para descontaminar especímenes deberá contar con tapa de seguridad para todo traslado fuera del lugar de trabajo. En ese caso el exterior del recipiente deberá ser mantenido libre de toda contaminación con sangre usando solución descontaminante.
15. El desecho de los fluidos orgánicos puede efectuarse por las cañerías habituales una vez que estos hayan sido convenientemente descontaminados.
16. Una vez usados los guantes de látex deberán ser colocados dentro del recipiente con solución descontaminante o bolsa roja.
17. Lavar las manos con jabón (líquido o sólido suspendido) y agua inmediatamente después que el trabajo haya sido terminado. Si los guantes de látex están deteriorados, lavar las manos con agua y jabón después de quitarlos.
18. Informe inmediatamente a su superior de cualquier accidente ocasionado con elementos del laboratorio.

#### **4.3.- Uso de aparatos y otros elementos**

**Congeladoras y heladeras:** Cada vez que se deba guardar o retirar material alguno, el operador deberá tener puestos los guantes. Todo el material almacenado deberá estar rotulado, limpio por fuera y cerrado adecuadamente ( no con tapón de algodón o gasa).

#### **Centrífuga**

- No detenerla manualmente.
- No destaparla antes de que cese de girar.
- Emplear tubos con tapa hermética (tapa a rosca o de goma).

Preferiblemente la centrifugación deberá hacerse bajo campana, en caso contrario se colocará sobre la misma una tela embebida en solución descontaminante. Luego de transcurridos 10 min., de la detención se procederá a abrirla. Al terminar el trabajo limpiar con solución descontaminante por dentro y por fuera del aparato.

**Otros aparatos (microscopios, lectores de ELISA, etc.)** Una vez utilizados deberán descontaminarse las perillas y superficies con solución descontaminante. La manipulación de porta objetos durante las pruebas de inmunofluorescencia deberá hacerse con pinzas y el operador deberá tener puestos los guantes.

#### **4.4.- Manejo y eliminación del material contaminado y desechos.**

1. Todo el equipo reusable (por ej. puntas de micro pipetas, jeringas, cánulas, agujas, tubos para recolección de especímenes, etc.) deberá ser ubicado en un recipiente metálico o de plástico resistente a punciones o cortaduras. Se recomienda el uso de bidones y botellas de plástico o cualquier recipiente similar acondicionado para tal fin. El recipiente contendrá líquido descontaminante y deberá estar ubicado en el mismo lugar de trabajo.
2. Los camisolines, chaquetas y otra prenda protectora que se use en el laboratorio, deberá ser colocada, al finalizar la tarea, dentro de un recipiente a prueba de pérdidas en el que será transportado de manera segura al lugar adecuado para proceder a la descontaminación y posterior preparación de las prendas para su reuso.
3. Todo elemento descartable (ej. agujas, jeringas, etc.) deberá ser colocado en un recipiente de material resistente a punciones y/o cortaduras, similar al descrito en 1), el que será colocado dentro de un recipiente a prueba de pérdidas para ser descontaminado e incinerado siempre que esto sea posible.
4. Para la eliminación de todo material contaminado, el método de elección es la incineración de los mismos si el incinerador está ubicado en el predio del laboratorio y bajo el control del mismo. En caso contrario este material será auto clavado y luego destruido.

#### **4.5.- Accidentes**

**Derrames:** Cuando se produzca derrame de material infectado o potencialmente infectado, el operador deberá ponerse guantes y luego cubrir el fluido derramado con el papel absorbente, derramar alrededor de este material, solución descontaminante y finalmente verter solución descontaminante sobre el papel y dejar actuar por lo menos 20 minutos. Usando materia absorbente, seco y limpio, levantar el material y arrojarlo al recipiente de desechos contaminados para su posterior eliminación. La superficie deberá ser enjuagada nuevamente con solución descontaminante. Los guantes serán descartados después del procedimiento. No se recomienda el uso del alcohol ya que evapora rápidamente y además coagula los residuos orgánicos superficiales sin penetrar en ellos.

**Pinchazos o lastimaduras:** Los pinchazos, heridas punzantes, lastimaduras y piel contaminada por salpicadura de materiales infectados deberán ser lavados con abundante agua y jabón amarillo. Se deberá favorecer el sangrado de la herida.



**Aerosoles:** En el caso que el accidente genere aerosol (por la rotura de centrífuga y homogeneizador), el trabajador deberá contener la respiración y abandonar inmediatamente el cuarto cerrando la puerta y avisar de inmediato a su supervisor.

El sistema de aire y las cabinas de seguridad biológicas serán dejadas en ventilación. Personal idóneo usando ropas apropiadas podrá entrar al cuarto después de 30 min. De ocurrido el accidente para efectuar las tareas de descontaminación. Todo accidente o exposición a materiales potencialmente infecciosos deberá ser comunicado inmediatamente al personal responsable. En este caso se recomienda tomar de inmediato una muestra de sangre al personal accidentado.

Si un laboratorista sufre exposición parenteral o de las membranas mucosas o sangre, fluidos corporales o material de cultivo viral, se deberá identificar el material y, si es posible, determinar la presencia de virus y/o anticuerpos. Si el material fuera positivo, para anticuerpos, virus o antígeno de VIH o no fuera posible analizarlo, el laboratorista deberá ser advertido que tendrá que avisar y solicitar evaluación médica ante cualquier enfermedad febril aguda que ocurra dentro de las doce semanas posteriores a la exposición.

Dichas enfermedades, particularmente las caracterizadas por fiebre, erupción o linfadenopatías, pueden indicar una infección reciente con VIH. Durante el período de seguimiento el trabajador deberá ser instruido de seguir las precauciones generales de prevención de transmisión del VIH. Si el material causante del accidente fuera negativo para VIH el individuo deberá ser estudiado serológicamente a las seis, doce y veinticuatro semanas de la exposición.

Se deberá proveer de control médico, seguimiento y tratamiento, si correspondiere, al personal accidentado.

#### **5.- Lineamientos para laboratorios de investigación y aislamiento de VIH**

Las reglas generales y las suplementarias para serología son aplicables al laboratorio de investigación y aislamiento de VIH, a las que se agregarán las siguientes recomendaciones que refuerzan las anteriores debido a los altos niveles de virus que se utilizan en este tipo de trabajo.

1. El acceso al laboratorio estará restringido en todo momento a aquellas personas indispensables para la marcha del programa o apoyo del mismo.
2. Todos los procedimientos que involucren manipuleo de cultivos de células infectadas y actividades que produzcan aerosoles y o gotas, deberán ser realizados en equipos de contención como las cabinas de seguridad biológica. Se recomienda como mínimo el uso de cabinas tipo P2 o P3.
3. Las puertas de área de trabajo deberán estar siempre cerradas y disponiendo de algún dispositivo de cierre automático.

4. En las puertas y en los equipos utilizados en estas tareas se deberán colocar señales del tipo "**Área restringida – Peligro biológico**" para el primer caso y "**Peligro – Contiene material infeccioso**" en estufas, heladeras, etc.
5. En los laboratorios deberán señalizarse, mediante líneas rojas, las áreas de trabajo con material infectado cuyo acceso será restringido.
6. Los escritorios, ficheros y todo tipo de papeles deberán ubicarse fuera del área en la que se trabaje con materiales infectados.
7. Toda persona que deba desarrollar tareas dentro del laboratorio tendrá que usar de manera obligatoria camisolín abrochado por la espalda, doble par de guantes, cubre calzado o calzado especial, protección ocular y barbijo.
8. No se retirará ningún material del lugar de trabajo sin previa descontaminación del mismo.
9. Los papeles y/o protocolos de trabajo sólo podrán salir del área de trabajo si son colocados en bolsas transparentes limpias para ser copiados y deberán volver al área de trabajo en las mismas condiciones.
10. Previo al ingreso de cualquier persona que deba realizar tareas de mantenimiento el personal responsable del área deberá asegurarse que ésta esté perfectamente descontaminada.
11. La entrada al laboratorio de investigaciones con VIH deberá ser a través de un juego de dos puertas. esto puede ser un vestíbulo con doble puerta, un cuarto de cambio de ropas con dos puertas o cualquier otro sistema que exija el paso a través de dos puertas sucesivas para acceder al área de trabajo.
12. Las superficies interiores (piso, paredes, techos) deben estar cubiertas con materiales de fácil limpieza y repelentes al polvo.
13. El laboratorio deberá contar con autoclave para descontaminar los desechos producidos en el mismo.
14. En estas áreas las centrifugas deberán poseer cabezales de seguridad (con tapa hermética) y estarán ubicadas dentro de cabinas de seguridad biológica.

# Anexo H: Procesos de laboratorio o tecnológicos.

## Medición de concentración plasmática de mioglobina, CPK.

Dichas mediciones se realizaran antes, inmediatamente después, 1 hora, 2 horas y 3 horas después de la prueba de ejercicio aeróbico intenso.

### MEDICIÓN NIVELES DE MIOGLOBINA PLASMÁTICA (90;91)

Para las medidas se deben usar, en lo posible, muestras frescas (max. Guardadas 8 días entre +2 y +8 °C ) o congelados de sueros humanos o muestras de plasma con heparina o EDTA. Si las muestras se congelan dentro de las primeras 24 horas subsiguientes a su toma, es posible almacenarlas por un mes por debajo de -20 °C, siempre que se evite su congelación y descongelación repetidas. Las muestras de suero deben estar perfectamente coaguladas y no deben presentar ni partículas ni trazas de fibrina después de centrifugadas. Las muestras lipémicas deben ser aclaradas por centrifugación (10 min., aproximadamente, 15.000x g) antes de su determinación.

### PRINCIPIO DEL MÉTODO.

Las partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos monoclonales específicos contra la mioglobina humana, forman agregados al mezclarse con la mioglobina existente en la muestra. El aumento de la absorción de la luz del preparado de la reacción, se sigue fotométricamente. La velocidad máxima de reacción ( $V_{max}$ ) (método Peakrate ) y el tiempo ( $t_{vmax}$ ) que se necesita para alcanzar esta  $V_{max}$ . Son dependientes de la concentración de la proteína en la muestra.

La valoración se hace comparando la medida de los parámetros de la reacción con los valores obtenidos con un preparado de referencia. La curva de referencia depende del lote de carga y viene dada en forma de código de barras en cada envase de reactivos. Esto permite además una compensación automática de la temperatura.

## REACTIVOS

### Contenido del envase comercial:

Turbiquant mioglobina, numero de pedido OWNK

Turbiquant mioglobina, un frasco de 10 ml.

Tapón para el turbiquant mioglobina, un frasco con 10 ml.

### Composición y estandarización

El **Turbiquant® Mioglobina** es un liofilizado constituido por partículas de poliestireno recubiertas con anticuerpos específicos (conejo) contra la mioglobina humana.

**Tampón para el Turbiquant® Mioglobina** está constituido por una solución salina, tamponada y con detergentes.

La estandarización del Turbiquant® Mioglobina se hace con relación a un preparado interno de referencia de Dade Behring Marburg GmbH.

Medio de conservación

Turbiquant® Mioglobina después de reconstituido:

Anfotericina 5,5 mg/l

5-cloro-2-metil-isotiazolin-3-ona 13,5 mg/l,

2-metil-4-izotiazolin-3-ona 4,5 mg/l

Tampón para Turbiquant® Mioglobina:

Anfotericina 5,0 mg/l

5-cloro-2-metil-isotiazolin-3-ona 11,25 mg/l,

2-metil-4-izotiazolin-3-ona 3,75 mg/l

---

### **Advertencias y medidas de seguridad**

Sólo para ser utilizado en diagnósticos in-vitro.

### **Preparación de reactivos:**

**Turbiquant® Mioglobina:** Resuspender el liofilizado contenido en un frasco en 10 ml del tampón para Turbiquant® Mioglobina. El contenido del frasco de 10 ml del tampón debe pasarse completamente al frasco del reactivo. Esto se realiza vertiendo el tampón en el frasco del reactivo y sacando la parte restante con la ayuda de una pipeta a émbolo y agregándola igualmente al reactivo. El reactivo reconstituido se mezcla cuidadosamente y se puede ser usar después de 15 min. Agitar brevemente antes de usarlo.

### **Estabilidad y almacenaje**

Almacenamiento entre +2 y +8 °C:

La fecha de vencimiento viene indicada en la etiqueta;

Estabilidad después de reconstituido:

2 semanas, siempre que después de usarse, se mantenga almacenado entre +2 y +8 °C, perfectamente cerrado con un tapón de goma y una tapa de rosca.

Los reactivos no se deben congelar.

### **Materiales adicionales necesarios:**

TurbiTimeSystem

Suero control apolipoproteínas CHD, N° de pedido OUPH

Pipetas de émbolo, 50 ml y 500 ml

Material a utilizar y equipo como vienen descritos en el manual de operaciones del

TurbiTimeSystem

**PROCEDIMIENTO:****Advertencia**

1. Los detalles sobre el manejo del TurbiTimeSystem se deben tomar del manual de operaciones del aparato.
2. Los reactivos y las muestras deben alcanzar la temperatura ambiente (entre +15 y +25 °C) antes de ser medidos en el TurbiTimeSystem.
3. Si después de varias repeticiones del proceso de colocación del frasco de reactivo, el código de barras no es reconocido por el aparato (señal: "dar código del reactivo"), debe darse el código de cuatro cifras que viene en la etiqueta del frasco, con la ayuda del teclado.
4. Los volúmenes dados para los reactivos y las muestras deben ser necesariamente mantenidos, ya que la curva de calibración se basa en estos volúmenes.

**Lectura de la curva de referencia**

La lectura del código de barras viene descrita en el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

**Medida de las muestras de pacientes**

Colocar el frasco de reactivos en el portafrascos del TurbiTimeSystem.

Colocar 50 ml de la muestra sin diluir en una cubeta con agitador. Antes de pipetear la muestra, la punta de la pipeta se debe purgar una vez con la muestra (ver instrucciones del fabricante de las pipetas). Al pipetear la muestra, la punta de la pipeta debe estar cerca del fondo de la cubeta. Colocar la cubeta en el portacubetas. Pipetear 500 µl del reactivo tan pronto lo indique el aparato. Al pipetear tener en cuenta que la punta de la pipeta entre aproximadamente 1 cm dentro de la cubeta. La medida se realiza automáticamente tan pronto se agrega el reactivo.

Retirar la cubeta del portacubetas tan pronto lo indique el aparato

Los resultados que ocasionen en el TurbiTimeSystem una señal status, hacen necesaria la repetición de la medida con una dilución de la muestra. Esto viene descrito en el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

**Control de calidad interno**

Al utilizar el reactivo por primera vez, así como con cada serie de muestras, se deben usar el suero control de apolipoproteínas CHD. El control debe ser manejado en la determinación y en la valoración como las muestras de sujetos.

Los valores teóricos y el rango de confianza del control se deben tomar de la Tabla de valores teóricos correspondientes.

Si los resultados de las medidas del control se encuentran por fuera de su rango de confianza, se debe repetir su determinación. Si después de la repetición, se comprueba la desviación, se debe realizar una nueva medida de los controles usando un nuevo frasco de control. Los resultados de los sujetos deben ser entregados únicamente cuando la causa de esta desviación sea conocida y eliminada.

**Resultados**

La valoración se realiza automáticamente  $\text{er}\mu\text{g/l}$  o en una unidad de medida escogida por el usuario en el TurbiTimeSystem.

**LIMITACIONES DEL DESARROLLO DEL TEST**

Para una absorción muy alta del preparado de la reacción, por ejemplo, debido a turbidez fuerte o a hemólisis, el TurbiTimeSystem da una señal de alarma ("Turbidez propia de la muestra > 1,5 E"). Esta clase de muestras, así como, muestras que contengan partículas deberán ser centrifugadas antes de la determinación (10 min. a aproximadamente 15.000 x g).

Si al repetir la medida se obtiene el mismo resultado, se recomienda una dilución de la muestra con solución salina isotónica, por ej., 1:2. Lo mismo es válido para las muestras hemolíticas, para las cuales el sistema va a dar una señal de alarma. Las muestras lipémicas que no se puedan aclarar por centrifugación, así como las muestras inactivadas por calor, se deben excluir de la determinación.

Un resultado del test no se puede tomar como único criterio para el diagnóstico o para el control de la terapéutica, sino solamente en combinación con otras medidas diagnósticas y el cuadro clínico del paciente. Un resultado que esté en contradicción con el cuadro clínico o con valores anteriores del paciente, debe ser interpretado con la correspondiente reserva.

Debido a los efectos matriz, las muestras para analizar inter-laboratorios y las muestras control pueden producir resultados diferentes, dependiendo del método utilizado para la determinación. Por esta razón, es necesario evaluar estos resultados en relación con valores objetivos específicos del método.

### **RANGO DE REFERENCIA**

La concentración de mioglobina en plasmas y sueros de personas clínicamente sanas depende de la edad y del sexo y muestra un rango de repartición muy amplio.

Como límite superior del rango de referencia (97,5 per centile) se determinó una concentración de mioglobina de 70 µg/l. Sin embargo, cada laboratorio deberá determinar su propio rango de referencia, ya que éste está influenciado por muchos factores, los cuales pueden ser diferentes para cada colectividad estudiada.

### **CARACTERÍSTICAS DE LA DETERMINACIÓN**

#### **Rango de medida y sensibilidad:**

El rango de medida para TurbiQuant® Mioglobina va desde 50 hasta 650 mg/l al usar las muestras sin diluir. Concentraciones elevadas pueden ser determinadas cuando las muestras se diluyen con una solución salina isotónica, por ej., 1:2. Esto viene descrito en el manual de operaciones del TurbiTimeSystem.

En el TurbiTimeSystem el límite de reconocimiento está fijado por el límite inferior del rango de medida de un ensayo.

#### **Especificidad**

No se conocen reacciones cruzadas del anticuerpo utilizado.



### **Precisión**

Con el Turbiquant® Mioglobina se encontraron, al medir concentraciones diferentes de mioglobina en el rango aproximado de 70 a 625 mg/l, coeficientes de variación de 1,7 hasta 6,8% para la precisión en la serie (n = 20). Para las medidas día a día (n = 10) los coeficientes de variación fueron de 2,0 hasta 7,0%.

### **Comparación de métodos**

En un estudio realizado en Europa se investigaron 47 muestras de suero con concentraciones de mioglobina hasta de 400 mg/l comparando Turbiquant® Mioglobina (y) con un radio inmunoensayo (x) existente en el comercio. La comparación de los resultados por análisis de correlación dio un coeficiente de correlación  $r = 0,98$  y la siguiente línea de regresión:  $y = 0,95 x + 2,99$  mg/l

### **Nota:**

Los valores dados para las "características del método" representan valores típicos y no deben ser tomados como especificaciones para Turbiquant® Mioglobina.

## **MEDICIÓN CREATINFOSFOQUINASA (CPK) (118)**

### **PRINCIPIO**

El Reactivo de CPK es una modificación del procedimiento de Szasz . La CPK cataliza reversiblemente la transferencia de un grupo fosfato de una creatina fosfato a adenosina trifosfato (ATP) como productos. El ATP formado es usado para producir glucosa-6-fosfato y ADP de la glucosa. Esta reacción es catalizada por la hexoquinasa la cual requiere de magnesio para su máxima actividad. La glucosa-6-fosfato es oxidada por la acción de la enzima glucosa 6-fosfato deshidrogenasa con la reducción simultanea de la coenzima nicotinamida adenine dinucleotido fosfato (NADP) para formar NADPH y 6-fosfogluconato. La tasa de incremento de la absorbancia a 340/380 nm debido a la formación de NADPH es directamente proporcional a la actividad de la CPK en la muestra.

**Valores de referencia****Mujeres: 24-170 U/l****Hombres: 24-195 U/l**

Se recomienda que cada laboratorio asigne su propio rango normal.

**Reactivos.****1. Reactivo (R1)**

Imidazole buffer, pH=6.60 100 mmol/l

Acetato de magnesio 10 mmol/l

**2. Reactivo (R2)**

N-Acetilcisteina 20 mmol/l

ADP 2 mmol/l

AMP 5 mmol/l

NADP 2 mmol/l

D-Glucosa 20 mmol/l

Di adenosina pentafofato 10  $\mu$ mol/l

EDTA 2 mmol/l

Hexokinasa 3500 U/l  $\geq$ Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa  $\geq$  2000 U/l

Creatina-fosfato 30 mmol/l

**Muestra**

Suero libre de hemolisis.

**Estabilidad de los reactivos**

Guardados a 2-8°C y protegidos de la luz los reactivos son estables.

Sin abrir: Mayor a la fecha de vencimiento marcada en la etiqueta.

Después de abrir: El buffer es estable por 60 días.

**Procedimiento****Preparación del reactivo:**

Disolver el reactivo R2 en el buffer R1.

**Estabilidad:** a 20-25°C: 2 días, a 2-8° C: 2 semanas

Si la absorbancia de los reactivos es mayor de 1.2 a 334 nm el reactivo no puede ser usado.

**Condiciones de prueba.**

Longitud de onda: 340 (334-365) nm

Temperatura: 37°C

Cubeta: 1 cm de paso de luz

Blanco: Agua destilada

Método: cinética (incremento)

**Pipeteo en la cubeta.**

<b>Reactivo</b>	1 ml
<b>Muestra o control</b>	20µl

Mezcle y después de 2 min. de incubación, mida el cambio de la absorbancia por minuto ( $\Delta$ Abs/min) durante 3 minutos.

**Calibración (37°C, metodo IFCC)**

S1: Agua destilada

S2: Roche C.F.A.S. (Calibrator for automated system) o

Randox Calibration Serum Level I or

Randox Calibration Serum Level II

### **Frecuencia de calibración**

Se recomiendan 2 puntos de calibración.

- Después de cambiar el lote de reactivo,
- cuando sea requerido seguido de los procedimientos de control de calidad.

### **Calculo usando la calibración**

$(\Delta\text{Abs muestra}/\Delta\text{Abs estandar}) \times C \text{ estandar} = C \text{ sample}$

Abs = Absorbancia

C = Concentración

### **Cálculo usando factor.**

Actividad (U/l):  $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times 9786$  (340 nm)

Actividad (U/l):  $\Delta\text{Abs}/\text{min} \times 8922$  (334 nm)

### **Control de calidad.**

Se recomienda un programa de control de calidad para todos los laboratorios clínicos. El análisis del material de control, tanto de los rangos normales como anormales, con cada prueba es recomendada para monitorizar el desempeño de los procedimientos. Cada laboratorio debe establecer las medidas correctivas que serán tomadas si los valores caen por fuera de los límites.

## **DESEMPEÑO DE DATOS**

Los siguientes datos fueron obtenidos usando el analizador Hitachi 717 (37°C).

### **Linearidad**

El test es lineal por encima de 2000 U/l.

### Sensibilidad

Se recomienda que cada laboratorio establezca sus propios rangos de sensibilidad porque esta esta limitada por la sensibilidad del espectrofotómetro usado. Bajo condiciones manuales sin embargo, un cambio de 0.001 unidades deAbs unidades/min es equivalente a 8.922 U/l de actividad creatinafosfoquinasa a 334 nm.

### Precisión

Reproducibilidad			
Muestra	Promedio actividad U/l	SD	CV%
Muestra I	163.98	5.90	3.60
Muestra II	472.92	16.57	3.50

### Correlación

Estudios comparativos fueron realizados para comparar los reactivos de esta marca con otros reactivos de creatinafosfoquinasa comerciales.

Los resultados de estos estudios son detallados.

Coficiente de correlación:  $r = 0.9991$

Regresión lineal:  $y (U/l) = 1.035x - 4.299$

( $x$ = otro reactivo comercial,  $y$ = este reactivo).

### Especificidad

Bilirrubina 855 $\mu$ mol/l (0.5g/l), lípidos 5g/l, glucosa 55.5mmol/l (10g/l) y acido ascórbico 2.84mmol/l (0.5g/l) no interfirieron con el ensayo a los niveles dados.

**NOTA**

NO use los reactivos después de su fecha de vencimiento el cual está grabado en el frasco de cada reactivo. No use estos productos, las soluciones de prueba y los reactivos descritos para ningún propósito diferente de los descritos acá.

Use únicamente para diagnostico in Vitro

I.Anexo: Tablas de datos mediciones.

## Anexo I: Tablas de datos mediciones

Mediciones en sedentarios

Creatinfosfoquinasa.

Código	CK tamizaje	CK PRE	CK POS	CK 1H	CK 2H	CK 3H	CK 24 H	CK48H
53	37,14	66,03	78,41	78,41	70,16	94,92	117,62	134,13
63	30,95	33,02	45,40	47,46	66,03	88,73	109,37	0,00
71	33,02	49,52	53,65	61,91	119,68	278,57	394,13	214,60
72	28,60	1219,53	51,59	51,59	47,46	68,10	57,78	0,00
73	16,51	33,02	35,08	43,33	39,21	43,33	37,14	33,02
74	20,64	14,44	22,70	28,89	20,64	24,76	30,95	18,57
75	28,89	26,83	35,08	59,84	132,06	286,83	703,65	563,34
76	41,27	22,70	28,89	43,33	119,68	154,76	148,57	84,60
80	20,64	53,65	53,65	66,03	385,87	542,70	501,43	390,00
82	111,43	49,52	51,59	37,14	43,33	51,59	49,52	41,27
83	39,21	30,95	30,95	30,95	26,83	41,27	55,71	37,14
84	59,84	127,94	150,64	165,08	160,95	200,16	350,80	385,87
85	43,33	99,05	117,62	119,68	142,38	148,57	130,00	63,97
86	47,46	51,59	57,78	49,52	63,97	68,10	76,35	47,46
90	37,14	53,65	41,27	49,52	105,24	175,40	352,86	163,02
92	39,21	18,57	24,76	24,76	33,02	84,60	94,92	51,59
94	26,50	43,33	53,65	82,54	169,21	392,07	996,67	464,29
95	27,10	45,40	68,10	45,40	72,22	53,65	57,78	51,59

## Mioglobina.

CÓDIGO	PRE (ng/ml)	POST(ng/ml)	1H(ng/ml)	2H(ng/ml)	3H(ng/ml)	24H(ng/ml)	48H(ng/ml)
53	51,2	47,53	120,5	125,6	101,2	64,93	38,62
63	39,42	50,95	126,7	157,1	122,4	38,07	< 21,00
71	35,05	41,13	269,9	628,8	716,4	59,79	39,46
72	21,26	23,25	45,39	51,07	58,76	25,83	< 21,00
73	27,03	26,77	41,93	37,05	31,01	26,79	26,81
74	< 21,00	24,18	46,08	43,52	40,41	22,2	< 21,00
75	< 21,00	27,8	376,8	545,4	693,5	68,92	< 21,00
76	< 21,00	48,24	153,2	206,5	173,3	< 21,00	< 21,00
80	42,81	81,17	820,2	1437	1265	43,28	29,16
82	28,59	28,41	56,9	53,96	46,56	< 21,00	< 21,00
83	< 21,00	24,38	38,8	36,01	28,21	< 21,00	23,19
84	55,14	64,93	126,4	131,3	150,8	100,1	83,41
85	35,61	71,08	123,4	111,4	80,82	75,34	28,68
86	25,09	25,01	56,96	53,79	53,6	29,77	28,64
90	< 21,00	86,92	227,5	331,6	363,1	36,3	25,39
92	< 21,00	< 21,00	81,28	145,9	150	27,73	< 21,00
94	< 21,00	73,21	380,1	676,5	973,2	115,9	26,26
95	37,13	48,45	62,64	66,45	55,69	74,96	25,97



## I.Anexo: Tablas de datos mediciones.

Mediciones en Entrenados

Creatinfosfoquinasa.

Código	CK tamizaje	CK PRE	CK POS	CK 1H	CK		CK 24		CK48H
					2H	CK 3H	H		
3	47,46	-868,73	1044,13	1054,45	982,23	897,62	1184,45	-2218,26	
5	18,57	16,51	33,02	30,95	41,27	41,27	22,70	55,71	
8	63,97	276,51	175,40	43,33	171,27	196,03	251,75	121,75	
9	156,83	63,97	37,14	41,27	57,78	76,35	59,84	45,40	
12	80,48	35,08	41,27	47,46	39,21	45,40	76,35	18,57	
15	74,29	33,02	45,40	20,64	14,44	45,40	45,40	28,89	
20	99,05	-18,57	20,64	37,14	53,65	47,46	43,33	30,95	
23	20,64	20,64	28,89	14,44	24,76	26,83	22,70	14,44	
24	148,57	41,27	47,46	37,14	47,46	41,27	39,21	35,08	
26	53,65	47,46	70,16	39,21	55,71	41,27	43,33	41,27	
27	18,57	41,27	51,59	45,40	39,21	41,27	35,08	24,76	
28	37,14	30,95	49,52	33,02	30,95	30,95	24,76	26,83	
29	35,08	24,76	49,52	18,57	18,57	37,14	-202,22	-24,76	
30	57,78	37,14	37,14	45,40	41,27	51,59	43,33	37,14	

Mioglobina

CÓDIGO	PRE						
	(ng/ml)	POST(ng/ml)	1H(ng/ml)	2H(ng/ml)	3H(ng/ml)	24H(ng/ml)	48H(ng/ml)
3	34,56	34,72	56,71	46,93	35,98	76,65	46,89
5	< 21,00	26,86	35,09	36,75	26,02	34,23	< 21,00
8	44,08	71,58	79,05	60,86	67,18	42,97	24,01
9	26,5	54,68	54,03	47,78	88,8	46,86	< 21,00
12	25,71	34,99	57,42	59,57	44,4	135,5	< 21,00
15	26,91	33,45	36,77	26,22	26,58	< 21,00	< 21,00
20	< 21,00	22,9	44,84	33,79	28,16	< 21,00	< 21,00
23	< 21,00	27,91	32	26,07	27,77	< 21,00	< 21,00
24	< 21,00	30,43	40,68	38,09	39,92	24,06	30,3
26	< 21,00	36,9	36,87	30,56	23,06	21,46	< 21,00
27	< 21,00	23,82	26,46	23,25	22,5	< 21,00	< 21,00
28	25,48	28,16	30,36	25,93	24,96	23,85	< 21,00
29	< 21,00	32,96	33,23	36,88	28,84	23,46	< 21,00
30	27,14	39,32	41,82	36,09	28,39	27,07	21,49

## 8. Bibliografía.

- (1) Sayer S, Clarkson P. Exercise-induced rhabdomyolysis. *Curr Sports Med Rep* 2002;1(2):59-60.
- (2) Lopez J, Fernandez A. *Fisiología del Ejercicio*. Tercera ed. Editorial Panamericana; 2006.
- (3) Lin A, Lin C, Wang T. Rhabdomyolysis in 119 students after repetitive exercise. *Br J Sports Med* 2005;39(1):1.
- (4) Goubier J, Hoffman O, Oberlin C. Exertion induced rhabdomyolysis of the long head of the triceps. *Br J Sports Med* 2002;36(2):150-1.
- (5) Jubel A, Andemahr J, Bergmann H, Prokop A, Rehm K. Elastic stable intramedullary nailing of midclavicular fractures in athletes. *Br J Sports Med* 2003;37(6):480-3.
- (6) Gulbin J, Gaffney P. Identical Twins are Discordant for Markers of Eccentric Exercise-Induced Muscle Damage. *Int J Sports Med* 2002;23(7):471-6.
- (7) Neumayr G, Pfister R, Hoertnaql H, Mitterbauer G, Prokop W, Jonnidis. Renal function and plasma volume after ultramarathon cycling. *Int J Sports Med* 2005;26(1):2-8.
- (8) Perez P, Roiz J, Diazaraque R. Rabdomiolisis inducida por ejercicio. *Medfam* 2001;11:562-5.
- (9) Sauret J, Marinides G. Rabdomiolisis. *Am Fam Physician* 2002;65:907-12.
- (10) Vanholder R, Sever M, Ereke E, Lamiere N. Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol* 2000;11(8):1553-61.
- (11) List of Greek words with English derivatives. Wikipedia 2011 Available from: URL: [http://en.wikipedia.org/wiki/List\\_of\\_Greek\\_words\\_with\\_English\\_derivatives](http://en.wikipedia.org/wiki/List_of_Greek_words_with_English_derivatives)
- (12) Rhabdos. Wiktionary . 2011. URL: <http://en.wiktionary.org/wiki/rhabdo->
- (13) Oxford Dictionaries. Oxford University Press, editor. Oxford University Press . 2011.
- (14) Muscle. Wiktionary . 2011. URL: <http://en.wiktionary.org/wiki/muscle>

- (15) Lisy. Oxford University Press . 2011. Oxford University Press.
- (16) Cervellin G, Comelli I, Lippi G. Rhabdomyolysis: historical background, clinical, diagnostic and therapeutic features. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(6):749-56.
- (17) Criddle L. Rhabdomyolysis: Pathophysiology, Recognition, and Management. *Crit Care Nurse* 2003;23:14-30.
- (18) Kuklo T, Tis J, Moores L, Schaefer R. Fatal rhabdomyolysis with bilateral gluteal, thigh and leg compartment syndrome after the army physical fitness test. *Am J Sport Med* 2000;28(1):112-6.
- (19) Huerta-Alardin A, Varon J, Marik P. Bench-to-bedside review: Rhabdomyolysis -- an overview for clinicians. *Crit Care* 2005;9(2):158-69.
- (20) Melli G, Chaudhry V, Cornblath D. Rhabdomyolysis: an evaluation of 475 hospitalized patients. *Medicine (Baltimore)* 2005;84(6):377-85.
- (21) Khan F. Rhabdomyolysis: a review of the literature. *Neth J Med* 2009;67(9):272-83.
- (22) Ropper A. Adams and Victor's Principles of Neurology . 8th ed. McGraw-Hill Professional Publishing. 2005.
- (23) Braunwald E, et al. Harrison´s principles of internal medicine. 16<sup>th</sup> ed. McGraw-Hill Medical Publishing.; 2005.
- (24) Fejerman N, Fernandez E. Neurología pediátrica. 2<sup>a</sup> ed. Editorial medica panamericana; 1997.
- (25) Walsworth M, Kessler T. Diagnosing exertional rhabdomyolysis: a brief review and report of two cases. *Mil Med* 2001;166(3):275-7.
- (26) Skendery K, Kavouras S, Anastasiou C, Yiannakouris N, Matalas A. Exertional Rhabdomyolysis during a 246-km Continuous Running Race. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(6):1054-7.
- (27) Neumayr G, Pfister R, Hoertnaql H, Mitterbauer G, Getzner W, Ulmer H, et al. The Effect of Marathon Cycling on Renal Function. *Int J Sports Med* 2003;24(2):131-7.
- (28) Brown J, Elliot M, Sray W. Exercise-induced upper extremity rhabdomyolysis and myoglobinuria in shipboard military personnel. *Mil Med* 1994;159(7):473-5.
- (29) Yamamoto K, Miyachi M, Saitoh T, Yoshioka A, Onodera S. Effects of endurance training on resting and post-exercise cardiac autonomic control. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(9):1496-502.

- (30) Luck R, Verbin S. Rhabdomyolysis: a review of clinical presentation, etiology, diagnosis, and management. *Pediatr Emerg Care* 2008;24(4):262-8.
- (31) Knochel J. Mechanisms of rhabdomyolysis. *Curr Opin Rheumatol* 1993;5(6):725-31.
- (32) Paller M. Hemoglobin- and myoglobin-induced acute renal failure in rats: role of iron in nephrotoxicity. *Am J Physiol* 1988;255(3):F539-F544.
- (33) Ordway G, Garry D. Myoglobin: An essential hemoprotein in striated muscle. *J Exp Biol* 2004;201(20):3441-6.
- (34) Kendrew J, Bodo G, Dintzis H, Parrish R, Wyckoff H, Phillips D. A three-dimensional model of the myoglobin molecule obtained by x-ray analysis. *Nature* 1958;181(4610):662-6.
- (35) Chen I, David R, Maxon H, Sperling M, Stein E. Age, sex and race-related differences in myoglobin concentrations in the serum of healthy persons. *Clin Chem* 1980;26(13):1864-8.
- (36) Javid J, Fischer D, Spaet T. Inability of haptoglobin to bind myoglobin. *Blood* 1959;14(6):683-7.
- (37) Kagen L, Butt A. Myoglobin binding in human serum. *Clin Chem* 1977;23(10):1813-8.
- (38) Sakata S, Yoshioka N, Atassi M. Human haptoglobin binds to human myoglobin. *Biochim Biophys Acta* 1986;873(2):312-5.
- (39) Wheby M, Barrett O, Crosby W. Serum protein binding of myoglobin, haemoglobin and hematin. *Blood* 1960;16:1579-85.
- (40) Meyer R. Aerobic performance and the function of myoglobin in human skeletal muscle. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004;287(6):R1304-R1305.
- (41) Cole R. Myoglobin function in exercising skeletal muscle. *Science* 1982;216(4545):523-5.
- (42) Gödecke A, Flögel U, Zanger K, Ding Z, Hirchenhain J, Decking U, et al. Disruption of myoglobin in mice induces multiple compensatory mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96(18):10495-500.
- (43) Väänänen H, Syrjälä H, Rahkila P, Vuori J, Melamies L, Myllylä V, et al. Serum carbonic anhydrase III and myoglobin concentrations in acute myocardial infarction. *Clin Chem* 1990;36(4):635-8.
- (44) Clarkson P, Hubal M. Exercise-induced muscle damage in humans. *Am J Phys Med Rehabil* 2002;81(11):s52-s69.

- (45) Centers for Disease Control (CDC). Exertional rhabdomyolysis and acute renal impairment--New York City and Massachusetts, 1988. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1990;39(42):751-6.
- (46) Sinert R, Kohl L, Rainone T, Scalea T. Exercise-induced Rhabdomyolysis. *Ann Emerg Med* 1994;23(6):1301-6.
- (47) United state Department of Health and Human Services. Physical activity and health: a report of the Surgeon General. 1996.
- (48) President´s Council on Physical Fitness. Definitions: health, fitness, and physical activity. *Research Digest* 2000.
- (49) Armstrong L, et al. ACSM´s guidelines for exercise testing and prescription. Septima ed. Lippincott Williams and Wilkins. 2006.
- (50) Caspersen C, Powell K, Christenson G. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 1985;100(2):126-31.
- (51) Heyward V. *Advance Fitness Assessment and Exercise Prescription*. Quinta ed. Human Kinetics; 2006.
- (52) McArdle W, Katch F, Katch V. *Exercise physiology. Energy, Nutrition, and Human performance*. Cuarta ed. Williams and Wilkins.; 1996.
- (53) Per Olof A, Kaare R, Hans D, Sigmund S. *Textbook of Work Physiology*. Fourth ed. Human Kinetics. 2003.
- (54) Howley E. Type of activity: resistance, aerobic and leisure versus occupational physical activity. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(6):s364-s369.
- (55) Crawford M, Fletcher G. Estudios ergométricos y rehabilitación cardiaca. *Cardiol Clin* 1993;2.
- (56) Borg G. Perceived exertion as an indicator of somatic stress. *Scand J Rehabil Med* 1970;2(2):92-8.
- (57) Bell C, Stob N, Seals D. Thermogenic responsiveness to  $\hat{a}$ -adrenergic stimulation is augmented in exercising *versus* sedentary adults: role of oxidative stress. *J Physiol* 2006;570(3):629-35.
- (58) Garcia J, Navarro M, Ruiz J. *Bases teóricas del entrenamiento deportivo*. Gymnos; 1996.
- (59) Perrault H, Turcotte R. Exercise-induced cardiac hypertrophy. Fact or fallacy?. *Sports Med* 1994;17(5):288-308.

- (60) Morrison D, Boyden T, Pamerter R, Freund B, Stini W, Harrington R, et al. Effects of aerobic training on exercise tolerance and echocardiographic dimensions in untrained postmenopausal women. *Am Heart J* 1986;112(3):561-7.
- (61) Milliken MS-GJ, Peshock R, Katz J, Mitchel J. Left ventricular mass as determined by magnetic resonance imaging in male endurance athletes. *Am J Cardiol* 1988;62(4):301-5.
- (62) Landry F, Bouchard C, Dumesnil J. Cardiac dimension changes with endurance training. Indications of genotype dependency. *JAMA* 1985;254(1):77-80.
- (63) Dickhuth H, Rocker K, Mayer F, König D, Korsten-Reck U. Endurance training and cardial adaptation (athlete's heart). *Hertz* 2004;29(4):373-80.
- (64) Carter J, Banister E, Blaber A. Effect of endurance exercise on automatic control of heart rate. *Sports Med* 2003;33(1):33-46.
- (65) Wilmore J, Stanforth P, Gagnon J, Leon A, Rao D, Skinner J, et al. Endurance exercise training has a minimal effect on resting heart rate: the HERITAGE Study. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28(7):829-35.
- (66) Shi X, Stevens G, Foresman B, Stern S, Raven P. Autonomic nervous system control of the heart: endurance exercise training. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27(10):1406-13.
- (67) Green H, Sutton J, Coates G, Ali M, Jones S. Response of red cell and plasma volume to prolonged training in humans. *J Appl Physiol* 1991;70(4):1810-5.
- (68) Yang R, Mack G, Wolfe R, Nadel E. Albumin syntesis after intense intermittent exercise in human subjects. *J Appl Physiol* 1998;84(2):584-92.
- (69) Nagashima K, Cline G, Mack G, Shulman G, Nadel E. Intense exercise stimulates albumin syntesis in the upright posture. *J Appl Physiol* 2000;88(1):41-6.
- (70) Smith J. Exercise, training and red blood cell turnover. *Sports Med* 1995;19(1):9-31.
- (71) Matsuda M, Sugishita Y, Koseki S, Ito I, Akasuka T, Takamatsu K. Effect of exercise on left ventricular diastolic filling in athletes and nonathletes. *J Appl Physiol* 1983;55(2):323-8.
- (72) Opie L. *Heart Physiology. From cell to circulation.* Fourth ed. Lippincott Williams and Wilkins. 2004.
- (73) Hopper M, Coggan A, Coyle E. Exercise stroke volume relative to plasma-volume expansion. *J Appl Physiol* 1988;64(1):404-8.

- (74) Higginbotham M, Morris K, Williams R, McHale P, Coleman R, Cobb F. Regulation of stroke volume during submaximal and maximal upright exercise in normal man. *Circ Res* 1986;58(2):281-91.
- (75) Andersen P, Saltin B. Maximal perfusion of skeletal muscle in man. *J Physiol* 1985;366:233-49.
- (76) Jansson E, Sylvén C. Myoglobin concentration in single type I y type II muscle fibres in man. *Histochemistry* 1983;78(1):121-4.
- (77) Hickson R. Skeletal muscle cytochrome c and myoglobin, endurance, and frequency of training. *J Appl Physiol* 1981;51(3):746-9.
- (78) Masuda K, Okasaki K, Kuno S, Asano K, Shimojo H, Katsuta S. Endurance training under 2500-m hypoxia does not increase myoglobin content in human skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2001;85(5):486-90.
- (79) Holloszy J, Oscai L, Mole P. Biochemical adaptations to endurance exercise in skeletal muscle. New York: Plenum 1971.
- (80) Daniel W. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. Cuarta ed. Georgia: Limusa Wiley (Noriega Editores); 2008.
- (81) König D, Schumacher Y, Heinrich L, Schmid A, Berg A, Dickhuth H. Myocardial stress after competitive exercise. *Med Sci Sports Exerc* 35[10], 1679-1683. 2003.
- (82) Tsokos J. Estadística para biología y ciencias de la salud. Primera ed. Madrid: Interamericana McGraw Hill; 2001.
- (83) Martin A. Bioestadística para las ciencias de la salud. Cuarta ed. Norma; 1993.
- (84) Argimón J. Métodos de investigación aplicados a la atención primaria de salud. Segunda ed. Barcelona: Mosby-Doyma; 1994.
- (85) Factores de riesgo OMS. OMS 2011 Available from: URL: <http://www.who.int/topics/es/>
- (86) Tuero C, Marquez S, De Paz J. Tuero C, Marquez S, Analisis de un modelo de cuestionario de valoración de la actividad física durante el tiempo libre(1): Minnesota leisure time physical activity questionnaire.(LTPA). *Revista Digital* 5[27], 1-3. 2000.
- (87) Martine S, Bernstein M, Morabia A, Sloutskis D. Definition and prevalence of sedentarism in an urban population. *Am J Public Health* 89[6], 862-867. 1999.
- (88) Convertino V, Armstrong L, Coyle E, Mack G, Sawka M, Senay L, et al. ACSM position stand: Exercise and fluid replacement. *Med Sci Sports Exerc* 28[10], I-IX. 1996.

- 
- (89) Zoladz J, Rademaker A, Sargeant A. Human muscle power generating capability during cycling at different pedalling rates. *Exp Physiol* 85[1], 117-124. 2000.
- (90) Bakker A, Boymans D, Dijkstra D, Gorgels J, Lerk R. Rapid determination of serum myoglobin with a routine chemistry analyzer. *Clin Chem* 39[4], 653-658. 1993.
- (91) Turbiquant. Dade Behring MArburg GmbH. Turbiquant 2011. Available from: URL: [www.dadebehring.com](http://www.dadebehring.com)
- (92) Swaiman K, Awad E. Creatine phosphokinase and other serum enzyme activity after controlled exercise. *Neurology* 1964;14(977):980.
- (93) Proske U, Allen TJ. Damage to skeletal muscle from eccentric exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 2005;33(2):98-104.
- (94) Baxter RE, Moore JH. Diagnosis and treatment of acute exertional rhabdomyolysis. *J Orthop Sports Phys Ther* 2003;33(3):104-8.
- (95) Eston RG, Finney S, Baker S, Baltzopoulos V. Muscle tenderness and peak torque changes after downhill running following a prior bout of isokinetic eccentric exercise. *J Sports Sci* 1996;14(4):291-9.
- (96) Harrelson GL, Fincher AL. Acute Exertional Rhabdomyolysis and Its Relationship to Sickle Cell Trait. *J Athl Train* 1995;30(4):309-12.
- (97) Skenderi KP, Kavouras SA, Anastasiou CA, Yiannakouris N, Matalas AL. Exertional Rhabdomyolysis during a 246-km Continuous Running Race. *Med Sci Sports Exerc* 2006;38(6):1054-7.
- (98) Lappalainen H, Tiula E, Mänttari M. Elimination kinetics of myoglobin and creatine kinase in rhabdomyolysis: Implications for follow-up. *Crit Care Med* 2002;30(10):2212-5.
- (99) Hubal MJ, Devaney JM, Hoffman EP, Zambraski EJ, Gordish-Dressman H, Kearns AK, et al. CCL2 and CCR2 polymorphisms are associated with markers of exercise-induced skeletal muscle damage. *J Appl Physiol* 2010;108(6):1651-8.
- (100) Nosaka K, Newton M. Concentric or eccentric training effect on eccentric exercise-induced muscle damage. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(1):63-9.
- (101) Apple FS, Hellsten Y, Clarkson PM. Early detection of skeletal muscle injury by assay of creatine kinase MM isoforms in serum after acute exercise. *Clin Chem* 1988;34(6):1102-4.
- (102) Hirose L, Nosaka K, Newton M, Laveder A, Kano M, Peake J, et al. Changes in inflammatory mediators following eccentric exercise of the elbow flexors. *Exerc Immunol Rev* 2004;10:75-90.



- (103) Moeckel-Cole SA, Clarkson PM. Rhabdomyolysis in a collegiate football player. *J Strength Cond Res* 2009;23(4):1055-9.
- (104) Wichardt E, Mattsson CM, Ekblom B, Henriksson-Larsén K. Rhabdomyolysis/myoglobinemia and NSAID during 48 h ultra-endurance exercise (adventure racing). *Eur J Appl Physiol* 2011;111(7):1541-4.
- (105) Kiberd M, Campbell S. Delayed-onset rhabdomyolysis after intense exercise. *CMAJ* 2011;Epub ahead of print.
- (106) Lippi G, Schena F, Salvagno GL, Montagnana M, Gelati M, Tarperi C, et al. Acute variation of biochemical markers of muscle damage following a 21-km, half-marathon run. *Scand J Clin Lab Invest* 2008;68(7):667-72.
- (107) Lee J, Goldfarb AH, Rescino MH, Hegde S, Patrick S, Apperson K. Eccentric exercise effect on blood oxidative-stress markers and delayed onset of muscle soreness. *Med Sci Sports Exerc* 2002;34(3):443-8.
- (108) Brancaccio P, Lippi G, Maffulli N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin Chem Lab Med* 2010;48(6):757-67.
- (109) Mougios V. Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *Br J Sports Med* 2007;41(10):674-8.
- (110) Kjaer M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* 2004;84(2):649-98.
- (111) Goodman C, Henry G, Dawson B, Gillam I, Beilby J, Ching S, et al. Biochemical and ultrastructural indices of muscle damage after a twenty-one kilometre run. *Aust J Sci Med Sport* 1997;29(4):95-8.
- (112) Vogt M, Puntschart A, Geiser J, Zuleger C, Billeter R, Hoppeler H. Molecular adaptations in human skeletal muscle to endurance training under simulated hypoxic conditions. *J Appl Physiol* 2001;91(1):173-82.
- (113) Wilber RL, Drake SD, Hesson JL, Kearney JT, Dallam GM, Williams LL. Effect of altitude training on serum creatine kinase activity and serum cortisol concentration in triathletes. *Eur J Appl Physiol* 2000;81(1-2):140-7.
- (114) Schneider C, Stull GA, Apple FS. Kinetic characterization of human heart and skeletal muscle CK isoenzymes. *Enzyme* 1988;39(4):220-6.
- (115) Van Nieuwenhoven FA, Kleine AH, Wodzig WH, Hermens WT, Kragten HA, Maessen JG, et al. Discrimination between myocardial and skeletal muscle injury by assessment of the plasma ratio of myoglobin over fatty acid-binding protein. *Circulation* 1995;92(10):2848-54.

- (116) Bouchard C, Tremblay A, Leblanc C, Lortie G, Savard R, Thériault G. A method to assess energy expenditure in children and adults. *Am J Clin Nutr* 37[3], 461-467. 1983.
- (117) Prole J. *Enfermería de urgencias. Técnicas y procedimientos*. Tercera ed. Elsevier; 2005.
- (118) Mathieu M. "Enzymology" Commission: recommendations for the measurement of the catalytic activity of creatine kinase in human serum at 30 degreesC. *Ann Biol Clin* 40, 87. 1982.