



Universitat de Lleida

Ginseng, ¿una ayuda ergogénica para corredores? Conexión entre el metabolismo lipídico, inflamación y estrés oxidativo con el rendimiento deportivo

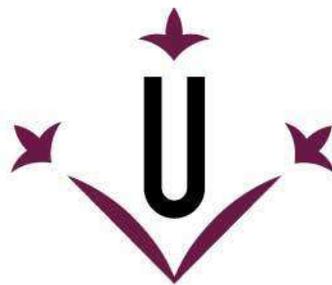
Cristian Didier Hernández García

<http://hdl.handle.net/10803/688013>

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.



Universitat de Lleida

TESI DOCTORAL

Ginseng, ¿una ayuda ergogénica para corredores?

Conexión entre el metabolismo lipídico, inflamación y estrés oxidativo con el rendimiento deportivo.

Cristian Didier Hernández García

Memoria presentada para optar al grado de Doctor por la Universidad de
Lleida

Programa de Doctorado en Salud

Directores:

Alba Naudí Farré

José Carlos Serrano Casasola

(2019)

Existe un agente que mejora el perfil lipídico, es antihipertensivo, inotrope positivo, cronotrope negativo, vasodilatador, diurético, anorexígeno, disminuye el peso, laxante, tranquilizante, hipnótico y antidepresivo.

Es la Actividad física.

- DR. Williams T Roberts -

*Esta tesis es el resultado de un cierto tiempo de dedicación,
ayuda y trabajo. Dedicada a mi hermana, ella me enseñó a
conquistar mis sueños.*

Agradecimientos

Este proyecto no hubiera sido posible sin el soporte del *Pla de Doctorats Industrials de la Secretaria d'Universitats i Recerca del Departament d'Empresa i Coneixement de la Generalitat de Catalunya*, que permite llevar a cabo proyectos en el ámbito Industrial y Empresarial. Muchas gracias por haber confiado en nuestro proyecto.

También infinitas gracias a José Ramón y Ariadna como responsables de la empresa Asesores Farmacéuticos, ya que han apoyado este proyecto y han apostado por la investigación, por la innovación y por el equipo humano que rodea su actividad empresarial. Hemos creado un equipo con buenas aspiraciones, sigamos trabajando juntos para desarrollar nuevos proyectos.

Afortunadamente la mayor parte académica de este proyecto ha sido desarrollada por dos grandes profesionales, Alba y José (los jefes), no sabéis lo agradecido que estoy con vuestro apoyo, gracias a vosotros ahora soy un poco más profesional y mucho mejor persona. Ojalá la vida nos lleve por caminos similares, personas como vosotros son las que quiero tener a mi lado. Además, este trabajo me ha llevado a entender más claramente que es un trabajo en equipo, y tengo que agradecer a todos mis compañeros de FPM por ayudarme, tanto en el trabajo como en lo personales. Especialmente a Ana, Meri, Faridé, Alex y David, siempre habéis estado ahí si necesitaba ayuda. Y a todos mis compañeros de doctorado (Irene, Turi, Rebe, Nat, Lara, Hugo, Anna, Omar y Pascual), me habéis escuchado, dado consejos y apoyado en todo este camino. Gracias también a Reinald y Manel por permitir y facilitar la estancia en vuestro equipo.

La parte imprescindible de este trabajo han sido los participantes de cada uno de los experimentos, han participado alrededor de 100 corredores en este trabajo y os habéis dejado hacer de todo (pinchar, sacar sangre, hacer mil pipís, pesar, correr, medir grasa y otras cuantas barbaridades). Mil gracias, sin vosotros no hubiera sido posible.

Gracias a mi familia (Marina, Pao, Dani, Geno, Tito, Ramon y Roger) vosotros siempre confiáis en mí, me apoyáis, me hacéis feliz y me dais tranquilidad, eso era lo único que necesitaba de vosotros durante este trabajo.

Por último, gracias a mis amigos por entender mis ausencias, por no juzgar que estuviera detrás del ordenador siempre, por preocuparse por mi trabajo y por preguntarme mil veces de que va la tesis. Gracias Gallegos, Maridas, Chipirones, Atletas, Isantas, Nutris y a los futuros *healthy influencers*: Noah, Julia, Mia, Roc, Gael, Leo, Ian, Loa, Oli, Thelmo, Vera, Emma y Dylan.

Abstract

Panax Ginseng is easily used by athletes as an ergogenic aid, however there is no scientific evidence to support its use. The objective of this thesis is to evaluate the ergogenic effect of a 500 mg daily supplementation of Panax Ginseng for 2 weeks in long distance runners.

The obtained results showed a significant decrease in total lipids and plasma triglycerides; O₂ consumption and CO₂ production during physical activity and protein oxidative stress; as well as an increase in the anti-inflammatory response. However, despite these changes, no short-term effects on sports performance were observed.

It is concluded that this intervention is a safe treatment and exerts an effect on lipid homeostasis, as well as an energy-saving effect and a decrease in the perception of fatigue during moderate sports activity.

Resumen

El Panax Ginseng es ampliamente utilizado por deportistas como una ayuda ergogénica, sin embargo no existe evidencia científica que apoye su utilización. El objetivo de esta tesis es evaluar el efecto ergogénico de una suplementación diaria de 500 mg de Panax Ginseng durante 2 semanas en corredores de fondo.

Los resultados obtenidos muestran una disminución significativa de los lípidos totales y triglicéridos plasmáticos; el consumo de O₂ y la producción de CO₂ durante la actividad física y el estrés oxidativo proteico; así como un aumento en la respuesta anti-inflamatoria. No obstante, a pesar de estos cambios, no se observaron efectos a corto plazo en el rendimiento deportivo.

Se concluye que esta intervención es un tratamiento seguro y ejerce un efecto en la homeostasis de los lípidos, así como un efecto ahorrador de energía y una disminución en la percepción de fatiga durante la actividad deportiva moderada.

Resum

El Panax Ginseng és àmpliament utilitzat per esportistes com una ajuda ergogènica, però no hi ha evidència científica que doni suport a la seva utilització. L'objectiu d'aquesta tesi és avaluar l'efecte ergogènic d'una suplementació diària de 500 mg de Panax Ginseng durant 2 setmanes en corredors de fons.

Els resultats obtinguts mostren una disminució significativa dels lípids totals i triglicèrids plasmàtics; el consum d'O₂ i la producció de CO₂ durant l'activitat física i l'estrès oxidatiu proteic; així com un augment en la resposta antiinflamatòria. No obstant això, malgrat aquests canvis, no es van observar efectes a curt termini en el rendiment esportiu.

Es conclou que aquesta intervenció és un tractament segur i exerceix un efecte en l'homeòstasi dels lípids, així com un efecte estalviador d'energia i una disminució en la percepció de fatiga durant l'activitat esportiva moderada.

Tabla de contenidos.

1. Introducción.	3
1.1. <i>Deporte y rendimiento deportivo.</i>	3
1.2. <i>Suplementos y ayudas ergogénicas.</i>	4
1.3. <i>Sustancias ergogénicas usadas en el deporte.</i>	7
2. Objetivos generales.	11
3. Efecto de la suplementación con extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático en humanos. Revisión sistemática y meta-análisis de ensayos clínicos aleatorizados.	15
3.1. Introducción.	15
3.1.1. <i>Panax Ginseng.</i>	15
3.1.2. <i>Ginsenósidos.</i>	18
3.1.3. <i>Efectos del PG en estudios celulares in vitro y en animales.</i>	20
3.1.4. <i>Efectos del PG en humanos.</i>	21
3.2. Objetivos.	27
3.2.1. <i>Objetivos generales.</i>	27
3.2.2. <i>Objetivos específicos.</i>	27
3.3. Metodología.	29
3.3.1. <i>Selección de motores de búsqueda, palabras clave y filtros.</i>	29
3.3.2. <i>Artículos duplicados y descartados.</i>	35
3.3.3. <i>Fuentes de información y criterios de elegibilidad.</i>	36
3.3.4. <i>Tipos de estudios y tipos de participantes.</i>	36
3.3.5. <i>Tipos de intervención.</i>	36
3.3.6. <i>Tipos de medidas de resultados.</i>	37
3.3.7. <i>Selección de los estudios.</i>	37
3.3.8. <i>Recolección de datos.</i>	37
3.3.9. <i>Métodos de análisis</i>	38
3.4. Resultados.	39
3.5. Discusión y conclusiones.	45
4. Extracto seco del Panax Ginseng, caracterización, posología y efectos adversos.	51
4.1. Introducción.	51
4.1.1. <i>Estandarización del Panax Ginseng.</i>	51
4.1.2. <i>Biodisponibilidad de componentes bioactivos del PG.</i>	54
4.1.3. <i>Dosis y frecuencia de administración.</i>	55
4.1.4. <i>Ingesta del PG, seguridad y efectos adversos.</i>	57
4.2. Objetivos.	61
4.2.1. <i>Objetivos generales.</i>	61
4.2.2. <i>Objetivos específicos.</i>	61
4.3. Metodología.	63
4.3.1. <i>Participantes en el estudio.</i>	64
4.3.2. <i>Tamaño de la muestra.</i>	64
4.3.3. <i>Variable independiente.</i>	65
4.3.4. <i>Variables relacionadas con la presencia de ginsenósidos en muestras y extracto.</i>	65
4.3.5. <i>Variables relacionadas con la adherencia y efectos adversos.</i>	68

4.3.6.	<i>Variables relacionadas con el estilo de vida y entrenos.</i>	70
4.3.7.	<i>Variables de control.</i>	70
4.3.8.	<i>Previsión del análisis de datos.</i>	70
4.3.9.	<i>Aspectos éticos y legales.</i>	71
4.4.	Resultados.	73
4.4.1.	<i>Presencia de ginsenósidos en el extracto seco y muestras de sangre y orina.</i>	73
4.4.2.	<i>Estilo de vida, adherencia y efectos adversos.</i>	75
4.4.3.	<i>Parámetros cardiovasculares.</i>	76
4.5.	Discusión.	77
4.6.	Conclusiones.	81
5.	Efecto de la suplementación con extracto seco de <i>Panax Ginseng</i> en el perfil lipídico plasmático basal y post ingesta de grasas en hombres deportistas.	85
5.1.	Introducción.	85
5.1.1.	<i>La nutrición como componente esencial en el rendimiento deportivo.</i>	85
5.1.2.	<i>Absorción de nutrientes: lípidos y glucosa.</i>	86
5.1.3.	<i>Utilización de la energía a nivel de musculo esquelético.</i>	87
5.1.4.	<i>Utilización de la energía a nivel del tejido adiposo.</i>	88
5.1.5.	<i>Efecto del PG en el metabolismo lipídico.</i>	89
5.2.	Objetivos.	93
5.2.1.	<i>Objetivos generales.</i>	93
5.2.2.	<i>Objetivos específicos.</i>	93
5.3.	Metodología.	95
5.3.1.	<i>Participantes en el estudio.</i>	96
5.3.2.	<i>Tamaño de la muestra.</i>	97
5.3.3.	<i>Variable independiente y aleatorización.</i>	97
5.3.4.	<i>Variables relacionadas con el metabolismo lipídico.</i>	98
5.3.5.	<i>Variables relacionadas con el metabolismo energético.</i>	100
5.3.6.	<i>Variables de control.</i>	103
5.3.7.	<i>Variables relacionadas con el estilo de vida, adherencia al suplemento y entrenos y efectos adversos.</i>	104
5.3.8.	<i>Previsión del análisis de datos.</i>	104
5.3.9.	<i>Aspectos éticos y legales.</i>	104
5.4.	Resultados.	105
5.4.1.	<i>Metabolismo lipídico.</i>	105
5.4.2.	<i>Metabolismo energético.</i>	106
5.5.	Discusión.	109
5.6.	Conclusiones.	113
6.	PG como ayuda ergogénica 1. Evaluación en variables de rendimiento deportivo en cinta rodante.	117
6.1.	Introducción.	117
6.1.1.	<i>Cambios metabólicos durante la práctica deportiva.</i>	117
6.1.2.	<i>Cambios fisiológicos durante la práctica deportiva.</i>	118
6.1.3.	<i>Capacidad aeróbica máxima (VO₂max), umbral aeróbico y anaeróbico.</i>	120
6.1.4.	<i>Coeficiente respiratorio (RER) oxidación de grasas y carbohidratos.</i>	121
6.1.5.	<i>PG y deporte.</i>	124
6.2.	Objetivos.	127
6.2.1.	<i>Objetivos generales.</i>	127

6.2.2.	Objetivos específicos.	127
6.3.	Metodología.	129
6.3.1.	Participantes en el estudio.	132
6.3.2.	Tamaño de la muestra.	133
6.3.3.	Variable independiente y aleatorización.	133
6.3.4.	Variables relacionadas con el metabolismo lipídico.	134
6.3.5.	Variables relacionadas con el metabolismo antes, durante y después de la realización de la actividad deportiva.	137
6.3.6.	Variables relacionadas con la inflamación.	139
6.3.7.	Variables relacionadas con la fatiga.	141
6.3.8.	Variables de control.	143
6.3.9.	Variables relacionadas con el estilo de vida y entrenos.	144
6.3.10.	Variables relacionadas con la adherencia y efectos adversos.	145
6.3.11.	Técnicas de enmascaramiento.	145
6.3.12.	Previsión del análisis de datos	145
6.3.13.	Aspectos éticos y legales.	146
6.4.	Resultados	147
6.4.1.	Parámetros de control.	147
6.4.2.	Metabolismo lipídico.	149
6.4.3.	Metabolismo basal.	150
6.4.4.	Metabolismo durante la práctica deportiva.	150
6.4.5.	Metabolismo en la recuperación	152
6.4.6.	Parámetros de inflamación.	153
6.4.7.	Fatiga.	153
6.4.8.	Parámetros cardiovasculares.	155
6.5.	Discusión.	157
6.6.	Conclusiones.	161
7.	PG como ayuda ergogénica 2. Evaluación en variables de rendimiento deportivo en pruebas de campo y su efecto en el estrés oxidativo.	165
7.1.	Introducción.	165
7.1.1.	Competición y evolución de las carreras populares.	165
7.1.2.	Estrés oxidativo en el deporte y la relación con la salud.	168
7.1.3.	Estrés oxidativo y PG.	170
7.2.	Objetivos.	175
7.2.1.	Objetivos generales.	175
7.2.2.	Objetivos específicos.	175
7.3.	Metodología	177
7.3.1.	Participantes en el estudio	180
7.3.2.	Tamaño de la muestra	180
7.3.3.	Variable independiente y aleatorización.	181
7.3.4.	Variables relacionadas con el metabolismo lipídico.	182
7.3.5.	Variables relacionadas con el rendimiento deportivo y la fatiga.	182
7.3.6.	Variables relacionadas con la inflamación.	182
7.3.7.	Variables relacionadas con el estrés oxidativo proteico.	183
7.3.8.	Variables relacionadas con los experimentos celulares.	185
7.3.9.	Variables de control.	187
7.3.10.	Variables relacionadas con el estilo de vida y entrenos.	187
7.3.11.	Variables relacionadas con la adherencia y efectos adversos.	188
7.3.12.	Técnicas de enmascaramiento	188
7.3.13.	Previsión del análisis de datos	188
7.3.14.	Aspectos éticos y legales.	189

7.4. Resultados	191
7.4.1. <i>Parámetros de control.</i>	191
7.4.2. <i>Parámetros de rendimiento deportivo y de fatiga.</i>	192
7.4.3. <i>Metabolismo lipídico.</i>	192
7.4.4. <i>Parámetros de inflamación.</i>	193
7.4.5. <i>Estrés oxidativo proteico.</i>	195
7.4.6. <i>Respiración celular, experimentos ex vivo.</i>	196
7.5. Discusión.	199
7.6. Conclusiones.	203
8. Discusión general.	207
9. Conclusiones generales.	213
10. Bibliografía	217
11. Anexos	243

Índice de tablas.

Tabla 1: Ayudas ergogénicas con alta evidencia científica en el deporte.	8
Tabla 2: Nutrientes y preparados recomendados en la práctica deportiva para evitar algunas deficiencias.	8
Tabla 3: Especies del ginseng.	16
Tabla 4: Estudios con evidencias del efecto del PG en el metabolismo de la glucemia.	23
Tabla 5: Nº de artículos encontrados en estudios preliminares del efecto en la salud del PG en humanos.	24
Tabla 6: Resumen del efecto del PG en metabolismo lipídico.	42
Tabla 7: Transformación de algunos ginsenósidos por la flora intestinal.	55
Tabla 8: Posología y frecuencia del uso del extracto seco del PG en humanos.	56
Tabla 9: Dosis y tiempos de tratamiento del PG utilizados en los estudios que valoran el efecto Del extracto en el perfil lipídico plasmático.	57
Tabla 10: Extracción de fase sólida de Ginsenósidos en plasma y orina.	66
Tabla 11: Condiciones y ajustes MS/MS.	67
Tabla 12: Respuestas del cuestionario en relación al estilo de vida.	75
Tabla 13: Respuestas cuestionario en relación a la adherencia al entreno y a la suplementación.	75
Tabla 14: Respuestas del cuestionario en relación a los efectos adversos y a la sensación percibida durante la ingesta del suplemento.	76
Tabla 15: Cambios en la presión arterial y en las pulsaciones.	76
Tabla 16: Descripción de la cena previa a las intervenciones.	95
Tabla 17: Determinación cuantitativa de lípidos totales.	98
Tabla 18: Determinación cuantitativa de colesterol total.	99
Tabla 19: Determinación cuantitativa de Triglicéridos.	100
Tabla 20: Determinación cuantitativa de ácidos grasos libres.	101
Tabla 21: Determinación cuantitativa de Lactato.	102
Tabla 22: Determinación cuantitativa de la glucemia.	103
Tabla 23: Determinación cuantitativa del ácido úrico.	103
Tabla 24: Cambios en los parámetros del perfil lipídico plasmático durante un <i>fat challenge</i> pre / post intervención.	106
Tabla 25: Cambios en los parámetros del metabolismo energético durante un <i>fat challenge</i> pre / post intervención.	107
Tabla 26: Equivalentes térmicos de oxígeno para el cociente respiratorio no proteico, incluido el porcentaje de kcal y gramos derivados de carbohidratos y grasas	123
Tabla 27: Efecto del PG en el rendimiento deportivo en personas saludables por medio de estudios aleatorizados doble ciego.	125
Tabla 28: Separación de lípidos y proteínas para GC/MS.	136
Tabla 29: Esterificación de lípidos.	137
Tabla 30: Procedimiento para detección de interleucinas kit Milliplex®	140
Tabla 31: Parámetros de control antes y después de dos semanas de intervención.	148
Tabla 32: Condición fisiológica de los participantes del estudio.	148
Tabla 33: Perfil lipídico plasmático pre / post intervención.	149
Tabla 34: Descripción tipología de ácido grasos.	150
Tabla 35: Parámetros obtenidos del metabolismo basal antes y después de la intervención.	151
Tabla 36: Parámetros obtenidos durante 20 minutos en cinta rodante.	151
Tabla 37: Parámetros obtenidos de la recuperación 3 minutos después del test antes y después de la intervención.	152
Tabla 38: Interleucinas pre / post intervención.	153
Tabla 39: Percepción del esfuerzo pre / post intervención.	154
Tabla 40: Lactato capilar pre / post intervención.	154
Tabla 41: Test de concentración pre / post intervención.	154
Tabla 42: Parámetros cardiovasculares pre / post intervención.	155
Tabla 43: Participantes y tiempos de carrera de 2 carreras populares.	168

Tabla 44: Porcentaje de cambio en biomarcadores de estrés oxidativo después de la suplementación con PG. Estudios con cambios significativos. _____	171
Tabla 45: Efecto del PG en el estrés oxidativo en humanos. _____	173
Tabla 46: Esquema de la intervención. Evaluación de la eficacia del PG en el aumento del rendimiento deportivo de tipo aeróbico, ensayo clínico aleatorizado. _____	179
Tabla 47: Biomarcadores de daño oxidativo _____	183
Tabla 48: Precipitación y reducción de las proteínas. _____	184
Tabla 49: Precipitación de proteínas reducidas, hidrolisis a aminoácidos y esterificación. _____	184
Tabla 50: Medios y sueros utilizados para el cultivo celular. _____	185
Tabla 51: Medios, sueros y drogas utilizadas para la respiración celular. _____	187
Tabla 52: Parámetros de control antes y después de dos semanas de intervención. _____	192
Tabla 53: Parámetros de rendimiento y de fatiga en pruebas en campo. _____	192
Tabla 54: Perfil lipídico plasmático pre / post intervención. _____	193
Tabla 55: Descripción tipología de ácido grasos pre / post intervención. _____	194
Tabla 56: Interleucinas pre / post intervención. _____	195
Tabla 57: Daño oxidativo proteico pre / post intervención. _____	196

Índice de figuras.

Figura 1: Componentes de la actividad física y el deporte.	4
Figura 2: Distribución de las ventas de \$30 billones en EEUU en el 2011 de suplementos.	6
Figura 3: Preferencias del mercado de sustancias botánicas en España.	7
Figura 4: Imágenes de la planta, raíz y del extracto seco del PG.	16
Figura 5: Evolución de la evidencia científica del Ginseng.	17
Figura 6: Distribución de la evidencia científica del PG por áreas de estudio.	18
Figura 7: Ciclo de vida del Ginseng y acumulación de los ginsenósidos en la planta.	19
Figura 8: Estructuras de diferentes tipos de ginsenósidos y su clasificación basada en la unión de sus glucósidos.	20
Figura 9: Estrategia para la búsqueda bibliográfica. Efectos en el perfil lipídico plasmático del extracto seco del PG en humanos.	25
Figura 10: Distribución de las columnas en Excel para eliminar duplicados.	36
Figura 11: Diagrama de flujo de los artículos incluidos y excluidos de la búsqueda.	41
Figura 12: Diagrama <i>Forest plot</i> del efecto del PG en el perfil lipídico.	44
Figura 13: Ginsenósidos en el Extracto del PG G115 (HPLC)	53
Figura 14: Esquema experimento: Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos de la suplementación con PG.	63
Figura 15: Visualización de los tiempos de retención de los 4 ginsenósidos en el UPLC–MS/MS	68
Figura 16: Diagrama de flujo del estudio caracterización y posología del extracto seco del PG.	73
Figura 17: Ratio ginsenósido / estándar interno del extracto seco de PG	73
Figura 18: Ginsenósidos en plasma post ingesta	74
Figura 19: Ginsenósidos en orina post ingesta	74
Figura 20: Absorción de glucosa y grasas a nivel intestinal.	87
Figura 21: Metabolismo glucídico en el musculo esquelético.	88
Figura 22: Interacciones entre sustratos energéticos entre hígado, musculo esquelético y tejido adiposo.	89
Figura 23: Esquema de la intervención. Efecto del Panax Ginseng en el metabolismo lipídico y energético.	96
Figura 24: Diagrama de flujo del estudio efecto del Panax Ginseng en el metabolismo lipídico y energético.	105
Figura 25: Preparación y ejecución de una prueba de esfuerzo en cinta rodante.	120
Figura 26: Resultado de una prueba de esfuerzo en cinta rodante, relación entre la frecuencia cardíaca, la producción de CO ₂ , el consumo de O ₂ y los umbrales ventilatorios.	122
Figura 27: Resultado de una prueba de esfuerzo en cinta rodante, relación entre el volumen ventilatorio, la producción de CO ₂ , el consumo de O ₂ y los umbrales ventilatorios.	122
Figura 28: Esquema de la prueba de esfuerzo máxima con valoración de gases.	130
Figura 29: Esquema de la prueba de con protocolo modificado.	131
Figura 30: Esquema de la intervención. Evaluación de la eficacia del PG en el rendimiento deportivo, la fatiga, la recuperación y parámetros metabólicos, ensayo clínico aleatorizado.	132
Figura 31: Escala de Borg.	142
Figura 32: Diagrama de flujo del estudio PG como ayuda ergogénica I.	147
Figura 33: Diferencia pre / post del grupo intervención frente al grupo control	152
Figura 34: A: Utilización de la energía en relación a la intensidad. B: Utilización de la energía en relación al tiempo	166
Figura 35: Modelo estructural reducido de los componentes de la condición física del deportista	167
Figura 36: Recorrido oficial Pujada a la Seu Vella de Lleida.	178
Figura 37: Recorrido oficial carrera Sant Silvestre de Lleida	178
Figura 38: Diagrama de flujo del estudio PG como ayuda ergogénica 2.	191

Figura 39: Cambios en la respiración basal de células L6 suplementadas con plasma de los deportistas en el grupo control y en el grupo intervención.	197
Figura 40: Cambios en la respiración máxima de células L6 suplementadas con plasma de los deportistas en el grupo control y en el grupo intervención.	197

Índice de anexos.

Anexo 1: Check List del artículo “Efficacy of Panax ginseng supplementation on blood lipid profile. A meta-analysis and systematic review of clinical randomised trials.”	243
Anexo 2: Efficacy of Panax ginseng supplementation on blood lipid profile. A metaanalysis and systematic review of clinical randomized trials.	244
Anexo 3: Hoja de información al paciente. Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos que puedan aparecer con la suplementación de Panax Ginseng.	253
Anexo 4: Consentimiento informado. Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos que puedan aparecer con la suplementación de Panax Ginseng.	259
Anexo 5: Certificado de análisis Digoxina.	261
Anexo 6: Certificado de Análisis y ficha de seguridad del extracto seco del Panax Ginseng.	262
Anexo 7: Hoja de información al paciente. Efecto de la suplementación con extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático.	264
Anexo 8: Consentimiento informado. Efecto de la suplementación con extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático.	271
Anexo 9: Cuestionario propio, seguimiento del estilo de vida, adherencia y seguridad del estudio.	273
Anexo 10: Libreta de datos personales.	274
Anexo 11: Hoja de datos primarios, criterios de inclusión y exclusión.	275
Anexo 12: Aceptación Comité ético.	276
Anexo 13: Hoja de información al paciente. Evaluación de la eficacia del PG en el rendimiento deportivo, la fatiga, la recuperación y parámetros metabólicos, ensayo clínico aleatorizado.	277
Anexo 14: Consentimiento informado. Evaluación de la eficacia del PG en el rendimiento deportivo, la fatiga, la recuperación y parámetros metabólicos, ensayo clínico aleatorizado.	283
Anexo 15: Certificado de análisis de la Celulosa microcristalina.	285
Anexo 16: Ficha de seguridad de la Celulosa microcristalina.	286
Anexo 17: Plantilla de diario dietético.	289
Anexo 18: Diario de entrenamientos.	290
Anexo 19: Hoja de información al paciente: Efecto del Panax Ginseng en el rendimiento deportivo, la fatiga, inflamación y daño oxidativo proteico en carreras de competición.	291
Anexo 20: consentimiento informado: Efecto del Panax Ginseng en el rendimiento deportivo, la fatiga, inflamación y daño oxidativo proteico en carreras de competición.	296

Abreviaciones.

AASA	Aminoadipic-semialdehid
ACL	Ácidos grasos de cadena media
AI	Índice anti-inflamatorio
AID	Número identificador de los artículos
ATP	Adenosín Trifosfato.
AU	Ácido úrico
CEL	Carboxyethyl-lysine
CH	Carbohidratos
CMC	Carboxymethyl-cysteine
CML	N-ε-(Carboximetil)lisina
CML	Carboxymethyl-lysine
CT	Colesterol total
DBI	Índice de doble enlace
DER	Derivatizado
DOI	Digital Object Identifier
FAMEs	Esteres metílicos de ácidos graso
FC	Frecuencia cardíaca
FFA	Ácidos grasos libres
GC	Cromatografía de gases
GLU	Glucosa
GO	Glioxal
GSA	Glutamic semi-aldehid
HDL-C	Colesterol HDL
HPLC	High performance liquid chromatography
IL-1	Interleucina 1
IL-10	Interleucina 10
IL-1ra	Interleucina antagonista del receptor de IL-1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IS	Estándar interno
Kcal	Kilocalorías
LAC	Lactato
LDL-C	Colesterol LDL
LIP	Lípidos
MDA	Malondialdehido
MDAL	Malondialdehyde-lysine
MeSH	Medical Subjects Headings
MUFA	Ácidos grasos mono-saturados
NEFAs	Ácidos grasos no esterificados
PA	Presión arterial
PAD	Presión arterial diastólica

PAS	Presión arterial sistólica
PE	Prueba de esfuerzo
PG	Panax Ginseng
PI	Índice de peroxidabilidad
PMID	Número de identificación unívoco asignado a cada registro PubMed
PPD	Grupo Protopanaxadiol
PPT	Grupo Protopanaxatriol
PT	Proteína
PUFAn-3 y PUFAn-6	Ácidos grasos poli-insaturados de series n-3 y n-6 series
RER	Respiratory exchange ratio= ratio del CO ₂ producido con el O ₂ consumido (VCO ₂ / VO ₂)
RONS	Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno
ROS	Especies reactivas de oxígeno
RT	Reactivo de trabajo
SC	2-Succinyl-cysteine
SFA	Ácidos grasos saturados
TG	Triglicéridos
TLC	Cromatografía en capa fina
TNF- α	Factor de necrosis tumoral α
UFA	Ácidos grasos insaturados
UPLC-MS	Ultra-high performance liquid chromatography mass spectrometry
VCO ₂	Volumen de dióxido de carbono producido
VO ₂	Volumen de oxígeno consumido
VO ₂ max	Capacidad aeróbica máxima
VE	Volumen ventilatorio

INTRODUCCIÓN

1. Introducción.

1.1. *Deporte y rendimiento deportivo.*

Según la Real Academia Española se entiende como deporte a toda aquella actividad física ejercida como juego o competición, cuya práctica supone entrenamiento y sujeción a normas. El deporte es el ejercicio físico llevado a cabo en un marco reglamentado y competitivo.

El ejercicio físico es la actividad física planificada, estructurada y repetitiva que tiene como objetivo la mejora o el mantenimiento de uno o más componentes de la forma física.

La actividad física difiere del deporte en el hecho que este concepto se entiende como aquel movimiento corporal producido por la musculatura esquelética con lo cual se produce un gasto energético superior al gasto calórico basal (PEFS, 2007).

Para realizar un deporte es necesario realizar sesiones de entrenamiento que mejoren las capacidades. Este proceso organizado metódicamente, donde se combinan períodos de trabajo con períodos de recuperación, con el fin de mejorar el rendimiento, varía en función del deporte realizado. La sistematización e individualización del entreno permite trabajar aspectos como el tipo de ejercicio, la duración, la frecuencia, la intensidad y la progresión de cada participante (Heyward, 2008).

El deporte puede adoptar una gran diversidad de formas, ya que es multifactorial. Los componentes que se requieren para que un deportista asuma todos los ámbitos que tienen relación con el rendimiento deportivo son variados. El rendimiento deportivo, por lo tanto, está relacionado a los logros que consiguen o que pueden conseguir los deportistas. Para incrementar el rendimiento deportivo, los atletas deben estar en condiciones de explotar sus recursos al máximo.

Cuando se asume un entrenamiento específico buscamos potenciar las diferentes capacidades deportivas y técnicas del deporte. Aunque el estado físico y la técnica son esenciales, hay otros aspectos que influyen en ésta, ya sean psicológicos, ambientales o nutricionales. El deportista en general tiene todo un equipo detrás que trabaja para optimizar todos estos aspectos, como por ejemplo; entrenadores, fisioterapeutas, médicos, nutricionistas y psicólogos. En la Figura 1 podemos observar los diferentes componentes necesarios en el ámbito deportivo.

Figura 1: Componentes de la actividad física y el deporte.

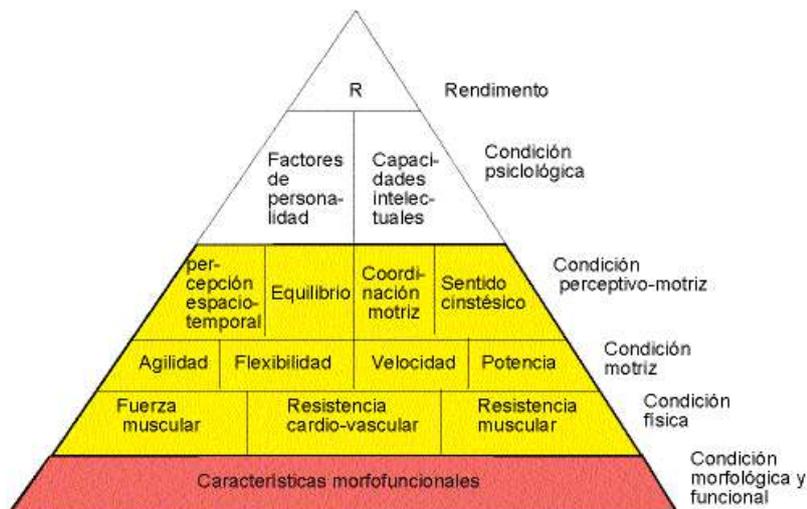


Imagen cedida por el master de la Actividad Física y del Deporte de la Universidad de Barcelona (Ruben Oviedo, 2014)

La condición física permite a un individuo realizar sus actividades diarias, realizar los entrenamientos y tener suficiente energía para actividades lúdicas. Además una condición física moderada previene ciertas enfermedades o condicionantes que se pueden deber a una vida inactiva.

Una vez el deportista asume todos los aspectos claves a nivel de entrenamiento, y su condición física y psicológica está preparada para dar un paso más allá en la búsqueda de “la mejora del rendimiento”, es momento de optimizar otros aspectos que pueden influir en cualquiera de los componentes antes mencionados. Los atletas tanto profesionales como amateurs, quieren seguir aumentando su rendimiento y sus capacidades deportivas.

1.2. Suplementos y ayudas ergogénicas.

Es bien sabido que una pauta nutricional, que ofrezca todos los nutrientes, que sea variada, equilibrada y suficiente, juega a favor de la optimización del rendimiento deportivo. En ocasiones, especialmente cuando la pauta nutricional no puede aportar todos los nutrientes se recurre a la suplementación dietética para cubrir dichas necesidades. La suplementación dietética no es más que nutrientes ofrecidos en forma de batidos, barras, geles, etc, con tal de aportar y suplementar los nutrientes necesarios para cubrir dichos requerimientos. Por este motivo, muchos deportistas se ven en la necesidad de recurrir a ayudas dietéticas para suplementar u optimizar aquello que con una dieta variada y equilibrada no pueden asumir.

Las sustancias ergogénicas es otro recurso que a menudo es utilizado en el ámbito deportivo, frecuentemente se recurren a dichas ayudas con el fin disminuir los efectos negativos producidos durante el ejercicio o simplemente con el fin de aumentar o mejorar el rendimiento.

Estos suplementos se entienden como complementos con sustancias bioactivas que son usadas en adición de la dieta, con la intención de mejorar la prestación deportiva. La idea de que puedas “tomar una pastilla” que aumente tus capacidades, es en general una idea muy atractiva.

Las ayudas ergogénicas se denominan como un conjunto de ingestas, procedimientos o agentes dirigidos a mantener y/o aumentar el nivel de prestación deportiva, minimizando las manifestaciones de la fatiga sin poner en peligro la salud del deportista ni violar el espíritu deportivo (González, 2006).

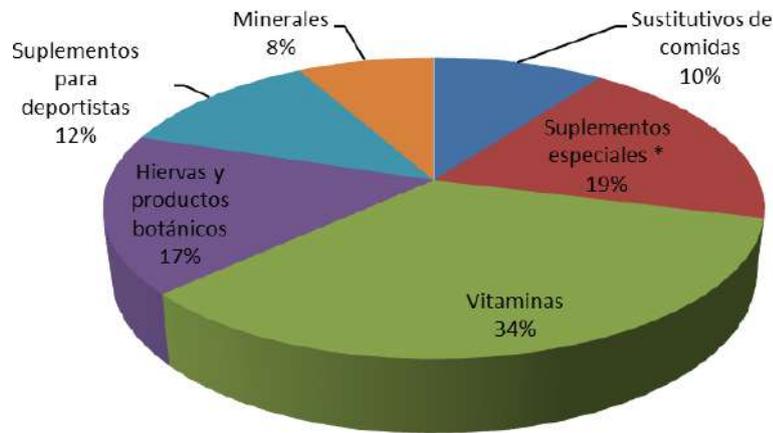
El término sustancia ergogénica, además, se entiende como cualquier práctica nutricional o método farmacológico que mejora la capacidad de rendimiento deportivo y aumente la adaptación al entrenamiento (Kreider et al., 2010) o como un producto tomado por vía oral que contiene un "ingrediente activo" para suplementar la dieta o para mejorar la marca deportiva.

La posición de la agencia mundial anti-doping (WADA, 2019) es clara frente a las buenas prácticas de nutrición y expone que la dieta es de suma importancia para los atletas que compiten en el escenario internacional. La WADA también refleja su preocupación por la cantidad de atletas que están dispuestos a tomar suplementos con poco conocimiento de los beneficios reales que proporcionan y si contienen o no sustancias prohibidas. Al final, tomar un suplemento dietético mal etiquetado no es una defensa adecuada en una audiencia de dopaje. Los atletas deben ser conscientes de los peligros de la posible contaminación de los suplementos y del efecto significativo del principio de responsabilidad estricta.

El mercado de la nutrición deportiva, tanto de suplementos dietéticos como de ayudas ergogénicas, es un mercado extraordinariamente dinámico y con algunas contradicciones. Es un mercado líder, que crece día a día debido a una mayor demanda y oferta de variedad de productos de alta calidad que se adaptan a todo el espectro de consumidores, lo necesiten o no.

De los 30 billones de dólares vendidos en el 2011 en el mercado de suplementos dietéticos para el público en general en Estados Unidos, el 17% se atribuyen a productos botánicos y 34% a vitaminas. En la Figura 2 se puede observar la distribución de las ventas de estos suplementos en Estados Unidos.

Figura 2: Distribución de las ventas de \$30 billones en EEUU en el 2011 de suplementos.



*= complejos, mezcla de nutrientes para situaciones especiales.

Gráfico adaptado del reporte anual del 2012 de la revista *Nutrition Business Journal* (Greene and Smith, 2012)

El mercado europeo de suplementos aumenta su cuota de mercado cada año, en el 2018 se estimó un crecimiento del 5% llegando a los \$24,5 billones. El 50% de los productos vendidos son vitaminas y minerales. El reporte tiene en cuenta: vitaminas, incluyendo multivitaminas (productos que contienen una combinación de vitaminas), minerales o suplementos a base de ingredientes minerales (por ejemplo, calcio, hierro), suplementos dietéticos como CoQ-10, glucosamina y condroitina, combinaciones de suplementos dirigidos; como la salud de la mujer y hierbas o productos botánicos, como la equinácea, ginseng y la hierba de San Juan (Gilbert, 2019).

Se estima que el 17 % de las ventas de suplementos se deben a sustancias botánicas, en España el uso de productos botánicos es regulado por el Real Decreto 3176/1983 en cuanto a la formulación, circulación y comercialización de especies vegetales en infusiones para uso alimentario (B.O.E. 28.12.83). Además, el Real Decreto 2242/1984 relativo a la formulación, circulación y comercialización de sustancias y especias (B.O.E. 22.12.84) y Orden SCO / 190/2004, que establece una lista negativa de plantas que están prohibidas o tienen un uso restringido debido a su toxicidad (EAS, 2007). Las preferencias de mercado en relación al uso de plantas y sustancias botánicas, donde uno de los principales consumidores son los deportistas, en España se pueden apreciar en la Figura 3.

Figura 3: Preferencias del mercado de sustancias botánicas en España.

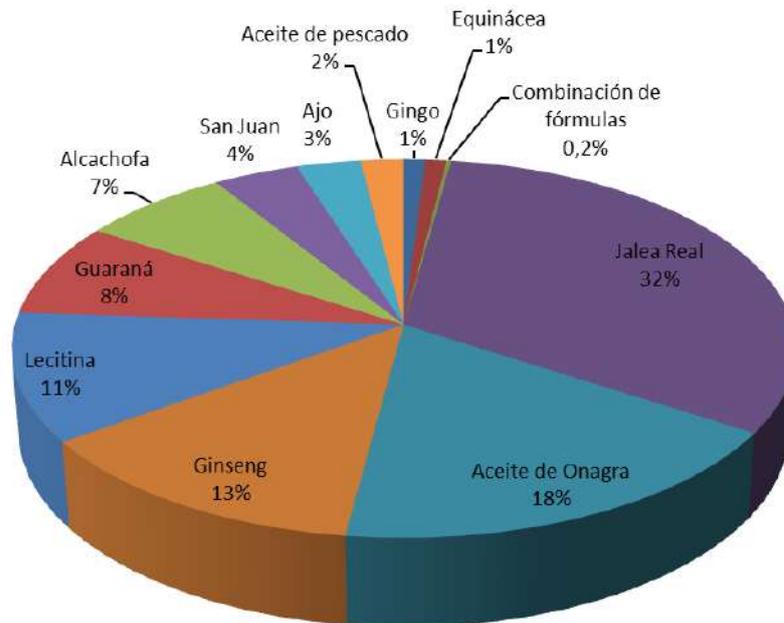


Gráfico adaptado del estudio realizado por DG SANCO, Comisión Europea (EAS, 2007).

1.3. Sustancias ergogénicas usadas en el deporte.

La comisión médica y antidopaje de la Asociación Internacional de Federaciones de Atletismo realizó una encuesta en los campeonatos internacionales de 2005 a 2007 para evaluar las razones y la prevalencia del uso de suplementos por atletas (Maughan et al., 2007). Los resultados son muy variados, en resumen, se observa que el 85% de los participantes utilizan algún tipo de suplemento, que la prevalencia del uso de estas sustancias en corredores es del 91% y que una de las razones para utilizar estos suplementos es para aumentar el rendimiento deportivo (46%). El 52% de los deportistas utilizan suplementos que ellos entienden como sustancias ergogénicas como la coenzima Q10, cafeína y ginseng aunque algunos de ellos no tengan la evidencia científica para ser catalogados como tal. Las principales fuentes de información para que los deportistas usen estos suplementos son: profesionales de la salud como doctores o nutricionistas y entrenadores.

Las sustancias ergogénicas (no nutricionales) con mayor evidencia científica son pocas, realmente la evidencia científica se reduce a unas cuantas. El hecho que el deporte sea multifactorial y que dependa de diferentes factores hace difícil el trabajo de investigación en el campo, y realizar investigaciones con todos los criterios de calidad necesarios es una tarea, en ocasiones, imposible. En la Tabla 1 se puede observar algunas ayudas ergogénicas con alta

evidencia científica en el deporte, en la Tabla 2 se observa algunos nutrientes recomendados en la práctica deportiva para evitar algunas deficiencias.

Tabla 1: Ayudas ergogénicas con alta evidencia científica en el deporte.

Sustancia ergogénica	Visión general
Cafeína	Mecanismo antagónico del receptor de adenosina; mayor liberación de endorfinas; función neuromuscular mejorada; vigilancia mejorada; reduce la percepción de esfuerzo durante el ejercicio.
Creatina	La suplementación aumenta las reservas de creatina en los músculos, lo que aumenta la tasa de resíntesis de fosfocreatina, lo que mejora la capacidad de ejercicio de alta intensidad a corto plazo y la capacidad de realizar repetidos episodios de esfuerzo de alta intensidad.
Nitratos	Mejora la biodisponibilidad del óxido nítrico desempeñando un papel importante en la modulación de la función del músculo esquelético. El nitrato aumenta el rendimiento del ejercicio a través de una función mejorada de las fibras musculares tipo II; un costo reducido de ATP en la producción de fuerza muscular; una mayor eficiencia de la respiración mitocondrial y un aumento del flujo sanguíneo al músculo producido por la vasodilatación.
Beta alanina	La beta alanina aumenta la capacidad de amortiguación intracelular y tiene efectos beneficiosos potenciales en el rendimiento sostenido del ejercicio de alta intensidad. Un precursor limitante de la velocidad al tampón intracelular (músculo) endógeno es la carnosina; la defensa inmediata contra la acumulación de protones en la musculatura que se contrae durante el ejercicio. La suplementación crónica con beta alanina aumenta el contenido de carnosina en el músculo esquelético.
Bicarbonato sódico	Actúa como un tampón extracelular (sangre), ayudando a la regulación del pH intracelular al elevar el pH extracelular y las concentraciones de HCO ₃ . Estos efectos beneficiosos mejoran el rendimiento sostenido del ejercicio de alta intensidad.

Tabla elaborada de los datos obtenidos de la Declaración de consenso del ICO: los suplementos dietéticos y el atleta de alto rendimiento (Maughan et al., 2018).

Tabla 2: Nutrientes y preparados recomendados en la práctica deportiva para evitar algunas deficiencias.

Nutriente	Visión general
Vitamina D	Muchos atletas tienen riesgo de deficiencia. La suplementación depende del tipo de piel y la exposición solar del deportista.
Hierro	Muchos atletas tienen riesgo de deficiencia. La baja biodisponibilidad, las pérdidas y las deficiencias alimentarias son la principal causa.
Calcio	Se presentan déficits en deportistas con baja ingesta de productos ricos en calcio, restricción de calorías o desórdenes alimentarios. Se recomienda una ingesta adecuada de calcio en conjunto con la Vitamina D para mantener el óptimo estado de los huesos.
Alimentos funcionales: geles, proteínas, electrolitos, barritas, etc.	Para facilitar la hidratación, mantenimiento de la energía y optimización de la recuperación. Se usan antes, durante o después de una carga deportiva.

A día de hoy, existe un consenso claro en cuanto a los siguientes puntos (Maughan et al., 2018, 2007):

- Los atletas deben asegurarse de tener una buena dieta antes de contemplar el uso de suplementos.
- El uso de suplementos no compensa las malas elecciones de alimentos. Cuando se demuestra una deficiencia de nutrientes, los suplementos pueden proporcionar una solución a corto plazo hasta que se pueda identificar e implementar una solución dietética.
- Existe buena evidencia del uso de algunos suplementos ergogénicos, pero se advierte a los atletas contra el uso de estos suplementos sin realizar primero un análisis individual y de costo-beneficio específico para el evento. Sin embargo, se reconoce cada vez más que las respuestas al uso de suplementos pueden diferir entre los individuos según el estado nutricional, el estado de la capacitación y el genotipo.
- Los suplementos que pueden beneficiar a algunos atletas en algunas circunstancias incluyen creatina, cafeína y agentes tamponadores. Siempre que el entrenamiento esté bien dirigido y ejecutado.
- El uso de suplementos requiere una evaluación y asesoramiento individual por parte de un profesional de nutrición deportiva calificado y un profesional médico, en especial, para evitar prescripciones inadecuadas que puedan producir un efecto negativo o contrario a lo esperado.
- El efecto ergolítico de un suplemento debe conocerse y respetarse por parte de los profesionales del deporte (Draeger et al., 2014). Los resultados de las investigaciones se deben tomar con precaución ya que pueden presentar errores, contradicciones y correlaciones que a modo de ver de cada autor tienen mayor o menor significado.
- Un número significativo de suplementos en el mercado contiene agentes de dopaje que no están declarados en la etiqueta pero que harán que un atleta no pase una prueba de drogas.

- Se recomienda a los atletas que busquen garantías con respecto al control de calidad de la fabricación de suplementos para garantizar la ausencia de contaminación con sustancias tóxicas.

Existen multitud de estudios referentes a la utilización de diferentes ayudas en el deporte, por ejemplo: ginseng, taurina, equinácea, glutamina, zinc, entre otros, pero faltan más estudios que afirmen dichas evidencias en deportistas y revisiones sistemáticas o meta-análisis que las resuman.

Aun así, el uso de suplementos (con o sin evidencia científica) por parte de los deportistas ha incrementado día a día, se ha establecido que el uso de dichos suplementos en deportistas es más alto que la del público en general. Dicho porcentaje va desde el 17 hasta 61% según la región (Senchina et al., 2009), además de determinar que los atletas estaban más dispuestos a tomar suplementos de plantas medicinales que los controles no atletas (Sobal and Marquart, 1994). Lo anterior, posiblemente se debe a que la publicidad dirigida a los atletas de este tipo de suplementos promete mejoras del rendimiento o la disminución de los efectos secundarios de la práctica del deporte a altas intensidades. Inevitablemente los deportistas se han visto en medio de un mundo de mitos, leyendas, dudas y verdades a medias, en la que todas las conclusiones tienen cabida, pero pocas son demostradas. Esto es un serio dilema para los deportistas, especialmente para los deportistas *amateurs*, ya que estas sustancias solo deberían ser usadas si realmente son seguras y poseen beneficios.

Por todo lo anterior, por medio de esta tesis se realizaron una serie de experimentos e investigaciones para dilucidar los efectos ergogénicos o ergolíticos de una de los complementos de fitoterapia más utilizadas por los deportistas, la raíz del Panax Ginseng.

2. *Objetivos generales.*

- Realizar una revisión bibliográfica sistemática para valorar el efecto del extracto seco del Panax Ginseng en humanos y determinar aquellos beneficios potenciales en el ámbito deportivo.
- Establecer un protocolo seguro y con potencial efecto terapéutico en una población atleta de interés para realizar una serie de experimentos que valoren el efecto ergogénico o ergolítico del Panax Ginseng.
- Valorar el efecto del Panax Ginseng en el deportista y en las capacidades deportivas por medio de una serie de experimentos controlados en espacios controlados y en campo.
- Estudiar las relaciones entre el efecto del Panax Ginseng en el metabolismo energético del deportista y en los sistemas de defensa con los resultados obtenidos en el rendimiento y la fatiga.

**EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON EXTRACTO SECO DE
PANAX GINSENG EN EL PERFIL LIPÍDICO PLASMÁTICO EN
HUMANOS.**

**REVISIÓN SISTEMÁTICA Y META-ANÁLISIS DE ENSAYOS
CLÍNICOS ALEATORIZADOS.**

3. Efecto de la suplementación con extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático en humanos. Revisión sistemática y meta-análisis de ensayos clínicos aleatorizados.

3.1. Introducción.

Cuenta la leyenda que un grupo de cazadores salió de la aldea en busca de comida, las condiciones ambientales obligaron al grupo a desviarse del camino y a estar al borde de la muerte. Las escrituras describen que el grupo de cazadores estuvieron durante varios días sin alimento hasta que encontraron una planta desconocida para ellos. La raíz de dicha planta les dio vitalidad y energía suficiente para sobrevivir, al regresar a la aldea llevaron consigo la planta milagrosa, la cual era el Panax Ginseng.

3.1.1. Panax Ginseng.

La naturopatía y la fitoterapia son metodologías utilizadas dentro de la rama de la medicina alternativa. La implantación de un tratamiento tanto a nivel curativo o coadyuvante se ha utilizado durante años en varios países alrededor del mundo. Las plantas medicinales son bastante usadas por varios colectivos de personas. Los extractos de plantas o partes de estas son los más comunes, alegando que ofrecen todos sus beneficios de manera “natural”.

El Ginseng es uno de ellos. Durante años se ha utilizado y se sigue utilizando como una planta medicinal, como complemento de la dieta o como ayuda ergogénica en diferentes partes del

mundo. En los países occidentales se utilizan con frecuencia como un potenciador del rendimiento y de la vitalidad, ya que, según la medicina tradicional china, restaura el *Qi*, es decir, da energía, vida (Bucci, 2000; Ping et al., 2011). Diferentes variedades del Ginseng son conocidas, las más utilizadas son las que se reflejan en la Tabla 3.

Tabla 3: Especies del ginseng.

Nombre	Nombre científico	Origen
Ginseng Rojo, asiático o coreano.	<i>Panax ginseng</i> C.A. Meyer.	Este de Asia.
Ginseng Japonés.	<i>Panax japonicus</i> C.A. Meyer.	India, sur de China and Japón.
Ginseng Americano.	<i>Panax quinquefolius</i> .	Estados Unidos y Canadá.
Ginseng Siberiano o Ruso.	<i>Eleutherococcus senticosus</i> .	Siberia y Rusia.
Panax Notoginseng.	<i>Panax Pseudo-ginseng</i> .	Himalaya.
Panax Vietnamensis.	<i>Panax Vietnamensis</i> .	Vietnam.

(Michael S. Bahrke and Morgan, 2000; Kitts and Hu, 2000).

El *Panax Ginseng CA Meyer* (PG), familia Araliáceas, genero *Panax*, a menudo denominado ginseng asiático o coreano, es utilizado ampliamente en comparación con otras especies (Gyllenhaal et al., 2000). La raíz de esta planta herbácea perenne se ha utilizado en la medicina oriental desde la antigüedad y se ha convertido en un extracto popular de uso mundial.

Actualmente existe una gran producción agrícola de la planta, China es el mayor productor con aproximadamente 3000 toneladas de raíces secas por año, Corea ocupa el segundo lugar con 1500 toneladas (Cutler and Cutler, 1999). El crecimiento silvestre sigue teniendo un gran interés para aquellos que buscan “la planta más antigua”. En la Figura 4 se puede observar el aspecto del cultivo de la planta, la raíz y el extracto seco.

Figura 4: Imágenes de la planta, raíz y del extracto seco del PG.



La planta crece aproximadamente unos 60 cm desde la raíz hasta las hojas, la inflorescencia florece en su tercer año de crecimiento. Se auto-poliniza y las bayas rojas contienen cada una dos semillas. Las raíces, a partir de las cuales se obtienen los extractos, alcanzan un peso de aproximadamente 60 g en su quinto año de edad y están compuestas por tres partes: raíz principal, raíz lateral y las llamadas colas delgadas.

El cultivo es muy laborioso; Las semillas se cosechan de plantas de 4 a 5 años de edad. Las semillas se estratifican durante un año para promover la germinación y luego se plantan con una densidad de alrededor de 750 semillas / m² en otoño. La germinación se produce en abril del año siguiente. Después de un año de crecimiento, las plantas se trasplantan a otro campo a una densidad más baja (aproximadamente 20 plantas / m²). Básicamente una planta forestal (natural o artificial) con sombra protege del sol excesivo a la plantación de Ginseng lo que permite una exposición máxima del 20% de la luz y una buena circulación de aire. De noviembre a abril, los campos están cubiertos de paja para proteger a las plantas de las heladas. El suelo debe estar bien drenado para que las raíces no se pudran. Las raíces se cosechan después de 4 a 5 años de crecimiento (Cutler and Cutler, 1999).

La evidencia científica aumenta año tras año alrededor de las propiedades de la planta y sus componentes activos. En el año 2018, si añadimos la palabra “Ginseng” en el motor de búsqueda Scopus, se pueden encontrar más de 800 artículos relacionados. En la Figura 5 podemos observar la trayectoria de la evidencia científica en este motor de búsqueda. En la Figura 6 se puede observar que más del 50% de las publicaciones hacen referencia a la salud.

Figura 5: Evolución de la evidencia científica del Ginseng.

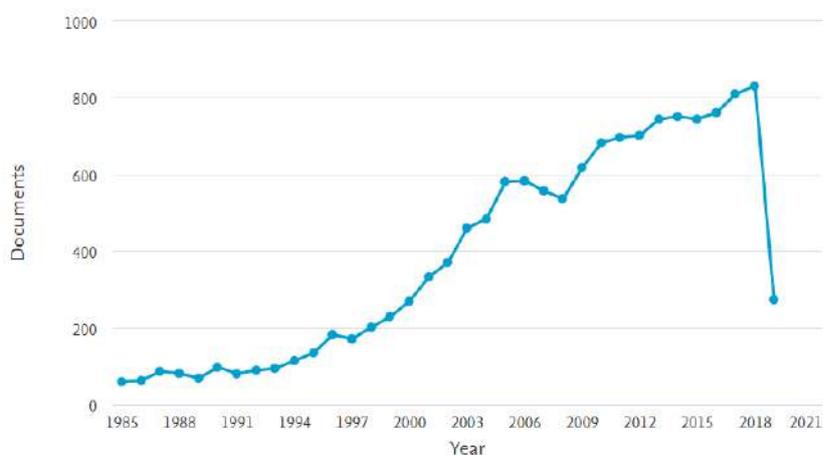


Imagen obtenida de la base de datos Scopus (Elsevier B.V., 2019).

Figura 6: Distribución de la evidencia científica del PG por áreas de estudio.

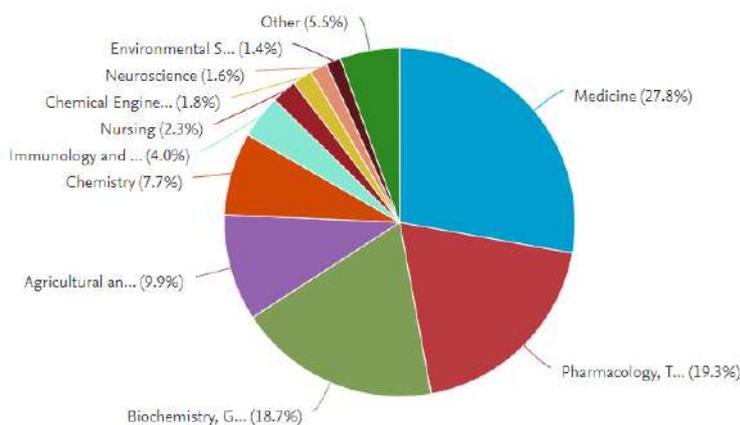


Imagen obtenida de la base de datos Scopus (Elsevier B.V., 2019).

3.1.2. Ginsenosidos.

El principal componente activo del PG son un tipo de saponina, **los ginsenosidos** (2-3% de la planta (HMPC, 2014)), éstos fueron identificados por primera vez en el año 1963 (Shibata et al., 1963). Además, contiene otros tipos de componentes en muy pocas cantidades como polisacáridos (panaxanos), fitoesteroles, colina, vitaminas del grupo B y minerales como el cobre, magnesio, aluminio o hierro (Perism et al., 1995). En la Figura 7 se visualiza la distribución de los ginsenosidos en la planta y el ciclo de vida de ésta.

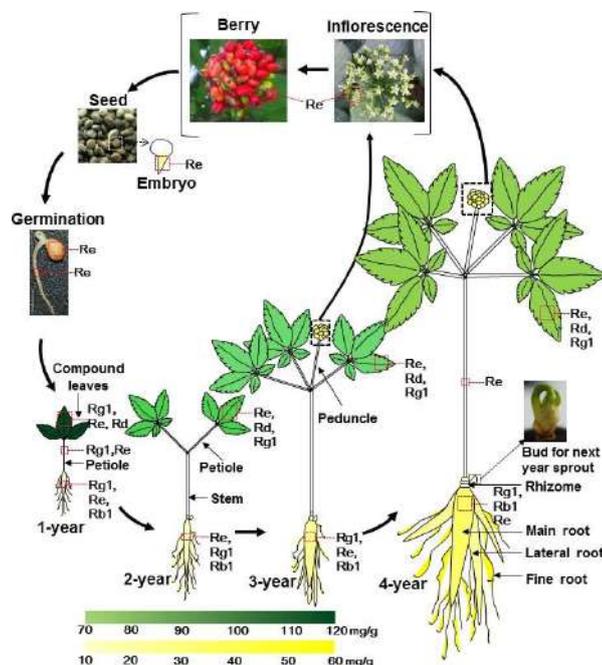
Los ginsenosidos son saponinas triterpénicas que se han agrupado en dos principales grupos; grupo Protopanaxadiol (PPD) y grupo Protopanaxatriol (PPT). La diferencia entre los PPT y los PPD es la presencia de un grupo carboxilo en la posición C-6 en los PPD (Matsuura et al., 1982). La mayoría de los ginsenosidos se componen de un esqueleto de dammarano (17 carbonos en una estructura de cuatro anillos) con varios restos de azúcar (por ejemplo, glucosa, ramnosa, xilosa y arabinosa) unidos a las posiciones C-3 y C-20 (Matsuura et al., 1982).

Los ginsenosidos son nombrados originariamente (independientemente de la especie) de la siguiente manera: Rx, donde R representa la raíz de la planta y la x representa, en orden alfabético, la polaridad cromatográfica del compuesto. El ginsenosido Ra es el menos polar de todos. Un ejemplo de algunos nombres de ginsenosidos son Ra, Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2, Rg3, Rh, Rh2 (Shibata et al., 1963).

Algunos ginsenosidos son nombrados con otro tipo de nomenclatura, especialmente porque se producen en menor cantidad y son encontrados por la transformación de algunos de ellos, por ejemplo, el ginsenosido Rb1, que representa aproximadamente el 23% del total de ginsenosidos

en la raíz, puede ser convertido en uno de los ginsenósidos con menor presencia, el F2 (Cheng et al., 2007).

Figura 7: Ciclo de vida del Ginseng y acumulación de los ginsenósidos en la planta.

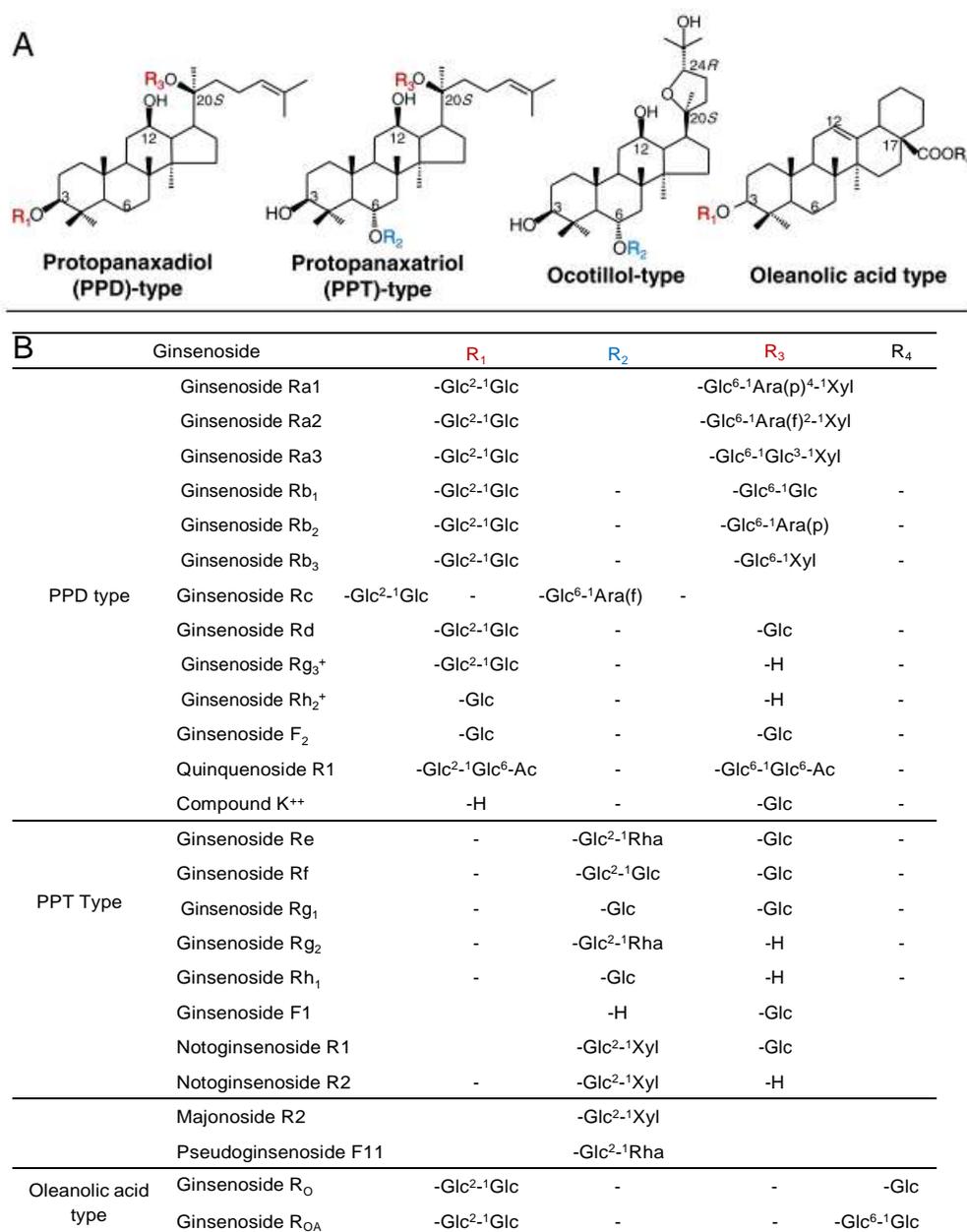


La flecha en negrita indica el ciclo de vida de las plantas de PG, desde la semilla hasta las etapas vegetativas y reproductivas con los tejidos especiales indicados mediante una flecha delgada. Los embriones se convierten en semillas de ginseng (generalmente de 4 mm de longitud) y comienzan la germinación después de la estratificación en arena humidificada durante tres meses a 5°C. Las plántulas de un año de edad tienen una hoja única, compuesta con 3 folíolos adheridos en el pecíolo, y la altura es de aproximadamente 5 a 10 cm. Las plantas de dos años producen tallos y generalmente tienen dos hojas palmadas y cada una de tres a cinco hojuelas. Posteriormente, las plantas de ginseng desarrollan más hojas adheridas en los pecíolos más largos cada año hasta el cuarto y sexto año de crecimiento, la altura de las plantas maduras es de unos 40–50 cm. La floración generalmente comienza a ocurrir en el tercer año, y las bayas comienzan a desarrollarse entre agosto y septiembre. Por lo general, las semillas se cosechan a partir del cuarto año y las raíces se cosechan entre los 4 y 6 años de edad. El recuadro rojo discontinuo con letras en negrita indica los principales ginsenósidos, y la densidad del color amarillo y verde indica la acumulación de ginsenósidos totales en los órganos durante el desarrollo de PG. Imagen y texto (Kim et al., 2015).

Se han encontrado más de 40 compuestos bioactivos en la planta. Rb1, Re, Rc y Rg1 son los más abundantes en el extracto (Michael S. Bahrke and Morgan, 2000). En la Figura 8 podemos observar la estructura y clasificación de algunos ginsenósidos.

Estos compuestos se han estudiado y se han demostrado diferentes aspectos relacionándolos con los efectos beneficiosos tales como acción antiinflamatoria, antioxidante e incluso anti-cancerígena (Cepae, 1999; Kiefer and Pantuso, 2003). Compound K y Rg1 se consideran el principal constituyente con efectos farmacológicos (Lee et al., 2009; Wang et al., 2011).

Figura 8: Estructuras de diferentes tipos de ginsenósidos y su clasificación basada en la unión de sus glucósidos.



Estructuras de diferentes tipos de ginsenósidos (A), y su clasificación basada en la unión de sus glucósidos (B). Glc, β-D-glucopiranosilo; Ara (p), α-L-glucopiranosilo; Ara (f), α-L-arabinofuranosilo; Rha, α-L-rhamnopyranosyl. Xyl, xilosa; Ac, acetyl. + Este ginsenósido es único para el ginseng rojo procesado. ++ El compuesto K, solo se identificó en tejidos humanos después de la administración oral. Imagen y texto (Kim et al., 2015).

3.1.3. Efectos del PG en estudios celulares in vitro y en animales.

La investigación en animales y a nivel celular es bastante amplia, se ha observado el comportamiento de las saponinas del Ginseng por medio de un sin fin de estudios. Liu y colaboradores (Liu et al., 2014) resumieron como las saponinas del Panax Notoginseng y algunos ginsenósidos regulan el comportamiento de las células endoteliales de varias maneras. Se sugirió

que estos compuestos reduce la deposición de la matriz extracelular, disminuye el grosor de la íntima, y promueve la regeneración endotelial de las arterias ilíacas de conejo después de una lesión endotelial (Chen et al., 2004).

Los ginsenósidos Re, Rb1 y Rg1, podrían relajar las arterias coronarias de ratones al aumentar la producción de óxido nítrico a través de la vía de fosfoinositido 3-quinasa / Akt / eNOS y el transporte de L-arginina (Furukawa et al., 2006). Además, se encontró que el ginsenósido Rb1 bloquea el deterioro inducido por la homocisteína de la función vasomotora del endotelio en las arterias coronarias porcinas a través de la mejora de la expresión de eNOS y por los procesos de anti-oxidativos (Zhou et al., 2005).

Otros efectos encontrados en células han concluido que los ginsenósidos son efectivos inhibiendo la diferenciación de los adipocitos (Wang et al., 2017), o modificando genes relacionados con el metabolismo lipídico (Song et al., 2012), describiéndolo como un buen candidato para prevenir enfermedades metabólicas relacionadas con la obesidad (Han et al., 2017).

Por otra parte, algunos estudios realizados en animales han concluido que la suplementación con PG tiene un efecto de supresión de la ingesta de alimentos en ratas, mediante mecanismos centrales, ya que los ginsenósidos estimulan la expresión de la proteína c-Fos en áreas del cerebro envueltas en la homeostasis de la energía (Wang and Zhang, 2012).

Los estudios más directamente relacionado con el deporte han observado que el PG promueve la oxidación de las grasas, aumentando los niveles de glucógeno hepático y otorgando un efecto regulador del glucógeno muscular durante el ejercicio, así como, produciendo un efecto anti-fatiga prolongando el tiempo de nado en ratas (Hwang et al., 2014; Jung et al., 2004).

3.1.4. Efectos del PG en humanos.

Las acciones principales del PG que se describen en algunos tratados de fitoterapia, son: adaptógeno, antiestresante, antioxidante, estimulante del sistema nervioso central, inmunomodulador, hipoglucemiante, estimulador de la síntesis proteica, entre otros (Perism et al., 1995; Puigianer, 1995). Además de tener evidencias en la eficacia del PG en la mejora de la función cerebral, función inmunitaria, situaciones asociadas a la glucemia y en el aumento del rendimiento deportivo, entre otros (Cepae, 1999; Forgo I, 1985; S.-H. So et al., 2018).

La modificación de parámetros del perfil lipídico plasmático en humanos es una situación que genera gran interés. Se ha observado que PG disminuye los niveles de colesterol total (CT) y colesterol LDL (LDL-C) (Bang et al., 2014; Hassanzadeh Delui et al., 2013; Kim et al., 2013; Park et al., 2012) así como otorgar un efecto anti-fatiga en relación al rendimiento mental (Hong et al., 2016; J. Y. Kim et al., 2012).

Uno de los colectivos que más consume el extracto son los deportistas, el efecto anti-fatiga de los ginsenósidos del PG se producen probablemente a través de la protección de las membranas celulares, evitando así la oxidación de los lípidos de ésta (Wang et al., 2010). Otra posible explicación podría implicar a los triglicéridos (TG) ya que la movilización de éstos durante el ejercicio se ve modificada, así como la de la glucosa. Tal efecto puede ser beneficioso durante el ejercicio prolongado, ya que una mejor utilización de los triglicéridos y de glucosa permite que el glucógeno se optimice y por lo tanto que se retrase la fatiga (Wang et al., 2010).

En este sentido, en estudios preliminares realizados por el equipo que ha realizado esta tesis, se han realizado revisiones sistemáticas para valorar el efecto en la salud del PG en humanos, en la Tabla 4 se puede apreciar diferentes estudios clínicos aleatorizados que han valorado los cambios en relación al metabolismo de la glucosa.

Por otra parte, en dichas búsquedas preliminares se han encontrado diferentes estudios donde se describe el efecto del PG en un sinfín de situaciones relacionadas con la salud. Los artículos encontrados se clasificaron de la siguiente manera: investigaciones que relacionan el efecto del PG en la diabetes y prediabetes, en el sistema cardiovascular, en los cambios hormonales, en la fatiga y cognición, en el estrés oxidativo, en el metabolismo lipídico y en diferentes situaciones aleatorias (impotencia, sueño, cáncer, entre otras). Como se puede observar en la Tabla 5 se encontró un número mayoritario de estudios que tienen en cuenta parámetros del perfil lipídico plasmático como variables principales o secundarias.

Tabla 4: Estudios con evidencias del efecto del PG en el metabolismo de la glucemia.

Autor	Tipo de estudio	Participantes	Tamaño	Intervención	Período	Glucemia Basal	Glucemia post prandial	Insulina Basal	Índice de sensibilidad a la insulina
1 (De Souza et al., 2015) Toronto, Canadá.	Aleatorizado, doble-ciego cruzado	Adultos, no diabéticos. 18–65 años	N=13 sujetos, 5 hombres y 8 mujeres	3g de PG / día (500 / caps). Diferentes extracciones alcohólicas	10 dosis únicas antes del test en diferentes ocasiones	N.S	--	N.S	Aumenta con extractos al 30 y 50%
2 (Oh et al., 2014) Jeonju, Corea.	Aleatorizado, doble-ciego	Sujetos con glucosa basal alterada (prediabetes) o diabetes tipo II 20 - 75 años	N=42 sujetos, 28 hombres y 14 mujeres	2,7g de PG / día (800mg / caps)	4 Semanas	Disminuye	Disminuye	N.S	--
3 (Kyo et al., 2014) Seúl, Corea.	Aleatorizado, doble-ciego	Postmenopausia 45 - 60 años	N= 82 sujetos	3g de PG / día (500mg/ caps)	12 Semanas	N.S	--	N.S	--
4 (Cho et al., 2013) Yansang, Corea.	Aleatorizado, doble-ciego	Sujetos sanos con sobrepeso u obesidad 42,6 años aprox	N=68 sujetos	6g de PG / día (500mg / caps)	12 Semanas	N.S	--	N.S	N.S
5 (Lee et al., 2013) Seoul, Corea.	Aleatorizado, doble-ciego	Postmenopausia 50 - 73 años	N=93 sujetos	2,1g de PG / día (700mg / caps)	2 Semanas	N.S	--	Disminuye	Aumenta
6 (Shin et al., 2011) Daegu, Corea.	Aleatorizado, doble-ciego	Sujetos con glucosa basal alterada (prediabetes 25-60 años	N= 45 sujetos (27 hombres y 18 mujeres)	20 g día (antes de la extracción)	8 Semanas	Disminuye	--	--	--
7 (Ma et al., 2008) Hong Kong.	Aleatorizado, doble-ciego, cruzado	Sujetos con diabetes II 51.5 +/- 1.9 años	N=20 sujetos	1,107g / día (369mg/cap)	4 Semanas. 2 Semanas de lavado.	Disminuye	--	N.S	Aumenta

Tabla propia; PG: Panax Ginseng; N.S: sin cambios estadísticamente significativos.

Tabla 5: N° de artículos encontrados en estudios preliminares del efecto en la salud del PG en humanos.

Situación estudiada por el efecto del PG en humanos	N° de artículos encontrados
Diabetes y prediabetes	14
Sistema cardiovascular	12
Cambios hormonales	4
Fatiga y cognición	8
Estrés oxidativo	12
Metabolismo lipídico	18
Otros	21

Con respecto al metabolismo de los lípidos, un perfil plasmático adecuado no sólo es un punto clave para controlar los factores de riesgo cardiovascular y sus patologías relacionadas, sino también en relación con el bienestar general. Algunos estudios han demostrado que la PG puede reducir el nivel de lípidos plasmáticos por inhibición de la lipasa pancreática (de la Garza et al., 2011; H. J. Kim et al., 2011) o promoviendo el metabolismo de las grasas durante el ejercicio (Hwang et al., 2014; Song et al., 2012). Pero una de las hipótesis con mayor evidencia es que los ginsenósidos suprimen la proliferación de los receptores α activados del peroxisoma, de esta manera, se inhibe la expresión de sus genes diana, un mecanismo molecular por el cual el PG puede modular las alteraciones en los perfiles de lípidos en suero (Yoon et al., 2003).

Como podemos observar, actualmente la investigación en el campo de la fitoterapia es inmensa y sigue creciendo día a día, aun así, no se ha resuelto la naturaleza inequívoca de pruebas de investigación en seres humanos. Además, la falta de unanimidad en estas investigaciones se puede explicar sobre la base de diversos problemas metodológicos tales como tamaño de muestra inadecuado, y la falta de investigaciones de calidad de doble ciego, de control y de placebo.

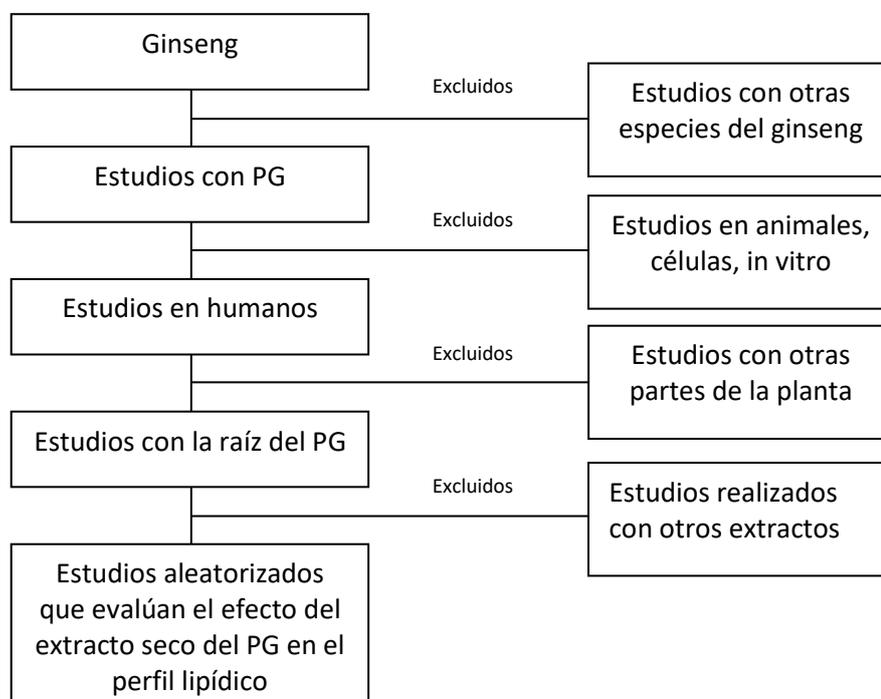
Sin embargo, el uso del PG sigue creciendo, y las ventas se estiman en más de \$ US300 millones al año (M S Bahrke and Morgan, 2000). La industria dietética, farmacéutica y de plantas medicinales ofrece todo tipo de extractos de esta planta. Podemos encontrar extractos de las hojas, semillas, frutos, tallos o raíces. Estas partes de las plantas las podemos encontrar en diferentes formas farmacéuticas; extracto seco, extracto glicólico e incluso la planta entera o en extractos de algunos ginsenósidos.

PG fue el tercer extracto botánico más utilizado en 6 países europeos (García-Alvarez et al., 2014) y no es casualidad que una multitud de investigadores hayan centrado sus investigaciones

en los efectos de PG en el metabolismo de los lípidos. Sin embargo, hasta la fecha, aunque existe información suficiente sobre el posible mecanismo de acción de PG en el metabolismo de los lípidos en modelos *in vitro* y animales, los resultados observados en varios ensayos clínicos aleatorios son heterogéneos.

En este apartado describiremos las etapas de la realización de una revisión bibliográfica sistemática y un meta-análisis. Para ello, se ha centrado la investigación en los estudios aleatorizados que han evaluado el efecto en el perfil lipídico plasmático del extracto seco del PG en humanos. El hecho de ubicar nuestro foco de atención en el perfil lipídico plasmático de humanos es porque en dichos estudios preliminares se observó un número importante de artículos de calidad como para realizar un meta-análisis y sintetizar las propiedades de la planta en esta situación. Por último, en la raíz de la planta es donde se ubican la mayor concentración de las sustancias bioactivas y el extracto seco es el más ampliamente usado, gracias a su transporte, conservación etc. En la Figura 9 se puede observar la estrategia de búsqueda bibliográfica para este estudio.

Figura 9: Estrategia para la búsqueda bibliográfica. Efectos en el perfil lipídico plasmático del extracto seco del PG en humanos.



3.2. Objetivos.

3.2.1. Objetivos generales.

- Realizar una revisión bibliográfica sistemática y un meta-análisis valorando el efecto del extracto seco del PG en el perfil lipídico plasmático.

3.2.2. Objetivos específicos.

- Evidenciar los efectos del PG en la homeostasis de lípidos sanguíneos.
- Determinar las dosis efectivas empleadas y los tiempos de tratamientos de la situación fisiológica en cuestión.
- Resumir las condiciones de uso adecuadas de la ingesta del extracto seco del PG.

3.3. Metodología.

La búsqueda bibliográfica de las evidencias científicas disponibles es un paso complejo, que debe tener en cuenta varios aspectos para ser lo más sistemático posible y así evitar perderse con la infinidad de artículos encontrados. Como dice Gisbert y colaboradores (Gisbert et al., 2014) un médico que intente mantenerse al día sólo en su especialidad debería leer, teóricamente, más de 100 artículos completos cada semana, o más de 500 el día de vuelta de sus vacaciones de verano. A continuación se describen los aspectos necesarios para realizar dicha búsqueda.

3.3.1. Selección de motores de búsqueda, palabras clave y filtros.

Una vez los objetivos y los criterios de inclusión y exclusión están claramente definidos para las búsquedas, como primer paso, se recomienda seleccionar los motores de búsqueda y las palabras claves a usar. En esta investigación, se han seleccionado 5 bases de datos que más se ajustaban al tema estudiado. Éstas son: PubMed (Medline), Scopus, Cinahl Plus, Cochrane Library (Embase) y Clinical Trials.

Para realizar las búsquedas en cada base de datos, se ha seleccionado la palabra clave “ginseng” con el fin de usar el mismo término en todos los rastreos. Se ha preferido usar pocos términos para intentar cubrir todos los artículos disponibles. La palabra clave no se ha combinado con ningún otro criterio adicional, pero se ha usado algunos filtros para aplicar criterios de exclusión directos.

De las bases de datos escogidas, se debe seleccionar una de ellas para crear la primera lista de búsqueda con las palabras claves. Esta base de datos debe cubrir una buena cantidad de artículos, ya que la primera lista ayuda a comparar las búsquedas en las otras bases de datos y lograr descartar los artículos duplicados ya revisados en dicho buscador. A continuación se explica los pasos seguidos en cada uno de los buscadores:

3.3.1.1. PubMed (Medline).

Es uno de los motores de búsqueda más importantes y conocidos de Medline, con acceso libre a las bases de datos de bibliografía médica más amplia que existe, producida por la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (Medline). PubMed comprende más de 29 millones de citas de literatura biomédica, revistas de ciencias de la vida y libros en línea, disponible de manera libre y sin suscripción en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. Esta investigación ha escogido PubMed como motor de búsqueda primario.

Entre las muchas herramientas de este motor de búsqueda, para una revisión sistemática, es imprescindible usar varias de ellas, la herramienta MeSH es una de las más importantes (ver *Cuadro 1*). En este caso, al añadir la palabra Ginseng en el buscador del MeSH, pide que se escoja a qué tipo de Ginseng se refiere, hay 12 términos que buscaría en toda la base de datos. Teniendo en cuenta los criterios de inclusión definidos, se escoge el término Panax que hace referencia al tipo de Ginseng que se ha propuesto para esta investigación.

Es importante recordar que si la búsqueda se realiza con esta herramienta se pueden omitir artículos que no estén bien clasificados en el motor de búsqueda, es importante asegurarse que la búsqueda directa en PubMed (sin usar el MeSH) da un número asequible de artículos a manejar. La combinación hasta el momento sería: (“panax”[MeSH Terms] OR “panax”[All Fields] OR “ginseng”[All Fields]). La combinación final se puede encontrar en el cajón *search details* del buscador.

Por otra parte, los filtros que se pueden usar son variados, desde el tipo de artículo, texto libre, los años de publicación o la especie estudiada. Como los filtros pueden tener ciertos errores o descartar algunos artículos interesantes, se ha utilizado lo menos posible esta herramienta.

El filtro más común es el que separa los artículos por el tipo de intervención (*clinical trials*, revisiones, estudios observacionales, meta-análisis, entre otros). Como los criterios de inclusión son estudios aleatorizados, se ha usado el filtro *clinical trial*, quedando la búsqueda con este nuevo filtro de la siguiente manera: (“panax”[MeSH Terms] OR “panax”[All Fields] OR

Cuadro 1: Herramientas útiles en PubMed.

- Tener a mano el manual de ayuda de PubMed Help, para encontrar todos aquellos recursos que desconocemos, ubicado en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK3830/>.
- Darse de alta en la cuenta de “my NCBI”, esto nos ayuda a gestionar una bibliografía, a guardar búsquedas o a activar filtros frecuentes entre otras ayudas. Puedes acceder a este apartado directamente en PubMed → Register.
- Usar el Tesouro que ofrece esta base de datos, es una herramienta de tipo diccionario controlado de términos, con el cual puedes distinguir el término que realmente quieres buscar. Este Tesouro en el PubMed se denomina MeSH (Medical Subjects Headings) y lo puedes encontrar en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> → More resources → MeSH Database. Puedes añadir cualquier otro termino que quieras combinar con la palabra escogida con cualquier operador booleano (AND, OR, NOT).

“ginseng”[All Fields]) AND Clinical Trial[ptyp].

Por último, se ha añadido el filtro límite de tiempo de publicación. Se han buscado todos los estudios aleatorizados con la palabra ginseng desde el año 1995. La accesibilidad de los artículos previos a esta fecha es difícil. La búsqueda final quedó de la siguiente manera: (“panax”[MeSH Terms] OR “panax”[All Fields] OR “ginseng”[All Fields]) AND (Clinical Trial[ptyp] AND (“1995/01/01”[PDAT] : “2019/01/02”[PDAT]))

Una vez se ha aplicado dicha búsqueda se obtiene la lista de artículos a revisar para la sistematización. El resultado se ha enviado y guardado en *My Bibliography* de *MY NCBI*, para poder acceder a ella en cualquier momento. Este proceso se debe hacer cada vez que se realice una búsqueda.

Otra parte importante después de obtener la lista de artículos a revisar, es identificar cada estudio numéricamente. La idea es que estos números estén disponibles para realizar la comparación con otros motores de búsqueda, donde también se ha identificado los artículos. Lo anterior permite encontrar fácilmente aquellos estudios duplicados.

Para realizarlo, desde PubMed y desde la lista primaria, se exportaron los números DOI y numero PMID de todos los artículos (*Ver Cuadro 2*). La exportación se realizó a un correo electrónico (los *summary (text)*), en formato texto, de todos ellos para posteriormente separar los números identificativos. Estos números los trasladamos en un libro de Excel separándolos por columnas.

Una vez se han identificado todos los artículos, es momento de leer detalladamente los títulos y/o resúmenes de todos los estudios encontrados, descartando aquellos que en esta lectura rápida no cumplen con los criterios de inclusión. Posteriormente los artículos restantes se leen

Cuadro 2: Números identificativos de artículos.

Desde cualquier motor de búsqueda puedes exportar los números identificativos de cada artículo, algunos más importantes son:

- AID: Número identificador de los artículos que puede incluir el CPI (*controlled publisher identifier*) o el DOI (Digital Object Identifier).
- PMID: Número de identificación unívoco asignado a cada registro PubMed.
- UI: Número unívoco asignado a cada registro Medline.

Cualquiera de estos identificadores pueden ayudar a localizar el artículo. Es importante saber que cada motor de búsqueda tendrá alguno de ellos.

completamente para aplicar nuevamente dichos criterios.

En esta primera fase, de cada búsqueda se debe obtener:

- Lista con los números identificativos de cada artículo de la lista primaria.
- Lista de todos los artículos excluidos y el motivo de exclusión por la lectura del título y/o el resumen.
- Lista con los artículos excluidos y el motivo de exclusión por la lectura del artículo completo.
- Lista con los artículos incluidos de este motor de búsqueda.

3.3.1.2. Scopus.

Es una base de datos disponible *on-line* de referencias bibliográficas, propiedad de la empresa Elsevier y que contiene 18.000 revistas publicadas por más de 5000 editores internacionales. Ya que es una base de datos disponible para suscriptores, más de 3500 organizaciones académicas y gubernamentales y corporaciones con más de 150 órganos de financiación y evaluación, utilizan Scopus. La base de datos disponible en <https://www.scopus.com/>, posee una gran variedad de herramientas que facilitan la búsqueda (*ver Cuadro 3*).

Una vez se han realizado las búsquedas en el motor primario, se procedió a realizar la búsqueda en este motor de búsqueda. Las búsquedas en Scopus suelen generar más referencias que en PubMed, ya que no sólo incluye revistas en el ámbito de la medicina sino también de las ciencias

Cuadro 3: Herramientas útiles en Scopus.

- Tener a mano la guía de usuario Scopus para encontrar todos aquellos recursos que desconocemos, disponible en: <https://service.elsevier.com/app/home/supporthub/scopus/>.
- Además de estar conectado por medio de la organización suscriptora, se recomienda darse de alta en la cuenta de *my Scopus* ya que permite gestionar la bibliografía y a guardar búsquedas y listas.
- Scopus no posee ningún Tesouro, con lo que las búsquedas son más amplias. Además, posee herramientas útiles respecto a los autores, estadísticas de las búsquedas y criterios de calidad.
- Para refinar resultados, es posible incluir o excluir algunos de éstos por medio de las palabras claves del autor o del programa, este filtro puede omitir artículos interesantes, ya que por ejemplo, si se quiere incluir todos aquellos artículos con la palabra clave "Humanos", es posible que un estudio realizado en humanos nos haya añadido esta palabra clave en su lista y lo descarte.

sociales, artes y humanidades. Por ejemplo, en el 2019, una búsqueda en PubMed con la palabra “ginseng” generó aproximadamente 9000 publicaciones, en cambio la misma búsqueda en Scopus generó más de 14.000 publicaciones.

El refinamiento de la búsqueda en Scopus es un poco más compleja que en PubMed, los filtros disponibles no son lo suficientemente excluyentes como para permitir visualizar un resultado más específico. Además, al no poseer un Tesauro si se utiliza la palabra “ginseng” no hace distinción de la especie a la que se quiere referir y el número de artículos es superior.

Por este motivo, en este motor de búsqueda se han combinado palabras para reducir el número de resultados, se ha añadido la palabra “*panax*” para hacer referencia a la especie de la planta, y “*human*” para hacer referencia al sujeto estudiado, y algunas palabras que hacen referencia a la situación fisiológica. Los demás filtros son iguales a todas las búsquedas.

El resultado de la búsqueda ha sido la siguiente: [(TITLE-ABS-KEY (ginseng) AND TITLE-ABS-KEY (panax) AND TITLE-ABS-KEY (human)) AND DOCTYPE (ar) AND PUBYEAR>1994]. “lipid AND ginseng”, “Cholesterol AND ginseng”, “LDL-cholesterol AND ginseng”, “HDL-cholesterol AND ginseng”, “Triglycerides AND ginseng”, “Lipid metabolism AND ginseng”, “Fatty acid AND ginseng”.

Al tener este resultado se genera una lista asequible de manejar. Se guarda la lista en *my Scopus* y se repite el proceso de generar una lista con los números de identificación de artículo. Para realizarlo, se ha exportado la lista con los números DOI y PMID directamente a un Excel.

3.3.1.3. Cinahl plus.

CINAHL Plus proporciona índices de más de 4.500 publicaciones sobre enfermería y áreas de la salud afines, que datan de 1937. CINAHL Plus también contiene referencias citadas con posibilidad de búsqueda para más de 1.340 publicaciones. Los materiales de texto completo incluyen aproximadamente 80 publicaciones, además de casos legales, innovaciones clínicas, caminos críticos, registros de medicamentos, instrumentos de investigación y ensayos clínicos (EBSCOhost, 2019).

Esta base de datos ofrece, en comparación con los otros motores de búsqueda, menos publicaciones ya que es muy específica para temas sanitarios. Las búsquedas son bastante fáciles y proporcionan resultados que podemos exportar para proceder a la lectura y comparación con las otras búsquedas. Además, permite excluir registros de Medline (ya que se han buscado en PubMed) con lo que reduce aún más el número total de publicaciones.

Las búsquedas finales fueron: [Booleano/Frase: “ginseng”; Limitadores: Fecha de publicación: 1995/01/01-2019/02/31; Excluir: registros Medline; Tipo de publicación: Clinical Trial].

Una vez obtenida la lista completa, se han exportado igualmente los números identificativos a la plantilla Excel. Además se ha guardado la lista para acceder a ella en cualquier momento y aplicar los criterios de inclusión a aquellos artículos no duplicados.

3.3.1.4. Cochrane library (Embase).

La Colaboración Cochrane es una organización internacional, independiente y sin ánimo de lucro, establecida en el Reino Unido. Su principal objetivo es asegurar que exista información sobre los efectos de las intervenciones sanitarias realizadas de forma rigurosa y periódicamente actualizada, y que se encuentre fácilmente disponible para todo el mundo.

Para ello, por medio de la Librería Cochrane, produce y divulga revisiones sistemáticas de intervenciones sanitarias y promueve la búsqueda de evidencias en forma de ensayos clínicos y otros estudios confiables que estudian los efectos de las intervenciones (Martín Rodero, 2014). Las bases de datos que mayormente usa para la búsqueda de ensayos clínicos son Medline y Embase. La idea de realizar búsquedas en esta base de datos es para encontrar publicaciones de la base de datos Embase.

La búsqueda final ha sido la siguiente: [ginseng in Title Abstract Keyword; with Publication Year from 1995 to 2019; in Trials], además se excluyeron los artículos de Medline, se guardó y exportó la lista final y se incluyó en el libro Excel para posteriormente valorar artículos duplicados.

3.3.1.5. Clinical trials.

El sitio web ClinicalTrials.gov está desarrollado por los institutos *National Institutes Health* a través de la *National Library of Medicine* junto con la colaboración de la *Food and Drug Administration*. Ofrece información actualizada, de manera regular, sobre estudios clínicos de un amplio rango de enfermedades y situaciones clínicas. Contiene actualmente más de 90.780 estudios de 172 países. En su base de datos se pueden encontrar tanto estudios experimentales (ensayos clínicos y estudios de intervención) como estudios observacionales. Entre estos registros se pueden encontrar ensayos clínicos en curso, en diferentes fases y estudios terminados (Alcázar and Casal Acción, 2010).

Los estudios incluidos en Clinical Trials son suministrados por los propios productores a través de un sistema de registro. Pueden hacerlo instituciones, organismos gubernamentales e

internacionales, e investigadores principales de los ensayos clínicos. Los artículos de la base de datos pueden estar o no publicados en revistas.

La búsqueda final ha sido: [ginseng | Studies With Results | Interventional Studies | First posted from 01/01/1995 to 01/03/2019].

Hay que recordar que esta base no ofrece los números de registro (ya que algunos no están publicados) como en las otras bases de datos, los artículos disponibles se deben revisar visualmente para encontrar los estudios duplicados.

3.3.2. Artículos duplicados y descartados.

Una vez se han realizado todas las búsquedas, es momento de eliminar los artículos duplicados. Existen varias maneras de realizar esta tarea, una de las más factibles es la que proporciona las plataformas de referencias bibliográficas, por ejemplo Mendeley o RefWorks entre otros.

En este caso se ha usado un método propio utilizando plantillas de Excel. El primer paso que se debe realizar es el explicado anteriormente, los estudios encontrados en cada búsqueda se han guardado en cada base de datos y posteriormente exportado los números identificativos a una plantilla Excel.

Una vez se descartaron los artículos del motor de búsqueda primario (PubMed), ya sea por la lectura del título o del resumen o por la lectura del artículo completo, y seleccionado los artículos incluidos, se puede usar la lista con los números DOI y PMID de esta base de datos para eliminar los duplicados de las demás búsquedas.

El funcionamiento de este método consiste en añadir las listas, con los números identificativos, generadas por las búsquedas de cada base de datos junto a la lista primaria. De esta manera, utilizando la función de resaltar valores duplicados de Excel se obtienen aquellos artículos de cada búsqueda duplicados.

Para realizarlo, se ha añadido la lista de Scopus junto a la de PubMed. Los valores no resaltados como duplicados se han leído y se han aplicado los criterios de inclusión. Posteriormente se han añadido una a una las listas de los demás motores de búsqueda hasta comparar todos los estudios.

Para registrar todos los pasos realizados y tener un esquema de la magnitud de las búsquedas, es importante registrar los artículos excluidos por las herramientas o filtros que algunos motores

de búsqueda poseen, por ejemplo aquellos que permiten excluir o incluir solo artículos de Medline o Embase. Una visión general de la distribución de las columnas en Excel se puede visualizar en la Figura 10.

Figura 10: Distribución de las columnas en Excel para eliminar duplicados.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1		PubMed		Scopus		Cinahl plus		Cochrane library (embase)	
2									
3		PMID	DOI	PMID	DOI	PMID	DOI	PMID	DOI
4	1	28732813	10.1016/j.jep.2016.03.066	27603149	10.1089/ac	27754709	10.1089/ac	27045064	10.1016/j.jep.2016.03.066
5	2	27912940	10.1016/j.jep.2016.03.066	27638952	10.1186/s12874-016-0247-9	27605633	10.1002/bm	26938637	10.1371/journal.pone.0160000
6	3	27653891	10.1007/s12266-016-0247-9	27333960	10.1016/j.jep.2016.03.066	27603149	10.1089/ac	26980800	10.1016/j.cstm.2016.03.001
7	4	27754709	10.1089/ac	27299401	10.1007/s12266-016-0247-9	27638952	10.1186/s12874-016-0247-9	26845120	10.1038/hrt.2016.03.001
8	5	27606833	10.1002/bm	27240168	10.1016/j.jep.2016.03.066	27333060	10.1016/j.jep.2016.03.066	26830981	10.4103/0366-6922.11655-016-2475-9
9	6	27603149	10.1089/ac	27045064	10.1016/j.jep.2016.03.066	27299461	10.1007/s12266-016-0247-9	26762282	10.1186/s12906-016-0247-9
10	7	27638952	10.1186/s12874-016-0247-9	26938637	10.1371/journal.pone.0160000	27240168	10.1016/j.jep.2016.03.066	26525022	
11	8	27333960	10.1016/j.jep.2016.03.066	26860900	10.1016/j.jep.2016.03.066	27045064	10.1016/j.jep.2016.03.066		
12	9	27299401	10.1007/s12266-016-0247-9						

3.3.3. Fuentes de información y criterios de elegibilidad.

Esta revisión ha sido redactada conforme las guías de *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses guidelines (PRISMA)* (Moher et al., 2009). Como se ha comentado anteriormente, todos los ensayos han sido buscados en cinco bases de datos electrónicas, Pubmed (Medline), Scopus, Cinahl Plus, biblioteca Cochrane (Embase) y Clinical Trial. Se han aplicado diferentes filtros basados en dos requerimientos primarios: 1) debe ser un ensayo clínico, 2) publicado entre 1995 y 2018. El día 25 de Marzo de 2019 se realizó la última búsqueda. El *Check list* para la elaboración de artículos de revisión se incluye en el Anexo 1.

3.3.4. Tipos de estudios y tipos de participantes.

Se incluyeron todos los ensayos clínicos aleatorizados que evaluaron el efecto de la suplementación con PG sobre el perfil lipídico plasmático en humanos. Todos los estudios incluidos han sido escritos en inglés. Se han incluido participantes de cualquier edad sin restricciones fisiológicas.

3.3.5. Tipos de intervención.

Se han incluido ensayos clínicos aleatorizados controlados que evaluaban cualquiera de los posibles efectos de la suplementación con PG sobre el metabolismo lipídico (alteraciones en

parámetros plasmáticos). No se han incluido restricciones en las dosis de PG. Esta revisión no incluye estudios observacionales ni descriptivos.

3.3.6. Tipos de medidas de resultados.

Se han incluido intervenciones que evaluaron el efecto de la suplementación con PG en los niveles de colesterol total (CT), colesterol LDL (LDL-C), colesterol HDL (HDL-C), triglicéridos (TG) y ácidos grasos libres (FFA).

3.3.7. Selección de los estudios.

Los estudios buscados (después de aplicar las palabras clave y los filtros) se resumieron en una lista de Excel, como se ha comentado anteriormente, esta lista incluía el número PMID y el número DOI para facilitar la eliminación de cualquier duplicación. Dos autores se leyeron los títulos y los resúmenes de los estudios filtrados, y se determinaron los estudios que se tendrían que incluir en la revisión. Después de la primera exclusión, todos los investigadores leyeron los estudios restantes, los cuales aplicaron los criterios de inclusión. Finalmente, la elección de los estudios incluidos se realizó por parte de todos los autores, y cualquier desacuerdo se resolvió por consenso.

3.3.8. Recolección de datos.

Un autor recogió los datos en una hoja de Excel, después, todos los autores lo compararon con lo que habían recogido ellos. Los desacuerdos se resolvieron por consenso. Para obtener la información necesaria para este estudio, se buscaron las siguientes variables en cada uno de los artículos incluidos: 1) características de los participantes: sexo y edad en el momento de la intervención; 2) tipo de intervención y duración: paralelos o cruzados; 3) condición fisiológica; 4) tipo de extracto de PG (extracto glicólico, extracto seco y crudo) y el procedimiento de administración. La información referente a la edad de la raíz del PG no se contabilizó, ya que no aparecía en la mayoría de los estudios que han sido incluidos en la revisión; 5) dosis y cuantificación de los ginsenósidos: se incluyó cualquier dosis en la revisión. La cuantificación de los ginsenósidos fue registrada como ginsenósidos totales o como la cantidad de cada ginsenósido; 6) resultados: se han incluido todos los resultados relacionados con el metabolismo lipídico en muestras sanguíneas, incluso aquellos en que estas variables fueron definidas como variables secundarias. Posteriormente, todos los estudios seleccionados fueron sometidos a un análisis de calidad siguiendo las recomendaciones de Mullane y colaboradores (Mullane et al., 2015) para estudios relacionados con la farmacología bioquímica.

3.3.9. Métodos de análisis

El meta-análisis se ha realizado con el software *Cochrane Review Manager 5.3.3* (Copenhagen: *The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014*). En cada estudio se calculó, mediante sustracciones para cada parámetro lipídico sanguíneo, las diferencias en las medias al empezar y al finalizar. La desviación estándar de la diferencia se calculó mediante la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados del error estándar de las medias. Se normalizaron todos los datos por la dosis utilizada. De esta forma, los resultados de cada estudio se expresaron como el cambio de cada parámetro lipídico sanguíneo en mg/dL por g de suplementación de PG. Se incluyó el riesgo de sesgo en cada meta-análisis realizado. La heterogeneidad entre los estudios se evaluó calculando el estadístico I^2 . Se consideró como heterogeneidad obvia entre estudios una estadística I^2 superior al 50%. Se usó el modelo de efectos aleatorios cuando la heterogeneidad entre estudios era obvia, mientras que se usó el modelo de efectos fijos en el caso de estudios homogéneos.

3.4. Resultados.

Mediante la búsqueda en las bases de datos se identificaron un total de 33.065 archivos; 27.044 entradas en PubMed, 3.248 de Scopus, 1.979 de Cinahl Plus, 714 de la biblioteca Cochrane y 80 de ensayos clínicos. Una vez se descartaron los estudios duplicados y se aplicaron los filtros, quedó una selección de 990 estudios. De estos, 867 fueron eliminados leyendo el título o el resumen por las siguientes razones: estudios en animales o células: 310; uso de suplementación de ginsenósidos purificados: 289; otras especies de Ginseng: 191; diversas plantas: 30; publicación en otro idioma diferente: 45; falta de análisis estadístico: 2.

De los 123 estudios restantes, 105 fueron descartados porque no cumplían los criterios de inclusión. Detalladamente, los estudios descartados incluían efectos del PG en la glicemia (n=18), enfermedades cardiovasculares (sin análisis de los lípidos plasmáticos) (n=10), concentración mental (n=13), estrés oxidativo (n=6), desordenes hormonales (n=8), deporte (n=9) y otros problemas de salud (n=41). Ninguno de estos estudios fue apropiado por la ausencia de resultados relacionados con las variables de estudio que incluye esta revisión. Finalmente, se incluyó un total de 18 ensayos clínicos aleatorizados que presentaban resultados relacionados con el perfil lipídico plasmático (Figura 11).

En la Tabla 6 se presentan los resúmenes de los 18 ensayos clínicos seleccionados que evaluaban la relación entre el consumo de PG con el metabolismo lipídico. En relación a las características de los estudios, 14 fueron paralelos con doble ciego, 2 paralelos con un ciego y 2 cruzados con doble ciego. En conjunto, 1.045 participantes, todos mayores de 18 años, se involucraron en estos 18 estudios.

Los principales criterios de inclusión de los estudios fueron: sujetos saludables (Kang et al., 2013; J. Y. Kim et al., 2012) mujeres postmenopausicas (S. Y. Kim et al., 2012; K J Lee and Ji, 2014; Kwang Jo Lee and Ji, 2014), sujetos con diabetes y prediabetes (Bang et al., 2014; Shin et al., 2011), sujetos con hipertension esencial (Rhee et al., 2011), hombres con síndrome metabólico (Jung et al., 2016; Park et al., 2012), pacientes con desordenes hiperlipidémicos (EL-Farok et al., 2013; Hassanzadeh Delui et al., 2013), pacientes con enfermedad hepática no alcohólica (Hong et al., 2016), mujeres obesas (Kwon et al., 2012), hombres con enfermedades de arterias coronarias (Chung et al., 2010), hombres atletas (Ping et al., 2011), individuos expuestos a altos niveles de estrés (Baek et al., 2018a) y sujetos con disfunción eréctil (de Andrade et al., 2007a).

Todos los ensayos clínicos incluidos en la revisión se sometieron a un análisis de calidad siguiendo las Guías para estudios de farmacología bioquímica (Mullane et al., 2015). Una de las principales preocupaciones que surgió de este análisis fue la falta de información descrita en todos los estudios sobre la justificación de la selección de concentraciones, dosis, vía de administración y frecuencia; y la evaluación de un efecto dosis-respuesta de la administración de PG.

Con respecto a lo anterior, el período de suplementación oscilaba entre 2 y 12 semanas con dosis entre 200mg/día a 20g/día. Pocos estudios utilizaron dosis inferiores a 1.5g/día (4 estudios), mientras que en la mayoría de ellos oscilaba entre 1.5g/día y 6 g/día (14 estudios). Solo un estudio usó una dosis elevada, 20g/día durante un período de 8 semanas de suplementación, sin embargo, en este caso se administró la planta entera, con una dosis de saponinas estimada de 458mg/día. En cuanto a la caracterización del extracto suplementado, todos los estudios utilizaron extracto seco de PG, 8 estudios no analizaron la cantidad de ginsenósidos suplementados, mientras que 10 estudios presentaron sus resultados como ginsenoides totales. Ginsenósidos específicos como Rb1 y Rg1 fueron los ginsenoides principales descritos en los suplementos. Las dosis correspondientes se encontraban entre 0.05 a 12.9mg/día para el Rb1 y 0.13 a 6.5mg/día para el Rg1.

Pocos estudios presentaron efectos significativos en la mejora del perfil lipídico sanguíneo. Brevemente, 5 estudios observaron un descenso en los niveles de TC (EL-Farok et al., 2013; Hong et al., 2016; S. Y. Kim et al., 2012; K J Lee and Ji, 2014; Shin et al., 2011), de los cuales 4 de ellos mostraban también una reducción significativa de los niveles de LDL-C (EL-Farok et al., 2013; S. Y. Kim et al., 2012; K J Lee and Ji, 2014; Shin et al., 2011) y solo uno también una reducción de los niveles de HDL-C (S. Y. Kim et al., 2012). Se observaron resultados contradictorios en cuanto los niveles sanguíneos de TG; mientras dos estudios (Baek et al., 2018a; Rhee et al., 2011) observaron un aumento de alrededor a 30mg/dL, otro estudio presentó una reducción de 9mg/dL en los TG sanguíneos después de la suplementación con PG (S. Y. Kim et al., 2012).

Con el fin de determinar objetivamente los efectos globales de la suplementación con PG en los perfiles lipídicos, se realizó un meta-análisis con estudios que incluían como criterio de inclusión al menos un componente de síndrome metabólico (hipertensión, hiperlipidemia, elevados niveles de glucemia, etc.). Un total de 10 estudios se incluyeron en el análisis, de los cuales 9 estudios presentaban niveles de TC (462 voluntarios en total), 7 de HDL-C (356 voluntarios en total), 6 de TG (262 voluntarios en total) y 4 de LDL-C (200 voluntarios en total). Se observó una alta heterogeneidad en todos los análisis realizados con el modelo de efecto fijo (I^2 de 100, 90,

97, and 97% para TC, LDL-C, HDL-C y TG respectivamente). En consecuencia, se utilizó para todos los análisis el modelo de efectos aleatorios. Comparado con la suplementación con placebo, la media disminuía entre un 2.30 y 1.47mg/dL en TC y LDL-C por gramo de PG suplementado. En el caso del HDL-C y TG no se observaron diferencias significativas entre la suplementación con PG o placebo (Figura 12).

Figura 11: Diagrama de flujo de los artículos incluidos y excluidos de la búsqueda.

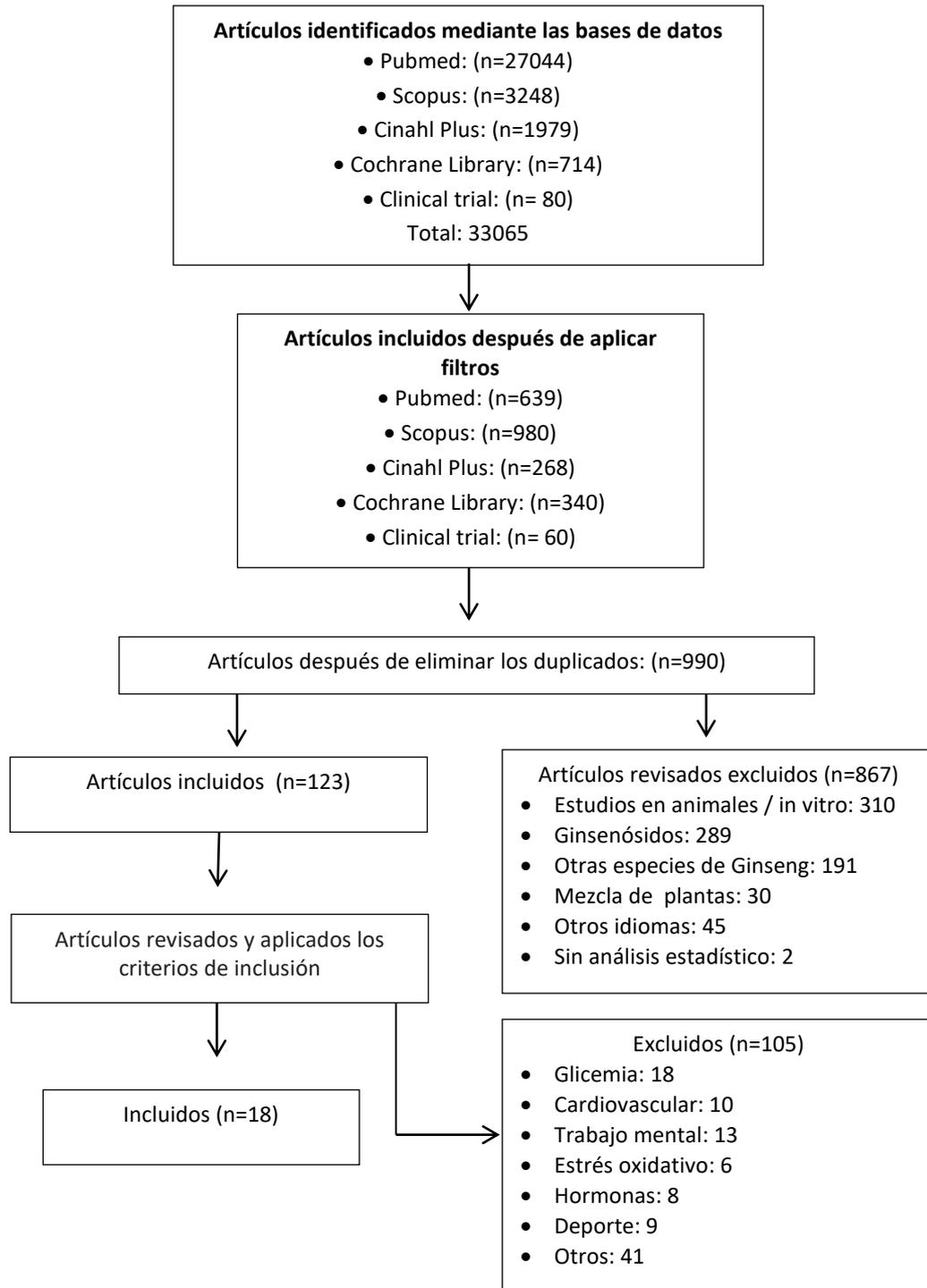


Tabla 6: Resumen del efecto del PG en metabolismo lipídico.

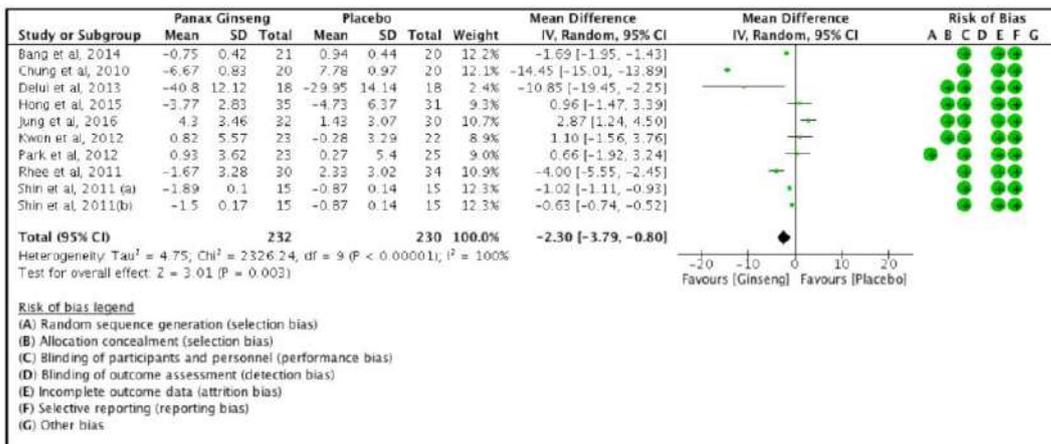
Auto	Tipo de estudio	Características de los voluntarios	Tamaño del estudio	Intervención	Duración	Concentración de Ginsenosidos (mg/g)	TC mg/dL	LDL-C mg/dL	HDL-C mg/dL	FFA	TG
Personas saludables											
(J. Y. Kim et al., 2012)	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos saludables 20 - 65 años	N=57 sujetos (23 hombres y 34 mujeres) 3 grupos	3g PG/día (300mg/cáp) o 6g PG/día (600mg/cáp)	8 semanas	Ginsenosidos totales: 16.58	N.S	N.S	N.S	--	N.S
(Kang et al., 2013)	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos saludables 30-50 años	N=40 sujetos (17 hombres y 23 mujeres) 2 grupos	1.5g PG/día (500mg / cáp)	8 semanas	--	N.S	N.S	N.S	--	N.S
Postmenopausia											
(K J Lee y Ji, 2014)	Aleatorizado doble-ciego	Postmenopausia 50 - 73 años	N=117 sujetos 2 grupos	2,11g PG/día (235mg / cáp)	2 semanas	Rb1: 0.023	-8.2*a	-8.6**a	--	--	--
(S. Y. Kim et al., 2012)	Aleatorizado doble-ciego	Postmenopausia 45-60 años	N=72 sujetos 2 grupos	3g PG/día (500mg / cáp)	12 semanas	--	-19.48**a -29.29**b	-11.22**a -18.1**b	N.S a -3.79*b	--	-8.7*a -9.47*b
(Kwang Jo Lee and Ji, 2014)	Aleatorizado doble-ciego	Postmenopausia 50 -73 años	N=93 sujetos 2 grupos	2.1g PG/día --	2 semanas	Rb1: 0.023	--	--	--	N.S	--
Síndrome Metabólico											
(Shin et al., 2011)	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos con glucemia alterada en ayunas (prediabetes) 25-60 años	N=45 sujetos (27 hombres y 18 mujeres) 3 grupos	20g PG/día (antes del extracto)	8 semanas	Saponinas totales 22.90	-23**a -37.7**b	-19.3**a -27**b	N.S	--	--
(Bang et al., 2014)	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos con glucemia alterada en ayunas, o nuevo diagnóstico de diabetes tipo 2. 20-70 años	N=41 sujetos 2 grupos	5g PG/día (500mg / cáp)	12 semanas	Ginsenosidos totales: 16.58	N.S	N.S	N.S	--	N.S
(Rhee et al., 2011)]	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos con hipertensión esencial 35-70 años	N=80 sujetos (34 hombres y 46 mujeres) 2 grupos	3g PG/día --	12 semanas	--	N.S	N.S	N.S	--	N.A a +33**b

(Jung et al., 2016)	Aleatorizado doble-ciego	Hombres con síndrome metabólico 35-70 años	N=62 sujetos 2 grupos	3g PG/día (500mg / cáp)	4 semanas	Rg1: 0.028 Rb1: 0.516	N.S	--	N.S	--	N.S
(Park et al., 2012)	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos con síndrome metabólico > 20 años	N=60 sujetos 2 grupos	4.5g PG/día --	12 semanas	Rg1: 0.028 Rb1: 0.516	N.S	N.S	N.S	--	N.S
(Hassanzadeh Delui et al., 2013)	Aleatorizado doble-ciego	Pacientes con hiperlipidemia edad >20 años	N=36 sujetos 2 grupos	500mg PG/día (250/cáp)	8 semanas	Ginsenósidos totales: 28	N.S	N.S	N.S	--	N.S
(EL-Farok et al., 2013)	Aleatorizado ciego	Pacientes con hipercolesterolemia 40 - 60 años	N=60 sujetos 3 grupos	200mg PG/día (100mg/cáp) 1200 mg Acido lipoico (600mg/cáp)	4 y 8 semanas	--	-29.68**a	-28.8**a	N.S	--	N.S
(Hong et al., 2016)	Aleatorizado ciego	Pacientes con hígado graso no dependiente de alcohol > 20 años	N=80 sujetos 2 grupos	3g PG/día --	3 semanas	Rg1 + Rb1 6.0	N.A a -18.1**b	--	--	--	--
(Kwon et al., 2012)	Aleatorizado doble-ciego	Mujeres obesas 18-65 años	N=50 sujetos 2 grupos	6g PG/día (500mg/cáp)	8 semanas (Controles / 2 semanas)	--	N.S	--	N.S	--	N.S
(Chung et al., 2010)	Aleatorizado doble-ciego cruzado	Hombres con enfermedad arterial coronaria 62.4±3.1 años	N=20 sujetos 2 grupos	2.7g PG/día (900mg/cáp)	10 semanas (6 semanas lavado)	--	N.S	N.S	N.S	--	N.S
Otros											
(Ping et al., 2011)	Aleatorizado doble-ciego cruzado	Hombres corredores 20-40 años	N=9 sujetos	200mg PG/día ingesta aguda, 1 hora Pre experiment	--	--	--	--	--	N.S	--
(Baek et al., 2018a)	Aleatorizado doble-ciego	Enfermeras y bomberos 20 - 60 años	N=63 sujetos (57.1% mujeres) 2 grupos	2g PG/día (500mg/cáp)	6 semanas	Rg1: 3.21 Rb1: 6.44	N.S	N.S	N.S	--	+31.68**b
(de Andrade et al., 2007a)	Aleatorizado doble-ciego	Hombres con disfunción eréctil 26-70 años	N= 60 Sujetos 2 grupos	3g PG / día	12 semanas	--	N.S	N.S	N.S	--	--

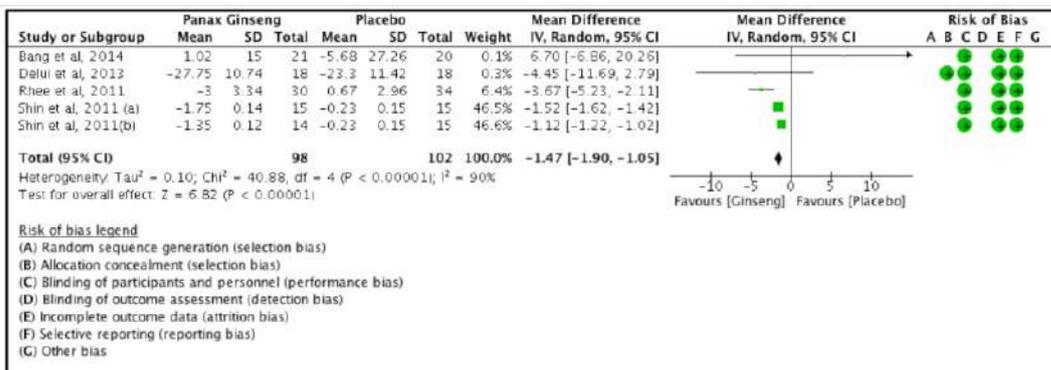
PG: *Panax ginseng*, N.S: sin cambios estadísticamente significativos, * $p < 0.1$, ** $p < 0.05$, a: Comparado con el grupo placebo, b: comparado con el mismo grupo.

Figura 12: Diagrama Forest plot del efecto del PG en el perfil lipídico.

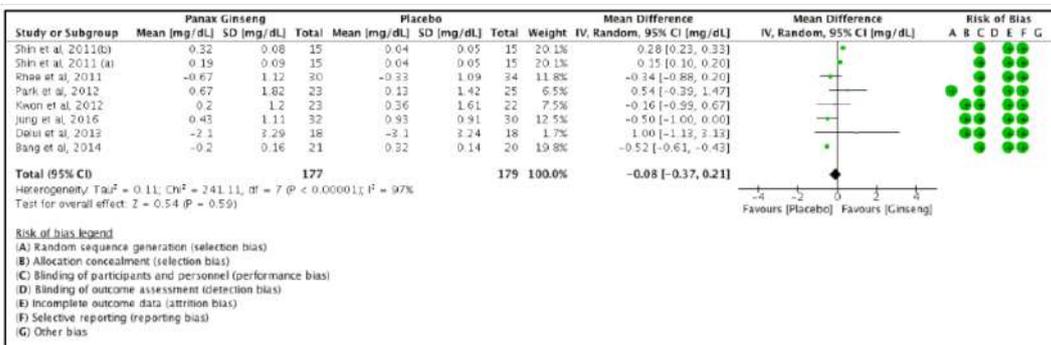
A. Colesterol total.



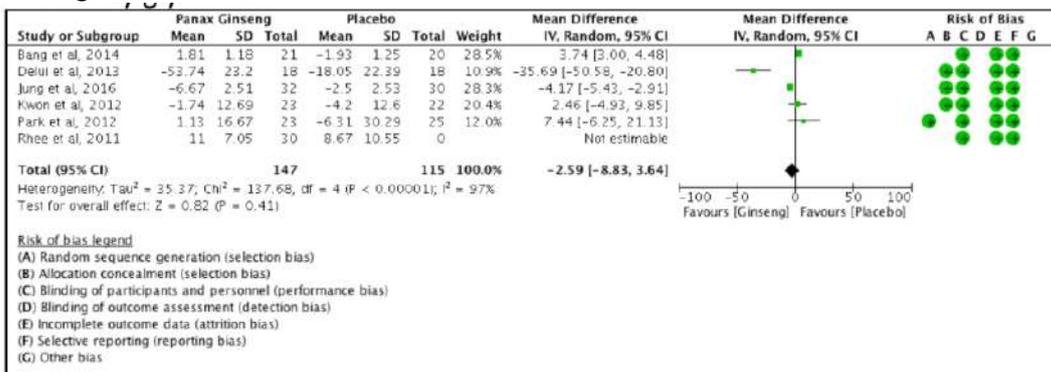
B. Colesterol LDL.



C. Colesterol HDL.



D. Triglicéridos.



3.5. *Discusión y conclusiones.*

El principal objetivo de esta revisión fue evaluar el efecto de la suplementación de PG en el perfil lipídico en humanos. Como principal resultado, se ha observado que la suplementación con extracto seco de PG entre 1.5 y 3 g/día puede mejorar el perfil lipídico en sangre ya que se observa una reducción de los niveles de TC y LDL-C. En un meta-análisis previo sobre diabetes mellitus, se observaron resultados similares, a excepción de una mejora en los niveles de TG (Gui et al., 2016), la cual no se ha observado en este meta-análisis. La principal diferencia entre estas dos revisiones es la inclusión de 9 estudios extra en el meta-análisis presente, los cuales añaden más evidencia a los efectos observados de la suplementación con PG sobre los niveles sanguíneos de TC y LDL-C.

Comparado con la terapia farmacéutica actual como el ezetimibe, un inhibidor de la absorción intestinal de colesterol; y las estatinas, inhibidoras de la síntesis hepática de colesterol, la suplementación con extracto de PG parece inducir modificaciones inferiores sobre los niveles sanguíneos de TC y LDL-C (O'Keefe et al., 2016). A pesar de esto, se han reportado efectos secundarios adversos después de la terapia farmacéutica, como por ejemplo los síntomas musculares que presentan las estatinas (Adhyaru and Jacobson, 2018). En este contexto se ha observado que la combinación de saponinas del Panax notoginseng con estatinas parece inducir la estabilidad de la función hepática en un modelo con ratas con aterosclerosis (Jiang et al., 2017). Este resultado también sugiere que el PG puede tener un mecanismo de acción diferente a las terapias farmacológicas de disminución lipídica.

A pesar de que los mecanismos subyacentes a los efectos de disminución lipídica de la suplementación con PG no han sido totalmente dilucidados, los ginsenósidos han mostrado diversas actividades farmacológicas mayormente por su estructura esteroidea, la cual le permite interactuar con las membranas celulares, canales iónicos unidos a membrana, y con receptores extra e intracelulares para producir modificaciones a nivel transcripcional (Mohan et al., 2018). Por ejemplo, se ha observado que los metabolitos del ginseng pueden disminuir la síntesis de colesterol en las células HepG2 por la reducción de la expresión del HMGCR y el SREBP2, que están involucrados en la síntesis de colesterol (Han et al., 2017). Igualmente, se ha sugerido que los cambios en el perfil lipídico plasmático pueden estar también relacionados con los efectos del PG sobre las proteínas relacionadas con el transporte inverso de colesterol (ABCA1, ABCG5 y ABCG8) en asociación con la activación de LXR α (Zhou et al., 2016).

Con respecto a los efectos adversos o tóxicos informados, se sabe que las dosis altas de PG (más de 2.5 g / día) pueden tener efectos adversos como insomnio, taquiarritmias, hipertensión, dolores de cabeza, trastornos gastrointestinales y nerviosismo (Mancuso and Santangelo, 2017). En los estudios incluidos en esta revisión, la causa más común de abandono del estudio se debió a la elección personal del voluntario o al incumplimiento del protocolo del estudio. Solo dos estudios informaron efectos adversos. Se informó insomnio con una dosis de PG de 2 g / día en un voluntario (K J Lee and Ji, 2014), mientras que molestias como eritema, molestias gastrointestinales y picazón se presentaron en 5 voluntarios con una dosis de 3 g / día (Rhee et al., 2011). No obstante, la incidencia de eventos adversos relacionados con el tratamiento en este último estudio no fue diferente entre los grupos experimentales y placebo.

Esta revisión tiene varias limitaciones, la principal es que las poblaciones de los ensayos incluidos son diferentes. Algunos estudios se han realizado con pacientes con factores de riesgo vascular y otros con personas sanas. Solo dos estudios incluyeron como resultado primario los cambios en el perfil lipídico (EL-Farok et al., 2013; Shin et al., 2011); y en ambos casos, ninguno de ellos incluyó como criterio de inclusión a voluntarios con hipercolesterolemia. Por lo tanto, se debe tener en consideración este sesgo ya que los cambios metabólicos pueden verse afectados por diferentes condiciones fisiológicas.

Además, la frecuencia de la ingesta varió entre los estudios, desde una vez al día hasta tres veces al día. Diez de diecisiete estudios recomendaron dividir la dosis tres veces al día, sin embargo, solo tres de estos estudios indicaron que la ingesta debía realizarse después de la comida principal. Esto es particularmente relevante cuando se evalúan los efectos sobre los lípidos, ya que una hipótesis es que los ginsenósidos interfieren con la absorción de colesterol a nivel intestinal y, por lo tanto, se espera que funcione junto con la ingesta de alimentos. No obstante, ninguno de los estudios que indicaron la ingesta de ginseng después de cada comida observó cambios en el perfil lipídico.

Otra limitación es la falta de información sobre la composición del extracto en casi todos los estudios incluidos. La mayoría de estudios no especificaba el origen de los extractos al igual que la edad de la raíz, información importante que afecta a la calidad de los ginsenósidos presentes en la suplementación. El contenido de ginsenósidos del ginseng varía según la especie *Panax*, la edad de la planta, las partes de la planta, el método de conservación, la temporada de cosecha y el método de extracción. La descripción del contenido de ginsenósido es imprescindible ya que se ha sugerido que cada ginsenósido puede tener su propio efecto específico (Xiang et al., 2008). La respuesta biológica de los ginsenósidos se atribuye a las diferencias en el tipo, posición y

número de restos de azúcar unidos al enlace glucosídico en C-3 y C-6. Desafortunadamente, con la información actual, no es posible discernir qué grupo de ginsenósidos podría ser más efectivo en el control del metabolismo de los lípidos. Por esta razón, consideramos esencial que los estudios futuros realicen una caracterización detallada de la composición de ginsenósidos del extracto de PG. En el mismo contexto, la valoración de la adherencia al tratamiento faltaba en la mayoría de los estudios.

Finalmente, es importante mencionar que los estudios incluidos en esta revisión no describieron la razón por la cual decidieron utilizar la concentración y las dosis de PG; y en el mismo sentido, no hay evidencia de que exista una relación dosis-efecto. Por lo tanto, se considera esencial para futuros ensayos clínicos aleatorios poner especial énfasis en la fuente de PG utilizada, así como su caracterización completa en términos de contenido de ginsenósido, y alentar el uso de al menos 2 dosis de estudio.

En conclusión, una vez todos los estudios y su calidad han sido analizados, se puede concluir que la suplementación con PG puede reducir los valores plasmáticos de TC y LDL-C. Por lo tanto, la suplementación con PG puede ser útil como adyuvante en varias condiciones fisiológicas donde el metabolismo lipídico está alterado. Sin embargo, se tiene que tener en cuenta que hay una alta heterogeneidad en los resultados de los estudios incluidos. Se necesitan estudios de mayor calidad para confirmar estos resultados.

En el Anexo 2 se puede apreciar el artículo de esta revisión una vez publicado (Hernández-García et al., 2019).

**EXTRACTO SECO DEL PG, CARACTERIZACIÓN,
POSOLÓGÍA Y EFECTOS ADVERSOS.**

4. Extracto seco del Panax Ginseng, caracterización, posología y efectos adversos.

4.1. Introducción.

El hecho de que el mercado ofrezca una gran variabilidad de suplementos del Ginseng con diferentes composiciones, precios y calidades, consumir u ofrecer dichos suplementos, se convierte en todo un desafío, tanto para los consumidores como para los profesionales de la salud. Tener la confianza y la seguridad de un perfil de extracto eficaz, actualmente es una tarea imposible de realizar. La estandarización del extracto botánico es de crucial importancia en este contexto, ya que determina la reproducibilidad de la calidad del producto y es esencial para la evaluación de la eficacia y la seguridad. La calidad del extracto está estrictamente relacionada con la calidad de la planta y el método de preparación/extracción (Blumenthal, 2004).

4.1.1. Estandarización del Panax Ginseng.

La estandarización del extracto de PG está regida por los requerimientos generales para el proceso de manufacturación, recogido en la norma ISO 19610:2017 (ISO, 2017). Las normas establecen que los productores y distribuidores deben especificar los siguientes apartados: nombre botánico, parte de la planta utilizada, solventes de extracción, lugar de producción, aspecto del producto, método de identificación de ginsenósidos, porcentaje de identificación, pérdidas por secado, relación droga / extracto, residuo del solvente, metales pesados (plomo, cadmio y mercurio), conservantes, especies microbiológicas (bacterias totales, levaduras y hongos, enterobacterias, E coli, Salmonela), excipientes y sustancias auxiliares, densidad y granulometría, pesticidas, alérgenos y conservación .

En este sentido, como se ha comentado anteriormente, la calidad y la composición de los componentes activos pueden diferir según varios factores, incluidas las especies de plantas, el método de cultivo, la edad, parte de la planta utilizada, época de cosecha y método de conservación (Leung and Wong, 2010; Lim et al., 2005). El contenido de ginsenósidos es directamente proporcional a la edad de la planta, el pico máximo de cantidad aparece a los 4-6 años de edad.

El extracto de PG generalmente se produce sometiendo el ginseng crudo al vapor a 98–100°C durante 2–3 h para posteriormente secarlo (Kim et al., 2000), algunos productores utilizan un

secado de la raíz al aire. El proceso de elaboración a altas temperaturas y la deglicosilación produce transformaciones de algunos ginsenósidos naturales (Baek et al., 1996; Ryu et al., 1997). Este proceso hace que el color de la raíz se modifique obteniendo una coloración marronosa, de aquí el nombre de *Red Ginseng*. La concentración mínima de ginsenósidos aceptada para considerarse un extracto con potencial efecto es del 0,4% por la suma de los ginsenósidos Rg1 y Rb1 (HMPC, 2014).

Las técnicas de extracción alcohólicas aseguran la correcta extracción de los ginsenósidos de la matriz al suplemento. Estas técnicas permiten homogenizar y reproducir la calidad del producto. Algunas investigaciones han comparado los efectos del PG realizando extracciones al 30, 50 y 70% de etanol y al parecer los efectos son mantenidos hasta el 50% (De Souza et al., 2015). El extracto se produce mediante un procedimiento adecuado utilizando un disolvente hidroalcohólico (35-90% V / V) (PhEur, 2013). En España para comercializar el extracto se debe obtener la autorización pertinente para su comercialización y se debe realizar su registro específico para uso tradicional.

Muchas investigaciones utilizan el Ginseng G115, uno de los extractos estandarizados de PG más populares comercialmente, elaborado por los laboratorios Pharmaton SA de Suiza, describe el proceso de extracción y la cuantificación de ginsenósidos como requisito para asegurar su actividad farmacológica. Este tipo de estandarización realiza una extracción con etanol (40% V / V) y luego ajusta al 4% de ginsenósidos (suma de Rb1, Rb2, Rc, Rd, Re, Rf, Rg1, Rg2 (HMPC, 2014)). Este método representa un excelente ejemplo de extracto estandarizado capaz de proporcionar perfiles de seguridad y eficacia constantes. En España no se comercializa este tipo de extracto estandarizado aunque existen productos con mezclas de vitaminas que sí lo contienen. Para la estandarización del PG, Pharmaton desarrolló un método analítico por medio de técnicas HPLC (*High performance liquid chromatography*) para la cuantificación de los ginsenósidos contenidos en las raíces. En la Figura 13 se observan los ginsenósidos cuantificados en el extracto del G115.

Actualmente se han identificado más de 300 moléculas provenientes del PG cuando se identifican por medio de técnicas más sensibles como *The ultra-high performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry* (UPLC-QTOF / MS) especialmente de moléculas modificadas después de procesos bioquímicos como hidroxilación, deshidroxilación, descarboxilación, acetilación y desglicosilación ocurridas en los procesos de manufacturación (Yang et al., 2015).

Figura 13: Ginsenosidos en el Extracto del PG G115 (HPLC)

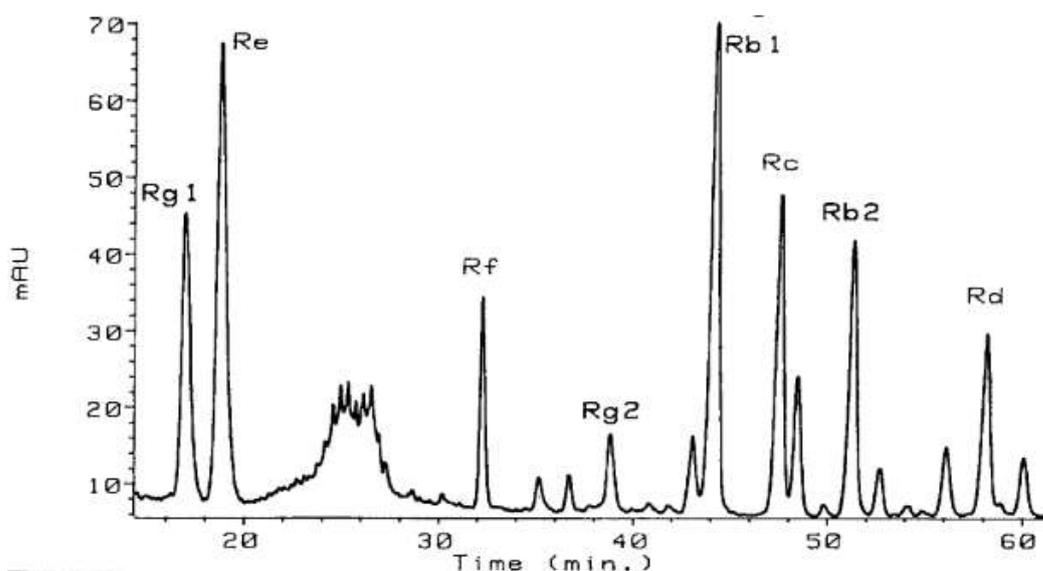


Imagen obtenida de Laboratorios Pharmaton (Cutler and Cutler, 1999).

Se han utilizado otras técnicas para la cuantificación de ginsenósidos como el método colorimétrico, la cromatografía en capa fina (TLC) y la cromatografía de gases (GC), también válidas para la descripción del extracto. Una de las técnicas con mayor auge es la TLC que especifica el contenido total de ginsenósidos, pudiéndose encontrar con productores que expenden los extractos con porcentajes que pueden variar desde 10 al 30% de ginsenósidos totales. Los distribuidores con mayor prestigio comercial y con mayores criterios de calidad en España son: Grupo Fagron (Fagron Iberica, 2014), Distribuidores Metapharmaceutical (González, 2018) y Grupo Acofarma (Acofarma©, 2019) todos ellos describen sus extractos con metodología TLC y dando como resultado un extracto con ginsenósidos totales superiores o iguales a 30%.

El extracto seco de PG expedido por uno de los distribuidores de materias primas farmacéuticas en España con mayor calidad, Metapharmaceutical (producido en Italia), realizó una extracción hidroalcohólica con agua / etanol (50/50 V/V) (DER 7-10:1) y realizó una cuantificación de ginsenósidos por medio de TLC ajustando el extracto al 30% de ginsenósidos totales. El suplemento generado consiste en un polvo fino de color marrón. Además realizó un análisis de seguridad del extracto con menos de 10.000 UFC de bacterias totales y menos de 10 ppm de metales pesados (certificado de análisis y ficha de seguridad en el Anexo 6). Este extracto representa uno de los suplementos con mayor seguridad y calidad y se ajusta a las especificaciones de uso en humanos descritas en la fila 3 de la Tabla 8.

Por otro lado, aunque la identificación de los ginsenósidos es relativamente sencilla en muestras biológicas o en el propio extracto y se disponen de métodos cromatográficos para llevar a cabo la cuantificación de éstos (Liu et al., 2011; Yang et al., 2009b), muchos estudios no realizan dicho análisis, dejando en duda la calidad del extracto utilizado, como hemos observado en la revisión sistemática antes planteada (Capítulo 1 pág. 15) . Es importante conocer el origen del extracto y el proceso de estandarización, tener los certificados de análisis pertinentes del productor y contrastar dicha información con métodos cuantitativos o cualitativos que garanticen la calidad del producto.

4.1.2. Biodisponibilidad de componentes bioactivos del PG.

Una vez el PG se ingiere por vía oral, su biodisponibilidad es baja debido a una absorción incompleta (Qi et al., 2011). Los estudios realizados para evaluar este aspecto son pocos, probablemente por los altos costes y por la poca aplicabilidad de éstos.

Una fracción significativa de los ginsenósidos se metaboliza por la microflora intestinal generando cambios de varios ginsenósidos, incrementando su bioactividad y disminuyendo la toxicidad de éstos a nivel sistémico (Li et al., 2009; Wang et al., 2011). En la Tabla 7 podemos observar algunos cambios ocurridos por el proceso digestivo de algunos ginsenósidos, dichos cambios principalmente pueden ocurrir dependiendo del tipo de microorganismo presente.

La baja absorción de los ginsenósidos a nivel intestinal se ve compensada por ingestas altas para llegar a detectar los niveles en plasma (Qi et al., 2011). El pico máximo de concentración en plasma sucede alrededor de las 2 horas posteriores de la ingesta (Li et al., 2006). La baja absorción intestinal se debe principalmente a la influencia de los jugos gástricos (Kim et al., 2014), a la baja permeabilidad de la membrana frente a estos compuestos (Yu et al., 2012) y a la baja solubilidad de éstos (Gu et al., 2009). La biodisponibilidad del grupo de PPD y del grupo PPT se ha estimado en valores inferiores al 5% (Li et al., 2007; Wang et al., 2007; Xie et al., 2005). La actividad farmacológica del ginseng se ve alterada no solo por la concentración total de los ginsenósidos si no por las proporciones relativas de las saponinas triterpenoglicosídicas (Attele et al., 1999) por lo que muchos de los efectos solo se pueden apreciar por la sinergia entre los componentes. Los ginsenósidos tienen metabolismo hepático y por la circulación entero hepática se excretan principalmente a través de las heces (Paek et al., 2006).

Tabla 7: Transformación de algunos ginsenósidos por la flora intestinal.

Ginsenósido encontrado en el extracto de la planta	Ginsenósido encontrado en el plasma después de ser transformado por la flora intestinal del consumidor	Referencia
Rg1	Rh1	(Wang et al., 2000)
Rg3	Rh2	(Bae et al., 2002)
Rb1	Compound K	(Qian et al., 2006)
Rd	Compound K o Rg3	(Qian et al., 2006) (Yang et al., 2007)
Rg5	Rh3	(Shin et al., 2006)
Re	F1	(Yang et al., 2009a)
Re	Rg1	(Bae et al., 2005)
Rg1	Rh1	(Bae et al., 2005)
Rb2	Rd	(Bae et al., 2005)
Rd	Rg3	(Chi et al., 2005)
Rg3	Rh2	(Chi et al., 2005)
Rd	F2	(Chi et al., 2005)
Rg1	F1	(Bae et al., 2005)

4.1.3. Dosis y frecuencia de administración.

De acuerdo con la Medicina tradicional china, las dosis pertinentes, cuando se usa la planta raíz entera, son entre 3-9 g. Cuando la raíz se toma directamente en forma de extracto seco, las dosis oscilan entre 0,5 y 1 g (HMPC, 2014). Actualmente la dosificación recomendada en cada país varía, especialmente por la indicación y por la concentración de compuestos activos en el extracto. Nuevamente la estandarización del extracto juega un papel importante a la hora de recomendar posología y frecuencia del extracto.

En España existen tres formas farmacéuticas registradas disponibles al mercado. La primera, extracto seco derivatizado (DER) 5:1, 5-7% ginsenósidos calculados como ginsenósido Rg1 y extracción solvente 70% V/V. La segunda extracto seco DER 4-6:1, 5-7% ginsenósidos calculados como ginsenósido Rg1, extracción solvente etanol 50% V/V y la tercera como sustancia herbal en polvo (HMPC, 2014). En España el uso del PG vía oral no se recomienda ser superada las 8 semanas de tratamiento. Los datos sobre posología vía oral del extracto seco a nivel mundial según la literatura se observan en la Tabla 8, así como algunos extractos autorizados o registrados que tienen al menos 30 años de uso medicinal.

Tabla 8: Posología y frecuencia del uso del extracto seco del PG en humanos.

	Tipo de extracto	Extracción	Dosis única	Dosis diaria	Frecuencia
1	Extracto seco DER 2-7:1	Etanol 34-40% V/V	90-360 mg	200-670 mg	1-4 veces al día
2	Extracto seco DER 3-7:1	Etanol 40% V/V 4% ginsenósidos	40-200 mg	40-200 mg	1-2 veces al día
3	Extracto seco DER 3-7:1	Etanol 50-60% V/V	98-220 mg	196-525 mg	1-4 veces al día
4	Extracto seco DER 3,3-5:1	Etanol 60% V/V	120 mg	360 mg	3 veces al día

Tabla elaborada a partir de los datos descritos en el *Assesment report i n Panax Ginseng C.A Meyer, radix.*(HMPC, 2014)

La dosificación y tiempos de tratamientos de un suplemento botánico no es tarea sencilla, en gran parte por la estandarización. En la revisión descrita en el apartado anterior (Hernández-García et al., 2019) donde se valoró el efecto del PG en el perfil lipídico plasmático, se observó que en ningún estudio se especificó el motivo por el cual se usó dicha dosis y dicho tiempo de tratamiento, es posible que esta decisión tenga relación con la manera tradicional de tomar el extracto. Tampoco se informó del método de extracción y falta información acerca de las concentraciones de ginsenósidos. Las dosis y tiempos de tratamiento utilizadas en dichos estudios con efecto (positivo o negativo) en el perfil lipídico plasmático se observan en la Tabla 9.

Como se puede observar, las dosis utilizadas son, en general, más altas de las recomendadas, aunque las concentraciones de ginsenósidos totales y las proporciones de algunos ginsenósidos son muy variadas. Aun así, de los 14 estudios incluidos que declararon el proveedor del extracto, 8 han utilizado un extracto seco del productor Korean Ginseng Corporation (% de ginsenósidos totales entre 1,65 y 2%). La concentración de este extracto es pequeña y se necesita dosis más altas para contrarrestar esta carencia. Solo 3 estudios han utilizados extractos con concentraciones alrededor del 20%, estos estudios han mantenido dosis superiores a 2g al día aunque algunos de ellos han reportado efectos adversos.

Con estos resultados y con la inmensa oferta del mercado del extractos, es complejo unificar los extractos disponibles y mucho más unificar las posologías de éstos.

Tabla 9: Dosis y tiempos de tratamiento del PG utilizados en los estudios que valoran el efecto Del extracto en el perfil lipídico plasmático.

Autor	Extracto seco de PG al día	Proveedor del extracto	Duración	Cantidad de Ginsenosidos al día (mg/día)	% de ginsenósidos totales en el extracto
(J. Y. Kim et al., 2012)	3g o 6g	KGC	8 semanas	Totales: 49,74 ó 99,48	1,65
(Kang et al., 2013)	1.5g	KTNG	8 semanas	--	--
(K J Lee y Ji, 2014)	2,11g	Bifido INC	2 semanas	Totales: 545,64 Rb1: 0.048	25,8
(S. Y. Kim et al., 2012)	3g	KGC	12 semanas	Totales: 60	2
(Kwang Jo Lee and Ji, 2014)	2.11g	Bifido INC	2 semanas	Totales: 545,64 Rb1: 0.048	25,8
(Shin et al., 2011)	20g antes del extracto	Foodex Co.	8 semanas	-	22,9
(Bang et al., 2014)	5g	KGC	12 semanas	Totales: 82,9	1,65
(Rhee et al., 2011)]	3g	KGC	12 semanas	Totales: 49,74	1,65
(Jung et al., 2016)	3g	--	4 semanas	Rg1+ Rb1: 1,632	--
(Park et al., 2012)	4.5g	KGC	12 semanas	Rg1+ Rb1: 2,44	1,65
(Hassanzadeh Delui et al., 2013)	500mg	Gol Dura Co.	8 semanas	Totales: 14	2,8
(EL-Farok et al., 2013)	200mg	Eipico Pharmaceuti cal Co.	4 y 8 semanas	--	--
(Hong et al., 2016)	3g	KGC	3 semanas	Rg1 + Rb1: 18	1,65
(Kwon et al., 2012)	6g	KGC	8 semanas (Controles cada 2 semanas)	--	1,65
(Chung et al., 2010)	2.7g	-	10 semanas.	--	--
(Ping et al., 2011)	200mg	--	--	--	--
(Baek et al., 2018a)	2g	KGC	6 semanas	Rg1 + Rb1: 19,3	--
(de Andrade et al., 2007a)	3g	--	12 semanas	--	--

KGC: Korean Ginseng Corporation; KTNG: Korea Tobacco & Ginseng Corporation.

4.1.4. Ingesta del PG, seguridad y efectos adversos.

En relación a la seguridad, los efectos adversos que se han asociado a este tipo de suplemento, en humanos, han estado en el punto de mira. Los efectos secundarios pueden variar desde

náuseas y diarrea hasta insomnio, euforia (nerviosismo) y dolor de cabeza. Se debe tener especial control en los pacientes con problemas de tensión arterial (Cepae, 1999; Kiefer and Pantuso, 2003) ya que se ha observado hiper o hipo tensión y taquicardias. Dichos efectos adversos se observan especialmente a dosis altas de PG (más de 2.5 g / día) (Mancuso and Santangelo, 2017) aunque pueden aparecer en dosis más bajas.

Por otra parte la ingesta de PG puede tener algunas interacciones con fármacos como la warfarina, antidiabéticos y cafeína. No hay cambios en los marcadores de hígado y de función renal después de la administración del PG (Kulaputana et al., 2007). Además de lo anterior, sabemos que PG, no tiene propiedades teratogénicas o mutagénicas en el ámbito del deporte (Ping et al., 2011), ni da marcadores positivos de dopaje, por lo que no figura entre las listas de los estimulantes prohibidos para deportistas (M S Bahrke and Morgan, 2000).

Hay que tener en cuenta que el PG es un suplemento de fitoterapia de venta libre (cualquier persona puede acceder a su compra en farmacias, dietéticas o tiendas naturistas). Su uso es común en la práctica clínica en un contexto de naturopatía, medicina natural y de nutrición y dietética. Los tratados de fitoterapia y los estudios realizados con este tipo de planta medicinal lo señalan como un producto seguro en humanos, aun así raramente puede dar efectos secundarios leves, dichos efectos se manifiestan como “molestias”, pero en ningún caso representan un peligro para la salud de la persona que lo ingiere (Consejo general de colegios oficiales de Farmaceuticos, 2011; Perism et al., 1995; Puigianer, 1995).

Lee y colaboradores (Lee and Son, 2011) realizaron una revisión bibliográfica con la intención de evaluar la eficacia y la seguridad de varias especies del ginseng. En relación al PG se incluyeron 39 artículos que evaluaban el efecto del suplemento en varias situaciones fisiológicas. De los 6 artículos que evaluaban el efecto del PG en el metabolismo de la glucosa, 4 estudios no registraron los efectos secundarios, ningún participante de un estudio presentó efectos secundarios (Sievenpiper et al., 2006) (dosis única de 2,4 o 6g de PG sin extractar) y un participante de un estudio (Vuksan et al., 2008) declaró presentar una hipoglucemia (dosis de 6g de PG durante 12 semanas). De los 7 artículos que evaluaban el efecto en el rendimiento deportivo, 4 estudios no lo registraron y 5 participantes de 3 estudios (Allen et al., 1998; Engels et al., 2001; Engels and Wirth, 1997) presentaron diarrea y molestias intestinales (dosis entre 0,2 y 0,4g PG G115 durante 8 semanas). De los 8 estudios que evaluaban el efecto en la fusión psicomotora, 6 estudios no lo registraron, de un estudio (Lee et al., 2008) dos participantes presentaron aumento de temperatura, un participante mareos, náuseas, anorexia, diarrea y dolor de cabeza y de otro estudio (Heo et al., 2008) 2 participantes presentaron fiebre y dos

participantes náuseas (dosis de ambos 4,5 o 9g de PG al día durante 12 semanas). De los 7 artículos que evaluaron el efecto en la función sexual, 3 estudios no lo registraron, en un estudio (de Andrade et al., 2007b) no se presentó ningún efecto adverso (dosis 3g / día durante 12 semanas) y 6 participantes de 3 estudios (Choi, 2003; Choi et al., 1999; Choi and Choi, 2001) presentaron molestias intestinales (dosis de 1,8g de PG durante 4 y 12 semanas). Del restante de estudios (miscelánea 11 artículos), 4 estudios no lo registraron, en 5 estudios no se presentaron efectos secundarios y de dos investigaciones 2 participante presentaron náuseas y vómitos (dosis de 0,2g de PG G115 durante 4 y 8 semanas) (Caron et al., 2002; Ellis and Reddy, 2002).

Recordemos que de los 18 estudios incluidos en el meta-análisis descrito anteriormente (apartado 3 pág. 15) solo dos estudios informaron efectos adversos. Se informó insomnio con una dosis de PG de 2 g / día (% de ginsenósidos del 25%) en un voluntario (K J Lee and Ji, 2014), mientras que molestias como eritema, molestias gastrointestinales y picazón se presentaron en 5 voluntarios con una dosis de 3 g / día (Rhee et al., 2011).

Después de realizar el meta-análisis y analizar por medio de las revisiones sistemáticas los efectos del PG en la salud (*descrito en los siguientes apartados*), esta tesis se propone valorar el efecto ergogénico o ergolítico del PG sobre el metabolismo lipídico de corredores y las posibles conexiones de dicho efecto en el rendimiento, la fatiga o en los sistemas de regulación como la inflamación o el estrés oxidativo.

Por todo lo anterior, antes de valorar los efectos del PG en dicho colectivo (apartados 5, 6 y 7 de esta tesis), en este apartado se propone protocolizar y poner a punto, la calidad del extracto a utilizar, las dosis y tiempo de tratamiento a administrar y los efectos adversos que puedan aparecer durante los experimentos. Para llevarlo a cabo, se plantea un estudio descriptivo donde deportistas ingirieren una dosis diaria, durante dos semanas de 500mg de extracto seco de PG (equivalente en % de ginsenósidos a las concentraciones usadas en estudios relacionados con el metabolismo lipídico en humanos), 2 horas antes de los entrenos, de uno de los extractos producidos en Europa y disponibles en España que cumple con los criterios de calidad descritos anteriormente. Se propone también, estudiar los efectos adversos presentes durante el experimento planteado y valorar la presencia en el extracto seco, en el plasma y la orina de los participantes, de los 4 ginsenósidos más abundantes en la raíz de la planta (Re, Rg1, Rg2, y Rh2) como una medida de biodisponibilidad y de calidad del extracto.

4.2. Objetivos.

4.2.1. Objetivos generales.

- Protocolizar y poner a punto la calidad del extracto a utilizar, las dosis y tiempo de tratamiento a administrar, las variables de control y los efectos adversos que puedan aparecer con una ingesta de 500mg de PG durante dos semanas.

4.2.2. Objetivos específicos.

- Analizar la presencia de los 4 ginsenósidos más abundantes en la raíz de la planta (Re, Rg1, Rg2, y Rh1), en el propio extracto y en muestras de sangre y orina de los deportistas, como una medida de biodisponibilidad y de calidad del extracto.
- Comprobar la seguridad de la administración de 500mg de extracto seco de PG durante dos semanas por medio de la valoración de los efectos secundarios que aparecen en los deportistas incluidos en el estudio.
- Demostrar la adherencia, tanto de la suplementación como del estilo de vida y entrenamientos durante 2 semanas, en una intervención con 500mg de PG en deportistas.

4.3. Metodología.

Para responder a los anteriores objetivos, se llevó a cabo una intervención experimental observacional pre - post intervención durante 2 semanas siguiendo los siguientes pasos.

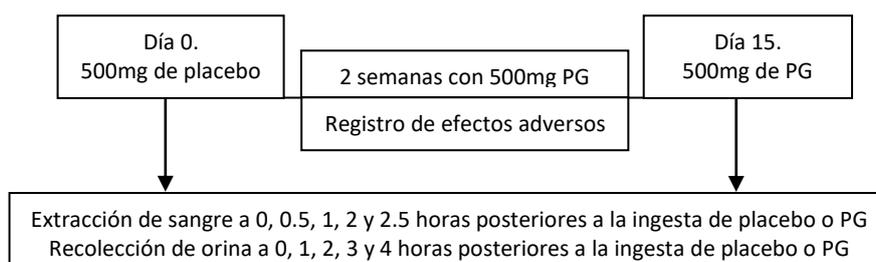
Se seleccionaron los deportistas que cumplían con los criterios de inclusión del total de deportistas pertenecientes a un centro deportivo de la ciudad de Lleida. Después de la correspondiente explicación del experimento, se entregaron las hojas de información al paciente (Anexo 3) y se firmó el consentimiento informado (Anexo 4).

Se recolectaron muestras de sangre y orina (antes y después de la intervención) para valorar la presencia de los 4 ginsenósidos más abundantes en la raíz de la planta (Re, Rg1, Rg2, y Rh2). Además, este experimento ayudó a dar una orientación de la seguridad del tratamiento con PG.

Para realizar el experimento, el participante acudió a los laboratorios en dos ocasiones (día 0 y día 15) para recoger las variables necesarias antes y después del experimento, el voluntario debía permanecer durante 4 horas en el laboratorio sin comer ningún tipo de alimento.

El día 0, el participante ingirió una cápsula con 500mg de celulosa microcristalina (placebo) para comprobar la ausencia de compuestos bioactivos del PG, el día 15 la cápsula contenía 500mg de extracto seco de PG. Se extrajeron muestras de sangre en ambas ocasiones a tiempo 0, 0.5, 1, 2 y 2.5 horas posteriores a la ingesta, además se recogieron muestras de orina a tiempo 0, 1, 2, 3 y 4 horas posteriores a la ingesta de las cápsulas. Entre el día 0 y el día 15, el deportista ingirió diariamente una cápsula con el extracto de PG dos horas antes de entrenar o dos horas antes de la comida si no entrena. El deportista cumplimentó un cuestionario para recoger los posibles efectos adversos que pueden aparecer durante las dos semanas. El cuestionario se recogió en dos ocasiones (primera y segunda semana) durante el tratamiento (Figura 14).

Figura 14: Esquema experimento: Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos de la suplementación con PG.



Las muestras se obtuvieron por medio de una extracción venosa que recogió 6 ml de sangre en dos tubos de 8ml heparinizados (Vacutainer). Se centrifugaron durante 6 minutos a 2000rpm para obtener el plasma. La muestra se separaron en 2 alícuotas y se conservaron a -80º C hasta su análisis.

Las muestras de orina se recolectaron en tubos estériles de 15ml (Tubo de polipropileno fisherbrand Ref: 05-539-5) para la valoración de compuestos de la planta (ginsenósidos). Cada muestra se separó en 5 alícuotas de 1mL cada una, se conservaron a -80ºC hasta su análisis. El análisis de los parámetros se realizó en los laboratorios de investigación de las instalaciones del departamento de fisiopatología metabólica de la Universidad de Lleida de Lleida. La extracción la realizó una enfermera perteneciente al equipo de investigación.

4.3.1. Participantes en el estudio.

4.3.1.1. Criterios de inclusión.

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

4.3.1.2. Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

4.3.2. Tamaño de la muestra.

Como el objetivo principal de este experimento es demostrar la presencia de los compuestos bioactivos del PG en el extracto y en las muestras de sangre y orina de los participantes, se ha decidido reunir un mínimo de 10 participantes. Este número de individuos es similar a uno de los

estudios de mayor calidad en la cuantificación de ginsenósidos en muestras en humanos (Liu et al., 2011)

4.3.3. Variable independiente.

En este estudio la variable independiente es una variable cualitativa dicotómica y se denomina como la ingesta de 500mg de extracto seco de PG al día o la no ingesta del suplemento. En este estudio no se realizó ningún tipo de aleatorización.

La suplementación fue elaborada por el laboratorio de Formulación Magistral perteneciente a Farmacias Isanta, situado en la avenida Alcalde Porqueras 76 de la ciudad de Lleida (Crusellas Losa and Isanta, 2014). El laboratorio cuenta con licencia para la elaboración de fórmulas magistrales y productos. Para la elaboración del extracto seco, se deben seguir las normas específicas para el proceso de fabricación, dichas normas se recogen en el documento ISO 19610:2017 (ISO, 2017).

El extracto de PG pertenece a la categoría de extracto seco, con certificado de análisis y ficha de seguridad (Anexo 6) expedido por un distribuidor de materias primas farmacéuticas Meta Pharmaceutical.

4.3.4. Variables relacionadas con la presencia de ginsenósidos en muestras y extracto.

Es una variable cualitativa y se entiende como la presencia de cuatro metabolitos del PG en plasma, orina y en el extracto seco utilizado para la intervención (Re, Rg1, Rg2, y Rh1). Para la valoración de los ginsenósidos en las muestras se utilizó una técnica de alta sensibilidad, cromatografía líquida acoplada a un detector de espectrometría de masas (UPLC-MS-QQQ).

El proceso realizado para llevar a cabo dicha técnica, consiste en una extracción de fase sólida de los metabolitos en plasma u orina para posteriormente realizar la espectrometría de masas. El protocolo utilizado en este proyecto ha sido el descrito por (Liu et al., 2011). Se realizaron 2 pasos definidos a continuación:

4.3.4.1. Extracción de fase sólida (SPE).

El primer paso realizado fue la extracción de fase sólida, para ello, es necesario disponer de cartuchos con un absorbente polimérico universal de fase inversa (usado en una amplia gama de ácidos, básicos y neutros de varias matrices). Estos cartuchos están diseñados para usarse con

colectores de vacío e instrumentos de extracción de fase sólida automatizados. En la Tabla 10 se observa el procedimiento para la extracción de fase sólida de los metabolitos en plasma u orina. Liu y colaboradores (Liu et al., 2011) observaron que la SPE es un método preciso y reproducible, las concentraciones recuperadas después de aplicado el método fueron correctas (84.5 ± 1.4 %), (78.2 ± 5.6 %), (75.0 ± 5.0 %), (76.9 ± 4.6 %) y (75.1 ± 5.3 %) para G-Re, G-Rg1, G-Rg2, G-F1 y G-Rh1 en plasma respectivamente y (82.3 ± 1.9 %), (77.5 ± 3.3 %), (76.9 ± 5.0 %), (77.1 ± 4.7 %) y (76.0 ± 6.0 %) para G-Re, G-Rg1, G-Rg2, G-F1 y G-Rh1 en orina respectivamente. La solución para valorar los ginsenósidos en el extracto seco del PG también se elaboró en este momento siguiendo las referencias de Yang y colaboradores (Yang et al., 2015).

Tabla 10: Extracción de fase sólida de Ginsenósidos en plasma y orina.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Tener a punto una cámara de vacío con un procesador de columnas, además de recipientes para recoger los residuos. ● Tener a punto cartuchos con absorbente idóneo en la cámara de vacío. ● Colocar en cada microtubo de 1.5ml: 1ml de orina o plasma y 25μL de Digoxina (estándar interno) (50ng/ml) y realizar una agitación con un agitador (Vortex) durante 10 seg. ● Centrifugar a 13000rpm durante 3 minutos, reservar en la centrifuga hasta la utilización. ● Realizar un pre - condicionado de los cartuchos pasando en orden: <ul style="list-style-type: none"> ○ 1ml de metanol. ○ 1ml de agua milliQ. ● Posteriormente, pasar por el cartucho la muestra con el estándar Interno. ● Realizar un lavado pasando en orden: <ul style="list-style-type: none"> ○ 1ml de agua milliQ. ○ 1 ml metanol / agua (5/95 v/v). ● Cambiar los recipientes de recolección. ● Realizar la elución pasando 0.5ml metanol / agua (90/10 v/v). ● Transferir la cantidad recogida en un vial de cristal para ser inyectado (10 μL como mínimo). Reservar a -20$^{\circ}$ C hasta el análisis. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Solución madre de estándar interno.	Digoxina (envases de 10mg). Certificado de análisis (Anexo 5). Realizar una dilución hasta conseguir una concentración de 2000ng/ml de IS disuelto en metanol / agua (50/50 v/v).	
Solución de extracto seco de PG.	Realizar una solución hasta conseguir una concentración de 5mg/ml del extracto seco. La solución final debe estar disuelta en metanol / agua 80/10 v/v para disolver por completo el extracto. Filtrar la solución con una membrana de 0,2mm y reservar 10 μ L en un vial para ser inyectado.	
Reactivos / Materiales	Casa comercial	Referencia
J.T. Baker™ BAKER spe-12G Column Processor, Glass Design.	Fisher Scientific, Madrid, España	15597644
Cartuchos Oasis HLB 1cc, 30mg absorbente.	Waters Corporation, Milford, Massachusetts, USA	WAT094225
Digoxina 10mg	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	Y0000554
Extracto seco de PG.	Meta Pharmaceutical, Barcelona, España	007203-5
Metanol 99,9%	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	34860

4.3.4.2. Valoración de la presencia de los ginsenósidos en las muestras de sangre, orina y en el extracto seco.

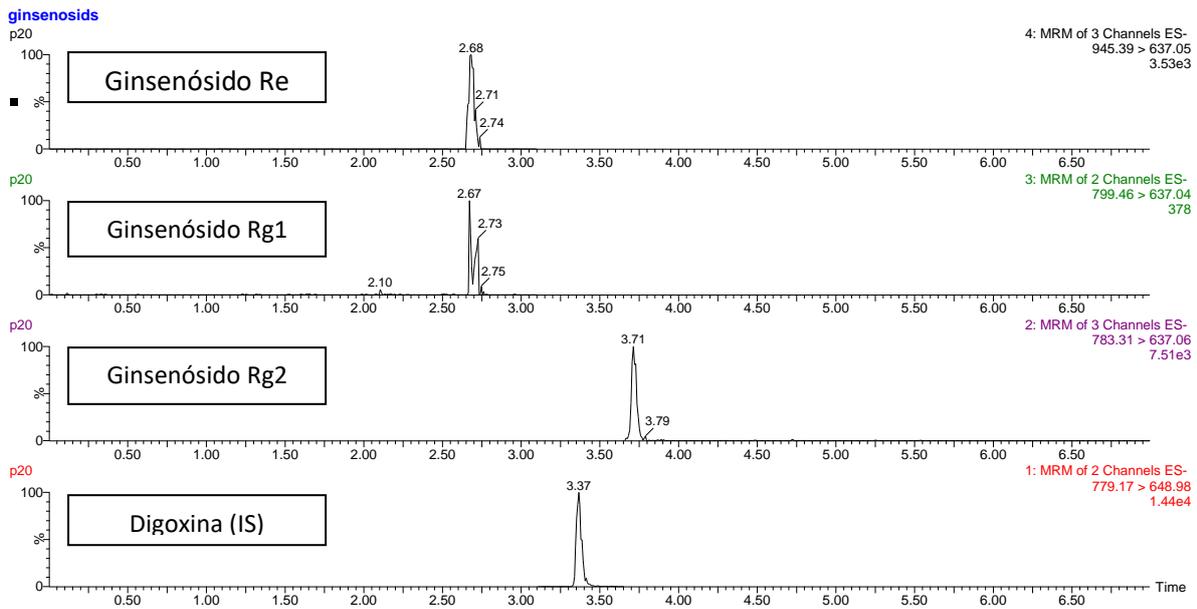
El segundo paso realizado tiene relación directa con la valoración de la presencia de los ginsenósidos en las muestras de sangre, orina y en el extracto seco por medio de UPLC-MS-QQQ. La separación cromatográfica se realizó por medio de una columna Waters Symmetry UPLC C18 (2.1mm × 150 mm, 3µm). Se inyectó un volumen de 10µL de la muestra reservada a 4°C. La temperatura de la columna se mantuvo a 22°C.

La separación de los compuestos se realizó usando un gradiente de elución (fase A metanol 100% y fase B acetonitrilo 100%, cada fase orgánica contenía 0.05% de ácido fórmico) con un flujo de 300µL/min con un continuo de 5% acetonitrilo y bajo un gradiente lineal de 12-85% de metanol durante 2 min, se mantuvo 85% metanol durante 2 min, luego metanol al 12% durante 4 min. Las condiciones de MS/MS fueron en modo de ionización positiva. En Tabla 11 se observan las condiciones y ajustes MS/MS y en la Figura 15 se observa la imagen en el cromatógrafo de los ginsenósidos analizados y el estándar interno.

Tabla 11: Condiciones y ajustes MS/MS.

Metabolito	Empírica Formula	Peso Molecular	Colisión	Transición	Voltaje del cono	Energía de colisión
G-Re	C ₄₈ H ₈₂ O ₁₈	947.15	[M+Na] ⁺	969.6 --789.3	80	45
G-Rg1	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	801.01	[M+Na] ⁺	823.5--643.2	90	40
G-Rg2	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₃	785.01	[M+Na] ⁺	661.4--481.3	70	32
G-Rh1	C ₃₆ H ₆₂ O ₉	638.87	[M-H ₂ O+H] ⁺	621.6--423.3	20	15
Digoxin	C ₄₁ H ₆₄ O ₁₄	780.94	[M+H] ⁺	781.3--651.3	20	10
Voltaje capilar Electrospray					3.5 Kv	
Nebulizador					N ₂ Ultrapuro a 500 L/h	
Cone gas					50 L/h	
Source temperature					105°C	
Desolvation temperature					350°C	
Cada uno de los iones precursores se sometió a CID (disociación inducida por colisión) para determinar los iones hijos resultantes.					Gas de colisión: Argón, 0.24 mL/min	

Figura 15: Visualización de los tiempos de retención de los 4 ginsenósidos en el UPLC–MS/MS



4.3.5. Variables relacionadas con la adherencia y efectos adversos.

Para controlar algunas variables descritas a continuación, se ha elaborado un cuestionario propio (Anexo 9), donde por medio de una serie de preguntas con respuestas de tipo dicotómicas (SI/NO) recoge de manera individual lo siguiente: si el paciente ha cambiado algún aspecto referente a su estilo de vida que pueda interferir en el estudio; si sigue las pautas del entrenamiento adecuadamente; si es adherente al tratamiento o si está presentando algún síntoma adverso asociado a la ingesta del suplemento durante la intervención.

El cuestionario es auto administrado y de fácil cumplimentación. Desde el inicio el paciente lo tuvo en su mano con el fin de comunicar cualquier cambio o molestia al equipo durante la intervención. Las preguntas se entregaron al participante, en modo papel, antes de iniciar la suplementación además de recibir las explicaciones pertinentes de todos los síntomas o efectos secundarios que ésta puede provocar (siempre en un contexto de seguridad).

El participante contestó las mismas preguntas individualmente en su casa, cada lunes de todas las semanas que dura la intervención, posteriormente el deportista envió las respuestas enumeradas consecutivamente con su correspondiente respuesta (si/no) vía Whats app al coordinador de este trabajo.

Las respuestas relacionadas con los efectos adversos se analizaron *in situ*. Si al menos una de las respuestas era afirmativa se tomaron las medidas necesarias para preservar el bienestar del deportista. En dicho caso se interrumpe la intervención en ese participante a no ser que él

mismo exprese libremente que es una molestia muy eventual, o no muy significativa, o que cree haberla tenido pero no está seguro y que no supone un problema para él en la vida cotidiana. Concretamente las preguntas del cuestionario se distribuyen de la siguiente manera:

4.3.5.1. Adherencia al tratamiento.

Es una variable cualitativa dicotómica que se recoge semanalmente. Se entiende como la ingesta o no del suplemento (si/no) recogida por medio de un apartado en el cuestionario antes mencionado. Concretamente las preguntas de este apartado son:

- ¿Ha ingerido durante esta semana cada día las cápsulas tal como se le ha indicado?
- ¿Ha olvidado ingerir la cápsula en el horario acordado?

4.3.5.2. Seguridad de la suplementación de PG en los deportistas.

Esta variable se define como la seguridad de la utilización de la suplementación de PG en los deportistas del grupo intervención. Es una variable cualitativa dicotómica que se recoge semanalmente por medio de un apartado en el mismo cuestionario que monitoriza todos los posibles efectos adversos que puede presentar el participante durante la ingesta del suplemento. Concretamente las preguntas de este apartado son:

- ¿Ha tenido diarrea, hinchazón, náuseas o vómitos?
- ¿Ha notado pulsaciones aceleradas (taquicardia)?
- ¿Ha tenido la sensación de estar más nervioso de lo habitual?
- ¿Ha tenido insomnio o algún tipo de problema para dormir?
- ¿Ha tenido dolor de cabeza?

4.3.5.3. Presión arterial (PA) y frecuencia cardíaca (FC).

Es una variable cuantitativa continua medida en mmHg a tiempo 0, 1, 2 y 4 horas durante el experimento. La PA es una medición de la fuerza ejercida contra las paredes de las arterias a medida que el corazón bombea sangre a través del cuerpo. Las lecturas de la PA generalmente se dan como dos números; el número mayor se denomina presión arterial sistólica (PAS) y el número menor presión arterial diastólica (PAD). La FC es una variable cuantitativa discreta medida en latidos del corazón por minuto cuantificada en el mismo momento de la PA. Esta

variable se midió con un tensiómetro digital Omrom (HEM-7322T-E) que registra tanto la PA como la FC.

4.3.6. Variables relacionadas con el estilo de vida y entrenos.

4.3.6.1. Cambios en el estilo de vida y del entrenamiento.

Es una variable cualitativa discreta que se registró cada semana durante la intervención por medio de 4 preguntas, con dos posibles respuestas (si/no), incluidas en un apartado del cuestionario. Los aspectos de interés a recoger en este aspecto son: estilo de vida en general, hábitos enólicos, tabaquismo, y seguimiento de los entrenamientos estipulados. Concretamente las preguntas de este apartado son:

- En general ¿cree usted que ha cambiado su estilo de vida?
- ¿Ha aumentado el consumo de bebidas alcohólicas como vino, cerveza, licores etc, en comparación con la ingesta que tenía habitualmente?
- ¿Ha empezado durante esta semana a fumar?
- ¿Sigue las pautas de entrenamiento que le ha indicado su entrenador?
- ¿Ha notado algún efecto positivo en el entrenamiento durante la ingesta del suplemento?

4.3.7. Variables de control.

4.3.7.1. Edad.

Definida como el tiempo, en años cumplidos, que ha vivido una persona. Es una variable de filiación, cuantitativa discreta.

4.3.8. Previsión del análisis de datos.

Los datos de cada participante se almacenaron en una base de datos tipo Excel, en la cual se incorporaron medidas de filtro para minimizar errores de transcripción. Dichos datos fueron exportados al programa estadístico GraphPad Prism 5, para realizar el análisis estadístico correspondiente. Se realizó una revisión de la calidad de los datos a través de un análisis de frecuencias extremas y un análisis de inconsistencias.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo univariante de las variables principales en base al cálculo de recuentos, proporciones y medidas de tendencia central y de dispersión (media aritmética y desviación estándar), según se trate de variables de naturaleza cualitativa o cuantitativa. Esta primera explotación nos permitió describir la muestra de forma global.

Por otra parte se realizó un análisis estadístico comparativo del grupo antes y después del tratamiento mediante test de significación estadística para datos apareados (t de student). Se aceptaron diferencias por debajo de una p del 0,05.

4.3.9. Aspectos éticos y legales.

El presente estudio tomó medidas para la protección de datos de todos los participantes, como primera medida, los datos personales de cada participante como el nombre completo, teléfonos, dirección etc, se guardaron en un archivo diferente a la libreta de recogida de datos (Anexo 10).

A cada participante se le asignó un número que relacionara entre si los datos personales y la recogida de datos (Anexo 11). Una vez finalizado el estudio el archivo con los datos personales se elimina.

Otra medida se refiere a la comunicación individual de los resultados de las pruebas. Se comunicaron los resultados globales a todos los participantes de la intervención, y en caso de que el deportista quiera saber detalladamente su evolución individual, se hizo de tal forma que solo él supiera sus resultados.

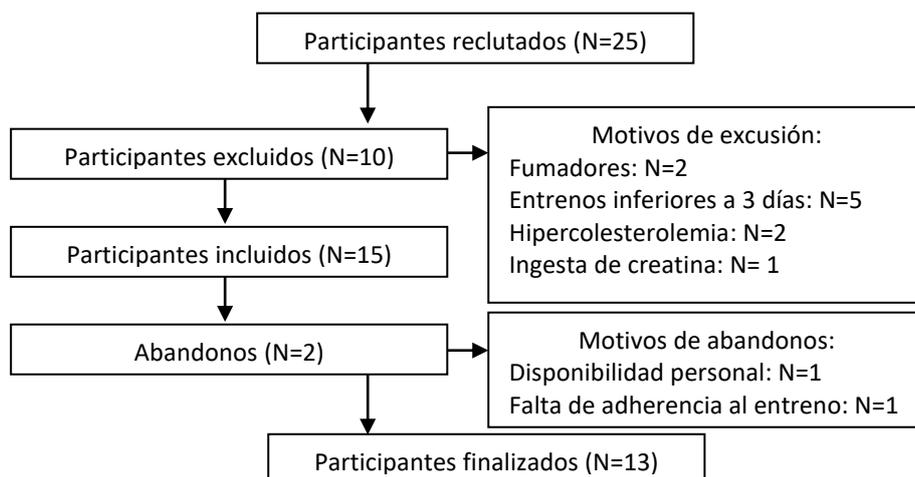
Por otra parte, cada integrante firmó un documento de consentimiento informado donde se especifican: los posibles efectos adversos, la confidencialidad de los datos, el funcionamiento del suplemento y la inocuidad de éste, así como la seguridad en cuanto a la salud de los participantes teniendo como principal premisa el bienestar del deportista.

Esté estudio ha sido revisado y aprobado por el comité ético de investigación clínica del Hospital Arnau de Vilanova (código CEIC 1742) mediante la valoración de este protocolo (Anexo 12).

4.4. Resultados.

Trece participantes finalizaron el estudio con una media de edad de 32,18 +/- 5,18 años. En la Figura 16 se visualiza el número de participantes reclutados y los finalizados.

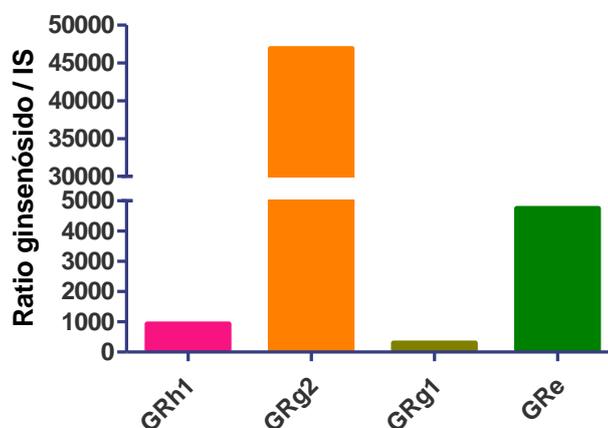
Figura 16: Diagrama de flujo del estudio caracterización y posología del extracto seco del PG.



4.4.1. Presencia de ginsenósidos en el extracto seco y muestras de sangre y orina.

No se encontraron ginsenósidos en la muestra de celulosa microcristalina (placebo). Se encontró la presencia de los 4 ginsenósidos en el extracto seco propuesto para este experimento, el Rg2 es el ginsenósido más visible en la muestra analizada (Figura 17).

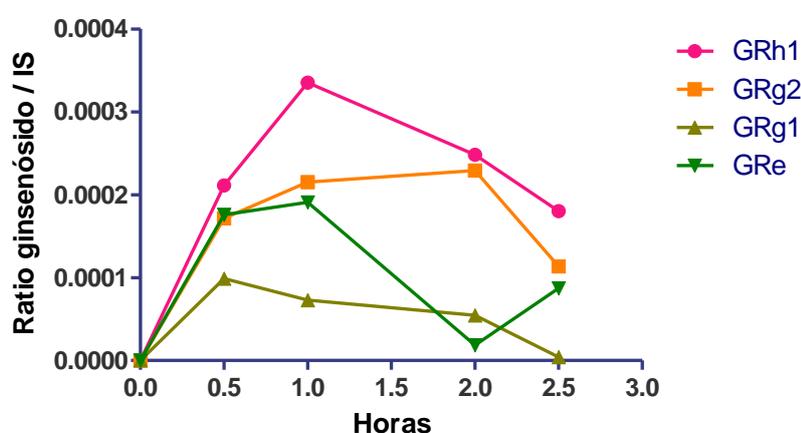
Figura 17: Ratio ginsenósido / estándar interno del extracto seco de PG



En cuanto a las muestras de plasma, no se han encontrado sustancias bioactivas del PG en el plasma de los participantes que ingirieron el placebo. Por el contrario, se han encontrado los cuatro ginsenósidos (Rh1, Rg2, Rg1 y Re) en sangre en los tiempos planteados.

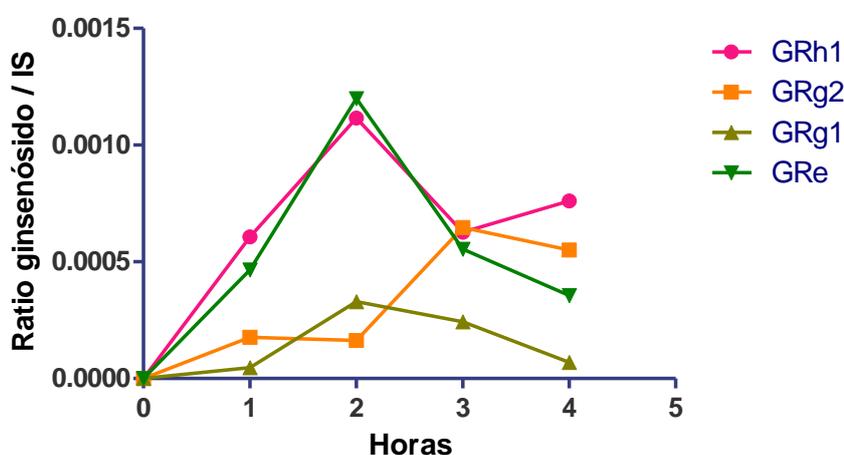
A las 2 horas posteriores de la ingesta de 500mg de PG, las ratios de los ginsenósido Rh1 y Rg2 con el IS son mayores en comparación con los ratios de Rg1 y Re en las muestras estudiadas. En la Figura 18 se observan las ratios de los cuatro ginsenósidos como medida de comprobación de su biodisponibilidad.

Figura 18: Ginsenósidos en plasma post ingesta



En cuanto a las muestras de orina, tampoco se han encontrado sustancias bioactivas del PG antes de la intervención. Se han encontrado los 4 ginsenósidos en las muestras de orina, el ginsenósido Re y el Rh1 son los que dan una mayor respuesta a las 2 horas post ingesta (Figura 19).

Figura 19: Ginsenósidos en orina post ingesta



4.4.2. Estilo de vida, adherencia y efectos adversos.

Durante la intervención todos los participantes contestaron las preguntas del cuestionario mediante los mensajes. Se mantuvieron los hábitos dietéticos y de estilo de vida durante la intervención (Tabla 12).

Tabla 12: Respuestas del cuestionario en relación al estilo de vida.

Pregunta	1ra semana		2da semana	
	Si	No	Si	No
1. En general ¿cree usted que ha cambiado su estilo de vida?	0	13	0	13
2. ¿Ha aumentado el consumo de bebidas alcohólicas como vino, cerveza, licores etc, en comparación con la ingesta que tenía habitualmente?	0	13	0	13
3. ¿ha empezado durante esta semana a fumar?	0	13	0	13

Por otra parte, se observó por medio del cuestionario (Tabla 13) que los participantes siguieron las pautas de entrenamiento indicadas por su entrenador durante las dos semanas. Un participante en la semana 2 fue excluido ya que no siguió las pautas de entrenamiento por un proceso gripal.

Además de cuantificar la adherencia al tratamiento por medio de la valoración de la presencia de los ginsenósidos en plasma y orina, se realizó un control de la ingesta de la pastilla por medio del cuestionario. No se observó falta de adherencia al tratamiento en ningún participante (Tabla 13). Solo un participante declaró que un día de la semana no tomó la pastilla durante la mañana si no en la tarde (día de descanso del entreno), no se consideró motivo de exclusión del estudio a dicho participante.

Tabla 13: Respuestas cuestionario en relación a la adherencia al entreno y a la suplementación.

Pregunta	1ra semana		2da semana	
	Si	No	Si	No
4. ¿Sigue las pautas de entrenamiento que le ha indicado su entrenador?	13	0	13	0
5. ¿Ha ingerido durante esta semana cada día las cápsulas tal como se le ha indicado?	13	0	13	0
6. ¿Ha olvidado ingerir la cápsula en el horario acordado?	1	12	13	0

En cuanto a la seguridad de la ingesta del suplemento, no se presentó ningún efecto secundario grave o exagerado relacionado con la suplementación durante las dos semanas de tratamiento. Un participante expresó nerviosismo y problemas para dormir la primera semana del tratamiento, el efecto secundario no suponía un problema mayor y por consenso se decidió que continuara una semana más, aunque se hizo un seguimiento más exhaustivo de este participante, la segunda semana no presentó dicha molestia (Tabla 14).

En cuanto a la percepción de un posible efecto positivo en el entrenamiento durante la suplementación se encontró que el 61,5% de los participantes notó un efecto positivo en sus entrenos durante la primera semana. La segunda semana la sensación positiva no solo se mantuvo sino que incremento a un 77% de los participantes. Tres participantes no notaron ningún efecto durante las dos semanas de tratamiento. La descripción del efecto positivo coincidía en una sensación de disminución en la fatiga durante la práctica deportiva y mayor predisposición al entreno.

Tabla 14: Respuestas del cuestionario en relación a los efectos adversos y a la sensación percibida durante la ingesta del suplemento.

Pregunta	1ra semana		2da semana	
	Si	No	Si	No
7. ¿Ha tenido diarrea, hinchazón, náuseas o vómitos?	0	13	0	13
8. ¿Ha notado pulsaciones aceleradas (taquicardia)?	13	13	0	13
9. ¿Ha tenido la sensación de estar más nervioso de lo habitual?	1	12	0	13
10. ¿Ha tenido insomnio o algún tipo de problema para dormir?	1	12	0	13
11. ¿Ha tenido dolor de cabeza?	0	13	0	13
12. ¿Ha notado algún efecto positivo durante la ingesta del suplemento?	8	5	10	3

4.4.3. Parámetros cardiovasculares.

Se midió la TA y la FC a tiempo 0, 1, 2 y 4 horas durante el experimento (Tabla 15). Se han observado aumentos significativos en la PAS a las 4 horas post ingesta del PG así como el aumento de la PAD basal. Los aumentos de la TA encontrados no suponen un problema para la salud del participante. No se presentaron cambios significativos en la FC.

Tabla 15: Cambios en la presión arterial y en las pulsaciones.

Antes de la ingesta de PG								
Horas	0	IC(95%)	1	IC(95%)	2	IC(95%)	4	IC(95%)
PAS (mmHg)	120,50	113,9 - 127,2	117,50	112,6 - 122,3	119,50	112,8 - 126,3	118,90	112,6 - 125,2
PAD (mmHg)	70,38	66,93 - 73,83	71,85	69,15 - 74,55	74,23	71,61 - 76,86	73,23	69,16 - 77,30
FC (ppm)	64,62	56,36 - 72,87	62,38	58,14 - 66,63	62,54	55,11 - 69,96	59,15	53,81 - 64,50
Después de la ingesta de PG								
Horas	0	IC(95%)	1	IC(95%)	2	IC(95%)	4	IC(95%)
PAS (mmHg)	122,30	117,6 - 127,0	121,50	115,3 - 127,8	119,00	113,5 - 124,5	124,6*	118,7 - 130,5
PAD (mmHg)	75,23*	71,82 - 78,64	72,85	69,16 - 76,53	73,92	70,76 - 77,09	73,46	68,72 - 78,20
FC (ppm)	61,92	54,90 - 68,95	63,23	57,95 - 68,51	59,85	54,66 - 65,03	60,15	55,02 - 65,29

* = p<0,05 comparado con el valor basal; IC: Intervalo de confianza (95% lower-upper); PAS: Presión arterial sistólica; PAD: Presión arterial diastólica; FC: frecuencia cardiaca; ppm: pulsaciones por minuto.

4.5. *Discusión.*

Uno de los objetivos de este apartado fue analizar la presencia de manera cualitativa de 4 ginsenósidos (Re, Rg1, Rg2, y Rh1), en el propio extracto y en muestras de sangre y orina de los participantes, como una medida de biodisponibilidad y de calidad del extracto.

Los motivos por los cuales se han escogido estos 4 ginsenósidos como medida de comprobación de calidad son variados. El primero es porque algunos estudios han observado la biotransformación del ginsenósido Re por la flora intestinal en los ginsenósidos Rg1, Rg2, y Rh1 (Joo et al., 2010; Yang et al., 2009a) así que es muy probable encontrar los cuatro metabolitos en muestras biológicas. El segundo es porque *The Chinese Pharmacopeia Commission* describe a los ginsenósidos Re y Rg1 como marcadores químicos de calidad de un suplemento y representan ginsenósidos naturales del extracto (Pharmacopeia, 2010). El tercero es que Yang y colaboradores (Yang et al., 2015) identificaron 22 ginsenósidos del extracto seco de PG utilizado en sus estudios, de los cuales Rg2 y Rh1 están identificados como ginsenósidos producidos durante el proceso de manufacturación, así que estos 4 ginsenósidos son clave en la cuantificación o en la valoración de la presencia de ginsenósidos en extractos y en muestras humanas.

No es la primera vez que se realiza este análisis en extractos de PG, otras investigaciones han demostrado la presencia, tanto cualitativa como cuantitativamente, de los 4 ginsenósidos aquí descritos. La cromatografía líquida acoplada a un detector de espectrometría de masas se sitúa como uno de los métodos más poderosos en la detección e identificación de componentes de plantas medicinales (Zhang et al., 2012).

El extracto seco de PG del productor Meta Pharmaceutical (Distribuido en España y producido en Italia), desde nuestro conocimiento, no ha sido analizado en otras ocasiones por ninguna investigación, pero al cumplir con todos los requerimientos de calidad descritos en la norma ISO 19610:2017 (ISO, 2017) se ha utilizado en este experimento. En el análisis de este extracto, se ha observado un pico de intensidad en el cromatógrafo notablemente apreciable de los cuatro ginsenósidos. Además, se ha observado que el ginsenósido Rh1 tiene un pico de intensidad más alto que los demás, siendo compatible con los resultados de Yang y colaboradores (Yang et al., 2015).

En cuanto a los resultados en plasma y orina permite identificar el pico máximo de absorción y eliminación, el cual se ajusta a las recomendaciones en este estudio de ingerirlo 2 horas antes del entreno.

El segundo objetivo de esta investigación fue comprobar la seguridad de la administración de 500mg de extracto seco de PG durante dos semanas, dos horas antes del entreno o de la comida si no entrena, por medio de la valoración de los efectos secundarios que pueden aparecer en los deportistas incluidos en el estudio.

El seguimiento de los efectos secundarios descritos en la bibliografía (Cepae, 1999; Kiefer and Pantuso, 2003) por medio de un cuestionario autoadministrado fue eficaz para controlar la seguridad de la suplementación. En esta investigación no se observó ningún efecto secundario asociado a la suplementación con 500mg de PG con un 30% de ginsenósidos durante las dos semanas. Estos hallazgos parecen lógicos ya que como se comentó anteriormente, dichos efectos suelen aparecer a dosis altas de PG (más de 2.5 g / día) (Mancuso and Santangelo, 2017), aun así, algunos estudios con dosis similares a las de este estudio han declarado efectos secundarios en sus participantes.

La revisión realizada por Lee y colaboradores (Lee and Son, 2011) incluyó 39 artículos que evaluaban el efecto y la seguridad del PG en varias situaciones fisiológicas (*ver: Ingesta del PG, seguridad y efectos adversos.*). De los 39 estudios incluidos, 22 artículos utilizaron dosis inferiores a 600mg de PG diarios, entre los cuales 16 usaron el extracto estandarizado G115, de éstos, 11 estudios no describieron los efectos secundarios, 4 describieron diarrea o vomito (6 pacientes) (Caron et al., 2002; Ellis and Reddy, 2002; Engels et al., 2001; Engels and Wirth, 1997) y 1 estudio (Gross et al., 2002) declaró no presentar ningún efecto adverso. Los 6 restantes usaron extracto seco de PG de otros productores y solo un estudio declaró 2 casos de diarrea (Allen et al., 1998).

Es difícil establecer los motivos por los cuales aparecen los efectos adversos en algunos estudios y en otros no, especialmente cuando hay datos que no se declaran; como la composición real de cada extracto y el horario de la toma del suplemento, como se puede apreciar, muchos estudios no recogen esta información.

Resulta interesante que de los 6 estudios que declaran efectos secundarios (dosis inferiores a 600mg), 5 declaran molestias intestinales. Estos hechos hacen pensar que estos efectos secundarios podrían estar relacionados con factores que puedan alterar el sistema digestivo como la ingesta del suplemento junto a nutrientes. Por ejemplo, de estos 6 estudios, 1 estudio

realiza la ingesta del suplemento 30 minutos antes del desayuno, (Allen et al., 1998) y otro a las 10am (Ellis and Reddy, 2002) los demás artículos no declaran el horario de la ingesta del extracto.

Es posible que uno de los efectos secundarios de mayor aparición (molestias intestinales) tenga relación con el efecto descrito del PG en los nutrientes previamente digeridos. La inhibición de la lipasa pancreática es uno de los efectos más estudiados del PG (de la Garza et al., 2011; H. J. Kim et al., 2011). Esta inhibición puede generar dichas molestias intestinales cuando las ingestas de alimentos se realizan con poco tiempo de diferencia a las ingestas del suplemento. Estos efectos secundarios se observan también en suplementos destinados a la inhibición de esta enzima para el tratamiento de la obesidad (Viner et al., 2009).

Con relación a lo anterior, es posible que el motivo por el cual en esta investigación no se presentaron efectos secundarios sea que la ingesta del suplemento fue separada como mínimo de 2 horas a la comida, la ingesta estaba relacionada con el momento del entrenamiento.

Otro aspecto relacionado con la seguridad del suplemento son los posibles cambios que pueden ocurrir en la PA y la FC. Después de dos semanas de tratamiento con PG, se ha observado un aumento de la TAS a las 4 horas posteriores de la ingesta del suplemento y un aumento de la TAD basal. El aumento o disminución de la TA es uno de los efectos con mayor evidencia (Kiefer and Pantuso, 2003), especialmente a dosis altas y durante tiempos prolongados en el tiempo (Thompson Coon and Ernst, 2002). Este efecto “adaptógeno” se ha visto en diferentes posologías de PG y al parecer está relacionado o con el posible aumento del óxido nítrico (favorece a la hipotensión) o al aumento de hormonas como el cortisol (favorece a la hipertensión) (Nakajima et al., 1998; Sung et al., 2000).

Es necesario realizar más experimentos con estas dosis para valorar si el aumento o disminución de la TA es constante, ya que aunque se ha visto dicho aumento, a nivel clínico no es relevante.

La limitación principal de este estudio recaen en el hecho de que se realizó una valoración de la presencia y no una cuantificación de los 4 ginsenósidos en el extracto y en muestras de sangre y orina. Este hecho limita el estudio de la biodisponibilidad real del extracto y su bioconversión. Es importante recordar que dependiendo de la flora intestinal presente en cada participante la metabolización de cada ginsenósido es variada con posibles efectos terapéuticos diferentes entre personas. Se recomienda a futuros estudios homogenizar la muestra en este sentido para evitar esta variable confusora.

Aunque el cuestionario utilizado ha demostrado una buena adherencia de los participantes al estilo de vida y a los entrenamientos, hay que recordar que el cuestionario utilizado no está validado por ningún estudio, es de elaboración propia, sería conveniente realizar los estudios comparativos necesarios para determinar si esta metodología es representativa para controlar efectos adversos y cambios en estilo de vida que puedan alterar los resultados. Se recomienda a futuras investigaciones utilizar un registro dietético y de entrenos para el control de la nutrición y entrenamientos. Además, realizar un conteo del blíster con las pastillas una vez finalizado el experimento para asegurar la adherencia a la suplementación parece un método también eficaz para controlar la adherencia, Caron y colaboradores utilizaron este método para cuantificar la adherencia (Caron et al., 2002).

Por último, aunque se observa que las dosis y frecuencias de PG utilizadas en este estudio no muestran efectos adversos, se recomienda vigilar la aparición de cualquiera de ellos en futuros estudios.

4.6. Conclusiones.

1. Una dosis de 500mg de PG al 30% de ginsenósidos durante dos semanas es comparable con los estudios observados en la revisión sistemática y meta-análisis del efecto del PG en el metabolismo lipídico en humanos.
2. El extracto seco de PG del distribuidor Meta Pharmaceutical tiene al menos los 4 ginsenósidos analizados en este experimento (Rh1, Rg2, Rg1 y Re).
3. Los cuatro ginsenósidos son biodisponibles siendo encontrados en plasma y orina post ingesta. Para analizar la presencia de los ginsenósidos en plasma con una o dos horas posteriores a la ingesta es suficiente para asegurar su biodisponibilidad.
4. No se presentan efectos secundarios en hombres deportistas que han ingerido 500mg de PG (30% ginsenósidos) una vez al día, durante dos semanas, dos horas antes de los entrenos o de la comida, demostrando que este protocolo de estudio es seguro.
5. La adherencia al tratamiento en deportista es buena y las dosis y frecuencias sugeridas son viables.

**EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON EXTRACTO
SECO DE PANAX GINSENG EN EL PERFIL LIPÍDICO
PLASMÁTICO BASAL Y POST INGESTA DE GRASAS EN
HOMBRES DEPORTISTAS.**

5. Efecto de la suplementación con extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático basal y post ingesta de grasas en hombres deportistas.

5.1. Introducción.

5.1.1. La nutrición como componente esencial en el rendimiento deportivo.

El abordaje nutricional y dietético en los atletas es determinante para obtener todos los nutrientes necesarios de cada modalidad deportiva y en todos los niveles de competición. Es imprescindible tener claro las necesidades de macronutrientes (hidratos de carbono, proteínas, y lípidos) y de micronutrientes (vitaminas y minerales) el día a día y poder obtener la energía necesaria, así como las necesidades energéticas pre / post / durante entreno o competición.

Establecer la cantidad necesaria de macronutrientes es complejo, no solo por el hecho de que la investigación en este campo es joven y no disponemos de la suficiente evidencia científica en el campo, sino porque dicha ingesta depende del tipo de modalidad deportiva, la intensidad, las horas semanales dedicadas a los entrenamientos y a la eficiencia energética individual.

La ingesta de carbohidratos es la primera fuente de energía necesaria para mantener las prestaciones deportivas, sobre todo para tener energía disponible a nivel muscular y sistema nervioso central. La ingesta necesaria de carbohidratos en un atleta puede oscilar entre 3-7g / Kg peso (Burke et al., 2011) los niveles con menos carga deportiva y entre 8-12g / Kg peso (Burke et al., 2011) (Thomas et al., 2016) los niveles con más alta intensidad y horas de entrenamiento.

La cantidad necesaria de las proteínas diarias en los deportes de resistencia aeróbica, se ubican en 1,4 - 2g de proteína / kg de peso (Jäger et al., 2017). Se debe tener en cuenta todos los factores que puedan cambiar estas necesidades como la intensidad de los entrenamientos, las horas de carga semanal y la personalización de la dieta. Existen algunas recomendaciones generales que ayudan al atleta a optimizar este aspecto: las tomas deben ser entre 20-25g de proteína y tener en cuenta las digestiones del deportista a la hora de recomendar la ingesta de proteína antes de entrenar o competir. No hay evidencia suficiente de que ingestas proteicas durante las competiciones favorezcan al rendimiento. Después de los entrenamientos o

competiciones conviene añadir tomas de proteína junto a la ingesta de hidratos de carbono en relación 4:1 según necesidades (Kerksick et al., 2008).

La ingesta de lípidos diaria actualmente no tiene una recomendación clara o útil en el deportista, aun así, la ingesta de este macronutriente debe realizarse entre el 25 y el 30% de la ingesta calórica distribuido durante el día. Recordemos que las vitaminas liposolubles, los ácidos grasos poliinsaturados y todos aquellos nutrientes presentes en este macronutriente son esenciales, el deportista necesita este aporte en todos los momentos de la temporada para mantener un estado de salud y un rendimiento óptimo. Desde el punto de vista dietético, se ha observado que la introducción de un aporte adecuado de la grasa mejora la adherencia del deportista a una dieta, sobre todo porque mejora la palatabilidad de los platos haciéndolos más atractivos y gustosos.

Se debe tener especial control con los tiempos de prescribir la ingesta de este nutriente, la digestión durante entrenos o competiciones se puede ver comprometida y puede presentar efectos secundarios que pueden limitar el rendimiento. Se recomienda distanciar en el tiempo la ingesta de lípidos pre-entrenos o competición, además, durante la actividad no representan ningún beneficio especial comprobado. La ingesta de lípidos después de la actividad se puede volver a incorporar pudiéndose incluir en la ingesta post entrenamiento.

5.1.2. Absorción de nutrientes: lípidos y glucosa.

La absorción de nutrientes se lleva a cabo por una serie de reacciones enzimáticas que implican muchos sistemas, principalmente el sistema digestivo y el hígado. Desde el punto de vista energético una vez se ha absorbido la glucosa es transportada por el torrente sanguíneo para ser incorporada al hígado por los receptores GLUT2 en un proceso no afectado por la insulina para posteriormente ser utilizada por el organismo. La glucosa en el hígado sufre procesos enzimáticos para ser almacenada en forma de glucógeno hepático o ser catabolizada hasta piruvato para ser incorporada en el ciclo de krebs. La fructosa o galactosa pueden ser transformadas a glucosa para seguir las mismas vías energéticas.

La digestión de las grasas es complejo a modo de resumen, el estómago interviene en el proceso de digestión de las grasas debido a su acción agitadora, y en la mezcla con la lipasa gástrica que ayuda a crear emulsiones. Las grasas que entran en el intestino se mezclan con la bilis y posteriormente se emulsionan. La emulsión es entonces tratada por las lipasas segregadas por el páncreas. La lipasa pancreática es una enzima importante en la absorción de grasas, se secreta al

intestino delgado desde el páncreas y ayuda a descomponer las grasas de la dieta para convertirlas en ácidos grasos y glicerol y así facilitar la absorción por el intestino.

Los lípidos de la dieta ingresan al hígado desde dos orígenes o bien por los ácidos grasos libres de cadena corta y media por absorción directa del intestino o por la aportación de grasas de la dieta transportados por el remanente de quilomicrones (conjunción de fosfolípidos, apolipoproteínas, triglicéridos y colesterol) formados a partir de la digestión.

Muchos sistemas utilizan las grasas (TG) provenientes de los quilomicrones antes de ser aportados al hígado (especialmente el tejido adiposo y muscular) gracias a los receptores de las lipoproteínas. El aporte de colesterol a las células sucede por las lipoproteínas de baja o muy baja densidad (LDL o VLDL) mientras que su eliminación sucede por las de alta densidad (HDL).

Figura 20: Absorción de glucosa y grasas a nivel intestinal.

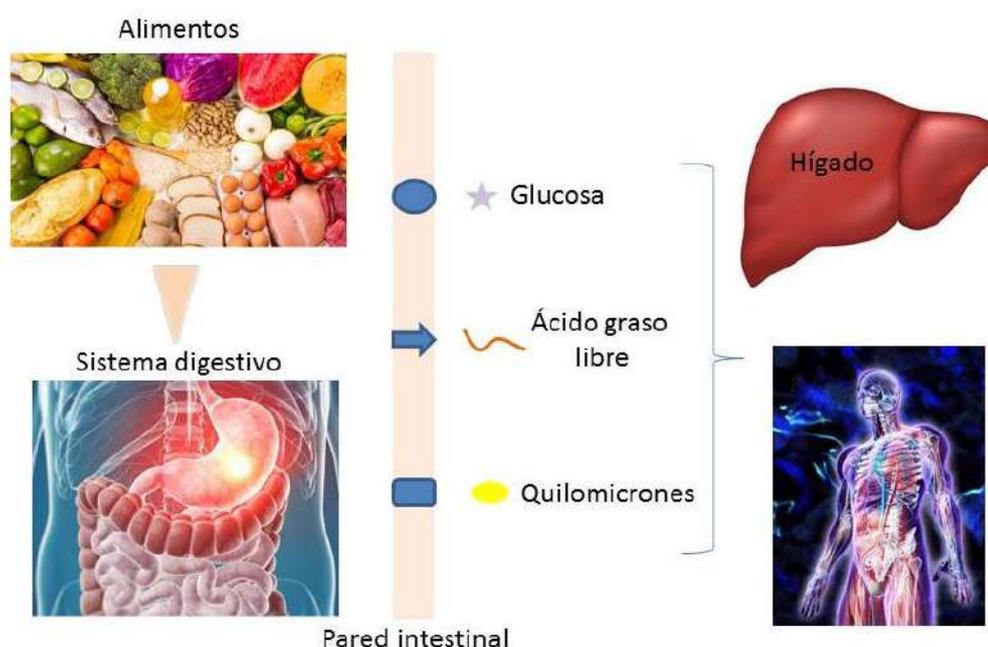


Imagen propia.

5.1.3. Utilización de la energía a nivel de músculo esquelético.

Partiendo de la idea que la principal función de las células musculares es la generación de movimiento por medio de la contracción muscular utilizando las sustancias nutritivas para generar energía (ATP), a nivel deportivo el músculo esquelético tiene un papel muy importante en el mantenimiento del balance energético del deportista.

La glucosa sanguínea (proveniente de la dieta o del hígado) es incorporada a las células musculares por transportadores GLUT4 dependientes de insulina, es fosforilada y metabolizada a piruvato y utilizada para obtener ATP o almacenada en forma de glucógeno en el musculo. El proceso de obtención de energía sucede por varias vías, dependiendo de la intensidad del trabajo, el piruvato puede ser utilizado vía fosforilación oxidativa, si hay suficiente cantidad de oxígeno disponible para ser utilizado por la cadena de transporte de electrones de la mitocondria, o para ser utilizado de manera anaeróbica reduciéndolo a lactato para generar ATP. En la Figura 21 se puede observar el ciclo de Cori que hace referencia al proceso completo anteriormente explicado.

Figura 21: Metabolismo glucídico en el musculo esquelético.

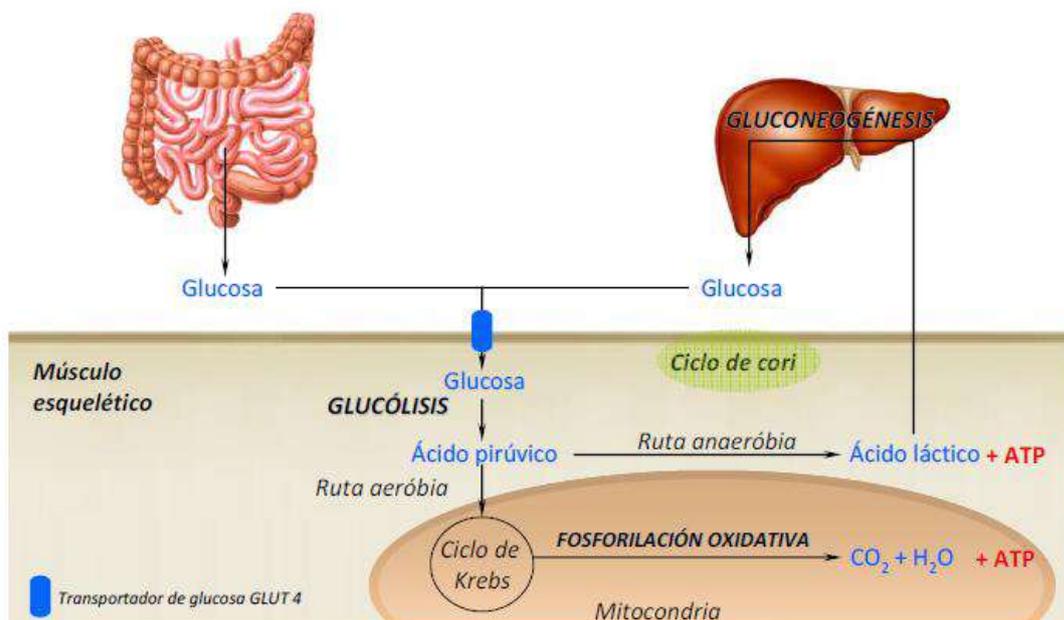


Imagen obtenida de la tesis doctoral del Dr. Hugo González (Gonzalo-Benito, 2012).

5.1.4. Utilización de la energía a nivel del tejido adiposo.

Los lípidos de la dieta se convierten en uno de los macronutrientes con mayor influencia en muchos aspectos relacionados con el rendimiento deportivo, no solo por el hecho de que su exceso (junto al de glucosa, por el proceso de lipogénesis) se almacene en las reservas corporales y aumenten el peso corporal si no porque el efecto contrario (lipólisis) solo ocurre por cuestiones individuales hormonales, dietéticos, economía del deportista e incluso por la intensidad del deporte.

De esta manera, la utilización de la energía a partir de lípidos a nivel muscular es uno de los procesos con mayor interés en el ámbito deportivo, el proceso de β -oxidación sucede a nivel

muscular constantemente a partir de los FFA ya sean por la introducción de éstos directamente a la célula o por la hidrólisis de TG. Una vez en el interior de la célula, los FFA pueden ser utilizados para unirse a las membranas como parte de los fosfolípidos o para ser almacenados en forma de TG o como sustrato energético en la mitocondria para la generación de ATP.

A modo de resumen en la Figura 22 se presenta las interacciones entre sustratos energéticos entre hígado, musculo esquelético y tejido adiposo.

Figura 22: Interacciones entre sustratos energéticos entre hígado, musculo esquelético y tejido adiposo.

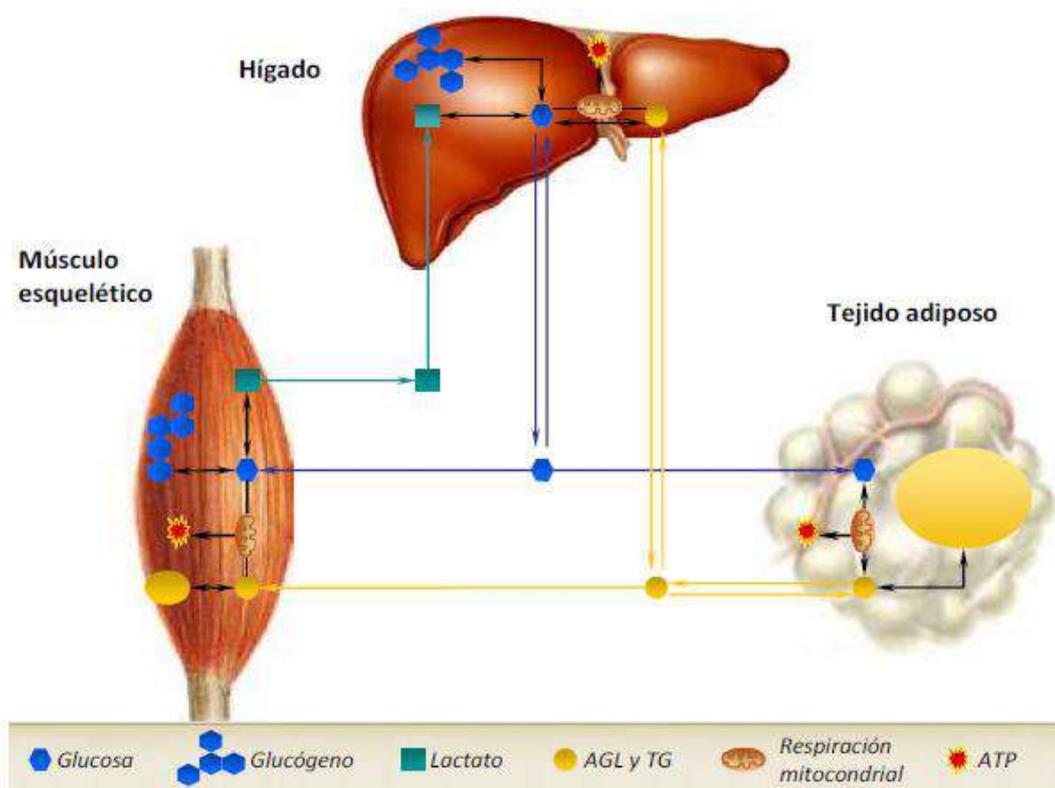


Imagen obtenida de la tesis doctoral del Dr. Hugo González (Gonzalo-Benito, 2012).

5.1.5. Efecto del PG en el metabolismo lipídico.

El efecto del PG en el metabolismo lipídico genera gran interés por muchos investigadores, especialmente el efecto relacionado en el metabolismo del deportista ya que es uno de los puntos claves en el rendimiento, la fatiga y el bienestar del deportista. El efecto del PG en el colesterol es una de las cuestiones de mayor estudio, seguramente por la relación con la salud cardiovascular. La disminución de los niveles de colesterol en plasma en humanos, por medio de la suplementación con PG, se ha estudiado ampliamente (Tabla 6). Como se comentó anteriormente, se ha observado que los metabolitos del ginseng pueden disminuir la síntesis de

colesterol en las células HepG2 por la reducciones de la expresión del HMGCR y el SREBP2, que están involucrados en la síntesis de colesterol (Han et al., 2017). Igualmente, se ha sugerido que los cambios en el perfil lipídico plasmático pueden estar también relacionado con los efectos del PG sobre las proteínas relacionadas con el transporte inverso de colesterol (ABCA1, ABCG5 y ABCG8) en asociación con la activación de LXR α (Zhou et al., 2016). En el tratamiento con ginsenósidos individuales como el ginsenósido Re también se observó una reducción significativa en el nivel de colesterol total en ratas diabéticas (Cho et al., 2006).

El efecto del PG en los triglicéridos y los lípidos totales plasmáticos y hepáticos también están en el punto de mira en los experimentos en animales y celulares, aunque los estudios en humanos actualmente no muestran efectos significativos en estos parámetros (ver pág. 45).

Los estudios que se han centrado en el efecto del PG en los procesos digestivos, se han enfocado especialmente en la absorción de lípidos después de la ingesta de éstos. Se ha observado que el PG produce inhibición de la lipasa pancreática in vitro, reduciendo su actividad entre el 20-80% en comparación con el grupo control con una concentración de 200-800 $\mu\text{g/mL}$ de extracto de PG (Karu et al., 2007). Por otra parte, Kim y colaboradores (Kim and Park, 2003) han informado que algunos ginsenósidos y en especial el ginsenósido Rb2 puede acelerar el recambio de colesterol, aumentando así la degradación y excreción de éste a nivel intestinal dando como resultado una disminución de los TG y CT.

En relación a lo anterior se ha observado una inhibición del aumento peso corporal dando un efecto anti-obesidad y una disminución de la hipertrigliceridemia después de un consumo de una dieta alta en grasas en ratas (Karu et al., 2007; Kim et al., 2005). La expresión del neuropéptido Y, los niveles del factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y el nivel de leptina en suero también fueron reducidos en estas ratas, ambos relacionados con el balance energético (Chung et al., 2016). Los niveles de adiponectina, que se han encontrado inversamente relacionados con la aparición de obesidad y actividad anti-aterosclerótica, fueron aumentados en ratas con dieta alta en grasa y suplementados con PG (Chung et al., 2016). El ginsenósido CK (3 y 9 mg / kg) mostró una significativa disminución de las lesiones ateroscleróticas entre un 55% y 63%. El contenido de colesterol de la pared de la aorta también disminuyó (Zhou et al., 2016).

Además, se ha observado que el PG tiene propiedades de aumento de la lipólisis y disminución de la lipogénesis por medio de las enzimas reguladora de lípidos, resultados muy interesantes desde el punto de vista deportivo. Las enzimas lipogénicas como la ácido graso sintasa, ácido malico hidrogenasa y la glucosa-6-phosfato dehidrogenasa, importantes enzimas en la

biosíntesis de colesterol y ácidos grasos, se ve disminuida su actividad limitando la disponibilidad de ácidos grasos necesarios para la síntesis de TG, lo que resulta en una disminución en los niveles totales de TG en el suero (Chung et al., 2016).

A nivel hepático, como bien se sabe, la acumulación de TG conduce a esteatosis acompañada de la inhibición de la síntesis de fosfolípidos, el aumento en el hígado de citocromo microsomal P-450 conduce a dicha acumulación. El nivel de citocromo P-450 y la actividad de NADPH-citocromo P-450 reductasa en el hígado de rata fueron disminuidos con un tratamiento con ginsenósido Rb1 (10 mg) (Park et al., 2002). Además se observó que Rb1 puede estar involucrado directamente en la formación de Adenosín monofosfato cíclico para inhibir la acumulación de TG en el hígado (Park et al., 2002).

Todos estos aspectos generan gran interés en el ámbito del deportista, además como hemos comentado en la revisión sistemática (ver pág. 15) son muchos los estudios en humanos que han evaluado este aspecto dando a conocer los beneficios del PG en el metabolismo lipídico. Los mecanismos de acción actualmente están por dilucidarse aunque, como podemos observar, hay muchos estudios realizados en animales o en experimentos *in vitro* que han evaluado las vías por el cual el PG tiene un efecto en los lípidos.

Por todo lo anterior y tal como se comentó en el anterior experimento, se plantea una serie de experimentos (apartados 5, 6 y 7) para valorar el efecto del PG en el metabolismo lipídico en el deportista tanto a nivel de absorción de grasas como posible efecto ergogénico durante la actividad. El primero de estos experimentos es un estudio un hombres corredores para evaluar el efecto de 500mg de extracto seco de PG en el perfil lipídico plasmático pre / post ingesta de grasa y valorar si el efecto en la absorción de lípidos observado en algunas investigaciones se ve reflejado en este colectivo.

5.2. Objetivos.

5.2.1. Objetivos generales.

- Valorar el efecto de 500mg de extracto seco de PG en hombres corredores en la homeostasis de la grasa post prandial.

5.2.2. Objetivos específicos.

- Estudiar los cambios en el perfil lipídico plasmático en ayuno después de dos semanas de tratamiento con 500mg de PG.
- Observar el efecto del suplemento en el perfil lipídico plasmático después de 2 y 4 horas posteriores a una ingesta alta de grasa (*fat challenge*).
- Valorar parámetros plasmáticos asociados al metabolismo energético durante el experimento (glucemia, lactato y ácido úrico).

5.3. Metodología.

Para responder a los anteriores objetivos, llevamos a cabo una intervención experimental observacional pre - post intervención durante 2 semanas siguiendo los siguientes pasos.

Se seleccionaron los mismos deportistas que finalizaron el experimento anterior (apartado 4, ver: pág. 51), se revisaron nuevamente los criterios de inclusión (ver: pág. 64) y se entregaron las hojas de información al paciente (Anexo 7) y se firmó el consentimiento informado (Anexo 8). Este experimento se realizó con tres semanas de diferencia entre intervenciones, durante este tiempo los participantes no ingirieron ningún tipo de suplemento de tipo ergogénico.

Se citaron a los participantes en dos ocasiones, al inicio (día 1) y al finalizar la intervención (día 15), en ayunas a las 8:00am (Figura 23). Se realizó una extracción de sangre capilar en el dedo de la mano a tiempo 0, 2 y 4 horas antes y después de la intervención. El participante durante las 4 horas permaneció quieto, sentado o con una actividad física no intensa, podía dar un paseo caminando. No se permitió comer ningún tipo de alimento.

Los participantes recibieron una descripción de la dieta a consumir la noche anterior a la prueba (Tabla 16). La cena se distribuyó calóricamente de la siguiente manera: 480kcal; 62+/- 1% de carbohidratos; 16+/- 1% de lípidos; 22 +/- 1% de proteínas con el fin de estandarizar la ingesta de grasas previa a la intervención.

Tabla 16: Descripción de la cena previa a las intervenciones.

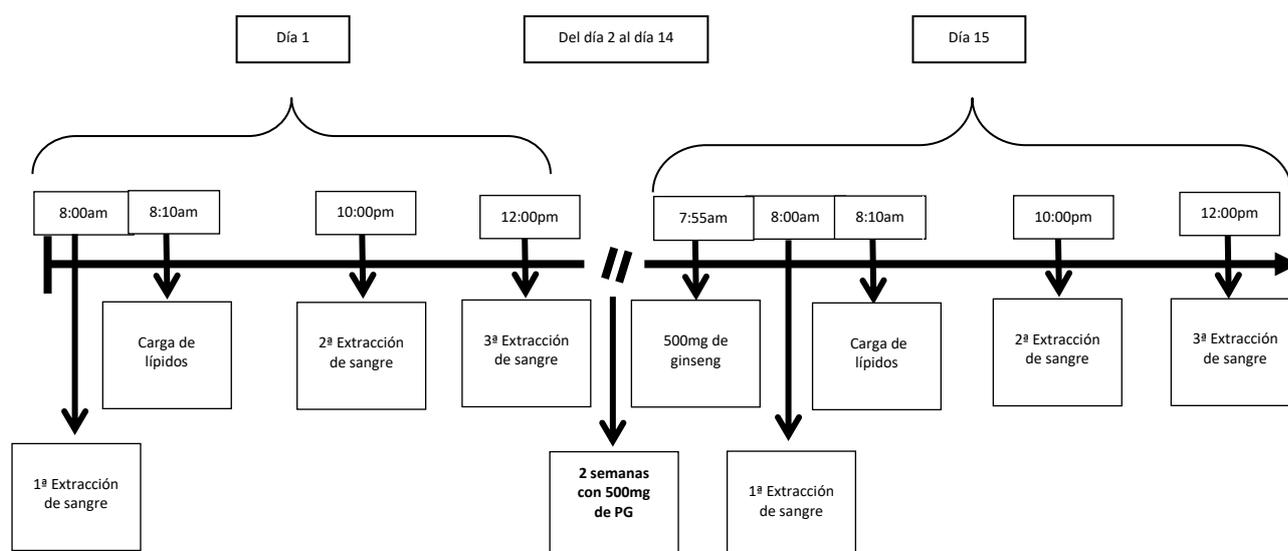
Cena previa a la prueba, ingesta máxima.
1er plato Un plato de verdura u hortalizas, crudas, cocidas o en forma de puré (sin patata o lácteos como quesito o leche), + 1 cucharada de postre de aceite para cocinar y aliñar. +
2do plato 240g (80g) de arroz o 300g (90g) de pasta o patata hervida. + 80g de ternera o lomo de cerdo o 100g de pescado blanco o 90g de pollo. +
Postre 1 yogurt semidesnatado.

Para la valoración del perfil lipídico post prandial, se realizó una carga de lípidos (*fat challenge*) después de la primera extracción sanguínea en ambas ocasiones (8:10am). Dicha carga consiste en 500ml de batido de leche chocolateada que contiene: 400ml de nata líquida (66g de grasa,

6.8g de azúcar, 4g de proteínas y agua) y 100ml de batido de leche chocolateada (1.5g de grasa, 13.7g de azúcares, 2.5g de proteínas y agua) (Kardinaal et al., 2015), dicho batido aporta aproximadamente 1g de lípidos/kg de peso.

A partir del día 2, cada día, el participante ingirió 500mg de PG 2 horas antes del entreno, los días de descanso la ingesta se realizó 2 horas antes de la comida del medio día.

Figura 23: Esquema de la intervención. Efecto del Panax Ginseng en el metabolismo lipídico y energético.



En las extracciones de sangre, se obtuvieron 2 tubos de 300µL (Microvette CB300LH, ref: 16434) de sangre capilar cada uno. Se centrifugaron a 2000rpm durante 6 minutos para obtener el plasma. Cada muestra se separó en 2 alícuotas (Tubo de microcentrífuga Ref: 175510) y se conservaron a -80º C hasta su análisis.

5.3.1. Participantes en el estudio.

5.3.1.1. Criterios de inclusión.

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

5.3.1.2. Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

5.3.2. Tamaño de la muestra.

Para calcular el tamaño de la muestra del experimento hemos utilizado las tablas de referencia del libro “Métodos de investigación clínica y epidemiológica” de Josep María Argimon (Argimon, 2004). (Tabla F del libro, para la comparación de dos medias mediante la prueba de la t de Student-Fisher). Para el cálculo se procedió de la siguiente manera:

- La variable dependiente principal es de tipo cuantitativa, la hipótesis es de tipo bilateral, el error alfa que se asume para esta investigación es del 0,05 y el error beta es del 0,2.
- Para valorar la diferencia mínima entre los dos grupos, se ha utilizado la variable dependiente principal denominada como el cambio de 4 mg/dL de colesterol total plasmático (Hernández-García et al., 2019) como medida representativa de cambio en el metabolismo lipídico.
- La desviación estándar del cambio en los niveles de colesterol total obtenida de la revisión sistemática es de $S=3,698$. Así que el $d/s=1,1$

Tamaño de la muestra según tablas es de 13 participantes.

5.3.3. Variable independiente y aleatorización.

En este estudio la variable independiente es una variable cualitativa dicotómica y se denomina como la ingesta de 500mg de extracto seco de PG al día o la no ingesta del suplemento. En este estudio no se realizó ningún tipo de aleatorización.

La suplementación fue elaborada por el mismo laboratorio de Formulación Magistral que elaboró la suplementación en el apartado anterior. El extracto de PG pertenece a la categoría de extracto seco, con certificado de análisis y ficha de seguridad (Anexo 6) expedido por un distribuidor de materias primas farmacéuticas Meta Pharmaceutical (ver *Dosis y frecuencia de administración*. pág. 55).

5.3.4. Variables relacionadas con el metabolismo lipídico.

5.3.4.1. Lípidos totales.

Variable cuantitativa continua, se entiende como los LT en el plasma medidos en mg/dL durante los períodos establecidos. El principio del método consiste en que los lípidos reaccionan con el ácido sulfúrico en caliente con formación de iones carbonio. En una segunda etapa, éstos, en presencia de fosfovainillina dan una coloración rosada. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lípidos totales presente en la muestra. El lector es un espectrofotómetro (Thermo LabSystems Multiskan Ascent, modelo 354). En la Tabla 17 se observa el procedimiento para la cuantificación de este parámetro.

Tabla 17: Determinación cuantitativa de lípidos totales.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Pipetear en un microtubo de 1ml, 250µL de ácido sulfúrico + 10µL de muestra o patrón. ● Realizar un vortex durante 10 segundos e incubar 10 minutos a 100 °C. ● Colocar en una placa de 96 pocillos: 5µL del hidrolizado con 100µL de reactivo R (Fosfovainillina). ● Mezclar en agitador orbital (5 minutos) e incubar 15 minutos a 37 °C. ● Leer absorbancia a 530 nm. ● Límite de detección: 7,7 mg/dL - 1500 mg/dL. Valores de referencia: 450 - 800 mg/dL. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Recta patrón.	Serie de 5 puntos de lípidos totales (0, 150, 300, 600 y 750 mg/dL) disuelto en agua milliQ.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
Reactivo 1: Fosfovainillina 235 mmol/L, ácido fosfórico 2 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	1001270 del kit
Patrón acuoso de lípidos totales (750 mg/dL).	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	
Ácido sulfúrico concentrado.	Baker, Fisher Scientific SL. Madrid España.	6057

5.3.4.1. Colesterol total.

Variable cuantitativa continua, se entiende como el CT plasmático medido en mg/dL durante los períodos establecidos. Se midió por medio del kit de Spinreact de reacción enzimática. El principio del método consiste en que el colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:

Ésteres de colesterol + H₂O por medio del colesterol estearasa genera colesterol + Ácidos grasos, luego, el colesterol + O₂ por medio del colesterol oxidasa genera 4-Colestenona + H₂O₂, finalmente el H₂O₂ + Fenol + 4-Aminofenazona por medio de la peroxidasa genera una quinonimina. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de la muestra. El lector es un espectrofotómetro (Thermo LabSystems Multiskan Ascent, modelo 354). En la Tabla 18 se observa el procedimiento para la cuantificación de este parámetro.

Tabla 18: Determinación cuantitativa de colesterol total.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivo de trabajo (RT): Disolver el contenido de un vial de R2 Enzimas en 1 frasco de R1 Tampón. ● Colocar en una placa de 96 pocillos: 2.5µL de muestra y 250µL de RT. ● Mezclar e incubar 5 minutos a 37 °C o 10 minutos a temperatura ambiente. ● Leer la absorbancia a 530nm. ● El color es estable como mínimo 60 minutos. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Recta patrón.	Serie de 5 puntos de colesterol total (0, 50, 100, 150 y 200 mg/dL) disuelto en agua milliQ.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
R1 Tampón: PIPES 90mmol/L pH 6.9, Fenol 26mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	1001090 del kit
R2 enzimas: Colesterol oxidasa 300U/L, Colesterol esterasa 300U/L, 4-aminofenazona 0,4mmol/L, peroxidasa 1250U/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	
Patrón acuoso de colesterol total (200 mg/dL).	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	

5.3.4.2. Triglicéridos.

Variable cuantitativa continua, se entiende como los triglicéridos plasmáticos medidos en mg/dL. Se midió por medio del kit de Spinreact de reacción enzimática. El Principio del método consiste en que los triglicéridos incubados con lipoproteínlipasa liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa y ATP en presencia de glicerol quinasa para producir glicerol-3-fosfato y adenosina-5-difosfato. El glicerol-3-fosfato es convertido a dihidroxiacetona fosfato y peróxido de hidrógeno por glicerolfosfato deshidrogenasa. Al final, el peróxido de hidrógeno reacciona con 4-aminofenazona y p-clorofenol, reacción catalizada por la peroxidasa dando una coloración roja. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra. El lector es un espectrofotómetro (Thermo LabSystems Multiskan Ascent, modelo 354). En la Tabla 19 se observa el procedimiento para la cuantificación de este parámetro.

Tabla 19: Determinación cuantitativa de Triglicéridos.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivo de trabajo (RT): Disolver el contenido de un vial de R2 Enzimas en 1 frasco de R1 Tampón. ● Colocar en una placa de 96 pocillos: 2.5µL de muestra y 250µL de RT. ● Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. ● Leer absorbancia a 492 nm. ● El color es estable como mínimo 30 minutos. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Recta patrón	Serie de 5 puntos de triglicéridos (0, 50, 100, 150 y 200 mg/dL) disuelto en agua milliQ.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
R1 Tampón: GOOD 50mmol/L pH 7,5 y p-Chlorophenol 50mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	MD41031 del kit
R2 enzimas: Lipoprotein lipasa (LPL) 150000U/L, Glicerol quinasa (GK) 500U/L, Glicerol-3-oxidasa 3500U/L, Peroxidasa 440U/L, 4-Aminofenazona (4-AF) 0,1mmol/L y ATP 0,1mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	
Patrón acuoso de triglicéridos (200 mg/dL).	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	

5.3.4.3. Ácidos grasos no esterificados.

Variable cuantitativa continua, se entiende como los ácidos grasos no esterificados (NEFAs) plasmáticos medido en mM. El principio del método se basa en la conversión de los NEFAs en jabones de cobre y el uso de difenilcarbazida para su determinación colorimétrica (Falholt et al., 1973). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de NEFAs presente en la muestra. El lector es un espectrofotómetro Epoch de Biotek Instruments, Inc. En la Tabla 20 se observa el procedimiento para la cuantificación de este parámetro.

5.3.5. Variables relacionadas con el metabolismo energético

5.3.5.1. Lactato.

Variable cuantitativa continua, se entiende como el lactato (LAC) plasmático medido en mg/dL. Se medirá por medio del kit de Spinreact de reacción enzimática. El principio del método consiste en que el lactato es oxidado y en presencia de peroxidasas forman un compuesto rojo de quinona. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de lactato presente en la muestra. El lector es un espectrofotómetro (Thermo LabSystems Multiskan Ascent, modelo 354). En la Tabla 21 se observa el procedimiento para la cuantificación de este parámetro.

Tabla 20: Determinación cuantitativa de ácidos grasos libres.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● En un vial de cristal de 1,5 ml, añadir 10µL de plasma o patrón con 200µL de tampón fosfato y 1,2ml de la solución de extracción (cloroformo:heptano:metanol). ● Realizar un vortex por 90s y dejar reposar durante 15 min. ● Centrifugar a 4000rpm durante 10 minutos. ● Remover la fase acuosa. ● Añadir 400µL de Cu-TEA y agitar durante 5 minutos en el agitador orbital. ● Centrifugar a 4000 rpm durante 5 minutos. ● Transferir 150µL de la fase inferior (transparente) a una placa de 96 pocillos de cuarzo. ● Adicionar 25µL de la solución de difenilcarbazida. ● Dejar que reaccione durante 15 minutos y leer la absorbancia a 550 nm 		
Soluciones	Composición y preparación	
Solución de extracción.	Solución de cloroformo:heptano 1:1, al cual se le agrega un 2% de metanol (para 100ml 49:49:2). Tomar en cuenta que se necesitan 1,2ml por muestra.	
Tampón fosfato pH 6,4.	Disolver 27,2g de KH_2PO_4 en 500ml de agua y ajustar a 1L. Disolver 53,62g de Na_2HPO_4 en 500ml y ajustar a 1L. Mezclar 73,5ml de solución KH_2PO_4 y 26,5ml de Na_2HPO_4 . Agregar 100ml de agua y verificar pH.	
Solución Cu-TEA.	Mezclar: 10ml de una solución 0,5M de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ con 10ml de una solución 1M de trietanolamina (TEA) y 6ml de una solución 1N de NaOH, por último agregar 3.3 g de NaCl. Ajustar el pH a 8,1. Diluirlo dicha solución hasta un volumen de 100ml con agua. (Hacer la mezcla en el orden que indica el protocolo)	
Solución DPC.	Preparar el día del análisis 20-30ml al 0,4% de 1,5-dipheylcarbazide en etanol. Inmediatamente antes de utilizarlo, a 10ml de esta solución se añade 100uL de TEA 1M.	
Recta patrón.	Preparar una solución 2mM de ácido palmítico disuelto en cloroformo:heptano:metanol. Preparar diluciones seriadas a partir de ella. La concentración en sangre puede estar alrededor de 0,3-0,4 mM.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
Cloroformo.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	34854
Heptano.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	246654
Metanol 99,9%.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	34860
Fosfato monopotásico (KH_2PO_4).	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	P5379
Fosfato disódico (Na_2HPO_4).	Honeywell Riedel-de Haën AG, Seel, Alemania	30412
Nitrato de cobre ($\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$).	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	467855
Trietanolamina (TEA).	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	90279
Hidróxido sódico (NaOH).	Panreac Quimica SL, Barcelona, España.	131687
Sodio Cloruro (NaCl).	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	S9888
1,5-Diphenylcarbazide (DPC).	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	259225
Etanol Absoluto.	Farmacéutica Carbó SL, Barcelona, España.	414608
Ácido palmítico.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	76169

Tabla 21: Determinación cuantitativa de Lactato.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivo de trabajo (RT): Disolver el contenido de un vial de R2 enzimas en 1 frasco de R1 Tampón. ● Colocar en una placa de 96 pocillos: 1.5µL de muestra y 150µL de RT. ● Incubar 10 minutos a temperatura ambiente. ● Leer absorbancia a 530 nm. El color es estable como mínimo 30 minutos. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Recta patrón.	Serie de 5 puntos de Lactato (0, 2,5, 5, 7,5 y 10 mg/dL) disuelto en agua milliQ.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
R1 Tampón: PIPES 50 mmol/L pH 7.5 y 4-Clorofenol 4 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	1001330 del kit
R2 enzimas: Lactato oxidasa 800 U/L, Peroxidasa 2000 U/L, 4-aminofenazona 0.4 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	
Patrón acuoso de Lactato (10mg/dL).	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	

5.3.5.1. Glucosa.

Variable cuantitativa continua, se entiende como la glucosa (GLU) plasmática medida en mg/dL. Se midió por medio del kit de Spinreact GLUCOSE-TR de reacción enzimática por método GOD-POD. El principio del método consiste en que la glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-4-aminofenazona en presencia de peroxidasa (POD). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra. El lector es un espectrofotómetro (Thermo LabSystems Multiskan Ascent, modelo 354). En la Tabla 22 se observa el procedimiento para cuantificar la glucemia plasmática.

5.3.5.1. Ácido úrico.

El ácido úrico (AU) es oxidado por la uricasas a alantoína y peróxido de hidrógeno que en presencia de peroxidasa, 4-aminofenazona y 2-4 Diclorofenol Sulfonato forman un compuesto rosáceo. La intensidad de la quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de AU presente en la muestra. El lector es un espectrofotómetro (Thermo LabSystems Multiskan Ascent, modelo 354). En la Tabla 23 se observa el procedimiento para cuantificar el AU plasmático.

Tabla 22: Determinación cuantitativa de la glucemia.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivo de trabajo (RT): Disolver el contenido de un vial de R2 enzimas en 1 frasco de R1 Tampón. ● Colocar en una placa de 96 pocillos: 1.5µL de muestra y 150µL RT. ● Incubar 10 minutos a 37° C o 20 minutos a temperatura ambiente. ● Leer absorbancia a 530 nm. ● El color es estable como mínimo 30 minutos. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Recta patrón.	Serie de 5 puntos de glucosa (0, 25, 50, 75 y 100 mg/dL) disuelto en agua milliQ.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
R1 Tampón: TRIS 92 mmol/L pH 7.4 y fenol 0,3 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	1001190 del kit
R2 enzimas: Glucosa oxidasa (GOD) 15000 U/L, Peroxidasa 1000 U/L, 4-aminofenazona 2,6 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	
Patrón acuoso de glucosa. (100mg/dL)	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	

Tabla 23: Determinación cuantitativa del ácido úrico.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Reactivo de trabajo (RT): Disolver el contenido de un vial de R2 Enzimas en 1 frasco de R1 Tampón. ● Colocar en una placa de 96 pocillos: 5µ de muestra y 200µ RT. ● Incubar 5 minutos a 37° C o 10 minutos entre 15-25°C. ● Leer absorbancia a 530 nm. ● El color es estable como mínimo 30 minutos. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Recta patrón	Serie de 5 puntos de ácido úrico (0, 1,5, 3, 4,5 y 6 mg/dL) disuelto en agua milliQ.	
Reactivos	Casa comercial	Referencia
R1 Tampón: Fosfatos 50 mmol/L pH 7.4 y 2-4 Diclorofenol Sulfonato 4 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	41000 del kit
R2 enzimas: uricasa 60 U/L, Peroxidasa 660 U/L, ascorbato oxidasa 200U/L y 4-aminofenazona 1 mmol/L.	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	
Patrón acuoso de ácido úrico (6mg/dL)	SPINREACT, S.A./S.A.U. Sant Esteve de Bas, España.	

5.3.6. Variables de control.

5.3.6.1. Edad.

Definida como el tiempo, en años cumplidos, que ha vivido una persona. Es una variable de filiación, cuantitativa discreta.

5.3.7. Variables relacionadas con el estilo de vida, adherencia al suplemento y entrenos y efectos adversos.

Para recoger la información de este apartado, se ha realizado el mismo cuestionario propio descrito en el apartado 4 (pág. 68, Anexo 9).

5.3.8. Previsión del análisis de datos.

Los datos de cada participante se almacenaron en una base de datos tipo Excel, en la cual se incorporaron medidas de filtro para minimizar errores de transcripción. Dichos datos fueron exportados al programa estadístico GraphPad Prism 5, para realizar el análisis estadístico correspondiente.

Se realizó un análisis estadístico descriptivo univariante de las variables principales en base al cálculo de recuentos, proporciones y medidas de tendencia central y de dispersión (media aritmética e intervalo de confianza).

Por otra parte se realizó un análisis estadístico comparativo del grupo antes y después del tratamiento mediante test de significación estadística para datos apareados (t de student) y se calculó el área bajo la curva (AUC) con la fórmula trapezoidal para después someter los datos a la prueba estadística. Se aceptaron diferencias por debajo de una p del 0,05.

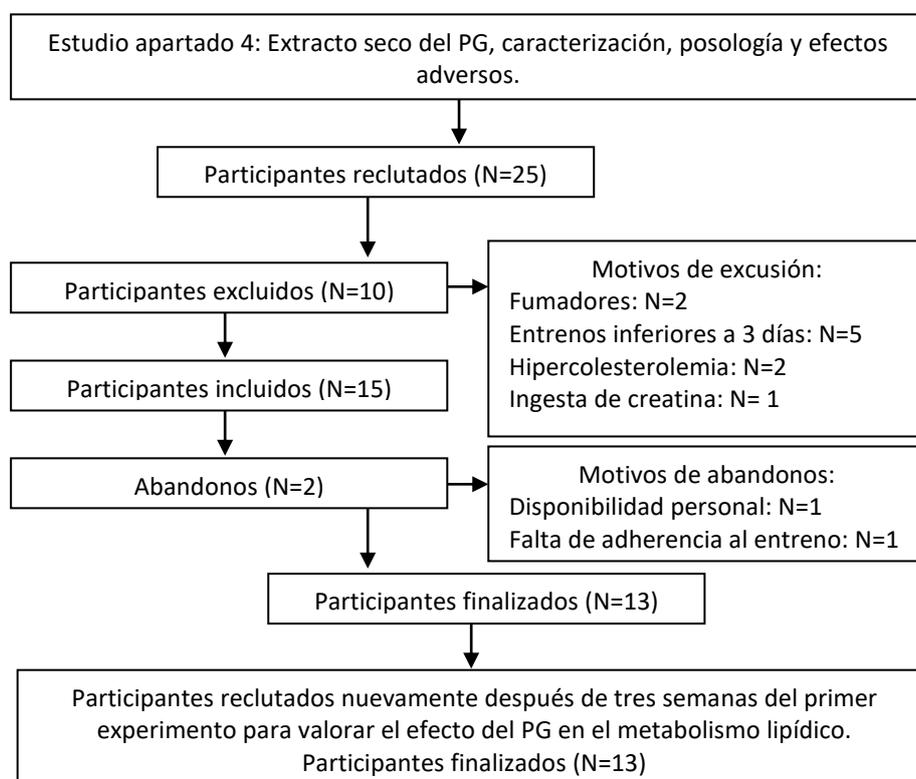
5.3.9. Aspectos éticos y legales.

El presente estudio tomó las mismas medidas para la protección de datos de todos los participantes (apartado 4.1. 71). Este estudio ha sido revisado y aprobado por el comité ético de investigación clínica del Hospital Arnau de Vilanova mediante la valoración de este protocolo (Código CEIC 1742)(Anexo 12).

5.4. Resultados.

Los trece participantes reclutados finalizaron el estudio con una media de edad de 32,18 +/- 5,18 años. En la Figura 24 se visualiza el número de participantes reclutados y los finalizados. Nuevamente, no se presentó ningún efecto secundario relacionado con la suplementación, se mantuvieron los hábitos dietéticos y de estilo de vida durante la intervención y hubo un 100% de cumplimiento del entreno e ingesta de la pastilla controlado por medio del cuestionario.

Figura 24: Diagrama de flujo del estudio efecto del Panax Ginseng en el metabolismo lipídico y energético.



5.4.1. Metabolismo lipídico.

Se analizó el perfil lipídico plasmático a tiempo 0, 2 y 4 horas durante una carga de lípidos (*fat challenge*) antes y después de la ingesta de 500mg de PG diarios, los resultados se observan en la Tabla 24.

Después de la ingesta de una carga de grasa de aproximadamente 1g de grasa por kg de peso, se observa un aumento significativo de los LT, TG Y CT plasmáticos en el tiempo como respuesta normal al proceso digestivo. Dicho aumento parece mantenerse hasta aproximadamente las dos horas posteriores a la ingesta, a la cuarta hora el perfil empieza a normalizarse pero

manteniendo los niveles por encima del valor basal. NEFAs tienden a aumentar pero dicho aumento no es significativo estadísticamente.

En cuanto a la intervención, no se encuentran cambios significativos en los parámetros lipídicos plasmáticos (LT, CT, TG y NEFAs) en ayunas después de dos semanas de tratamiento con el suplemento. La cantidad de LT y TG fue significativamente menor a las dos horas post ingesta del suplemento, también se puede observar una disminución significativa de la cantidad total de LT y TG medidos como área bajo la curva (AUC) durante la ingesta de la carga de lípidos. Además a la cuarta hora post ingesta de grasa y después del tratamiento los LT y TG ya se han normalizado en el plasma de los deportistas observándose no significación estadística entre el valor basal y la cuarta hora. No se observan cambios en el CT y NEFAs durante la carga de lípidos.

Tabla 24: Cambios en los parámetros del perfil lipídico plasmático durante un *fat challenge* pre / post intervención.

Control, pre intervención								
Horas	0	IC(95%)	2	IC(95%)	4	IC(95%)	AUC	IC(95%)
Lípidos totales (mg/dL)	589,12	523,5-654,7	710,6 [^]	667,7-753,6	633,68 [^]	579,0-688,4	2644	2452-2836
Colesterol (mg/dL)	177,30	149,7-204,9	193,3 [^]	169,0-217,7	182,71	157,3-208,2	746,7	652,9-840,6
Triglicéridos (mg/dL)	88,11	69,66-106,6	145,78 [^]	118,0-173,5	107,79 [^]	87,27-128,3	487,5	404,9-570,0
Ácidos grasos libres (mg/dL)	0,69	0,539-0,834	0,84	0,649-1,037	0,81	0,527-1,10	3,187	2,753-3,622

PG, post intervención								
Horas	0	IC(95%)	2	IC(95%)	4	IC(95%)	AUC	IC(95%)
Lípidos totales (mg/dL)	598,19	561,7-634,7	648,3 ^{^*}	598,3-698,5	606,99	551,6-62,4	2502 [*]	2336-2668
Colesterol (mg/dL)	181,00	161,7-200,3	193,08 [^]	172,8-213,4	176,85	159,0-194,7	744,0	669,6-818,4
Triglicéridos (mg/dL)	84,71	66,74-102,7	124,08 ^{^*}	00,2-148,0	92,48	70,13-114,8	425,4 [*]	343,2-507,5
Ácidos grasos libres (mg/dL)	0,54	0,406-0,668	0,71	0,436-0,98	0,66	0,424-0,887	2,720	2,148-3,292

* = p<0,05 comparado con el valor control; [^]comparado con el valor basal (tiempo 0); IC: Intervalo de confianza (95% lower-upper)

5.4.2. Metabolismo energético.

Se analizó el perfil plasmático de AU, LAC y GLU como parámetros del metabolismo energético a tiempo 0, 2 y 4 horas durante una carga de lípidos (*fat challenge*) antes y después de la ingesta de 500mg de PG diarios, los resultados se observan en la Tabla 25.

No se observan cambios en los niveles de AU, LAC y GLU en el tiempo como respuesta a la ingesta de una carga de grasa ni antes ni después de la ingesta de PG.

Se observa un aumento significativo al cabo de 2 horas respecto al valor basal de LAC después de la intervención. Este aumento coincide con la disminución plasmática de LT y TG observada en el

mismo momento. Además, se observa una leve disminución del AU medido como área bajo la curva después del tratamiento.

Tabla 25: Cambios en los parámetros del metabolismo energético durante un *fat challenge* pre / post intervención.

Control, pre intervención								
Horas	0	IC(95%)	2	IC(95%)	4	IC(95%)	AUC	IC(95%)
Ácido Úrico (mg/dL)	4,64	4,169 - 5,111	4,94	4,363 - 5,512	4,54	4,065 - 5,024	18,82	16,49 - 21,14
Lactato (mg/dL)	10,01	8,930 - 11,09	11,63	9,922 - 13,33	10,52	8,815 - 12,23	43,78	38,64 - 48,93
Glucosa (mg/dL)	86,92	82,18 - 91,66	83,94 [^]	80,14 - 87,73	86,70	83,47 - 89,94	341,50	326,9 - 356,1

PG, post intervención								
Horas	0	IC(95%)	2	IC(95%)	4	IC(95%)	AUC	IC(95%)
Ácido Úrico (mg/dL)	4,48	3,965 - 4,998	4,68	4,243 - 5,122	4,39	3,875 - 4,907	17,85*	15,78 - 19,93
Lactato (mg/dL)	9,22	8,048 - 10,40	11,83 [^]	10,20 - 13,46	9,39	7,417 - 11,36	42,28	36,80 - 47,75
Glucosa (mg/dL)	85,19	81,32 - 89,06	84,38	79,60 - 89,16	84,69	81,56 - 87,81	338,60	323,8 - 353,5

* = P<0,05 comparado con el valor control; [^]comparado con el valor basal (tiempo 0); IC: Intervalo de confianza (95% lower-upper)

5.5. *Discusión.*

Los beneficios que pueda ejercer una sustancia en el metabolismo lipídico de los deportistas genera gran interés, recordemos que la ingesta de nutrientes es vital en el aumento del rendimiento deportivo y las modificaciones de ésta pueden alterar, en buen o mal sentido, el ritmo natural del deportista, además, el uso de nutrientes, especialmente de lípidos, durante la actividad pueden generar cambios metabólicos importantes que modifiquen los tiempos de marca deportiva. El principal objetivo de este experimento fue valorar el efecto de 500mg de extracto seco de PG en el perfil lipídico plasmático de hombres corredores pre / post ingesta de grasa.

Para realizar la valoración por medio de una ingesta de grasas, se ha utilizado una técnica denominada *Fat challenge*. Esta es una técnica utilizada en un amplio rango de estudios para valorar el efecto de sustancias en el metabolismo lipídico. Trautwein y colaboradores estudiaron el efecto de esteroides en la absorción de lípidos de personas con riesgo de padecer diabetes tipo 2, demostrando la reducción post prandial del colesterol LDL y de los TG plasmático (Trautwein et al., 2018).

Se ha observado en los resultados de este experimento un aumento significativo en los niveles plasmáticos de LT, TG y CT como respuesta a la ingesta de una carga de grasa de 75g en forma de batido en hombres corredores. El aumento de los lípidos en plasma se observa al cabo de dos horas, con tendencia a la normalización al cabo de 4 horas post ingesta pero sin llegar a los valores basales.

Como hemos observado en la revisión sistemática antes descrita (Hernández-García et al., 2019) (Anexo 2), el efecto del PG en el metabolismo lipídico ha sido ampliamente estudiado, especialmente el efecto que produce en los niveles de colesterol plasmático, aunque hay pocos estudios que evalúen estos cambios en humanos deportistas. Desde nuestro conocimiento no se ha estudiado el efecto del PG en la digestión de lípidos en humanos por medio de un *Fat challenge*. Este estudio supone la primera evidencia del efecto del PG en la absorción lipídica en este colectivo.

El principal resultado de este experimento es la reducción de la cantidad total de LT (-142 mg / dL, $p < 0,05$) y TG (-62,1 mg / dL $p < 0,05$) medidos como AUC después de dos semanas de tratamiento con PG. La reducción se encuentra concretamente al cabo de dos horas de la ingesta de la carga de lípidos (LT= -62,28 mg / dL $p < 0,05$) y (TG = -21,7 mg / dL $p < 0,05$). Los niveles a

tiempo 0 y 4 horas comparados pre / post ingesta de PG, no presentan cambios significativos en ambos parámetros. Aun así, se observa que después del tratamiento, los niveles de LT y TG vuelven a la normalidad al cabo de 4 horas, demostrando la mejor metabolización de las grasas en comparación al estado previo al tratamiento. Los NEFAs no disminuyen significativamente en comparación con el valor basal, pero si se observa una tendencia de reducción total durante las 4 horas.

El hecho de que los niveles plasmáticos en ayunas de estos parámetros no se vean modificados, después de dos semanas de tratamiento, hace pensar que el efecto principal del PG después de una ingesta de grasa se ubique en la absorción de lípidos o en la síntesis de quilomicrones. Este hecho refuerza la evidencia encontrada por varias publicaciones en la reducción de la actividad de la lipasa pancreática (responsable principal de la hidrólisis de lípidos para ser absorbidos). Se ha observado una inhibición de la actividad de esta enzima en ratas alimentadas con una dieta alta en grasa (Karu et al., 2007; H. J. Kim et al., 2011) y una disminución del peso y de los TG al cabo de 1, 2, 3 y 4 horas post ingesta de una carga de grasa en ratas (H. J. Kim et al., 2011). Los TG y LT acumulados en el hígado también se ven disminuidos en ratas obesas suplementadas con extractos de PG (Park et al., 2002).

Estos resultados vuelven a ubicar al PG como un complemento natural regulador del metabolismo lipídico y con perspectivas de efecto anti obesidad en humanos como muchos otros componentes de plantas descritos en la bibliografía (de la Garza et al., 2011). No es la primera vez que se ubica el foco de atención en la regulación de la lipasa pancreática como regulador de la digestión de lípidos. Uno de los tratamientos más conocidos es el tratamiento para la obesidad con Orlistat. Este medicamento, se debe ingerir 30 minutos antes de la ingesta de alimentos, es un inhibidor potente de esta enzima, ayudando al control del peso por inhibición de la absorción de grasa. Se debe recordar que la utilización de este medicamento presenta serios efectos secundarios al consumidor, como diarreas y problemas intestinales (Torgerson et al., 2004).

Por otra parte, no se han encontrado cambios significativos en los niveles de colesterol totales pre y post ingesta de grasa. Estos resultados no están en relación con el resultado principal del meta análisis realizado por este equipo (Figura 12) donde se observa el efecto hipocolesteromiante del PG. La diferencia principal entre los estudios incluidos en el meta análisis y esta investigación es el tiempo de tratamiento, de los 9 estudios incluidos, 8 tuvieron entre 3 y 12 semanas de tratamiento para encontrar diferencias en los niveles de colesterol plasmático. Solamente 1 estudio (K J Lee and Ji, 2014) realizó un tiempo de intervención igual a

este estudio (2 semanas), aunque la dosis de tratamiento cuadruplicaba la nuestra (2,1g / día (25% de ginsenósidos)) y los participantes incluidos fueron mujeres postmenopáusicas (50 – 73 años) con unos niveles de colesterol de 217.7 ± 30.9 mg 7 dL.

Como se comentó anteriormente, es posible que el efecto del PG en el colesterol aparezca en personas con alteraciones lipídicas establecidas y se necesitan más estudios para establecer los tiempos y dosis de tratamiento adecuadas, además de estandarizar los extractos para poder generar comparativas reales entre estudios.

Los resultados de este estudio no solo se deben centran en el efecto del PG en la absorción lipídica, el hecho que el LAC tenga un aumento significativo (+2,61 mg/dL $p < 0,001$) después de dos horas de la ingesta de PG con respecto al valor basal y el hecho que se produzca una reducción de 1mg/dL ($p < 0,05$) en el AU medido como AUC después del tratamiento, podría no estar vinculado con la digestión y más relacionados con aspectos de consumo energético. Se necesitan más estudios que puedan comprobar dichas hipótesis.

Por otra parte, la principal limitación de este estudio es que es un estudio de intervención sin grupo placebo. La observación pre / post del mismo grupo después del tratamiento tiene menos impacto que la comparación con un grupo control. Por otra parte, no se realizó un seguimiento de la composición corporal de los deportistas incluidos, con lo que no se puede evidenciar el efecto de la disminución de los lípidos en plasma y la posible conexión con la acumulación de peso corporal. El peso corporal en los deportistas corredores es un parámetro de control constante, ya que los tiempos de carrera y la capacidad aeróbica dependen de este valor. Se recomienda hacer un seguimiento antropométrico de los participantes en futuros estudios con PG.

Con estos resultados podemos decir que, en hombres deportistas, una ingesta diaria durante dos semanas de 500mg de PG con un 30% de ginsenósidos disminuye los LT Y TG plasmáticos al cado de 2 horas post ingesta de una carga de grasa, así como la cantidad total medida como AUC de ambos parámetros durante 4 horas. Además favorece a normalizar los niveles de LT y TG más rápidamente después de una ingesta de grasa. El colesterol total no se ve modificado en este tratamiento.

No solo se pueden beneficiar los deportistas que tengan alteraciones lipídicas de este tratamiento, también sería interesante evaluar el beneficio de la disminución de la absorción de lípidos en aquellos deportistas que ingieran grandes cantidades de lípidos en sus dietas diarias.

Aun así, y aunque no se han presentado efectos secundarios en esta investigación, es importante realizar el seguimiento de uno de los efectos secundarios más prevalentes en el uso del PG oral, la diarrea y las molestias digestivas (Cepae, 1999; Kiefer and Pantuso, 2003). Es posible, como se comentó anteriormente, este efecto secundario se deba al aumento de los lípidos en los intestinos por la disminución de la lipasa pancreática. Se debe prestar especial control a aquellos deportistas que ingieran PG previo a un evento deportivo.

Por último, se recomienda evaluar si los cambios de los lípidos plasmáticos encontrados en este estudio, sin una ingesta alta en grasa, se mantienen en los deportistas. Además, es conveniente evaluar el efecto del PG no solo a nivel digestivo sino también a nivel de consumo energético, ya que según varios informes (Cepae, 1999), relacionan la disminución de los lípidos plasmáticos no solo con la absorción de éstos si no a la optimización de la utilización por los órganos durante una actividad, disminuyendo la fatiga y mejorando la capacidad psicomotora.

5.6. Conclusiones.

1. Un tratamiento con 500mg de extracto seco de PG durante dos semanas en hombres corredores no modifica los LT, TG, CT y NEFAs en ayunas.
2. El principal efecto del tratamiento con estas dosis y estos tiempos de tratamiento es la reducción de los LT y TG plasmáticos al cabo de dos horas de una ingesta alta en grasa, permitiendo una normalización de los niveles al cabo de 4 horas post ingesta. Estos resultados refuerzan los hallazgos referentes a la absorción de lípidos a nivel intestinal.
3. No se observan cambios significativos en la glucemia basal y después de una ingesta grasas con el tratamiento.
4. Se observan cambios en parámetros del metabolismo energético (LAC y AU) que pueden relacionar el efecto del PG no solo con el efecto a nivel digestivo si no a nivel sistémico.
5. Se confirma que un tratamiento con 500mg de extracto seco de PG durante dos semanas en hombres corredores es seguro.

PG COMO AYUDA ERGOGÉNICA I.
EVALUACIÓN EN VARIABLES DE RENDIMIENTO
DEPORTIVO EN CINTA RODANTE.

6. PG como ayuda ergogénica 1. Evaluación en variables de rendimiento deportivo en cinta rodante.

6.1. *Introducción.*

6.1.1. *Cambios metabólicos durante la práctica deportiva.*

Son muchos los cambios metabólicos que se producen con la práctica deportiva. A modo de resumen, a nivel cardiovascular, se produce un aumento del volumen sistólico acompañado del aumento de la FC (multiplicada por 3 del valor en reposo), con lo que aumenta el volumen cardiaco por minuto. Estos aumentos se producen para producir un aumento del flujo sanguíneo, especialmente para transportar nutrientes en las zonas activas. Además, se produce una vasodilatación en dichas zonas, y en las zonas menos activas, se produce una vasoconstricción. La presión arterial también aumenta como respuesta a estos cambios.

En las zonas más activas, además de los cambios funcionales, se producen cambios bioquímicos que favorecen a la autorregulación del sistema. Hay un aumento de la presión parcial del CO₂, disminución del pH y de la temperatura local, así como aumento de la adenosina, bradicidina y del óxido nítrico, favorecedores de la vasodilatación. Por otra parte hay una inhibición de receptores α_2 para evitar la vasoconstricción y activación de fibras colinérgicas para favorecer las señales neuromusculares. Además, se produce una activación de receptores β_2 en vasos sanguíneos para producir vasodilatación y en el musculo liso para producir relajación, especialmente del tracto digestivo.

El HDL-C plasmático aumenta sus niveles durante períodos de actividad física aeróbica ofreciendo protección cardiovascular (Aspíroz et al., 2002; Nakamura et al., 1983; Perry et al., 1992; Wood et al., 1977). En algunas ocasiones se observa un incremento de los niveles de LDL-C durante actividad física o entrenamiento en altitud posiblemente causado por el estrés oxidativo (Aspíroz et al., 2002). Los TG y los NEFAs son modificados considerablemente durante ejercicios aeróbicos prolongados, debido a un incremento de la lipoproteína lipasa en el musculo. Recordemos que una excesiva ingesta de grasas saturadas, alcohol o azúcares, también pueden incrementar sus niveles (Aspíroz et al., 2002; Nakamura et al., 1983; Perry et al., 1992; Wood et al., 1977).

Parámetros hormonales como el cortisol y adrenalina también son modificados por las intensidades de la práctica deportiva. El efecto atenuante del cortisol sobre la respuesta inmunitaria también ha sido bien documentado. Los linfocitos T son activados por citocinas (interleucinas) a través de vías de señalización. El cortisol impide que los receptores en los linfocitos T reconozcan las interleucinas, reduciendo la proliferación de estas células y por tanto frenando la inflamación. Del mismo modo reduce la inflamación debido a la inhibición de la secreción de histamina. La capacidad del cortisol de disminuir la respuesta inmune puede hacer que las personas que sufren estrés crónico sean más vulnerables a infecciones (Patterson et al., 2013). Si bien es importante que las glándulas suprarrenales secreten más cortisol en respuesta a estrés psíquico o físico, también es fundamental que los niveles de cortisol vuelvan a los valores basales una vez termine el evento traumático. Por desgracia, en el caso de algunos atletas, la respuesta al estrés debido a un ejercicio intenso está activada tan a menudo, que las vías metabólicas no siempre tienen la oportunidad de volver a una situación normal. Esto puede conducir a problemas de salud, como pueden ser el estrés y la fatiga crónica (Palacios et al., 2015).

Las interleucinas pro y anti inflamatorias también son modificadas durante y después de la actividad física. La Interleucina 6 (IL-6), es una molécula anti-inflamatoria implicada en la regulación de la respuesta inflamatoria aguda. Posee receptores específicos a nivel del tejido adiposo, el músculo esquelético y el hígado. En el tejido adiposo incrementa la lipólisis y mejora la sensibilidad a la insulina, en el hígado aumenta la glucogenolisis y en el músculo esquelético mejora considerablemente la sensibilidad a la insulina y la glucogénesis. Las sesiones de ejercicio intenso aumentan las concentraciones plasmáticas de IL-6 hasta 100 veces, lo cual asociado a su acción sobre el tejido adiposo, el hígado y el músculo, aporta aún más al efecto beneficioso del ejercicio (Palacios et al., 2015)(Pedersen et al., 2001). El ejercicio físico también produce un aumento de los niveles circulantes de una serie de interleucinas. Como por ejemplo el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucina 1-beta (IL-1 β), antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra), IL-10 e IL-8 (Pedersen et al., 2001).

6.1.2. Cambios fisiológicos durante la práctica deportiva.

Los cambios fisiológicos durante la práctica deportiva son variados, por ejemplo, el consumo de O₂ o la FC varían en función de la intensidad del deporte realizado, el entrenamiento, las condiciones propias y sobre todo del estado de forma entre muchos otros factores. Una buena manera de saber las condiciones fisiológicas de cada deportista, es por medio de una prueba de esfuerzo (PE) con valoración de gases. Esta técnica es un procedimiento no invasivo que

proporciona información de carácter diagnóstico sobre el funcionamiento cardiopulmonar y evalúa la capacidad individual para realizar ejercicio dinámico.

Este tipo de pruebas son utilizadas con frecuencia por corredores amateurs o profesionales con tal de saber sus capacidades deportivas, especialmente previo a un evento deportivo de tipo competitivo. La prueba de esfuerzo se realiza con las condiciones necesarias y estipuladas por el Documento de consenso de la Sociedad Española de Medicina del Deporte (SEMED - FEMEDE) (Marqueta et al., 2016).

Comúnmente, la prueba se realiza en una sala de ergometría con una temperatura entre 18 y 22 °C y una humedad relativa del 40-60%. La prueba puede ser realizada en un tapiz rodante, ergómetro de natación, kayak, brazos o en un cicloergómetro. Se pueden utilizar varios protocolos donde el participante se ve sometido a un incremento de la velocidad o intensidad de los ergómetros hasta obtener los resultados, ya sea por esfuerzo máximo o submáximo. El protocolo a escoger va en función de la finalidad de la prueba, el más común el protocolo que realiza incrementos de intensidad escalonados en el tiempo.

El participante antes de realizar la prueba debe realizar un calentamiento. Se utiliza una mascarilla que cubre la nariz y la boca para recoger los gases de la respiración y un electrocardiógrafo situado en el tórax del participante, también es necesario un tensiómetro y un pulsioxímetro.

Los datos obtenidos por la mascarilla son estudiados por un sistema de analizador de gases para estudios metabólicos, estos datos permiten cuantificar el volumen ventilatorio, la cantidad de oxígeno consumido (VO_2) y la cantidad de dióxido de carbono producido (VCO_2) durante la práctica deportiva. Con los datos anteriores se pueden calcular los límites máximos y mínimos de los atletas. En términos fisiológicos podemos saber los umbrales aeróbicos y anaeróbicos, oxidación de grasas y carbohidratos y la capacidad aeróbica máxima (VO_{2max}). En la Figura 25 se puede observar la preparación y ejecución de un deportista para realizar una prueba de esfuerzo en cinta rodante.

Figura 25: Preparación y ejecución de una prueba de esfuerzo en cinta rodante.



6.1.3. Capacidad aeróbica máxima (VO_2max), umbral aeróbico y anaeróbico.

El VO_2max se define como el valor de volumen de oxígeno (VO_2) que no puede ser superado a pesar de que continúe aumentando la carga de trabajo, y se caracteriza en la PE por la aparición de una meseta en la fase final del ejercicio cuando se representa el VO_2 frente a la carga de trabajo. Cualquier intensidad de ejercicio puede expresarse como porcentaje del VO_2max , designando así al VO_2 necesario para esa actividad como el porcentaje del consumo máximo (Marqueta et al., 2016).

Según el modelo trifásico de Skinner y McLean, los umbrales se describen por medio de tres fases observadas en la prueba de esfuerzo. En la primera fase aumenta la cantidad de oxígeno utilizado por los tejidos, por lo cual en el aire expirado disminuye la concentración de éste. Además, a más intensidad se aumenta la producción de CO_2 así que se eleva la fracción en el aire expirado. En esta fase predomina el metabolismo aeróbico existiendo poca producción de lactato.

En una segunda fase hay un incremento no lineal en la ventilación, un incremento en el VCO_2 y un incremento de la concentración de lactato en sangre (aprox 2 mmol/L). En una tercera fase hay un aumento brusco del lactato (aprox 4 mmol/L), un aumento lineal de la ventilación y empieza a haber una hiperventilación importante.

El incremento inicial en la concentración de lactato en sangre y el incremento no lineal de la ventilación en la fase II, están ligados al reclutamiento de las fibras tipo I y menos a la anaerobiosis, en este punto es donde se produce el umbral aeróbico. Por otra parte, con el incremento repentino de la concentración de lactato y el inicio del incremento lineal de la ventilación que se observa cuando se inicia la fase III se relaciona con la anaerobiosis y con un mayor reclutamiento de las fibras tipo II, denominando este momento al umbral anaeróbico.

La decisión de ubicar los umbrales ventilatorios mediante esta técnica recae en el médico experto que debe analizar diferentes factores, en la Figura 26 y en la Figura 27 se pueden observar los resultados reales de una prueba de esfuerzo y las variables a tener en cuenta para la toma de decisiones.

6.1.4. Coeficiente respiratorio (RER) oxidación de grasas y carbohidratos.

El término RER ($RER = \text{respiratory exchange ratio} = \text{ratio del CO}_2 \text{ producido con el O}_2 \text{ consumido (VCO}_2 / \text{VO}_2)$) es usado de forma indirecta para representar el gasto energético y el tipo de energía proveniente (grasas o hidratos de carbono) del metabolismo. Dependiendo del sustrato utilizado, el valor de RER varía, por ejemplo, un RER inferior a 1 significa que hay menos CO₂ producido que el O₂ consumido, lo que es compatible durante el metabolismo de las grasas. Según los cálculos por las fórmulas indirectas (Gupta et al., 2017) y tablas de gasto no proteico (Péronnet and Massicotte, 1991), la oxidación completa de los átomos de carbono e hidrógeno de una molécula a los productos finales de dióxido de carbono y agua requiere diferentes cantidades de oxígeno debido a las diferencias químicas inherentes en la composición de carbohidratos, lípidos y proteínas. Por lo tanto, el sustrato metabolizado determina la cantidad de dióxido de carbono producido en relación con el oxígeno consumido.

El intercambio de gases durante la oxidación de la glucosa produce un número igual de moléculas de CO₂ a las moléculas de O₂ consumidas; por lo tanto, el RER para carbohidratos es igual a 1.00. La composición química de los lípidos difiere de los carbohidratos porque los lípidos contienen considerablemente menos átomos de oxígeno en proporción a los átomos de carbono e hidrógeno. En consecuencia, cuando un lípido se cataboliza para obtener energía, se requiere oxígeno adicional para la oxidación de los átomos de hidrógeno en exceso, su proporción es de 2 a 1 con oxígeno. El ácido palmítico, un ácido graso típico, se oxida al dióxido de carbono y al agua, produciendo 16 moléculas de dióxido de carbono por cada 23 moléculas de oxígeno consumidas. La siguiente ecuación resume este intercambio para calcular RER: $RQ = 16\text{CO}_2 / 23\text{O}_2 = 0.696$ (William et al., 2010).

Figura 26: Resultado de una prueba de esfuerzo en cinta rodante, relación entre la frecuencia cardíaca, la producción de CO₂, el consumo de O₂ y los umbrales ventilatorios.

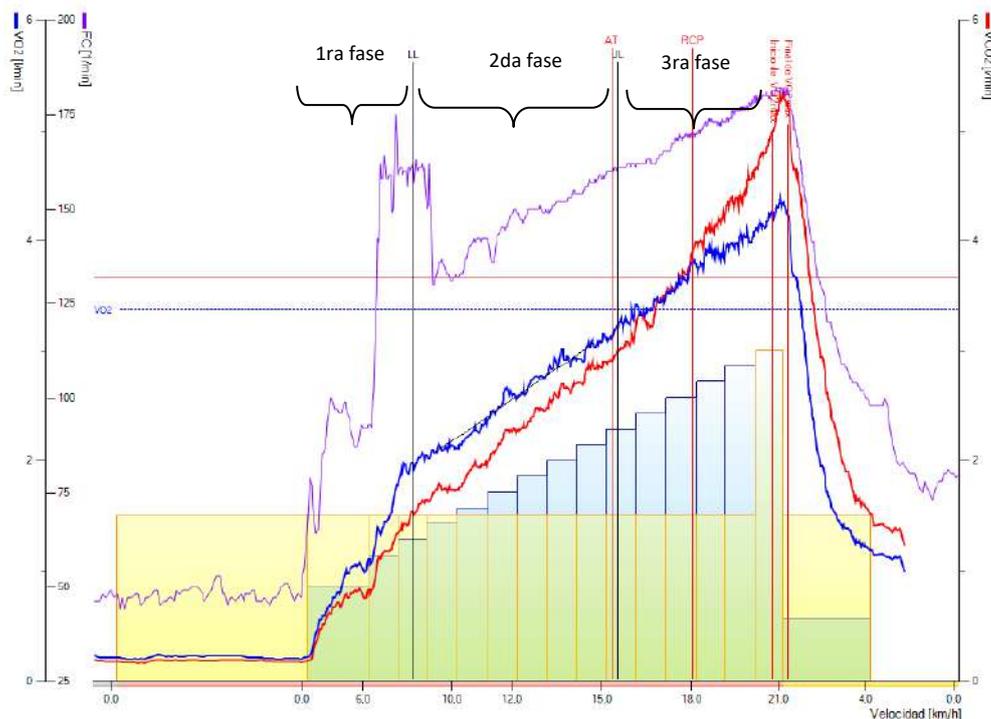


Imagen obtenida de los resultados de este estudio. En rojo el volumen de CO₂ (VCO₂), en azul el volumen de O₂ (VO₂) y en lila la frecuencia cardíaca (FC), AT= Umbral aeróbico, RCP= Umbral anaeróbico.

Figura 27: Resultado de una prueba de esfuerzo en cinta rodante, relación entre el volumen ventilatorio, la producción de CO₂, el consumo de O₂ y los umbrales ventilatorios.

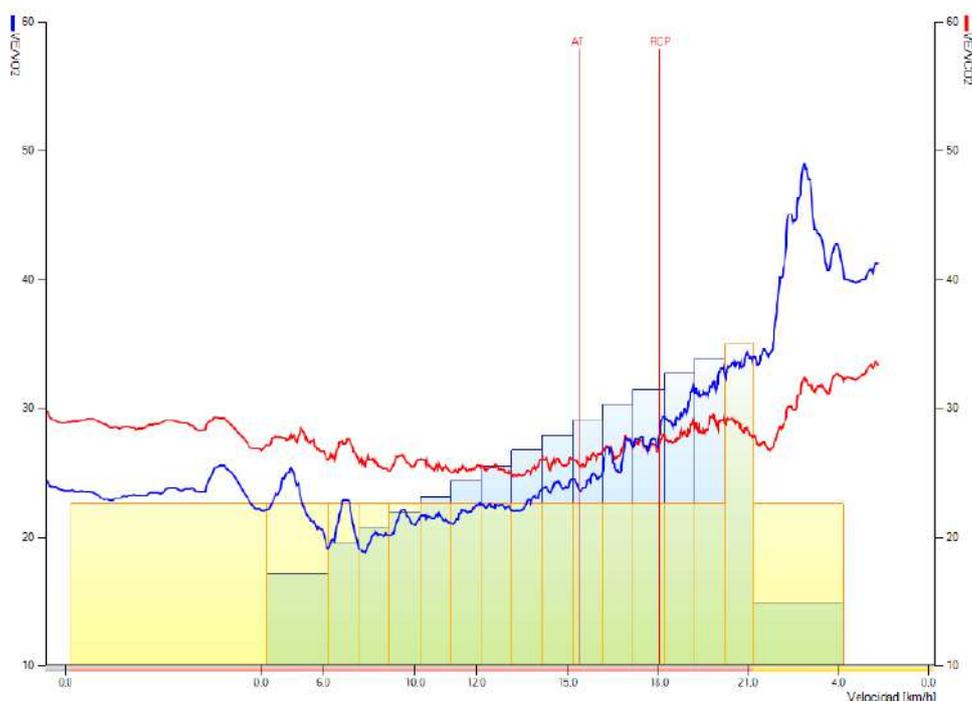


Imagen obtenida de los resultados de este estudio. En rojo la relación entre la ventilación y el volumen de CO₂ (VE/VCO₂), en azul la relación entre la ventilación y el volumen de O₂ (VE/VO₂); AT= Umbral aeróbico; RCP= Umbral anaeróbico.

Para valorar el porcentaje de gasto dependiendo de las anteriores variables se presenta el gasto de energía por litro de VO₂ para diferentes valores de RER no proteicos, incluidos los porcentajes correspondientes y los gramos de carbohidratos y grasas utilizados para obtener energía. Estos equivalentes son válidos en situaciones de metabolismo iso-proteico, es decir en ausencia de catabolismo proteico (William et al., 2010) (Tabla 26).

Tabla 26: Equivalentes térmicos de oxígeno para el cociente respiratorio no proteico, incluido el porcentaje de kcal y gramos derivados de carbohidratos y grasas

No proteico RER	Kcal por Litro O ₂ consumido	% Kcal Derivado de CHO	%Kcal Derivado de grasa	Gramos por litro de O ₂ de CHO	Gramos por litro O ₂ de grasa
0.7	4.686	0.0	100.0	0.000	0.496
0.71	4.69	0.1	98.9	0.120	0.491
0.72	4.702	4.8	95.2	0.510	0.476
0.73	4.714	8.4	91.6	0.900	0.460
0.74	4.727	12.0	88.0	0.130	0.444
0.75	4.739	15.6	84.4	0.170	0.428
0.76	4.75	19.2	80.8	0.211	0.412
0.77	4.764	22.8	77.2	0.250	0.396
0.78	4.776	26.3	73.7	0.290	0.380
0.79	4.788	29.9	70.1	0.330	0.363
0.8	4.801	33.4	66.6	0.371	0.347
0.81	4.813	36.9	63.1	0.413	0.330
0.82	4.825	40.3	59.7	0.454	0.313
0.83	4.838	43.8	56.2	0.496	0.297
0.84	4.85	47.2	52.8	0.537	0.280
0.85	4.862	50.7	49.3	0.579	0.263
0.86	4.875	54.1	45.9	0.621	0.247
0.87	4.887	57.5	42.5	0.663	0.230
0.88	4.889	60.8	39.2	0.705	0.213
0.89	4.911	64.2	35.8	0.749	0.195
0.9	4.924	67.5	32.5	0.791	0.178
0.91	4.936	70.8	29.2	0.834	0.160
0.92	4.948	74.1	25.9	0.877	0.143
0.93	4.961	77.4	22.6	0.921	0.125
0.94	4.973	80.7	19.3	0.964	0.108
0.95	4.985	84.0	16.0	1.008	0.090
0.96	4.998	87.2	12.8	1.052	0.072
0.97	5.01	90.4	9.6	1.097	0.054
0.98	5.022	93.6	6.4	1.142	0.036
0.99	5.035	96.8	3.2	1.186	0.018
1	5.047	100.0	0.0	1.231	0.000

Tabla modificada de (William et al., 2010); RER: Coeficiente respiratorio; CHO: carbohidratos.

Resumiendo en términos deportivos, dependiendo de la intensidad o la duración de dicho deporte, los atletas usarán la energía de diferentes maneras. En pocas palabras, a mayor intensidad y menor duración del deporte practicado, hay una necesidad mayor del uso de carbohidratos para obtener energía, a esto lo denominamos deportes anaeróbicos o mixtos. En sentido contrario, a menor intensidad y mayor duración hay un mayor uso de grasas para obtener energía, a esto lo denominamos deportes aeróbicos.

En términos de rendimiento deportivo esta condición fisiológica es muy importante, una pequeña modificación de este sistema, podría hacer ganar una carrera o competición, ya que, usar más efectivamente los lípidos musculares, a intensidades más altas, podría retrasar el uso de las reservas de glucógeno y reservarlos para otros momentos más adecuados con un sprint final.

6.1.5. PG y deporte.

Los estudios realizados en humanos en relación al efecto del PG y el rendimiento deportivo son a la vez de controvertidos, contradictorios. Muchos estudios los señalan como un potenciador del uso de las grasas y un ahorrador del glucógeno muscular. Se ha observado que la suplementación con 2 g de un complejo llamado STPG (mezcla de péptidos de soja, taurina, isoflavona de Pueraria y saponina de ginseng) en hombres deportistas, durante 15 días fue eficaz para promover la utilización de ácidos grasos libres y mejorar el rendimiento de la prueba de esfuerzo en cicloergómetro así como la disminución de la producción de lactato, todo al parecer relacionado con la capacidad del ahorro del glucógeno muscular del PG (Yeh et al., 2011), estos resultados se han visto reflejados en animales (Hwang et al., 2014).

Por otro lado, los estudios realizados por el equipo de Jung Hyun (Jung et al., 2011) sugieren que la suplementación con PG podría reducir el daño muscular inducido por el ejercicio y las respuestas inflamatorias, dando como resultado mejoras en la sensibilidad a la insulina. Este efecto parece estar relacionado con la capacidad antioxidante del extracto observado en diferentes estudios (ver pág. 168).

Por otra parte, no se han encontrado cambios, con 3g de la planta entera, en los umbrales lácticos en un estudio en hombres marines quienes fueron sometidos a una prueba de esfuerzo en un cicloergómetro (Kulaputana et al., 2007), en otros estudios se ha observado que PG (G115) mejora aspectos del rendimiento de la memoria de trabajo y las valoraciones subjetivas de calma en jóvenes sanos, quizá por las propiedades ansiolíticas del PG (Reay et al., 2010).

Existe una clara necesidad de una investigación sistemática frente a la eficacia del PG o de los ginsenósidos en los deportistas. Dichas investigaciones han de tener en cuenta las consideraciones de diseños básicos fundamentales si se quiere tener alguna esperanza de establecer si el PG, o sus metabolitos, realmente posee eficacia (M S Bahrke and Morgan, 2000). Las revisiones sistemáticas elaboradas sobre el tema han llegado a la misma conclusión, las evidencias encontradas hasta hoy son insuficientes para establecer si el PG posee efecto en el rendimiento y la fatiga (Bach et al., 2016; Shergis et al., 2013).

Como se puede observar en la Tabla 27, las investigaciones realizadas en rendimiento deportivo no han encontrado evidencias claras de los efectos del PG en el rendimiento deportivo y la fatiga. Además, estos estudios, se han centrado en variables de rendimiento que son difícilmente modificables con un suplemento (VO_2 max y los umbrales), actualmente no existe ninguna ayuda ergogénica que mejore estos aspectos, exceptuando los realizados por los entrenamientos.

Tabla 27: Efecto del PG en el rendimiento deportivo en personas saludables por medio de estudios aleatorizados doble ciego.

Autor / año	nº de participantes PG/Control	Dosis diaria PG Duración	Parámetro analizado referente al rendimiento.	Conclusión
(Allen et al., 1998)	PG: 13 Control: 15	200mg 3 semanas	1. VO_2 max	N/S
(Cherdrungsi and Rungroeng, 1995)	PG: 20 Control: 21	300mg 8 semanas	1. VO_2 max 2. FC	N/S
(Engels et al., 1996)	PG: 10 Control: 9	200mg (G115) 8 semanas	1. VO_2 max 2. FC	N/S
(Engels and Wirth, 1997)	PG: 12 PG: 12 Control: 12	200mg (G115) 400mg (G115) 8 semanas	1. VO_2 max 2. FC	N/S
(Engels et al., 2001)	PG: 12 Control: 12	400mg (G115) 8 semanas	1. Ejercicio máximo de piernas en cicloergómetro (wingate test) 2. Tiempo de fatiga	N/S
(Engels et al., 2003)	PG: 19 Control: 19	400mg (G115) 8 semanas	1. Ejercicio máximo de piernas en cicloergómetro (wingate test)	N/S
(Kulaputana et al., 2007)	PG: 30 Control: 30	3g 8 semanas	1. umbrales lácticos 2. oxidación de sustratos	N/S
(Ping et al., 2011)	PG: 9 Control: 9	200mg Ingesta única	1. Tiempo de agotamiento al 70% del VO_2 max en cinta rodante 2. oxidación de sustratos 3. Frecuencia cardíaca	N/S
(Ziamba et al., 1999)	PG: 8 Control: 7	350mg 6 semanas	1. Tiempo de reacción 2. Umbrales lácticos 3. VO_2 max	1= Aumento 2 y 3= N/S
(Yoon et al., 2008)	PG + entreno: 7 PG: 10 Control: 7	3g 8 semanas	1. VO_2 / VO_2 max	Ligero aumento

N/S= No significativo

Los beneficios otorgados al PG en relación al deporte, deberían tener relación con otros aspectos como la concentración mental, la percepción de la fatiga y la utilización de la grasa durante la práctica deportiva. Existen varias evidencias que demuestran la mejora en la respuesta psicomotora del individuos sanos deportistas (Kennedy et al., 2001). La relación entre el efecto del PG con el estrés oxidativo y la inflamación son otro foco de atención para mejorar las capacidades deportiva, de mantenimiento de la salud y de la recuperación.

Por todo lo anterior y por los resultados obtenidos en anteriores experimentos, en este proyecto se plantea una investigación sobre individuos humanos que realizan ejercicio físico de tipo aeróbico con el fin de cuantificar la utilización de grasas durante una prueba en cinta rodante a una velocidad constante (RER 0,94). La fatiga, la concentración mental y parámetros metabólicos relacionados con la recuperación también fueron medidos por medio de un ensayo clínico aleatorizado doble ciego.

6.2. Objetivos.

6.2.1. Objetivos generales.

- Determinar la eficacia de la suplementación del PG en la utilización de grasas en hombres corredores referente al consumo de O₂ y producción de CO₂ durante una prueba en cinta rodante (RER 0,94).

6.2.2. Objetivos específicos.

- Cuantificar la utilización de sustratos energéticos durante el deporte realizado mediante una prueba de esfuerzo con un protocolo modificado con valoración de gases.
- Explorar la evolución a nivel cardiovascular, durante la actividad física y la recuperación post ejercicio en estos deportistas.
- Valorar los cambios de parámetros relacionados con el metabolismo energético de lípidos y de inflamación.
- Observar la percepción de la fatiga y a concentración mental producida por el ejercicio físico durante dicha actividad.

6.3. Metodología.

Se realizó un estudio experimental, ensayo clínico aleatorizado doble ciego. La investigación se llevó a cabo en deportistas que pertenecen al mismo grupo de entrenamiento mencionado en el experimento anterior, corredores de 10km y media maratón de la ciudad de Lleida. En este grupo de deportistas, los corredores, se da una homogeneidad en cuanto a seguimiento y entrenamiento, desde el inicio de la temporada hasta la realización de cada una de las competiciones.

La identificación y reclutamiento de los pacientes a estudio se realizó en bola de nieve, de forma resumida, el equipo responsable de estos entrenamientos envió mensajes vía correo electrónico a todos los deportistas de esta categoría. En dicho mail, por un lado se especificó resumidamente el propósito y objetivos del estudio, así como los beneficios que los participantes podrían obtener de éste. Por otro lado se explicó la manera de ponerse en contacto con los investigadores en caso de estar interesado en participar en el estudio. Es a partir de este momento donde los deportistas contactaron con el equipo investigador para iniciar la investigación.

Una vez se obtuvo la lista con todos los posibles participantes (algunos del contacto directo del entrenador, otros por comentarios entre los mismos participantes), se pactó la primera visita, en la cual se entregó la hoja de información al paciente (Anexo 13), el consentimiento informado (Anexo 14) y la cumplimentación de todos los aspectos éticos y legales descritos en este protocolo.

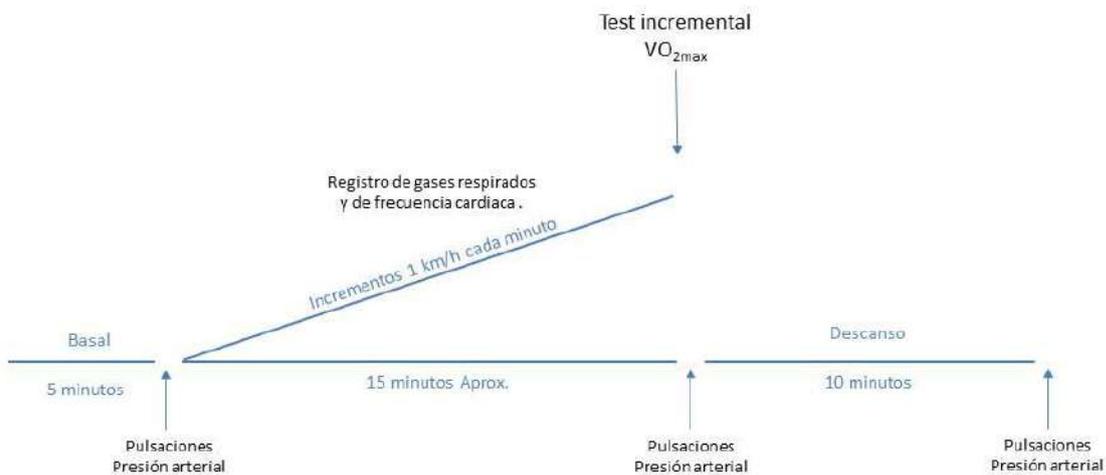
Posteriormente se procedió a llenar la hoja de datos personales (Anexo 10) y recogida de datos primarios (Anexo 11) por medio de una entrevista, dichos datos fueron de utilidad a la hora de seleccionar las personas que podían y que cumplían con los criterios de inclusión de la investigación.

Una vez aleatorizados los participantes de la investigación se realizaron las pruebas de campo descritas en este protocolo. Se obtuvieron los datos necesarios antes de iniciar la suplementación con PG o con el placebo y posteriormente se procedió al inicio de la suplementación en ambos grupos. La intervención del estudio, como en todos los experimentos realizados durante esta tesis, fue de dos semanas sin interrupción.

Para recoger todas las variables, el participante realizó tres pruebas de esfuerzo en cinta rodante. Todas las pruebas fueron realizadas por los médicos responsables del centro Médico Kroton situado en la Av. de Madrid, 3, 25003 Lleida.

La primera prueba (Figura 28) se realizó el día 1, es una prueba de esfuerzo incremental con valoración de gases. Se puso en marcha un protocolo con escalones cortos modificado en tapiz rodante con una pendiente del 1%, donde se valoraron los umbrales aeróbico y anaeróbico y la VO_{2max} . Esta prueba solo se realiza una vez, antes de iniciar la intervención, y tiene la finalidad de describir la muestra y determinar a qué velocidad se fijará la cinta rodante en la segunda y la tercera prueba (RER 0,94) (Figura 29).

Figura 28: Esquema de la prueba de esfuerzo máxima con valoración de gases.



Para realizar la prueba, el participante estuvo en reposo, con los ojos cerrados, sin ruido en la sala, sin movimiento y con la mayor tranquilidad posible durante 5 minutos, con la intención de valorar el metabolismo basal. Posteriormente, realizó un calentamiento antes de iniciar la prueba. La prueba inicia a 6 km/h, realizándose incrementos de 1 km/h cada minuto hasta el agotamiento del deportista. Se mantuvo el registro de gases una vez finalizada la prueba mientras el participante se recuperaba, con lo cual, se esperó que se estabilizara el descenso de VO_2 , o que la FC llegara a 120, o que el RER comenzara a descender.

Una semana después (día 7) se realizó la segunda prueba de esfuerzo (Figura 29), en este caso con un protocolo modificado. El protocolo se mantiene a la anterior descrita, incluido el consumo basal durante los 5 minutos previos. Nuevamente la prueba empezó a 6 km/h y se realizaron incrementos de 1 km/h cada minuto, es a partir de aquí que se realizó la modificación del protocolo. Los aumentos de velocidad se mantuvieron hasta que el RER llegaba a 0,94, ya

que como se comentó anteriormente, en estos valores el organismo utiliza aproximadamente un 20% de grasa y permite cuantificar un consumo concreto de este nutriente, en dicho momento, se fijó la velocidad y se mantuvo al corredor durante 20 minutos a la misma intensidad. Esta prueba se repitió al cabo de 2 semanas (día 21). Entre la segunda (día 7) y la tercera (día 21) prueba de esfuerzo se realizó la intervención con PG.

Figura 29: Esquema de la prueba de con protocolo modificado.



La intervención consistió en el mismo protocolo usado en todos los experimentos en donde el grupo control ingirió una cápsula de 500mg de matriz de celulosa y el grupo de intervención 500mg de extracto seco de PG, ambas del mismo color (verde). El deportista tomaba la pastilla dos horas antes de iniciar la actividad física (entrenamientos y la tercera prueba para la investigación), con un vaso de agua y separado de cualquier tipo de comida. Los días de descanso del entrenamiento ingirió la cápsula dos horas antes de la comida.

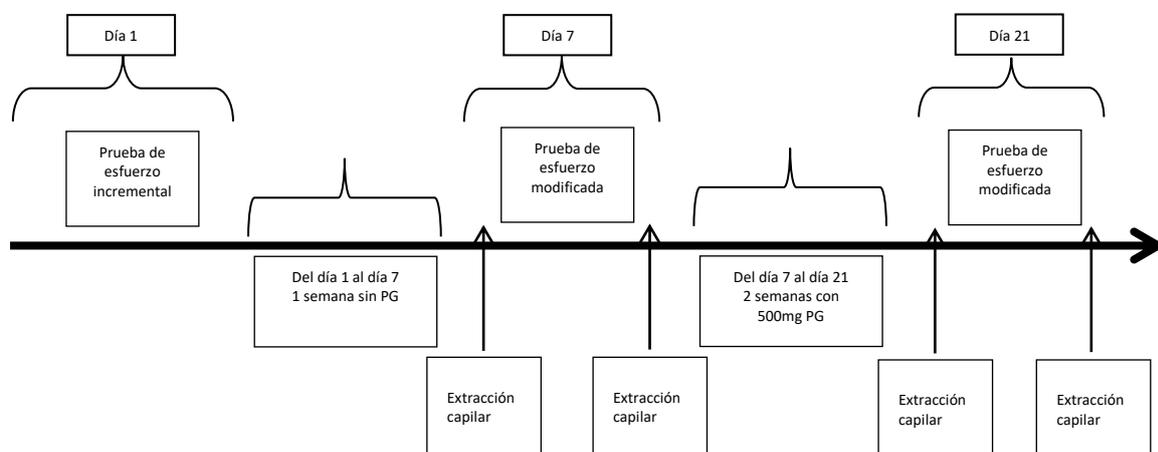
Se realizaron extracciones de sangre antes y después de las pruebas con protocolo modificado (Figura 29). Con ello se midió tanto los cambios a nivel de perfil lipídico sanguíneo como los niveles de inflamación.

Además se realizaron mediciones de lactato capilar *in situ* durante las pruebas (Figura 29), al minuto 0, al minuto 10 de iniciada la prueba, al finalizarla y al minuto 10 post esfuerzo. Al minuto 15 de iniciada la misma prueba, se realizó un test matemático para evaluar la capacidad de concentración mental del deportista.

Para el control antropométrico y dietético se realizaron antropometrías y registros de la ingesta (como se recomendó en anteriores experimentos). Las antropometrías y el registro dietético se

realizaron antes y después de la segunda y tercera prueba. En la Figura 30 se puede observar el esquema de todo el experimento.

Figura 30: Esquema de la intervención. Evaluación de la eficacia del PG en el rendimiento deportivo, la fatiga, la recuperación y parámetros metabólicos, ensayo clínico aleatorizado.



Las extracciones de sangre, se obtuvieron por medio de 2 tubos de 300 μ L (Microvette CB300LH, ref: 16434) de sangre capilar cada uno. Se centrifugaron a 2000rpm para obtener el plasma durante 6 minutos. Cada muestra se separó en 2 alícuotas (Tubo de microcentrífuga Ref: 175510) y se conservaron a -80 $^{\circ}$ C hasta su análisis. El análisis de los parámetros se realizó en los laboratorios de investigación de las instalaciones del departamento de fisiopatología metabólica de la Universidad de Lleida. La extracción la realizó una enfermera perteneciente al equipo de investigación o un técnico en farmacia y laboratorio.

6.3.1. Participantes en el estudio.

6.3.1.1. Criterios de inclusión.

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

6.3.1.2. Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.

- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

6.3.2. Tamaño de la muestra.

Para calcular el tamaño de la muestra del experimento hemos utilizado las tablas de referencia del libro “Métodos de investigación clínica y epidemiológica” de Josep María Argimon (Argimon, 2004). (Tabla F del libro, para la comparación de dos medias mediante la prueba de la t de Student-Fisher). Para el cálculo se procedió de la siguiente manera:

- La variable dependiente principal es de tipo cuantitativa, la hipótesis es de tipo bilateral, el error alfa que se asume para esta investigación es del 0,05 y el error beta es del 0,2.
- Para valorar la diferencia mínima entre los dos grupos, se ha utilizado la variable dependiente principal denominada como el volumen de O₂ producido, los datos se han obtenido de los estudios elaborados por Ping y colaboradores (Ping et al., 2011)
- Por tanto, para calcular el tamaño de la muestra de este estudio se ha tomado como referencia una media de cambio de $d = 5 \text{ ml/Kg/min de VO}_2$.
- La desviación estándar del VO₂ en la realización de dicha prueba en deportistas de esta categoría es de $S = 4,7 \text{ ml/Kg/min}$. Así que el $d/s = 1,064$

Tamaño de la muestra según tablas es de 14 participantes por cada grupo.

6.3.3. Variable independiente y aleatorización.

En este estudio la variable independiente es una variable cualitativa dicotómica y se denomina como la ingesta de 500mg de extracto seco de PG o la ingesta de 500mg de celulosa Microcristalina al día. El participante ingirió 500mg de PG 2 horas antes del entreno, los días de descanso la ingesta se realizó 2 horas antes de la comida del medio día.

Se utilizó el programa informático EPIDAT (versión 3) programa creado por la Organización Panamericana de la Salud y la Xunta de Galicia para la aleatorización de los participantes. En dicho programa se introdujo la lista con todos los deportistas. La aplicación asignó un numero

aleatorio a cada participante, separándolos en dos grupos (grupo intervención y grupo control). El estudio es doble ciego y la asignación aleatoria se imprimió dos veces, una de ellas es para la utilización del equipo investigador y la otra fue guardada por otro miembro del equipo ajeno a la investigación. De esta manera se puede revisar o asegurar dicho procedimiento.

Tanto la suplementación para el grupo intervención (PG) como para el grupo control (control), fue elaborada por el mismo laboratorio de Formulación Magistral descrito en el apartado anterior (Crusellas Losa and Isanta, 2014).

El extracto de PG pertenece a la categoría de extracto seco, con certificado de análisis y ficha de seguridad (Anexo 6) expedido por el distribuidor de materias primas farmacéuticas Meta Pharmaceutical (González, 2018). El placebo, celulosa Microcristalina, con certificado de análisis (Anexo 15) y ficha de seguridad (Anexo 16) fue expedido por el distribuidor de materias primas Grupo Fagron (Fagron Iberica, 2014). Nuevamente, en el caso que el participante presente alguna molestia intestinal o cualquier efecto adverso que se pueda atribuir a la suplementación, éste debe comunicarlo lo antes posible al equipo investigador para interrumpir la intervención.

6.3.4. Variables relacionadas con el metabolismo lipídico.

6.3.4.1. Lípidos totales, colesterol total, triglicéridos y ácidos grasos libres.

El análisis de estos parámetros se realizó con el mismo procedimiento y la misma técnica que la explicada en el apartado 5 (ver Tabla 17, Tabla 18, Tabla 19 y Tabla 20 respectivamente).

6.3.4.2. Análisis de composición lipídica en plasma enfocada en ácidos grasos.

Variable cuantitativa continua, y se entiende como el índice de:

- Ácidos grasos saturados (SFA)
- Ácidos grasos insaturados (UFA)
- Ácidos grasos mono-saturados (MUFA)
- Ácidos grasos poli-insaturados de series n-3 y n-6 series (PUFAn-3 y PUFAn-6)
- Ácidos grasos de cadena media (ACL) = $[(\Sigma\%Total_{14} \times 14) + (\Sigma\%Total_{16} \times 16) + (\Sigma\%Total_{18} \times 18) + (\Sigma\%Total_{20} \times 20) + (\Sigma\%Total_{22} \times 22) + (\Sigma\%Total_{24} \times 24)]/100$
- Índice de doble enlace (DBI) = $[(1 \times \Sigma\text{mol}\% \text{ monoenoico}) + (2 \times \Sigma\text{mol}\% \text{ dienoico}) + (3 \times \Sigma\text{mol}\% \text{ trienoico}) + (4 \times \Sigma\text{mol}\% \text{ tetraenoico}) + (5 \times \Sigma\text{mol}\% \text{ pentaenoico}) + (6 \times \Sigma\text{mol}\% \text{ hexaenoico})]$

- Índice de peroxidabilidad (PI) = $[(0.025 \times \Sigma \text{mol\% monoenoico}) + (1 \times \Sigma \text{mol\% dienoico}) + (2 \times \Sigma \text{mol\% trienoico}) + (4 \times \Sigma \text{mol\% tetraenoico}) + (6 \times \Sigma \text{mol\% pentaenoico}) + (8 \times \Sigma \text{mol\% hexaenoico})]$
- Índice anti-inflamatorio (AI) = $[(20:3n-6) + (20:5n-3) + (22:6n-3)] / (20:4n-6) \times 100$ en los tiempos de la intervención.

Para la valoración de los ácidos grasos en las muestras, éstos fueron esterificados, los esteres metílicos de ácidos grasos (FAMES) resultantes fueron analizados con una técnica de alta sensibilidad, cromatografía de gases (GC). La identificación de los veintidós FAMES fue realizado por comparación con los estándares de cada uno de ellos. Los resultados fueron expresados como mol%. El perfil de ácidos grasos detectado, identificados y cuantificados representa más del 95% del total del cromatograma.

El proceso realizado para llevar a cabo dicha técnica, consiste en una primera fase, donde se separan los lípidos y proteínas de la muestra, para pasar a una segunda fase, donde se realiza la esterificación de los lípidos (Jové et al., 2014). Finalmente se realiza el análisis de dichos esteres mediante cromatografía de gases acoplado a un detector FID (del inglés, *Flame Ionizator Detector*). En la Tabla 28 se puede observar el procedimiento para la separación de lípidos de la muestra.

A partir de esta fase, resumidamente, los ácidos grasos son esterificados por incubación en 2ml de 5% metanol-HCl a 75°C durante 90min. Los FAMES resultantes son extractados añadiendo 2ml de n-pentano y 1ml de una solución saturada de NaCl. La fase del n-pentano es evaporado con gas de N₂ para posteriormente redissolver el contenido en 80µl de carbón disulfuro. 2µl es usado para el análisis de GC. El procedimiento de la esterificación se puede observar en la Tabla 29.

El análisis fue realizado por medio de un GC System 7890A (Series Injector 7683B) y un FID (Agilent Technologies Inc., Barcelona, Spain), equipado con un DB-23 *capillary column* (longitud 30m x diámetro interno de 0.25mm x grosor de la película 0.25µm; 122-2332, Agilent Technologies Inc., Barcelona, Spain).

La temperatura del inyector fue de 250°C. El ratio de flujo de helio (99.99%) fue mantenido a un ratio constante de 2ml/min. La temperatura de la columna fue de 150°C por 1min; seguidamente, la temperatura de la columna se aumentó de 35°C/min hasta 180°C por 10min. Se realizan incrementos de 5°C/min hasta 220°C por 7min, y con un *post-run* de 220°C por 10min.

Tabla 28: Separación de lípidos y proteínas para GC/MS.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Utilizar tubos de cristal de 8ml (Pyrex GPI 15-415) ● Añadir a 490µL de solución tampón homogeneizador, 10µL de muestra. Esta mezcla puede ser congelada a -80°C hasta su análisis. ● Añadir 500µL de metanol a la anterior mezcla, tapar y realizar una agitación (vortex). ● Posteriormente añadir 1000 µL de cloroformo, tapar y realizar una agitación (vortex). ● Centrifugar 15 minutos a 4°C y 4400rpm. ● Extraer 800µL aproximadamente la parte orgánica, el cloroformo (parte del fondo), con pipetas de cristal y reservar en otro tubo. ● Añadir 800µL de cloroformo nuevamente y realizar una agitación. Volver a centrifugar en las mismas condiciones. ● Extraer nuevamente la parte orgánica y mezclar con la cantidad antes reservada. ● El tubo con el volumen total de cloroformo ya está listo para iniciar la esterificación de lípidos. Puede ser congelado a -80°C hasta su análisis. ● El tubo con la otra parte puede ser reservada para el análisis de las proteínas. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Solución tampón homogeneizador pH 7,4.	Realizar una mezcla a partes iguales de: Solución de KCl 180mM. Solución de MOPS 5mM. Solución de EDTA 2mM. Solución de DTPAC 1mM. Añadir a la mezcla anterior antes de ser usada, 25µL de solución de BHT 1mM	
Reactivos / Materiales	Casa comercial	Referencia
Potasio cloruro (KCl)	Panreac Quimica SL, Barcelona, España.	141494
3-(N-morpholino) propanesulfonic acid (MOPS)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	M5162
Edetato disódico (EDTA)	Panreac Quimica SL, Barcelona, España.	13126
Diethylenetriaminepenta-acetic acid (DTPAC)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	D7,160-7
2,6-Di-terc-buthyl-4-methylphenol (BHT)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	822021
Cloroformo.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany.	34854
Metanol 99,9%	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	34860

Tabla 29: Esterificación de lípidos.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Partimos del volumen total de cloroformo, del resultado de la separación de lípidos y proteínas de las muestras. ● Evaporar la muestra con un evaporador de N₂ durante unos 20 minutos aproximadamente. ● Posteriormente añadir 2ml de una solución Metanol / Acetylclorhidre y realizar una agitación (Vortex). ● Calentar la mezcla, en los tubos, durante 90 minutos a 75°C. ● Añadir 1ml de NaCl saturado y acto seguido 2ml de pentano (realizarlo en este orden). Realizar una agitación (Vortex). ● Centrifugar 15 minutos a 4°C y 4400rpm. ● Extraer la parte superior (pentano) y pasarlo a otro tubo, la parte acuosa se descarta. ● Evaporar la muestra con el pentano con un evaporador de N₂ durante unos 20 minutos aproximadamente. ● Resuspender con 80µL de CS₂. Agitar y recoger la muestra y pasarlo en viales de cristal listos para usarlos. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Solución Metanol / Acetylclorhidre.	Para 20ml de solución mezclar 18,7ml de metanol con 1,3ml de acetylclorhidre. Reacción muy exotérmica, mezclar gota a gota.	
NaCl saturado.	36 g de NaCl por cada 100 g de agua	
Reactivos / Materiales	Casa comercial	Referencia
Cloruro sódico.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	S9888
Acetylclorhidre.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	990
Metanol 99,9%.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	34860
Pentano.	Honeywell International Inc, Bucharest, Romania	468151
Carbono di sulfuro (CS ₂)	Honeywell International Inc, Bucharest, Romania	84712

6.3.5. Variables relacionadas con el metabolismo antes, durante y después de la realización de la actividad deportiva.

Las variables relacionadas con el rendimiento deportivo se obtienen por medio de una prueba de esfuerzo con un protocolo modificado donde se realiza una calorimetría indirecta (Figura 29). Esta prueba es sensible, no invasiva y da unos resultados bastante aproximados a los reales. Los datos obtenidos de las pruebas se guardaron en el informe generado por el sistema informático y se trasladaron a un archivo tipo Excel para ser valorados.

La prueba de esfuerzo se realizó con las condiciones necesarias y estipuladas por el Documento de consenso de la Sociedad Española de Medicina del Deporte (SEMED - FEMEDE) (Marqueta et al., 2016). El personal que realizó la prueba está comprendido por un médico deportivo con experiencia en reanimación y situaciones de urgencia, una enfermera y un nutricionista deportivo. La prueba se realiza en una sala de ergometría donde se dispone de un analizador de

gases espirados (ERGOSTIK (ref: 7500)) y un ergómetro tipo tapiz rodante. Al participante se le colocó un electrocardiógrafo para registrar el ritmo cardiaco.

Para valorar el metabolismo antes de realizar las pruebas (segunda y tercera) (5 minutos antes de iniciar), durante (20 minutos a la misma intensidad) y después (3 minutos post esfuerzo) (Figura 29), concretamente se registraron las siguientes variables:

6.3.5.1. Consumo de Oxígeno (O_2) y producción de dióxido de carbono (CO_2).

Variable cuantitativa continua medida en ml/kg/min del consumo de O_2 y producción de CO_2 antes, durante y después de las pruebas. Se registra dicho valor cada segundo del test y se realiza una media para obtener el valor final. Este parámetro es el valor más directo de medida del metabolismo energético del deportista.

6.3.5.2. Ratio de intercambio respiratorio.

Variable cuantitativa continua medida como la ratio del CO_2 producido con el O_2 consumido (VCO_2 / VO_2), el cual, es calculado con el intercambio de gases a nivel pulmonar antes, durante y después de las pruebas. Se registra dicho valor cada segundo del test y se realiza una media para obtener el valor final.

Este término es usado para representar el gasto energético y el tipo de energía proveniente (grasas o hidratos de carbono) del metabolismo. Se ha registrado el RER correspondiente a cada participante de manera basal y en la recuperación para valorar el gasto proveniente de cada macronutriente. Durante la prueba se ha propuesto valorar los cambios a una misma velocidad fijando un RER de 0,94 que corresponde aproximadamente a un 20% de uso energético proveniente de las grasas. La idea es valorar si el metabolismo de la grasa se ve modificado con la intervención durante la práctica deportiva aeróbica.

6.3.5.3. Volumen ventilatorio.

Variable cuantitativa continua medida como el volumen ventilatorio en L/min. El cual, es calculado con el flujo de gases a nivel pulmonar antes, durante y después de las pruebas. Se registra dicho valor cada segundo del test y se realiza una media para obtener el valor final.

Este valor es lineal con el CO_2 producido y el O_2 consumido, como mínimo entre el 60 y el 70% del VO_{2max} , a partir de este momento el VE aumenta con mayor rapidez que el O_2 consumido debido a la utilización de glúcidos por vía anaeróbica.

6.3.5.4. Frecuencia cardíaca.

Variable cuantitativa discreta que registra la FC, en pulsaciones por minuto, antes, durante y después de la actividad. Es cuantificada por el electrocardiógrafo que lleva el participante en el tórax durante toda la prueba. Se registra dicho valor cada segundo del test y se realiza una media para obtener el valor final. En la recuperación se calcula la disminución de las pulsaciones desde que acaba la prueba hasta los 3 minutos siguientes.

La FC registrada en los momentos acordados son valores necesarios para dar una idea de la situación cardiovascular del participante. La FC basal muestra de donde partimos y las variaciones en reposo. La frecuencia cardíaca durante la prueba nos proporcionará información del estado físico, ya que evalúa la intensidad de esfuerzo a la que el organismo ha sido expuesto, es decir nos ayudará a determinar el esfuerzo y la intensidad del ejercicio (Bouzas Marins et al., 2010). Finalmente la frecuencia cardíaca post prueba nos permiten valorar la recuperación una vez finalizada la prueba.

6.3.6. Variables relacionadas con la inflamación.

Es una variable cuantitativa continua entendida como la cantidad en pg/mL de Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 8 (IL-8), Interleucina 10 (IL-10), Interleucina 1ra (IL-1ra) y el Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) valoradas en plasma de los deportistas, antes y después de las pruebas SUB.

Para realizar el análisis se utilizó un kit Milliplex[®] MAP para la detección de interleucinas en muestras por medio de un panel magnético. Cada kit contiene: controles de calidad de cada lote para asegurar los resultados del ensayo, estándares para realizar la calibración, matriz de suero optimizada para imitar el ambiente del analito y coctel de anticuerpos. Junto con el método de detección Luminex xMAP[®] (MAGPIX[®]) permite cuantificar múltiples analitos simultáneamente, en este caso, los analitos antes mencionados.

El principio del método consiste en codificar internamente microesferas con dos tintes fluorescentes que puede crear hasta 100 colores distintos, cada uno recubierto con un anticuerpo de captura específico. Después de que la perla captura un analito de una muestra, se introduce un anticuerpo de detección biotinilado. La mezcla de reacción se incuba luego con estreptavidina conjugada, la molécula informadora, para completar la reacción en la superficie de cada microesfera.

Se permite que las microesferas pasen rápidamente a través de un láser, que excita los tintes internos que marcan el conjunto de microesferas. Un segundo láser excita la estreptavidina conjugada, el colorante fluorescente de la molécula informadora. Finalmente, los procesadores de señales digitales de alta velocidad identifican cada microesfera individual y cuantifican el resultado, basado en señales fluorescentes. El procedimiento del inmuno ensayo se puede observar en la Tabla 30.

Tabla 30: Procedimiento para detección de interleucinas kit Milliplex®

Procedimiento:	
<ul style="list-style-type: none"> ● Tener todas las soluciones a punto y a temperatura ambiente. Se recomienda realizar las medidas por duplicado. ● Agregar 200 µL de tampón de lavado en cada pocillo de la placa (placa de 96 pocillos). Tapar con papel aluminio y mezclar en un agitador durante 10 minutos a temperatura ambiente (20-25 ° C). ● Decantar el tampón de lavado y eliminar la cantidad residual de todos los pozos invirtiendo la placa y secando el sobrante cuidadosamente con toallas absorbentes varias veces. ● Agregar 25µL de cada estándar o control a los pozos apropiados. ● Agregar 25µL de tampón de ensayo a los pocillos de muestra. ● Agregar 25µL de solución de matriz apropiada a los estándares y control. ● Agregar 25µL de muestra de plasma. ● Agitar la botella con las microesferas energicamente y añadir 25µL a cada pozo. ● Tapar la placa con un sellador de placas y envolverla con papel de aluminio y agitar 2 horas a temperatura ambiente (20-25°C). Una incubación durante la noche (16-18 hr a 4°C) puede mejorar la sensibilidad del ensayo para algunos analitos, por este motivo se escogió este procedimiento en este proyecto. ● Situar el bloque de separación magnética manual (catálogo EMD Millipore n.º 40-285) y lavar suavemente el contenido de la placa 2 veces. ● Agregue 25µL de anticuerpos de detección en cada pozo, tapar e incubar en agitación durante 1 hora a temperatura ambiente ● Posteriormente agregar 25µL de estreptavidina-ficoeritrina a cada pocillo. Tapar y agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente. ● Nuevamente, retirar suavemente el contenido del pozo y la placa de lavado 2 veces, siempre con el bloque de separación. ● Agregar 150µL de <i>Sheath Fluid</i> a todos los pozos y agitar durante 5 minutos. ● Leer la placa en Luminex 200™ con el software xPONENT. 	
Soluciones	Composición y preparación
Solución de microesferas con anticuerpo.	Añadir en la botella de mezcla del kit 60µL de perlas (vortex durante 1 minuto) con el diluyente hasta completar 3ml y reservar.
Controles de calidad.	Reconstituir los controles de calidad 1 y 2 con 250 µL de agua desionizada. Invertir el vial varias veces para mezclar y agitar.
Tampón de lavado.	Diluir 30ml del tampón de lavado con 270ml de agua desionizada y reservar.
Matriz de suero.	Agregar 1ml de agua desionizada a la botella que contiene la Matriz de suero liofilizada. Mezclar bien. Dejar por lo menos 10 minutos para la reconstitución completa.

<i>Continuación Tabla 30: Procedimiento para detección de interleucinas kit Milliplex®</i>		
Estándares de interleucinas humanas .	Etiquetar los tubos apropiados del kit con 10000, 2,000, 400, 80, 16 y 3.2 pg/ml para reservar los estándares y agregar 200 µL de tampón de ensayo. Por otro lado, reconstituir el estándar de interleucinas humanas con 250µL de agua desionizada para obtener una concentración de 10,000pg/ml de estándar para todos los analitos. Agitar durante 10 segundos. Para crear las diluciones pasar 50µL de la primera dilución a la segunda, agitar durante 10 segundos, posteriormente añadir 50 µL de la segunda a la tercera dilución y así sucesivamente hasta obtener las 5 concentraciones. El estándar de 0pg/ml es tampón de ensayo.	
Reactivos / Materiales	Casa comercial	Referencia
Milliplex MAP Kit. Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead. Panel 96 Well Plate Assay	EMD Millipore Corporation, Merck KGaA, Darmstadt, Germany	HCYTOMAG – 60K

6.3.7. Variables relacionadas con la fatiga.

En este experimento se observó la evolución de la fatiga por medio de tres vías:

6.3.7.1. Lactato capilar.

Es una variable cuantitativa continua, que registra el lactato vía capilar durante la segunda y tercera prueba. Se midió basalmente, al minuto 10 de iniciada la prueba, al finalizarla y al minuto 10 post ejercicio (Figura 29). Este parámetro se midió *in situ* con un lactómetro Accutrend Plus de laboratorios Roche. El aparato realiza una medición fotométrica de la reflectancia utilizando tiras reactivas específicas. Se deposita una gota de sangre del lóbulo de la oreja cubriendo toda la parte de medición de la tira reactiva, el resultado se visualiza al cabo de 60 segundos.

Es bien sabido que la acumulación de lactato sanguíneo debido a la sobreproducción de éste y/o a la falta de reconversión por la alta intensidad del deporte realizado, es un factor limitante del rendimiento, es decir si un deportista supera el umbral del lactato a una determinada VO_2max se verá obligado a disminuir la carga de entrenamiento debido a los efectos secundarios de dicha acumulación (Mcardle et al., 2004).

6.3.7.2. Percepción del esfuerzo.

Es una variable cualitativa que mide la escala de percepción del esfuerzo del deportista. Se midió por medio de la escala del esfuerzo percibido de Borg (Burkhalter, 1996; Morgan, 1973),

ésta, mide la gama entera del esfuerzo que el individuo percibe al hacer ejercicio. Esta escala da criterios para hacer ajustes a la intensidad de ejercicio, o sea, a la carga de trabajo, y así pronosticar y dictaminar las diferentes intensidades del ejercicio en los deportes y en la rehabilitación médica.

El participante que hizo la prueba asignó un número del 1 al 10, en una línea consecutiva de números para representar la sensación subjetiva de la cantidad de trabajo que está realizando. La asignación se realizó en el minuto 3, 12 y 19 de iniciada las pruebas (Figura 29). En la Figura 31, podemos observar los valores de la escala de Borg que el participante debía escoger.

Figura 31: Escala de Borg.

ESCALA DE ESFUERZO DE BORG	
0	Reposo total
1	Esfuerzo muy suave
2	Suave
3	Esfuerzo moderado
4	Un poco duro
5	Duro
6	
7	Muy duro
8	
9	
10	Esfuerzo máximo

(Burkhalter, 1996; Morgan, 1973)

El concepto del esfuerzo percibido es una valoración subjetiva que indica la opinión del sujeto respecto a la intensidad del trabajo realizado. La escala es una herramienta valiosa dentro del ámbito del desempeño humano, en que a menudo la consideración importante no es tanto lo que haga el individuo, sino lo que cree que hace (Burkhalter, 1996). El valor obtenido de esta escala nos darán unas pautas para determinar la intensidad del ejercicio y la percepción del sujeto a la fatiga (Bouzas Marins et al., 2010).

6.3.7.3. Concentración mental.

Es una variable cualitativa que mide la concentración mental durante la prueba. La fatiga y las altas intensidades en la actividad física reducen la concentración mental del deportista. En el corredor, es un aspecto importante ya que mantener una concentración mental adecuada ayuda a la toma de decisiones. Por lo anterior se realizará un test corto de concentración y memoria.

Se ha realizado un test de elaboración propia, ya que no se ha encontrado un test práctico que se ajuste a este experimento y ayude a cuantificar este aspecto durante la práctica deportiva. Para la elaboración del test, se han reunido diferentes aspectos estudiados en diferentes investigaciones, dichos aspectos se han ajustado a este experimento (Nestor et al., 2008; Pitel et al., 2012)

El test combina 3 operaciones matemáticas sencillas con 3 listados numéricos, dicho listado combinan la memoria a corto plazo y la concentración durante las prueba. El test se realizó al minuto 15 de iniciada la prueba (Figura 29) y se cuantificó los segundos de tiempo necesario para contestar cada una de las preguntas propuestas. Antes de empezar la prueba se le explicó el procedimiento de elaboración del test y durante la prueba se siguió los siguientes pasos.

- En la primera parte del test, se le propone una operación matemática al corredor, debe pensar la respuesta, en el momento que conozca la respuesta, debe levantar la mano derecha. En total se realizaron 3 operaciones. Las operaciones fueron las siguientes: $8-6$, 6×7 y $12/3$.
- En la segunda parte del test, se le dice al participante un listado de 4 números, el corredor debe memorizar los números ya que acto seguido debe realizar una operación matemática entre ellos, en el momento que conozca la respuesta, debe levantar la mano derecha. En total se realizaron 3 operaciones. Listado A: 5, 7, 4, 1, suma el primero y el último. Listado B: 3, 8, 2, 5 Resta el segundo menos el último. Listado C: 2, 9, 1, 6 multiplica el segundo por el tercero.
- Las respuestas se presentan en una cartulina con 2 opciones (una correcta y otra incorrecta) para que el participante señale la respuesta que pensó. En el caso de error se presenta una nueva operación. El tiempo registrado cuenta desde que se propone la operación matemática hasta que el deportista levanta la mano. Se repitieron las mismas preguntas antes y después de la intervención.

6.3.8. Variables de control.

6.3.8.1. Presión arterial.

Es una variable cuantitativa continua medida en mmHg (ver pág. 69). Esta variable se midió en reposo, al finalizar las pruebas y a los 5 minutos de recuperación. Se utilizó un esfigmomanómetro anerode (Prestige Medical 80) para obtener el registro. El dato fue analizado por el médico presente en la sala.

6.3.8.1. Talla.

Estatura de una persona, es decir, lo que mide desde los pies a la cabeza. Es una variable cuantitativa continua que se expresa en metros de longitud. Esta variable se registra una sola vez y se obtuvo utilizando un tallímetro clínico estándar.

6.3.8.2. Peso corporal.

Es la masa del cuerpo en kilogramos. Es una variable cuantitativa continua. El peso se obtendrá directamente del paciente pesándolos semidesnudos en dos ocasiones, al inicio y al finalizar el estudio, mediante una báscula calibrada estándar.

6.3.8.3. Índice de masa corporal (IMC).

Es una medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo. Este valor se obtiene al dividir el peso en Kg con la altura en metros al cuadrado y se expresa en Kg/m^2 . Es una variable cuantitativa continua que se registrará en dos ocasiones, al inicio y al finalizar el estudio.

6.3.8.4. Porcentaje de grasa corporal y porcentaje de masa libre de grasa.

Variable cuantitativa continúa. Se mide mediante el estudio antropométrico y permite la estimación de la composición del corporal (kg de masa grasa, Kg de masa libre de grasa). La antropometría se refiere a las diferentes medidas del tamaño y las proporciones del cuerpo humano. Las ecuaciones antropométricas de predicción permiten estimar la densidad corporal, y a partir de este valor podemos calcular el porcentaje de grasa corporal y por derivación la masa libre de grasa (MLG) (Alvero Cruz, 2009). Para esta variable se realizó una antropometría con un protocolo ISAK al inicio y al finalizar el estudio y se utilizó la fórmula de Yuhaz para la cuantificación del componente graso.

6.3.8.5. Prueba de esfuerzo máxima.

Variable cuantitativa continúa con la finalidad de describir la muestra a nivel metabólico. Se cuantifica la FC, VO_2 consumido y velocidad en los umbrales aeróbico y anaeróbico y en la VO_2max con el fin de describir la muestra y con el fin de conocer aproximadamente la velocidad en la que el participante se ubicaría en un RER de 0,94.

6.3.9. Variables relacionadas con el estilo de vida y entrenos.

Para recoger la información de estas variables, se ha realizado el mismo cuestionario propio descrito en el apartado 4 (pág. 68, Anexo 9). Además se han realizado los siguientes apartados:

6.3.9.1. Cambios a nivel dietético nutricional.

Es una variable cuantitativa continua, entendida como la cantidad de calorías totales ingeridas al día (Kcal/día) y como la cantidad de hidratos de carbono, proteínas y grasas de dicha ingesta. La variable se recogió antes y después de la intervención por medio de un registro dietético de 24 horas (día previo a las pruebas) (Anexo 17).

El recordatorio 24H es una técnica habitual y validada en la práctica clínica de nutrición y dietética. Se suele realizar *in situ*, con preguntas directas al paciente de lo que ingirió el día previo. Posteriormente se valora la ingesta y se calcula los valores de interés por medio de un programa informático (Software Dial).

6.3.9.2. Registro de entrenamientos.

Es una variable cuantitativa continua, entendida como la cantidad de kilómetros y minutos totales corridos a la semana antes y después de la intervención. La variable se recogió por medio de un registro semanal de entrenamiento (semana previa a las pruebas) (Anexo 18).

6.3.10. Variables relacionadas con la adherencia y efectos adversos.

Esta variable se define como la seguridad y la adherencia de la utilización de la suplementación de PG y del placebo en los deportistas. Es una variable cualitativa dicotómica que se recoge semanalmente por medio de un apartado en el mismo cuestionario utilizado en todos los experimentos y que monitoriza todos los posibles efectos adversos que puede presentar el participante durante la ingesta del tratamiento (pág. 68, Anexo 9).

6.3.11. Técnicas de enmascaramiento.

Este estudio se realiza a doble ciego. Por una parte los participantes no supieron a qué grupo pertenecían, por otra parte los investigadores principales de esta investigación tampoco conocían dicho dato.

6.3.12. Previsión del análisis de datos

Los datos de cada participante se almacenaron en una base de datos tipo Excel, en la cual se incorporaron medidas de filtro para minimizar errores de transcripción. Dichos datos fueron exportados al programa estadístico GraphPad Prism 5, para realizar el análisis estadístico correspondiente. Se realizó una revisión de la calidad de los datos a través de un análisis de frecuencias extremas y un análisis de inconsistencias.

Para llevar a cabo un análisis estadístico descriptivo, se realizó una descripción univariante de las variables principales en base al cálculo de recuentos, proporciones y medidas de tendencia central y de dispersión (media aritmética e intervalo de confianza). Esta primera explotación nos permitirá describir la muestra de forma global.

Para realizar un análisis estadístico comparativo, en primer lugar se evaluó la comparabilidad de los dos grupos PG y control al inicio del período de seguimiento.

Posteriormente se comparó la distribución de los valores de las variables de interés intra entre grupos. Se analizaron los cambios evolutivos ocurridos en cada grupo, mediante test de significación estadística para datos apareados (t de student) en el grupo control y en el grupo intervención. Además, una prueba estadística (t de student) de datos apareados para valorar diferencias antes y después del tratamiento.

Después, se analizaron las posibles diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos con los datos obtenidos al finalizar la intervención (2 way ANOVA). Por último se analizaron más detalladamente la evolución de los participantes comparando las diferencias encontradas en cada grupo. Es decir, en cada grupo se valoró la diferencia entre los resultados del inicio con los del final de la intervención. Posteriormente dichas diferencias se sometieron a la prueba de significación estadística. Se aceptaron diferencias por debajo de una p del 0,05.

6.3.13. Aspectos éticos y legales.

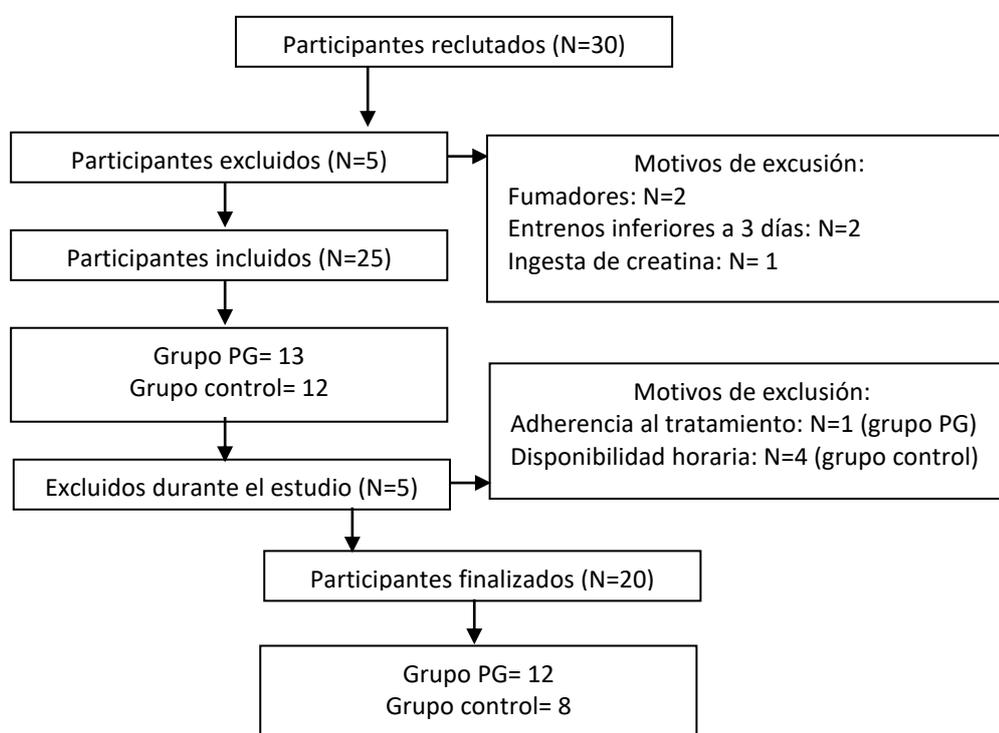
El presente estudio tomó las mismas medidas para la protección de datos de todos los participantes (apartado 4 pág. 71). Este estudio ha sido revisado y aprobado por el comité ético de investigación clínica del Hospital Arnau de Vilanova mediante la valoración de este protocolo (Código CEIC 1742) (Anexo 12) y registro *clinical trials* (Código NCT03888196).

6.4. Resultados

6.4.1. Parámetros de control.

Veinte participantes finalizaron el estudio, 8 en el grupo control y 12 en el grupo intervención. Un participante del grupo intervención fue excluido del estudio por no ingerir la cápsula dos días seguidos y 4 participantes del grupo control no finalizaron el estudio por problemas de disponibilidad horaria (Figura 32).

Figura 32: Diagrama de flujo del estudio PG como ayuda ergogénica I.



No se han encontrado diferencias significativas en las variables antropométricas, de entrenamiento y de ingesta dietética antes de empezar el experimento ni después (Tabla 31). En el grupo intervención se ve un aumento significativo del consumo de proteínas antes de realizar el test al cabo de dos semanas de iniciada la intervención pero la ingesta total al día no muestra diferencias significativas. También se observa una disminución, aunque sin significación estadística, en minutos (-50 minutos semanales aprox.) y en kilómetros (-6 km semanales) entrenados en el grupo control después de dos semanas de tratamiento. Hay que recordar que este registro es como medida de control adicional a los controles por parte del entrenador, hay posibilidad de que no se registrara adecuadamente o el recordatorio del entrenamiento por parte del deportista tuviera sesgos, el entrenador no varió sus entrenamientos durante la

intervención. Por otra parte, no se presentó ningún efecto secundario atribuible al suplemento y la adherencia según el cuestionario fue de un 100%.

Tabla 31: Parámetros de control antes y después de dos semanas de intervención.

	Grupo control (n=8)				Grupo PG (n=12)			
Edad (Años)	37,44 (32,26 - 42,63)				34,17 (27,62 - 40,71)			
Antropometría	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
Peso (kg)	72,7	67,96 - 77,44	72,85	68,52 - 77,18	71,13	66,44 - 75,81	71,6	67,17 - 76,03
IMC (Kg/m ²)	24,45	22,94 - 25,96	24,5	23,09 - 25,92	23,32	21,53 - 25,10	23,46	21,77 - 25,16
Grasa (%) (Yuhaz)	9,716	7,200 - 12,23	9,703	7,402 - 12,00	8,952	6,613 - 11,29	8,999	6,721 - 11,28
Ms (%)	39,32	37,70 - 40,95	39,43	38,02 - 40,85	38,85	37,42 - 40,28	39,12	37,81 - 40,43
Entrenamiento								
Entreno Km / semana	30,13	16,08 - 44,17	24,13	13,59 - 34,66	32,54	21,50 - 43,58	33,75	15,05 - 52,45
Entreno min / semana	200,9	109,4 - 292,4	150,9	93,68 - 208,0	166,8	103,0 - 230,6	182,9	101,9 - 263,9
Nutrición								
Kcal pre test	645,6	422,7 - 868,6	673,5	457,9 - 889,1	513,2	402,4 - 623,9	669,3	478,7 - 859,8
Kcal 24 horas	2016	1628 - 2405	2451	1746 - 3157	2128	1790 - 2465	2248	1990 - 2505
gr CH / kg pre test	1,18	0,60 - 1,75	1,175	0,7954 - 1,555	0,9592	0,70 - 1,21	1,131	0,7939 - 1,468
gr CH / 24 horas	206,1	161,9 - 250,2	246,6	183,6 - 309,6	224,4	171,2 - 277,6	254,0	220,9 - 287,1
gr PT pre test	23,88	13,49 - 34,26	22,74	16,62 - 28,86	17,69	13,48 - 21,90	24,38*	16,94 - 31,81
gr PT / 24 horas	81,36	58,22 - 104,5	112,5	62,41 - 162,5	85,84	67,13 - 104,6	86,80	70,60 - 103
gr LIP pre test	21,35	13,16 - 29,54	23,86	10,98 - 36,74	17,33	12,34 - 22,31	25,38	15,76 - 35,01
gr PT / 24 horas	111,9	89,75 - 134	108,9	81,07 - 136,7	115,3	100,3 - 130,2	112,2	92,16 - 132,3

Ms: Masa libre de grasa; IMC: índice de masa corporal; CH: Carbohidratos; PT: Proteína; LIP: Lípidos;

* =p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥ =p<0,05 comparado con el grupo control.

Las condiciones fisiológicas son iguales en los grupos antes de empezar la intervención. La VO₂ y la FC en reposo, en los umbrales y en el esfuerzo máximo tienen un comportamiento homogéneo en todo el grupo. La velocidad en los umbrales es ligeramente superior en el grupo intervención. En la Tabla 32 se presentan los datos entre grupos de la VO₂, la FC y la velocidad en reposo, en los umbrales ventilatorios y en la capacidad máxima.

Tabla 32: Condición fisiológica de los participantes del estudio.

		Grupo control		Grupo PG	
		Valor	IC	Valor	IC
VO ₂ (ml/min/kg)	Máxima	49,97	46,58 - 53,36	54,35	47,87 - 60,84
	Umbral anaeróbico	43,98	36,68 - 51,27	48,26	42,04 - 54,47
	Umbral aeróbico	33,68	30,51 - 36,86	39,4	33,71 - 45,10
	Reposo	3,43	3,18 - 3,67	3,79	3,38 - 4,23
Frecuencia Cardíaca (ppm)	Máxima	178,5	174,1 - 182,9	177,9	170,6 - 185,2
	Umbral anaeróbico	163,5	157,8 - 169,2	166,6	159,3 - 173,9
	Umbral aeróbico	142,9	137,1 - 148,6	148,2	137,9 - 158,4
	Reposo	57,5	51,64 - 63,36	53,17	46,57 - 59,76
Velocidad (Km/hora)	Máxima	16,63	15,29 - 17,96	17,67	16,06 - 19,28
	Umbral anaeróbico	14,13	12,06 - 16,19	15,17¥	13,54 - 16,79
	Umbral aeróbico	11,13	9,991 - 12,26	12,25¥	10,81 - 13,69

¥=p <0,05 comparado con el grupo control; ppm: pulsaciones por minuto

6.4.2. Metabolismo lipídico.

No se encontraron cambios significativos en los parámetros del perfil lipídico plasmático entre los grupos antes de la intervención (Tabla 33). Se observa una disminución de los LT y de los TG después de dos semanas de suplementación con 500mg de PG diario antes de realizar la actividad física. Por otra parte se observa un incremento significativo de los LT y TG post ejercicio físico en relación a su estado basal después de la intervención.

Tabla 33: Perfil lipídico plasmático pre / post intervención.

Test pre intervención. Día 0								
	Grupo control				Grupo PG			
	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
LT (mg/dL)	598,77	555,8-641,8	664,67	556,9 - 772,5	670,57	592,5-748,7	679,44	605,3 - 753,6
CT (mg/dL)	182,58	134,0-231,2	181,95	133,1 - 230,8	164,69	138,2-191,2	172,78	148,3 - 197,3
TG (mg/dL)	63,49	48,39-78,59	71,29	58,16 - 84,43	84,96	55,64-114,3	93,39	66,58 - 120,2
NEFAS (mg/dL)	0,96	-0,406-2,327	1,03	0,461 - 1,602	0,67	0,292-1,056	1,36 [^]	0,62 - 2,10

Test post intervención . Día 15								
	Grupo control				Grupo PG			
	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
LT (mg/dL)	660,50	586,4-734,6	688,46	650,3 - 726,6	592,23*	519,2-665,3	669,73 [^]	598,9 - 740,6
CT (mg/dL)	188,69	143,2-234,1	217,17	164,1 - 270,3	164,61	143,2-186,0	180,87	153,1 - 208,6
TG (mg/dL)	65,14	56,60-73,68	69,29	55,36 - 83,22	70,72*	51,28-90,16	86,58 [^]	60,26 - 112,9
NEFAS (mg/dL)	1,57	-0,433-3,57	0,97	0,07 - 1,87	0,65	0,450-0,84	1,46 [^]	0,88 - 2,05

* = p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥= p<0,05 comparado con el grupo control; [^]= p<0,05 comparado con el basal; LT: Lípidos totales; TG: Triglicéridos; CT: Colesterol total; NEFAS: Ácido grasos libres

En relación a la tipología de ácidos grasos presentes en el plasma de los deportistas sometidos a la intervención, no se observan diferencias entre los grupos antes de empezar el tratamiento.

Se observa un aumento significativo de la proporción de MUFA en el grupo intervención después del tratamiento comparado con el grupo placebo, este efecto no se observa comparándolo con su estado basal. En sentido contrario se observa una disminución significativa de los PUFA provenientes de los PUFA-6 en el grupo intervención comparándolo con el grupo placebo.

En la Tabla 34 se observan dichos cambios, hay que destacar que estos cambios se mantienen después de la realización del test.

Tabla 34: Descripción tipología de ácido grasos.

Test pre intervención. Día 0.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
ACL	17,71	17,67 - 17,74	17,68	17,63 - 17,73	17,63	17,55 - 17,71	17,75	17,65 - 17,85
SFA (%)	38,6	37,51 - 39,70	38,03	37,01 - 39,04	39,04	36,87 - 41,21	37,8	36,33 - 39,28
UFA (%)	61,4	60,30 - 62,49	61,98	60,96 - 62,99	60,96	58,79 - 63,13	62,2	60,72 - 63,67
MUFA (%)	26,38	25,07 - 27,69	26,89	25,13 - 28,66	27,38	25,18 - 29,58	28,71	26,42 - 30,99
PUFAn-3 y PUFAn-6 (%)	35,01	33,07 - 36,95	35,08	32,77 - 37,40	33,58	31,83 - 35,32	33,49	30,93 - 36,05
PUFAn-3 (%)	2,96	2,33 - 3,60	2,6	1,94 - 3,26	2,88	2,50 - 3,26	3,62	2,06 - 5,17
PUFAn-6 (%)	32,06	29,84 - 34,27	32,49	30,13 - 34,84	30,7	28,92 - 32,48	29,88	28,08 - 31,67
DBI (%)	112	108,9 - 115,0	111,7	107,6 - 115,8	107,9	104,1 - 111,7	114	104,9 - 123,1
PI (%)	59,07	55,79 - 62,35	57,84	52,85 - 62,83	54,56	50,94 - 58,18	62,47	50,52 - 74,41
AI (%)	0,66	0,49 - 0,84	0,63	0,42 - 0,83	1,03	0,51 - 1,55	0,86	0,44 - 1,28

Test post intervención. Día 15.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
ACL	17,66	17,51 - 17,81	17,67	17,59 - 17,75	17,77*	17,70 - 17,83	17,69^	17,62 - 17,75
SFA (%)	38,16	35,82 - 40,50	38,12	36,50 - 39,74	38,26	35,08 - 41,44	37,79	35,34 - 40,24
UFA (%)	61,84	59,50 - 64,18	61,88	60,26 - 63,50	61,74	58,56 - 64,92	62,21	59,76 - 64,66
MUFA (%)	24,01	21,09 - 26,93	25,18	23,61 - 26,75	29,16¥	25,34 - 32,99	29,85¥	26,78 - 32,91
PUFAn-3 y PUFAn-6 (%)	37,84	35,71 - 39,97	36,7	33,81 - 39,58	32,58¥	29,32 - 35,84	32,36¥	29,60 - 35,12
PUFAn-3 (%)	3,03	2,48 - 3,58	3,12	2,56 - 3,69	2,88	2,19 - 3,57	2,76	2,40 - 3,12
PUFAn-6 (%)	34,81	32,26 - 37,36	33,57	30,31 - 36,84	29,7¥	26,23 - 33,17	29,6	26,96 - 32,24
DBI (%)	114,7	108,9 - 120,6	113,4	110,5 - 116,3	109,8	102,2 - 117,3	109	102,3 - 115,6
PI (%)	61,34	55,63 - 67,04	59,79	57,11 - 62,47	56,78	48,46 - 65,10	54,82	47,66 - 61,98
AI (%)	1,00	0,25 - 1,76	0,87	0,35 - 1,39	0,65	0,50 - 0,80	0,69	0,49 - 0,88

* = p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥= p<0,05 comparado con el grupo control; ^= p<0,05 comparado con el basal; ACL= Cadena media; SFA= Ácido grasos saturados; UFA= Ácido grasos insaturados; MUFA= Ácido grasos monoinsaturados; PUFAn-3 y PUFAn-6= Ácido grasos polinsaturados de n-3 y n-6 series; PUFAn-3= Ácido grasos polinsaturados de n-3; PUFAn-6= Ácido grasos polinsaturados de n-6; DBI = Índice de doble enlace; PI= Índice de peroxidabilidad; AI= Índice antiinflamatorio.

6.4.3. Metabolismo basal.

En la Tabla 35 se observa los resultados del metabolismo basal de ambos grupos del experimento antes y después de la intervención. No se observan cambios significativos en ninguno de los parámetros analizados.

6.4.4. Metabolismo durante la práctica deportiva.

En la Tabla 36 se observa los resultados del metabolismo durante los 20 minutos de la prueba de los grupos del experimento. No se observan cambios netos significativos en ninguno de los parámetros analizados. Aun así se encuentran cambios significativos comparando la diferencia

pre / post del grupo intervención frente al grupo control en los valores de producción de VCO₂ y consumo de VO₂ (Figura 33) sin modificar los valores de ventilación (VE). Dicha diferencia representa una disminución significativa en las calorías gastadas durante los 20 minutos. Se observa una tendencia a reducir los HC gastados durante la actividad pero sin significación estadística. La diferencia del gasto de lípidos no muestra cambios significativos.

Tabla 35: Parámetros obtenidos del metabolismo basal antes y después de la intervención.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
Kcal día+	1754	1586 - 1922	1747	1574 - 1919	1856	1688 - 2024	1846	1698 - 1995
CH g/día	199,5	133,3 - 265,8	200,3	137,5 - 263,2	218,6	157,9 - 279,4	188,3	133,8 - 242,9
Lip g/día	93,11	58,78 - 127,4	104,8	82,77 - 126,9	117,6	100,2 - 134,9	109,5	83,79 - 135,2
VO ₂ (ml/min/kg)	3,43	3,186 - 3,679	3,44	3,237 - 3,641	3,80	3,380 - 4,217	3,78	3,329 - 4,238
VCO ₂ (ml/min/kg)	2,92	2,654 - 3,186	2,89	2,641 - 3,131	3,14	2,762 - 3,511	3,23	2,840 - 3,627
RER	0,85	0,82 - 0,87	0,84	0,80 - 0,87	0,84	0,81 - 0,86	0,82	0,79 - 0,85
FC (ppm)	61,27	52,66 - 69,87	56,52	49,43 - 63,62	56,73	49,73 - 63,72	58,24	53,49 - 63,00
VE (L/min)	32,94	30,86 - 35,01	33,48	30,86 - 36,09	33,69	31,26 - 36,11	33,27	30,50 - 36,05
VE/VO ₂	27,94	26,00 - 29,88	28,2	25,80 - 30,60	27,94	25,64 - 30,23	28,11	25,26 - 30,95
TC (puls)	2617	2245 - 2989	2767	2461 - 3072	2762	2477 - 3047	2986	2233 - 3739

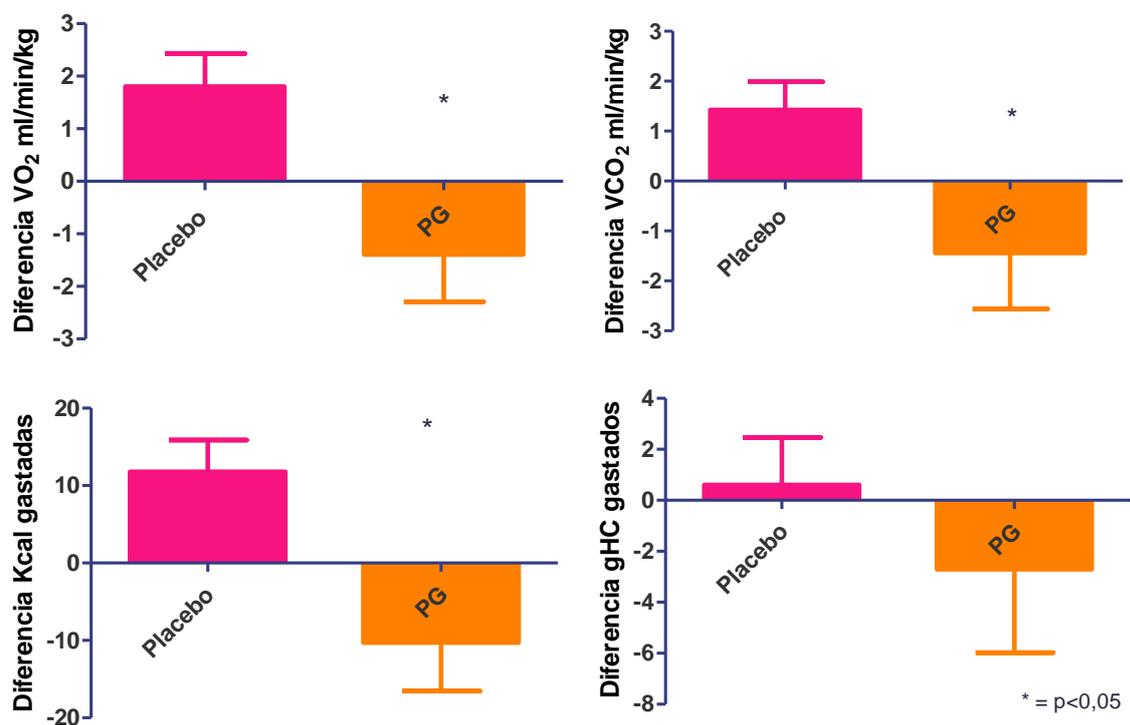
Kcal: Kilocalorías; CH: carbohidratos; Lip: Lípidos; RER: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca; VE: volumen ventilatorio; TC: Trabajo cardíaco (suma de las pulsaciones en el tiempo de registro); +: Cálculo extrapolado a 24 horas; Puls: Pulsaciones.

Tabla 36: Parámetros obtenidos durante 20 minutos en cinta rodante.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
Kcal 20 min	260,9	235,1 - 286,6	272,6	247,6 - 297,7	286	257,3 - 314,7	275,7	250,5 - 301,0
CH g/20 min	53,26	46,07 - 60,45	53,87	47,00 - 60,74	58,43	52,27 - 64,60	55,73	49,54 - 61,91
Lip g/20 min	5,31	3,683 - 6,939	6,35	4,276 - 8,427	5,81	4,799 - 6,820	5,87	3,611 - 8,128
VO ₂ (ml/min/kg)	36,01	33,54 - 38,47	37,81	34,50 - 41,11	41,23	35,36 - 47,10	39,83	34,15 - 45,52
VCO ₂ (ml/min/kg)	34,15	31,65 - 36,64	35,58	32,67 - 38,48	38,96	33,57 - 44,34	38,22	33,15 - 43,28
RER	0,95	0,93 - 0,96	0,94	0,92 - 0,96	0,95	0,93 - 0,95	0,95	0,92 - 0,96
FC (ppm)	154,4	148,3 - 160,6	154,3	148,0 - 160,7	152,3	143,4 - 161,2	154,8	145,5 - 164,2
VE (L/min)	29,13	26,35 - 31,92	29,06	26,81 - 31,32	29,23	27,54 - 30,93	29,71	28,04 - 31,37
VE/VO ₂	27,65	24,95 - 30,36	27,39	25,09 - 29,70	27,74	26,06 - 29,43	28,14	26,30 - 29,98
TC (puls)	50514	46959 - 54070	57243	52873 - 61612	51859	50103 - 53615	51900	49818 - 53982

Kcal: Kilocalorías; CH: carbohidratos; Lip: Lípidos; RER: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca; VE: volumen ventilatorio; TC: Trabajo cardíaco (suma de las pulsaciones en el tiempo de registro); Puls: Pulsaciones.

Figura 33: Diferencia pre / post del grupo intervención frente al grupo control



6.4.5. Metabolismo en la recuperación

En la Tabla 37 se observa los resultados en la recuperación de los grupos del experimento antes y después de la intervención. No se observan cambios significativos en ninguno de los parámetros analizados.

Tabla 37: Parámetros obtenidos de la recuperación 3 minutos después del test antes y después de la intervención.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
Kcal 3 min	16,36	14,71 - 18,01	16,78	14,66 - 18,89	17,26	14,92 - 19,59	17,03	14,76 - 19,30
CH g/3 min	4,795	2,526 - 7,063	3,996	3,390 - 4,602	4,213	3,583 - 4,842	4,161	3,587 - 4,735
Lip g/3 min	0,11	(-)0,13 - 0,34	0,09	(-)0,03 - 0,20	0,05	(-)0,02 - 0,11	0,04	(-)0,01 - 0,09
VO ₂ (ml/min/kg)	14,90	14,00 - 15,80	15,26	13,94 - 16,57	16,42	13,49 - 19,35	16,17	13,40 - 18,95
CO ₂ (ml/min/kg)	14,73	13,69 - 15,76	15,01	13,49 - 16,54	16,18	13,34 - 19,01	16,48	13,88 - 19,07
RER	1,03	0,97 - 1,07	1,02	0,97 - 1,05	1,02	0,99 - 1,05	1,04	1,0 - 1,07
FC (ppm)	127,7	118,0 - 137,4	126,1	117,5 - 134,6	125	114,6 - 135,4	130,6	121,4 - 139,7
VE (L/min)	32,28	29,06 - 35,49	32,48	30,43 - 34,53	33,32	31,25 - 35,38	33,63	32,10 - 35,17
VE/VO ₂	33,3	29,17 - 37,43	33,26	31,23 - 35,28	34,24	32,40 - 36,07	34,56	32,58 - 36,54
Dif FC (puls)	51,67	44,30 - 59,03	50,22	44,55 - 55,89	50,42	44,36 - 56,47	47,17	41,62 - 52,72

Kcal: Kilocalorías; CH: carbohidratos; Lip: Lípidos; RER: coeficiente respiratorio; FC: frecuencia cardíaca; VE: volumen ventilatorio; Dif FC: Diferencia de las pulsaciones al finalizar el test menos las pulsaciones al cabo de 3 minutos; Puls: Pulsaciones.

6.4.6. Parámetros de inflamación.

En la Tabla 38 se observan los resultados de las interleucinas anti-inflamatorias analizadas antes y después de la intervención. Aunque estos parámetros tienden a aumentar como respuesta al ejercicio intenso, no se han encontrado cambios pre / post realización del test en ambos grupos antes de la ingesta del PG, solamente hay un aumento significativo de la IL-10 y el TNF α en el grupo control después de realizado el test.

Después de la suplementación, se han encontrado un aumento significativo en el grupo intervención de la IL-1RA plasmática después de realizado el test comparado con el valor basal. Al parecer el grupo intervención aumenta la respuesta inflamatoria al ejercicio de baja intensidad gracias a la suplementación de 500mg de PG.

Tabla 38: Interleucinas pre / post intervención.

Test pre intervención. Día 0.								
	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
IL-1RA (pg/mL)	167,7	30,79 - 304,7	214,3	84,40 - 344,2	114,1	41,91 - 186,3	132,3	76,03 - 188,6
IL-6 (pg/mL)	4,155	1,16 - 7,14	6,68	2,50 - 10,85	16,79	(-)9,27 - 42,85	23,09	(-)17,10 - 63,28
IL-8 (pg/mL)	8,49	4,18 - 12,80	12,17	4,55 - 19,79	7,01	4,22 - 9,80	7,92	4,87 - 10,97
IL-10 (pg/mL)	4,21	2,06 - 6,36	6,95 [^]	3,47 - 10,43	7,96	3,79 - 12,13	9,62	3,70 - 15,53
TNF α (pg/mL)	14,29	11,57 - 17,01	21,82 [^]	15,18 - 28,47	13,51	9,37 - 17,65	14,53	10,24 - 18,81

Test post intervención. Día 15.								
	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
IL-1RA (pg/mL)	166,8	94,55 - 239,0	254,7	87,51 - 421,9	130,4	34,61 - 226,2	175,1 [¥] [^]	47,44 - 302,8
IL-6 (pg/mL)	3,97	1,51 - 6,43	5,20	0,31 - 10,10	2,64	0,37 - 5,66	2,59	0,32 - 4,85
IL-8 (pg/mL)	8,51	2,89 - 14,12	10,71	5,48 - 15,94	6,65	4,53 - 8,77	7,99	5,17 - 10,81
IL-10 (pg/mL)	5,94	2,15 - 9,73	8,617	4,21 - 13,02	7,7	2,22 - 13,18	13,63 [^]	(-)0,88 - 28,15
TNF α (pg/mL)	13,83	9,36 - 18,31	18,28	10,29 - 26,27	14,37	10,88 - 17,86	19,17	9,110 - 29,23

* =p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥ = p<0,05 comparado con el grupo control; [^]= p<0,05 comparado con el basal;
IL: Interleucina; TNF: Factor de necrosis tumoral.

6.4.7. Fatiga.

En cuanto a las variables relacionadas con la fatiga, no se han encontrado diferencias significativas en la percepción del esfuerzo (Tabla 39) en el grupo placebo en ningún sentido, ni antes ni después del test, tampoco durante la realización de la actividad.

En sentido contrario, el grupo intervención muestra diferencias en el test antes de realizar la intervención. Se observa que la percepción de la fatiga es superior conforme transcurren los minutos del test (+0,375 puntos en la escala de Borg al minuto 12 ($p < 0,05$) y +0,75 puntos en la escala de Borg al minuto 19 ($p < 0,01$). Después de la ingesta durante dos semanas de PG el aumento significativo en el tiempo de la percepción de la fatiga observado en el primer test no se observa en este grupo.

Se observa un aumento significativo del lactato capilar en ambos grupos como respuesta al ejercicio, antes y después del tratamiento. No se observan cambios en ningún sentido en el lactato sanguíneo (Tabla 40) o en la concentración mental (Tabla 41) después del tratamiento.

Tabla 39: Percepción del esfuerzo pre / post intervención.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
Borg 6	3,625	3,044 - 4,206	4,313	3,090 - 5,535	3,125	2,564 - 3,686	3,458	2,749 - 4,168
Borg 12	3,875	2,677 - 5,073	4,188	2,925 - 5,450	3,5 [^]	2,910 - 4,090	3,708	2,937 - 4,480
Borg 19	4,375	2,880 - 5,870	4,375	3,177 - 5,573	3,875 [^]	3,183 - 4,567	4,042	3,089 - 4,994

* = $p < 0,05$ comparado con el mismo grupo; ¥ = $p < 0,05$ comparado con el grupo control; [^] = $p < 0,05$ comparado con el minuto 6.

Tabla 40: Lactato capilar pre / post intervención.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
0 min (mmol/L)	2,14	1,820 - 2,460	2	1,485 - 2,515	2,317	2,735 - 3,945	2,09	1,709 - 2,474
10 min (mmol/L)	3,66 [^]	3,338 - 3,982	3,43 [^]	2,952 - 3,923	3,58 [^]	1,843 - 2,790	3,39 [^]	2,870 - 3,913
20 min (mmol/L)	3,98 [^]	3,291 - 4,669	3,33 [^]	2,709 - 3,966	3,60 [^]	2,892 - 4,308	3,61 [^]	2,955 - 4,278
30 min (mmol/L)	3,41 [^]	1,820 - 2,460	3,03 [^]	2,450 - 3,625	2,89 [^]	2,322 - 3,462	2,80 [^]	2,157 - 3,443

Min= minutos; * = $p < 0,05$ comparado con el mismo grupo; ¥ = $p < 0,05$ comparado con el grupo control; [^] = $p < 0,05$ comparado con el valor al minuto 0.

Tabla 41: Test de concentración pre / post intervención.

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
Operación 1 (min)	1,62	1,0 - 2,23	1,21*	0,65 - 1,77	1,62	1,18 - 2,06	1,22	0,92 - 1,51
Operación 2 (min)	2,08	0,97 - 3,19	1,67	0,54 - 2,80	1,97	1,58 - 2,36	1,53	1,22 - 1,85
Operación 3 (min)	2,97	0,87 - 5,07	1,42	0,89 - 1,95	1,48	0,94 - 2,01	1,07	0,85 - 1,29
Listado 1 (min)	2,83	1,69 - 3,97	1,73*	1,05 - 2,41	1,88	1,57 - 2,20	1,79	1,39 - 2,18
Listado 2 (min)	2,84	1,87 - 3,82	2,21	1,06 - 3,36	2,46	1,91 - 3,01	2,02	1,58 - 2,47
Listado 3 (min)	2,85	1,87 - 3,82	2,06	0,95 - 3,18	2,33	1,94 - 2,72	2,11	1,49 - 2,72

* = $p < 0,05$ comparado con el mismo grupo; ¥ = $p < 0,05$ comparado con el grupo control.

6.4.8. Parámetros cardiovasculares.

En cuanto a las variables relacionadas con los parámetros cardiovasculares, no se han encontrado diferencias significativas ni en la TAS, ni en la TAD antes y después de la intervención. Se ha observado un ligero aumento de la TAD en el grupo intervención (sin significación estadística), resultado similar encontrado en el apartado 4 (ver: pág. 76).

Tabla 42: Parámetros cardiovasculares pre / post intervención.

Test pre intervención												
	Grupo control						Grupo PG					
	Pre	IC	Post	IC	5min	IC	Pre	IC	Post	IC	5min	IC
TAS	112,2	106,4 - 118,0	169,4	151,8 - 187,1	117,5	110,8 - 124,2	115,8	109,2 - 122,4	159,6	148,8 - 170,4	118,5	113,7 - 123,3
TAD	62,5	60,27 - 64,73	51,88	43,84 - 59,91	65,00	56,56 - 73,44	63,33	59,19 - 67,47	55,83	50,28 - 61,39	65,5	61,56 - 69,44

Test post intervención												
	Grupo control						Grupo PG					
	Pre	IC	Post	IC	5min	IC	Pre	IC	Post	IC	5min	IC
TAS	111,3	103,0 - 119,5	149,4	140,6 - 158,2	109,1	90,42 - 127,8	112,5	104,5 - 120,5	153,8	144,6 - 162,9	121,8	115,4 - 128,2
TAD	62,13	57,74 - 66,51	53,13	44,49 - 61,76	64,38	60,89 - 67,86	67,5	63,11 - 71,89	53,33	48,20 - 58,46	66,36	62,97 - 69,75

TAS= Tensión arterial sistólica; TAD= Tensión arterial diastólica; *= p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥<0,05 comparado con el grupo control.

6.5. *Discusión.*

El PG ha sido investigado por muchos años en relación al rendimiento deportivo en humanos, especialmente por medio de ensayos aleatorizados que valoraban los umbrales y la capacidad aeróbica máxima, sin encontrar una relación directa del efecto del suplemento con las capacidades deportivas (Tabla 27). El principal objetivo de este estudio fue valorar el efecto de la suplementación del PG en hombres corredores sobre el consumo de O₂ y en la producción de CO₂ en una prueba en cinta rodante durante 20 minutos, a una velocidad constante y a un RER de 0,94. Lo anterior se realizó para evidenciar si los efectos observados previamente en la homeostasis de lípidos podrían tener un efecto en variables de rendimiento deportivo.

Antecedentes previos a este estudio, en un estudio similar a esta investigación (Ping et al., 2011) no se encontraron cambios significativos en el rendimiento deportivo después de una ingesta aguda (dosis única previo al test) de 200mg de PG a un 70% de la VO₂max. Estos resultados abren la posibilidad de que para obtener resultados netos o cambios más claramente visibles, se necesite un mayor tiempo de tratamiento o dosis diferentes tanto para aclarar los posibles beneficios del PG en el rendimiento deportivo como para valorar que los efectos ejercidos por la planta puedan verse derivados a mecanismos indirectos como el cambio en el metabolismo en general.

En esta investigación, se ha observado una disminución significativa en el grupo intervención de la producción de CO₂ y consumo de O₂ comparando la diferencia de los valores pre / post entre grupos. Los cambios observados en estos dos parámetros se traducen en una disminución significativa en las calorías gastadas durante los 20 minutos de la prueba. Estos hallazgos generan la primera evidencia de que una ingesta crónica durante dos semanas de 500mg de PG podría tener un efecto ahorrador de energía que se podría transformar en un resultado positivo en el rendimiento deportivo en hombres corredores a intensidades cercanas al 70% de la VO₂max. Aun así, no se han observado cambios en el metabolismo basal, en los parámetros cardiovasculares, en la composición corporal ni a la recuperación del deportista.

La disminución del gasto calórico observado en estos resultados no se puede relacionar con la mejor metabolización de grasas o de hidratos de carbono durante el test, ya que no se observan cambios significativos en el RER. No obstante, los resultados observados en varios estudios que han evaluado el efecto del PG en el metabolismo glucídico (Tabla 4) y en la optimización de la utilización de la grasa durante la actividad deportiva (Hwang et al., 2014) siguen dejando al PG

como un regulador del metabolismo energético del atleta. Por tanto, con estos resultados es complejo determinar las vías metabólicas alteradas por el cual suceden estos cambios, por este motivo se recomienda en futuras investigaciones la utilización de técnicas más directas de comprobación de la utilización de sustratos energéticos como la cuantificación del glucógeno muscular.

Otro objetivo importante de esta investigación fue valorar el efecto de la suplementación en el metabolismo lipídico plasmático de los corredores antes y después del experimento para valorar la posible conexión entre dichos cambios y el rendimiento deportivo o la fatiga. La disminución de los LT y TG plasmáticos después de una carga de lípidos encontrados en experimentos anteriores (apartado 5. Pág. 85) dejaba en duda si el efecto del PG solo se ubicaba en la absorción de lípidos.

Este experimento ha demostrado que por medio de la suplementación con 500mg de PG durante dos semanas se produce una disminución basal de LT (-78,34 mg / dL) y TG (-14,24 mg / dL) ($p < 0,05$) comparado con el mismo grupo. Lo anterior refuerza varios experimentos realizados donde se han encontrado conexiones entre el metabolismo de la glucosa, el metabolismo lipídico y el rendimiento deportivo. Hwang y colaboradores observaron que PG tiene un efecto ahorrador del glucógeno muscular aumentando el uso de LT o TG durante las sesiones de entrenamiento (Hwang et al., 2014), lo que podría traducirse en una disminución plasmática de dichos valores. Es posible que los cambios a nivel de lípidos plasmáticos tengan relación directa con el efecto ahorrador de energía y con la disminución de la fatiga observados en este estudio.

El hecho de que se ha observado una disminución en la cantidad de LT y TG plasmáticos en este experimento parece no alterar las proporciones de la tipología de dichos lípidos presentes en el plasma, aunque se observa incrementos en las proporciones de los ácidos grasos monoinsaturados en contra de una disminución significativa de los ácidos grasos poliinsaturados en comparación con el grupo control. No obstante, la magnitud del cambio observado no tiene relevancia clínica ya que se modifican en muy poca proporción.

Por otra parte, en relación al nivel de percepción de fatiga (escala de Borg), se ha observado que la percepción de fatiga durante el test se disminuye con la ingesta de PG. Este estudio genera la primera evidencia del efecto del PG en la reducción de la fatiga durante una práctica deportiva. Es posible que las mejoras a nivel de fatiga tengan relación con las mejoras encontradas a nivel de capacidades psicomotoras tanto en personas no saludables, como las encontradas en estudios con personas con fatiga crónica (Braz et al., 2013) o Alzheimer (Lee et al., 2008) o en

personas saludables pero sin realizar actividad deportiva (Kennedy et al., 2002, 2001) o simplemente tenga relación directa con el ahorro energético encontrado después de la intervención.

Adicionalmente, la percepción de la fatiga al parecer no tiene relación con los niveles de lactato durante el test ya que no se han encontrado cambios significativos en este valor, con lo que se confirma lo encontrado en estudios con esfuerzo máximo (Engels et al., 2001). Pero la sensación de fatiga no solo está determinada por la sobre producción de lactato durante la práctica deportiva, además puede ser originada por la producción de inflamación tanto inmediata (justo después de la realización del deporte) como a largo plazo (dos o tres días después de la realización del deporte) (Córdova and Álvares de Mon, 2001). Dicha inflamación produce una serie de cambios en la respuesta anti-inflamatoria entre los que destaca el aumento de interleucinas con poder anti-inflamatorio (Peake et al., 2005).

En este sentido, aunque es bien sabido que las interleucinas anti-inflamatorias se incrementan en su mayoría como respuesta al ejercicio (Santos et al., 2013), en este estudio no se ha observado este comportamiento en la mayoría de ellas. Es posible que se deba a que el tipo de actividad no es lo suficientemente intenso o largo en el tiempo para generar dicha respuesta. De hecho, se han comprobado que dichas interleucinas aumentan especialmente cuando la intensidad del ejercicio se incrementa por encima del 75% del VO_2 max en comparación con intensidades más bajas (Córdova, 2010). Aun así, la tendencia general, en este estudio, es a generar un aumento en el perfil sanguíneo de estos parámetros antes de la suplementación de PG, pero sin llegar a nivel de significación estadística.

El principal resultado obtenido en este sentido es un aumento significativo de la IL-1ra en el grupo intervención después de la intervención como respuesta al ejercicio. Es importante recordar que la IL-1ra es secretada por varias células, entre las que destacan las células del sistema inmunitario y del tejido adiposo, y es un inhibidor natural del efecto proinflamatorio de la IL-1 al unirse al mismo receptor (Perrier et al., 2006). Estos resultados confirman nuevamente que el PG ejerce un efecto de disminución de la respuesta inflamatoria incluso en ejercicios poco intensos. Estos resultados están en sintonía con los encontrados por Jung y colaboradores (Jung et al., 2011) que sugieren que la suplementación con PG podría reducir el daño muscular inducido por el ejercicio y las respuestas inflamatorias, dando como resultado mejoras en la sensibilidad a la insulina y posiblemente en mejoras en la percepción de la fatiga.

Por otra parte, una de las principales limitaciones de este estudio es que el método utilizado para la cuantificación de la concentración mental es un cuestionario de elaboración propia y necesita su validación. Es necesario contrastar estos resultados con un método fiable de comprobación de las capacidades del PG en la concentración mental durante la práctica deportiva, es posible que por este motivo no se encuentren diferencias en estos valores. Se sugiere a futuras investigaciones, si se desea valorar la concentración mental durante un test deportivo, valorar un aumento en la dificultad de las operaciones o proponer operaciones diferentes antes y después de la intervención (operaciones equivalentes). Se dispone de varios test para la valoración de la concentración mental una vez finalizada la práctica deportiva, el test de rejilla es uno de ellos .

Por último, otra limitación importante es el tamaño muestral, en el grupo control no continuaron el experimento 4 personas con lo que el grupo es bastante reducido y la comparación estadística se ve limitada, es necesario ampliar el número de participantes para confirmar estos resultados.

Por tanto, en este experimento se observa una disminución en el consumo de O_2 y en la producción de CO_2 (efecto ahorrador de energía durante la actividad deportiva) y esto pueda estar relacionado con la cantidad de lípidos plasmáticos y podría traducirse en una mejora en el rendimiento deportivo o en tiempos de carreras. Además de lo anterior, la percepción de la fatiga de atletas que realizan deportes a estas intensidades podría verse beneficiada gracias a dicho ahorro energético o a la disminución de la inflamación producida durante el deporte. Se recomienda a futuras investigaciones valorar los cambios en el rendimiento deportivo y en la fatiga en pruebas en campo, en carreras fuera del ámbito del laboratorio y valorar si los efectos en dichos parámetros se ven transmitidos en tiempos de carrera y en la percepción de la fatiga en una situación real para el deportista.

6.6. Conclusiones.

1. La suplementación con 500mg de PG durante dos semanas en hombres corredores disminuye el consumo de O₂ y la producción de CO₂ durante una prueba en cinta rodante (RER 0,94), lo que se traduce en un ahorro energético. Estos resultados pueden entenderse como un efecto positivo en el rendimiento deportivo.
2. PG disminuye los LT y TG plasmáticos antes de realizar actividad deportiva después de dos semanas de tratamiento, es posible que estos resultados tengan relación no solo con la absorción de lípidos si no con los cambios encontrados en el consumo energético.
3. PG disminuye la percepción de la fatiga durante la práctica deportiva a baja intensidad. Se ha relacionado estos resultados con los cambios en el consumo energético y con la disminución de la respuesta inflamatoria producida por el ejercicio.
4. PG disminuye los niveles plasmáticos de IL-1RA en el grupo intervención después de realizar el test en comparación con el grupo control.
5. En las condiciones en las que se ha realizado este experimento, PG no afecta al metabolismo basal, a los parámetros cardiovasculares, a la composición corporal ni a la recuperación del deportista.

PG COMO AYUDA ERGOGÉNICA 2.

**EVALUACIÓN EN VARIABLES DE RENDIMIENTO
DEPORTIVO EN PRUEBAS DE CAMPO Y SU EFECTO EN
EL ESTRÉS OXIDATIVO.**

7. PG como ayuda ergogénica 2. Evaluación en variables de rendimiento deportivo en pruebas de campo y su efecto en el estrés oxidativo.

7.1. Introducción.

Los efectos del PG en el rendimiento deportivo, como se ha observado, no están del todo bien definidos y las pruebas de investigación realizados hasta el momento no tienen suficiente consistencia en el efecto del suplemento en las capacidades deportivas y en la fatiga. Aun así, algunos aspectos aún no están del todo bien establecidos, como por ejemplo el efecto en la utilización del oxígeno en la práctica del deporte a baja intensidad descrita en el apartado 6 (ver pág. 117), o la relación entre las capacidades anti-inflamatorias y antioxidantes del PG con el rendimiento y la fatiga del deportista. Además las pruebas de investigación realizadas hasta el momento no han tenido en cuenta aspectos como la motivación o el contexto real de una carrera en campo.

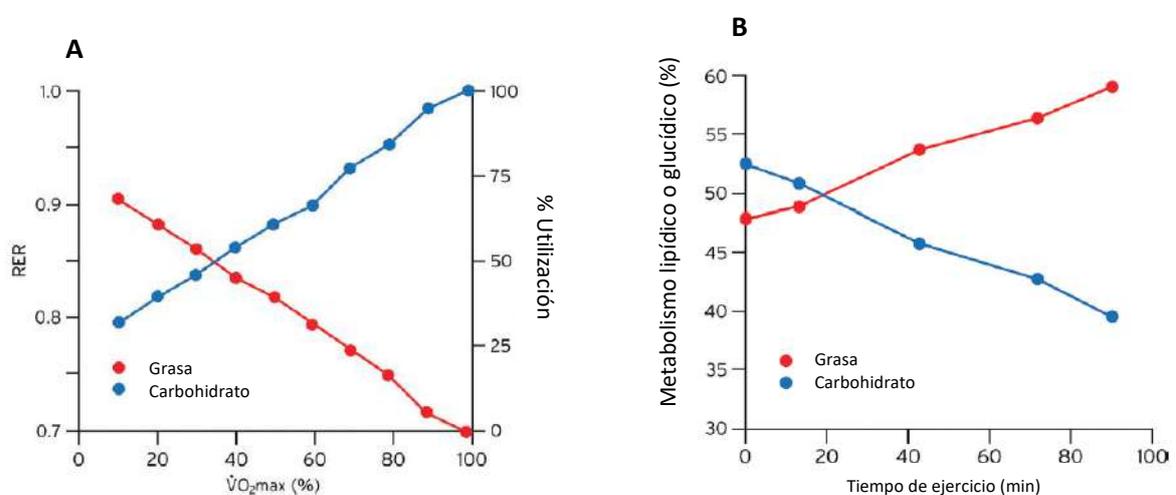
7.1.1. Competición y evolución de las carreras populares.

Practicar deporte está de “moda”. Actualmente el *running* es uno de los deportes más practicados y que genera más actividades. Cada semana podemos elegir entre diferentes tipos de competiciones, ya sean de montaña, nocturnas, maratones en forma de carreras populares o profesionales, entre otras, que van desde los 3 a más de 100 km con un sinfín de posibilidades y modalidades.

Las carreras de 10 km son un gran clásico de las competiciones de distancia a pie y cada vez ganan mayor popularidad, y es que resulta fácil encontrar carreras de tal distancia ya que muchas localidades organizan este tipo de eventos varias veces al año. Además, son unas de las pruebas de atletismo más accesibles para cualquier tipo de corredor, aunque también hay que tener en cuenta un aspecto importante como es la preparación física para acometer un reto como éste. Aunque se trate de una prueba de relativa corta distancia, donde la exigencia es menor que en una media maratón, requiere de entrenamiento para adquirir fondo y resistencia, ya que plantea un trabajo en umbral aeróbico, en gran parte dependiente del metabolismo lipídico, y una parte importante del umbral anaeróbico láctico.

Los deportes de resistencia aeróbica, como las carreras de 10km, tienen como principal componente la utilización de la energía ya sea por vía glucolítica o lipolítica durante la práctica deportiva, aunque combina momentos puntuales de utilización de energía anaeróbica (Steinach and Gunga, 2014). La utilización de esta energía se debe a varios factores, aunque el principal es que el proceso aeróbico es demasiado lento produciendo ATP para la actividad, este hecho, coincide con las necesidades de este tipo de deporte ya que la intensidad es moderada y el tiempo de carrera es alto (Figura 34).

Figura 34: A: Utilización de la energía en relación a la intensidad. B: Utilización de la energía en relación al tiempo



Cambio en el coeficiente respiratorio (RER) y la utilización de carbohidratos (azul) y la utilización de grasa (rojo), dependiendo de la intensidad del esfuerzo medido en % de VO_{2max} (Steinach and Gunga, 2014)

Cambio de la utilización del metabolismo de grasas y carbohidratos según el tiempo de ejercicio, mientras que la intensidad del esfuerzo permanece sin cambios al 60% de VO_{2max} (Steinach and Gunga, 2014)

Para preparar una carrera de este tipo, los deportistas suelen seguir las pautas de entrenamientos necesarias para cada objetivo de la temporada. Las técnicas y estrategias de entrenos varían ampliamente especialmente por los conocimientos de cada entrenador, pero la gran mayoría cumplen con los requisitos necesarios para aumentar el rendimiento deportivo. La configuración del macro ciclo (objetivos a varias semanas vista con secciones del entrenamiento y con el objetivo de trabajar fases definidas del desarrollo de la forma deportiva hasta llegar a la forma máxima) y la configuración del micro ciclo (con un contenido de carga de entrenamiento en el transcurso de la semana y con la secuencia y la variación de las tareas principales dentro de las sesiones de entrenamiento) son los aspectos comunes de todos los entrenamientos bien estructurados (Weineck, 2005).

Las principales capacidades motoras (resistencia, fuerza, velocidad, flexibilidad y coordinación) son condiciones de rendimiento básicas para el aprendizaje y la ejecución de acciones motoras

deportivo-corporales. En la Figura 35 se observan los aspectos a trabajar en carreras de larga distancia y deportes similares.

Figura 35: Modelo estructural reducido de los componentes de la condición física del deportista

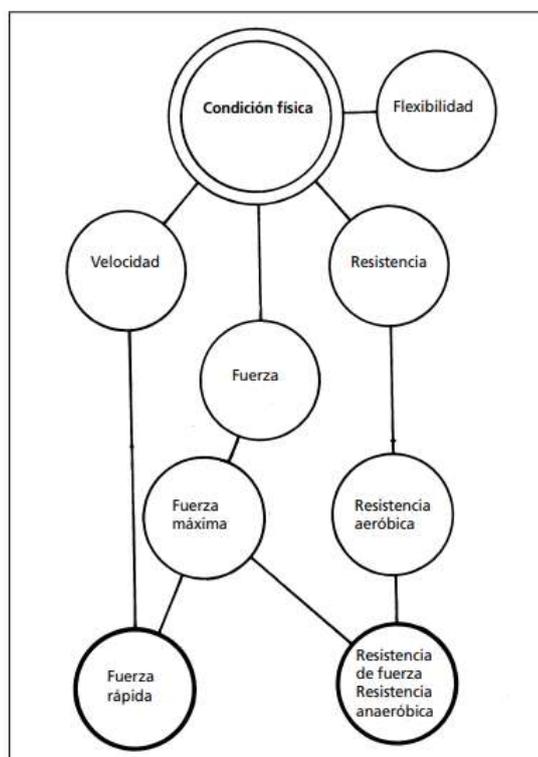


Imagen (Weineck, 2005)

En resumen, para preparar una carrera de 10 km se recomienda de manera general entrenar como mínimo unas 3 veces por semana, entre unos 30 y 60 minutos a un ritmo constante, y progresivamente aumentar la distancia recorridas en los entrenos y la velocidad en carrera gradualmente, en función del objetivo que cada cual se plantee para este tipo de pruebas de resistencia.

Esta modalidad de “*running*” es una de las más atractivas por los deportistas amateurs, ya que se recorre un circuito de media distancia no demasiado exigente y donde se puede encontrar un avituallamiento en la mitad o al final del recorrido, generalmente con agua y raramente con isotónicas o bebidas azucaradas. El tiempo de recorrido de este tipo de carrera fluctúa entre 32 y 60 minutos todo el recorrido y los corredores suelen mantener una velocidad constante. Los tiempos registrados en el 2018 de los deportistas profesionales fluctúan entre los 27:19.62 y 31:00:00 minutos (IAAF, 2018).

Dos de las carreras de 10km más populares en la ciudad de Lleida son la Pujada a la Seu Vella y la Sant Silvestre, en la Tabla 43 se puede valorar los diferentes tiempos y participantes de las dos carreras.

Tabla 43: Participantes y tiempos de carrera de 2 carreras populares.

	Pujada la Seu			Sant Silvestre		
	2006	2010	2018	2013	2015	2018
Nº participantes	251	695	388	1140	1118	916
Hombres	227	611	301	934	865	822
Mujeres	24	84	87	206	253	94
Mínima marca (H)	0:33:14	0:32:15	0:33:57	0:30:53	0:32:50	0:32:00
Mínima marca (M)	0:46:10	0:38:39	0:39:53	0:35:44	0:36:53	0:38:36
Máxima marca (H)	1:13:25	11:16:22	1:11:52	1:08:24	1:09:30	1:11:56
Máxima marca (M)	1:07:17	1:09	1:15:44	1:09:40	1:15:01	1:11:56

H=Hombre; M=Mujer; 0:00:00: horas:minutos:segundos

7.1.2. Estrés oxidativo en el deporte y la relación con la salud.

Como regla general cuando cualquier persona piensa en deporte piensa en salud o bienestar, tenemos tendencia a pensar que cuanto más deporte hago más salud tengo. Como observamos anteriormente el aumento del deporte a diferentes intensidades crece día a día y aunque la actividad física y el deporte se prescriben en el contexto de mejorar la calidad de vida, sabemos que hay algunas situaciones que pueden afectar negativamente a la calidad de vida del deportista. Por ejemplo, se sabe que el ejercicio físico promueve la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de nitrógeno (RONS) principalmente producidas por la cadena de transporte electrónico mitocondrial favorecido por el incremento del consumo de oxígeno (Shergis et al., 2014). La activación de enzimas que participan en la respiración celular como la xantina oxidasa y la superóxido dependiente de NADPH también contribuye a este incremento de las especies reactivas después del ejercicio.

El hecho de que el oxígeno forme parte de la vida y más concretamente en la producción de energía lo convierte por poco en una molécula “casi perfecta”. Aun así, las reacciones asociadas al uso del O₂ son responsables de la generación de dichas especies reactivas del oxígeno (radicales libres, compuestos carbonílicos o electrófilos) con un sinfín de efectos lesivos en el sistema, ya que producen una serie de cambios en los componentes celulares como proteínas, ácido nucleicos, lípidos y carbohidratos que pueden afectar de manera negativa a la salud y a la vida. El daño localizado en la célula puede verse expandida, con moléculas potencialmente dañinas, generadas a partir de este primer cambio.

La evolución ha obligado a que los sistemas se adapten a esta condición fisiológica y se generen sistemas de defensa que protejan del daño de dichos radicales. El balance neto, aun así no es positivo, el daño oxidante es permanente por el simple hecho de vivir, aunque hay situaciones que agilizan o agravan dicha producción. El tejido muscular es uno de los focos de atención ya que por la tipología de la célula genera un gradiente importante de dichos compuestos aunque otros tejidos como el corazón y el sistema sanguíneo contribuyen también a dicho gradiente (Powers and Jackson, 2008).

Es importante diferenciar las especies reactivas de primera generación con las de segunda generación ya que afectan a diferentes niveles al sistema. Una especie reactiva de primera generación o radical libre son producidas, en su mayoría por la respiración mitocondrial, ésta, no es más que un átomo o una molécula con capacidad de interactuar con otras moléculas, tienen una vida media muy corta ya que contiene uno o más electrones desapareados con lo que puede modificar (lesionar) a cualquier molécula biológica rápidamente. Las moléculas más estudiadas son el radical superóxido, el radical hidroxilo y el no-radical peróxido de hidrógeno.

Las especies reactivas de segunda generación son moléculas generadas por la interacción de los radicales de primera generación con determinados componentes celulares como lípidos y carbohidratos, estos nuevos compuestos tienen la capacidad de expansión del daño aumentado por su mayor estabilidad, por presentar uno o más grupos carbonilos libres y una vida media mucha más larga. Hay moléculas con mayor susceptibilidad al daño oxidativo entre las que se encuentran los PUFAS. Existe una relación directa de la cantidad total de PUFAS de cada individuo con la susceptibilidad al daño oxidativo, es decir a mayor cantidad de PUFAS mayor predisposición al daño por moléculas de primera o segunda generación. Las moléculas de segunda generación generadas más conocidas son el metilglioxal derivado de oxidación de carbohidratos de la glicolisis, el malondialdehído (MDA) derivado de oxidación de lípidos (especialmente de los PUFAS) o el glioxal (GO) derivado ya sea de carbohidratos o lípidos (Naudi et al., 2014).

Por último, las especies reactivas tanto de primera como de segunda generación pueden reaccionar con proteínas o ácidos nucleicos produciendo también daños importantes como la formación de agregados, desnaturalizaciones y pérdidas de las capacidades funcionales de las proteínas. Los biomarcadores más comunes para cuantificar el daño proteico por el estrés oxidativo son: Glutámico semialdehído (GSA) y Aminoácido semialdehído (AASA) derivados de la oxidación de radicales de primera generación y las moléculas generadas por la unión de la lisina con moléculas de segunda generación como el metilglioxal generando N-ε-

(carboxietil)lisina (CEL) o con MDA generando N-ε-(malondialdohyde)lisina (MDAL) o con GO generando N-ε-(Carboximetil)lisina (CML) (Naudi et al., 2014).

Adicionalmente, tanto el propio sistema como el ejercicio agudo aumenta los niveles de algunos sistemas antioxidantes endógenos por las capacidades intrínsecas individuales, como la conformación de las propias estructuras de la célula o como la producción de superóxido dismutasa extracelular y de catalasa, entre otros sistemas de defensa para contrarrestar tanto el daño de las especies de primera como de segunda generación. Además, muchos estudios han valorado que estos aumentos en la producción de ROS pueden ejercer efectos positivos en algunas situaciones como en el deporte. Se ha observado que el aumento de estrés oxidativo en el músculo, en unas cantidades moderadas, promueve aumento de la fuerza, por el contrario, el estrés oxidativo inducido por el ejercicio a altas concentraciones se asocia directamente a la fatiga muscular (Reid et al., 1993), disminuyendo el rendimiento físico e incrementando el riesgo de sufrir infecciones respiratorias del tracto superior (Naudi et al., 2014).

Por otra parte, como hemos comentado en los anteriores apartados, el ejercicio agudo, como un episodio intermitente o crónico de estrés oxidativo, también induce efectos inmunológicos y cambios en las concentraciones plasmáticas de interleucinas pro y anti-inflamatorias, factores de crecimiento y sustancias vasoactivas. Las más destacadas son: IL-6, IL8 y TNFα entre otros. Estas moléculas median la reparación tisular y los procesos de regeneración en respuesta a la inflamación y el daño oxidativo, como también a la redistribución del flujo sanguíneo en el ejercicio (Sureda et al., 2015).

7.1.3. Estrés oxidativo y PG.

Es ampliamente conocido que la regulación de ROS es importante para lograr una homeostasis adecuada para preservar la salud, al parecer el PG puede ayudar a regular este proceso, por ello, hay una gran cantidad de investigaciones que han puesto el foco de atención en este aspecto.

Voces y colaboradores (Voces et al., 1999) investigaron el efecto del PG en la función antioxidante hepática después de realizar ejercicio exhaustivo en cinta rodante en ratas. Los resultados mostraron que la administración de PG aumenta la actividad de la enzima glutatión peroxidasa y reduce los niveles de glutatión en el hígado.

La mayoría de estudios en humanos han enfocado sus investigaciones en evaluar el efecto del PG en los sistemas de defensa contra los ataques de compuestos de primera o segunda generación. En la Tabla 45 podemos observar una revisión sistemática, elaborada por el equipo

que desarrolla esta tesis, que describe este aspecto. Se incluyeron once estudios en la revisión en los cuales se evalúa el efecto de la suplementación con PG en la homeostasis redox, centrándose principalmente en los biomarcadores del estrés oxidativo de la sangre.

Los principales parámetros analizados fueron el contenido en plasma de superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, malondialdehído, capacidad antioxidante y especies reactivas de oxígeno totales. Algunos estudios también incluyeron el análisis de malondialdehído y 8-hidroxi-deoxiguanosina en la orina. Debido a la alta heterogeneidad de los biomarcadores utilizados para evaluar los cambios en la homeostasis redox, se decidió describir los resultados desde un punto de vista cualitativo.

En la Tabla 44 se describe un resumen de los efectos significativos observados en la homeostasis redox. En resumen, la suplementación con PG aumentó los niveles / actividad de enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa en plasma. Estos resultados se encuentran en línea con la reducción de los niveles de biomarcadores del estrés oxidativo, como malondialdehído en plasma, orina y eritrocitos, y también LDL oxidado y especies reactivas totales del oxígeno.

Tabla 44: Porcentaje de cambio en biomarcadores de estrés oxidativo después de la suplementación con PG. Estudios con cambios significativos.

Estudio	Superoxido dismutasa (%)	Glutathion peroxidasa (%)	Malondialdehido (%)	Otros parámetros (%)
(Yang et al., 2014), Seul, Corea.				Malondialdehido urinario Grupo 2.7g PG/día: -3.84**
(Kyo et al., 2014), Seul, Corea.	Grupo 3g PG/día: +19.77**		Grupo 3g PG/día: -18**	
(Kim et al., 2013), Seúl, República de Corea.			Grupo 1g PG/día: -23.52** Grupo 2g PG/día: -27.7**	Total especies reactivas del oxígeno Grupo 1g PG/día: -41.3** Grupo 2g PG/día: -47.35** Total contenido de Glutatión Grupo 1g PG/día: +6.4**
(J. Y. Kim et al., 2012), Seúl, Corea	Grupo 3g PG/día: +19.3** Grupo 6g PG/día: +18.82**	Grupo 6g PG/día: +24.81**		LDL oxidado Grupo 3g PG/día: -25** Grupo 6g PG/día: -18**
(Shin et al., 2011), Daegu, Corea.				Erythrocyte thiobarbituric acid-reactive sustancias (TBARS): -36,36**

**=p<0.05 comparado con el mismo grupo pre/post tratamiento.

Las dosis de suplementos de PG por debajo de 1 g / día y dosis altas (20 g / día) parecieron no tener efectos significativos sobre los biomarcadores descritos. En contraste, las dosis entre 1 y 3 g / día parecieron mejorar estos parámetros en un 19 a 55%, con una mayor evidencia de sus

efectos sobre la superóxido dismutasa y los niveles de glutatión peroxidasa. Parece más o menos evidente que los sistemas de regulación para prevenir el daño de ROS se ve potenciado por el efecto del PG, pero faltan más investigaciones que abarquen otros puntos de afección de ROS, por ejemplo el daño producido a las proteínas ya sea por daño directo de sustancias de primera generación o por daño indirecto de segunda generación.

El anterior capítulo (pág. 117) se demostró que 500mg de PG durante dos semanas, disminuía el consumo de O₂ y la producción de CO₂ durante la realización de un deporte alrededor del 70% de la VO₂max, generando con ello, un efecto ahorrador de energía. Estos hallazgos se relacionaron con el efecto hipolipemiante (LT y TG) del mismo extracto. Además se observó una disminución de la percepción de la fatiga durante el test como posible resultado de la disminución de la inflamación producida por el deporte. Dicho experimento no demostró directamente los posibles beneficios del PG en la marca deportiva o en la percepción de fatiga durante un evento deportivo real o en campo.

Por todo lo anterior y por las investigaciones llevadas a cabo hasta el momento, en este proyecto se plantea una investigación sobre individuos humanos que realizan ejercicio físico de tipo aeróbico, como una carrera de 10km, y evaluar el efecto del PG en el tiempo de carrera y en la fatiga percibida en dichas carreras, además se plantea confirmar la posible relación de parámetros del metabolismo lipídico y de inflamación con las variables principales de este experimento. Además se pretende valorar si el efecto antioxidante del PG encontrado en otras investigaciones tiene capacidad de efecto en el daño oxidativo proteico en dichos deportistas y estudiar la posible relación de este parámetro con las capacidades deportivas.

Tabla 45: Efecto del PG en el estrés oxidativo en humanos.

Autor	Tipo de estudio	Características de los voluntarios	Tamaño del estudio	Intervención	Duración	Concentración Ginsenosídeos (mg/g)	Superoxido dismutasa	Glutathion-peroxidasa	Malon dialdehido	Capacidad total antioxidante	Otros parámetros
(Yang et al., 2014), Seúl, República de Corea	Aleatorizado simple-ciego	Mujeres jóvenes saludables 21 - 30 años	N =22 sujetos 2 grupos	2.7g PG / día (300mg/cap)	2 semanas	Rg1+Rb1: 6.87	--	--	--	--	Malondialdehido urinario: -0.09uM**b
(Kyo et al., 2014), Seúl, República de Corea	Aleatorizado doble-ciego	Mujeres post menopausia 45 - 60 años	N= 82 sujetos 2 grupos	3g PG / día (500mg/cap)	12 semanas	Rg1: 2.61 Rb1: 4.26	(U/mL) +40.52**a +56.79**b	N.S	(nmol/mg) -23.46*a -39.98**b	--	8-OHdG (ng/mL) N.S
(Kim et al., 2013), Seúl, República de Corea	Aleatorizado doble-ciego	Adultos con fatiga crónica 20 - 65 años	N= 90 sujetos (21 hombres y 69 mujeres) 3 grupos	1g PG / día (250mg/ cap) o 2g PG / día (500mg/cap)	4 semanas	Rg1: 7.22 Rb1: 5.14	N.S	N.S	(mM) Grupo 1g PG: -2.4**a -4.4**b Goup 2g PG: -3.3**a -5**b	TROs (unit/mL) Grupo 1g PG: -13**a -36**b Grupo 2g PG: -17.2**a -42.1**b	TGC (mM) Grupo 1g PG: +5.7**a +3.7**b Goup 2g PG: N.S
(J. Y. Kim et al., 2012), Seúl, República de Corea	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos saludables 20 - 65 años	N=57 sujetos (23 hombres y 34 mujeres) 3 grupos	3g PG / día (300mg/cap) o 6g PG / día (600mg/cap)	8 semanas	Total ginsenosídeos: 16.58	(U/mL) Grupo 3g PG: N.A a +1.95**b Grupo 6g PG: +2**a +2.24**b	(nmol/mi/ml) Grupo 3g PG: N.A Grupo 6g PG: +2**a +8.66**b	--	--	8-EPF2α urinario (PG/mg creatinina) Grupo 3g PG: N.A Grupo 6g PG: -258.1**a Oxidized LDL (U/L) Grupo 3g y 6g PG: -15**a y 10**b
(H.-G. Kim et al., 2011), Corea del Sur.	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos saludables 20 - 60 años	N= 82 sujetos (21 hombres y 61 mujeres) 3 grupos	1g PG / día (125mg/cap) o 2g PG / día (250mg/cap)	4 semanas	Rg1: 7.22 Rb1: 5.14	N.S	N.S	--	N.S	--

(Ma et al., 2008), Hong Kong.	Aleatorizado doble-ciego cruzado	Sujetos con diabetes tipo 2 51.5 +/- 1.9 años	N=20 sujetos 2 grupos	1,107g PG / día (369mg/cap)	4 semanas. 2 semanas de lavado.	--	--	--	--	N.S	--
(Shin et al., 2011), Daegu, Corea.	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos con glucemia alterada en ayunas (prediabetes) 25 - 60 años	N= 45 sujetos (27 hombres y 18 mujeres) 3 grupos	20 g PG día (antes de la extracción) o soja fermentada	8 semanas	Total saponinas 22.90	--	--	--	--	TBARS (nmol=mL) -2.4**b
(Hassanzadeh Delui et al., 2013) Mashhad, Irán.	Aleatorizado doble-ciego	Pacientes con hiperlipidemia >20 años	N= 36 Sujetos 2 grupos	500mg PG / día (250/cap)	8 semanas	Total ginsenosidos: 7	--	--	--	--	hs-CRP y PAB N.S
(Al-kuraishy and Al-Gareeb, 2017), Baghdad, Iraq.	Aleatorizado doble-ciego	Sujetos saludables 22.61±3.63 años	N= 65 sujetos (36 hombres 29 mujeres) 2 grupos	500mg PG / día 1 cap	4 semanas.	--	--	--	(nmol/mg) -15.72**a	--	--
(Hong et al., 2016), Chuncheon, Corea.	Aleatorizado ciego	Pacientes con hígado graso no dependiente de alcohol > 20 años	N=80 sujetos 2 grupos	3g PG/día --	3 semanas	Rg1 + Rb1 6.0	--	--	--	--	IL-6 (ng/mL) N.S TNF-α (PG/MI) -34,8**a
(Baek et al., 2018b), Seúl Corea.	Aleatorizado doble-ciego	Enfermeras y bomberos 20 - 60 años	N= 63 (57.1% mujeres) 2 grupos	2g PG / día (500mg/cap)	6 semanas.	--	--	--	--	--	IL-6 (ng/mL) N.S TNF- α (PG/MI) N.S

PG: *Panax Ginseng*, TROs: Total especies reactivas del oxígeno, 8-OHdG: 8-hydroxydeoxyguanosine, TGC: Total contenido Glutación, 8-EPF2α: 8-epi-prostaglyin F2α, TBARS: Erythrocyte thiobarbituric acid-reactive substances, TNFα: Factor de necrosis tumoral α, IL-6: interleucina-6, hs-CRP: proteína C reactiva, PAB: Balance Anti-oxidante, N.S: estadísticamente no significativo, *p<0.1, **p<0.05, a: Comparado con el grupo placebo, b: comparado con el mismo grupo.

7.2. Objetivos.

7.2.1. Objetivos generales.

- Valorar el efecto del PG en la marca deportiva y en la percepción de la fatiga, durante una carrera de competición de 10km en hombres corredores.

7.2.2. Objetivos específicos.

- Validar los resultados obtenidos en relación al efecto de la suplementación con 500mg de extracto seco de PG en el metabolismo lipídico.
- Evaluar el efecto del PG a nivel de los sensores de inflamación y de daño oxidativo proteico en hombres corredores que participan en una carrera popular.
- Evaluar los cambios en la capacidad respiratoria y funcionalidad de la cadena de transporte de electrones, en un modelo celular de células L6 suplementadas con plasma de los individuos sometidos a la intervención.

7.3. Metodología

Para responder a los objetivos de este experimento, se llevó a cabo un estudio experimental aleatorizado doble ciego en campo. Para el reclutamiento, se contactó con los coordinadores de dos carreras populares de la ciudad de Lleida. La primera carrera fue la XXXVII Pujada a la Seu Vella, la segunda fue la carrera Sant Silvestre de Lleida, ambas carreras de 10km. Por medio de su base de datos de participantes de años anteriores y por redes sociales se contactó con los participantes para realizar el reclutamiento. Una vez se tuvo la lista con los participantes, se entregó la hoja de información al paciente (Anexo 19), el consentimiento informado (Anexo 20) y la cumplimentación de todos los aspectos éticos y legales descritos en este protocolo.

La primera carrera, Pujada a la Seu Vella de Lleida, se trata de una cursa popular que se inició el año 1981, dispone de un recorrido de 10 km y está abierta a todos los públicos. Se celebra cada año, a finales de Diciembre, en la ciudad de Lleida donde los participantes salen de la plaza de la Sardana de la Seu Vella y hacen el recorrido por los sitios más emblemáticos de la ciudad, tales como la Seu Vella, el puente Princep de Viana, la Mitjana, la canalización del rio Segre y el Palacio de los congresos de la Llotja, para terminar el trayecto en el mismo punto de inicio. El recorrido se realiza a una altitud aproximada de 200 metros. En la Figura 36 podemos observar el recorrido y la altimetría de la prueba (Runedia, 2018)(Moraño, 2019).

La segunda carrera, Sant Silvestre de Lleida, se trata de una carrera popular abierta a todos los públicos. Tiene lugar el 31 de diciembre de cada año en la ciudad de Lleida y, actualmente, acumula 25 ediciones a sus espaldas. Presenta dos recorridos, uno de 10 km y otro de 3,7 km de distancia. Tienen su línea de salida, y de llegada, en la plaza Cervantes. El circuito de 10 km presenta un recorrido que pasa por la avenida Prat de la Riba, el puente de Princep de Viana, la canalización del rio Segre, el Pont Vell y la avenida Cataluña. El recorrido tiene lugar en una altitud acumulada similar a la primera carrera. En la Figura 37 podemos observar el recorrido y la altimetría de la prueba.

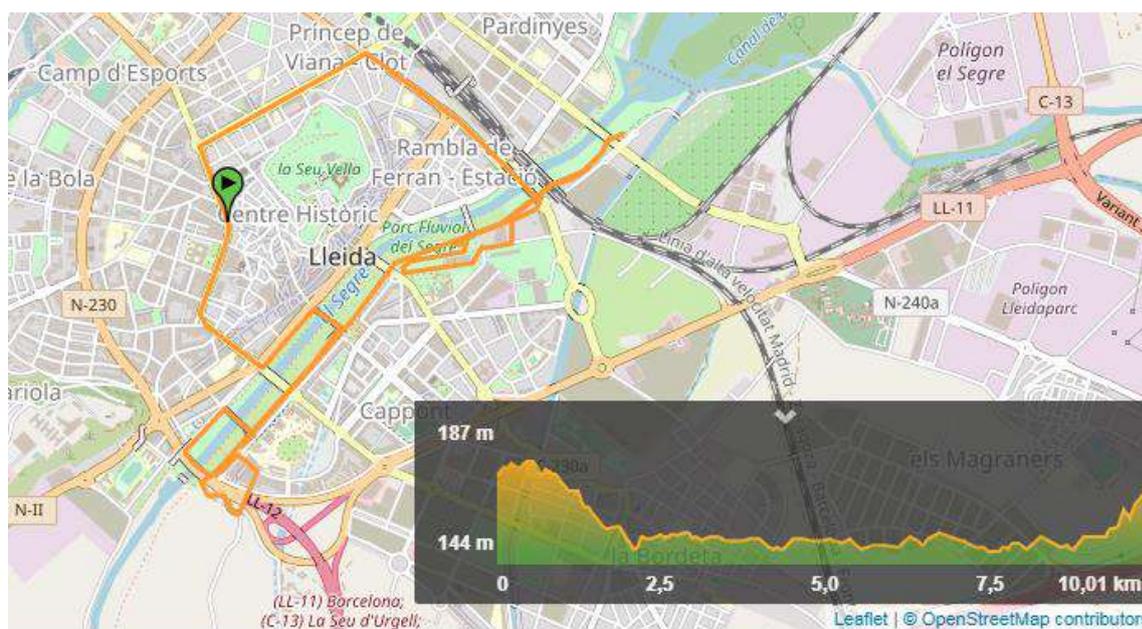
En cuanto a la evolución que ha tenido esta carrera en cuanto a participación a lo largo de los años, según los datos obtenidos entre los años 2013 y 2018 el número de participantes no ha variado de forma significativa, pasando de los poco más de 1100 participantes en el 2013 hasta los poco más de 900 en el 2018. Como se puede observar, las dos carreras presentan similitudes en el recorrido, además, se realizan en el mismo mes y a la misma hora (11:00am) y coincide que entre una carrera y la otra pasan 14 días, lo cual se ajusta al tiempo de suplementación de PG utilizado en este estudio.

Figura 36: Recorrido oficial Pujada a la Seu Vella de Lleida.



(Wikiloc, 2018a)

Figura 37: Recorrido oficial carrera Sant Silvestre de Lleida



(Wikiloc, 2018b)

Los participantes incluidos en este estudio se aleatorizaron en dos grupos (grupo intervención y grupo control) los deportistas no supieron a qué grupo pertenecían hasta la finalización del estudio. Para recoger todas las variables necesarias, se realizaron cuatro tomas de muestras (Tabla 46) distribuidas de la siguiente manera:

- a.) El primer día, día previo a la primera carrera, los deportistas acudieron a los laboratorios del Instituto de Recerca Biomèdica de Lleida (IRBLleida) para iniciar la recogida de

muestras. Se recogió la primera muestra de sangre capilar, así como recogida de variables de control.

- b.) El segundo día, día de la competición, se realizó una segunda toma de muestras en una zona habilitada cerca de la línea de meta y a la finalización de dicha carrera, donde también se recogió su marca deportiva (su mejor registro de tiempo en el evento), la sensación de fatiga percibida durante la prueba (escala de Borg) y las demás variables de control. Al día siguiente a la carrera, los participantes del estudio iniciaron el tratamiento con una cápsula que contenía 500 mg de PG o placebo, según el grupo al que pertenezca el deportista. El tratamiento fue de dos semanas. El participante ingirió dicha cápsula 2 horas antes de entrenar o dos horas antes de comer si no entrena.
- c.) El tercer día, día previo a la segunda carrera, los participantes acudieron nuevamente al laboratorio en las mismas condiciones que en la primera carrera para repetir el procedimiento explicado anteriormente.
- d.) El cuarto día, día de la segunda carrera popular, a la finalización del evento se procedió a la cuarta toma de muestras, que también tuvo lugar en una zona habilitada cerca de la línea de meta. Al igual que en la primera carrera popular, se recogieron todas las variables descritas anteriormente.

Tabla 46: Esquema de la intervención. Evaluación de la eficacia del PG en el aumento del rendimiento deportivo de tipo aeróbico, ensayo clínico aleatorizado.

Día	1	2	3 - 14	15	16
Lugar	Laboratorio	1ª Carrera	Casa	Laboratorio	2ª Carrera
Muestra sangre.	X	X		X	X
Ingesta cápsula.			X	X	X
Marca y fatiga.		X			X

Las extracciones de sangre, se obtuvieron por medio de 2 tubos de 300µL (Microvette CB300LH, ref: 16434) de sangre capilar cada uno. Se centrifugaron a 2000rpm durante 6 minutos para obtener el plasma. Cada muestra se separó en 2 alícuotas (Tubo de microcentrífuga Ref: 175510) y se conservaron a -80º C hasta su análisis. El análisis de los parámetros se realizó en los laboratorios de investigación de las instalaciones del departamento de fisiopatología metabólica de la Universidad de Lleida. La extracción la realizó una enfermera perteneciente al equipo de investigación o un técnico en farmacia y laboratorio.

Por otra parte, el plasma de los voluntarios de este experimento fue expuesto a un cultivo de células musculares (L6) sustituyendo el suero bovino fetal, como una medida de evidencia de los

efectos de los compuestos biodisponibles del PG en el metabolismo celular muscular. Para ello, se realizó una mezcla con el plasma de los participantes de cada grupo y se procedió a exponer al cultivo celular con dicho plasma durante un período de 24 horas.

Posteriormente, se recogieron las células musculares y se determinó el consumo de O₂ basal por medio de un respirómetro (Oroboros Oxygraph). Adicionalmente se evaluó la respiración máxima y la respiración no oxidativa aplicando diferentes protocolos de inhibición y estimulación específicos de los complejos mitocondriales. Lo anterior nos permitió observar a nivel celular los cambios en el metabolismo energético. Se realizaron 3 experimentos para confirmar los datos observados.

7.3.1. Participantes en el estudio

7.3.1.1. Criterios de inclusión.

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

7.3.1.2. Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declaren alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

7.3.2. Tamaño de la muestra

Para calcular el tamaño de la muestra del experimento hemos utilizado las tablas de referencia del libro “Métodos de investigación clínica y epidemiológica” de Josep María Argimon (Argimon, 2004). (Tabla F del libro, para la comparación de dos medias mediante la prueba de la t de Student-Fisher). Para el cálculo se procedió de la siguiente manera:

- La variable dependiente principal es de tipo cuantitativa
- La hipótesis es de tipo bilateral
- El error alfa que se asume para esta investigación es del 0,05.
- El error beta que se asume para esta investigación es del 0,2.
- Para valorar la diferencia mínima entre los dos grupos, se ha utilizado la variable dependiente principal denominada como el cambio de marca deportiva.
- Por tanto, para calcular el tamaño de la muestra de este estudio se ha tomado como referencia una media de aumento de $d=60$ segundos de la marca deportiva.
- La desviación estándar en la realización de dicha prueba en deportistas de esta categoría es de $S= 60$ segundos. Así que el $d/s=1$

Tamaño de la muestra según tablas es de 16 participantes por cada grupo.

7.3.3. Variable independiente y aleatorización.

En este estudio la variable independiente es una variable cualitativa dicotómica y se denomina como la ingesta de 500mg de extracto seco de PG o la ingesta de 500mg de celulosa Microcristalina al día. El participante ingirió 500mg de PG 2 horas antes del entreno, los días de descanso la ingesta se realizó 2 horas antes de la comida del medio día.

La aleatorización se realizó según tiempo de carrera, es decir, conforme los participantes cruzaban la línea de meta, se les asignaba un número mediante una pegatina, dicho número previamente se había asignado a un grupo (control o intervención). Una vez se recogieron las variables, se le entregó las cápsulas a cada participante.

Tanto la suplementación para el grupo PG como para el grupo control fue elaborada por el mismo laboratorio de Formulación Magistral descrito en el apartado anterior (ver pág. 133). La categoría y certificados de la suplementación son los mismos en todos los experimentos. (Anexo 6)

7.3.4. Variables relacionadas con el metabolismo lipídico.

7.3.4.1. Lípidos totales, colesterol total, triglicéridos, ácidos grasos libres y el análisis de la tipología de ácidos grasos libres.

El análisis de estos parámetros se realizó con el mismo procedimiento y la misma técnica que la explicada en el apartado 5 (pág. 85) (Tabla 17, Tabla 18, Tabla 19 Y Tabla 20) y en el apartado 6 (pág. 117) (Tabla 28 y Tabla 29 respectivamente).

7.3.5. Variables relacionadas con el rendimiento deportivo y la fatiga.

7.3.5.1. Marca deportiva.

Variable cuantitativa continua entendida como el tiempo en minutos que tarda cada participante en recorrer los 10km de cada carrera. La variable se recoge por los datos oficiales de los organizadores de las dos competiciones.

7.3.5.2. Percepción del esfuerzo.

Es una variable cualitativa que mide la escala de percepción del esfuerzo del deportista. Se midió por medio de la escala del esfuerzo percibido de Borg (Burkhalter, 1996; Morgan, 1973), descrita en el apartado 6 (ver pág. 141 y 153)

El participante que realizó la prueba asignó un número del 1 al 10, en una línea consecutiva de números para representar la sensación subjetiva de la cantidad de trabajo que realizó durante la carrera. La asignación se realizó justo al acabar la competición, en la línea de meta.

7.3.5.1. Lactato capilar.

Variable cuantitativa continua, se entiende como el lactato plasmático medido en mg/dL. Se registra en la primera y segunda carrera, antes y post ejercicio Se medirá por medio del kit de Spinreact de reacción enzimática explicado en el apartado 5 (ver pág. 100, Tabla 21).

7.3.6. Variables relacionadas con la inflamación.

Es una variable cuantitativa continua entendida como la cantidad en pg/mL de Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 8 (IL-8), Interleucina 10 (IL-10), Interleucina 1ra (IL-1ra) y el Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) valoradas en plasma de los deportistas, antes y después de cada carrera. El protocolo se puede encontrar en el apartado 6 (ver pág. 139, Tabla 30)

7.3.7. Variables relacionadas con el estrés oxidativo proteico.

Se cuantificaron en plasma los niveles de diferentes biomarcadores de daño oxidativo proteico mediante una técnica de alta sensibilidad, la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de gases (GC/MS). Los biomarcadores analizados están descritos en la Tabla 47.

Tabla 47: Biomarcadores de daño oxidativo

Abreviación	Nombre	Biomarcador de :
GSA	Glutamic semi-aldehid	Oxidación proteica directa
AASA	Aminoadipic-semialdehid	Oxidación proteica directa
CEL	Carboxyethyl-lysine	Oxidación proteica derivada de glicoxidación
CML	Carboxymethyl-lysine	Oxidación proteica derivada de glico y lipoxidación
MDAL	Malondialdehyde-lysine	Oxidación proteica derivada de lipoxidación
CMC	Carboxymethyl-cysteine	Oxidación proteica derivada de glico y lipoxidación.
SC	2-Succinyl-cysteine	Oxidación proteica derivada del Fumarato (del ciclo de Krebs). Específico de estrés mitocondrial.

Para realizar este proceso se partió de la muestra con proteínas ya separadas de la muestra original, el procedimiento es el efectuado en la Tabla 28 del apartado 6. Una vez se realizó la separación se procedió a la precipitación de proteínas y la reducción de éstas (Tabla 48), para luego hidrolizarlas a aminoácidos y esterificarlos para la detección en el cromatógrafo (Tabla 49).

Las muestras se transfirieron al muestreador automático y se analizaron en un modelo 6890 de GC / MS Agilent. Se utilizó una columna HP-5MS (30 mx 0,25 mm x 0,25 m m). El programa de temperatura fue el siguiente: 5 min a 110°C, luego 2°C / min hasta 150°C, luego 5°C / min hasta 240°C, luego 25°C / min hasta 300°C, y finalmente Se mantendrá a 300°C durante 5 min. El caudal fue de 0,2 ml / min. Los análisis se llevaron a cabo con GC / MS de monitoreo de iones seleccionados (SIM-GC / MS).

La cuantificación del analito se realizó mediante el uso de curvas estándar construidas a partir de mezclas de estándares deuterados y no deuterados. Las cantidades de analitos se expresarán como μ moles de GSA, AASA, CEL, CML, CMC o SC por mol de lisina.

Tabla 48: Precipitación y reducción de las proteínas.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Partir del volumen total de la mezcla de metanol-agua obtenida del resultado de la separación de lípidos y proteínas de las muestras. ● Para precipitar las proteínas, añadir 1ml de una solución de TCA al 20% ● Posteriormente realizar doble agitación y centrifugar 15 minutos a 4°C y 4400rpm. ● Decantar el sobrenadante y descartarlo. Dejar los tubos boca abajo para terminar de secar por capilaridad. ● Para reducir las proteínas, poner una gota de 1-hexano (antiespumante). ● Añadir rápidamente 1ml de solución de borato y tapar rápidamente. Dejarlo en actuación toda la noche. 		
Soluciones	Composición y preparación	
Solución de tricloroacético al 20% (TCA)	Realizar una solución acuosa de TCA 20%	
Solución Borato	Mezclar a 25ml de solución tampón de Na ₂ B ₄ O ₇ (0,2M pH=9,2), 0,47g de Borhidruro de Sodio. Es una solución efervescente, se ha de mezclar justo antes de utilizarla. Calentar para disolver bien los cristales si es necesario.	
Reactivos / Materiales	Casa comercial	Referencia
Sodio borato (Na ₂ B ₄ O ₇)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	B0127
Borhidruro de Sodio.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	452882
Ácido Tricloroacético (TCA)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	T9159
1-hexano	Panreac Quimica SL, Barcelona, España.	263242

Tabla 49: Precipitación de proteínas reducidas, hidrolisis a aminoácidos y esterificación.

Procedimiento:		
<ul style="list-style-type: none"> ● Partir del volumen total que se ha dejado toda la noche para reducir las proteínas, al abrir los tubos se debe notar una descompresión. ● Para precipitar las proteínas reducidas, añadir 1ml de una solución de TCA al 20% ● Posteriormente realizar doble agitación y centrifugar 15 minutos a 4°C y 4400rpm. ● Decantar el sobrenadante y descartarlo. Dejar los tubos boca abajo para terminar de secar por capilaridad. Si hay cristales, volver a añadir TCA 10% y repetir proceso para mejorar la precipitación. ● Añadir 38µl del estándar interno a cada tubo. ● Para la hidrolisis de las proteínas a aminoácidos, añadir 1ml HCL 6N. ● Poner los tubos tapados a 155°C durante 30min. ● Poner los tubos en el <i>speed vac</i> para evaporar, puede ser necesario dejarlo toda la noche en funcionamiento. ● Para esterificar los aminoácidos, añadir 1ml de Metanol / Acetylclorhidre y realizar una agitación con un vortex. ● Calentar la mezcla, en los tubos, durante 30 minutos a 65°C. ● Posteriormente evaporarlo con N₂. ● Añadir 1ml de TFA puro y dejarlo 1 hora en actuación. ● Volver a evaporar con N₂. ● Resuspender con 80µL de CS₂. Agitar y recoger la muestra y pasarlo en viales de cristal listos para usarlos para el GC. 		

Continuación Tabla 49: Precipitación de proteínas reducidas, hidrolisis a aminoácidos y esterificación.

Soluciones	Composición y preparación	
Soluciones de estándar interno.		
Solución Metanol / Acetylclorhidre	Para 20ml de solución mezclar 18,7ml de metanol con 1,3ml de acetylclorhidre. Reacción muy exotérmica, mezclar gota a gota.	
Reactivos / Materiales	Casa comercial	Referencia
Acetylclorhidre.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	990
Ácido Tricloroacético (TCA)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	T9159
Ácido clorhídrico (HCL)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	H-1758
Ácido trifluoroacético (TFA)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	P5499
Metanol 99,9%.	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	34860
Carbono di sulfuro (CS ₂)	Honeywell International Inc, Bucharest, Romania	84712

7.3.8. Variables relacionadas con los experimentos celulares.

Variable cuantitativa continua que mide el consumo de oxígeno a nivel celular (células musculares L6) por medio de un respirómetro (Oroboros Oxygraph). La respiración basal, la respiración máxima y la respiración no oxidativa se midió en pmol/s*mg de proteína. El proceso para realizar estos experimentos se ha dividido en 3 partes:

7.3.8.1. Cultivo celular.

Se cultivaron miotubulos L6 (ATCC CRL-1458) procedentes de mioblastos de musculo esquelético de rata en medio DMEM con 4,5g/L de glucosa y suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 10% (v/v), 2 mM de L-glutamina y 50µg/ml de penicilina y estreptomycinina.

Para realizar la diferenciación de mioblastos a miotubulos, las células fueron cultivadas hasta un 90% de confluencia, momento en el que se realizó un cambio de medio a DMEM con 1g/L de glucosa suplementado con un 2% de FBS. Las células se mantuvieron en estas condiciones durante 8 días para su completa diferenciación.

Tabla 50: Medios y sueros utilizados para el cultivo celular.

Reactivos	Casa comercial	Referencia
DMEM con 4,5g/L de glucosa	Gibco, Carlsbad, CA, EE.UU.	11825-015
DMEM con 1g/L de glucosa	Gibco, Carlsbad, CA, EE.UU.	31885-023
Suero fetal bovino (FBS)	Gibco, Carlsbad, CA, EE.UU.	10437-028

7.3.8.2. Tratamiento experimental.

Para realizar el experimento, al octavo día de diferenciación, se cambió el medio con FBS de las células por un medio sin FBS suplementado con el plasma de los participantes (pool de plasma

realizado previamente) al 2%, se dejó en actuación 24 horas. Se analizó la respiración de las células con el plasma del grupo placebo e intervención, antes y después de cada carrera.

7.3.8.3. Respirimetría.

La cuantificación de la respiración se llevó a cabo con un respirómetro de alta resolución Oxygraph-2K (Oroboros, Austria) con 2 cámaras de medición de oxígeno. Para realizar el experimento, el instrumento se calibró a 37°C. El volumen añadido en cada cámara fue de 2ml y la velocidad de los agitadores fue de 400 rpm. El consumo de oxígeno se midió en intervalos de 2s. Antes de utilizar las cámaras se lavaron cuidadosamente para evitar contaminaciones; en primer lugar con etanol al 100% y a continuación con etanol al 70%. Para finalizar se lavaron 3 veces más con agua antes de añadir DMEM con 1g/L de glucosa para equilibrar el aparato.

Una vez transcurrido el tiempo de tratamiento de las células, se retiró el medio de tratamiento y se añadió un medio sin FBS, se recogieron las células mecánicamente y se depositaron en el respirómetro.

Tras la adición del DMEM con las células, se cerraron las cámaras para eliminar el exceso de medio y de oxígeno y posteriormente se abrieron hasta dejar solamente una única burbuja para permitir el flujo de oxígeno hacia el interior y estabilizar la medición. El oxígeno disuelto en el medio difunde a través de una membrana de teflón y posteriormente se reduce al entrar en contacto con un electrodo de platino polarizado a 0,8V, este proceso genera una corriente eléctrica detectada por el equipo (Gonzalo-Benito, 2012).

Se midió el consumo basal de oxígeno en presencia de sustrato, el consumo de oxígeno máximo, añadiendo la droga Carbonyl cyanide 4-(trifluoromethoxy)phenylhydrazone (FCCP) (desacopla la cadena mitocondrial, la cadena se ve obligada a respirar el máximo de capacidad) de manera seriada a 0.5 μ M hasta obtener el valor máximo. Por último se midió la respiración no dependiente de la mitocondria añadiendo la droga Antimicina 5 μ M (inhibidora del complejo 3, nexo común de la cadena respiratoria) que nos permite hacer una estimación del consumo residual de oxígeno. Los valores de la respiración basal y máxima fueron corregidos con los resultados del consumo residual de oxígeno.

Una vez finalizado el experimento, se realizó una cuantificación de proteínas en las células por método Bradford para normalizar los resultados.

Tabla 51: Medios, sueros y drogas utilizadas para la respiración celular.

Reactivos	Casa comercial	Referencia
DMEM con 1g/L de glucosa	Gibco, Carlsbad, CA, EE.UU.	31885-023
Carbonyl cyanide 4-(trifluoro-methoxy) phenylhydrazone (FFCP)	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	C2920
Oligomicina	Merck KGaA, Darmstadt, Germany	O4876

7.3.9. Variables de control.

7.3.9.1. Peso corporal.

Es la masa del cuerpo en kilogramos. Es una variable cuantitativa continua. Se mide al inicio y al finalizar la intervención. El peso se obtendrá directamente del paciente pesándolos semidesnudos en dos ocasiones, al inicio y al finalizar el estudio, mediante una báscula calibrada estándar.

7.3.10. Variables relacionadas con el estilo de vida y entrenos.

Con tal de controlar variables que pueden afectar al rendimiento deportivo o la fatiga, se controlaron aspectos dietéticos nutricionales descritos a continuación:

7.3.10.1. Cambios a nivel dietético nutricional.

Es una variable cuantitativa continua, entendida como la cantidad de calorías totales ingeridas en el desayuno previo a la carrera (Kcal/pre evento) y como la cantidad de hidratos de carbono, proteínas y grasas de dicha ingesta. La variable se recogió por medio de un registro dietético al finalizar la primera y segunda carrera. Los valores de interés se obtuvieron por medio de un programa informático (Software Dial).

7.3.10.2. Hidratación.

Variable cuantitativa continua entendida como la cantidad en ml de hidratación (agua o cualquier bebida hidratante) ingerido antes y durante la carrera. La variable se recogió por medio de un registro de hidratación al finalizar la primera y segunda carrera.

7.3.10.3. Registro de entrenamientos.

Es una variable cuantitativa continua, entendida como la cantidad de kilómetros y minutos totales corridos a la semana. La variable se recogió por medio de un registro semanal de entrenamiento (semana previa a las carreras) (Anexo 18).

7.3.11. Variables relacionadas con la adherencia y efectos adversos.

Esta variable se define como la seguridad y la adherencia de la utilización de la suplementación de PG o de placebo en los deportistas de los grupos. Es una variable cualitativa dicotómica que se recoge semanalmente por medio de un apartado en el mismo cuestionario utilizado en todos los experimentos y que monitoriza todos los posibles efectos adversos que puede presentar el participante durante la ingesta del suplemento y la ingesta o no del PG (pág. 68, Anexo 9).

7.3.12. Técnicas de enmascaramiento

Este estudio se realizó a doble ciego. Por una parte los participantes no supieron a qué grupo pertenecían, por otra parte los investigadores de análisis de muestras y datos de esta investigación tampoco conocían dicho dato.

7.3.13. Previsión del análisis de datos

Los datos de cada participante se almacenaron en una base de datos tipo Excel, en la cual se incorporaron medidas de filtro para minimizar errores de transcripción. Dichos datos fueron exportados al programa estadístico GraphPad Prism 5, para realizar el análisis estadístico correspondiente. Se realizó una revisión de la calidad de los datos a través de un análisis de frecuencias extremas y un análisis de inconsistencias.

Para llevar a cabo un análisis estadístico descriptivo, se realizó una descripción univariante de las variables principales en base al cálculo de recuentos, proporciones y medidas de tendencia central y de dispersión (media aritmética e intervalo de confianza).

Para realizar un análisis estadístico comparativo, en primer lugar se evaluó la comparabilidad de los dos grupos PG y control al inicio del período de seguimiento.

Posteriormente se comparó la distribución de los valores de las variables de interés intra-entre grupos. Se analizaron los cambios evolutivos ocurridos en cada grupo, mediante test de significación estadística para datos apareados (t de student) en el grupo control y en el grupo intervención. Después, se analizaron las posibles diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos con los datos obtenidos al finalizar la intervención (2 way anova). Por último se analizaron más detalladamente la evolución de los participantes comparando las diferencias encontradas en cada grupo. Es decir, en cada grupo se valoró la diferencia entre los resultados del inicio con los del final de la intervención. Posteriormente dichas diferencias se

sometieron a la prueba de significación estadística. Se consideró que existe una diferencia significativa cuando el valor de p era por debajo de 0,05.

7.3.14. Aspectos éticos y legales.

El presente estudio tomó las mismas medidas para la protección de datos de todos los participantes apartado 4 (pág. 71). Este estudio ha sido revisado y aprobado por el comité ético de investigación clínica del Hospital Arnau de Vilanova mediante la valoración de este protocolo (código CEIC 1742) (Anexo 12).

7.4. Resultados

7.4.1. Parámetros de control.

Treinta y uno participantes finalizaron el estudio, 16 en el grupo control y 15 en el grupo intervención (Figura 38). Ningún participante fue excluido del estudio por no ingerir la cápsula. De los 40 participantes que iniciaron el estudio, 3 participantes del grupo control no finalizaron el estudio por problemas de disponibilidad horaria, 1 participante del grupo intervención no finalizó por problemas de salud y 4 por lesiones (2 del grupo PG).

No se han encontrado cambios en las variables antropométricas, de entrenamiento y de nutrición antes de empezar el experimento ni después (Tabla 52).

En el grupo intervención se ve un aumento significativo del consumo de hidratos de carbono en el desayuno previo al evento comparando las dos carreras, el aumento aunque significativo es muy pequeño (+ 0,2g HC/kg de peso).

Por otra parte, no se presentó ningún efecto secundario atribuible al suplemento y la adherencia según el cuestionario fue adecuada.

Figura 38: Diagrama de flujo del estudio PG como ayuda ergogénica 2.

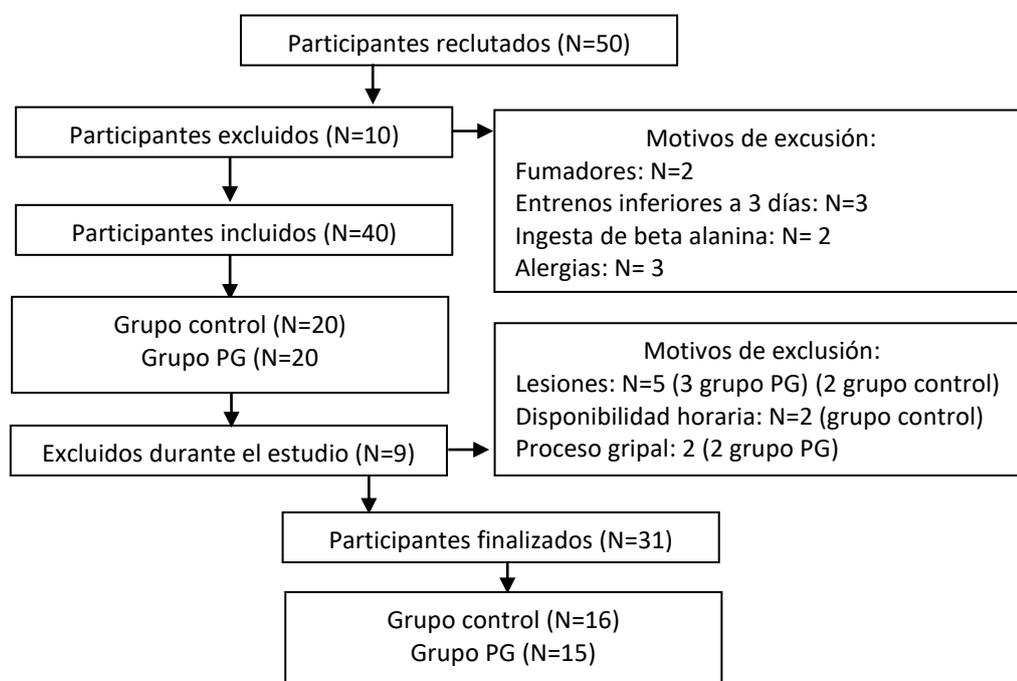


Tabla 52: Parámetros de control antes y después de dos semanas de intervención.

	Grupo control				Grupo PG			
Edad (años)	37,81 (32,89 - 42,74)				34,27 (29,75 - 38,79)			
Antropometría	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
Peso (kg)	75,66	71,56 - 79,76	74,64	69,95 - 79,32	74,51	70,09 - 78,92	74,64	69,95 - 79,32
Entrenamiento								
Entreno Km / semana	21,68	12,79 - 23,77	34,81	25,43 - 44,18	26,46	19,54 - 33,39	34,77	28,42 - 41,11
Entreno min / semana	112,9	66,12 - 123,9	191,5	144,2 - 238,7	134,7	107,6 - 161,7	183	147,0 - 219,0
Nutrición								
Kcal pre evento	491,1	379,9 - 602,2	429,3	339,4 - 519,1	426,8	318,4 - 535,2	536,7	372,9 - 700,6
gr CH / kg peso pre evento	0,81	0,61 - 1	0,73	0,62 - 0,84	0,75	0,54 - 0,95	0,97 [^]	0,76 - 1,19
gr PT pre evento	18,83	12,36 - 25,30	15,94	11,51 - 20,37	16,53	10,85 - 22,21	19,83	12,73 - 26,92
gr LIP pre evento	15,22	10,77 - 19,66	14,54	9,19 - 19,89	12,75	8,07 - 17,43	15,58	5,23 - 25,93
Hidratación pre evento (ml)	485,9	343,6 - 628,3	481,3	267,3 - 695,2	598,2	404,5 - 791,9	532,1	366,7 - 697,5

CH: Carbohidratos; PT: Proteína; LIP: Lípidos; [^]= p<0,05 comparado con el valor basal; [¥]= p<0,05 comparado con el grupo control.

7.4.2. Parámetros de rendimiento deportivo y de fatiga.

No se observan cambios en la marca deportiva ni en la fatiga por medio de la percepción del esfuerzo (escala de Borg) en ambos grupos (Tabla 53). Se encuentran aumentados los niveles de lactato después de la realización de las carreras en ambos grupos como respuesta normal del organismo a intensidades altas. El grupo intervención tiende a acumular una mayor cantidad de lactato plasmático después de las competiciones en comparación con el grupo control tanto antes como después del tratamiento.

Tabla 53: Parámetros de rendimiento y de fatiga en pruebas en campo.

	Grupo control				Grupo PG			
	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
Marca (minutos)	47,44	43,81 - 51,07	45,53	41,96 - 49,10	44,29	41,44 - 47,14	42,82	39,82 - 45,83
Borg (escala de Borg 1-10)	6,34	5,21 - 7,48	6,88	6,03 - 7,72	6,65	5,49 - 7,81	7,45	6,69 - 8,20
Primera carrera								
Lactato (mg/dL)	14,07	10,46 - 17,69	28,41 [^]	23,53 - 33,29	13,51	10,29 - 16,73	50,36 ^{^¥}	37,12 - 63,59
Segunda carrera								
Lactato (mg/dL)	11,94	10,13 - 13,74	27,35 [^]	21,31 - 33,38	11,36	9,659 - 13,07	43,71 ^{^¥}	27,31 - 60,11

*= p<0,05 comparado con el mismo grupo; [¥]=p<0,05 comparado con el grupo control; [^]= p<0,05 comparado con el basal.

7.4.3. Metabolismo lipídico.

No se encontraron cambios significativos en los parámetros del perfil lipídico plasmático entre los grupos antes de la intervención (Tabla 54). Se observa un incremento de lípidos totales producido después de la carrera en ambos grupos.

Después de la intervención, se observa una disminución ($p<0,05$) de los LT y de los TG después de dos semanas de suplementación con 500mg de PG diario antes de realizar la actividad física en comparación con el grupo control. Además se observa una disminución de los LT en comparación con el mismo grupo antes de la intervención.

Tabla 54: Perfil lipídico plasmático pre / post intervención.

Primera carrera. Día 0

	Grupo control				Grupo PG			
	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
LT (mg/dL)	831,56	783,0-880,1	918,68 [^]	862,2 - 975,2	824,33	754,6-894,1	933,32 [^]	868,5 - 998,1
CT (mg/dL)	169,94	153,3-186,6	166,45	145,9 - 187,0	161,86	138,9-184,8	156,69	138,0 - 175,4
TG (mg/dL)	135,15	107,5-162,8	164,34	107,0 - 221,7	100,54	71,54-129,5	107,99	86,18 - 129,8
NEFAS (mg/dL)	1,93	1,370-2,49	1,70	1,09 - 2,30	1,25	1,009-2,273	1,26	0,78 - 1,73

Segunda carrera. Día 15

	Grupo control				Grupo PG			
	pre	IC	post	IC	pre	IC	post	IC
LT (mg/dL)	873,80	812,6-935	943,35 [^]	880,6 - 1006	773,8 ¥ *	711,1-836,7	958,7 [^]	866,8 - 1051
CT (mg/dL)	179,62	159,4-199,8	171,85	150,8 - 192,9	154,60	133,1-176,1	162,09	145,4 - 178,7
TG (mg/dL)	138,21	102,9-173,6	125,82	103,1 - 148,5	93,06 ¥	72,01-114,1	94,87	74,75 - 115,0
NEFAS (mg/dL)	1,02	0,945-1,55	1,70	1,24 - 2,14	0,51	0,733-1,81	1,45	1,04- 1,86

*= $p<0,05$ comparado con el mismo grupo; ¥= $p<0,05$ comparado con el grupo control; [^]= $p<0,05$ comparado con el basal.
 LT: Lípidos totales; TG: Triglicéridos; CT: Colesterol total; NEFAS: Ácido grasos libres.

En relación a la tipología de ácidos grasos presentes en el plasma de los deportistas sometidos a la intervención, se observa que hay algunas diferencias antes de empezar la intervención entre los grupos. Los MUFA están significativamente en menor proporción en el grupo intervención y los PUFA están en mayor proporción (provenientes de PUFAn-6) comparado con el grupo control. Por consiguiente, los índices DBI y PI están aumentados en el grupo intervención. Dicha proporcionalidad se mantiene después de realizar la intervención con PG, por lo tanto no se encuentran cambios significativos producidos por el PG (Tabla 55)

7.4.4. Parámetros de inflamación.

En la Tabla 56 se observan los cambios en los parámetros de inflamación analizados en las carreras populares antes y después de la intervención. Las interleucinas analizadas, como en el anterior experimento, tienden a aumentar como respuesta al ejercicio pero no de manera significativa.

Tabla 55: Descripción tipología de ácido grasos pre / post intervención.

Primera carrera. Día 0

Parámetro	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
ACL	18,28	18,03 - 18,52	18,08 [^]	17,96 - 18,19	18,11	17,99 - 18,23	18,11	17,95 - 18,28
SFA (%)	31,78	27,52 - 36,04	32,20	31,06 - 33,34	32,32	30,90 - 33,75	31,93	30,52 - 33,33
UFA (%)	68,22	63,96 - 72,48	67,8	66,66 - 68,94	67,68	66,25 - 69,10	68,07	66,67 - 69,48
MUFA (%)	35,17	30,83 - 39,52	33,62 [^]	31,49 - 35,75	29,95 ¥	27,97 - 31,92	32,47	29,56 - 35,38
PUFAn-3 y PUFAn-6 (%)	33,05	30,08 - 36,02	34,18	31,88 - 36,48	37,73¥	36,35 - 39,11	35,6 [^]	33,61 - 37,60
PUFAn-3 (%)	4,06	3,640 - 4,481	4,35	3,788 - 4,907	4,79	4,358 - 5,219	4,53	3,867 - 5,185
PUFAn-6 (%)	28,99	26,29 - 31,69	29,83	27,68 - 31,98	32,94¥	31,60 - 34,29	31,08 [^]	29,42 - 32,74
DBI (%)	120,90	114,2 - 127,5	120,00	116,0 - 124,0	128,3¥	125,5 - 131,1	123,4 [^]	120,3 - 126,5
PI (%)	62,62	57,85 - 67,39	61,19	57,13 - 65,24	71,89¥	69,23 - 74,55	65,26 [^]	61,32 - 69,20
AI (%)	0,63	0,56 - 0,71	0,65	0,55 - 0,74	0,62	0,56 - 0,67	0,66	0,55 - 0,77

Segunda carrera. Día 15

Parámetro	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
ACL	18,15	17,96 - 18,34	18,22	17,98 - 18,45	18,12	17,99 - 18,25	18,1	17,97 - 18,23
SFA (%)	32,79	29,22 - 36,36	30,68	28,78 - 32,57	31,57	30,35 - 32,79	31,97	30,89 - 33,06
UFA (%)	67,21	63,64 - 70,78	69,32	67,43 - 71,22	68,43	67,21 - 69,65	68,03	66,94 - 69,11
MUFA (%)	33,78	30,54 - 37,02	33,76	29,66 - 37,85	30,51	28,55 - 32,47	30,45	28,34 - 32,55
PUFAn-3 y PUFAn-6 (%)	33,43	30,34 - 36,52	35,57	32,82 - 38,32	37,92¥	36,15 - 39,70	37,58	36,13 - 39,02
PUFAn-3 (%)	4,316	3,913 - 4,719	4,509	4,060 - 4,958	4,747	4,292 - 5,201	4,663	4,099 - 5,227
PUFAn-6 (%)	29,11	26,13 - 32,10	31,06	28,67 - 33,45	33,18¥	31,42 - 34,93	32,92	31,50 - 34,33
DBI (%)	120,4	113,1 - 127,6	125,5	122,0 - 129,1	129¥	125,5 - 132,5	127,2	124,7 - 129,8
PI (%)	63,17	57,58 - 68,76	66,49	61,99 - 70,98	71,7¥	68,08 - 75,31	69,82	66,70 - 72,94
AI (%)	0,69	0,61 - 0,77	0,64	0,56 - 0,71	0,63	0,55 - 0,71	0,65	0,56 - 0,73

*= <0,05 comparado con el mismo grupo; ¥= p<0,05 comparado con el grupo control; ^= p<0,05 comparado con el basal; ACL= Cadena media; SFA= Ácido grasos saturados; UFA= Ácido grasos insaturados; MUFA= Ácido grasos monoinsaturados; PUFAn-3 y PUFAn-6= Ácido grasos poli-insaturados de n-3 y n-6 series; PUFAn-3= Ácido grasos poli-insaturados de n-3; PUFAn-6= Ácido grasos poli-insaturados de n-6; DBI = Índice de doble enlace; PI= Índice de peroxidabilidad; AI= Índice antiinflamatorio.

La IL-10 aumenta (como respuesta al ejercicio) en ambos grupos de manera significativa antes y después de la intervención. Este parámetro tiene propiedades anti-inflamatorias y es capaz de inhibir la síntesis de citocinas proinflamatorias por los linfocitos T y los macrófagos. Además se observa un aumento de manera significativa en el grupo intervención comparada con su valor previo a la suplementación después de realizar la carrera. La IL-6 y la IL-8 en el grupo intervención también se ven incrementadas después de la ingesta del suplemento de forma significativa con respecto a la concentración plasmática antes de iniciar la actividad. La IL-1RA y el TNF α no se ven modificadas por la AF ni por la suplementación.

Tabla 56: Interleucinas pre / post intervención.

Primera carrera. Día 0								
	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
IL-1RA (pg/mL)	211,2	113,9 - 308,6	249,4	169,9 - 328,8	339,6	(-)-11,65 - 690,8	366,6	43,53 - 689,7
IL-6 (pg/mL)	13,61	4,381 - 22,84	13,76	4,541 - 22,97	3,68	(-)-1,451 - 8,812	8,93	1,719 - 16,14
IL-8 (pg/mL)	10,18	7,32 - 13,04	13,28	10,56 - 15,99	8,10	4 - 12,19	10,74	6,54 - 14,93
IL-10 (pg/mL)	16,29	(-)-4,914 - 37,49	83,35 [^]	39,35 - 127,3	9,178	0,7175 - 17,64	43,12 [^]	26,29 - 59,95
TNF α (pg/mL)	15,59	10,96 - 20,22	18,08	13,74 - 22,43	13,2	10,22 - 16,19	15,59	12,09 - 19,10

Segunda carrera. Día 15								
	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
IL-1RA (pg/mL)	274,9	106,3 - 443,4	271,5	134,0 - 409,0	231,1	73,23 - 388,9	332,8	(-)-16,25 - 681,8
IL-6 (pg/mL)	7,36	3,679 - 11,03	10	5,06 - 14,95	5,15	(-)-0,05 - 10,36	7,22 [^]	3,52 - 10,92
IL-8 (pg/mL)	12,39	7,81 - 16,97	13,91	11,00 - 16,82	8,748	4,39 - 13,10	12,93 [^]	9,03 - 16,83
IL-10 (pg/mL)	11,64	2,951 - 20,33	86,67 [^]	39,73 - 133,6	8,242	2,598 - 13,89	76,19 ^{^*}	37,62 - 114,8
TNF α (pg/mL)	16,91	13,40 - 20,43	18,82	14,87 - 22,78	13,46	11,06 - 15,86	16,42	13,47 - 19,37

*= p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥= p<0,05 comparado con el grupo control; ^= p<0,05 comparado con el basal; IL: Interleucina; TNF: Factor de necrosis tumoral.

7.4.5. Estrés oxidativo proteico.

En la Tabla 57 se observan los resultados del daño oxidativo proteico. No se encuentran cambios referentes a la práctica deportiva, al parecer una carrera de 10km a dichas intensidades y en el tiempo de extracción plasmática no demuestra un cambio significativo en los niveles de estrés oxidativo de este nivel. Se observa que los niveles de GSA en el grupo intervención son inferiores que en el grupo control antes de iniciar el tratamiento, esta proporcionalidad se mantiene después de la suplementación.

Después de la suplementación con PG en el grupo intervención hay una disminución de manera significativa de la producción de daño oxidativo proteico producido por el ejercicio a nivel de daño derivado de glico y lipooxidación (CMC) y de daño oxidativo directo (GSA) comparado con su estado basal.

Tabla 57: Daño oxidativo proteico pre / post intervención.

Primera carrera. Día 0

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
AASA (μmol/mol lys)	53,42	47,32 - 59,52	59,55	49,15 - 69,95	57,29	49,21 - 65,37	59,01	52,65 - 65,38
CMC(μmol/mol lys)	57,88	40,33 - 75,43	83,86	55,00 - 112,7	83,31	44,84 - 121,8	79,75	52,35 - 107,1
CEL (μmol/mol lys)	106,60	89,89 - 123,3	125,80	95,68 - 155,9	104,20	89,17 - 119,2	114,30	92,86 - 135,8
CML (μmol/mol lys)	1910	1091 - 2729	1788	1038 - 2538	2052	1400 - 2705	2043	1448 - 2638
GSA (μmol/mol lys)	6232,00	5143 - 7320	5806,00	4734 - 6878	4779¥	4104 - 5455	4533¥	3801 - 5266
MDAL (μmol/mol lys)	122,50	99,49 - 145,6	124,90	99,54 - 150,3	132,90	101,3 - 164,4	134,80	103,0 - 166,5
SC (μmol/mol lys)	64,39	50,69 - 78,08	74,07	53,04 - 95,09	74,49	54,0 - 94,97	65,36	47,75 - 82,97

Segunda carrera. Día 15

	Grupo control				Grupo PG			
	Pre	IC	Post	IC	Pre	IC	Post	IC
AASA (μmol/mol lys)	54,86	49,34 - 60,38	59,34	49,90 - 68,78	59,07	52,49 - 65,65	56,75	49,64 - 63,85
CMC (μmol/mol lys)	99,04	38,42 - 159,7	79,09	47,49 - 110,7	96,69	59,16 - 134,2	75,71^	55,39 - 96,02
CEL (μmol/mol lys)	109,70	89,94 - 129,5	111,70	90,40 - 133,0	116,50	96,99 - 136,0	110,10	97,88 - 122,3
CML (μmol/mol lys)	1813	1157 - 2468	1826	1137 - 2516	2023	1330 - 2715	2024	1377 - 2671
GSA (μmol/mol lys)	5226,00	4269 - 6182	5458,00	4579 - 6337	4868,00	3800 - 5935	4360¥^	3484 - 5237
MDAL (μmol/mol lys)	125,90	97,38 - 154,4	145,00	106,0 - 184,0	133,60	105,3 - 161,9	134,70	113,0 - 156,4
SC (μmol/mol lys)	68,43	60,45 - 76,41	83,05	64,42 - 101,7	72,80	48,43 - 97,17	70,64	46,09 - 95,19

*= p<0,05 comparado con el mismo grupo; ¥= p<0,05 comparado con el grupo control; ^= p<0,05 comparado con el basal; AASA= Amino adipic-semialdehid; CMC= Carboxymethyl-cysteine; CEL= Carboxyethyl-lysine; CML= Carboxymethyl-lysine; GSA= Glutamic semi-aldehid; MDAL; Malondialdehyde-lysine; SC= 2-Succinyl-cysteine.

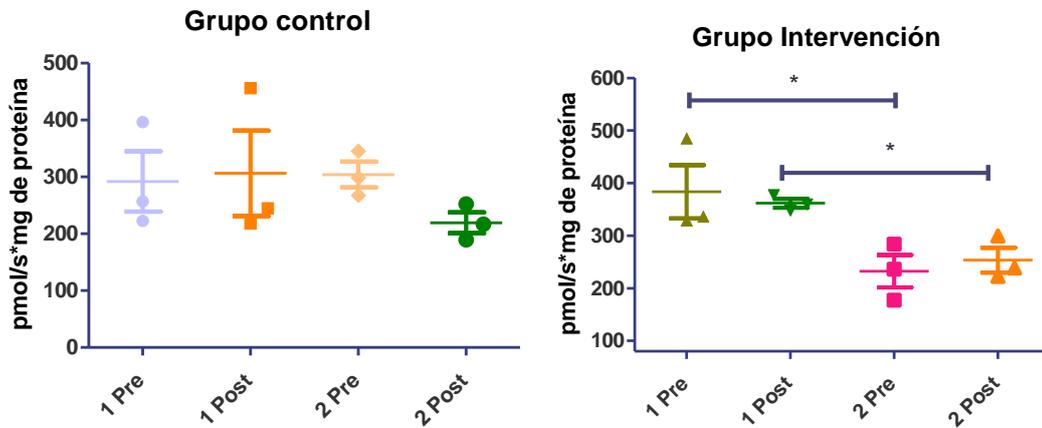
7.4.6. Respiración celular, experimentos ex vivo.

Se realizaron 3 experimentos con el mismo protocolo durante la tesis. No se observan cambios significativos ni en la respiración basal ni en la respiración máxima de las células que han estado en contacto con el plasma de los corredores del grupo control antes y después de cada carrera.

En sentido contrario, las células que han estado en contacto durante 24 horas con el plasma de los deportistas que ingirieron PG durante dos semanas disminuyen la respiración basal. Este resultado se observa comparando la segunda carrera con la primera, tanto con el plasma previo como el plasma posterior al evento. No se observan diferencias en la respiración máxima de las células de este grupo.

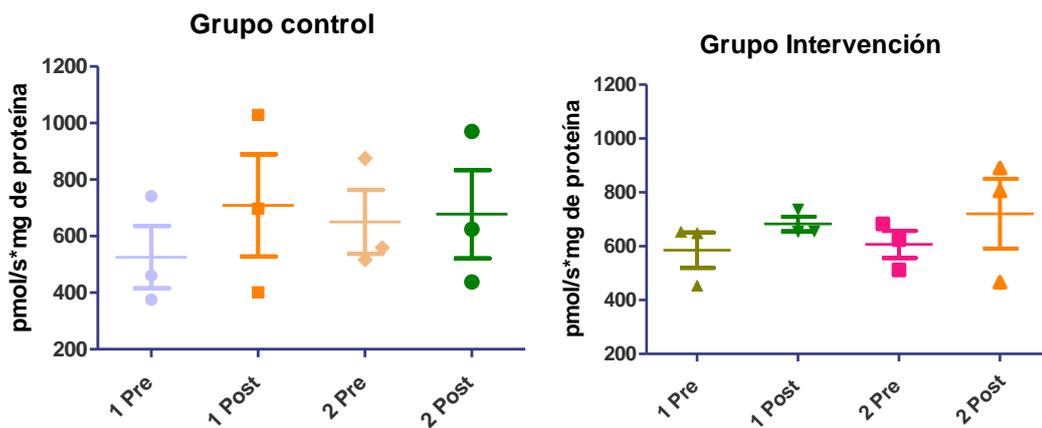
En la Figura 39 y en la Figura 40 se observa las diferencias de la respiración basal y máxima de las células durante el experimento. No se encuentran cambios entre los grupos.

Figura 39: Cambios en la respiración basal de células L6 suplementadas con plasma de los deportistas en el grupo control y en el grupo intervención.



1= plasma de la primera carrera; 2: plasma de la segunda carrera; Pre= plasma antes de realizar la carrera; Post= plasma después de realizar la carrera.

Figura 40: Cambios en la respiración máxima de células L6 suplementadas con plasma de los deportistas en el grupo control y en el grupo intervención.



1= plasma de la primera carrera; 2: plasma de la segunda carrera; Pre= plasma antes de realizar la carrera; Post= plasma después de realizar la carrera.

7.5. *Discusión.*

Como se ha comentado anteriormente, el efecto del PG en el rendimiento deportivo se ha estudiado en un amplio espectro de estudios (Tabla 27), y hasta el momento no se han encontrado relaciones directas de dichos efectos con las capacidades deportivas, especialmente por medio de pruebas de esfuerzo máximo con valoración de umbrales o en esfuerzos por encima del 75% de la $VO_2\text{max}$ (Engels et al., 2001; Kulaputana et al., 2007). Los resultados obtenidos en pruebas de esfuerzo en intensidades cercanas al 70% (apartado 6 pág. 117) fueron ligeramente positivos, ya que después de la suplementación con PG, se encontró un discreto ahorro energético realizando el mismo esfuerzo y una mejora en la percepción de la fatiga durante la prueba del grupo intervención.

Es evidente que la realización de carreras o competiciones en campo no se asemejan del todo a las intensidades observadas en laboratorio, aun así, el deportista que realiza este tipo de competiciones suele mantener un ritmo constante y una continuidad en el consumo energético. Por lo anterior, este estudio se ha planteado como principal objetivo la valoración del efecto del PG en la marca deportiva y en la fatiga de deportistas que realizan carreras populares de 10km, y valorar si los resultados observados en el anterior experimento son trasladados a una situación real.

Los resultados de esta investigación no han podido evidenciar el posible efecto de la ingesta de 500 mg de PG durante dos semanas en el tiempo de carrera en un evento competitivo de 10km. Al parecer el efecto en la disminución del consumo de O_2 y en la producción de CO_2 no se ve reflejado en campo o es posible que las diferentes variables confusoras, difícilmente controlables, durante una prueba en campo interfieran en el resultado.

La complejidad de la realización de una carrera de competición hacen difícil la investigación, los deportistas se ven sometidos a cambios metabólicos durante la realización de este tipo de competiciones ya que se combinan momentos tanto aeróbicos como anaeróbicos, sobre todo por los cambios de desnivel, la temperatura, la humedad y factores externos. Además, entran en juego diferentes cuestiones como la competitividad, la ansiedad y el contexto de la carrera que pueden afectar (tanto positiva como negativamente) al resultado del deportista (Prieto Andreu, 2017).

Independientemente de los resultados en relación a la marca deportiva, la relación con los parámetros del metabolismo lipídico plasmático han servido para validar los resultados obtenidos en el experimento anterior (ver pág. 117). Se ha demostrado nuevamente con este experimento, que el PG a estas dosis disminuyen los LT (-100 mg / dL) y TG (-45,15 mg / dL) $p < 0,05$ plasmáticos después de dos semanas de tratamiento, en este caso, sin afectar el tiempo de carrera.

Es interesante observar estos cambios en el metabolismo lipídico en el contexto del deportista que entrena como mínimo 3 días a la semana, es muy posible que tenga la misma relación que los resultados obtenidos de estudios en animales donde se ha demostrado una mayor utilización de lípidos y mejor optimización de las reservas de glucógeno muscular y hepático durante el ejercicio (entre un 65 y 75% VO_2max) sin afectar el rendimiento deportivo (Hwang et al., 2014). Dicha optimización del uso de las grasas podría disminuir los lípidos plasmáticos. Estos hallazgos hacen centrar los beneficios que puede llegar a tener la mejor utilización de los lípidos a nivel deportivo en carreras / competiciones donde la principal fuente de energía es la grasa.

A estos resultados, es importante añadir los resultados encontrados en la percepción de fatiga de este experimento. Se observó un ligero aumento de la percepción de la fatiga en el grupo intervención (+0,8 en la escala de Borg $p = 0,084$). Estos resultados son contrarios a los encontrados en el anterior experimento donde se observó una disminución de dicha percepción. Estos resultados se deben tomar con cautela ya que cabe destacar que la percepción de la fatiga del anterior experimento (escala de Borg durante 20 minutos con una media de 3,49) y la percepción de fatiga en este experimento (escala de Borg con una media de 6,5) demuestran las diferencias de intensidades de ambas pruebas, aun así el efecto anti-fatiga del PG (demostrada en algunas revisiones y tratados de fitoterapia (S. H. So et al., 2018)) en esta investigación no se ha visto reflejada.

Lo anterior posiblemente se debe a la dificultad que abarca la cuantificación de la percepción de la fatiga durante un evento deportivo, dicha percepción puede variar durante todo el trayecto, por ejemplo, una maratón puede llegar a tener una duración entre 2 hora y 30 minutos y 5 horas y la descripción de la fatiga durante la carrera tiene difícil comprobación. Es importante recordar que en el primer experimento (Capítulo 2) realizado en esta tesis, la percepción general del deportista durante la semana de entrenamiento fue positiva (77% de los participantes).

Tal como comentamos anteriormente, se deben realizar nuevos experimentos en relación al rendimiento deportivo y la fatiga. El uso de otras dosis podría ser determinante para evidenciar

dichos efectos en campo. En términos de metabolismo lipídico, Lee y colaboradores encontraron cambios en el metabolismo lipídico (K J Lee y Ji, 2014) en personas sedentarias con un extracto al 25% de ginsenósidos totales (2,1g / día). Este porcentaje de sustancias bioactivas es muy similar a la utilizada en esta tesis pero con una dosis 3 veces superior. Sería necesario comprobar si los cambios producidos en el metabolismo lipídico a estas dosis producen un efecto en el tiempo de carrera y en la fatiga.

Los resultados encontrados en este experimento también han abierto la posibilidad de estudiar los efectos de PG en carreras / competiciones donde el componente principal de utilización de la energía sean los lípidos. Las carreras de larga distancia como una Trail de montaña es un claro ejemplo de estos, aunque la intensidad es variable, sobre todo por los cambios de desnivel, el consumo medio se encuentra entre el 60 y 70% de la VO_2max (Fernström et al., 2007). Deben ser consideradas otras herramientas para valorar los efectos de PG en la fatiga y en el rendimiento de este tipo de deportes e incluir herramientas que no solo evalúen el tiempo máximo o una percepción de fatiga total. Herramientas de la investigación cualitativa como las entrevistas en profundidad, o la evaluación de los cambios de ritmos durante el evento (relacionado directamente con la fatiga), son ejemplos que podrían ser determinantes para valorar las sensaciones del atleta durante una carrera.

Aunque esta investigación no demuestre una clara relación del efecto del PG con el rendimiento deportivo, la relación entre el efecto de esta planta y las capacidades deportivas siguen estudiándose y buscando la manera de manifestar dicha relación. Una de las teorías más recientes, que no se ha comentado hasta el momento, es el incremento significativo del ATP celular y el aumento del consumo de O_2 que se ha encontrado en células musculares C_2C_{12} de rata gracias al aumento de la expresión del gen AMPK después de ser suplementadas con metabolitos del PG, estos hallazgos se relacionan directamente con la homeostasis energética de la célula, concretamente con la respiración mitocondrial (Angel et al., 2016).

Estos descubrimientos abren otras vías de estudio del efecto del PG, por este motivo, para complementar los resultados obtenidos en esta investigación, se realizó un estudio *ex vivo* donde células musculares de rata (L6) fueron expuestas durante 24 horas (una vez diferenciadas) al plasma de los participantes, dicho plasma (del grupo PG y control) tenían presente, o no, ginsenósidos del suplemento. Se ha observado una disminución significativa en el consumo de O_2 basal en aquellas células en contacto con los ginsenósidos del plasma de los participantes. El hecho que la respiración basal se disminuya significativamente refuerza los resultados de la reducción del consumo de oxígeno y el efecto ahorrador de energía, realizando la misma

actividad, encontrado en el anterior experimento (apartado 6 pág. 150). Estos resultados difieren de lo observado por Angel y colaboradores donde se observó un aumento del consumo de O₂ (Angel et al., 2016).

Por otra parte, esta investigación ha estudiado el efecto del PG en los parámetros relacionados con la inflamación para buscar una posible conexión entre el rendimiento deportivo y la fatiga y la modificación de dichos parámetros. Aunque los parámetros de rendimiento no cambian significativamente, el PG muestra un efecto positivo en la IL-6 y la IL-8 en este experimento.

El hecho que la respuesta anti-inflamatoria aumentada post ejercicio ($p < 0,05$) de la IL-6 y la IL-8 (+ 2,07 y + 4,18 pg / mL respectivamente) sea de forma significativa en el grupo intervención posterior al tratamiento, refuerza los resultados encontrados en el anterior experimento donde se observó un incremento de la IL-1RA después de la intervención. Es importante recordar que las realizaciones del test / carrera en ambos experimentos son diferentes y que el tipo de interleucina estimulada depende del tipo de intensidad y duración de la práctica deportiva (Córdova, 2010). Sería importante valorar en futuras investigaciones si estas diferencias tienen implicación en la fatiga o en el rendimiento en carreras, si se ven mantenidas en el tiempo post realización de la actividad y si pueden llegar a influir en la recuperación a largo plazo.

Por último, después de dos semanas de tratamiento con 500mg de PG se ha observado en el grupo intervención una disminución significativa de daño oxidativo proteico, ya que se disminuyeron los niveles de GSA plasmático después de la realización de la carrera (-508 $\mu\text{mol/mol lys}$, $p < 0,05$), esto hallazgos complementan los resultados obtenidos referentes al poder antioxidante del PG valorado a otros niveles (defensa antioxidante y daño primario o secundario) (Tabla 45).

En el mismo sentido se ha observado una disminución significativa de los niveles de daño proteico derivado de glico y lipooxidación (CMC) (-20,98 $\mu\text{mol/mol lys}$, $p < 0,05$) posiblemente como resultado a los cambios en el metabolismo energético producido por el PG durante el tratamiento (Wang et al., 2003)(Hwang et al., 2014).

Es importante recordar que el pensamiento clásico de que la producción de estrés oxidativo juega en contra de la salud del deportista está cambiando, sabemos que ciertos estímulos como el estrés oxidativo puede mejorar los niveles de fuerza en el deportista (Powers et al., 2011). No se debería asegurar que la disminución de los niveles de estrés oxidativo sea especialmente favorecedora en el atleta. Faltan estudios que determinen a qué nivel dichos efectos pueden generar beneficios y a qué niveles perjudicar el rendimiento deportivo o la salud del deportista.

7.6. Conclusiones.

1. La suplementación diaria con 500mg de PG durante dos semanas en hombres que realizan una carrera popular de 10km no varía significativamente el tiempo de carrera ni la percepción de fatiga.
2. Este estudio ha permitido validar que PG disminuye los LT y TG plasmáticos en hombres corredores de fondo. Esta disminución no altera la tipología de los ácidos grasos plasmáticos de los participantes. Estos resultados no se han podido relacionar con el rendimiento deportivo en este estudio.
3. PG aumenta significativamente la respuesta anti-inflamatoria después del ejercicio aumentando los niveles de IL-6 y de IL-8. Estos cambios no se han podido relacionar con la percepción de la fatiga o la recuperación del deportista.
4. PG disminuye significativamente el daño oxidativo proteico directo disminuyendo los niveles de GSA y del daño oxidativo proteico derivado de lipo o glico-oxidación disminuyendo los niveles de CMC después de realizar la carrera. Es posible que estos resultados tengan relación con el discreto efecto negativo encontrado en la fatiga.
5. Las células musculares L6 suplementadas con plasma de los individuos que han ingerido PG reducen significativamente la respiración basal, quizá por mecanismos relacionados con el ahorro energético encontrado en el anterior experimento.

DISCUSIÓN GENERAL

8. Discusión general.

Como hemos comentado al inicio de esta tesis el uso de suplementos (con o sin evidencia científica) por parte de los deportistas ha incrementado día a día, y las ventas en Europa de suplementos superan los \$24,5 billones al año (Gilbert, 2019). Sabemos que los atletas están dispuestos a tomar suplementos o ayudas ergogénicas que faciliten o mejoren sus capacidades deportivas, muy posiblemente, por las promesas de las mejoras en el rendimiento o en la fatiga promovidas, en muchas ocasiones, tanto por la industria comercial como por los mismos profesionales que envuelven al deportista. Actualmente el método científico nos permite apartar a los deportistas de ese mundo de mitos, leyendas, dudas y verdades a medias donde se han visto envueltos. Es momento de que los atletas, especialmente los deportistas *amateurs*, utilicen sustancias solo si son necesarias y si realmente son seguras y poseen beneficios para ellos.

El extracto seco de PG es un suplemento de fitoterapia usado alrededor del mundo en diferentes ámbitos, especialmente en el contexto del deportista ya que según la medicina tradicional china restablece la energía y estimula el sistema (Bucci, 2000; Ping et al., 2011). Se ha estudiado durante muchos años encontrándose un listado interminable de propiedades (Tabla 4, Tabla 6, Tabla 27 y Tabla 45) pero actualmente las propiedades ergogénicas dirigidas al deportista no están del todo bien establecidas, sobre todo por la falta de unanimidad en las pruebas de investigación.

Esta tesis se ha propuesto responder 4 principales cuestiones alrededor de los efectos del PG entendiéndolo como una potencial ayuda ergogénica para deportistas. La primera tiene relación con la actual evidencia científica realizada en humanos. Para ello se ha realizado una serie de revisiones bibliográficas sistemáticas recopilando información que permita clasificar las bondades del extracto. El principal resultado de dicha búsqueda establece que el PG tiene propiedades específicas que envuelven el metabolismo lipídico (Tabla 5 y Tabla 6). Las pruebas de investigación en animales y los diferentes reportes así lo confirman (HMPC, 2014). El meta-análisis elaborado ha concluido que dosis entre 1.5 y 3 g/día pueden reducir los valores plasmáticos de TC y LDL-C (Figura 12).

Las revisiones sistemáticas realizadas no solo han demostrado las bondades del PG, también, han dejado en evidencia uno de los principales problemas alrededor de este suplemento, la falta de estandarización de los productores del extracto, la falta de información publicada por los

investigadores y las inconsistencias alrededor de la seguridad de la ingesta del suplemento han llevado a focalizar el segundo punto importante de esta tesis: establecer un protocolo seguro y con potencial efecto terapéutico en los deportistas.

Después de la realización de pruebas de investigación durante este trabajo, se estableció que una dosis de 500mg de PG durante dos semanas (30% de ginsenósidos del distribuidor Meta Pharmaceutical) reúne los requisitos pertinentes para asegurar su seguridad y su biodisponibilidad. Además, se logró evidenciar que este tratamiento es comparable con los tratamientos realizados en los estudios que han evaluado el metabolismo lipídico en humanos, especialmente con dos de los suplementos mayormente utilizados en las pruebas de investigación: el extracto estandarizado de PG G115 y el extracto del productor Korean Ginseng Corporation.

El tercer objetivo importante de esta tesis fue valorar el efecto de dicha dosis y tiempo de tratamiento en el deportista y en sus capacidades deportivas por medio de una serie de experimentos controlados en laboratorio y en campo. Después de varios experimentos, se observó que el tratamiento con 500mg de extracto seco de PG durante dos semanas permite una disminución de LT y TG plasmáticos después de una ingesta de grasa, además, se observó una disminución de los mismos valores antes de un evento deportivo. Este efecto hipolipemiante se ha observado en animales en diferentes estudios, éstos han relacionado dicho efecto con mejoras en el rendimiento deportivo (Hwang et al., 2014), especialmente por la mejor metabolización de los lípidos durante la realización de la actividad deportiva.

Los experimentos realizados en ambientes controlados (en cinta rodante a una velocidad constante y un RER de 0,94) han permitido relacionar la disminución del consumo de O₂ y la producción de CO₂ (efecto ahorrador de energía) y las mejoras en la percepción del esfuerzo encontrados en dicho test con los resultados obtenidos en relación al metabolismo lipídico plasmático. Por el contrario, no se han podido relacionar ambos efectos con el tiempo de carrera y la fatiga percibida en carreras en campo (carrera popular de 10 km). Los resultados obtenidos en los experimentos en células musculares han demostrado la disminución de la respiración basal de éstas, confirmando que el PG ya sea de forma directa a través de los metabolitos de ginsenósidos, o de forma indirectas a través de los cambios en el perfil lipídico plasmático inducen una reducción en el consumo de O₂.

Por último, PG aparece como un potente regulador del sistema de defensa, aumentando las capacidades de respuesta inflamatoria después del ejercicio y disminuyendo el estrés oxidativo

proteico. Faltan estudios complementarios que permitan establecer las conexiones entre estos dos resultados con el aumento del rendimiento deportivo y la fatiga.

En este punto, todos los resultados explicados en esta tesis se deben analizar con cautela, si se plantea la pregunta inicial: Ginseng, ¿una ayuda ergogénica para corredores?, es evidente que faltan estudios que así lo confirmen, aun así, los resultados encontrados permiten confirmar que el PG tiene un efecto en el metabolismo lipídico, especialmente en la absorción de las grasas y en el consumo de O₂ y producción de CO₂ durante la actividad deportiva moderada. Se recomienda a futuras investigaciones para aclarar si estos cambios tienen un efecto en el rendimiento deportivo, realizar un seguimiento más exhaustivo del voluntario, tomando en consideración variables que puedan afectar de forma aguda y crónica el rendimiento deportivo.

CONCLUSIONES GENERALES

9. Conclusiones generales.

1. El efecto del PG en el metabolismo lipídico en diferentes situaciones fisiológicas es una de las situaciones con mayor evidencia científica en humanos. El meta-análisis realizado en este trabajo ha permitido confirmar que el PG disminuye los niveles de CT y de LDL-C.
2. Una ingesta diaria de 500mg de extracto seco de PG con un 30% de ginsenósidos durante 2 semanas es un tratamiento seguro y con potencial efecto en el metabolismo lipídico.
3. Después de dos semanas de tratamiento, PG disminuye significativamente los LT y TG plasmáticos después de una ingesta de grasa y en condiciones basales después de 2 semanas de tratamiento. Estos cambios en la homeostasis del metabolismo lipídico se podrían relacionar tanto con la absorción de lípidos como con la utilización de grasas durante la práctica deportiva.
4. PG disminuye significativamente el consumo de O₂ y la producción de CO₂ (efecto ahorrador de energía) y la percepción de la fatiga en una prueba a una velocidad constante a un RER de 0,94. Este ahorro en la respiración se ha visto confirmado en una serie de experimentos *ex vivos* realizados con células musculares de rata.
5. Los cambios en el metabolismo lipídico y en variables de rendimiento deportivo no se ven reflejados en el tiempo de carrera y en la percepción de la fatiga en una carrera en campo de 10km en corredores *amateurs*.
6. El aumento significativo de la respuesta anti-inflamatoria producida por el ejercicio (IL-6, IL-8 y IL-1RA) y la disminución significativa del estrés oxidativo proteico (GSA y CMC) encontrados en los experimentos elaborados durante este trabajo, podrían tener efectos positivos a largo plazo en el rendimiento y la fatiga.

BIBLIOGRAFÍA

10. Bibliografía

- Acofarma©, 2019. Grupo Acofarma [WWW Document]. URL <https://www.acofarma.com/>
- Adhyaru, B.B., Jacobson, T.A., 2018. Safety and efficacy of statin therapy. *Nat. Rev. Cardiol.* 15, 757–769. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0098-5>
- Al-kuraishy, H.M., Al-Gareeb, A.I., 2017. Eustress and malondialdehyde (MDA): Role of Panax Ginseng: Randomized, placebo controlled study. *Iran. J. Psychiatry* 12, 194–200.
- Alcázar, R., Casal Acción, B., 2010. Guía de uso de ClinicalTrials.gov.
- Allen, J.D., McLung, J., Nelson, A.G., Welsch, M., 1998. Ginseng supplementation does not enhance healthy young adults' peak aerobic exercise performance. *J. Am. Coll. Nutr.* 17, 462–6.
- Alvero Cruz, J.E. Al, 2009. Protocolo de valoración de la composición corporal para el reconocimiento médico-deportivo. Documento de Consenso del Grupo Español de Cineantropometría de la Federacion Española de Medicina del Deporte. *Arch. Med. del Deport.* 26, 166–179.
- Angel, B.P.L., Pannacci, M., Lucini, V., Dugnani, S., Ciracì, R., Zangara, A., Scaglione, F., 2016. Biochemistry & Pharmacology : Open Access Activity of Panax ginseng C . A . Meyer on Energy Production in Mammals 5. <https://doi.org/10.4172/2167-0501.1000221>
- Argimon, J.M., 2004. Métodos de investigación clínica y epidemiológica: --, Tercera. ed. Madrid.
- Aspíroz, Sancho, M.T., Nuviala Mateo, R.J., 2002. Lipids and Exercise. *Arch. Med. Del Deport.* 317–329.
- Attele, A.S., Wu, J.A., Yuan, C.S., 1999. Ginseng pharmacology: multiple constituents and multiple actions. *Biochem. Pharmacol.* 58, 1685–93. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(99\)00212-9](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(99)00212-9)
- Bach, H.V., Kim, J., Myung, S.K., Cho, Y.A., 2016. Efficacy of ginseng supplements on fatigue and physical performance: A meta-analysis. *J. Korean Med. Sci.* 31, 1879–1886. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.12.1879>

- Bae, E.-A., Han, M.J., Choo, M.-K., Park, S.-Y., Kim, D.-H., 2002. Metabolism of 20(S)- and 20(R)-ginsenoside Rg₃ by human intestinal bacteria and its relation to in vitro biological activities. *Biol. Pharm. Bull.* 25, 58–63.
- Bae, E.-A., Shin, J.-E., Kim, D.-H., 2005. Metabolism of ginsenoside Re by human intestinal microflora and its estrogenic effect. *Biol. Pharm. Bull.* 28, 1903–8.
- Baek, J.H., Heo, J.-Y., Fava, M., Mischoulon, D., Choi, K.W., Na, E.J., Cho, H., Jeon, H.J., 2018a. Effect of Korean red ginseng in individuals exposed to high stress levels: a 6-week, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Ginseng Res.* 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.03.001>
- Baek, J.H., Heo, J.-Y., Fava, M., Mischoulon, D., Choi, K.W., Na, E.J., Cho, H., Jeon, H.J., 2018b. Effect of Korean red ginseng in individuals exposed to high stress levels: a 6-week, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Ginseng Res.* 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.03.001>
- Baek, N.-I., Kim, D., Lee, Y., Park, J., Lee, C., Kim, S., 1996. Ginsenoside Rh₄, A Genuine Dammarane Glycoside from Korean Red Ginseng. *Planta Med.* 62, 86–87.
<https://doi.org/10.1055/s-2006-957816>
- Bahrke, Michael S., Morgan, W.R., 2000. Evaluation of the ergogenic properties of ginseng: an update. *Sports Med.* 29, 113–33. <https://doi.org/10.2165/00007256-199418040-00003>
- Bahrke, M S, Morgan, W.R., 2000. Evaluation of the ergogenic properties of ginseng: an update. *Sports Med.* 29, 113–33.
- Bang, H., Kwak, J.H., Ahn, H.Y., Shin, D.Y., Lee, J.H., 2014. Korean Red Ginseng Improves Glucose Control in Subjects with Impaired Fasting Glucose, Impaired Glucose Tolerance, or Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Med. Food* 17, 128–134.
<https://doi.org/10.1089/jmf.2013.2889>
- Blumenthal, M., 2004. The ABC Clinical Guide to Herbs, *Annals of Saudi Medicine*. King Faisal Specialist Hospital and Research Centre. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2004.149>
- Bouzas Marins, J.C., Ottoline Marins, N.M., Delgado Fernández, M., 2010. Aplicaciones de la frecuencia cardíaca máxima en la evaluación y prescripción de ejercicio. *Apunt. Med. l'Esport* 45, 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.apunts.2010.04.003>

- Braz, A.S., Morais, L.C.S., Paula, A.P., Diniz, M.F.F.M., Almeida, R.N., 2013. Effects of *Panax ginseng* extract in patients with fibromyalgia: A 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 35, 21–28.
<https://doi.org/10.1016/j.rbp.2013.01.004>
- Bucci, L.R., 2000. Selected herbals and human exercise performance. *Am. J. Clin. Nutr.* 72, 624S–36S.
- Burke, L.M., Hawley, J.A., Wong, S.H.S., Jeukendrup, A.E., 2011. Carbohydrates for training and competition. *J. Sports Sci.* 29. <https://doi.org/10.1080/02640414.2011.585473>
- Burkhalter, N., 1996. Evaluación de la escala Borg de esfuerzo percibido aplicada a la rehabilitación cardiaca. *Rev. Lat. Am. Enfermagem* 4, 65–73.
<https://doi.org/10.1590/S0104-11691996000300006>
- Caron, M.F., Hotsko, A.L., Robertson, S., Mandybur, L., Kluger, J., White, C.M., 2002. Electrocardiographic and Hemodynamic Effects of *Panax Ginseng*. *Ann. Pharmacother.* 36, 758–763. <https://doi.org/10.1345/aph.1A411>
- Cepae, B.A., 1999. World health organization OMS, WHO monographs on selected medicinal plants 1, 295.
- Chen, S.-W., Li, X.-H., Ye, K.-H., Jiang, Z.-F., Ren, X.-D., 2004. Total saponins of *Panax notoginseng* protected rabbit iliac artery against balloon endothelial denudation injury. *Acta Pharmacol. Sin.* 25, 1151–6.
- Cheng, L.Q., Ju-Ryun, N., Kim, M.K., Bang, M.H., Yang, D.C., 2007. Microbial conversion of ginsenoside Rb1 to minor ginsenoside F2 and gypenoside XVII by *Intrasporangium* sp. GS603 isolated from soil. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17, 1937–1943.
- Cherdrunsi, P., Rungroeng, K., 1995. Effects of Standardized Ginseng Extract and Exercise Training on Aerobic and Anaerobic Exercise Capacities in Humans. *J. Ginseng Res.* 19, 93–100.
- Chi, H., Kim, D.-H., Ji, G.-E., 2005. Transformation of ginsenosides Rb2 and Rc from *Panax ginseng* by food microorganisms. *Biol. Pharm. Bull.* 28, 2102–5.
- Cho, W.C.S., Chung, W.S., Lee, S.K.W., Leung, A.W.N., Cheng, C.H.K., Yue, K.K.M., 2006.

Ginsenoside Re of Panax ginseng possesses significant antioxidant and antihyperlipidemic efficacies in streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur. J. Pharmacol.* 550, 173–179.

<https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2006.08.056>

Cho, Y.H., Ahn, S.C., Lee, S.Y., Jeong, D.W., Choi, E.J., Kim, Y.J., Lee, J.G., Lee, Y., Omd, B.S., 2013. Effect of Korean red ginseng on insulin sensitivity in non-diabetic healthy overweight and obese adults 22, 365–371. <https://doi.org/10.6133/apjcn.2013.22.3.04>

Choi, H.-K.Y.-J.J.-H., 2003. Penile Blood Change after Oral Medication of Korean Red Ginseng in Erectile Dysfunction Patients. *J. Ginseng Res.* 27, 165–170.

<https://doi.org/10.5142/JGR.2003.27.4.165>

Choi, H., Choi, Y.J., 2001. Evaluation of Clinical Efficacy of Korea Red Ginseng for Erectile Dysfunction by International Index of Erectile Function(IIEF). *J. Ginseng Res.* 25, 112–117.

<https://doi.org/http://dx.doi.org/>

Choi, H., Deuk, C.Y., Ganesan, A.P., Yu, J., 1999. Effectiveness of Korea Red Ginseng in Erectile Dysfunction-Multi-National Approach. *J. Ginseng Res.* 23, 247–256.

Chung, I.-M., Lim, J.-W., Pyun, W.-B., Kim, H.-Y., 2010. Korean Red Ginseng Improves Vascular Stiffness in Patients with Coronary Artery Disease. *J. Ginseng Res.* 34, 212–218.

<https://doi.org/10.5142/jgr.2010.34.3.212>

Chung, S.I., Lo, L.M.P., Lee, S.C., Yi, S.J., Kang, M.Y., 2016. Antihyperlipidemic effects of Korean ginseng in high-fat diet-fed ovariectomized rats. *Food Sci. Biotechnol.* 25, 1155–1161.

<https://doi.org/10.1007/s10068-016-0184-6>

Consejo general de colegios oficiales de Farmaceuticos, 2011. *Catalogo de plantas medicinales, colección de consejo.* Madrid.

Córdova, A., 2010. Immunomodulators for inflammation and muscle injury due to exercise.

Apunt. Med. l'Esport 45, 265–270. <https://doi.org/10.1016/j.apunts.2010.06.002>

Córdova, A., Álvares de Mon, M., 2001. *Inmunidad y deporte.*, Gymnos. ed. Madrid.

Crusellas Losa, A., Isanta, J.R., 2014. *Farmacias Isanta* [WWW Document]. URL

<http://www.farmacias-isanta-lleida.com/es/index.htm>

Cutler, S.J., Cutler, H.G., 1999. *Biological Activity Natural Products: Pharmaceutical.*

- de Andrade, E., de Mesquita, A.A., de Almeida, C.J., de Andrade, P.M., Ortiz, V., Paranhos, M., Srougi, M., Erdogrun, T., 2007a. Study of the efficacy of Korean Red Ginseng in the treatment of erectile dysfunction. *Asian J. Androl.* 9, 241–244. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2007.00210.x>
- de Andrade, E., de Mesquita, A.A., de Almeida, C.J., de Andrade, P.M., Ortiz, V., Paranhos, M., Srougi, M., Erdogrun, T., 2007b. Study of the efficacy of Korean Red Ginseng in the treatment of erectile dysfunction. *Asian J. Androl.* 9, 241–244. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2007.00210.x>
- de la Garza, A.L., Milagro, F.I., Boque, N., Campión, J., Martínez, J.A., 2011. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta Med.* 77, 773–85. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1270924>
- De Souza, L.R., Jenkins, A.L., Jovanovski, E., Rahelić, D., Vuksan, V., 2015. Ethanol extraction preparation of American ginseng (*Panax quinquefolius* L) and Korean red ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer): Differential effects on postprandial insulinemia in healthy individuals. *J. Ethnopharmacol.* 159, 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.10.057>
- Draeger, C.L., Naves, A., Marques, N., Baptistella, A.B., Carnauba, R.A., Paschoal, V., Nicastro, H., 2014. Controversies of antioxidant vitamins supplementation in exercise: Ergogenic or ergolytic effects in humans? *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 11, 2–5. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-11-4>
- EAS, E.A.S., 2007. The use of substances with nutritional or physiological effect other than vitamins and minerals in food supplements.
- EBSCOhost, 2019. Base de datos: CINAHL Plus Title [WWW Document]. URL <http://web.b.ebscohost.com/ehost/search/advanced?vid=13&sid=93586ebe-2eba-4d7f-b373-d17bc0791fbd%40sessionmgr120>
- EL-Farok, D.H.M., EL-Denshry, E.S., Mahmoud, M., Asaaf, N., Emam, M., 2013. Lipid Lowering Effect of Ginseng and Alpha-Lipoic acid in Hypercholesterolemic Patients. *Glob. J. Pharmacol.* 7, 298–306. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjp.2013.7.3.75194>
- Ellis, J.M., Reddy, P., 2002. Effects of *Panax Ginseng* on Quality of Life. *Ann. Pharmacother.* 36, 375–379. <https://doi.org/10.1345/aph.1A245>

- Elsevier B.V., 2019. Scopus® [WWW Document]. <https://www.scopus.com/>. URL <https://www.scopus.com/>
- Engels, H.-J., Said, J.M., Wirth, J.C., 1996. Failure of chronic ginseng supplementation to affect work performance and energy metabolism in healthy adult females. *Nutr. Res.* 16, 1295–1305. [https://doi.org/10.1016/0271-5317\(96\)00138-8](https://doi.org/10.1016/0271-5317(96)00138-8)
- Engels, H.J., Fahlman, Mariane M., T.J., Wirth, J.C., 2003. Effects of Ginseng on Secretory IgA, Performance, and Recovery from Interval Exercise. *Med. Sci. Sport. Exerc.* 35, 690–696. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000058363.23986.D2>
- Engels, H.J., Kolokouri, I., Cieslak, T.J., Wirth, J.C., 2001. Effects of ginseng supplementation on supramaximal exercise performance and short-term recovery. *J. strength Cond. Res.* 15, 290–5.
- Engels, H.J., Wirth, J.C., 1997. No ergogenic effects of ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) during graded maximal aerobic exercise. *J. Am. Diet. Assoc.* 97, 1110–5. [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(97\)00271-X](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(97)00271-X)
- Fagron Iberica, 2014. Grupo Fagron [WWW Document]. URL <http://www.fagron.es/>
- Falholt, K., Lund, B., Falholt, W., 1973. An easy colorimetric micromethod for routine determination of free fatty acids in plasma. *Clin. Chim. Acta* 46, 105–111. [https://doi.org/10.1016/0009-8981\(73\)90016-8](https://doi.org/10.1016/0009-8981(73)90016-8)
- Fernström, M., Bakkman, L., Tonkonogi, M., Shabalina, I.G., Rozhdestvenskaya, Z., Mattsson, C.M., Enqvist, J.K., Ekblom, B., Sahlin, K., 2007. Reduced efficiency, but increased fat oxidation, in mitochondria from human skeletal muscle after 24-h ultraendurance exercise. *J. Appl. Physiol.* 102, 1844–1849. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01173.2006>
- Forgo I, S.G., 1985. The duration of effect of the standardized ginseng extract in healthy competitive athletes. *Nb. medici* 15, 636–640.
- Furukawa, T., Bai, C.-X., Kaihara, A., Ozaki, E., Kawano, T., Nakaya, Y., Awais, M., Sato, M., Umezawa, Y., Kurokawa, J., 2006. Ginsenoside Re, a main phytosterol of *Panax ginseng*, activates cardiac potassium channels via a nongenomic pathway of sex hormones. *Mol. Pharmacol.* 70, 1916–24. <https://doi.org/10.1124/mol.106.028134>

- Garcia-Alvarez, A., Egan, B., de Klein, S., Dima, L., Maggi, F.M., Isoniemi, M., Ribas-Barba, L., Raats, M.M., Meissner, E.M., Badea, M., Bruno, F., Salmenhaara, M., Milà-Villarroel, R., Knaze, V., Hodgkins, C., Marculescu, A., Uusitalo, L., Restani, P., Serra-Majem, L., 2014. Usage of Plant Food Supplements across Six European Countries: Findings from the PlantLIBRA Consumer Survey. *PLoS One* 9, e92265.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092265>
- Gilbert, M., 2019. Us vitamins, minerals and supplements market report. Mintel [WWW Document]. Mintel. URL <https://store.mintel.com/us-vitamins-minerals-and-supplements-market-report>
- Gisbert, J.P., Bonfill, X., Gisbert, J Bonfill, X., 2014. ¿Cómo realizar, evaluar y utilizar revisiones sistemáticas y metaanálisis? *Gastroenterol Hepatol* 27, 129–149.
[https://doi.org/10.1016/S0210-5705\(03\)79110-9](https://doi.org/10.1016/S0210-5705(03)79110-9)
- González, F., 2018. Metapharmaceutical [WWW Document]. URL <http://2.139.229.88:8080/index.php?pagina=pagina.php&sec=2> (accessed 5.24.19).
- González, J.C.G., 2006. AYUDAS ERGOGÉNICAS Y NUTRICIONALES. Badalona, España.
- Gonzalo-Benito, H., 2012. Modulación de vías de señalización celular que controlan el metabolismo energético por compuestos bioactivos presentes en soja y té verde: Implicación para la prevención del síndrome metabólico. Universidad de Lleida.
- Greene, C., Smith, K., 2012. *Nutrition Business Journal*. Business XVIII, 1–6.
- Gross, D., Shenkman, Z., Bleiberg, B., Dayan, M., Gittelsohn, M., Efrat, R., 2002. Ginseng improves pulmonary functions and exercise capacity in patients with COPD. *Monaldi Arch. chest Dis. = Arch. Monaldi per le Mal. del torace* 57, 242–6.
- Gu, Y., Wang, G.-J., Sun, J.-G., Jia, Y.-W., Wang, W., Xu, M.-J., Lv, T., Zheng, Y.-T., Sai, Y., 2009. Pharmacokinetic characterization of ginsenoside Rh2, an anticancer nutrient from ginseng, in rats and dogs. *Food Chem. Toxicol.* 47, 2257–2268.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.06.013>
- Gui, Q.-F., Xu, Z.-R., Xu, K.-Y., Yang, Y.-M., 2016. The Efficacy of Ginseng-Related Therapies in Type 2 Diabetes Mellitus: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 95, e2584. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002584>

- Gupta, R., Ramachandran, R., Venkatesan, P., Anoop, S., Joseph, M., Thomas, N., 2017. Indirect calorimetry: From bench to bedside. *Indian J. Endocrinol. Metab.* 21, 594.
https://doi.org/10.4103/ijem.IJEM_484_16
- Gyllenhaal, C., Merritt, S.L., Peterson, S.D., Block, K.I., Gochenour, T., 2000. Efficacy and safety of herbal stimulants and sedatives in sleep disorders. *Sleep Med. Rev.* 4, 229–251.
<https://doi.org/10.1053/smr.1999.0093>
- Han, J.-S., Sung, J.H., Lee, S.K., 2017. Inhibition of Cholesterol Synthesis in HepG2 Cells by GINST- Decreasing HMG-CoA Reductase Expression Via AMP-Activated Protein Kinase. *J. Food Sci.* 82, 2700–2705. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13828>
- Hassanzadeh Delui, M., Fatehi, H., Manavifar, M., Amini, M., Ghayour-Mobarhan, M., Zahedi, M., Ferns, G., 2013. The effects of Panax ginseng on lipid profile, pro-oxidant: Antioxidant status and high-sensitivity C reactive protein levels in hyperlipidemic patients in Iran. *Int. J. Prev. Med.* 4, 1045–1051.
- Heo, J.H., Lee, S.T., Chu, K., Oh, M.J., Park, H.J., Shim, J.Y., Kim, M., 2008. An open-label trial of Korean red ginseng as an adjuvant treatment for cognitive impairment in patients with Alzheimer’s disease. *Eur. J. Neurol.* 15, 865–868. <https://doi.org/10.1111/j.1468-1331.2008.02157.x>
- Hernández-García, D., Granado-Serrano, A.B., Martín-Gari, M., Naudí, A., Serrano, J.C., 2019. Efficacy of Panax ginseng supplementation on blood lipid profile. A meta-analysis and systematic review of clinical randomized trials. *J. Ethnopharmacol.* 243, 112090.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112090>
- Heyward, V.H., 2008. Evaluación de la aptitud física y prescripción del ejercicio.
- HMPC, C. on H.M.P., 2014. Assessment report on Panax ginseng C. A 44, 1–124.
- Hong, M., Lee, Y.H., Kim, S., Suk, K.T., Bang, C.S., Yoon, J.H., Baik, G.H., Kim, D.J., Kim, M.J., 2016. Anti-inflammatory and antifatigue effect of Korean red ginseng in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Ginseng Res.* 40, 203–210.
<https://doi.org/10.1016/j.jgr.2015.07.006>
- Hwang, H., Kim, J., Park, J., Yun, H., Cheon, W.K., Kim, B., Lee, C.H., Suh, H., Lim, K., 2014. Red ginseng treatment for two weeks promotes fat metabolism during exercise in mice.

Nutrients 6, 1874–1885. <https://doi.org/10.3390/nu6051874>

IAAF, 2018. International Association of Athletics Federations - IAAF - All Rights Reserved. [WWW Document]. URL <https://www.iaaf.org/records/toplists/sprints/100-metres/outdoor/men/senior/2018>

ISO, I.O. for S., 2017. ISO 19610:2017 - Traditional Chinese medicine -- General requirements for industrial manufacturing process of red ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer) [WWW Document]. URL <https://www.iso.org/standard/65462.html> (accessed 1.26.19).

Jäger, R., Kerksick, C.M., Campbell, B.I., Cribb, P.J., Wells, S.D., Skwiat, T.M., Purpura, M., Ziegenfuss, T.N., Ferrando, A.A., Arent, S.M., Smith-Ryan, A.E., Stout, J.R., Arciero, P.J., Ormsbee, M.J., Taylor, L.W., Wilborn, C.D., Kalman, D.S., Kreider, R.B., Willoughby, D.S., Hoffman, J.R., Krzykowski, J.L., Antonio, J., 2017. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Protein and exercise. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 14, 1–25. <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0177-8>

Jiang, Q.-F., Huang, M.-Y., Wu, K.-Y., Weng, J.-L., Deng, R.-G., Xu, X.-J., Xu, J.-P., Jiang, T., 2017. Intervention Effects of Atorvastatin Combined with *Panax notoginseng* Saponins on Rats with Atherosclerosis Complicated with Hepatic Injury. *Pharmacogn. Mag.* 13, 430–438. https://doi.org/10.4103/pm.pm_424_16

Joo, K.M., Lee, J.H., Jeon, H.Y., Park, C.W., Hong, D.K., Jeong, H.J., Lee, S.J., Lee, S.Y., Lim, K.M., 2010. Pharmacokinetic study of ginsenoside Re with pure ginsenoside Re and ginseng berry extracts in mouse using ultra performance liquid chromatography/mass spectrometric method. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 51, 278–283. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.08.013>

Jové, M., Naudí, A., Portero-Otin, M., Cabré, R., Rovira-Llopis, S., Bañuls, C., Rocha, M., Hernández-Mijares, A., Victor, V.M., Pamplona, R., 2014. Plasma lipidomics discloses metabolic syndrome with a specific HDL phenotype. *FASEB J.* 28, 5163–5171. <https://doi.org/10.1096/fj.14-253187>

Jung, D.-H., Lee, Y.-J., Kim, C.-B., Kim, J.-Y., Shin, S.-H., Park, J.-K., 2016. Effects of ginseng on peripheral blood mitochondrial DNA copy number and hormones in men with metabolic syndrome: A randomized clinical and pilot study. *Complement. Ther. Med.* 24, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2015.12.001>

- Jung, H.L., Kwak, H.E., Kim, S.S., Kim, Y.C., Lee, C. Do, Byurn, H.K., Kang, H.Y., 2011. Effects of *Panax ginseng* Supplementation on Muscle Damage and Inflammation after Uphill Treadmill Running in Humans. *Am. J. Chin. Med.* 39, 441–450.
<https://doi.org/10.1142/S0192415X11008944>
- Jung, K., Kim, I.-H., Han, D., 2004. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *J. Ethnopharmacol.* 93, 75–81. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.03.022>
- Kang, J., Lee, N., Ahn, Y., Lee, H., 2013. Study on improving blood flow with korean red ginseng substances using digital infrared thermal imaging and doppler sonography : randomized , double blind , placebo-controlled clinical trial with parallel design. *J. Tradit. Chinese Med.* 33, 39–45.
- Kardinaal, A.F.M., Van Erk, M.J., Dutman, A.E., Stroeve, J.H.M., Van De Steeg, E., Bijlsma, S., Kooistra, T., Van Ommen, B., Wopereis, S., 2015. Quantifying phenotypic flexibility as the response to a high-fat challenge test in different states of metabolic health. *FASEB J.* 29, 4600–4613. <https://doi.org/10.1096/fj.14-269852>
- Karu, N., Reifen, R., Kerem, Z., 2007. Weight gain reduction in mice fed *Panax ginseng* saponin, a pancreatic lipase inhibitor. *J. Agric. Food Chem.* 55, 2824–2828.
<https://doi.org/10.1021/jf0628025>
- Kennedy, D.O., Scholey, A.B., Wesnes, K.A., 2002. Modulation of cognition and mood following administration of single doses of *Ginkgo biloba*, ginseng, and a ginkgo/ginseng combination to healthy young adults. *Physiol. Behav.* 75, 739–51. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(02\)00665-0](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(02)00665-0)
- Kennedy, D.O., Scholey, A.B., Wesnes, K.A., 2001. Dose dependent changes in cognitive performance and mood following acute administration of Ginseng to healthy young volunteers. *Nutr. Neurosci.* 4, 295–310.
- Kerksick, C., Harvey, T., Stout, J., Campbell, B., Wilborn, C., Kreider, R., Kalman, D., Ziegenfuss, T., Lopez, H., Landis, J., Ivy, J.L., Antonio, J., 2008. International society of sports nutrition position stand: Nutrient timing. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 5, 1–12.
<https://doi.org/10.1186/1550-2783-5-17>
- Kiefer, D., Pantuso, T., 2003. *Panax ginseng*. *Am. Fam. Physician* 68, 1539–42.

- Kim, E.O., Cha, K.H., Lee, E.H., Kim, S.M., Choi, S.W., Pan, C.-H., Um, B.-H., 2014. Bioavailability of ginsenosides from white and red ginsengs in the simulated digestion model. *J. Agric. Food Chem.* 62, 10055–63. <https://doi.org/10.1021/jf500477n>
- Kim, H.-G., Cho, J.-H., Yoo, S.-R., Lee, J.-S., Han, J.-M., Lee, N.-H., Ahn, Y.-C., Son, C.-G., 2013. Antifatigue Effects of Panax ginseng C.A. Meyer: A Randomised, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *PLoS One* 8, e61271. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061271>
- Kim, H.-G., Yoo, S.-R., Park, H.-J., Lee, N.-H., Shin, J.-W., Sathyanath, R., Cho, J.-H., Son, C.-G., 2011. Antioxidant effects of Panax ginseng C.A. Meyer in healthy subjects: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *Food Chem. Toxicol.* 49, 2229–2235. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.020>
- Kim, H.J., Kang, H.J., Seo, J.Y., Lee, C.H., Kim, Y.-S., Kim, J.-S., 2011. Antiobesity effect of oil extract of ginseng. *J. Med. Food* 14, 573–83. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.1313>
- Kim, J.Y., Park, J.Y., Kang, H.J., Kim, O.Y., Lee, J.H., 2012. Beneficial effects of Korean red ginseng on lymphocyte DNA damage, antioxidant enzyme activity, and LDL oxidation in healthy participants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr. J.* 11, 47. <https://doi.org/10.1186/1475-2891-11-47>
- Kim, Ji Hyun, Hahm, D.H., Yang, D.C., Kim, Jang Hyun, Lee, H.J., Shim, I., 2005. Effect of crude saponin of Korean red ginseng on high-fat diet-induced obesity in the rat. *J. Pharmacol. Sci.* 97, 124–31.
- Kim, S.H., Park, K.S., 2003. Effects of Panax ginseng extract on lipid metabolism in humans. *Pharmacol. Res.* 48, 511–513. [https://doi.org/10.1016/S1043-6618\(03\)00189-0](https://doi.org/10.1016/S1043-6618(03)00189-0)
- Kim, S.Y., Seo, S.K., Choi, Y.M., Jeon, Y.E., Lim, K.J., Cho, S., Choi, Y.S., Lee, B.S., 2012. Effects of red ginseng supplementation on menopausal symptoms and cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *Menopause* 19, 461–466. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3182325e4b>
- Kim, W.Y., Kim, J.M., Han, S.B., Lee, S.K., Kim, N.D., Park, M.K., Kim, C.K., Park, J.H., 2000. Steaming of ginseng at high temperature enhances biological activity. *J. Nat. Prod.* 63, 1702–4.
- Kim, Y.-J., Zhang, D., Yang, D.-C., 2015. Biosynthesis and biotechnological production of

ginsenosides. *Biotechnol. Adv.* 33, 717–735.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.03.001>

Kitts, D., Hu, C., 2000. Efficacy and safety of ginseng. *Public Health Nutr.* 3, 473–485.
<https://doi.org/10.1017/S1368980000000550>

Kreider, R.B., Wilborn, C.D., Taylor, L., Campbell, B., Almada, A.L., Collins, R., Cooke, M., Earnest, C.P., Greenwood, M., Kalman, D.S., Kerksick, C.M., Kleiner, S.M., Leutholtz, B., Lopez, H., Lowery, L.M., Mendel, R., Smith, A., Spano, M., Wildman, R., Willoughby, D.S., Ziegenfuss, T.N., Antonio, J., 2010. ISSN exercise & sport nutrition review: research & recommendations. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* 7, 7. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-7-7>

Kulaputana, O., Thanakomsirichot, S., Anomasiri, W., 2007. Ginseng supplementation does not change lactate threshold and physical performances in physically active Thai men. *J. Med. Assoc. Thai.* 90, 1172–9.

Kwon, D.H., Bose, S., Song, M.Y., Lee, M.J., Lim, C.Y., Kwon, B.S., Kim, H.J., 2012. Efficacy of Korean Red Ginseng by Single Nucleotide Polymorphism in Obese Women: Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial. *J Ginseng Res* 36, 176–189.
<https://doi.org/10.5142/jgr.2012.36.2.176> [pii]

Kyo, S., Hong, Y., Hyon, B., Joo, S., Soo, Y., Hyun, J., Cho, S., Sik, Y., Seok, B., 2014. Antioxidative effects of Korean red ginseng in postmenopausal women : A double-blind randomized controlled trial. *J. Ethnopharmacol.* 154, 753–757.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.04.051>

Lee, Jayeul, Lee, E., Kim, D., Lee, Junhee, Yoo, J., Koh, B., 2009. Studies on absorption, distribution and metabolism of ginseng in humans after oral administration. *J. Ethnopharmacol.* 122, 143–8. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.12.012>

Lee, K J, Ji, G.E., 2014. The effect of fermented red ginseng on depression is mediated by lipids. *Nutr. Neurosci.* 17, 7–15. <https://doi.org/10.1179/1476830513Y.0000000059>

Lee, Kwang Jo, Ji, G.E., 2014. Free-fatty-acid-regulating effects of fermented red ginseng are mediated by hormones and by the autonomic nervous system. *J. Ginseng Res.* 38, 97–105.
<https://doi.org/10.1016/j.jgr.2013.12.003>

Lee, K.J., Lee, S.Y., Ji, G.E., 2013. Diabetes-Ameliorating Effects of Fermented Red Ginseng and

- Causal Effects on Hormonal Interactions: Testing the Hypothesis by Multiple Group Path Analysis. *J. Med. Food* 16, 383–395. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.2583>
- Lee, N., Son, C., 2011. Systematic review of randomized controlled trials evaluating the efficacy and safety of ginseng. *J. Acupunct. Meridian Stud.* 4, 85–97.
- Lee, S.-T., Chu, K., Sim, J.-Y., Heo, J.-H., Kim, M., 2008. Panax ginseng enhances cognitive performance in Alzheimer disease. *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.* 22, 222–6. <https://doi.org/10.1097/WAD.0b013e31816c92e6>
- Leung, K., Wong, A., 2010. Pharmacology of ginsenosides: a literature review. *Chin. Med.* 5, 20. <https://doi.org/10.1186/1749-8546-5-20>
- Li, H., Zhou, M., Zhao, A., Jia, W., 2009. Traditional Chinese medicine: balancing the gut ecosystem. *Phyther. Res.* 23, 1332–1335. <https://doi.org/10.1002/ptr.2590>
- Li, L., Sheng, Y.-X., Zhang, J.-L., Wang, S.-S., Guo, D.-A., 2006. High-performance liquid chromatographic assay for the active saponins from Panax notoginseng in rat tissues. *Biomed. Chromatogr.* 20, 327–335. <https://doi.org/10.1002/bmc.567>
- Li, X., Wang, G., Sun, J., Hao, H., Xiong, Y., Yan, B., Zheng, Y., Sheng, L., 2007. Pharmacokinetic and absolute bioavailability study of total panax notoginsenoside, a typical multiple constituent traditional chinese medicine (TCM) in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 30, 847–51.
- Lim, W., Mudge, K.W., Vermeulen, F., 2005. Effects of Population, Age, and Cultivation Methods on Ginsenoside Content of Wild American Ginseng (*Panax quinquefolium*). *J. Agric. Food Chem.* 53, 8498–8505. <https://doi.org/10.1021/jf051070y>
- Liu, J., Wang, Y., Qiu, L., Yu, Y., Wang, C., 2014. Saponins of Panax notoginseng : chemistry, cellular targets and therapeutic opportunities in cardiovascular diseases. *Expert Opin. Investig. Drugs* 23, 523–539. <https://doi.org/10.1517/13543784.2014.892582>
- Liu, L., Huang, J., Hu, X., Li, K., Sun, C., 2011. Simultaneous determination of ginsenoside (G-Re, G-Rg1, G-Rg2, G-F1, G-Rh1) and protopanaxatriol in human plasma and urine by LC–MS/MS and its application in a pharmacokinetics study of G-Re in volunteers. *J. Chromatogr. B* 879, 2011–2017. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.05.018>
- Ma, S.W., Benzie, I.F.F., Chu, T.T.W., Fok, B.S.P., Tomlinson, B., Critchley, L.A.H., 2008. Effect of

Panax ginseng supplementation on biomarkers of glucose tolerance, antioxidant status and oxidative stress in type 2 diabetic subjects: Results of a placebo-controlled human intervention trial. *Diabetes, Obes. Metab.* 10, 1125–1127. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2008.00858.x>

Mancuso, C., Santangelo, R., 2017. Panax ginseng and Panax quinquefolius : From pharmacology to toxicology. *Food Chem. Toxicol.* 107, 362–372. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.019>

Marqueta, P.M., Franco, L., José, B., Orellana, N., 2016. Pruebas de esfuerzo en medicina del deporte. Documento de consenso de la Sociedad Española de Medicina del Deporte (SEMED-FEMEDE). *Arch. medicina del Deporte.* 33, 5–83.

Martín Rodero, H., 2014. La búsqueda bibliográfica, pilar fundamental de la medicina basada en la evidencia: evaluación multivariante de las enfermedades nutricionales y metabólicas. Alicante.

Matsuura, H., Kasai, R., Tanaka, O., Saruwatari, Y., Kunihiro, K., Fuwa, T., 1982. Further Studies on Dammarane-Saponins of American Ginseng, Roots of Panax quinquefolium L. *Chem. Pharm. Bull.* 30, 1188–1192.

Maughan, R.J., Burke, L.M., Dvorak, J., Larson-Meyer, D.E., Peeling, P., Phillips, S.M., Rawson, E.S., Walsh, N.P., Garthe, I., Geyer, H., Meeusen, R., van Loon, L., Shirreffs, S.M., Spriet, L.L., Stuart, M., Vernec, A., Currell, K., Ali, V.M., Budgett, R.G.M., Ljungqvist, A., Mountjoy, M., Pitsiladis, Y., Soligard, T., Erdener, U., Engebretsen, L., 2018. IOC Consensus Statement: Dietary Supplements and the High-Performance Athlete. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* 28, 104–125. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.2018-0020>

Maughan, R.J., Depiesse, F., Geyer, H., 2007. The use of dietary supplements by athletes. *J. Sports Sci.* 25, 103–113. <https://doi.org/10.1080/02640410701607395>

Mcardle, W.D., Katch, F.I., Katch, V.L., 2004. Transferencia energética durante el ejercicio en el ser humano. *Fundam. Fisiol. del Ejerc.* 128–146.

Mohanan, P., Subramaniyam, S., Mathiyalagan, R., Yang, D.C., 2018. Molecular signaling of ginsenosides Rb1, Rg1, and Rg3 and their mode of actions. *J. Ginseng Res.* 42, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.01.008>

Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., Grp, P., 2009. Preferred Reporting Items for

Systematic Reviews and Meta-Analyses: The PRISMA Statement (Reprinted from *Annals of Internal Medicine*). *Phys. Ther.* 89, 873–880.

<https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097>

Moraño, I., 2019. Carrera Pujada a la Seu Vella [WWW Document]. URL

<https://www.pujadaseuvella.com/història/> (accessed 6.3.19).

Morgan, W., 1973. Psychological factors influencing perceived exertion. *J. Med. Sci. Sport. Exerc.* 5, 98.

Mullane, K., Enna, S.J., Piette, J., Williams, M., 2015. Guidelines for manuscript submission in the peer-reviewed pharmacological literature. *Biochem. Pharmacol.* 97, 225–235.

<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.06.023>

Nakajima, S., Uchiyama, Y., Yoshida, K., Mizukawa, H., Haruki, E., 1998. The Effects of Ginseng Radix Rubra on Human Vascular Endothelial Cells. *Am. J. Chin. Med.* 26, 365–373.

<https://doi.org/10.1142/S0192415X98000403>

Nakamura, N., Uzawa, H., Maeda, H., Inomoto, T., 1983. Physical fitness. Its contribution to serum high density lipoprotein. *Atherosclerosis* 48, 173–83.

Naudi, A., Portero-Otin, M., Pamplona, R., 2014. Estrés oxidativo, inflamación y envejecimiento., in: *Tratado de Medicina Geriátrica*. Elsevier, Barcelona, Spain. pp. 114–124.

Nestor, L., Roberts, G., Garavan, H., Hester, R., 2008. Deficits in learning and memory:

Parahippocampal hyperactivity and frontocortical hypoactivity in cannabis users.

Neuroimage 40, 1328–1339. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2007.12.059>

O’Keefe, J.H., DiNicolantonio, J.J., PharmD, Carl J. Lavie, M., 2016. Statins, Ezetimibe, and Proprotein Convertase Subtilisin–kexin Type 9 (PCSK9) inhibitors to Reduce Low-Density Lipoprotein-Cholesterol and Cardiovascular Events. *Am. J. Cardiol.* 9.

<https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.11.001>

Oh, M., Park, S., Kim, S., Back, H., Kim, M., Jeon, J., Ha, K., Na, W., Cha, Y., Park, B., Park, T., Chae, S., 2014. Postprandial glucose-lowering effects of fermented red ginseng in subjects with impaired fasting glucose or type 2 diabetes : a randomized , double-blind , placebo-controlled clinical trial 1–7. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-237>

- Paek, I.B., Moon, Y., Kim, J., Ji, H.Y., Kim, S.A., Sohn, D.H., Kim, J.B., Lee, H.S., 2006. Pharmacokinetics of a ginseng saponin metabolite compound K in rats. *Biopharm. Drug Dispos.* 27, 39–45. <https://doi.org/10.1002/bdd.481>
- Palacios, G., Pedrero-Chamizo, R., Palacios, N., Maroto-Sánchez, Beatriz Aznar, S., González-Gross, M., 2015. Biomarcadores de la actividad física y del deporte. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 21 (Supl., 235–242. <https://doi.org/10.14642/RENC.2015.21.sup1.5070>
- Park, B.-J., Lee, Y.-J., Lee, H.-R., Jung, D.-H., Na, H.-Y., Kim, H.-B., Shim, J.-Y., 2012. Effects of Korean Red Ginseng on Cardiovascular Risks in Subjects with Metabolic Syndrome: a Double-blind Randomized Controlled Study. *Korean J. Fam. Med.* 33, 190. <https://doi.org/10.4082/kjfm.2012.33.4.190>
- Park, K.-H., Shin, H.-J., Song, Y.-B., Hyun, H.-C., Cho, H.-J., Ham, H.-S., Yoo, Y.-B., Ko, Y.-C., Jun, W.-T., Park, H.-J., 2002. Possible Role of Ginsenoside Rb1 on Regulation of Rat Liver Triglycerides. *Biol. Pharm. Bull.* 25, 457–460. <https://doi.org/10.1248/bpb.25.457>
- Patterson, S., Moran, P., Epel, E., Sinclair, E., Kemeny, M.E., Deeks, S.G., Bacchetti, P., Acree, M., Epling, L., Kirschbaum, C., Hecht, F.M., 2013. Cortisol patterns are associated with T cell activation in HIV. *PLoS One* 8, e63429. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063429>
- Peake, J., Nosaka, K., Suzuki, K., 2005. Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exerc. Immunol. Rev.* 11, 64–85.
- Pedersen, B.K., Steensberg, A., Fischer, C., Keller, C., Ostrowski, K., Schjerling, P., 2001. Exercise and cytokines with particular focus on muscle-derived IL-6. *Exerc. Immunol. Rev.* 7, 18–31.
- PEFS, 2007. *Guía de prescripción del ejercicio físico para la salud*. Barcelona.
- Perism, J., Stubing, G., Vanaclocha, B., 1995. *Fitoterapia Aplicada*, 1ra ed. Valencia, España.
- Péronnet, F., Massicotte, D., 1991. Table of nonprotein respiratory quotient: an update. *Can. J. Sport Sci.* 16, 23–9.
- Perrier, S., Darakhshan, F., Hajduch, E., 2006. IL-1 receptor antagonist in metabolic diseases: Dr Jekyll or Mr Hyde? *FEBS Lett.* 580, 6289–6294. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.10.061>
- Perry, A., Shaw, M., Hsia, L., Nash, M., Kaplan, T., Signorile, J., Appleyate, B., 1992. Plasma Lipid

- Levels in Active and Sedentary Premenopausal Females. *Int. J. Sports Med.* 13, 210–215.
<https://doi.org/10.1055/s-2007-1021255>
- Pharmacopeia, C., 2010. *Pharmacopeia of the People's Republic of China*. China Med. Sci. Publ. Beijing 1, 8.
- PhEur, E.P., 2013. *Monograph on Panax Ginseng* CA Meyer.
- Ping, F.W.C., Keong, C.C., Bandyopadhyay, A., 2011. Effects of acute supplementation of Panax ginseng on endurance running in a hot & humid environment. *J. Hum. Ergol. (Tokyo)*. 40, 63–72. <https://doi.org/25665208>
- Pitel, A.L., Chanraud, S., Rohlfing, T., Pfefferbaum, A., Sullivan, E. V., 2012. Face-Name Association Learning and Brain Structural Substrates in Alcoholism. *Alcohol. Clin. Exp. Res.* 36, 1171–1179. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01731.x>
- Powers, S.K., Jackson, M.J., 2008. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiol. Rev.* 88, 1243–76.
<https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Powers, S.K., Nelson, W.B., Hudson, M.B., 2011. Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radic. Biol. Med.* 51, 942–950.
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009>
- Prieto Andreu, J., 2017. Sport experience, anxiety and motivation in popular runners | Experiencia deportiva, ansiedad y motivación en corredores populares. *Cuad. Psicol. del Deport.* 17, 51–58.
- Puigianer, J.M., 1995. *Red Ginseng, Monografía Científica, Korea Rese.* ed. El Hospitalet de Llobregat.
- Qi, L.-W., Wang, C.-Z., Du, G.-J., Zhang, Z.-Y., Calway, T., Yuan, C.-S., 2011. Metabolism of ginseng and its interactions with drugs. *Curr. Drug Metab.* 12, 818–22.
- Qian, T., Jiang, Z.-H., Cai, Z., 2006. High-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry applied for metabolic study of ginsenoside Rb1 on rat. *Anal. Biochem.* 352, 87–96. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2006.02.025>
- Reay, J.L., Scholey, A.B., Kennedy, D.O., 2010. Panax ginseng (G115) improves aspects of working

- memory performance and subjective ratings of calmness in healthy young adults. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* 25, 462–471. <https://doi.org/10.1002/hup.1138>
- Reid, M.B., Khawli, F.A., Moody, M.R., 1993. Reactive oxygen in skeletal muscle. III. Contractility of unfatigued muscle. *J. Appl. Physiol.* 75, 1081–1087. <https://doi.org/10.1152/jappl.1993.75.3.1081>
- Rhee, M.-Y., Kim, Y.-S., Bae, J.-H., Nah, D.-Y., Kim, Y.-K., Lee, M.-M., Kim, H.-Y., 2011. Effect of Korean red ginseng on arterial stiffness in subjects with hypertension. *J. Altern. Complement. Med.* 17, 45–49. <https://doi.org/10.1097/01.hjh.0000383816.92072.4f>
- Ruben Oviedo, G., 2014. *Componentes de la Condición Física*. Barcelona.
- Runedia, 2018. Estadística XXXVIII Pujada a la Seu Vella Runedia [WWW Document]. URL <https://runedia.mundodeportivo.com/carrera/xxxviii-pujada-a-la-seu-vella-lleida-2018/20180298/> (accessed 6.3.19).
- Ryu, J.-H., Park, J.-H., Eun, J.-H., Jung, J.-H., Sohn, D.H., 1997. A dammarane glycoside from Korean red ginseng. *Phytochemistry* 44, 931–933. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(96\)00661-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(96)00661-9)
- Santos, J.L., Almada, M.C., Smalley, S. V., 2013. Interleuquina-6 en la regulación de la ingesta energética post-ejercicio físico. *Rev Chil Nutr* 40, 174–180.
- Senchina, D.S., Shah, N.B., Doty, D.M., Sanderson, C.R., Hallam, J.E., 2009. Herbal supplements and athlete immune function--what's proven, disproven, and unproven? *Exerc. Immunol. Rev.* 15, 66–106.
- Shergis, J.L., Di, Y.M., Zhang, A.L., Vlahos, R., Helliwell, R., Ye, J.M., Xue, C.C., 2014. Therapeutic potential of Panax ginseng and ginsenosides in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Complement. Ther. Med.* 22, 944–953. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2014.08.006>
- Shergis, J.L., Zhang, A.L., Zhou, W., Xue, C.C., 2013. Panax ginseng in randomised controlled trials: a systematic review. *Phytother Res* 27, 949–965. <https://doi.org/10.1002/ptr.4832>
- Shibata, S., Tanaka, O., Nagai, M., Ishii, T., 1963. Studies on the constituents of Japanese and Chinese crude drugs. XII. Panaxadiol, a sapogenin of Ginseng roots. *Chem. Pharm. Bull.*

(Tokyo). 11, 762–5.

- Shin, S.-K., Kwon, J.-H., Jeong, Y.-J., Jeon, S.-M., Choi, J.-Y., Choi, M.-S., 2011. Supplementation of Cheonggukjang and Red Ginseng Cheonggukjang Can Improve Plasma Lipid Profile and Fasting Blood Glucose Concentration in Subjects with Impaired Fasting Glucose. *J. Med. Food* 14, 108–113. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.1366>
- Shin, Y.-W., Bae, E.-A., Kim, D.-H., 2006. Inhibitory effect of ginsenoside Rg5 and its metabolite ginsenoside Rh3 in an oxazolone-induced mouse chronic dermatitis model. *Arch. Pharm. Res.* 29, 685–90.
- Sievenpiper, J., Sung, M., Di Buono, M., Seung-Lee, K., Nam, K., JT, A., 2006. Korean red ginseng rootlets decrease acute postprandial glycemia: results from sequential preparation-and dose-finding studies. *J. Am Coll Nutr* 25, 100–7.
- So, S.-H., Lee, J.W., Kim, Y.-S., Hyun, S.H., Han, C.-K., 2018. Red ginseng monograph. *J. Ginseng Res.* 42, 549–561. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.05.002>
- So, S.H., Lee, J.W., Kim, Y.S., Hyun, S.H., Han, C.K., 2018. Red ginseng monograph. *J. Ginseng Res.* 42, 549–561. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.05.002>
- Sobal, J., Marquart, L.F., 1994. Vitamin/mineral supplement use among athletes: a review of the literature. *Int. J. Sport Nutr.* 4, 320–34.
- Song, Y.B., An, Y.R., Kim, S.J., Park, H.W., Jung, J.W., Kyung, J.S., Hwang, S.Y., Kim, Y.S., 2012. Lipid metabolic effect of Korean red ginseng extract in mice fed on a high-fat diet. *J. Sci. Food Agric.* 92, 388–396. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4589>
- Steinach, M., Gunga, H.C., 2014. *Exercise Physiology, Human Physiology in Extreme Environments*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386947-0.00003-4>
- Sung, J., Han, K.-H., Zo, J.-H., Park, H.-J., Kim, C.-H., Oh, B.-H., 2000. Effects of Red Ginseng upon Vascular Endothelial Function in Patients with Essential Hypertension. *Am. J. Chin. Med.* 28, 205–216. <https://doi.org/10.1142/S0192415X00000258>
- Sureda, A., Mestre-Alfaro, A., Banquells, M., Riera, J., Drobnic, F., Camps, J., Joven, J., Tur, J.A., Pons, A., 2015. Exercise in a hot environment influences plasma anti-inflammatory and antioxidant status in well-trained athletes. *J. Therm. Biol.* 47, 91–98.

<https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2014.11.011>

- Thomas, D.T., Erdman, K.A., Burke, L.M., 2016. Nutrition and Athletic Performance. *Med. Sci. Sport. Exerc.* 48, 543–568. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000852>
- Thompson Coon, J., Ernst, E., 2002. Panax ginseng: A Systematic Review of Adverse Effects and Drug Interactions. *Drug Saf.* 25, 323–344.
- Torgerson, J.S., Hauptman, J., Boldrin, M.N., Sjostrom, L., 2004. XENical in the Prevention of Diabetes in Obese Subjects (XENDOS) Study: A randomized study of orlistat as an adjunct to lifestyle changes for the prevention of type 2 diabetes in obese patients. *Diabetes Care* 27, 155–161. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.1.155>
- Trautwein, E.A., Koppenol, W.P., de Jong, A., Hiemstra, H., Vermeer, M.A., Noakes, M., Luscombe-Marsh, N.D., 2018. Plant sterols lower LDL-cholesterol and triglycerides in dyslipidemic individuals with or at risk of developing type 2 diabetes; a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutr. Diabetes* 8, 30. <https://doi.org/10.1038/s41387-018-0039-8>
- Viner, R.M., Hsia, Y., Tomsic, T., Wong, I.C.K., 2009. Efficacy and safety of anti-obesity drugs in children and adolescents: systematic review and meta-analysis. *Obes. Rev.* 11, 593–602. <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2009.00651.x>
- Voces, J., Alvarez, A.I., Vila, L., Ferrando, A., Cabral de Oliveira, C., Prieto, J.G., 1999. Effects of administration of the standardized Panax ginseng extract G115 on hepatic antioxidant function after exhaustive exercise. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* 123, 175–84.
- Vuksan, V., Sung, M.-K., Sievenpiper, J.L., Stavro, P.M., Jenkins, A.L., Di Buono, M., Lee, K.-S., Leiter, L. a, Nam, K.Y., Arnason, J.T., Choi, M., Naeem, A., 2008. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 18, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2006.04.003>
- WADA, 2019. World Anti-Doping Agency (WADA) [WWW Document]. URL <https://www.wada-ama.org/> (accessed 6.7.19).
- Wang, B.X., Zhou, Q.L., Yang, M., Wang, Y., Cui, Z.Y., Liu, Y.Q., Ikejima, T., 2003. Hypoglycemic

mechanism of ginseng glycopeptide. *Acta Pharmacol Sin* 24, 61–66.

- Wang, H.-Y., Qi, L.-W., Wang, C.-Z., Ping, L., 2011. Bioactivity Enhancement of Herbal Supplements by Intestinal Microbiota Focusing on the Ginsenosides. *Am J Chin Med.* 39, 1103–1115. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.182>.doi
- Wang, J., Li, S., Fan, Y., Chen, Y., Liu, D., Cheng, H., Gao, X., Zhou, Y., 2010. Anti-fatigue activity of the water-soluble polysaccharides isolated from *Panax ginseng* C. A. Meyer. *J. Ethnopharmacol.* 130, 421–3. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.027>
- Wang, M., Chen, Y., Xiong, Z., Yu, S., Zhou, B., Ling, Y., Zheng, Z., Shi, G., Wu, Y., Qian, X., 2017. Ginsenoside Rb1 inhibits free fatty acids-induced oxidative stress and inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *Mol. Med. Rep.* 16, 9165–9172. <https://doi.org/10.3892/mmr.2017.7710>
- Wang, W., Wang, G.-J., Xie, H.-T., Sun, J.-G., Zhao, S., Jiang, X., Li, H., Lv, H., Xu, M.-J., Wang, R., 2007. Determination of ginsenoside Rd in dog plasma by liquid chromatography–mass spectrometry after solid-phase extraction and its application in dog pharmacokinetics studies. *J. Chromatogr. B* 852, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2006.12.046>
- Wang, Y., Wang, B.X., Liu, T.H., Minami, M., Nagata, T., Ikejima, T., 2000. Metabolism of ginsenoside Rg1 by intestinal bacteria. II. Immunological activity of ginsenoside Rg1 and Rh1. *Acta Pharmacol. Sin.* 21, 792–6.
- Wang, Z., Zhang, H., 2012. Antidiabetic Effects of Ginseng in Humans and Rodents. *J. Metab. Syndr.* 01, 1–7. <https://doi.org/10.4172/2167-0943.1000106>
- Weineck, J., 2005. Entrenamiento total.
- Wikiloc, ©, 2018a. Pujada a la Seu Vella Lleida, 10km [WWW Document]. URL <https://es.wikiloc.com/rutas-carrera/pujada-a-la-seu-vella-lleida-2015-11689524>
- Wikiloc, ©, 2018b. Cursa Sant Silvestre Lleida, 10 Km [WWW Document]. URL <https://es.wikiloc.com/rutas-carrera/cursa-sant-silvestre-lleida-10-km-4030157>
- William, D., McArdle, F.I., Katch, V.L., Katch, 2010. *Exercise Physiology: Nutrition, Energy, and Human Performance.*
- Wood, P., Haskell, W., Stern, M., Lewis, S., Perry, C., 1977. Plasma lipoprotein distributions in male and female runners. *Ann N Y Acad Sci.* 301, 63.

- Xiang, Y.-Z., Shang, H.-C., Gao, X.-M., Zhang, B.-L., 2008. A Comparison of the ancient use of ginseng in traditional Chinese medicine with modern pharmacological experiments and clinical trials. *Phyther. Res.* 22, 851–858. <https://doi.org/10.1002/ptr.2384>
- Xie, H.-T., Wang, G.-J., Sun, J.-G., Tucker, I., Zhao, X.-C., Xie, Y.-Y., Li, H., Jiang, X., Wang, R., Xu, M.-J., Wang, W., 2005. High performance liquid chromatographic–mass spectrometric determination of ginsenoside Rg3 and its metabolites in rat plasma using solid-phase extraction for pharmacokinetic studies. *J. Chromatogr. B* 818, 167–173. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2004.12.028>
- Yang, H., Lee, D.Y., Kang, K. Bin, Kim, J.Y., Kim, S.O., Yoo, Y.H., Sung, S.H., 2015. Identification of ginsenoside markers from dry purified extract of *Panax ginseng* by a dereplication approach and UPLC-QTOF/MS Analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 109, 91–104. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.02.034>
- Yang, L., Deng, Y., Xu, S., Zeng, X., 2007. In vivo pharmacokinetic and metabolism studies of ginsenoside Rd. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 854, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.04.014>
- Yang, L., Xu, S., Liu, C., Su, Z., 2009a. In vivo metabolism study of ginsenoside Re in rat using high-performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 395, 1441–1451. <https://doi.org/10.1007/s00216-009-3121-1>
- Yang, L., Xu, S., Wu, Z., Liu, Y.-M., Zeng, X., 2009b. Determination of ginsenoside-Rg 1 in human plasma and its application to pharmacokinetic studies following intravenous administration of ‘Shenmai’ injection. *Phyther. Res.* 23, 65–71. <https://doi.org/10.1002/ptr.2558>
- Yang, M., Lee, H.-S., Hwang, M.-W., Jin, M., 2014. Effects of Korean red ginseng (*Panax Ginseng Meyer*) on bisphenol A exposure and gynecologic complaints: single blind, randomized clinical trial of efficacy and safety. *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 265. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-265>
- Yeh, T.-S., Chan, K.-H., Hsu, M.-C., Liu, J.-F., 2011. Supplementation with soybean peptides, taurine, Pueraria isoflavone, and ginseng saponin complex improves endurance exercise capacity in humans. *J. Med. Food* 14, 219–25. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.1096>
- Yoon, M., Lee, H., Jeong, S., Kim, J.J., Nicol, C.J., Nam, K.W., Kim, M., Cho, B.G., Oh, G.T., 2003.

- Peroxisome proliferator-activated receptor is involved in the regulation of lipid metabolism by ginseng. *Br. J. Pharmacol.* 138, 1295–1302. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705169>
- Yoon, S., Kim, K., Kim, C., Park, H., Kang, K., Kim, M., Kang, S., Kwak, U.H., Kim, H., 2008. Effects of red ginseng supplementation on aerobic/anaerobic performance, central and peripheral fatigue. *J. Ginseng Res.* 32, 210–219. <https://doi.org/10.5142/jgr.2008.32.3.210>
- Yu, K., Chen, F., Li, C., 2012. Absorption, disposition, and pharmacokinetics of saponins from Chinese medicinal herbs: what do we know and what do we need to know more? *Curr. Drug Metab.* 13, 577–98.
- Zhang, Hong-mei, Li, S., Zhang, Hong, Wang, Y., Zhao, Z., Chen, S., Xu, H., 2012. Holistic quality evaluation of commercial white and red ginseng using a UPLC-QTOF-MS / MS-based metabolomics approach. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 62, 258–273. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.01.010>
- Zhou, L., Zheng, Y., Li, Z., Bao, L., Dou, Y., Tang, Y., Zhang, J., Zhou, J., Liu, Y., Jia, Y., Li, X., 2016. Compound K attenuates the development of atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice via LXR α activation. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms17071054>
- Zhou, W., Chai, H., Lin, P.H., Lumsden, A.B., Yao, Q., Chen, C., 2005. Ginsenoside Rb1 blocks homocysteine-induced endothelial dysfunction in porcine coronary arteries. *J. Vasc. Surg.* 41, 861–8. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2005.01.054>
- Ziemba, A.W., Chmura, J., Kaciuba-Uscilko, H., Nazar, K., Wisnik, P., Gawronski, W., 1999. Ginseng treatment improves psychomotor performance at rest and during graded exercise in young athletes. *Int. J. Sport Nutr.* 9, 371–7.

ANEXOS

11. Anexos

Anexo 1: Check List del artículo “Efficacy of Panax ginseng supplementation on blood lipid profile. A meta-analysis and systematic review of clinical randomised trials.”

PRISMA 2009 Checklist

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
TITLE			
Title	1	Identify the report as a systematic review, meta-analysis, or both.	1
ABSTRACT			
Structured summary	2	Provide a structured summary including, as applicable: background; objectives; data sources; study eligibility criteria, participants, and interventions; study appraisal and synthesis methods; results; limitations; conclusions and implications of key findings; systematic review registration number.	2
INTRODUCTION			
Rationale	3	Describe the rationale for the review in the context of what is already known.	3
Objectives	4	Provide an explicit statement of questions being addressed with reference to participants, interventions, comparisons, outcomes, and study design (PICOS).	4
METHODS			
Protocol and registration	5	Indicate if a review protocol exists, if and where it can be accessed (e.g., Web address), and, if available, provide registration information including registration number.	4
Eligibility criteria	6	Specify study characteristics (e.g., PICOS, length of follow-up) and report characteristics (e.g., years considered, language, publication status) used as criteria for eligibility, giving rationale.	5
Information sources	7	Describe all information sources (e.g., databases with dates of coverage, contact with study authors to identify additional studies) in the search and date last searched.	5
Search	8	Present full electronic search strategy for at least one database, including any limits used, such that it could be repeated.	5
Study selection	9	State the process for selecting studies (i.e., screening, eligibility, included in systematic review, and, if applicable, included in the meta-analysis).	6
Data collection process	10	Describe method of data extraction from reports (e.g., piloted forms, independently, in duplicate) and any processes for obtaining and confirming data from investigators.	6
Data items	11	List and define all variables for which data were sought (e.g., PICOS, funding sources) and any assumptions and simplifications made.	6
Risk of bias in individual studies	12	Describe methods used for assessing risk of bias of individual studies (including specification of whether this was done at the study or outcome level), and how this information is to be used in any data synthesis.	6
Summary measures	13	State the principal summary measures (e.g., risk ratio, difference in means).	7
Synthesis of results	14	Describe the methods of handling data and combining results of studies, if done, including measures of consistency (e.g., I^2) for each meta-analysis.	7

Section/topic	#	Checklist item	Reported on page #
Risk of bias across studies	15	Specify any assessment of risk of bias that may affect the cumulative evidence (e.g., publication bias, selective reporting within studies).	7
Additional analyses	16	Describe methods of additional analyses (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression), if done, indicating which were pre-specified.	7
RESULTS			
Study selection	17	Give numbers of studies screened, assessed for eligibility, and included in the review, with reasons for exclusions at each stage, ideally with a flow diagram.	7
Study characteristics	18	For each study, present characteristics for which data were extracted (e.g., study size, PICOS, follow-up period) and provide the citations.	8
Risk of bias within studies	19	Present data on risk of bias of each study and, if available, any outcome level assessment (see item 12).	8
Results of individual studies	20	For all outcomes considered (benefits or harms), present, for each study: (a) simple summary data for each intervention group (b) effect estimates and confidence intervals, ideally with a forest plot.	9
Synthesis of results	21	Present results of each meta-analysis done, including confidence intervals and measures of consistency.	9
Risk of bias across studies	22	Present results of any assessment of risk of bias across studies (see Item 15).	9
Additional analysis	23	Give results of additional analyses, if done (e.g., sensitivity or subgroup analyses, meta-regression [see Item 16]).	9
DISCUSSION			
Summary of evidence	24	Summarize the main findings including the strength of evidence for each main outcome; consider their relevance to key groups (e.g., healthcare providers, users, and policy makers).	9
Limitations	25	Discuss limitations at study and outcome level (e.g., risk of bias), and at review-level (e.g., incomplete retrieval of identified research, reporting bias).	11
Conclusions	26	Provide a general interpretation of the results in the context of other evidence, and implications for future research.	11
FUNDING			
Funding	27	Describe sources of funding for the systematic review and other support (e.g., supply of data); role of funders for the systematic review.	11

Anexo 2: Efficacy of Panax ginseng supplementation on blood lipid profile. A metaanalysis and systematic review of clinical randomized trials.

Journal of Ethnopharmacology 243 (2019) 112090



Contents lists available at ScienceDirect

Journal of Ethnopharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/jethpharm



Efficacy of Panax ginseng supplementation on blood lipid profile. A meta-analysis and systematic review of clinical randomized trials



Didier Hernández-García, Ana Belén Granado-Serrano, Meritxell Martín-Gari, Alba Naudí, Jose CE. Serrano

Department of Experimental Medicine, University of Lleida, Lleida, Spain

ARTICLE INFO

Keywords:
cholesterol
blood lipid profile
Panax ginseng

ABSTRACT

Ethnopharmacological relevance: Ginseng is a widely used ingredient in several traditional Chinese medicine formulation, mainly as a prophylactic and restorative agent. Ginseng's Chinese traditional formulations have shown protective effects against atherosclerosis, suggesting that ginseng may be useful for the treatment of metabolic disorders.

Aim of the study: To evaluate whether the supplementation with Panax ginseng (PG) has an effect on blood lipid profile in humans.

Materials and methods: A meta-analysis and a systematic review were conducted to evaluate the effects of PG on blood lipid profile.

Results: A total of 18 studies met the inclusion criteria, from which 10 studies were performed in volunteers with at least one component of metabolic syndrome, 3 in postmenopausal women, 2 in healthy volunteers and 3 with other types of inclusion criteria. The doses employed ranged from 0.2 to 20 g/day (median 3 g/day, 95% CI 1.7, 5.8), while the treatment time ranged from 2 to 12 weeks (median 8 weeks, 95% CI 6, 9). Few studies reported the composition of the PG extract employed. The main ginsenosides reported were Rb1 and Rg1 (content ranging from Rb1 0.023–6.44 mg/g and Rg1 0.028–3.21 mg/g). Significant modification in blood profile was described in 7 studies, in which 5 studies observed a reduction in total cholesterol, 4 in LDL-cholesterol, and 2 in triacylglycerides. The meta-analysis of 10 studies in volunteers with parameters related with metabolic syndrome describes that PG may induce a mean difference compared to a placebo of -2.30 (95% CI -3.79 – 0.80) and -1.47 (95% CI -1.90 – 1.05) mg/dL per g/day of PG in the levels of total and LDL-cholesterol, with no significant effects in HDL-cholesterol and triacylglycerides.

Conclusions: PG extract may induce an improvement in blood lipid profile mainly by a reduction in total and LDL-cholesterol levels.

1. Introduction

Ginseng has been used in herbal medicine over centuries (KoeHN and Carter, 2005). It has been recognized as a medicinal herb in traditional Chinese medicine as mentioned in the Shennong Bencao Jing and in the Shang-Han Lun (Park et al., 2012b). Actually, Chinese, Korean and Japanese traditional herbal formulas that include ginseng, for example, *Cha-Hun-Jia-Long-Gu-Mull-Tang*, have shown protective effects against atherosclerosis (Yoshie et al., 2001). Additionally, Shenqi, which is a traditional formulation that contains ginseng, was able to reduce blood total cholesterol and triglyceride levels in diabetic

patients (Yang and Wang, 2000); suggesting that ginseng may be useful for the treatment of metabolic disorders.

Among the best-known species of Ginseng, *Panax quinquefolius* L (American Ginseng), *Eleutherococcus senticosus* (Rupr. & Maxim, Siberian Ginseng) and *Panax ginseng* C.A.Mey (Red or Korean ginseng) are the most commonly commercialised. *Panax ginseng* (PG) is an herbaceous plant that raises around 50–80 cm in height. The root is the most used part because it has a high percentage of bioactive molecules. The roots with the highest quality are collected at the beginning of autumn from plants of at least 4 years old, so that, its active ingredients are in the optimum quantities (Shan et al., 2014; So et al., 2018; Zhang

Abbreviations: PG, Panax ginseng; TC, total cholesterol; LDL-C, Cholesterol from Low-Density Lipoprotein; HDL-C, Cholesterol from High-Density Lipoprotein; TG, Triacylglycerides

* Corresponding author. Av. Alcalde Rovira Roure 80, Edificio Biomedicina I, 25198, Lleida, Spain.

E-mail address: jcserrano@mx.ull.cat (J.C. Serrano).

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112090>

Received 29 April 2019; Received in revised form 12 July 2019; Accepted 12 July 2019

Available online 14 July 2019

0378-8741/© 2019 Elsevier B.V. All rights reserved.

et al., 2014). These bioactive substances are triterpenoid glycosides saponins or panaxosides, or they are more commonly called, ginsenosides. More than 43 bioactive molecules have been described. As an instance the Panaxosides (some derived from protopanaxadiol and others from protopanaxatriol) have been called ginsenoside Rb1, b2, c, d, e, f, g1, g2, g3, h1, h2 among others, (Ji et al., 2004; Liu et al., 2011; So et al., 2018; Yang et al., 2007). The active constituents of PG have proven to be elusive, however, some recent researches have been able to quantify them (Baek et al., 2012; Wang et al., 2011); and for the identification of ginsenosides in samples, chromatographic methods are now available. (Ji et al., 2004; Liu et al., 2011; So et al., 2018; Yang et al., 2007).

PG has been described as a prophylactic and restorative agent for anemia, wakefulness, forgetfulness, lack of sexual desire and acute and chronic fatigue (Gyldenhaal et al., 2000; Jeong et al., 2013). Furthermore, some studies have indicated possible treatment applications of this plant for dyspepsia, angina and nausea, tiredness, headaches, amnesia, diabetes mellitus and control of dyslipidaemia (Lee et al., 2012; Vuksan et al., 2008). PG is also thought to regulate the production of reactive oxygen species (Qi et al., 2014; Shergis et al., 2014). Many studies have demonstrated this capacity in different pathologic; neurologic pathologies (Ong et al., 2015), Parkinson's disease (González-Burgos et al., 2015), chronic fatigue (Braz et al., 2013) and physiologic sports conditions (De Souza Silveira et al., 2016).

Regarding lipid metabolism, an adequate profile is not only a key point in controlling the cardiovascular risk factors and their related pathologies, but also in regards to general well-being. Some studies have demonstrated that PG can lower plasma lipids level by inhibition of pancreatic lipase (de la Garza et al., 2011; Kim et al., 2011) or by promoting fat metabolism during exercise (Hwang et al., 2014; Song et al., 2012). But one of the hypotheses with higher evidence is that the ginsenosides suppress Peroxisome proliferator-activated receptor α and in this way inhibit the expression of its target genes, a molecular mechanism by which ginseng may modulate alterations in serum lipid profiles (Yoon et al., 2003).

PG was the third most frequently used botanical in 6 European countries (García-Alvarez et al., 2014) and it is no coincidence that a multitude of researchers has focused their investigations on the effects of PG on lipid metabolism. However, to date, although there is sufficient information on the potential mechanism of action of PG in lipid metabolism in in-vitro and animal models, the results observed in several randomized clinical trials are heterogeneous. The aim of this study is to evaluate through a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials whether supplementations of extracts of PG has an effect on blood lipid profile in humans.

2. Materials and Methods

2.1. Protocol and registration

The protocol of this study is available to anyone who wants to have access to it by contact with the corresponding author of this article.

2.2. Information sources and eligibility criteria

The current meta-analysis was reported according to the Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) guidelines (Moher et al., 2009). All trials were searched by five electronic databases (PubMed (Medline), Scopus, Cinahl Plus, Cochrane Library (Embase) and Clinical trials). Different filters were applied based on two primary requirements: 1) it should be a clinical trial, 2) published between 1995 (or below if electronically available) and 2018. The last search was run on the 25th of March 2019. Prisma Checklist is included as a [Supplementary File 1](#).

2.3. Types of studies

Randomized controlled clinical trials that have evaluated the effect of PG supplementation on the blood lipid profile in humans were included. Thesis and/or university studies registered as randomized trials in the Clinical Trial Database were also included. All included studies were written in English.

2.4. Types of participants and interventions

Participants of any age without any physiological restrictions were included. Controlled clinical trials that have evaluated any of the possible effects of PG supplementation on the lipid metabolism (alterations in plasma parameters) were included. No restrictions of PG dosage have been implied. This review did not include observational or descriptive studies.

2.5. Types of outcome measures

Interventions evaluating the effect of PG supplementation on total lipids (TL), total cholesterol (TC), LDL-cholesterol (LDL-C), HDL-cholesterol (HDL-C), triacylglycerides (TG) and free fatty acid (FFA) levels were included.

2.6. Search

The applied search terms (Keywords) were: Ginseng, Panax ginseng, Panax[MeSH], Ginsenosides in all search database except in Scopus. The keywords applied in Scopus were: lipid AND ginseng, Cholesterol AND ginseng, LDL-cholesterol AND ginseng, HDL-cholesterol AND ginseng, Triglycerides and ginseng, Lipid metabolism AND ginseng, Fatty acid AND ginseng.

2.7. Study selection

The searched studies after applying keywords and filters were summarized in an Excel list. This list included PMID number, DOI number, authors and study title to facilitate the elimination of any duplication. Two authors who determined which studies should be included in the review read the title and abstract of the filtered studies. Then, after this first exclusion, all researchers who applied the eligibility criteria read the remaining papers. Finally, all authors made the choice of included studies and any disagreement was resolved by consensus.

2.8. Data collection progress

The following variables were targeted in each included article: 1) Participants characteristics: gender and the average age at intervention time; 2) Intervention type and duration: parallel or cross-over type; 3) Physiological condition; 4) Type of PG extract (glycolic extract, dry extract and raw) and administration procedure. The information regarding the age of the root of the PG was not tabulated since it did not appear in the majority of the studies which were included in this review; 5) Dosage and quantification of ginsenosides: any doses of PG was included in this study. The quantification of ginsenosides was registered as total ginsenosides or the quantity of each ginsenoside; 6) Outcomes: all parameters related to lipid metabolism in blood samples were included, even those in which these variables were defined as secondary variables. Subsequently, all the selected studies were subjected to a quality analysis following the recommendations of Mullane et al. (2015) for studies related with biochemical pharmacology.

2.9. Methods of analysis

Meta-analysis was performed by Cochrane software Review

Manager 5.3.3 (Copenhagen: The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014). For each blood lipid parameter, mean differences between baseline and endpoint of each study were calculated by subtraction (endpoint-baseline). Standard deviation of the difference was calculated by the square root of the sum of squares of the standard error of the mean. All data were normalized by the dose employed. In this sense, the results of each study are expressed as the change of each blood lipid parameter in mg/dL per g of PG supplemented. An excel sheet of the data calculation and analysis is available as [Supplementary File 2](#). Descriptive risk of Bias was included in each meta-analysis performed. Heterogeneity among the studies was assessed by calculating the I^2 statistic. An I^2 statistic > 50% was considered as obvious heterogeneity between studies. A random-effects model was used when there was obvious heterogeneity among the studies, while a fixed-effects model in the case of homogenous studies.

3. Results

A total of 33065 records were identified through database search; 27044 entries from Pubmed, 3248 from Scopus, 1979 from Cinahl Plus, 714 from Cochrane Library and 80 from Clinical trials. Once all duplicate papers were discarded and filters applied, a selection of 990 studies remained. Of these, a further 867 were removed by reading title or abstract for the following reasons: studies in animals/cells: 310, use of purified ginsenosides supplementation: 289, other species of Ginseng: 191, mixed plants: 30, non-English language: 45, lack of statistical analysis: 2. From the 123 remained studies, 105 were withdrawn because they did not meet the inclusion criteria. In detail, withdrawn studies included PG effects on glycaemia (n = 18), cardiovascular disease (without blood lipid analysis) (n = 10), working memory (n = 13), oxidative stress (n = 6) hormonal disorders (n = 8), sport (n = 9) and other health issues (n = 41). None of these studies were suitable due to the absence of outcomes related to the study variables included in this review. Finally, a total of 18 randomized clinical trials that presented outcomes in relation to blood lipid profile were included (Fig. 1).

The summary of the 18 selected clinical trials that evaluate the relationship between PG intake and lipid metabolism is presented in [Table 1](#). In relation to study characteristics, 14 were parallel-double blind, 2 parallel-single blind and 2 crossover double-blind. Taken as a whole, 1045 participants, all over 18 years old, were involved in these 18 studies. The main inclusion criteria were: healthy subjects (Kang et al., 2013; Kim et al., 2012a) postmenopausal women (Kim et al., 2012b; Lee and Ji, 2014a,b), subjects with diabetes and prediabetes (Bang et al., 2014; Shin et al., 2011), subjects with essential hypertension (Rhee et al., 2011), men with metabolic syndrome (Jung et al., 2016; Park et al., 2012a), patients with hyperlipidemic disorders (EL-Farok et al., 2013; Hassanzadeh Delui et al., 2013), patients with non-alcoholic fatty liver disease (Hong et al., 2016), obese women (Kwon et al., 2012), male subjects with coronary artery disease (Chung et al., 2010), male athletes (Ping et al., 2011), individuals exposed to high levels of stress (Baek et al., 2018) and subjects with erectile dysfunction (de Andrade et al., 2007).

All clinical trial included in the review were submitted to a quality analysis following the Guidelines for Biochemical Pharmacology studies (Mullane et al., 2015) ([Supplementary File 3](#)). One of the main concerns that emerged from this analysis was the lack of information described in all studies regarding the rationale for the selection of concentrations, doses, route and frequency; and the evaluation of a dose-response effect of PG administration. To this respect, the supplementation period of the selected studies ranged from 2 to 12 weeks and the dosage was between 200 mg/day to 20 g/day. Few studies used doses below 1.5 g/day (4 studies), while most of them between 1.5 and 6 g/day (13 studies). Only one study used a high dose, 20 g/day during a period of 8 weeks of

supplementation, however, in this case, the whole plant was administered and the estimated dose of saponins was 458 mg/day. Regarding the characterization of the supplemented extract, all studies used the dry extract of PG, 8 studies did not analyze the number of ginsenosides supplemented, while 10 studies presented their results as total ginsenosides. Specific ginsenosides such as Rb1 and Rg1 were the main ginsenosides described in the supplements. The corresponding doses were between 0.05 and 12.9 mg/day for Rb1 and 0.13–6.5 mg/day for Rg1.

Few studies showed significant effects on the improvement of blood lipid profile. Briefly, 5 studies observed an decrease in the levels of TC (EL-Farok et al., 2013; Hong et al., 2016; Kim et al., 2012b; Lee and Ji, 2014a,b; Shin et al., 2011), of which 4 of them also observed a significant reduction in the levels of LDL-C (EL-Farok et al., 2013; Kim et al., 2012b; Lee and Ji, 2014a,b; Shin et al., 2011) and only one also a reduction in HDL-C levels (Kim et al., 2012b). None of them observed a significant change in the levels of HDL-C. Contradictory results were observed regarding blood TG levels; while two studies (Baek et al., 2018; Rhee et al., 2011) observed an increase around 30 mg/dL another study reported a reduction of 9 mg/dL in blood TG after PG supplementation (Kim et al., 2012b).

In order to determine objectively the global effects of the PG supplementation on blood lipid profiles, a meta-analysis was performed with the studies that included as an inclusion criteria at least one component of metabolic syndrome (hypertension, hyperlipidemia, high blood glucose levels, etc). A total of 10 studies were included in the analysis, in which 9 studies reported levels of TC (462 volunteers in total), 7 of HDL-C (356 volunteers in total), 6 on TG (262 volunteers in total) and 4 on LDL-C (200 volunteers in total). High heterogeneity was observed in all analyses performed by the fixed-effect model (I^2 of 100, 90, 97 and 97% for TC, LDL-C, HDL-C and TG, respectively). Consequently, the random-effects model was used for all the analyses. Compared to placebo supplementation, a mean decrease of 2.30 and 1.47 mg/dL in TC and LDL-C per g of PG supplemented was observed respectively (Fig. 2). In the case of HDL-C and TG no significant differences were observed between PG and placebo supplementation (Fig. 2).

4. Discussion

The main objective of this review was to assess the effect of the supplementation of PG on blood lipid profile in humans. As the main result, it was observed that PG extract supplementation between 1.5 and 3 g/day may improve blood lipid profile by reduction of TC and LDL-C levels. In a previous meta-analysis on diabetes mellitus, similar results were observed, except for the reported improvement in the levels of TG (Gui et al., 2016), which was not observed in the present meta-analysis. The main difference between both studies is the inclusion of 9 extra studies in the present meta-analysis, which adds more evidence to the observed effects of PG supplementation in blood TC and LDL-C levels.

Compared to the current drug therapy such as ezetimibe, a cholesterol absorption inhibitor in the gut; and statins, inhibitors of cholesterol synthesis in the liver, PG extract supplementation may induce lower modifications in blood total and LDL-C (O'Keefe et al., 2016). Notwithstanding, several adverse effects have been reported after lipid-lowering drug therapy, such as statins-associated muscle symptoms for example (Adhyaru and Jacobson, 2018). In this context, it has been observed that the combination of Panax notoginseng saponins with statins may induce better stability of liver function in a rat atherosclerosis model (Jiang et al., 2017). This result, also suggests that PG may have a different mechanism of action from the existing as a lipid-lowering pharmacological therapy.

Although the mechanisms underlying the lipid-lowering effect of PG supplementation have not been fully elucidated. Ginsenosides have

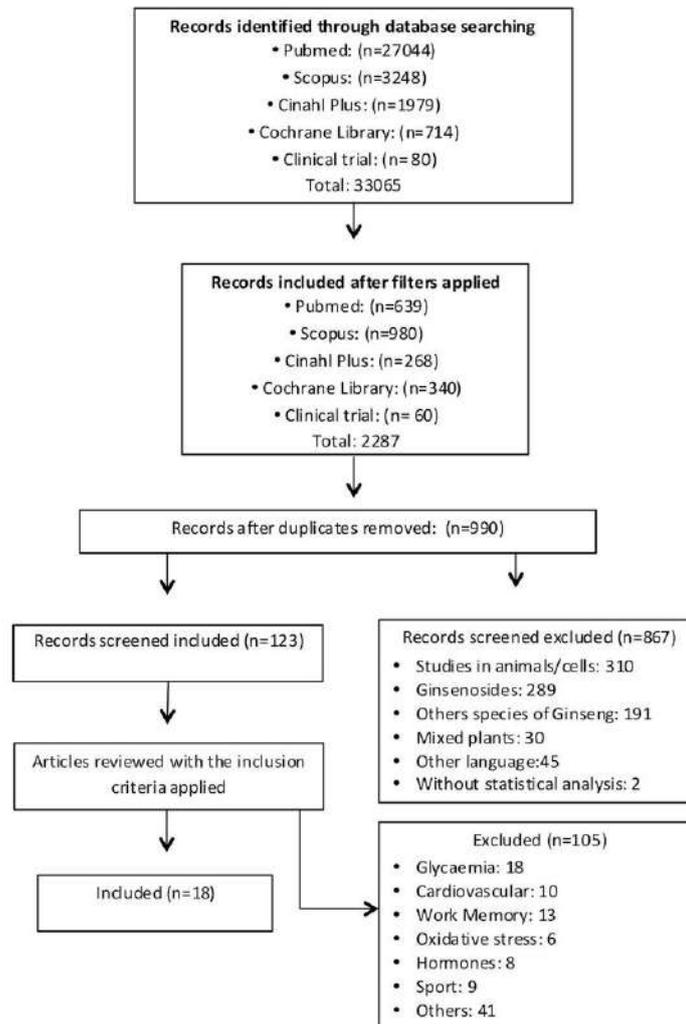


Fig. 1. Flow chart for study selection.

shown diverse pharmacological activities mainly because of their steroidal structure, which enables them to interact with cell membranes, membrane-bound ion channels, as well as extra- and intracellular receptors to produce modifications at the transcriptional level (Mohan et al., 2018). For example, it has been observed that ginseng metabolites may decrease cholesterol synthesis in HepG2 cells by the reduction in the expression of HMGCR and SREBP2, both involved in cholesterol synthesis (Han et al., 2017). Similarly, it was suggested that the change in plasma lipid profile could also be related to the PG effects on the

cholesterol reverse-transport related proteins (ABCA1, ABCG5 and ABCG8) in association with LXR α activation (Zhou et al., 2016).

Regarding the reported adverse or toxic effects, it is known that high doses of PG (more than 2.5g/day) may have adverse effects such as insomnia, tachyarrhythmias, hypertension, headaches, gastrointestinal disorders and nervousness (Mancuso and Santangelo, 2017). In the studies included in this review, the most common cause of study dropout was due to volunteer's personal choice or noncompliance with the study protocol. Only two studies reported adverse effects. Insomnia

Table 1
Summary of PG supplementation effects on lipid metabolism.

Author	Study type	Volunteer characteristics	Study size	Intervention	Duration	Concentration of Ginsenosides (mg/g)	TC mg/dL	LDL-C mg/dL	HDL-C mg/dL	FFA	TG
Healthy people											
Kim et al. (2012a)	Double-blind randomized	Healthy subjects 20–65 years	N = 57 subjects (23 men and 34 women) 3 groups	3 g PG/day (300mg/pill) or 6 g PG/day (600mg/pill)	8 weeks	Total ginsenosides: 16.58	N.S	N.S	N.S	–	N.S
Kang et al. (2013)	Double-blind randomized	Healthy subjects 30–50 years	N = 40 subjects (17 men and 23 women) 2 groups	1.5 g PG/day (500 mg/pill)	8 weeks	–	N.S	N.S	N.S	–	N.S
Postmenopausal											
Lee and Ji (2014a)	Double-blind randomized	Postmenopausal women 50–73 years	N = 117 subjects 2 groups	2.11 g PG/day (235 mg/pill)	2 weeks	Rb1: 0.023	–8.2 ^a	–8.6 ^a	–	–	–
Kim et al. (2012b)	Double-blind randomized	Postmenopausal women 45–60 years	N = 72 subjects 2 groups	3 g PG/day (500 mg/pill)	12 weeks	–	–19.48 ^{**a}	–11.22 ^{**a}	N.S ^a	–	–8.7 ^{**a}
Lee and Ji (2014b)	Double-blind randomized	Postmenopausal women 50–73 years	N = 93 subjects 2 groups	2.1 g PG/day	2 weeks	Rb1: 0.023	–	–	–	–	N.S
Metabolic syndrome											
Shin et al. (2011)	Double-blind randomized	Subjects with impaired fasting glucose (prediabetes) 25–60 years	N = 45 subjects (27 men and 18 women) 3 groups	20 g PG/day (before dry extract)	8 weeks	Total saponins 22.90	–23 ^{**a}	–19.3 ^{**a}	N.S	–	–
Bang et al. (2014)	Double-blind randomized	Patients with impaired fasting/tolerance glucose, or newly type 2 diabetes	N = 41 subjects 2 groups	5 g PG/day (500 mg each pill)	12 weeks	Total ginsenosides 16.58	N.S	N.S	N.S	–	N.S
Rhee et al. (2011)	Double-blind randomized	Subjects with essential hypertension 35–70 years	N = 80 subjects (34 men and 46 women) 2 groups	3 g PG/day	12 weeks	–	N.S	N.S	N.S	–	N.A.a +33 ^{**b}
Jung et al. (2016)	Double-blind randomized	Men with metabolic syndrome 35–70 years	N = 62 subjects 2 groups	3 g PG/day (500 mg each pill)	4 weeks	Rg1: 0.028	N.S	–	N.S	–	N.S
Park et al. (2012a)	Double-blind randomized	Subjects with metabolic syndrome > 20 years of age	N = 60 subjects 2 groups	4.5g PG/day	12 weeks	Rb1: 0.028	N.S	N.S	N.S	–	N.S
Hussainzadeh Dohi et al. (2013)	Double-blind randomized	Hyperlipidemic Patient age > 20 years	N = 36 subjects 2 groups	500 mg PG/day (250/pill)	8 weeks	Total ginsenosides 28	N.S	N.S	N.S	–	N.S
El-Farak et al. (2013)	Single-blind randomized	Hypercholesterolemic patients 40–60 years	N = 60 subjects 3 groups	200 mg PG/day (100 mg/pill) 1200 mg Lipotic Acid (600 mg/pill)	4 and 8 weeks	–	–29.68 ^{**a}	–28.8 ^{**a}	N.S	–	N.S
Hong et al. (2016)	Single-blind randomized	Patients with nonalcoholic fatty liver disease > 20 years	N = 80 subjects 2 groups	3 g PG/day	3 weeks	Rg1 + Rb. 1 6.0	N.A.a	–	–	–	–
Kwon et al. (2012)	Double-blind randomized	Obese women 18–65 year	N = 50 subjects 2 groups	6 g PG/day (500 mg/pill)	8 weeks (Controls each 2 weeks)	–	N.S	–	N.S	–	N.S

(continued on next page)

Table 1 (continued)

Author	Study type	Volunteer characteristics	Study size	Intervention	Duration	Concentration of Ginsenosides (mg/g)	TC mg/dL	LDL-C mg/dL	HDL-C mg/dL	FFA	TG
Chung et al. (2010)	Double-blind randomized crossover	Male subjects with coronary artery disease 62.4 ± 3.1 years	N = 20 subjects 2 groups	2.7g PG/day (500 mg/ pill)	10 weeks (6-week washout period)	-	N.S	N.S	N.S	-	N.S
Others Pillg et al. (2011)	Double-blind randomized crossover	Men runners 20-40 years	N = 9 subjects	200 mg PG/day Acute ingestion 1 h before trial	-	-	-	-	-	N.S	-
Garak et al., (2018)	Double-blind randomized	Nurses and fire fighters. 20-60 years	N = 63 subjects (57.1% female) 2 groups	2.8 PG/day (500 mg/ pill)	6 weeks	Rgt: 3.21 Rbt: 6.44	N.S	N.S	N.S	-	+31.08**b
de Andrade et al. (2007)	Double-blind randomized	Male subjects erectile dysfunction 26-70 years	N = 60 subjects 2 groups	3 g of PG/day	12 weeks	-	N.S	N.S	N.S	-	-

PG: Panax ginseng, N.S: No statistically significant changes, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.005, a: Compared with placebo group, b: Compared with the same group.

was reported with a dose of PG of 2 g/day in one volunteer (Lee and Ji, 2014), while flushing, gastrointestinal discomfort and itching was reported in 5 volunteers with a dose of 3 g/day (Rhee et al., 2011). Notwithstanding, the incidence of treatment-related adverse events in this last study was not different between experimental and placebo groups.

This study has several limitations, the main limitation is that the study populations between included trials are different. Some studies were performed in patients with cardiovascular risk factors and others in healthy people. Only two studies included as a primary outcome the changes in lipid profile (EL-Farok et al., 2013; Shin et al., 2011); and in both cases, none of them included as inclusion criteria volunteers with hypercholesterolemia. Therefore, this bias should be taken into consideration since metabolic changes can be affected by different physiological conditions. In addition frequency of intake varied among the studies, from once daily to three times per day. Ten of seventeen studies recommended to divide the dose three times per day, however, only three of these studies indicated that the intake should be performed after the main meal. This is particularly relevant when evaluating effects on lipids since one hypothesis is that ginsenosides interfere with cholesterol absorption at the intestinal level and would, therefore, be expected to work in conjunction with food intake. Notwithstanding, none of the studies that indicated ginseng intake after each meal observed changes in lipid profile.

Another limitation is the lack of information about the composition of the extract in nearly all included studies. Most of the studies do not specify the origin of the extract as well as the age of the root, important data that affects the quality and quantity of the ginsenosides present in the supplementation. The ginsenoside content of ginseng varies depending on the Panax species, the plant age, the parts of the plant, the preservation method, the season of harvest and the extraction method. The description of ginsenoside content is imperative since it has been suggested that each ginsenoside may have its own specific effect (Xiang et al., 2008). The characteristic biological response is attributed to differences in the type, position and number of sugar moieties attached to the glycosidic bond at C-3 and C-6. Unfortunately, with the current information, it is not possible to discern which group of ginsenosides could be more effective in the control of lipid metabolism. For this reason, we consider essential that future studies should perform a detailed characterization of the ginsenoside composition of the PG extract. In the same context, the assessment of adherence to treatment was missing in most studies.

Finally, it is important to mention that the rationale of the concentration and doses of PG employed were not included in most studies reviewed; and in the same sense, there is no evidence that there is a dose-effect relationship. Therefore, it is considered essential for future randomized clinical trials to place special emphasis on the source of PG used as well as its complete characterization in terms of ginsenoside content, and encourage the use at least 2 study doses.

5. Conclusions

Once all of the studies and their quality have been analyzed, it can be concluded that PG supplementation may reduce TC and LDL-C levels in blood. Therefore, PG supplementation may be useful as an adjuvant in several physiological conditions where the lipid metabolism is altered. Nevertheless, it should be taken into account that there is high heterogeneity in the results of the included studies. Higher quality research is needed to confirm these results.

Authors contribution to research

All authors contributed equally to study search, data collection and data analysis. Didier Hernández-García and Jose CE Serrano wrote the manuscript and all author contributed to the review of the final manuscript.

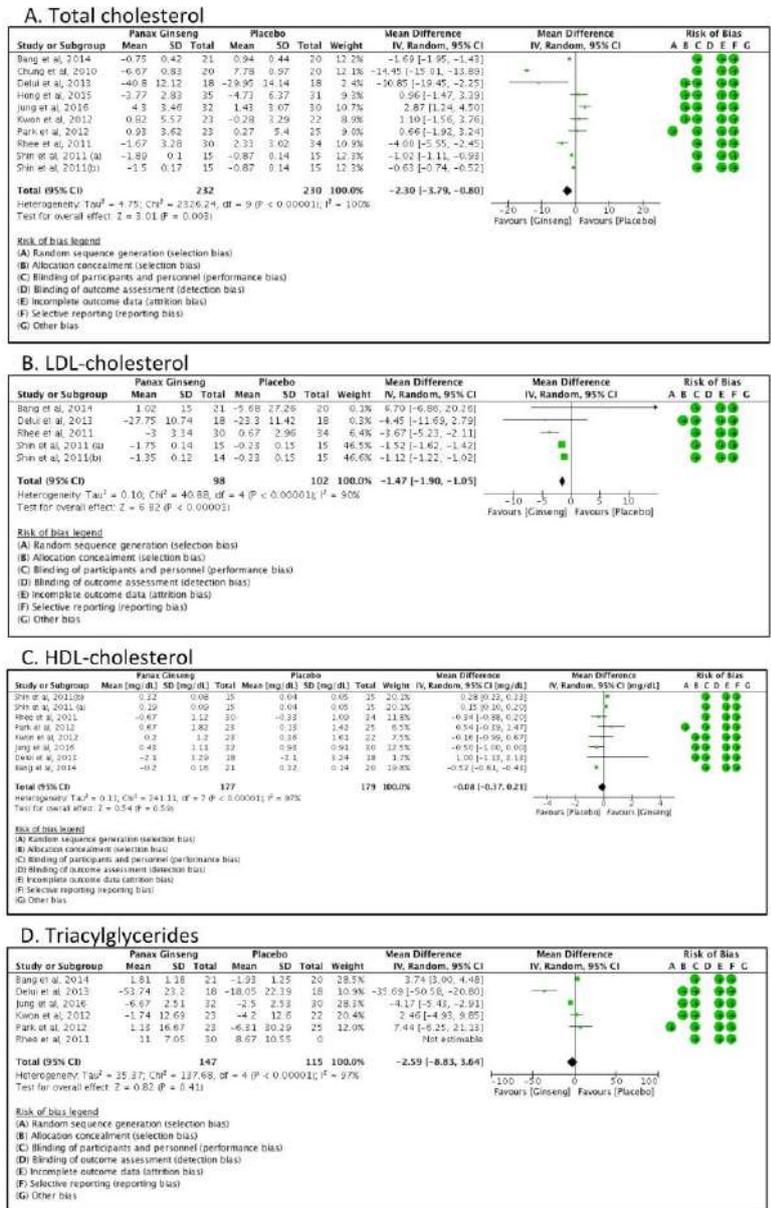


Fig. 2. Forest plot graph showing the change in the levels of blood A) TC, B) LDL-C, C) HDL-C and D) TG between volunteers with PG supplementation and placebo.

Declaration of interest

None.

Acknowledgments

This project would not have been possible without the generous guidance and assistance of Plan de Doctorado Industrial de la Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca, Departament d'Empresa i Coneixement, Generalitat de Catalunya, Barcelona, Spain (2015 DI 043).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112090>.

References

- Adhyaru, B.B., Jacobson, T.A., 2018. Safety and efficacy of statin therapy. *Nat. Rev. Cardiol.* 15, 757–769. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0098-5>.
- Boek, J.H., Heo, J.-Y., Fava, M., Mischooulon, D., Choi, K.W., Na, E.J., Cho, H., Jeon, H.J., 2018. Effect of Korean red ginseng in individuals exposed to high stress levels: a 6-week, double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J. Ginseng Res.* 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.03.001>.
- Baek, S.H., Bae, O.N., Park, J.H., 2012. Recent methodology in Ginseng analysis. *J. Ginseng Res.* 36, 119–134. <https://doi.org/10.5142/jgr.2012.36.2.119>.
- Bang, H., Kwak, J.H., Ahn, H.Y., Shin, D.Y., Lee, J.H., 2014. Korean red ginseng improves glucose control in subjects with impaired fasting glucose, impaired glucose tolerance, or newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *J. Med. Food* 17, 128–134. <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.2889>.
- Braz, A.S., Morais, L.C.S., Paula, A.P., Diniz, M.F.F.M., Almeida, R.N., 2013. Effects of Panax ginseng extract in patients with fibromyalgia: a 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 35, 21–28. <https://doi.org/10.1016/j.rbp.2013.01.004>.
- Chung, I.-M., Lim, J.-W., Pyun, W.-B., Kim, H.-Y., 2010. Korean red ginseng improves vascular stiffness in patients with coronary artery disease. *J. Ginseng Res.* 34, 212–218. <https://doi.org/10.5142/jgr.2010.34.3.212>.
- de Andrade, E., de Mesquita, A.A., de Almeida, G.J., de Andrade, P.M., Ortiz, V., Faramhos, M., Strougi, M., Erdogran, T., 2007. Study of the efficacy of Korean Red Ginseng in the treatment of erectile dysfunction. *Asian J. Androl.* 9, 241–244. <https://doi.org/10.1111/j.1745-7262.2007.00210.x>.
- de la Garza, A.L., Millagro, F.I., Boque, N., Campión, J., Martínez, J.A., 2011. Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta Med.* 77, 773–785. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1270924>.
- de Souza Silveira, R., Carlskron, A., Langen, G., Mayer, F., Scharlag-Rosenberger, F., 2016. Reliability and day-to-day variability of peak fat oxidation during treadmill ergometry. *J. Int. Soc. Sport. Nutr.* 13, 4. <https://doi.org/10.1186/s12970-016-0115-1>.
- El-Farok, D.H.M., El-Denshyr, E.S., Mahmoud, M., Asaif, N., Emam, M., 2013. Lipid lowering effect of ginseng and alpha-lipoic acid in hypercholesterolemic patients. *Glob. J. Pharmacol.* 7, 298–306. <https://doi.org/10.5829/idosi.gj.2013.7.3.75194>.
- García-Alvarez, A., Egan, B., de Klein, S., Dima, L., Maggi, F.M., Isoniemi, M., Ribas-Barba, L., Raas, M.M., Melsner, E.M., Badae, M., Bruno, F., Salmenhaara, M., Millà-Villarroel, R., Knaze, V., Hodgkins, C., Marculescu, A., Uusitalo, L., Restani, P., Serra-Majem, L., 2014. Usage of plant food supplements across six European countries: findings from the PlantLBRa consumer survey. *PLoS One* 9, e92265. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092265>.
- González-Burgos, E., Fernández-Moriano, C., Gómez-Serranillos, M.P., 2015. Potential neuroprotective activity of ginseng in Parkinson's disease: a review. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 10, 14–29. <https://doi.org/10.1007/s11481-014-9569-6>.
- Gui, Q.-F., Xu, Z.-R., Xu, K.-Y., Yang, Y.-M., 2016. The efficacy of ginseng related therapies in type 2 diabetes mellitus: an updated systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 95, e2584. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000002584>.
- Gyllenbaal, C., Merritt, S.L., Peterson, S.D., Block, K.I., Goehneour, T., 2000. Efficacy and safety of herbal stimulants and sedatives in sleep disorders. *Sleep Med. Rev.* 4, 229–251. <https://doi.org/10.1053/smrv.1999.0493>.
- Han, J.-S., Sung, J.H., Lee, S.K., 2017. Inhibition of cholesterol synthesis in HepG2 cells by GINS1-decreasing HMG-CoA reductase expression via AMP-activated protein kinase. *J. Food Sci.* 82, 2700–2705. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13828>.
- Hassanzadeh Delui, M., Fatehi, H., Manavifar, M., Amini, M., Ghayour-Mobathar, M., Zabeedi, M., Ferns, G., 2013. The effects of Panax ginseng on lipid profile, pro-oxidant antioxidant status and high-sensitivity C reactive protein levels in hyperlipidemic patients in Iran. *Int. J. Prev. Med.* 4, 1045–1051.
- Hong, M., Lee, Y.H., Kim, S., Suk, K.T., Bang, C.S., Yoon, J.H., Baik, G.H., Kim, D.J., Kim, M.J., 2016. Anti-inflammatory and anti-fatigue effect of Korean red ginseng in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J. Ginseng Res.* 40, 203–210. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2015.07.006>.
- Hwang, H., Kim, J., Park, J., Yun, H., Cheon, W.K., Kim, B., Lee, C.H., Suh, H., Lim, K., 2014. Red ginseng treatment for two weeks promotes fat metabolism during exercise in mice. *Nutrients* 6, 1874–1885. <https://doi.org/10.3390/nu6051874>.
- Jeong, H., Yun, H., Joon, J., Ahn, S., Lee, S., Oh, K., Kim, S., 2013. Effects of red ginseng extract on sleeping behaviors in human volunteers. *J. Ethnopharmacol.* 149, 597–599. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.005>.
- Ji, H.Y., Lee, H.W., Kim, H.K., Kim, H.H., Chang, S.G., Sohn, D.H., Kim, J., Lee, H.S., 2004. Simultaneous determination of ginsenoside Rb(1) and Rg(1) in human plasma by liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 35, 207–212. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2003.12.020>.
- Jiang, Q.-F., Huang, M.-Y., Wu, K.-Y., Weng, J.-L., Deng, R.-G., Xu, X.-J., Xu, J.-P., Jiang, T., 2017. Intervention effects of atorvastatin combined with Panax notoginseng saponins on rats with atherosclerosis complicated with hepatic injury. *Pharmacogn. Mag.* 13, 430–438. <https://doi.org/10.4103/pm.pm.424.16>.
- Jung, D.-H., Lee, Y.-J., Kim, C.-B., Kim, J.-Y., Shin, S.-H., Park, J.-K., 2016. Effects of ginseng on peripheral blood mitochondrial DNA copy number and hormones in men with metabolic syndrome: a randomized clinical and pilot study. *Complement. Ther. Med.* 24, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2015.12.001>.
- Kang, J., Lee, N., Ahn, Y., Lee, H., 2013. Study on improving blood flow with Korean red ginseng substances using digital infrared thermal imaging and Doppler sonography: randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial with par-allel design. *J. Tradit. Chin. Med.* 33, 39–45.
- Kim, H.J., Karg, H.J., Seo, J.Y., Lee, C.H., Kim, Y.-S., Kim, J.-S., 2011. Antiobesity effect of oil extract of ginseng. *J. Med. Food* 14, 573–583. <https://doi.org/10.1089/jmf.2010.1313>.
- Kim, J.Y., Park, J.Y., Kang, H.J., Kim, O.Y., Lee, J.H., 2012a. Beneficial effects of Korean red ginseng on lymphocyte DNA damage, antioxidant enzyme activity, and LDL oxidation in healthy participants: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Nutr. J.* 11, 47. <https://doi.org/10.1186/1475-2875-11-47>.
- Kim, S.Y., Seo, S.K., Choi, Y.M., Jeon, Y.E., Lim, K.J., Cho, S., Choi, Y.S., Lee, B.S., 2012b. Effects of red ginseng supplementation on menopausal symptoms and cardiovascular risk factors in postmenopausal women. *Menopause* 19, 461–466. <https://doi.org/10.1097/gme.0b013e3182325e4b>.
- Koehn, F.E., Carter, G.T., 2005. The evolving role of natural products in drug discovery. *Nat. Rev. Drug Discov.* 4, 206–220. <https://doi.org/10.1038/nrd1657>.
- Kwon, D.H., Bose, S., Song, M.Y., Lee, M.J., Lim, C.Y., Kwon, B.S., Kim, H.J., 2012. Efficacy of Korean red ginseng by single nucleotide polymorphism in obese women: randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J. Ginseng Res.* 36, 176–189. <https://doi.org/10.5142/jgr.2012.36.2.176>.
- Lee, K.J., Ji, G.E., 2014a. The effect of fermented red ginseng on depression is mediated by lipids. *Nutr. Neurosci.* 17, 7–15. <https://doi.org/10.1179/1476850513Y.0000000059>.
- Lee, K.J., Ji, G.E., 2014b. Free-fatty-acid-regulating effects of fermented red ginseng are mediated by hormones and by the autonomic nervous system. *J. Ginseng Res.* 38, 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2013.12.003>.
- Lee, N.-H., Yoo, S.-R., Kim, H.-G., Cho, J.-H., Son, C.G., 2012. Safety and tolerability of Panax ginseng root extract: a randomized, placebo-controlled, clinical trial in healthy Korean volunteers. *J. Altern. Complement. Med.* 18, 1061–1069. <https://doi.org/10.1089/acm.2011.0591>.
- Liu, L., Huang, J., Hu, X., Li, K., Sun, C., 2011. Simultaneous determination of ginsenoside (G-R, G-Rg1, G-Rg2, G-F1, G-Rh1) and protopanaxatriol in human plasma and urine by LC-MS/MS and its application in a pharmacokinetic study of G-R in volunteers. *J. Chromatogr. B* 879, 2011–2017. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.05.018>.
- Mancuso, C., Santangelo, R., 2017. Panax ginseng and Panax quiquefolius: from pharmacology to toxicology. *Food Chem. Toxicol.* 107, 362–372. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.07.019>.
- Mohanani, P., Subramanyam, S., Mathiyalagan, R., Yang, D.C., 2018. Molecular signaling of ginsenosides Rb1, Rg1, and Rg3 and their mode of actions. *J. Ginseng Res.* 42, 123–132. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2017.01.008>.
- Moher, D., Liberati, A., Tetzlaff, J., Altman, D.G., Grp, P., 2009. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement (reprinted from *annals of internal medicine*). *Phys. Ther.* 89, 873–880. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1000097> ().
- Mullane, K., Etna, S.J., Plette, J., Williams, M., 2015. Guidelines for manuscript submission in the peer-reviewed pharmacological literature. *Biochem. Pharmacol.* 97, 225–235. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2015.06.023>.
- O'Keefe, J.H., DiNicolantonio, J.J., Pharral, Carl J., Lavie, M., 2016. Statins, ezetimibe, and proprotein convertase subtilisin-kexin type 9 (PCSK9) inhibitors to reduce low-density lipoprotein-cholesterol and cardiovascular events. *Am. J. Cardiol.* 9. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2016.11.001>.
- Ong, W.-Y., Feroqui, T., Koh, H.-L., Feroqui, A.A., Ling, E.-A., 2015. Protective effects of ginseng on neurological disorders. *Front. Aging Neurosci.* 7, 129. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2015.00129>.
- Park, B.-J., Lee, Y.-J., Lee, H.-R., Jung, D.-H., Na, H.-Y., Kim, H.-R., Shim, J.-Y., 2012a. Effects of Korean red ginseng on cardiovascular risks in subjects with metabolic syndrome: a double-blind randomized controlled study. *Korean J. Fam. Med.* 33, 190. <https://doi.org/10.4082/kjfm.2012.33.4.190>.
- Park, H.J., Kim, D.H., Park, S.J., Kim, J.M., Ryu, J.H., 2012b. Ginseng in traditional herbal prescriptions. *J. Ginseng Res.* 36, 225–241. <https://doi.org/10.5142/jgr.2012.36.3.225>.
- Ping, F.W.C., Keong, C.C., Bandyopadhyay, A., 2011. Effects of acute supplementation of Panax ginseng on endurance running in a hot & humid environment. *J. Hum. Ergol. (Tokyo)* 40, 63–72.
- Qi, B., Zhang, L., Zhang, Z., Ouyang, J., Huang, H., 2014. Effects of ginsenosides-Rb1 on exercise-induced oxidative stress in forced swimming mice. *Pharmacogn. Mag.* 10, 458–463. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.141818>.
- Rhee, M.-Y., Kim, Y.-S., Bae, J.-H., Nah, D.-Y., Kim, Y.-K., Lee, M.-M., Kim, H.-Y., 2011.

- Effect of Korean red ginseng on arterial stiffness in subjects with hypertension. *J. Altern. Complement. Med.* 17, 45–49. <https://doi.org/10.1097/01.jah.0000388816.92072.4f>.
- Shan, S.-M., Luo, J.-G., Huang, F., Kong, L.-Y., 2014. Chemical characteristics combined with bioactivity for comprehensive evaluation of Panax ginseng C.A. Meyer in different ages and seasons based on HPLC-DAD and chemometric methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 89, 76–82. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2013.10.030>.
- Shergis, J.L., Di, Y.M., Zhang, A.L., Vlahos, R., Helliwell, R., Ye, J.M., Xue, C.C., 2014. Therapeutic potential of Panax ginseng and ginsenosides in the treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Complement. Ther. Med.* 22, 944–953. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2014.08.006>.
- Shin, S.-K., Kwon, J.-H., Jeong, Y.-J., Jeon, S.-M., Choi, J.-Y., Choi, M.-S., 2011. Supplementation of Cheonggukjang and red ginseng Cheonggukjang can improve plasma lipid profile and fasting blood glucose concentration in subjects with impaired fasting glucose. *J. Med. Food* 14, 108–113. <https://doi.org/10.1089/jmf.2009.1366>.
- So, S.H., Lee, J.W., Kim, Y.S., Hyun, S.H., Han, C.K., 2018. Red ginseng monograph. *J. Ginseng. Res.* 42, 549–561. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.05.092>.
- Song, Y.B., An, Y.R., Kim, S.J., Park, H.W., Jung, J.W., Kyung, J.S., Hwang, S.Y., Kim, Y.S., 2012. Lipid metabolic effect of Korean red ginseng extract in mice fed on a high-fat diet. *J. Sel. Food Agric.* 92, 388–396. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4589>.
- Vukan, V., Sung, M.-K., Sievenpiper, J.L., Stavro, P.M., Jenkins, A.L., Di Buono, M., Lee, K.-S., Leiter, L.A., Nam, K.Y., Aronson, J.T., Choi, M., Naem, A., 2008. Korean red ginseng (Panax ginseng) improves glucose and insulin regulation in well-controlled, type 2 diabetes: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study of efficacy and safety. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 18, 46–56. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2006.04.003>.
- Wang, C.-Z., Kim, K.E., Du, G.-J., Qi, L.-W., Wen, X.-D., Li, P., Bauer, B.A., Bissonnette, M.B., Musch, M.W., Chang, E.B., Yuan, C.-S., 2011. Ultra-performance liquid chromatography and time-of-flight mass spectrometry analysis of ginsenoside metabolites in human plasma. *Am. J. Chin. Med.* 39, 1161–1171. <https://doi.org/10.1142/S0192415X11009470>.
- Xiang, Y.-Z., Shang, H.-C., Gao, X.-M., Zhang, B.-L., 2008. A comparison of the ancient use of ginseng in traditional Chinese medicine with modern pharmacological experiments and clinical trials. *Phytother. Res.* 22, 851–858. <https://doi.org/10.1002/ptr.2384>.
- Yang, L., Deng, Y., Xu, S., Zeng, X., 2007. In vivo pharmacokinetic and metabolism studies of ginsenoside Rd. *J. Chromatogr. B Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* 854, 77–84. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2007.04.014>.
- Yang, Y.W., Wang, C., 2000. Clinical study on Shenqi for the treatment of type II diabetes. *Henan Trad. Chin. Med.* 20 (1), 33–34.
- Yoon, M., Lee, H., Jeong, S., Kim, J.J., Nicol, C.J., Nam, K.W., Kim, M., Cho, B.G., Oh, G.T., 2003. Peroxisome proliferator-activated receptor is involved in the regulation of lipid metabolism by ginseng. *Br. J. Pharmacol.* 138, 1295–1302. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705169>.
- Yoshie, F., Iizuka, A., Kubo, M., Komatsu, Y., Matsumoto, A., Imkura, H., Takeda, H., Matsumiya, T., Kondo, K., 2001. Protective effects of Saiko-ka-ryukotsu-boei-to (Chai-Hu-Jia-Long-Gu-Mi-Li-Tang) against atherosclerosis in Kurosawa and Kusanagi hypercholesterolemic (KHC) rabbits. *Pharmacol. Res.* 43, 481–488. <https://doi.org/10.1006/phrs.2001.0864>.
- Zhang, Y.-C., Li, G., Jiang, C., Yang, B., Yang, H.-J., Xu, H.-Y., Huang, L.-Q., 2014. Tissue-specific distribution of ginsenosides in different aged ginseng and antioxidant activity of ginseng leaf. *Molecules* 19, 17381–17399. <https://doi.org/10.3390/molecules191117381>.
- Zhou, L., Zheng, Y., Li, Z., Bao, L., Dou, Y., Tang, Y., Zhang, J., Zhou, J., Liu, Y., Jia, Y., Li, X., 2016. Compound K attenuates the development of atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice via LXR α activation. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms17071054>.

Anexo 3: Hoja de información al paciente. Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos que puedan aparecer con la suplementación de Panax Ginseng.

Investigador Principal

Cristian Didier Hernández García
Tesis doctoral
Nutricionista y Dietista
Nº Col: Cat 000694
Tel: 659-----
Email: didier.hernandez@mex.udl.cat

Centro

Universidad de Lleida (UDL), Facultad de medicina, Departamento de Medicina Experimental del Instituto de Investigación Biomédica IRBLleida.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con el equipo de esta investigación.

Protocolo

Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos que puedan aparecer con la suplementación diaria de 500mg de Panax Ginseng durante dos semanas.

Objetivos

- Analizar la presencia de los 4 ginsenósidos más abundantes en la raíz de la planta (Re, Rg1, Rg2, y Rh2), en muestras de sangre y orina de los deportistas, como una medida de biodisponibilidad y de calidad del extracto.
- Comprobar la seguridad de la administración de 500mg de extracto seco de PG durante dos semanas por medio de la valoración de los efectos secundarios que aparecen en los deportistas incluidos en el estudio.

Voluntarios y tamaño muestral

Criterios de inclusión

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

El experimento se propone contar con 20 voluntarios.

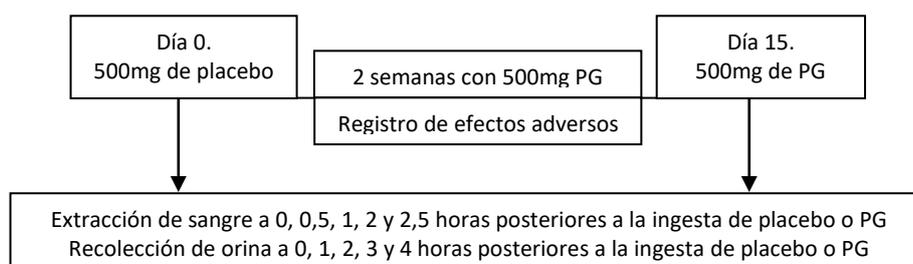
Descripción de la prueba.

Para realizar el experimento, el participante acudirá a los laboratorios en dos ocasiones (día 0 y día 15) para recoger las variables necesarias antes y después del experimento, el voluntario debe permanecer durante 4 horas en el laboratorio sin comer ningún tipo de alimento.

El día 0, el participante ingerirá una cápsula con 500mg de celulosa microcristalina (placebo) donde se comprobará la ausencia de compuestos bioactivos del PG, el día 15 la cápsula contendrá 500mg de extracto seco de PG. Se extraerán muestras de sangre en ambas ocasiones a tiempo 0, 0,5, 1, 2 y 2,5 horas posteriores a la ingesta, además se recogerán muestras de orina a tiempo 0, 1, 2, 3 y 4 horas posteriores a la ingesta de las cápsulas. Entre el día 0 y el día 15, el deportista ingerirá diariamente una cápsula con el extracto del PG dos horas antes de entrenar o dos horas antes de la comida si no entrena.

El deportista deberá cumplimentar un cuestionario para recoger los posibles efectos adversos que pueden aparecer durante las dos semanas. El cuestionario se recogerá en dos ocasiones (primera y segunda semana) durante el tratamiento.

Esquema experimento: Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos de la suplementación con PG.



Extracción de sangre y análisis

Las muestras se obtendrán por medio de una extracción venosa que recogerá 6 ml de sangre en dos tubos. Se centrifugarán a 2000rpm para obtener el plasma durante 6 minutos. La muestra se separará en 2 alícuotas que se conservarán a -80° C hasta su análisis. La extracción será realizada por una enfermera perteneciente al equipo de esta investigación.

La muestra de orina se recolectará en tubos de 15ml para la valoración de compuestos de la planta (ginsenósidos). La muestra se separará en 5 alícuotas de 1mL cada una, se conservarán a -80°C hasta su análisis.

Toma de muestras biológicas

¿QUÉ ES Y CÓMO SE REALIZA? La toma de muestras consiste en recoger una muestra biológica de su organismo. Las muestras biológicas más solicitadas en la práctica clínica son: sangre, orina, heces y esputo, aunque pueden recogerse otras.

¿PARA QUÉ SIRVE? El estudio (bioquímico, citológico, microbiológico, etc.) de las muestras biológicas puede aportar información muy útil sobre el diagnóstico o la evolución de una enfermedad o aportar datos a las investigaciones, lo que permitirá un tratamiento más adecuado. Tan importante como su obtención es el manejo de la muestra, por lo que existen normas estrictas para la correcta recogida, manipulación, transporte y conservación así como para su adecuado procesamiento en laboratorio.

¿QUÉ RIESGOS PUEDE HABER? La toma de las muestras apenas presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del paciente, se efectuará por medio de personal sanitario capacitado y bajo condiciones de seguridad y de asepsia rigurosa.

- Riesgos frecuentes: En el caso de la toma de muestra sanguínea, puede producirse un mínimo hematoma en la zona del pinchazo, por lo que será conveniente que después se realice presión sobre la zona puncionada. El resto de las muestras habitualmente recogidas (orina, esputos, heces) no presentan riesgos.
- Riesgos infrecuentes: En algunos pacientes, por sus características individuales, resulta difícil extraer la muestra de sangre, por lo que tal vez sea preciso puncionarles repetidas veces hasta obtener la muestra de sangre.

Por otra parte hay que tener en cuenta que el PG es un suplemento de fitoterapia de venta libre (cualquier persona puede acceder a su compra en farmacias, dietéticas o tiendas naturistas). Su uso es común en la práctica clínica en un contexto de naturopatía, medicina natural y de nutrición y dietética. Los tratados de fitoterapia y los estudios realizados con este tipo de planta medicinal lo señalan como un producto seguro en humanos. Aun así, raramente puede tener efectos secundarios leves. Dichos efectos se manifiestan como “molestias”, pero en ningún caso representan un peligro para la salud de la persona que lo ingiere.

Los efectos adversos que raramente pueden aparecer son: Molestias gastrointestinales (diarrea, hinchazón, náuseas y vómitos), molestias cardíacas (palpitaciones, taquicardia), nerviosismo (sensación de ansiedad), insomnio y dolor de cabeza.

Confidencialidad

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación

mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio (Nutricionista). Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el nutricionista del estudio podrá relacionar dichos datos con usted y con su historial. Por lo tanto, su identidad no será revelada.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al nutricionista del estudio / colaboradores y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Compensación económica

El investigador del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo. Para la realización del estudio se ha firmado un acuerdo con el centro donde se va a realizar.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto y le serán reintegrados los gastos extraordinarios (por ejemplo, comidas y traslados). Usted no tendrá que pagar por los suplementos del estudio ni recibirá compensación alguna por la simple participación.

Otra información relevante

Cualquier nueva información referente a los suplementos utilizados en el estudio y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por el investigador lo antes posible. Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la suplementación durante el estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una

explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio. Además usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, no debe dar ningún tipo de explicación si no lo desea.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Anexo 4: Consentimiento informado. Valoración de la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos que puedan aparecer con la suplementación de Panax Ginseng.

Yo, Sr. _____

de _____ de edad y con DNI _____

DECLARO

Que he sido informado manera clara y comprensible de la finalidad, limitaciones y beneficios de este estudio por el nutricionista Cristian Didier Hernández; Tel: 659-----; Email: didier.hernandez@mex.udl.cat, de lo siguiente:

El presente estudio pretende valorar la presencia de ginsenósidos en muestras de sangre y orina y de los efectos adversos que puedan aparecer con la suplementación de 500mg de extracto seco de Panax Ginseng. Para ello me han solicitado que participe voluntariamente de la siguiente forma:

- Teniendo una ingesta diaria de 500mg de PG en forma de una cápsula durante 2 semanas.
- Donar muestras de sangre y orina para la valoración de los ginsenósidos en plasma y en orina.
- Cumplimentar un cuestionario una vez a la semana para recolectar los posibles efectos adversos que pueden aparecer con la suplementación del PG.

Se me ha informado de la inocuidad de la cápsulas que debo de consumir, las cuales son elaborados por un laboratorio farmacéutico que posee todos los registros sanitarios, ISO 9001 para la producción y distribución de fórmulas magistrales. Así mismo, que todo el material utilizado ha pasado por análisis de inocuidad microbiológica.

Atendiendo a la naturaleza confidencial, el centro, el investigador principal y sus colaboradores garantizan que los datos de carácter personal de los sujetos incluidos en el estudio se tratarán de acuerdo con las previsiones establecidas en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, se mantendrá el anonimato de los sujetos incluidos en el estudio y la protección de su identidad; no se cederá ningún dato de

carácter personal de los sujetos del estudio. Los resultados del estudio nunca se publicarán de manera que se pueda identificar a las personas que han formado parte de la investigación. Las muestras de sangre y orina recogidas no serán utilizadas para ningún otro tipo de análisis.

La comunicación entre el investigador principal y cada participante se realizará vía telefónica o por mensajería (Whats app).

Manifiesto que han contestado a todas las preguntas que he formulado y dudas que he mostrado al respecto. También he sido informado/a de que en cualquier momento puedo dejar de participar en el presente estudio y por consiguiente revocar mi consentimiento, situación que obligará a los investigadores a destruir las muestras obtenidas y borrar los datos obtenidos a partir de ellas.

Por todos estos motivos, AUTORIZO a que el equipo proceda a la obtención de muestras de sangre y doy mi CONSENTIMIENTO INFORMADO para que estos datos y muestras sean utilizados por los investigadores en el estudio que están realizando con el fin de contribuir a la mejora y ampliación de conocimientos sobre la regulación del metabolismo lipídico

Firmas

Interesado

Investigador

Fecha: _____

Anexo 5: Certificado de análisis Digoxina.

SIGMA-ALDRICH

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103 USA
Email USA: techserv@sial.com Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name: DIGOXIN
analytical standard, >= 95.0 % HPLC
Product Number: D6003
Batch Number: BCBR4893V
Brand: Sigma-Aldrich
CAS Number: 20830-75-5
Formula: $C_{41}H_{64}O_{14}$
Formula Weight: 780.94
Quality Release Date: 03 FEB 2016
Recommended Retest Date: DEC 2019

TEST	SPECIFICATION	RESULT
APPEARANCE (COLOR)	WHITE TO OFF WHITE	WHITE
APPEARANCE (FORM)	POWDER	POWDER
PURITY (HPLC AREA %)	≥ 95.0 %	96.6 %
SOLUBILITY (COLOR)	COLORLESS TO FAINT YELLOW	FAINT YELLOW
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR TO VERY SLIGHTLY HAZY	CLEAR
SOLUBILITY (METHOD)	50 MG/ML IN PYRIDINE	50 MG/ML IN PYRIDINE
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE	CONFORMS
WAVELENGTH (1) (UV)	218 - 220 NM	219.4 NM
MOLAR ABSORBANCY INDEX (1)	14.5 - 15.6	14.9
SOLVENT (UV)	ETHANOL	ETHANOL



Dr. Claudia Geitner
Manager Quality Control
Buchs, Switzerland

Sigma-Aldrich warrants that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.

Anexo 6: Certificado de Análisis y ficha de seguridad del extracto seco del Panax Ginseng.



007203-5
E.S. TIT. GINSENG GINSENOISIDI 30%
N20626L0

A.C.E.F. Spa
29017 FIORENZUOLA D'ARDA (PC)
Via Umbria 9/14
Tel. 0523 241911
Telefax 0523 241929 - 0523 241937
http://www.acef.it
e-mail: acef@acef.it



A.C.E.F.

C.F. e PARTITA IVA 00098610310
Cap. Soc. €2.600.000
R.I.P.C. 032-1433
R.D.P.C. n. 44607
Mecc. Export 002237

AZIENDA CHIMICA E FARMACEUTICA

Certificato Nr. **85341**

Prodotto: **007203-5** **E.S. TIT. GINSENG GINSENOISIDI 30%**

Lotto: **N20626L0** Data Produzione: **03/04/2017** Data Scadenza: **30/04/2020**

Saggi	Specifiche	Risultato
Numero CAS	84650-12-4	Conforme
Nome botanico	Panax ginseng C.A. Meyer	Conforme
Parte della pianta	radice	Conforme
Solvente di estrazione	Acqua/EtanoLo (50/50 V/V)	Conforme
Sito produttivo	Italia/Cina	Conforme
Aspetto	Polvere fine, marrone	Conforme
Identificazione TLC	Positiva	Positiva
Titolo Ginsenosidi	>=30,0 %	30,1
Perdita all'essiccamento	<=5,0 %	3,9
Rapporto Droga/Estratto	8/10.1 (indicativo)	8/10.1 (indicativo)
Solventi Residui (EtanoLo)	<=0,5 %	< 0,5
Metalli Pesanti totali:		
- Metalli pesanti	<=10 ppm	< 10
- Piombo (Pb)	<=3 ppm	< 3
- Cadmio (Cd)	<=1 ppm	< 1
- Mercurio (Hg)	<=0,1 ppm	< 0,1
Conservanti	Assente	Assente
<i>Specifiche microbiologiche</i>		
- Conta batterica totale (*)	<=10.000 CFU/g	< 10000
- Lieviti e muffe (*)	<=100 CFU/g	< 100
- Enterobatteriacee	<=100 CFU/g	< 100
- E.coli	assente/1g	Conforme
- Salmonella	assente/25g	Conforme

Nota:

Conforme alle specifiche tecniche del produttore/fornitore.
Conforms to producer/supplier technical specifications.

26/04/2017

Pagina 1 di 2

Questo documento, prodotto elettronicamente, è valido senza firma e costituisce copia esatta, controllata e siglata sull'originale, dal certificato di analisi del produttore/fornitore, conservato in accordo alle procedure aziendali certificate UNI EN ISO 9001:2008

<<Le informazioni sopra riportate non Vi sollevano dall'obbligo di identificare il prodotto prima dell'impiego. La nostra società non si assume alcuna responsabilità per danni a persone o cose derivanti dall'impiego non corretto dei prodotti da noi commercializzati>>



A.C.E.F. Spa
22017 FIORENZUOLA D'ARDA (PC)
Via Umbra 1/14
Tel. 0523 241911
Telefax 0523 211929 - 0523 241937
<http://www.acef.it>
e-mail: acaf@acel.it



C.F. e PARTITA IVA 00909610330
Cap. Soc. €3.000.000
R.U.P.C. 032-1463
R.D.P.C. n. 44507
Mec. Esp. n. 002337

AZIENDA CHIMICA E FARMACEUTICA

Certificato Nr. 85341

Prodotto: 007203-5 E.S. TIT. GINSENG GINSENSIDI 30%

Lotto: N20626L0 Data Produzione: 03/04/2017 Data Scadenza: 30/04/2020

ALTRE INFORMAZIONI:

- Eccipienti: maltodestrina
- Sostanze ausiliarie: <= 0.5% silice colloidale anidra
- Densità: circa 0.5 g/ml
- Granulometria: >= 90% - passa attraverso al setaccio nr. 500 (setaccio metodica Ph.Eur.)
- Il controllo è fatto sulla materia prima con i seguenti limiti:
 - < 5 ppb aflatoxina B1
 - < 10 ppb aflatoxine totali (somma di B1, B2, G1 e G2)
- Pesticidi residui conforme al Reg. (EC) No. 396/2005 e successive modifiche.
- Il prodotto è privo di glutine e non è stato irradiato
- Il prodotto non contiene e non è prodotto da materie OGM (EEC Reg. 1829/2003 e 1830/2003)
- Conservare in un luogo fresco e asciutto al riparo dalla luce
- Prodotto conforme al Reg. (CE) N° 1933/2015

(*) Tutti i limiti devono essere interpretati con 2X in accordo con la Ph.Eur.
Prodotto per uso dietetico, nutrizionale e alimentare

OTHER INFORMATION:

- Excipients: maltodextrin
- Auxiliary substances: <= 0.5% colloidal anhydrous silica
- Tapped density: about 0.5 g/ml
- Particle size: >= 90% - goes thru sieve nr. 500 (sieve method Eur.Ph.)
- Control is made on raw material with following limits:
 - < 5 ppb aflatoxine B1
 - < 10 ppb total aflatoxin (sum of B1, B2, G1 and G2)
- Residual pesticides compliens to Reg (EC) No. 396/2005 and subs. amendments and updates
- Product gluten free and not irradiated
- Product does not contain and it is not manufactured from OGM components (EEC Reg. 1829/2003 and 1830/2003)
- Storage in cool, dark and dry place.
- The product complies to Reg. (EC) N° 1933/2015

(*) All indicated limits have to be interpreted as 2X according to Ph.Eur.
Product for dietetic, nutritional and food use

Produttore: NVH ITALIA SRL
VIA B. CELLINI 16/4 22071 CADORAGO (CO)

APPROVATO
28/04/2017

Stefano Rastelli
Responsabile CQ

28/04/2017

Pagina 2 di 2

Questo documento, prodotto elettronicamente, è valido senza firma e costituisce copia esatta, controllata e siglata sull'originale, del certificato di analisi del produttore/fornitore, conservato in accordo alle procedure aziendali certificate UNI EN ISO 9001:2008

<La informazione sopra riportata non vi solleva dall'obbligo di identificare il prodotto prima dell'impiego. La nostra società non si assume alcuna responsabilità per danni a persone o cose derivanti dall'impiego non corretto dei prodotti da noi commercializzati>

Anexo 7: Hoja de información al paciente. Efecto de la suplementación con extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático.

Investigador Principal

Cristian Didier Hernández García
Tesis doctoral
Nutricionista y Dietista
Nº Col: Cat 000694
Tel: 659-----
Email: didier.hernandez@mex.udl.cat

Centro

Universidad de Lleida (UDL), Facultad de medicina, Departamento de Medicina Experimental del Instituto de Investigación Biomédica IRBLleida.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con el equipo de esta investigación.

Protocolo prueba piloto

Efecto de la suplementación con 500mg de extracto seco de Panax Ginseng en el perfil lipídico plasmático en hombres deportistas pre post ingesta de grasa.

Objetivos

- Valorar el efecto de 500mg de extracto seco de PG en el perfil lipídico plasmático de hombres corredores pre / post ingesta de grasa.
- Estudiar los cambios en el perfil lipídico plasmático después de dos semanas de tratamiento con 500mg de PG de los participantes en el estudio.
- Observar el efecto del suplemento en el perfil lipídico plasmático después de 2 y 4 horas posteriores a una ingesta alta de grasa.
- Valorar parámetros plasmáticos asociados al metabolismo energético durante el experimento (glucemia, lactato y urato).

Voluntarios y tamaño muestral

Criterios de inclusión

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

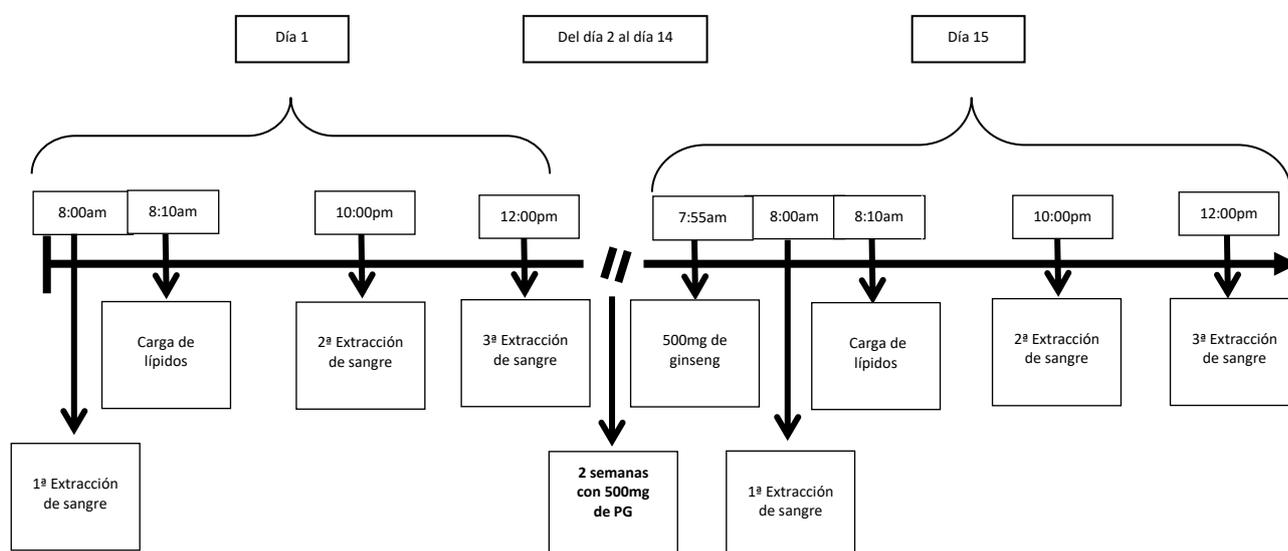
El experimento se propone contar con 20 voluntarios.

Descripción de la prueba

En primer lugar, con el fin de valorar la suplementación de PG en el metabolismo lipídico (Lípidos totales, colesterol total, triglicéridos y ácidos grasos libres), se realizarán varias extracciones de sangre (antes y después de la intervención) para valorar la evolución de dichos parámetros. Además, el experimento se realizará una valoración de la absorción de las grasas del participante por medio de la ingesta de una carga de lípidos.

En segundo lugar, se valorará la evolución de la glucemia, el lactato y el urato por medio de las mismas extracciones sanguíneas.

Esquema de la intervención. Efecto del Panax Ginseng en el metabolismo lipídico.



Duración y dosis.

La prueba se realizará durante 2 semanas, el participante ingerirá 500mg de PG cada día, 2 horas antes del entreno. Los días que no entrene, la ingesta se realizará 2 horas antes de la comida del medio día.

Descripción de la carga de lípidos y cronología de toma de muestras

Como primer paso, los participantes deberán seguir unas pautas de la dieta que debe consumir la noche anterior a la prueba. La cena estará distribuida calóricamente de la siguiente manera: 480kcal; 62+/- 1% de carbohidratos; 16+/- 1% de lípidos; 22 +/- 1% de proteínas con el fin de estandarizar la ingesta de grasas previa a la intervención.

Cena previa a la prueba, ingesta máxima
1er plato
Un plato de verduras u hortalizas, crudas, cocidas o en forma de puré (sin patata ni lácteos como quesos o leche)
+
2do plato
240g (80g) de arroz o 300g (90g) de pasta o patata hervida (puedes añadir tomate natural triturado)
+ 80g de ternera o lomo de cerdo o 100g de pescado blanco o 90g de pollo o pavo a la plancha o al horno + 1 cucharada de postre de aceite para cocinar y aliñar
+
Postre
1 yogurt semidesnatado

El participante acudirá a la cita en ayunas a las 8:00am, donde se procederá a la 1ra extracción de sangre. 10 minutos después de dicha extracción, el participante deberá ingerir una carga de lípidos en forma de un batido que consiste en 500ml de batido de leche chocolateada: 400ml de nata líquida (66g de grasa, 6,8g de azúcar, 4g de proteínas y agua) y 100ml de batido de leche chocolateada (1,5g de grasa, 13,7g de azúcares, 2,5g de proteínas y agua) (Kardinaal et al., 2015), dicho batido aportará aproximadamente 1g de lípidos/kg de peso.

A la 2da y 4ta hora desde el inicio de la prueba se procederá a la segunda y cuarta extracción de sangre.

El participante durante las 4 horas posteriores deberá permanecer quieto, sentado o con una actividad física no intensa, también podrá dar un paseo caminando. No está permitido hacer actividad física de ningún tipo o comer algún tipo de alimento.

El día siguiente de la prueba, el deportista podrá empezar la ingesta diaria de PG en las condiciones antes descritas. El procedimiento se repetirá pasadas las dos semanas de la intervención.

Extracción de sangre y análisis

Las muestras se obtendrán por medio de una punción capilar en el dedo, donde se obtendrán 2 tubos de 300µL cada uno. Se centrifugarán a 2000rpm para obtener el plasma durante 6 minutos. La muestra se separarán en 2 alícuotas que se conservarán a -80º C hasta su análisis.

Parámetros a analizar

- Lípidos totales
- Colesterol total
- Triglicéridos
- Ácidos grasos libres
- Lactato
- Urato

Toma de muestras biológicas

¿QUÉ ES Y CÓMO SE REALIZA? La toma de muestras consiste en recoger una muestra biológica de su organismo. Las muestras biológicas más solicitadas en la práctica clínica son: sangre, orina, heces y esputo, aunque pueden recogerse otras.

¿PARA QUÉ SIRVE? El estudio (bioquímico, citológico, microbiológico, etc.) de las muestras biológicas puede aportar información muy útil sobre el diagnóstico o la evolución de una enfermedad o aportar datos a las investigaciones, lo que permitirá un tratamiento más adecuado. Tan importante como su obtención es el manejo de la muestra, por lo que existen normas estrictas para la correcta recogida, manipulación, transporte y conservación así como para su adecuado procesamiento en laboratorio.

¿QUÉ RIESGOS PUEDE HABER? La toma de las muestras apenas presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del paciente, se efectuará por medio de personal sanitario capacitado y bajo condiciones de seguridad y de asepsia rigurosa.

- Riesgos frecuentes: En el caso de la toma de muestra sanguínea, puede producirse un mínimo hematoma en la zona del pinchazo, por lo que será conveniente que después se realice presión sobre la zona puncionada. El resto de las muestras habitualmente recogidas (orina, esputos, heces) no presentan riesgos.
- Riesgos infrecuentes: En algunos pacientes, por sus características individuales, resulta difícil extraer la muestra de sangre, por lo que tal vez sea preciso puncionarles repetidas veces hasta obtener la muestra de sangre.

Por otra parte hay que tener en cuenta que el PG es un suplemento de fitoterapia de venta libre (cualquier persona puede acceder a su compra en farmacias, dietéticas o tiendas naturistas). Su uso es común en la práctica clínica en un contexto de naturopatía, medicina natural y de

nutrición y dietética. Los tratados de fitoterapia y los estudios realizados con este tipo de planta medicinal lo señalan como un producto seguro en humanos. Aun así, raramente puede tener efectos secundarios leves. Dichos efectos se manifiestan como “molestias”, pero en ningún caso representan un peligro para la salud de la persona que lo ingiere.

Los efectos adversos que raramente pueden aparecer son: Molestias gastrointestinales (diarrea, hinchazón, náuseas y vómitos), molestias cardíacas (palpitaciones, taquicardia), nerviosismo (sensación de ansiedad), insomnio y dolor de cabeza.

Confidencialidad

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio (Nutricionista). Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el nutricionista del estudio podrá relacionar dichos datos con usted y con su historial. Por lo tanto, su identidad no será revelada.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al nutricionista del estudio / colaboradores y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Compensación económica

El investigador del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo. Para la realización del estudio se ha firmado un acuerdo con el centro donde se va a realizar.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto y le serán reintegrados los gastos extraordinarios (por ejemplo, comidas y traslados). Usted no tendrá que pagar por los suplementos del estudio ni recibirá compensación alguna por la simple participación.

Otra información relevante

Cualquier nueva información referente a los suplementos utilizados en el estudio y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por el investigador lo antes posible. Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la suplementación durante el estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio. Además usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, no debe dar ningún tipo de explicación si no lo desea.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Anexo 8: Consentimiento informado. Efecto de la suplementación con extracto seco de *Panax Ginseng* en el perfil lipídico plasmático.

“Efecto del *Panax Ginseng* en el metabolismo lipídico, glucemia, lactato, urato en hombres corredores”.

Yo, Sr. _____

de _____ de edad y con DNI _____

DECLARO

Que he sido informado manera clara y comprensible de la finalidad, limitaciones y beneficios de este estudio por el nutricionista Cristian Didier Hernández; Tel: 659617783; Email: didier.hernandez@mex.udl.cat, de lo siguiente:

El presente estudio pretende Valorar los efectos del *Panax Ginseng* (PG) sobre el metabolismo lipídico, la glucemia, el lactato y urato. Para ello me han solicitado que participe voluntariamente de la siguiente forma:

- Teniendo una ingesta diaria de 500mg de PG en forma de una cápsula durante 2 semanas.
- Ingerir una carga de lípidos en forma de un batido de chocolate 2 veces, antes y después de la intervención.
- Donar muestras de sangre para la valoración de los siguientes parámetros: lípidos totales, colesterol total, triglicéridos, lactato y urato.

Se me ha informado de la inocuidad de la cápsulas que debo de consumir, las cuales son elaborados por un laboratorio farmacéutico que posee todos los registros sanitarios, ISO 9001 para la producción y distribución de fórmulas magistrales. Así mismo, que todo el material utilizado ha pasado por análisis de inocuidad microbiológica.

Atendiendo a la naturaleza confidencial, el centro, el investigador principal y sus colaboradores garantizan que los datos de carácter personal de los sujetos incluidos en el estudio se tratarán de acuerdo con las previsiones establecidas en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, se mantendrá el anonimato de los sujetos incluidos en el estudio y la protección de su identidad; no se cederá ningún dato de

carácter personal de los sujetos del estudio. Los resultados del estudio nunca se publicarán de manera que se pueda identificar a las personas que han formado parte de la investigación. Las muestras de sangre recogidas no serán utilizadas para ningún otro tipo de análisis.

La comunicación entre el investigador principal y cada participante se realizará vía telefónica o por mensajería (Whats app).

Manifiesto que han contestado a todas las preguntas que he formulado y dudas que he mostrado al respecto. También he sido informado/a de que en cualquier momento puedo dejar de participar en el presente estudio y por consiguiente revocar mi consentimiento, situación que obligará a los investigadores a destruir las muestras obtenidas y borrar los datos obtenidos a partir de ellas.

Por todos estos motivos, AUTORIZO a que el equipo proceda a la obtención de muestras de sangre y doy mi CONSENTIMIENTO INFORMADO para que estos datos y muestras sean utilizados por los investigadores en el estudio que están realizando con el fin de contribuir a la mejora y ampliación de conocimientos sobre la regulación del metabolismo lipídico

Firmas

Interesado

Investigador

Fecha: _____

Anexo 9: Cuestionario propio, seguimiento del estilo de vida, adherencia y seguridad del estudio.

Recuerde que este cuestionario lo ha de contestar cada semana (lunes), posteriormente le enviaremos un recordatorio vía whats App para que por la misma vía envíe sus respuestas.

Recuerde que en mensaje debe enviar primero su número de identificación seguido del numero de la pregunta con la respectiva respuesta (si/no)

Por ejemplo

1	no
3	si

2	no
1	no

Nº de identificación

nº	Pregunta	Respuesta
<input type="text"/>	1 En general ¿cree usted que ha cambiado su estilo de vida?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	2 ¿Ha aumentado el consumo de bebidas alcohólicas como vino, cerveza, licores etc., en comparación con la ingesta que tenía habitualmente?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	3 ¿Ha empezado durante esta semana a fumar?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	4 ¿Sigue las pautas de entrenamiento que le ha indicado su entrenador?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	5 ¿Ha ingerido durante esta semana cada día las capsulas tal como se le ha indicado?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	6 ¿Ha olvidado ingerir la capsula en el horario acordado?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	7 ¿Ha tenido diarrea, hinchazón, náuseas o vómitos?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	8 ¿Ha notado pulsaciones aceleradas (taquicardia)?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	9 ¿Ha tenido la sensación de estar más nervioso de lo habitual?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	10 ¿Ha tenido insomnio o algún tipo de problema para dormir?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	11 ¿Ha tenido dolor de cabeza?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO
<input type="text"/>	12 ¿Ha notado algún efecto positivo durante la ingesta del suplemento?	<input type="text"/> SI <input type="text"/> NO

Gracias por contestar las preguntas, recuerde que debe comunicar cualquier molestia que le pueda estar provocando el suplemento

Anexo 10: Libreta de datos personales.

Libreta de datos personales	
Numero de asignación	<input type="text"/>
Nombre	_____
Edad	<input type="text"/>
Dirección de residencia	_____
Ciudad	_____
Teléfono 1	<input type="text"/>
Teléfono 2	<input type="text"/>
Profesión	_____
Estudios	_____
Whats APP	<input type="text"/>
Correo Electrónico	_____
Grupo asignado	<input type="text" value="GPG"/> <input type="text" value="PPG"/>

Anexo 11: Hoja de datos primarios, criterios de inclusión y exclusión.

Hoja de recogida de datos primaria

Numero de asignación

Modalidad de entrenamiento _____

nº de días de entrenamiento

¿Hace cuanto realizas este tipo de entrenamiento?

Horas semanales de entrenamiento

Preparación para competición Cuantas realizadas

Antecedentes patológicos	Diabetes	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>
	Híper/hipo tensión	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>
	Ansiedad/ patología psiquiátrica	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>
	Cardiopatía	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>

Suplementación	Consumo de plantas medicinales	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>
	si es no ¿Cuántas anteriormente?	<input type="text"/>	<input type="text"/>

¿Sabes que es un suplemento de fitoterapia?	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>
¿Tienes conocimientos de plantas medicinales en el deporte?	<input type="text" value=" si"/>	<input type="text" value=" no"/>

Valoración subjetiva del entrevistador

Apto

No Apto

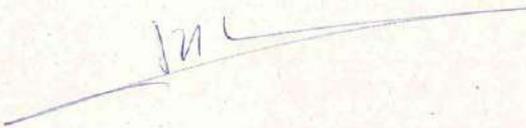
Anexo 12: Aceptación Comité ético.



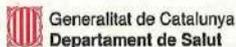
El Comité Ético de Investigación Clínica en la reunión de 30 de noviembre de 2017, acta 12/2017, informó favorablemente la enmienda relevante 1 al proyecto de investigación titulado: **"Evaluación de la eficacia del Panax Ginseng en el aumento del rendimiento deportivo de tipo aeróbico y el estrés oxidativo en hombres, ensayo clínico aleatorizado"**, de código CEIC-1742 con el Dr. Cristian Didier Hernández como investigador principal, y consideró que:

- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación a los objetivos del estudio y que están justificados los riesgos y molestias previsibles para los sujetos participantes.
- La capacidad del investigador y los medios de que dispone son apropiados para llevar a cabo el estudio.
- Las muestras biológicas solicitadas y los datos asociados a las mismas son adecuadas para el cumplimiento de los objetivos de dicho proyecto.
- Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado de los sujetos que participan en el estudio.

Lleida, 11 de diciembre de 2017



Joan Antoni Schoenenberger
Presidente



Anexo 13: Hoja de información al paciente. Evaluación de la eficacia del PG en el rendimiento deportivo, la fatiga, la recuperación y parámetros metabólicos, ensayo clínico aleatorizado.

Investigador Principal

Cristian Didier Hernández García
Tesis doctoral
Nutricionista y Dietista
Nº Col: Cat 000694
Tel: 659-----
Email: didier.hernandez@mex.udl.cat

Centro

Universidad de Lleida (UDL), Facultad de medicina, Departamento de Medicina Experimental del Instituto de Investigación Biomédica IRBLleida.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con el equipo de esta investigación.

Objetivos

- Determinar la eficacia de la suplementación del PG en el rendimiento deportivo en hombres corredores referente al consumo de O₂ y producción de CO₂ durante una prueba submáxima en cinta rodante.
- Estudiar los cambios metabólicos por medio los cuales el PG induce una mejora en el rendimiento deportivo, fatiga y/o utilización de la energía.

- Cuantificar la utilización de sustratos energéticos durante el deporte realizado mediante una prueba de esfuerzo con un protocolo modificado con valoración de gases.
- Explorar la evolución a nivel cardiovascular, durante la actividad física y la recuperación post ejercicio en estos deportistas.
- Valorar los cambios de parámetros relacionados con el metabolismo energético de lípidos.
- Observar la percepción de la fatiga producida por el ejercicio físico durante dicha actividad.

Voluntarios.

Criterios de inclusión.

- Hombres, que su edad sea mayor de 18 años.
- Corredores de fondo, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones (de 10 a 20km), y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

Criterios de exclusión.

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos, enfermedades digestivas y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores.

El experimento se propone contar con 20 voluntarios.

Metodología

Para llevar a cabo el proyecto se plantea un estudio de intervención aleatorizado a doble ciego con deportistas que pertenecen a un grupo de entrenamiento (corredores no profesionales) de

tipo aeróbico de la ciudad de Lleida. Los participantes se aleatorizarán en dos grupos, el grupo control (placebo: matriz de celulosa con la que se encapsula el Panax Ginseng) y el grupo de intervención (500 mg de Panax Ginseng). Se pretende cuantificar el aumento del rendimiento deportivo (consumo de O₂ y producción de CO₂) y utilización de grasas durante la actividad), la recuperación cardiovascular (frecuencia cardíaca), cuantificación de la fatiga (umbral del lactato y esfuerzo percibido). Como también, extracciones de sangre antes y después de la intervención para medir tanto los cambios a nivel de perfil lipídico sanguíneo como los niveles inflamación.

Concretamente el participante participará de la siguiente manera:

- Teniendo una ingesta diaria de 500mg de PG o de placebo en forma de una cápsula durante 2 semanas, 2 horas antes de los entrenos o antes de la comida principal si no entrena.
- Realizando 3 pruebas de esfuerzo, una incremental para valorar umbrales y VO_{2max} y dos con un protocolo modificado para valorar el consumo de O₂, producción de CO₂ y metabolización de las grasas durante la prueba.
- Donar muestras de sangre para la valoración de los siguientes parámetros: colesterol total, lípidos totales y triglicéridos, ácido grasos libres, lactato y parámetros de inflamación.

Se efectuará una extracción de sangre, vía capilar, antes y después de cada prueba de esfuerzo y durante la prueba SUB una punción en el lóbulo de la oreja para la valoración del lactato (Se valora in-situ).

Durante la prueba SUB se realizará un test matemático para evaluar la capacidad de concentración mental del deportista.

Las muestras se obtendrán por medio de una punción capilar en el dedo, donde se obtendrán 2 tubos de 300µL cada uno. Se centrifugarán a 2000rpm para obtener el plasma durante 6 minutos. La muestra se separarán en 2 alícuotas que se conservarán a -80º C hasta su análisis.

Parámetros a analizar

- Lípidos totales
- Colesterol total
- Triglicéridos
- Ácidos grasos libres
- Lactato
- Citocinas relacionadas con la inflamación.

Toma de muestras biológicas

¿QUÉ ES Y CÓMO SE REALIZA? La toma de muestras consiste en recoger una muestra biológica de su organismo. Las muestras biológicas más solicitadas en la práctica clínica son: sangre, orina, heces y esputo, aunque pueden recogerse otras.

¿PARA QUÉ SIRVE? El estudio (bioquímico, citológico, microbiológico, etc.) de las muestras biológicas puede aportar información muy útil sobre el diagnóstico o la evolución de una enfermedad o aportar datos a las investigaciones, lo que permitirá un tratamiento más adecuado. Tan importante como su obtención es el manejo de la muestra, por lo que existen normas estrictas para la correcta recogida, manipulación, transporte y conservación así como para su adecuado procesamiento en laboratorio.

¿QUÉ RIESGOS PUEDE HABER? La toma de las muestras apenas presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del paciente, se efectuará por medio de personal sanitario capacitado y bajo condiciones de seguridad y de asepsia rigurosa.

- Riesgos frecuentes: En el caso de la toma de muestra sanguínea, puede producirse un mínimo hematoma en la zona del pinchazo, por lo que será conveniente que después se realice presión sobre la zona puncionada. El resto de las muestras habitualmente recogidas (orina, esputos, heces) no presentan riesgos.
- Riesgos infrecuentes: En algunos pacientes, por sus características individuales, resulta difícil extraer la muestra de sangre, por lo que tal vez sea preciso puncionarles repetidas veces hasta obtener la muestra de sangre.

Por otra parte hay que tener en cuenta que el PG es un suplemento de fitoterapia de venta libre (cualquier persona puede acceder a su compra en farmacias, dietéticas o tiendas naturistas). Su uso es común en la práctica clínica en un contexto de naturopatía, medicina natural y de nutrición y dietética. Los tratados de fitoterapia y los estudios realizados con este tipo de planta medicinal lo señalan como un producto seguro en humanos. Aun así, raramente puede tener efectos secundarios leves. Dichos efectos se manifiestan como “molestias”, pero en ningún caso representan un peligro para la salud de la persona que lo ingiere.

Los efectos adversos que raramente pueden aparecer son: Molestias gastrointestinales (diarrea, hinchazón, náuseas y vómitos), molestias cardíacas (palpitaciones, taquicardia), nerviosismo (sensación de ansiedad), insomnio y dolor de cabeza.

Confidencialidad

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio (Nutricionista). Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el nutricionista del estudio podrá relacionar dichos datos con usted y con su historial. Por lo tanto, su identidad no será revelada.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al nutricionista del estudio / colaboradores y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Compensación económica

El investigador del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo. Para la realización del estudio se ha firmado un acuerdo con el centro donde se va a realizar.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto y le serán reintegrados los gastos extraordinarios (por ejemplo, comidas y traslados). Usted no tendrá que pagar por los suplementos del estudio ni por la realización de las pruebas. La compensación de su participación consistirá en un informe médico de la prueba de esfuerzo máxima realizada, dicho informe está valorado en 200€ aproximadamente. Los datos obtenidos podrán ser utilizados para sus entrenamientos una vez finalice el estudio.

Otra información relevante

Cualquier nueva información referente a los suplementos utilizados en el estudio y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por el investigador lo antes posible. Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la suplementación durante el estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio. Además usted puede abandonar el estudio en cualquier momento, no debe dar ningún tipo de explicación si no lo desea.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Anexo 14: Consentimiento informado. Evaluación de la eficacia del PG en el rendimiento deportivo, la fatiga, la recuperación y parámetros metabólicos, ensayo clínico aleatorizado.

Yo, Sr. _____

de _____ de edad y con DNI _____

DECLARO

Que he sido informado manera clara y comprensible de la finalidad, limitaciones y beneficios de este estudio por el nutricionista Cristian Didier Hernández; Tel: 659-----; Email: didier.hernandez@mex.udl.cat, de lo siguiente:

El objetivo de este proyecto es demostrar y evaluar el efecto en el rendimiento, recuperación, y fatiga que produce el Panax Ginseng sobre individuos humanos que realizan ejercicio físico de tipo aeróbico. Para ello se plantea un estudio de intervención aleatorizado a doble ciego con deportistas que pertenecen a un grupo de entrenamiento (corredores no profesionales) de tipo aeróbico de la ciudad de Lleida. Los participantes se aleatorizarán en dos grupos, el grupo control (placebo: matriz de celulosa con la que se encapsula el Panax Ginseng) y el grupo de intervención (500 mg de Panax Ginseng). Se pretende cuantificar el aumento del rendimiento deportivo (consumo de O₂ y producción de CO₂) y utilización de grasas durante la actividad), la recuperación cardiovascular (frecuencia cardíaca), cuantificación de la fatiga (umbral del lactato y esfuerzo percibido) como también, extracciones de sangre antes y después de la intervención para medir tanto los cambios a nivel de perfil lipídico sanguíneo como los niveles de inflamación.

Concretamente el participante participará de la siguiente manera:

- Teniendo una ingesta diaria de 500mg de PG o de placebo en forma de una cápsula durante 2 semanas, 2 horas antes de los entrenos o antes de la comida principal si no entrena.
- Realizando 3 pruebas de esfuerzo, una incremental para valorar umbrales y VO_{2max} y dos con un protocolo modificado (en adelante SUB) para valorar el consumo de O₂, producción de CO₂ y metabolización de las grasas durante la prueba.
- Donar muestras de sangre para la valoración de los siguientes parámetros: colesterol total, lípidos totales y triglicéridos, glucemia, lactato, y citocinas relacionadas con la inflamación. Se efectuará una extracción de sangre, vía capilar, antes y después de cada prueba de esfuerzo y durante la prueba SUB, una punción en el lóbulo de la oreja para la

valoración del lactato.

- Durante la prueba SUB se realizará un test matemático para evaluar la capacidad de concentración mental del deportista.

Se me ha informado de la inocuidad de la cápsulas que debo de consumir, las cuales son elaborados por un laboratorio farmacéutico que posee todos los registros sanitarios, ISO 9001 para la producción y distribución de fórmulas magistrales. Así mismo, que todo el material utilizado ha pasado por análisis de inocuidad microbiológica. De la misma manera declaro que no padezco de ninguna enfermedad o situación patológica conocida que me impida la realización de la actividad física (Prueba de esfuerzo).

Atendiendo a la naturaleza confidencial, el centro, el investigador principal y sus colaboradores garantizan que los datos de carácter personal de los sujetos incluidos en el estudio se tratarán de acuerdo con las previsiones establecidas en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, se mantendrá el anonimato de los sujetos incluidos en el estudio y la protección de su identidad; no se cederá ningún dato de carácter personal de los sujetos del estudio. Los resultados del estudio nunca se publicarán de manera que se pueda identificar a las personas que han formado parte de la investigación. Las muestras de sangre recogidas no serán utilizadas para ningún otro tipo de análisis.

Manifiesto que han contestado a todas las preguntas que he formulado y dudas que he mostrado al respecto. También he sido informado/a de que en cualquier momento puedo dejar de participar en el presente estudio y por consiguiente revocar mi consentimiento, situación que obligará a los investigadores a destruir las muestras obtenidas y borrar los datos obtenidos a partir de ellas. Por todos estos motivos, AUTORIZO a que el equipo proceda a la obtención de muestras de sangre y doy mi CONSENTIMIENTO INFORMADO para que estos datos y muestras sean utilizados por los investigadores en el estudio que están realizando con el fin de contribuir a la mejora y ampliación de conocimientos sobre la investigación.

Interesado

Investigador

Fecha: _____

Anexo 15: Certificado de análisis de la Celulosa microcristalina.



FAGRON IBERICA S.A.U. - C/SEPE TAPIOLAS,150 - ES-08226 TERRASSA - BARCELONA
Tel:937310722
Fax:937311644
www.fagron.es

Pg. 1
28/03/2018

Certificado de Análisis

CELULOSA Microcristalina 101

PM	
Nº CAS	9004-34-6
Nº Producto	32360-12
Fecha Conclusión	28/03/18
Nº Lote Fab.	2610154030

Fecha de caducidad	28/07/20
Nº Análisis / Analysis Nº	T0003878
Nº Lote / Batch Nº	18C28-H13-00125
Cod Muestra / Sample Nº	T0003878
Calidad Final	PH.EUR. 8.8

Características: Polvo blanco o casi blanco, fino o granuloso. Prácticamente insoluble en agua, acetona, etanol, tolueno, ácidos diluidos y en disolución de hidróxido de sodio de 50 g/l.

Description: White or almost white, fine or granular powder. Practically insoluble in water, acetone, ethanol, toluene, dilute acids and in 50g/l solution of sodium hydroxide.

ENSAYOS/TESTS	ESPECIFICACIONES / SPECIFICATIONS	RESULTADOS / RESULTS	METODO / METHOD
Identificación	A# B	Conforme	A0132360-00
Pérdida por desecación	< 7,0 %	5,06 %	A0832360-00
Metales pesados	< 10 ppm	< 10 ppm	A1332360-00
Cenizas sulfúricas	< 0,1 %	< 0,05 %	AEB32360-00
pH	5,0 - 7,5 (12,5 %)	6,3	ATN32360-00
Conductividad	< 75 µS/cm	21 µS/cm	A5732360-00
Sustancias solubles en agua	< 0,25 %	0,13 %	A9132360-00
Sustancias solubles en éter	< 0,05 %	0,01 %	A9632360-00
Aerobios totales	< 1000 UFC / g	< 1000 UFC/g	AHD32360-00
Hongos y levaduras	< 100 UFC / g	< 100 UFC/g	AHE32360-00
Escherichia coli	Negativo / g	Conforme	AIE32360-00
Staphylococcus aureus	Negativo / g	Conforme	ATH32360-00
Pseudomonas aeruginosa	Negativo / g	Conforme	ATI32360-00
Salmonella	Negativo / 10 g	Conforme	AJH32360-00
Disolventes residuales	Test Ph.Eur.	Conforme	AEB32360-00
Solubilidad	Test Ph.Eur.	Conforme	AJM32360-00

Conservación: En envase bien cerrado, protegido de la luz.
Storage: In a well-closed container, protected from light.

Anna Viñas
Directora Técnica Farmacéutica

Anexo 16: Ficha de seguridad de la Celulosa microcristalina.



ROIG FARMA, S.A.U.
GRUPO FAGRON
Teléfono: 93 731 07 22
Telefax: 93 731 16 44
consultas@roigfarma.com

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD
Directiva 91/155/CE

CELULOSA MICROCRISTALINA 101

1. Identificación de la sustancia o del preparado y de la sociedad o empresa

Denominación: CELULOSA MICROCRISTALINA 101

Empresa: Roig-Farma, S.A. * Josep Tapioles 150 - Terrassa
Tel.: 7310722 * Fax: 7311644

Teléfono de urgencias: 91-5620420

2. Composición/información sobre los componentes

CAS N° 9004-34-6

3. Identificación de peligros

Producto no peligroso

4. Primeros auxilios

Ingestión: Lavar la boca con agua.
Contacto con los ojos: lavar con abundante agua.
Contacto con la piel: lavar con agua.
Por inhalación: Sacar al aire libre.

5. Medidas de lucha contra incendios

Medios de extinción habituales: dióxido de carbono, polvos o agua.

6. Medidas a tomar en caso de vertido accidental

Recójase mecánicamente el material. Introducir en recipientes cerrables. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado.

7. Manipulación y almacenamiento

Mantener los contenedores bien cerrados
Almacenar en lugares secos y ventilados



ROIG FARMA, S.A.U.
GRUPO FAGRON
Teléfono: 93 731 07 22
Telefax: 93 731 16 44
consultas@roigfarma.com

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD
Directiva 91/155/CE

8. Controles de exposición/protección personal

Manipular el producto en un lugar ventilado
Se recomienda usar guantes y gafas de protección.
Máscara antipolvos
Manipular con las precauciones de higiene industrial adecuadas, y respetar las normas de seguridad.

9. Propiedades físicas

Aspecto:	polvo
Color:	blanco
Solubilidad	soluble en agua
pH	5.5 - 7.0

10. Estabilidad y reactividad

Producto estable

11. Información toxicológica

No presenta reglamentación. La celulosa es un componente de casi todos los alimentos vegetales. Una prueba de alimentación subcrónica con ratas durante tres meses no mostró efectos nocivos. La celulosa se utiliza en grandes cantidades a nivel farmacéutico desde hace años y no se han registrado efectos nocivos.

12. Informaciones ecológicas

No presenta ningún peligro para el ecosistema

13. Consideraciones relativas a la eliminación

Observar todos los reglamentos estatales y locales sobre la protección del medio ambiente.

14. Información relativa al transporte

Producto no sujeto a reglamentación

15. Información reglamentaria

No requiere



ROIG FARMA, S.A.U.
GRUPO FAGRON
Teléfono: 93 731 07 22
Telefax: 93 731 16 44
consultas@roigfarma.com

HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD
Directiva 91/155/CE

16. Otras informaciones

Los datos suministrados en esta ficha de seguridad se basan en nuestro conocimiento actual. Describen tan sólo las medidas de seguridad en el manejo de este producto y no representan una garantía sobre las propiedades descritas del mismo.

Anexo 17: Plantilla de diario dietético.

Disanta
Nutrició

Personalitzem la teva alimentació

Recordatorio de 24 Horas →

PRE / POST

Número de registro:

FECHA:

	Hora aprox. / entreno	Alimentos, bebidas y condimentos consumidos (indicar cantidad aproximada)
Desayuno		
Media mañana		
Comida		
Merienda		
Cena		
Antes de dormir		

Cristian Didier Hernandez
Dietista - Nutricionista
Col·legiat n° CAT - 000694

Iris Castells Meda
Dietista - Nutricionista
Col·legiat n° CAT - 000937

Disanta Nutrició · Avinguda Alcalde Porqueres, 74 (25005 Lleida) · Tel. 973 241 976 · www.disantanutricio.com

Anexo 18: Diario de entrenamientos.



DIARIO DE ENTRENOS SEMANA PREVIA AL EXPERIMENTO

Número identificador

DÍA (Fecha)	TIPO DE ENTRENO (Modalidad del ejercicio)	DISTANCIA (Km)	DURACIÓN (Horas y minutos)
Total de km recorridos durante la semana			
Total de horas realizadas durante la semana			

Anexo 19: Hoja de información al paciente: Efecto del Panax Ginseng en el rendimiento deportivo, la fatiga, inflamación y daño oxidativo proteico en carreras de competición.

Investigador Principal

Cristian Didier Hernández García
Tesis doctoral
Nutricionista y Dietista
Nº Col: Cat 000694
Tel: 659617783
Email: didier.hernandez@mex.udl.cat

Centro

Universidad de Lleida (UDL), Facultad de medicina, Departamento de Medicina Experimental del Instituto de Investigación Biomédica IRBLleida.

Nos dirigimos a usted para informarle sobre un estudio de investigación en el que se le invita a participar. El estudio ha sido aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Arnau de Vilanova de Lleida.

Nuestra intención es tan solo que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este estudio. Para ello lea esta hoja informativa con atención y nosotros le aclararemos las dudas que le puedan surgir después de la explicación. Además, puede consultar con las personas que considere oportuno.

Participación voluntaria

Debe saber que su participación en este estudio es voluntaria y que puede decidir no participar o cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento, sin que por ello se altere la relación con el equipo de esta investigación.

Objetivos

- Determinar la eficacia de la suplementación del PG en la mejora del rendimiento deportivo de tipo aeróbico en hombres en la ciudad de Lleida.
- Cuantificar la disminución de la fatiga producida por el ejercicio físico durante dicha actividad.
- Cuantificar biomarcadores de estrés oxidativo proteico en plasma de los individuos

Voluntarios y tamaño de la muestra

Criterios de inclusión: Hombres, corredores de 10 a 20km, que participen en un entrenamiento supervisado por un equipo especializado como paso previo a la realización de competiciones, que su edad sea mayor de 18 años y que tengan entrenamientos superiores o iguales a 3 días semanales.

Criterios de exclusión:

- Deportistas que lleven algún tipo de suplementación deportiva de tipo ergogénico, en busca de optimizar cualquier aspecto relacionado con el deporte.
- Participantes que declare alguna de las siguientes patologías: Cualquier situación relacionada con el síndrome metabólico, hiper o hipotensión arterial, problemas cardiacos de cualquier tipo, depresión o problemas psiquiátricos y diabetes (tipo 1 o 2).
- Fumadores

Metodología

Se trata de un estudio experimental aleatorizado ciego, los participantes que se incluyan en este estudio se aleatorizarán en dos grupos (grupo intervención y grupo control) los deportistas no sabrán a qué grupo pertenecen hasta la finalización del estudio. Para recoger todas las variables necesarias, los integrantes deberán reunirse con los investigadores principales para la toma de muestras en 4 ocasiones de la forma en que se describe a continuación:

El primer día, el 16 de diciembre de 2017, día previo a la carrera popular de Lleida "XXXVII Pujada a la Seu Vella", los deportistas deberán acudir al edificio anexo del Hospital Universitario Arnau de Vilanova para iniciar la recogida de muestras. En el laboratorio se les facilitará un envase para recoger la primera muestra de orina que deberán entregar a la persona encargada de recogerla y, a continuación, se procederá a realizar una primera extracción de sangre capilar.

El segundo día, el 17 de diciembre de 2017, día de la primera carrera popular, se realizará una segunda toma de muestra de sangre capilar de los mismos deportistas, que tendrá lugar en una zona habilitada cerca de la línea de meta y a la finalización de dicha carrera, donde también se les facilitará un formulario donde deberán indicar su marca deportiva (su mejor registro de tiempo en el evento), la sensación de fatiga percibida durante la prueba y la ingesta de desayuno previo al evento. Se le entregará las pastillas a cada participante (placebo o intervención) según el orden de llegada.

El 18 de diciembre de 2017, día siguiente al evento, los participantes del estudio iniciarán el tratamiento con una cápsula que contiene o 500 mg de Panax Ginseng o placebo, según el grupo al que pertenezca el deportista, hasta la segunda carrera popular "Sant Silvestre de Lleida" (31 de diciembre de 2017). Durante las dos semanas de tratamiento, el participante ingerirá dicha cápsula 2 horas antes de entrenar o durante la mañana si no entrena.

El tercer día, el 30 de diciembre de 2017, día previo a la segunda carrera popular "Sant Silvestre de Lleida", los participantes deberán acudir nuevamente al laboratorio en las mismas condiciones que en la primera carrera para repetir el procedimiento explicado anteriormente.

El cuarto día, el 31 de diciembre de 2017, día de la segunda carrera popular, a la finalización del evento se procederá a la cuarta extracción de sangre capilar de cada deportista, que también tendrá lugar en una zona habilitada cerca de la línea de meta. Al igual que en la primera carrera popular, se recogerán todas las variables descritas anteriormente.

Parámetros a analizar

- Lípidos totales
- Colesterol total
- Triglicéridos
- Ácidos grasos libres
- Tipología de ácidos grasos libres
- Parámetros de inflamación
- Daño oxidativo proteico.

Toma de muestras biológicas

¿QUÉ ES Y CÓMO SE REALIZA? La toma de muestras consiste en recoger una muestra biológica de su organismo. Las muestras biológicas más solicitadas en la práctica clínica son: sangre, orina, heces y esputo, aunque pueden recogerse otras.

¿PARA QUÉ SIRVE? El estudio (bioquímico, citológico, microbiológico, etc.) de las muestras biológicas puede aportar información muy útil sobre el diagnóstico o la evolución de una enfermedad o aportar datos a las investigaciones, lo que permitirá un tratamiento más adecuado. Tan importante como su obtención es el manejo de la muestra, por lo que existen normas estrictas para la correcta recogida, manipulación, transporte y conservación así como para su adecuado procesamiento en laboratorio.

¿QUÉ RIESGOS PUEDE HABER? La toma de las muestras apenas presenta riesgos. Para garantizar la seguridad del paciente, se efectuará por medio de personal sanitario capacitado y bajo condiciones de seguridad y de asepsia rigurosa.

- Riesgos frecuentes: En el caso de la toma de muestra sanguínea, puede producirse un mínimo hematoma en la zona del pinchazo, por lo que será conveniente que después se realice presión sobre la zona puncionada. El resto de las muestras habitualmente recogidas (orina, esputos, heces) no presentan riesgos.
- Riesgos infrecuentes: En algunos pacientes, por sus características individuales, resulta difícil extraer la muestra de sangre, por lo que tal vez sea preciso puncionarles repetidas veces hasta obtener la muestra de sangre.

Por otra parte hay que tener en cuenta que el PG es un suplemento de fitoterapia de venta libre (cualquier persona puede acceder a su compra en farmacias, dietéticas o tiendas naturistas). Su uso es común en la práctica clínica en un contexto de naturopatía, medicina natural y de nutrición y dietética. Los tratados de fitoterapia y los estudios realizados con este tipo de planta medicinal lo señalan como un producto seguro en humanos. Aun así, raramente puede tener efectos secundarios leves. Dichos efectos se manifiestan como “molestias”, pero en ningún caso representan un peligro para la salud de la persona que lo ingiere.

Los efectos adversos que raramente pueden aparecer son: Molestias gastrointestinales (diarrea, hinchazón, náuseas y vómitos), molestias cardíacas (palpitaciones, taquicardia), nerviosismo (sensación de ansiedad), insomnio y dolor de cabeza.

Confidencialidad

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los sujetos participantes se ajustará a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de protección de datos de carácter personal. De acuerdo a lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, para lo cual deberá dirigirse al investigador principal del estudio (Nutricionista). Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código y solo el nutricionista del estudio podrá relacionar dichos datos con usted y con su historial. Por lo tanto, su identidad no será revelada.

Sólo se transmitirán a terceros y a otros países los datos recogidos para el estudio que en ningún caso contendrán información que le pueda identificar directamente, como nombre y apellidos, iniciales, dirección, etc. En el caso de que se produzca esta cesión, será para los mismos fines del estudio descrito y garantizando la confidencialidad como mínimo con el nivel de protección de la legislación vigente en nuestro país.

El acceso a su información personal quedará restringido al nutricionista del estudio / colaboradores y al Comité Ético de Investigación Clínica, cuando lo precisen para comprobar los datos y procedimientos del estudio, pero siempre manteniendo la confidencialidad de los mismos de acuerdo a la legislación vigente.

Compensación económica

El investigador del estudio es el responsable de gestionar la financiación del mismo. Para la realización del estudio se ha firmado un acuerdo con el centro donde se va a realizar.

Su participación en el estudio no le supondrá ningún gasto y le serán reintegrados los gastos extraordinarios (por ejemplo, comidas y traslados). Usted no tendrá que pagar por los suplementos del estudio y le será bonificada la inscripción a las carreras.

Otra información relevante

Cualquier nueva información referente a los suplementos utilizados en el estudio y que pueda afectar a su disposición para participar en el estudio, que se descubra durante su participación, le será comunicada por el investigador lo antes posible. Si usted decide retirar el consentimiento para participar en este estudio, ningún dato nuevo será añadido a la base de datos.

También debe saber que puede ser excluido del estudio si los investigadores del estudio lo consideran oportuno, ya sea por motivos de seguridad, por cualquier acontecimiento adverso que se produzca por la suplementación durante el estudio o porque consideren que no está cumpliendo con los procedimientos establecidos. En cualquiera de los casos, usted recibirá una explicación adecuada del motivo que ha ocasionado su retirada del estudio.

Al firmar la hoja de consentimiento adjunta, se compromete a cumplir con los procedimientos del estudio que se le han expuesto.

Anexo 20: consentimiento informado: Efecto del Panax Ginseng en el rendimiento deportivo, la fatiga, inflamación y daño oxidativo proteico en carreras de competición.

Yo, Sr. _____

de _____ de edad y con DNI _____

DECLARO

Que he sido informado manera clara y comprensible de la finalidad, limitaciones y beneficios de este estudio por el nutricionista Cristian Didier Hernández (Tel: 659617783, email: didier.hernandez@mex.udl.cat), de lo siguiente:

El presente estudio pretende valorar los efectos del Panax Ginseng (PG) sobre el rendimiento deportivo, la fatiga, inflamación y daño oxidativo proteico por medio de una ingesta diaria de 500mg de Panax Ginseng durante 2 semanas entre dos carreras populares de 10km: la XXXVII Pujada a la Seu Vella el 17 de diciembre del 2017 y la Sant Silvestre el 31 de diciembre del 2017. Para ello me han solicitado que participe voluntariamente de la siguiente forma:

- Inscribiéndome y realizando dos carreras (la XXXVII Pujada a la Seu Vella el 17 de diciembre del 2017 y la Sant Silvestre el 31 de diciembre del 2017).
- Teniendo una ingesta diaria de 500mg de PG en forma de una cápsula. Dicha ingesta se realiza entre las dos carreras (2 semanas) 2 horas antes de los entrenos y de la segunda carrera.
- Donar muestras de sangre para la valoración de los siguientes parámetros: Lípidos totales, Triglicéridos, ácidos grasos libres, parámetros de inflamación y daño oxidativo proteico.

Se me ha informado de la inocuidad de la cápsulas que debo de consumir, las cuales son elaborados por un laboratorio farmacéutico que posee todos los registros sanitarios, ISO 9001 para la producción y distribución de fórmulas magistrales. Así mismo, que todo el material utilizado ha pasado por análisis de inocuidad microbiológica.

Atendiendo a la naturaleza confidencial, el centro, el investigador principal y sus colaboradores garantizan que los datos de carácter personal de los sujetos incluidos en el estudio se tratarán de acuerdo con las previsiones establecidas en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre,

por el que se aprueba el Reglamento de desarrollo de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal, se mantendrá el anonimato de los sujetos incluidos en el estudio y la protección de su identidad; no se cederá ningún dato de carácter personal de los sujetos del estudio. Los resultados del estudio nunca se publicarán de manera que se pueda identificar a las personas que han formado parte de la investigación. Las muestras de sangre recogidas no serán utilizadas para ningún otro tipo de análisis.

Manifiesto que han contestado a todas las preguntas que he formulado y dudas que he mostrado al respecto. También he sido informado/a de que en cualquier momento puedo dejar de participar en el presente estudio y por consiguiente revocar mi consentimiento, situación que obligará a los investigadores a destruir las muestras obtenidas y borrar los datos obtenidos a partir de ellas. Además me han informado que me será bonificada la inscripción en ambas carreras.

Por todos estos motivos, AUTORIZO a que el equipo proceda a la obtención de muestras de sangre y orina y doy mi CONSENTIMIENTO INFORMADO para que estos datos y muestras sean utilizados por los investigadores en el estudio que están realizando con el fin de contribuir a la mejora y ampliación de conocimientos sobre la investigación.

Interesado

Investigador

Fecha: _____