

# SUPLEMENTACIÓN CON BROMELINA EN EL DAÑO MUSCULAR PRODUCIDO DURANTE EL EJERCICIO FÍSICO EXCÉNTRICO. ESTUDIO BROMESPORT

## BROMELAIN SUPPLEMENTATION ON MUSCLE DAMAGE PRODUCED DURING THE ECCENTRIC EXERCISE. BROMESPORT STUDY

### RESUMEN

**Introducción:** Este estudio examina los efectos de la suplementación con bromelina sobre marcadores de daño muscular anatómico-estructurales (edema intersticial), biológicos y funcionales de fuerza, provocado mediante un ejercicio físico con componente excéntrico, intensificado en algunos grupos con una suplementación de oclusión vascular. El objetivo es evaluar si la bromelina es útil para disminuir la clínica asociada con el DOMS y facilitar la recuperación de la fuerza muscular tras un trabajo excéntrico.

**Material y métodos:** Estudio piloto, diseño cuasi-experimental multicéntrico, aleatorio, a doble ciego, paralelo, controlado con placebo. Se seleccionaron voluntarios sanos varones, repartidos aleatoriamente en los siguientes grupos: Sin oclusión Suplementado con Bromelina (GES), y Placebo (GEP), con Oclusión Suplementado con Bromelina (GEOS) y Placebo (GEOP).

En todos los sujetos se evaluó el dolor muscular, fuerza explosiva (squat jump y counter movement jump), signos biológicos de citolisis (creatinfosfo-quinasa, lactato-deshidrogenasa y creatinina), y edema intersticial global y segmentario.

Los tests se realizaron justo antes (T1), inmediatamente después del ejercicio excéntrico (T2), a las 24h (T3), 48h (T4) y 72h (T5). Los sujetos del grupo suplementado recibieron extracto de 50 mg. Rottapharm, SL), (100 mg, 30 minutos previos a la realización del ejercicio y 50 mg al finalizar la sesión), mientras que el otro grupo, recibió placebo, ambos en forma de comprimidos.

**Resultados y conclusiones:** Se analizaron 45 varones sanos de edad ( $20,49 \pm 1,70$ ). La suplementación con bromelina es eficaz para disminuir el dolor asociado al DOMS en todas las fases, especialmente a las 48 horas post-lesión favoreciendo una disminución más rápida del dolor. Previene y neutraliza el edema intramuscular agudo producido en la realización de un ejercicio con componente excéntrico. Disminuye la pérdida precoz de la fuerza explosiva elástica tras la realización de un trabajo excéntrico acelerando la reparación tisular tras la lesión.

Estos resultados demuestran que la suplementación con bromelina previene la citolisis precoz, favoreciendo así la regeneración en fases muy tempranas de la lesión muscular y manteniendo su efecto en la fase inflamatoria de la lesión. Todo esto permite mejorar la recuperación muscular y disminuir las lesiones relacionadas con el trabajo físico con componente excéntrico.

**Palabras clave:** Bromelina. DOMS. Ejercicio físico excéntrico. Recuperación muscular. Edema. Citolisis. Fuerza explosiva. Creatinina.

### CORRESPONDENCIA:

Raquel Blasco Redondo  
Avda. Real de Burgos s/n 47071 Valladolid  
E-mail rblasco@saludcastillayleon.es

Aceptado: 03.07.2012 / Original n° 606

### SUMMARY

**Introduction:** This study examines the effects of bromelain supplementation on anatomical-structural (interstitial edema), biological and functional features of strength markers of muscle damage, caused by physical exercise with eccentric component, intensified in some groups with a supplementation of vascular occlusion. The objective is to assess whether bromelain is helpful to reduce the clinic associated with DOMS and facilitate the recovery of muscle strength after eccentric work.

**Material and methods:** A pilot study, quasi-experimental multicenter, randomized, double-blind, parallel, placebo controlled trial. We selected healthy male volunteers, randomly divided into the following groups: No occlusion Supplemented with bromelain (GES) and Placebo (GEP), with occlusion Supplemented with bromelain (GEOS) and Placebo (GEOP).

In all subjects was assessed muscle pain, explosive strength (squat jump and counter movement jump), biological signs of cytolysis (creatinfosfo kinase, lactate dehydrogenase and creatinine), and global and segmental interstitial edema.

The tests were performed just before (T1), immediately after eccentric exercise (T2), at 24h (T3), 48h (T4) and 72 h (T5).

Subjects in the supplemented group received bromelain extract (50 mg Fortilase, Rottapharm, SL), (100 mg, 30 minutes prior to exercise and 50 mg at the end of the session), while the other group received placebo, both in the form of tablets.

**Results and conclusions:** Forty-four healthy older men ( $20,49 \pm 1,70$ ) were analyzed. The supplementation with bromelain is effective in reducing the pain associated with DOMS at all stages, especially at 48 hours post-injury favoring a faster decrease in pain. Prevents and neutralizes acute intramuscular edema occurred in the execution of an eccentric exercise component. Decreases the loss of explosive strength after the completion of a job eccentric work accelerating tissue repair after the injury.

These results demonstrate that bromelain supplementation prevents early cytolysis, thus promoting regeneration in very early stages of muscle injury and maintaining its effect in the inflammatory phase of injury. All this allows to improve muscle recovery and reduce injuries related to physical work with eccentric component.

**Key words:** Bromelain. DOMS. Eccentric exercise. Muscle recovery. Edema. Cytolysis. Explosive strength. Creatinine.

Raquel Blasco Redondo<sup>1</sup>

Jacobo A. Rubio Arias<sup>2</sup>

Anna Anguera Vilá<sup>3</sup>

Arantxa Ayllón Sánchez<sup>4</sup>

Domingo J. Ramos Campo<sup>5</sup>

José F. Jiménez Díaz<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Doctor en Medicina y Cirugía. Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte. Universidad Europea Miguel de Cervantes. Centro Regional de Medicina Deportiva. Junta de Castilla y León. Valladolid

<sup>2</sup>Doctor en Ciencias del Deporte. Facultad de Ciencias de la Actividad Física y del Deporte. Universidad Católica San Antonio de Murcia

<sup>3</sup>Doctor en Medicina y Cirugía. Dpto. médico. Rottapharm SL, Barcelona

<sup>4</sup>Licenciada en Ciencias de la Actividad física y del Deporte. Laboratorio de Fisiología. Universidad Europea Miguel de Cervantes. Valladolid

<sup>5</sup>Doctor en Ciencias del Deporte. Laboratorio de Rendimiento y Readaptación Deportiva. Facultad de Ciencias del Deporte. Universidad de Castilla la Mancha. Toledo

<sup>6</sup>Doctor en Medicina y Cirugía. Laboratorio de Rendimiento y Readaptación Deportiva. Facultad de Ciencias del Deporte. Universidad de Castilla la Mancha. Toledo

## INTRODUCCIÓN

El denominado DOMS (dolor muscular de comienzo tardío) es un cuadro clínico extraordinariamente frecuente, (entre el 25% y hasta el 100% de aparición)<sup>1-3</sup>, en el que el paciente refiere sensación de entumecimiento, pinchazos y dolor franco que aparece entre las 24 y 48 horas tras la realización de un ejercicio físico no habitual con predominio excéntrico<sup>4,5</sup>. En este sentido, también se ha demostrado que la restricción parcial del flujo sanguíneo durante la realización de un ejercicio de baja intensidad incrementa la percepción de DOMS 24 y 48h tras el ejercicio, en comparación con el mismo ejercicio realizado sin oclusión vascular<sup>6</sup>.

Los mecanismos por los cuales el ejercicio no rutinario (en volumen o intensidad) pueden dar lugar al daño tisular son numerosos<sup>7</sup> pero la mayoría de los estudios sostienen que es la inflamación aguda (aquella que no supera los 7 días de duración) la causa primaria por la que se desencadena el cuadro. Este componente inflamatorio muscular se puede ver ocasionalmente incrementado cuando existe cierto grado de retención hídrica intramuscular<sup>4</sup>.

Existen muchos marcadores del componente flogístico del daño muscular, pero ninguno de ellos es capaz de indicar por sí mismo el grado de inflamación del tejido dañado. Por ello, se utilizan una batería de marcadores indirectos (bioquímicos, morfométricos y funcionales fundamentalmente) que contribuyen en mayor o menor medida a evaluar el estado de inflamación y la respuesta de los tratamientos instaurados para su control<sup>8-11</sup>.

Las alteraciones funcionales relacionadas con el DOMS son el resultado de una combinación de factores, que determinan en cada uno de los tipos de daño muscular y su consecuencia clínica que es el dolor<sup>11</sup>. Estas alteraciones son de dos tipos, unas de aparición precoz y de etiopatogenia mecánica mientras que otras son de aparición más tardía y con un claro componente inflamatorio.

## Ejercicio excéntrico y daño mecánico

El ejercicio excéntrico implica alargamiento en el tiempo de la contracción muscular y puede provocar daños, de etiología mecánica, como consecuencia de la rotura del sarcolema<sup>7-10</sup>. Estos hechos llevan a la inmediata disminución de la producción de fuerza<sup>7</sup> y a la aparición de un dolor muscular de aparición precoz (primeras 6 horas) así como a la aparición posterior de dolor muscular tardío (DOMS) que se agudiza 2-3 días después de la lesión muscular<sup>7-8</sup>. Estas interrupciones del sarcolema condicionan así mismo daños ultraestructurales, tales como rupturas en la transmisión de la línea Z<sup>9-10</sup>, extravasación de proteínas miofibrilares como la creatin-fosfoquinasa (CPK), lactato-deshidrogenasa (LDH), mioglobina, cadena pesada de miosina y troponina I<sup>11</sup> además de edema. Tanto la ruptura fibrilar como la posterior extravasación de las proteínas y el edema obstaculizan la función contráctil y pueden ser causa del dolor<sup>8-9</sup>.

## Ejercicio excéntrico e inflamación

Además del daño mecánico, también existe una respuesta inflamatoria más tardía a la lesión muscular, puesta en marcha por la liberación de mediadores inmunológicos y que produce concentraciones elevadas de células inflamatorias en el foco lesional<sup>11-14</sup>. Esta respuesta inflamatoria tiene un objetivo último que es la reparación del daño muscular, pero ocasionalmente puede ser desproporcionada respecto al daño producido, especialmente en las lesiones por sobreesfuerzo, o tras periodos de inactividad prolongados<sup>11,15-16</sup>.

Aunque la evidencia indica que la migración de las células de la respuesta inflamatoria es un componente obligatorio del proceso de reparación muscular<sup>11,14-18</sup>, otros datos muestran que la disminución de la fuerza muscular que tiene lugar tras el ejercicio no puede explicarse completamente por el daño mecánico sino que además se correlaciona estrechamente con la invasión del componente inflamatorio en las células musculares<sup>19-20</sup>.

La respuesta inflamatoria es por lo tanto, la responsable de iniciar, ampliar y/o resolver una lesión del músculo esquelético, pero también es sin duda, la responsable de ralentizar la recuperación muscular<sup>21</sup>.

### **Ejercicio excéntrico y permeabilidad capilar**

Con el ejercicio excéntrico, se produce un aumento de la permeabilidad capilar que permite el paso de proteínas como fibrinógeno, albúmina y varias globulinas a los espacios intersticiales de la zona lesional, para prevenir la emigración de microorganismos invasores de otras partes del cuerpo e infecten los tejidos dañados<sup>22-23</sup>. Esta retención hídrica es diferente de la encontrada en ectasias venosas por dificultad en el retorno venoso, de aparición inmediata o precoz tras el estímulo<sup>24-25</sup>.

Ocasionalmente, este edema perilesional perdura provocando una disminución de las funciones del músculo, fundamentalmente la de su capacidad contráctil.

### **Pérdida de fuerza, marcadores y oclusión**

La pérdida de fuerza muscular y el dolor que se observa inmediatamente después del ejercicio (entre 1-6 horas de producido éste) tiene una estrecha relación con la etiopatogenia mecánica mientras que, la segunda fase de la pérdida de fuerza que aparece con el DOMS y que acontece entre 48 y 72 horas tras el esfuerzo, parece estar íntimamente relacionada con una desproporcionada respuesta del componente inflamatorio y del edema perilesional<sup>21-23</sup>.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente expuesto, clasificamos los marcadores válidos para evaluar el grado de daño muscular en tres grandes grupos que son los marcadores biológicos de daño muscular, los marcadores anatómo-estructurales (edema intersticial de diferente etiopatogenia precoz y subagudo) y finalmente la valoración funcional de los diferentes tipos de fuerza.

### **Utilidad del tratamiento para la reparación del daño muscular**

Son muy numerosos los tratamientos que se han propuesto para el DOMS, tanto con intervenciones nutricionales (sustancias con eficacia probada antioxidante en su mayoría), terapias farmacológicas (fundamentalmente con fármacos antiinflamatorios no esteroideos) y no farmacológicas (técnicas de estiramientos, masaje, estimulación eléctrica, etc.). Sin embargo, la eficacia de estas modalidades es inconsistente y la mayoría de los tratamientos son eficaces para aliviar alguno, pero no todos los síntomas de DOMS<sup>17,24</sup>.

Existen trabajos que indican que el suplemento con proteasas podría potencialmente reducir el daño muscular, el edema y el dolor producido por el trabajo excéntrico mediante la disminución del componente inflamatorio, consiguiendo de esta manera optimizar el entrenamiento, evitar los efectos secundarios inmediatos del entrenamiento regenerativo, evitar la pérdida de fuerza y reducir el riesgo de lesiones<sup>13,25-26</sup>.

La bromelina es una endoproteinasa, cisteinproteasa. Puede resultar un tratamiento eficaz en el daño muscular producido por el ejercicio físico excéntrico ya que disminuye la biosíntesis de la formación de plasmacinas y prostaglandinas proinflamatorias PGE2 y PGF2<sup>13,27</sup>, interactuando con la cascada del ácido araquidónico y por lo tanto, disminuyendo el dolor<sup>28-29</sup>. Además, digiere la fibrina y previene su formación, permitiendo así la eliminación del edema<sup>30-33</sup>.

El propósito de este estudio es evaluar los efectos de la suplementación con bromelina sobre una selección de marcadores de daño muscular anatómo-estructurales (edema intersticial de diferente etiopatogenia precoz y subagudo), biológicos y funcionales de los diferentes tipos de fuerza, provocado mediante la realización de un ejercicio físico excéntrico puro, intensificado en algunos casos con un componente de oclusión vascular con el fin de incrementar el componente inflamatorio-edematoso. El objetivo último es evaluar si esta terapia puede resultar útil para

disminuir la clínica asociada con el DOMS así como la recuperación de la fuerza muscular tras un trabajo excéntrico.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

Estudio piloto con un diseño cuasi-experimental multicéntrico, aleatorio, a doble ciego, paralelo, controlado con placebo.

El estudio fue aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica de los centros participantes. El protocolo se ha diseñado de acuerdo a los principios establecidos en la Declaración de Helsinki y se han seguido las normas de Buena Práctica Clínica en el desarrollo del estudio.

### Población del estudio

Los sujetos incluidos en el estudio, fueron voluntarios sanos de sexo masculino, entre 18 a 25 años de edad. En cada centro participante se ha seguido la misma metodología cuasi-experimental, siendo no obstante, los grupos de intervención distribuidos de la siguiente manera:

La muestra utilizada para el estudio, estuvo formada por un total de 45 sujetos, distribuida en dos centros:

En el centro 1, se contaba con un total de 24 sujetos distribuidos aleatoriamente en dos grupos, un grupo de trabajo excéntrico suplementado con Bromelina (GES, n = 13; edad:  $20,08 \pm 1,89$ ; talla:  $1,76 \pm 0,07$  y peso:  $71,51 \pm 8,36$ ) frente a un grupo placebo (GEP, n = 11; edad:  $19,54 \pm 5,71$ ; talla:  $1,61 \pm 0,47$  y peso:  $67,14 \pm 20,29$ ).

En el centro 2, formaron parte de la muestra un total de 21 sujetos distribuidos aleatoriamente en dos grupos, un grupo de trabajo excéntrico en condiciones de oclusión suplementado con Bromelina (GEOS, n = 9; edad:  $19,02 \pm 4,12$ ; talla:  $1,65 \pm 0,36$  y peso:  $66,09 \pm 16,00$ ) y un grupo placebo (GEOP, n = 12; edad:  $19,32 \pm 4,68$ ; talla:  $1,69 \pm 0,41$  y peso:  $74,83 \pm 18,71$ ).

El proyecto de investigación con el diseño del estudio fue aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica de cada centro de estudio. Todos los sujetos fueron informados acerca de las características del estudio y firmaron el consentimiento antes de ser incluidos en el mismo.

### Metodología

Tras una fase de selección llevada a cabo dos semanas antes del inicio del estudio, se realizaba una anamnesis y exploración física, así como una analítica de sangre, para descartar la presencia de posibles patologías.

Posteriormente en la fase de familiarización, se les indicó unas directrices dietéticas, adiestrándolos en los test y se evaluó la fuerza máxima isométrica (FMI), para estandarizar la carga a emplear.

Una semana después, y tras un calentamiento dinámico estandarizado de 10 minutos, se llevó a cabo el ejercicio (12 series de 10 repeticiones) de la fase excéntrica de la sentadilla hasta alcanzar los  $90^\circ$  de flexión. Para eliminar la fase concéntrica del ejercicio, dos ayudantes fueron instruidos para elevar la carga sincrónicamente con la ejecución del sujeto. Por motivos de seguridad, el protocolo de ejercicio se llevó a cabo en una máquina multipower, y la intensidad del ejercicio fue ajustada al 60% de su fuerza máxima isométrica previamente calculada. Se empleó un metrónomo para estandarizar el ritmo de ascenso-descenso de la barra en 1,5:1,5. El grupo GEOP realizó el mismo ejercicio con una restricción parcial del flujo sanguíneo. La restricción del flujo sanguíneo fue inducida por dos torniquetes neumáticos (Komprimeter, Riester, Alemania), que fueron colocados en las zonas más proximales de los muslos de los sujetos.

Para la cuantificación de los parámetros analíticos previstos en el estudio se extrajeron muestras sanguíneas, justo antes del calentamiento (T1), inmediatamente después del ejercicio excéntrico (T2), a las 24 (T3), a las 48 (T4) y a las 72 horas (T5) del mismo. También se evaluó el dolor muscular con una Escala Visual Analógica (VAS),

inmediatamente después, a las 24, 48 y 72 horas del mismo, y se controlaron las variaciones de la composición corporal loco-regional (Figura 1).

Los pacientes del grupo suplementado recibieron un extracto de bromelina de 50 mg (Fortilase, Rottapharm, SL), mientras que el grupo control recibió un placebo de 50 mg, ambos en forma de comprimidos, con una pauta de 2 comprimidos (100 mg) antes de los ejercicios y un comprimido (50 mg) al finalizar los mismos. No se han presentado en ningún momento efectos colaterales ni secundarios, ni han visto alterados ninguno de los parámetros evaluados como marcadores de salud en los individuos objeto del estudio.

### Valoración anatómico estructural

Se cuantificó la altura (estadímetro Detecto D52®, Webb City, EE.UU), peso (báscula Cobol 20®, Barcelona, España) y porcentaje de grasa corporal así como contenido de agua intersticial global y segmentaria, por bioimpedanciometría (Inbody 720, Biospace Co).

### Valoración de las manifestaciones de la fuerza

Valoración de la fuerza explosiva: Mediante test de saltos verticales, *squat jump* (SJ), o salto sin contramovimiento partiendo de una flexión de rodilla de 90°, y *counter movement jump* (CMJ), o salto con contramovimiento según la descripción de Byrne y Eston<sup>34</sup>. Todos los sujetos realizaron tres repeticiones de cada una de las pruebas y se escogieron para el análisis los valores máximos.

### Cuantificación del dolor muscular (DM)

Con objeto de estimar el dolor muscular (DM) inducido por el ejercicio excéntrico a nivel de cuádriceps, isquiotibiales y glúteos, se utilizó la Escala VAS), adaptada de Melzak<sup>35</sup>. De esta forma, se cuantificó el grado de dolor como la distancia existente (con una precisión de 0.1cm) entre el extremo izquierdo de la línea y el trazo vertical realizado por el sujeto.

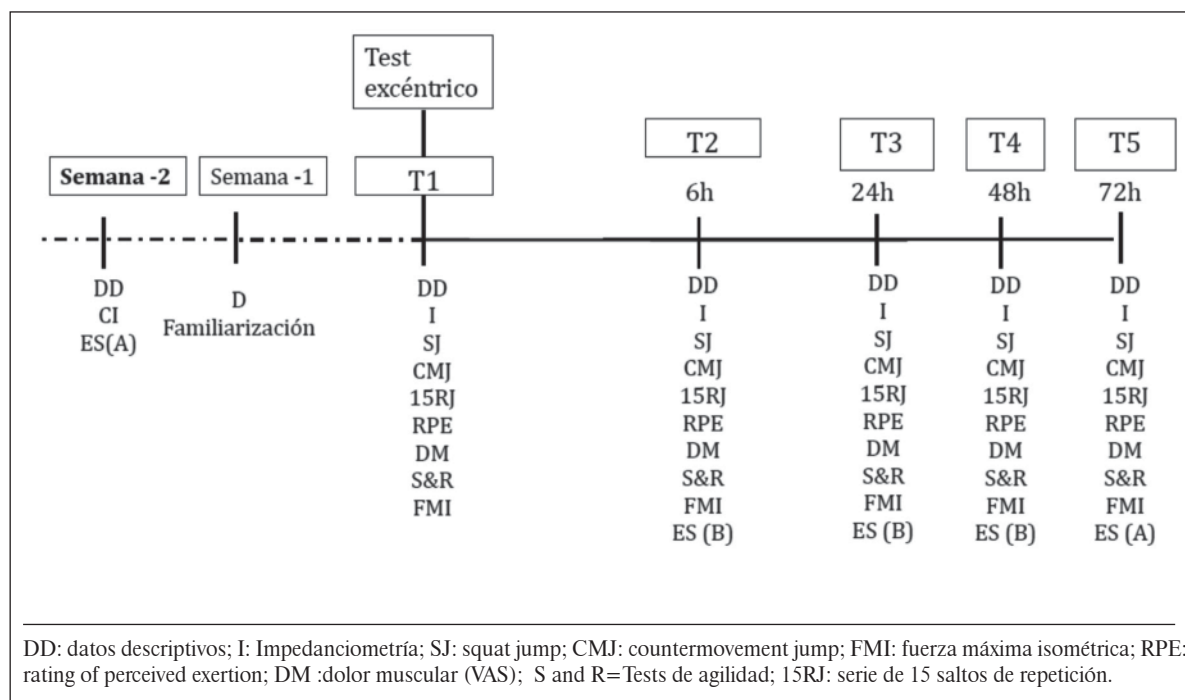


FIGURA 1. Diseño experimental del estudio

## Valoración biológica

A todos los sujetos tanto en la fase de selección, como al final en el tiempo T5 (72h) se les practicó extracción de sangre para determinación de hemograma completo y bioquímica.

Adicionalmente en los tiempos, T2 (justo después del ejercicio), T3 (24h), T4 (48 h) y T5 (72h) también se determinó CPK, LDH, (AST), (ALT), y creatinina, parámetros indicadores de lesión muscular.

## Análisis estadístico

Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS v.18.0 para Windows. La normalidad de las variables dependientes se analizó con la prueba Kolmogorov-Smirnov con la corrección de la significación de Lilliefors. Para las variables que se ajustaron a una distribución normal se realizó un Modelo Lineal General de Medidas Repetidas con post hoc de Bonferroni y DMS para grupos desequilibrados. Aquellas variables que no se ajustaron a una distribución normal, se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney para varias muestras independientes y la prueba de Friedman para varias muestras relacionadas, todas ellas bajo un criterio mínimo de significación de  $p \leq 0.05$ .

## Tamaño muestral

Este es un estudio piloto para recoger los primeros datos sobre el efecto de la bromelina en

el daño muscular. El mínimo número de sujetos por grupo de tratamiento que aparece en la mayoría de los estudios en el ámbito de ciencias de la salud es de unos 10 sujetos. Estimando que puede haber un 20% de pérdidas de seguimiento o abandonos, el número de sujetos a evaluar se ha calculado en 12 por grupo de intervención.

## RESULTADOS

El análisis estadístico permite demostrar que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas intragrupo en las medidas basales (T1), ni en los marcadores anatómico-estructurales (Tabla 1). Con respecto a los marcadores funcionales de los diferentes tipos de fuerza no se encuentran interacciones con significación estadística intergrupo en las variables flexibilidad, fuerza máxima isométrica y velocidad (Tabla 2).

## Cuantificación del dolor muscular (DM)

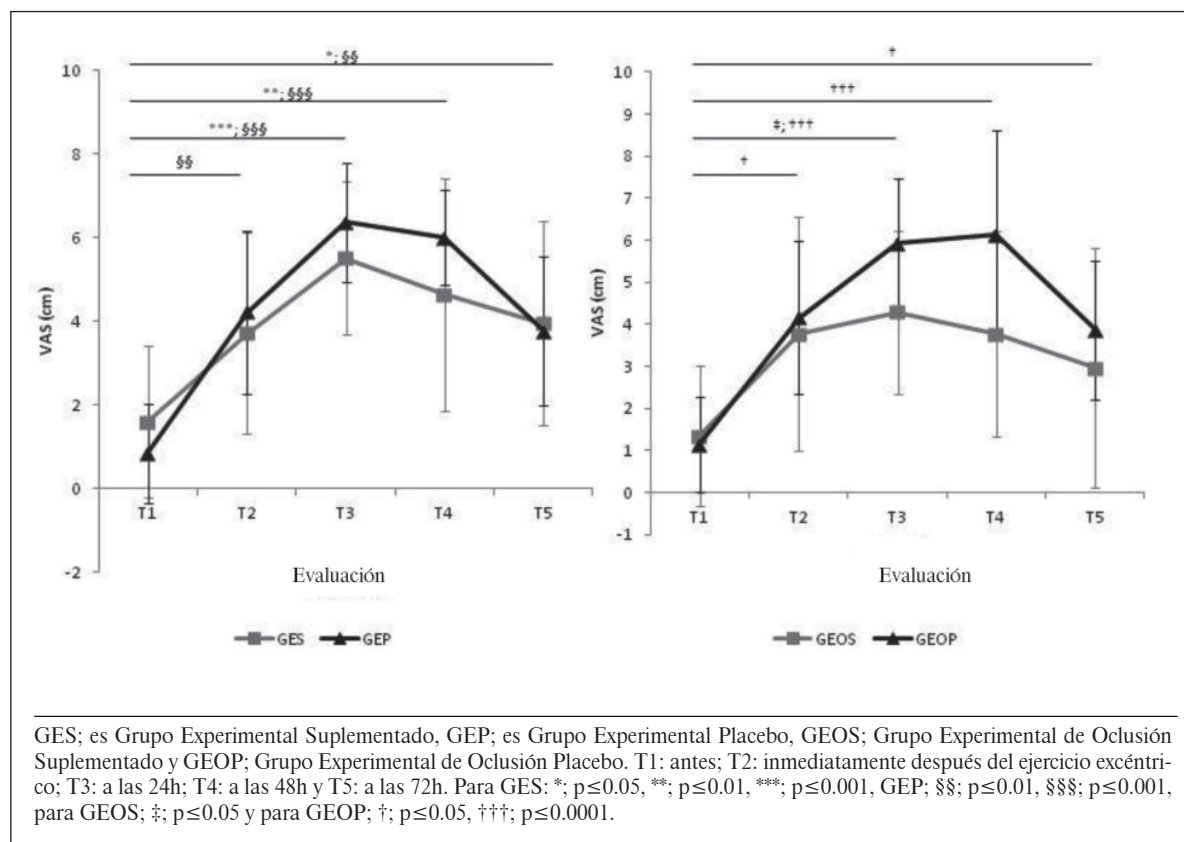
A través de la Escala VAS, se observan diferencias estadísticamente significativas intragrupo en el GES entre T1 y T3 ( $p=0.000$ ), T1 y T4 ( $p=0.002$ ), y T1 y T5 ( $p=0.015$ ) y en GEP entre T1 y T2 ( $p=0.002$ ), T1 y T3 ( $p=0.000$ ), T1 y T4 ( $p=0.000$ ) y entre T1 y T5 ( $p=0.004$ ). Dentro del grupo de oclusión, en el GEOS existen diferencias intragrupo estadísticamente significativas entre T1 y T3 ( $p=0.012$ ), mientras que en el GEOP esta diferencia se observa entre T1 y T2 ( $p=0.013$ ), T1 y T3 ( $p=0.000$ ),

**TABLA 1.**  
Valores del  
agua  
intracelular  
y extracelular

Grupo		T1		T2		T3		T4		T5	
		GES	GEP	GES	GEP	GES	GEP	GES	GEP	GES	GEP
Agua Extracelular (I)	Media	15.938	15.691	16.031	15.718	16.162	15.800	16.262	15.891	16.192	16.036
	DS	1.461	1.809	1.872	1.981	1.657	1.925	1.634	1.916	1.427	2.220
Agua Intracelular (I)	Media	26.708	26.382	26.823	26.291	26.962	26.427	27.162	26.555	27.108	26.673
	DS	2.392	2.778	2.933	3.255	2.591	3.217	2.498	3.094	2.283	3.405
Grupo		GEO S	GEO P	GEO S	GEO P	GEO S	GEO P	GEO S	GEO P	GEO S	GEO P
Agua Extracelular (I)	Media	17.188	18.700	17.313	18.914	17.500	19.014	17.463	18.943	17.700	18.843
	DS	1.335	1.088	1.508	0.840	1.536	1.173	1.545	1.292	1.484	1.008
Agua Intracelular (I)	Media	29.625	32.214	29.413	32.086	29.975	32.586	29.975	32.600	30.313	32.643
	DS	2.576	1.954	2.477	1.801	2.661	2.374	2.802	2.586	2.515	2.064

	Grupo	T1		T2		T3		T4		T5	
		GES	GEP	GES	GEP	GES	GEP	GES	GEP	GES	GEP
Flexibilidad (cm)	Media	18.615	17.023	18.369	16.250	19.712	16.336	20.423	16.132	20.446	17.009
	DS	8.911	9.061	8.750	9.783	8.379	9.468	7.383	9.075	7.441	9.065
Fuerza máxima Isométrica (N/kg)	Media	1.868	2.035	1.831	1.926	1.855	1.693	1.935	1.715	1.949	1.819
Velocidad (s)	Media	9.722	9.881	10.11	10.41	9.856	9.977	9.725	10.04	9.711	9.825
	DS	0.488	0.35	0.557	1.05	0.506	0.809	0.44	0.81	0.476	0.546
	Grupo	GEO	GEO	GEO	GEO	GEO	GEO	GEO	GEO	GEO	GEO
		S	P	S	P	S	P	S	P	S	P
Flexibilidad (cm)	Media	20.489	15.692	19.022	13.608	19.322	14.792	19.133	14.725	20.067	15.875
	DS	7.095	6.236	6.113	5.755	5.920	5.463	5.914	5.058	6.595	5.709
Fuerza máxima Isométrica (N/kg)	Media	1.547	1.528	1.289	1.156	1.312	1.205	1.218	1.308	1.441	1.241
Velocidad (s)	Media	10.27	10.3	10.96	10.95	10.42	10.5	10.27	10.24	10.22	10.18
	DS	0.592	0.375	1.293	1.351	0.848	0.768	0.735	0.595	0.797	0.4

**TABLA 2.** Valores de los marcadores funcionales



**FIGURA 2.** Evaluación del dolor (diferencias intragrupo)

T1 y T4 (p=0.000) y T1 y T5 (p=0.011). Finalmente se encuentran diferencias significativas

intergrupo en T4 entre el GEOP y GEOS (p=0.029) (Figura 2).

### Marcadores anatómico-estructurales

*Edema segmental en el brazo dominante y brazo no dominante.* Se observan diferencias significativas en el momento T2, entre los grupos GEOS y GEOP (en brazo dominante  $p=0.032$  y en brazo no dominante  $p=0.036$ ). En el grupo GEOS se produce un descenso significativo entre el momento T1 y T2 ( $p=0.002$ ) en el edema segmental del brazo dominante y no dominante que no se observa en el GEOP. En el grupo no sometido a oclusión vascular no se evidencian diferencias significativas intragrupo (Figura 3).

### Marcadores funcionales

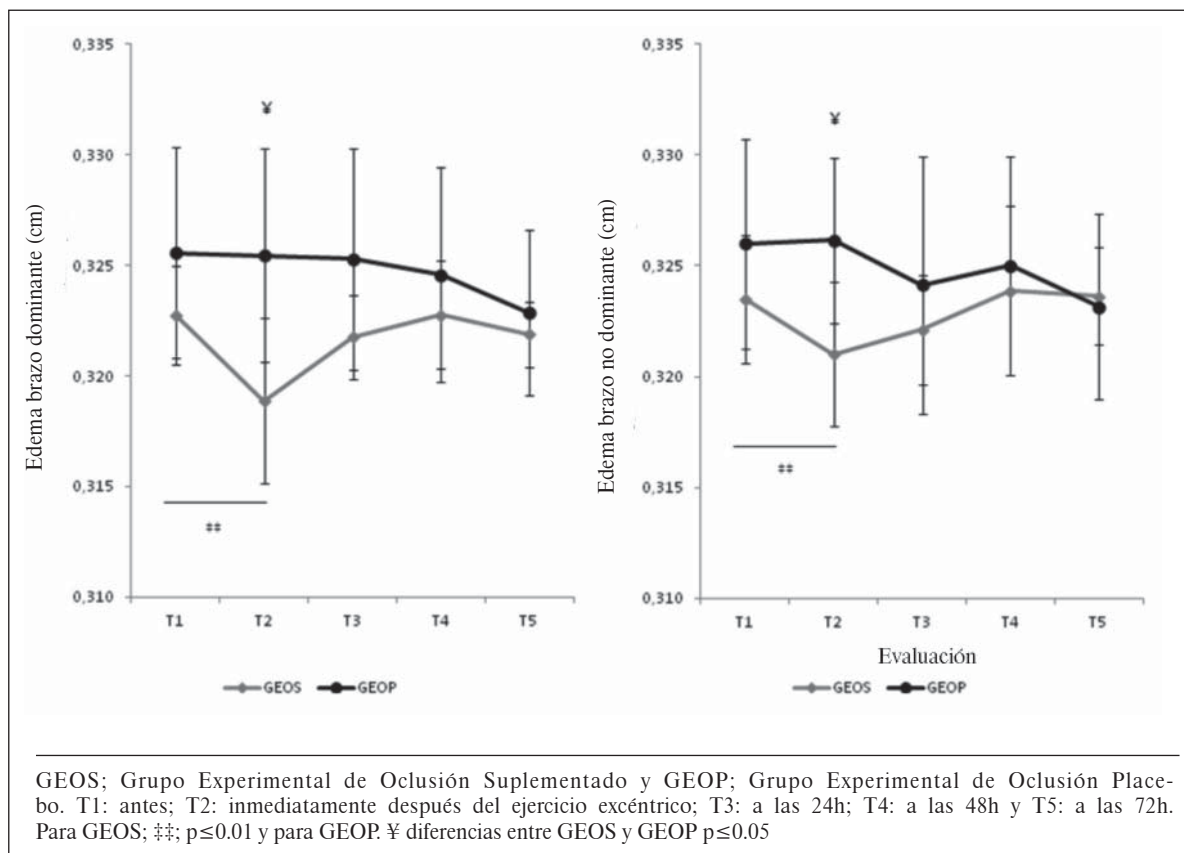
*Valoración de las manifestaciones de la fuerza*

- En el *Squat Jump* (SJ), no se encontraron diferencias intergrupos en ninguno de los

momentos de la evaluación. Sin embargo se evidencian disminuciones significativas intragrupo en los diferentes momentos de evaluación, en el GEP entre T1 y T2 ( $p=0.006$ ) y en el GEOP también entre T1 y T2 ( $p=0.016$ ) (Figura 4).

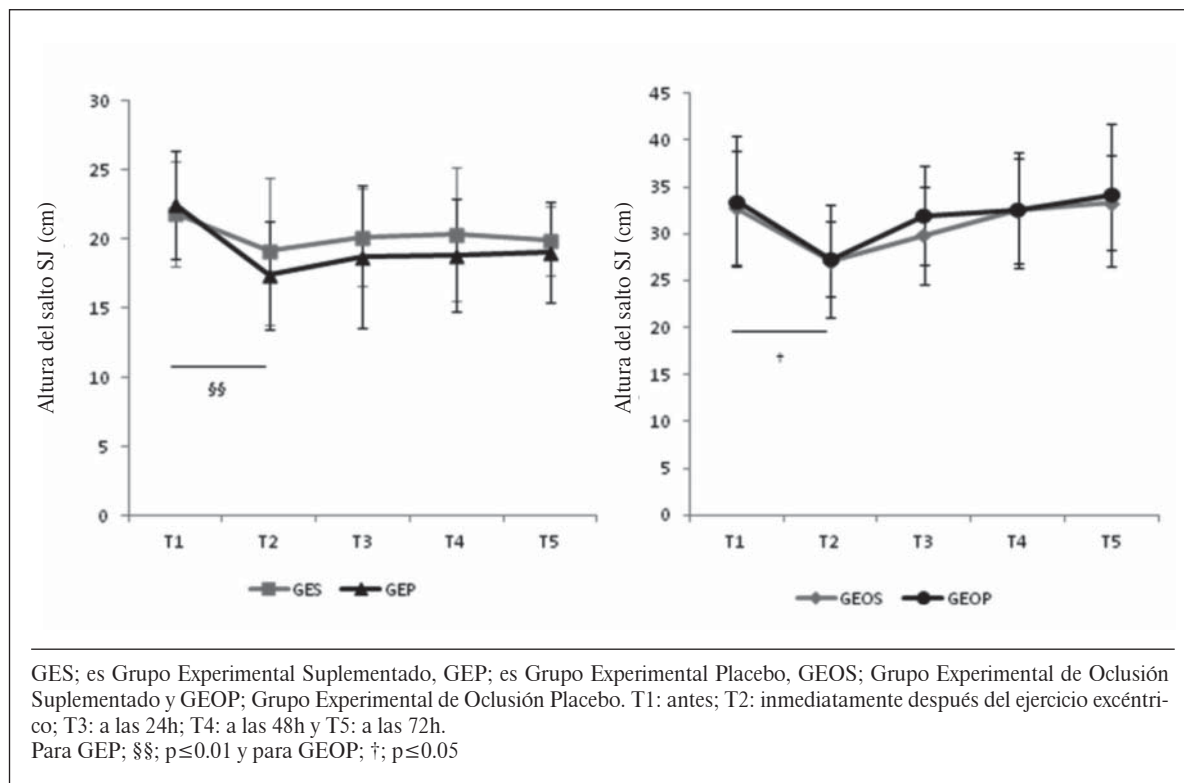
- En el *Counter movement jump* (CMJ), no se encontraron diferencias intergrupo en ninguno de los momentos de la evaluación pero cuando se evaluaron las diferencias intragrupo, en el GES se observó un descenso significativo en T1 respecto a T5 ( $p=0.012$ ). En el GEP, se observó un descenso significativo cuando se comparaba T1 respecto a T2 ( $p=0.013$ ), descenso que no se apreciaba en el GES. Por otro lado, en el grupo GEOS se encuentra un descenso significativo cuando comparamos T1 respecto a T2 ( $p=0.001$ ),

**FIGURA 3.**  
Edema del  
brazo  
dominante  
y del brazo no  
dominante

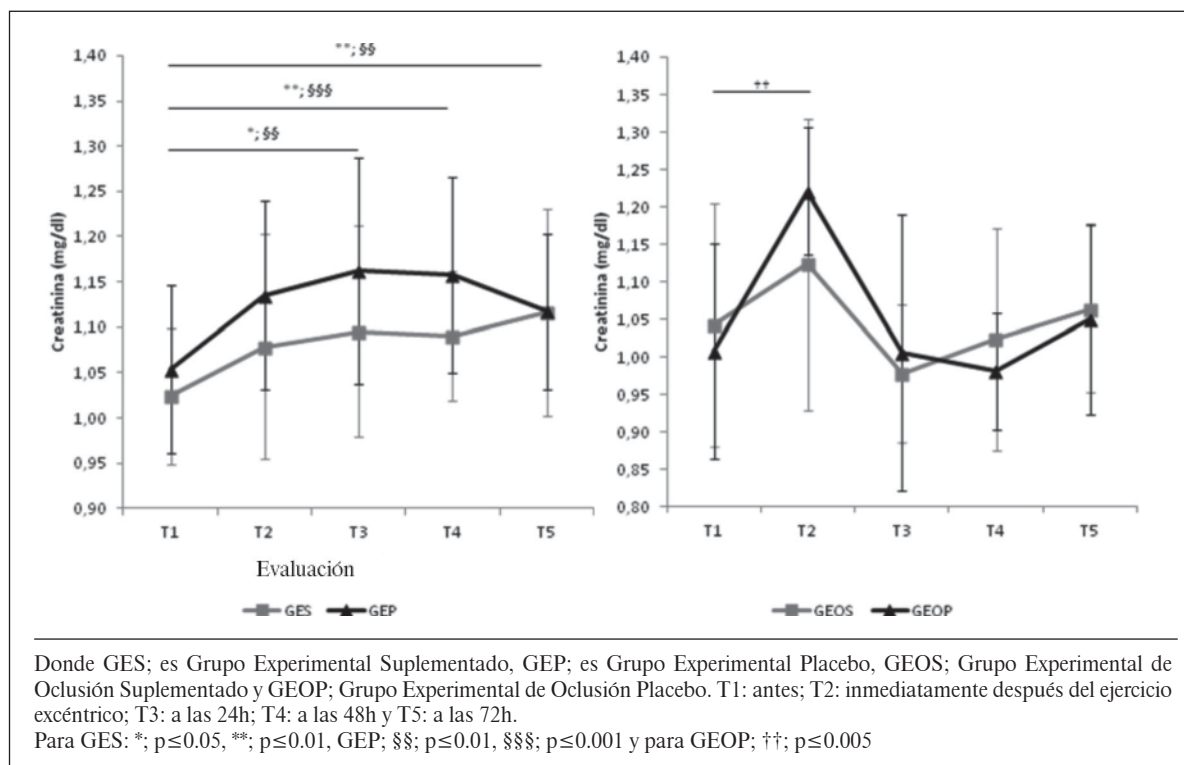




**FIGURA 4.**  
Manifestación de la Fuerza (SJ)



**FIGURA 5.**  
Evaluación de lesión muscular: creatinina



así como un incremento significativo entre T2 y T3 ( $p=0.025$ ), T2 y T4 ( $p=0.002$ ), T2 y T5 ( $p=0.008$ ). En el grupo GEOP, sin embargo, a pesar de que se observa un descenso significativo cuando comparamos la evaluación T1 respecto a T2 ( $p=0.006$ ), no se observa esa tendencia de recuperación (incremento de T2 con T3, T2 con T4, ni T2 con T5) que se evidencia en el grupo suplementado.

#### *Valoración biológica de daño muscular*

- *Creatinfosfo-quinasa (CPK)*. A pesar de que no se encontraron diferencias significativas intragrupo ni intergrupo en ninguno de los momentos de la evaluación, se observa que el GEP muestra una tendencia a valores más elevados de CPK que el GES a las 24h (T3) y dicha tendencia se mantiene hasta las 72 h.
- *Lactato-deshidrogenasa (LDH)*. Tampoco muestra diferencias intragrupo ni intergrupo en ninguno de los momentos de la evaluación, aunque se observa que a las 72 h del esfuerzo, el GEP tiene unos niveles más altos de LDH que el GES y esta tendencia sólo aparece a las 72 horas del esfuerzo.
- *Creatinina*. En el estudio por tiempos se evidencian diferencias estadísticamente significativas en el GES entre T1 y T3 ( $p=0.016$ ), T1 y T4 ( $p=0.006$ ) y T1 y T5 ( $p=0.009$ ), y en el GEP entre T1 y T3 ( $p=0.001$ ), T1 y T4 ( $p=0.000$ ). En el GEOP entre T1 y T2 ( $p=0.005$ ). En el grupo GES se observa que los valores de creatinina se mantienen más bajos en todos los tiempos en comparación con los valores del grupo placebo, aunque las diferencias no llegan a ser significativas. Sí que se observaron diferencias significativas en T2 entre los grupos GEOS y GEOP ( $p=0.026$ ), y en este grupo placebo, además se aprecia una elevación entre T1 y T2 que no se observa en el grupo suplementado (Figura 5).

## DISCUSIÓN

### Cuantificación del dolor muscular (DM)

El primer hallazgo de este estudio es la diferente percepción del dolor en todos los sujetos de la muestra, siendo significativamente mayor en los grupos sometidos a oclusión en el tiempo T4 (a las 48h).

En otros estudios<sup>24,36-38</sup> el pico de dolor asociado con DOMS aparece entre las 24-48 h, y en nuestras series sigue también esa distribución, alcanzándose el pico máximo a las 24h en grupos no oclusivos y a las 48 en los grupos de oclusión.

A pesar de que se desconoce con exactitud el mecanismo de producción del dolor asociado con el DOMS, los estudios apuntan a que es el resultado de la ruptura de las membranas celulares de las fibras musculares<sup>5,24</sup> lo que desencadena la respuesta inflamatoria que conduce a la síntesis de prostaglandinas por parte de los monocitos, generando la sensación de dolor a través del estímulo de las neuronas nociceptoras aferentes tipo III y tipo IV.

Las diferencias intergrupo entre los GEOS y GEOP demostradas en el presente estudio con el incremento del dolor subjetivo de T1 a T4 pueden ser consecuencia de una menor cantidad de fibras musculares lesionadas en los grupos suplementados, lo que reduce la producción de estímulos sobre los nociceptores.

En resumen, los datos obtenidos en esta investigación, no han podido ser evidenciados en otros estudios con un diseño similar a éste<sup>13,39-40</sup> pues no mostraban cambios estadísticamente significativos en la percepción del dolor, a pesar de que sí se presentaban en otros marcadores de daño muscular. En los mismos se utilizaban diferentes pautas de suplementación con diferentes proteasas, administradas en todos los casos tras la realización del esfuerzo y nunca de manera previa al mismo.

### Marcadores anatómico-estructurales

En la mayoría de los estudios diseñados para evaluar la eficacia antiedematosa y antiinflama-

toria de las proteasas por vía oral, se realizaron mediciones locales de diámetros y perímetros con el músculo relajado y contraído<sup>39-41</sup>, no existiendo estudios que evalúen marcadores referidos al componente hídrico (agua intracelular, extracelular y edemas segmentales).

En esta investigación, no se evidencian cambios significativos de estos marcadores anatómico-estructurales de composición corporal ni intergrupo ni intragrupo entre los sujetos no sometidos a oclusión vascular. Sin embargo, al evaluar el edema segmental en brazo dominante y no dominante en el grupo con oclusión entre el GEOP y el GEOS, se observan diferencias con significación estadística, que demuestran la reducción del edema en el grupo suplementado.

Este edema de origen oclusivo aparece en el GEOP, pero no en el grupo GEOS en donde se produce un descenso significativo entre el momento T1 y T2 ( $p=0.002$ ) en el edema segmental del brazo dominante y no dominante. Según estos resultados, el edema agudo por retención hídrica masiva en el caso de ejercicio oclusivo en zonas de precarga (miembros superiores) se previene y de hecho, se neutraliza en el grupo que utiliza la bromelina (GEOS) y no en el GEOP.

Por tanto, la suplementación oral con bromelina podría tener aplicación clínica en síndromes edematosos producidos por ectasia venosa (flebitis, alteraciones distales del retorno venoso), o en las retenciones hídricas intramusculares producidas por aumento de la presión oncótica intramuscular (cargas hiperproteicas). También en casos de retención hídrica previa (terapia hormonal sustitutiva), que en el transcurso de la realización de un ejercicio físico con componente excéntrico puedan ver incrementado el edema pre-existente.

Es de destacar que la acumulación de fluidos en el tejido muscular afectado por el ejercicio excéntrico, es de aparición mucho más tardía que la que se produce por el mecanismo oclusivo, alcanzando su pico máximo entre 3-5 días después del ejercicio, como consecuencia de la acumulación de células y fluidos procedentes del torrente circulatorio, que ocupan los espacios

intersticiales perifibrilares<sup>4,7,9,24,42</sup>. Además, este edema suele estar muy localizado, habitualmente en la porción más distal del músculo (en la unión músculo-tendinosa)<sup>4</sup> y por lo tanto no modifican el volumen total de retención hídrica segmentaria que es mucho mayor.

En resumen, por un lado porque el edema inflamatorio relacionado con el ejercicio excéntrico es de aparición tardía, y por otra parte, porque la suplementación con bromelina durante un período corto de tiempo no provoca modificaciones en el componente hídrico si éste no está aumentado, se puede explicar el que no haya existido ninguna diferencia significativa en ambas extremidades inferiores.

### Marcadores funcionales

#### *Valoración de las manifestaciones de la fuerza*

En este estudio en la valoración de la fuerza máxima dinámica realizada a través del *Squat Jump* (SJ) no se encontraron diferencias intergrupo en ninguno de los momentos de la evaluación. Sin embargo, se evidencian diferencias intragrupo, con descensos significativos de la altura del salto en el GEP entre T1 y T2 ( $p=0.006$ ) y en el GEOP también entre T1 y T2 ( $p=0.016$ ). La fatiga aguda ocasionada como consecuencia del entrenamiento excéntrico reduce la capacidad de salto SJ en el grupo placebo con oclusión y sin ella, mientras que, el grupo suplementado con bromelina mantiene valores de salto similares. Se deduce que, la suplementación con bromelina reduce la fatiga aguda manteniendo constante los valores obtenidos durante el salto SJ.

El *Counter movement jump* (CMJ), o salto con contramovimiento evalúa la fuerza explosiva con reutilización de energía elástica pero sin aprovechamiento del reflejo miotático y se considera un test de fuerza concéntrico-elástica-explosiva.

Al igual que sucede con el SJ, no se encontraron diferencias intergrupo en ninguno de los momentos de la evaluación. Sin embargo, cuando se evalúan las diferencias intragrupo, aunque no son estadísticamente significativas, se observa

que la disminución del salto es mucho más acen- tuada en el GEP que en el GES. Esto indica que el GES tiende a una menor pérdida de fuerza explosiva elástica en fases muy precoces, inme- diatamente tras la lesión (T1 a T2), y muestra una recuperación más rápida en la fase T2-T3, que el GEP que no consigue esta recuperación.

Estos resultados son similares a los obtenidos por varios autores<sup>13,39-40</sup>, quienes demostraron una menor disminución de la fuerza explosiva elástica en los grupos suplementados con pro- teasas que en los grupos placebos, pese a que la eficacia de la suplementación se observa en fases más tardías que en nuestro estudio (entre las 24-48 horas).

En los sujetos sometidos a oclusión, tanto el GEOS como el GEOP experimentan una pérdi- da de la fuerza explosiva elástica en fases muy precoces. Sin embargo, en el GEOS se encuentra un incremento significativo de la altura del sal- to en la fase T2 con respecto a T3 (0.025), T4 (0.002), y T5 (0.008), lo que representa una bue- na recuperación. En el GEOP, sin embargo, no se observan estos cambios (no existe incremento de T2 con T3, T2 con T4, ni T2 con T5).

Con la excepción de algunos trabajos aisla- dos<sup>13,39</sup>, no se han realizado investigaciones previas que evalúen los efectos de una suplemen- tación enzimática en la recuperación precoz de la fuerza, después de un ejercicio muscular de alta intensidad y con componente excéntrico. La mayoría de las investigaciones se han cen- trado en el uso de las proteasas para acelerar la reparación tisular tras la lesión, reduciendo la inflamación<sup>28,33</sup>, pero no en la prevención del daño muscular, como podría deducirse de los resultados obtenidos en este estudio.

Sin embargo, como resultado de esta investiga- ción se puede afirmar que en el GES con brome- lina hay una menor pérdida de la fuerza explosiva elástica (altura del salto) en comparación con el GEP en fases precoces, a través presumiblemen- te de un mecanismo preventivo de la producción de daño muscular. Sin embargo en condiciones de oclusión, la diferencia, la encontramos en fa-

ses más tardías, donde el GEOS con bromelina incrementa la capacidad de recuperación del CMJ de T3 a T4 con respecto al grupo GEOP.

#### Valoración biológica de daño muscular

- *Creatinfosfo-quinasa (CPK)*. Es un indicador de destrucción muscular que en el GEP tien- de a unos niveles más elevados de CPK que en el GES a las 24h (T3). Esta tendencia se mantiene hasta las 72 h, pese a que las dife- rencias no son significativas, probablemente debido al tamaño muestral tan pequeño.
- *Lactato-deshidrogenasa (LDH)*. Al igual que sucede con la CPK, a pesar de que no se encontraron diferencias intergrupo en nin- guno de los momentos de la evaluación, se observa que a las 72 h del esfuerzo, el GEP tiene unos niveles más altos de LDH que el GES. Esta tendencia sólo aparece a las 72 horas del esfuerzo, pues hasta entonces la curva de distribución fue idéntica en ambos grupos. Conociendo que la LDH se eleva en plasma alrededor de las 48-72 horas de haber existido daño muscular<sup>4</sup>, estos datos podrían demostrar un mayor grado de citolisis en el grupo placebo que en el grupo suplementado con bromelina, que se expresa como corres- ponde cronológicamente, a las 72 h (T5).
- *Creatinina*. En el GES al igual que sucede con los valores de CPK y LDH, se observa que los valores de creatinina se mantienen más bajos en todos los tiempos en compa- ración con los valores del GEP, aunque las diferencias no llegan a ser significativas. Sin embargo, sí que se observó un aumento significativo de los valores de creatinina en el GEOP en fase muy precoz, inmediatamente tras el esfuerzo, de T1 a T2 que no aparece en el GEOS.

La rabdomiolisis es un cuadro clínico y bioquí- mico que resulta de la lesión sufrida por la célula del músculo esquelético, con liberación de su contenido a sangre. Además de la mioglobina, se liberan otras sustancias contenidas en los mio- citos como son la creatinfosfo-quinasa (CPK),

aldolasa, fósforo, aspartatoaminotransferasa (AST), lactato-deshidrogenasa (LDH), etc. Es habitual la elevación desproporcionada de la creatinina respecto al nitrógeno ureico sanguíneo (BUN), debido a la masiva liberación de creatinina muscular de forma precoz (1-3 horas tras producirse la lesión).

La etiopatogenia de la rabdomiolisis en el ejercicio físico masivo son las compresiones musculares prolongadas por el trabajo con componente excéntrico, que producen isquemia, que desencadena la rabdomiolisis. Por otro lado, existe un aumento en las demandas de oxígeno por parte del músculo, que está trabajando, lo cual acentúa el estado de hipoxia muscular<sup>4,43</sup>. Esta tendencia a la isquemia/hipoxia muscular, tanto por la disminución del flujo sanguíneo como por incremento de la demanda de oxígeno, se va a ver incrementada en nuestro protocolo de actuación en los grupos de oclusión con el complemento de isquemia dado que se realiza el ejercicio con restricción del flujo sanguíneo<sup>44</sup>.

Según los resultados de nuestro estudio, tanto el grupo suplementado como el placebo han experimentado elevaciones de creatinina en sujetos con oclusión y sin ella, mientras que la CPK y la LDH aumentan sólo en el grupo sin oclusión, cada una en los tiempos pico de su liberación. Es decir, la creatinina en fase precoz (T2), la CPK en fase 24-48 horas (T3-T4) y en fase algo más tardía la LDH (T3-T5). Sin embargo en todos los sujetos, con oclusión y sin ella, se evidencian unos valores más bajos en GES y GEOS en los puntos críticos (puntos de máxima liberación de estas enzimas al torrente circulatorio) que en GEP y GEOP.

Estos resultados indican que la bromelina ayuda a prevenir la aparición de lesiones por fatiga

muscular aguda en fase precoz. Este efecto aparece en la fase más inicial de la lesión (T2 valores de creatinina) y en la fase mecánica o estructural e incluso se mantiene en la fase inflamatoria (T3-T4 valores de CPK y LDH).

Los hallazgos obtenidos en esta investigación son consistentes con estudios previos<sup>5,45-46</sup>, que evalúan los valores de las proteínas liberadas al torrente circulatorio tras el daño muscular y su cronología de aparición. En ellos se propone que la liberación masiva de CPK refleja el punto final de una serie de eventos que ocasionalmente pueden conducir a la necrosis de las fibras musculares dañadas y que es preciso prevenir con el fin de favorecer la regeneración precoz de las mismas.

Podemos concluir que nuestros resultados demuestran que la suplementación con bromelina es segura y previene la citólisis precoz, favoreciendo así la regeneración en fases muy tempranas de la lesión muscular y manteniendo su efecto en la fase inflamatoria de la misma. Todo esto permite mejorar la recuperación muscular y disminuir las lesiones relacionadas con el trabajo físico con componente excéntrico.

## AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento a David García López, Juan Azael Herrero Alonso, Juan Martín Herrero y Pedro Jesús Marín Cabezuelo de la Universidad Europea Miguel Cervantes, y a Domingo Jesús Ramos Campo, Paula Esteban García y Fernando Martínez Sánchez de la Universidad de Castilla la Mancha, miembros del grupo de trabajo *Bromesport*.

## B I B L I O G R A F Í A

1. **George SZ, Dover GC, Fillingim RB.** Fear of Pain Influences Outcomes After Exercise-induced Delayed Onset Muscle Soreness at the Shoulder. *Clin. J. Pain* 2007;3(1):76-84.
2. **Clark SR.** Prescribing exercise for fibromyalgia patients. *Arthritis Care Res.* 1994;7:221-5.
3. **Noonan TJ, Garret, WE.** Muscle strain injury: diagnosis and treatment. *J Am Acad Orthop Surg.* 1999;7:4262-9.
4. **Amstrong RB.** Mechanism of exercise-induced delayed onset muscular soreness: A brief review. *Med Sci Sport Exerc.* 1984;16:529-38.
5. **Nosaka N, Newton M, Sacco P.** Delayed onset muscular soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. *Scan J Med Sport.* 2002;12:337-46.
6. **Umbel JD, Hoffman RL, Dearth DJ, Cheleboun GS, Manini TM, Clark BC.** Delayed-onset muscle soreness induced by low-load blood flow-restricted exercise. *Eur J Appl Physiol.* 2009;107(6):687-95
7. **Friden J, Liebre, RL.** Structural and mechanical basis of exercise-induced muscle injury. *Med Sci Sport Exerc.* 1992;24:521-30.
8. **Clarkson PM, Byrnes WC, McCormick KM, Turcotte LP, White JS.** Muscle soreness and serum creatine kinase activity following isometric, eccentric, and concentric exercise. *Int J Sports Med.* 1986;7(3):152-5.
9. **Friden J, Sjoström M, Ekblom B.** Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *Int J Sports Med.* 1983;4(3):170-6.
10. **Newham DJ, McPhail G, Mills KR, Edwards RH.** Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *J Neurol Sci.* 1983;61(1):109-22.
11. **Sorichter S, Mair J, Koller A, Gebert W, Rama D, Calzolari C, Artner-Dworzak E, Puschendorf B.** Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage. *J Appl Physiol.* 1997;83(4):1076-82.
12. **Miles MP, Clarkson PM.** Exercise-induced muscle pain, soreness, and cramps. *J Sports Med Phys Fitness.* 1994;34(3):203-16.
13. **Miller PC, Bailey SP, Barnes ME.** The effects of protease supplementation on skeletal muscle function and DOMS following downhill running. *J of Sports Sci.* 2004;22:365-72
14. **Round JM, Jones DA, Cambridge G.** Cellular infiltrates in human skeletal muscle: exercise induced damage as a model for inflammatory muscle disease?. *J Neurol Sci.* 1987;82(1-3):1-11.
15. **Smith LL.** Acute inflammation: the underlying mechanism in delayed onset muscle soreness?. *Med Sci Sports Exerc.* 1991;23(5):542-51.
16. **Tidball JG.** Inflammatory cell response to acute muscle injury. *Med Sci Sports Exerc.* 1995; 27(7):1022-32
17. **Sacheck JM, Milbury PE, Cannon JG, Roubenoff R, Blumberg JB.** Effect of vitamin E and eccentric exercise on selected biomarkers of oxidative stress in young and elderly men. *Free Radic Biol Med.* 2003;34(12):1575-88.
18. **Huard J, Li Y, Fu FH.** Muscle injuries and repair: current trends in research. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84A(5):822-32.
19. **Shireman PK, Contreras-Shannon V, Ochoa O, Karia BP, Michalek JE, McManus LM.** MCP-1 deficiency causes altered inflammation with impaired skeletal muscle regeneration. *J Leukoc Biol.* 2007;81(3):775-85.
20. **Faulkner JA, Brooks SV, Opitck JA.** Injury to skeletal muscle fibers during contractions: conditions of occurrence and prevention. *Phys Ther.* 1993;73(12):911-21.
21. **MacIntyre DL, Reid WD, Lyster DM, Szasz IJ, McKenzie DC.** Presence of WBC, decreased strength, and delayed soreness in muscle after eccentric exercise. *J Appl Physiol.* 1996;80(3):1006-13.
22. **MacIntyre DL, Reid WD, McKenzie DC.** Delayed muscle soreness. The inflammatory response to muscle injury and its clinical implications. *Sports Med* 1995;20(1):24-40.
23. **Menkin V.** Biology of inflammation. *Science.* 1956; 123:527-34.
24. **Connolly DAJ, Sayers SP, McHugh MP.** Treatment and prevention of delayed onset muscular soreness. *J. Strength Cond Res.* 2003;17:197-208.

25. Walker JA, Cerny FJ, Cotter JR, Burton HW. Attenuation of contraction-induced skeletal muscle injury by bromelain. *Med Sci Sports Exerc* 1992;24(1):20-5.
26. Maurer HR. Bromelain: biochemistry, pharmacology and medical use. Review. *Cel Mol Life Sci* 2001;58:1234-45.
27. Taussig SJ, Batking S. Bromelain, the enzyme complex of pineapple (*Ananas comosus*) and its clinical application. An update. *J Ethnopharmacol* 1988;22(2):191-203.
28. Vellini M, Desideria, Milanese C. Possible involvement of eicosanoids in the pharmacological action of bromelain. *Drug Res* 1986;36:110-12.
29. Woolf RM, Snow JW, Walker JH, Broadbent TR. Resolution of an artificially induced hematoma and the influence of a proteolytic enzyme. *J Trauma*. 1965;5:491-4.
30. Taussig SJ. The mechanism of the physiological action of bromelain: *Med. Hypoth.* 1980;6:99-104.
31. Moss JN, Frazier CV, Martin GJ. Bromelains: The pharmacology of the enzymes: *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 1963;145:166-89.
32. Livio M, Bertoni MP, De Gaetano G. Effect of bromelain on fibrinogen level, prothrombin complex factor and platelet aggregation in the rat- A preliminary report. *Drugs Exp. Clin.* 1978;4:49-53.
33. Smyth RD, Brennan R, Martin GJ. Systemic biochemical changes following the oral administration of a photolytic enzyme, bromelain. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1962;136:230-6.
34. Byrne C, Eston R. Maximal-intensity isometric and dynamic exercise performance after eccentric muscle actions. *J of Sports Sci* 2002;20(12):951-9.
35. Melzack R. The short-form McGill pain questionnaire. *Pain* 1987;30(2):191-7.
36. Johar P, Grover V, Topp R, Behm DG. A comparison of topical menthol to ice on pain evoked tetanic and voluntary force during delayed onset muscle soreness. *Intern J of Sports Phys Ther.* 2012;7(3):314-22.
37. Nosaka K, Newton M. Difference in the magnitude of muscle damage between maximal and submaximal eccentric loading. *J Strength Cond Res* 2002;16(2):202-8.
38. Nosaka K, Sakamoto K, Newton M, Sacco P. How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last? *Med Sci Sports Exerc* 2001;33(9):1490-5.
39. Beck TW, Housh T, Jhonson GO, Schmitdt RJ, Housh DJ, Coburn JW, Malek MH, Mielke M. Effects of a protease supplement on eccentric exercise-induced markers of delayed-onset muscle soreness and muscle damage. *J of Strength and Conditioning Research* 2007;21(3):661-7.
40. Buford TW, Cooke MB, Redd LL, Hudson GM, Shelmadine BD, Willoughby DS. Protease supplementation improves muscle function after eccentric exercise. *Med and Sci in Sport and Exer* 2009;41(10):1908-14.
41. Cirelli MG. Clinical experience with bromelains in proteolytic enzyme therapy of inflammation and edema. *Med. Times* 1964;92:919-22.
42. Noonan TJ, Garret WE. Muscle strain injury: diagnosis and treatment *J Am Acad Orthop Surg* 1999;7(4):4262-9.
43. Armstrong RB, Ügilvie RW, Schwane JA. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J App Physiol* 1983;54:80-93.
44. Martín J, Blasco R, Herrero AJ. El ejercicio físico suplementado con isquemia tisular como método de prevención de la atrofia muscular. *Arch Med Deporte* 2011; XXVIII(5):266-74.
45. Nosaka N, Newton P, Sacco D, Chapman, Lavender A. Partial protection against muscle damage by eccentric actions at short muscle lengths. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2005;37:746-53.
46. Nosaka K, Clarkson PM, Apple FS. Time course of serum protein changes after strenuous exercise of the forearm flexors. *J Lab Clin Med* 1992;119:183-8.